

# POLITECNICO DI TORINO

Collegio di Ingegneria Chimica e dei Materiali

**Corso di Laurea Magistrale  
in Ingegneria Chimica e dei Processi Sostenibili**

Tesi di Laurea Magistrale

## **Matrici nanoporose per il rilascio di glifosato**



### **Relatori**

Prof.ssa Barbara Onida  
Prof.ssa Silvia Maria Ronchetti  
Prof.ssa Maria Concetta Bruzzoniti

### **Candidato**

Silvia Cordola

Ottobre 2018



*Alla mia famiglia,  
per tutto.*

*“Ora questa non è la fine.  
Non è nemmeno l’inizio della fine.  
Ma è, forse, la fine dell’inizio.”*

*Winston Churchill*



## Indice

<b>Introduzione</b> .....	<b>V</b>
<b>1. I pesticidi</b> .....	<b>1</b>
1.1 Cenni generali .....	1
1.2 Classificazione e composizione .....	3
1.3 Tossicità dei pesticidi .....	5
1.3.1 Tossicità verso l'uomo .....	6
1.3.2 Tossicità ambientale .....	8
1.4 La legislazione sui pesticidi .....	10
1.5 Impiego sostenibile dei pesticidi .....	12
1.5.1 Il rilascio controllato dei pesticidi .....	13
<b>2. Il Glifosato</b> .....	<b>17</b>
2.1 Cenni generali .....	17
2.2 Struttura e proprietà chimico-fisiche .....	21
2.3 Meccanismo d'azione e degradazione .....	23
2.3.1 Meccanismo d'azione del glifosato.....	23
2.3.2 La degradazione del glifosato.....	26
2.4 Tossicità e legislazione .....	27
2.5 Rilascio controllato del glifosato .....	31
<b>3. Matrici utilizzate per l'impregnazione del glifosato</b> .....	<b>35</b>
3.1 La $\gamma$ -allumina.....	35
3.1.1 Struttura e proprietà.....	35
3.1.2 Metodi di sintesi .....	37
3.2 Le montmorilloniti.....	39
3.2.1 Struttura e proprietà.....	39
3.2.2 Sintesi della montmorillonite pontata con alluminio.....	41
3.3 La silice SBA-15.....	43
3.3.1 Struttura e proprietà.....	43
3.3.2 Sintesi della silice SBA-15 .....	44
<b>4. Materiali, metodi, tecniche di caratterizzazione ed analisi</b> .....	<b>47</b>
4.1 Reagenti e materiali utilizzati .....	47
4.2 Incipient Wetness Impregnation .....	47
4.3 Retta di taratura del glifosato .....	47
4.4 Analisi di adsorbimento di azoto.....	48
4.5 Diffrazione a raggi X .....	50

4.6	<i>Spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier</i>	52
4.7	<i>Microscopia elettronica a scansione</i>	53
4.8	<i>Tecniche di analisi: la cromatografia ionica</i>	55
<b>5.</b>	<b>Caratterizzazione delle matrici</b>	<b>61</b>
5.1	<i><math>\gamma</math>-allumina</i>	61
5.1.1	Misure di adsorbimento di azoto (BET)	61
5.1.2	Diffrazione a raggi X	62
5.1.3	Microscopia elettronica a scansione (SEM)	63
5.2	<i>Silice SBA-15</i>	64
5.2.1	Misure di adsorbimento di azoto (BET)	64
5.2.2	Diffrazione a raggi X	65
5.2.3	Microscopia elettronica a scansione (SEM)	66
5.3	<i>Montmorillonite K10</i>	67
5.3.1	Misure di adsorbimento di azoto (BET)	67
5.3.2	Diffrazione a raggi X	68
5.3.3	Microscopia elettronica a scansione (SEM)	69
5.4	<i>Montmorillonite pontata con alluminio</i>	70
5.4.1	Misure di adsorbimento di azoto (BET)	70
5.4.2	Diffrazione a raggi X	71
5.4.3	Microscopia elettronica a scansione (SEM)	73
<b>6.</b>	<b>Estrazione del glifosato e sua caratterizzazione</b>	<b>75</b>
6.1	<i>Estrazione del glifosato</i>	75
6.2	<i>Valutazione della purezza del glifosato estratto</i>	79
6.3	<i>Caratterizzazione del glifosato estratto</i>	80
6.3.1	Diffrazione a raggi X	80
6.3.2	Spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier	81
<b>7.</b>	<b>Impregnazione delle matrici</b>	<b>83</b>
7.1	<i>Impregnazione della <math>\gamma</math>-allumina</i>	83
7.1.1	Misure di adsorbimento di azoto (BET)	83
7.1.2	Diffrazione a raggi X	85
7.2	<i>Impregnazione della silice SBA-15</i>	86
7.2.1	Misure di adsorbimento di azoto (BET)	86
7.2.2	Diffrazione a raggi X	87
7.3	<i>Impregnazione della montmorillonite K10</i>	88
7.3.1	Misure di adsorbimento di azoto (BET)	88

7.3.2	Diffrazione a raggi X.....	89
7.4	<i>Impregnazione della montmorillonite pontata con alluminio</i> .....	90
7.4.1	Misure di adsorbimento di azoto (BET).....	90
7.4.2	Diffrazione a raggi X.....	91
<b>8.</b>	<b>Curve di rilascio e relative cinetiche.....</b>	<b>93</b>
8.1	<i>Rilascio in ambiente neutro</i> .....	94
8.2	<i>Rilascio in tampone acido</i> .....	96
8.3	<i>Confronto tra i rilasci in ambiente neutro e in tampone acido</i> .....	99
8.4	<i>Rilascio in CaCl<sub>2</sub></i> .....	100
8.5	<i>Cinetiche di desorbimento</i> .....	105
<b>9.</b>	<b>Caratterizzazione della MMT-Al post-rilascio .....</b>	<b>111</b>
9.1	<i>Misure di adsorbimento di azoto (BET)</i> .....	111
9.2	<i>Diffrazione a raggi X</i> .....	112
9.3	<i>Spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier</i> .....	113
<b>10.</b>	<b>Conclusioni e sviluppi futuri .....</b>	<b>115</b>
	<b>Bibliografia e sitografia .....</b>	<b>117</b>



## Introduzione

Il glifosato [N-(fosfonometil)glicina] è un erbicida sistemico e non selettivo di post-emergenza che, essendo in grado di bloccare la crescita degli organismi vegetali tramite l'inibizione della sintesi di tre amminoacidi aromatici indispensabili al loro sviluppo, viene molto utilizzato in ambito agricolo, civile e domestico.

Tale pesticida subisce una facile degradazione ad opera di specifici batteri (ad esempio appartenenti al genere *Pseudomonas*) e, incapace di penetrare nel terreno per profondità maggiori di 20 cm, esso viene disperso prevalentemente nelle acque superficiali [1].

Nonostante gli indubbi vantaggi relativi al suo impiego, il glifosato, assieme ai suoi prodotti di degradazione, è stato classificato dall'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC) come appartenente alla categoria 2A, gruppo dei composti "potenzialmente cancerogeni per l'uomo" [2]. Molti Enti, tra cui l'Autorità Europea per la Sicurezza sugli Alimenti (EFSA), hanno mostrato disaccordo rispetto a questa classificazione, asserendo che la tossicità delle formulazioni commerciali non deriva dal glifosato in sé, ma dai tensioattivi con i quali esso è miscelato [3].

Nonostante il 16 dicembre 2017 la Commissione Europea abbia rinnovato, per altri cinque anni, l'autorizzazione all'impiego di tale pesticida, numerosi Paesi dell'UE hanno deciso di sottoporre l'uso del glifosato a forti restrizioni, avvalendosi del Principio di Precauzione.

Sono stati condotti numerosi studi circa la rimozione del glifosato da acque e terreni contaminati [4, 5, 6], ma poche ricerche si sono concentrate sulla possibilità di rilasciare in maniera controllata tale erbicida all'interno di diversi substrati [7, 8].

L'obiettivo di questo lavoro di tesi è stato valutare come sia possibile supportare il glifosato su carrier che siano in grado di rilasciarlo e che siano idonei all'utilizzo nei terreni; si è individuata la matrice più adatta allo scopo e si è valutato il rilascio dell'erbicida in ambienti acquosi diversi.

È stato ottimizzato un metodo per estrarre, con una buona resa in termini di purezza, il glifosato acido puro a partire da una formulazione commerciale; l'impiego del principio attivo così ricavato, anziché di quello più costoso fornito direttamente dalle case produttrici, ha permesso di ridurre la spesa complessiva dello studio.

In seguito, mediante la tecnica di Incipient Wetness Impregnation, l'erbicida è stato inserito all'interno di quattro diverse matrici nanoporose, opportunamente scelte in base alla loro composizione chimica affine con componenti tipici dei terreni, e sono: una silice, la SBA-15, un'allumina, in particolare la  $\gamma$ -allumina, l'argilla montmorillonite K10 e l'argilla montmorillonite pontata con alluminio (MMT-Al).

Utilizzando la tecnica della cromatografia ionica, sono stati valutati i tempi di rilascio del pesticida all'interno di liquidi differenti, ovvero: acqua ultrapura, una soluzione tampone di ossalato di sodio a pH 3 ed una soluzione acquosa di  $\text{CaCl}_2$ . I diversi ambienti di prova hanno permesso di simulare le condizioni tipiche dei suoli, compresi quelli interessati dal fenomeno delle piogge acide.

Sulla base dei risultati ottenuti, ci si è focalizzati sulla ricerca di modelli cinetici capaci di interpretare in maniera adeguata i dati sperimentali relativi ai processi di desorbimento osservati.

Infine, allo scopo di valutare le possibili alterazioni di struttura e morfologia subite dai vari supporti a seguito delle prove effettuate, le matrici tal quali, impregnate e post-rilascio sono state caratterizzate mediante le tecniche di: diffrazione a raggi X (XRD), adsorbimento di azoto (BET), spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FT-IR), microscopia elettronica a scansione (SEM).

La caratterizzazione dei materiali è stata effettuata presso il Dipartimento di Scienza Applicata e Tecnologia del Politecnico di Torino; l'estrazione del glifosato, l'impregnazione dei supporti e le prove di rilascio sono state svolte presso il Dipartimento di Chimica Analitica dell'Università degli Studi di Torino.

Nel primo capitolo di questo elaborato è riportata una panoramica inerente i pesticidi in generale: la loro classificazione, la tossicità esplicita verso l'uomo e l'ambiente, la legislazione ad essi relativa attualmente in vigore, gli studi finora condotti circa la possibilità di un loro rilascio controllato nel suolo.

Il secondo capitolo è dedicato all'erbicida glifosato; se ne riportano le proprietà chimico-fisiche, il meccanismo di azione, le possibili vie di degradazione, la regolamentazione a cui è sottoposto sulla base della sua presunta e dibattuta tossicità, un breve excursus sulle ricerche fino ad oggi effettuate circa la sua rimozione da acque e terreni contaminati.

Nel terzo capitolo sono illustrate le caratteristiche strutturali, le proprietà, le applicazioni e i metodi di sintesi delle quattro matrici utilizzate nel corso di questo lavoro di tesi.

Nel quarto capitolo vengono esposti i metodi sperimentali a cui si è ricorsi e i principi di funzionamento sia delle tecniche di caratterizzazione dei materiali, sia della tecnica di analisi mediante cromatografia ionica.

Il quinto, il settimo ed il nono capitolo sono dedicati alla caratterizzazione dei supporti tal quali, impregnati e post-rilascio.

Nel sesto capitolo è descritta la procedura di estrazione del glifosato a partire da una formulazione commerciale; si valutano la purezza e le caratteristiche strutturali del principio attivo estratto.

Nell'ottavo capitolo sono riportati i risultati ottenuti dalle prove di rilascio effettuate nei tre diversi liquidi di contatto; vengono inoltre illustrati i modelli cinetici che meglio hanno permesso di descrivere i processi di desorbimento osservati.

Infine, nel decimo capitolo sono riportate le conclusioni a cui si è giunti a seguito delle numerose prove eseguite e, sulla base dei risultati raggiunti nel corso di questo lavoro di tesi, si propongono possibili ulteriori ricerche che potrebbero essere sviluppate.

# 1. I pesticidi

## 1.1 Cenni generali

Con il termine generico e di uso comune “pesticida” si intende qualsiasi sostanza o miscela di sostanze, naturale o sintetica, atta al controllo e alla distruzione di qualunque organismo che possa provocare danno all'uomo mediante un attacco diretto, per esempio come vettore di malattie, oppure indiretto, nel caso esso comprometta l'integrità e la qualità di fonti alimentari, di raccolti e di altre indispensabili materie durante le loro fasi di produzione, lavorazione, trasporto ed immagazzinamento.

Sotto la designazione di pesticida (dal latino “pestis”, ossia flagello, e “caedere”, ossia uccidere) rientrano principalmente i prodotti fitosanitari e i biocidi: i primi vengono impiegati per la regolazione e la protezione della crescita delle piante, per la conservazione dei vegetali in generale oppure come defoglianti, diradanti e disseccanti; i secondi sono utilizzati per impedire o limitare l'azione dei microrganismi capaci di danneggiare i materiali più svariati fra cui legno, tessuti e fibre, carta e plastica. Al gruppo dei biocidi appartengono anche agenti disinfettanti, disincrostanti e preservanti che non sono classificabili come pesticidi [9].

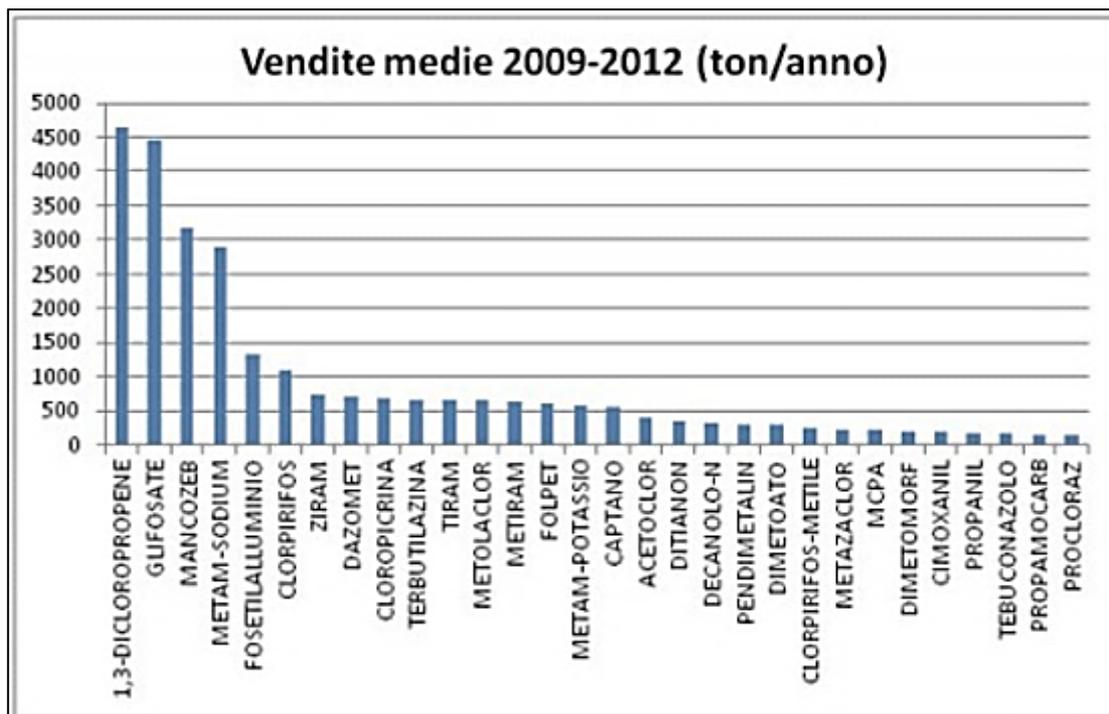
La necessità di salvaguardare coltivazioni e cibo, nonché la propria salute, dall'azione deleteria di determinati patogeni ha sempre rappresentato un punto cardine per l'uomo fin dai tempi antichi.

La generazione di fumo e gas per mezzo della combustione di legna, tabacco e zolfo fu uno dei primi e più rudimentali metodi adottato per allontanare insetti e parassiti; allo stesso scopo, col susseguente progresso in ambito chimico-biologico, iniziò ad essere utilizzata una più vasta gamma di composti sempre di origine naturale (piretro, nicotina e rotenone) in abbinamento a composti inorganici (a base di arsenico, piombo, calcio, rame e tallio) oppure a nuovi derivati del petrolio.

Un primo accenno di produzione su scala industriale di una sostanza pesticida si ebbe nel 1874 con la sintesi del DDT (dicloro-difenil-tricloroetano) ad opera del chimico austriaco Othmar Zeidler; in realtà si deve allo svizzero Paul Müller la scoperta delle sue proprietà insetticide, in particolare contro la zanzara anofele portatrice di malaria.

Fu comunque soltanto a partire dalla metà del 1900 che la produzione e la vendita di pesticidi iniziò davvero a prendere piede: in questo periodo infatti gli esteri dell'acido fosforico, sintetizzati in elevate quantità per la prima volta nel corso della Seconda Guerra Mondiale a scopo puramente bellico, cominciarono ad essere impiegati come potenti insetticidi. Da quel momento in poi, con l'aumento delle conoscenze relative alla fisiologia del mondo animale e vegetale e con la conseguente possibilità di creare nuove formulazioni via via più efficaci, il settore inerente la produzione dei pesticidi ha visto una costante crescita [10].

Al giorno d'oggi circa il 40% dei fitofarmaci prodotti a livello mondiale viene utilizzato nel Nord America e il 25% nell'Europa Occidentale. La quantità di pesticidi venduti ammonta a circa 400000 tonnellate solo nell'Unione Europea; l'Italia, in terza posizione dopo Spagna e Francia, utilizza per l'agricoltura 130000 tonnellate annue di prodotti fitosanitari (fonte ISTAT 2015) con una forte prevalenza di glifosato, metamsodium e 1,3-dicloropropene.



**Figura 1.1** Sostanze più vendute in Italia nel periodo 2009-2012 [11].

Gli elevati numeri relativi al commercio di pesticidi nel mondo si possono facilmente spiegare riflettendo sui non pochi vantaggi che il loro impiego responsabile comporta.

Da un punto di vista strettamente pratico tali composti risultano essere [12]:

- versatili, grazie all'ampia varietà di formulazioni e modalità di applicazione oggi disponibili sul mercato;
- rapidi ed immediati, poiché capaci di esplicare la propria azione anche nel giro di poche ore;
- adatti ad affrontare situazioni di improvvisa emergenza;
- economici, in quanto la lotta chimica risulta essere al momento il sistema che presenta il miglior rapporto costi/benefici.

In ambito strettamente agricolo l'uso razionale dei pesticidi permette di salvaguardare e migliorare la resa dei raccolti, di ridurre le aree di terreno necessarie alle coltivazioni, di minimizzare la manodopera necessaria e di garantire la presenza sul mercato di prodotti ortofrutticoli relativamente sicuri e di buona qualità [10].

Infine, da non sottovalutare è l'aiuto che sostanze come il DDT hanno apportato da un punto di vista igienico-sanitario alla parziale sconfitta di gravi malattie (malaria, encefalite virale, febbre gialla, peste bubbonica etc...) tipiche dei tempi passati, ma ancora oggi presenti nelle aree geografiche più povere e sottosviluppate. In queste ultime non soltanto la lotta contro tali morbi rappresenta un problema focale, ma pure la lotta costante contro la fame: da recenti studi statistici risulta che oltre 1400 milioni di tonnellate di alimenti vengono distrutti ogni anno nel mondo da organismi patogeni nei confronti di piante e derrate alimentari; solo un assennato impiego dei pesticidi può rappresentare la salvezza di molte popolazioni e la sopravvivenza della relativa cultura [9].

Pur essendo molti e indubbi i benefici legati all'utilizzo dei pesticidi, numerosi sono però anche gli svantaggi ad esso connessi.

Tali composti, difatti, agiscono intaccando le principali funzioni vitali dell'organismo bersaglio: ne inibiscono, per esempio, la sintesi delle proteine, ne impediscono la divisione o la respirazione cellulare o ne perturbano la trasmissione di segnali a livello nervoso ed ormonale. Questi processi e meccanismi fisiologici non sono però tipici solo dell'essere target, ma sono spesso comuni a numerosi altri organismi che, di conseguenza, pur essendo magari molto diversi dal bersaglio, possono essere attaccati dal pesticida subendo danni imprevedibili.

Un ulteriore problema relativo l'impiego indiscriminato delle sostanze considerate riguarda la loro tendenza ad accumularsi nei suoli e a contaminare le acque superficiali, sotterranee e di falda: ciò comporta la crescita di infestazioni secondarie e di specie resistenti ai vari principi attivi, la probabilità di trovare residui negli alimenti destinati all'alimentazione umana ed animale, un generale alto tasso di tossicità nei confronti di flora e fauna [12]. Tali argomenti verranno trattati con maggior dettaglio in seguito (capitolo 1.3).

## *1.2 Classificazione e composizione*

Al giorno d'oggi, come già accennato, la varietà di pesticidi in commercio è davvero ampia; ne consegue la sostanziale impossibilità di adottare un solo criterio di classificazione capace di comprendere tutti i composti in esame tenendo conto delle loro particolari proprietà.

Una prima distinzione può essere fatta tra sostanze impiegate in agri/orticoltura e quelle adoperate in ambiente civile o domestico: in questo secondo caso il prodotto possiede una più bassa concentrazione di principio attivo ed è generalmente disponibile come liquido da diluire oppure come granulato; se destinato al settore agricolo, invece, il prodotto può presentarsi anche sotto forma di concentrato emulsionabile, di polvere bagnabile o secca, di pasta semi-solida, ma addirittura allo stato gassoso qualora fosse specifico per la fumigazione [9].

Normalmente divisi in composti fitosanitari e biocidi, i pesticidi sono ulteriormente classificabili in base [10]:

- all'organismo bersaglio: insetticidi, fungicidi, erbicidi, acaricidi, molluschi, nematocidi e rodenticidi;
- alla propria struttura e composizione chimica: organofosforati, carbammati, organoclorurati, fenoli, organometallici, esteri fosforici, ureici etc...;
- alla propria modalità d'azione: inibitori di sintesi proteica o della respirazione mitocondriale, anticoagulanti, inibitori della RNA-polimerasi etc....

Nella tabella 1.1 è riportata la parziale classificazione degli erbicidi formulata dall'Ente internazionale HRAC (Herbicide Resistance Action Committee), suddivisione principalmente basata sul sito di azione dei diserbanti e sulla loro famiglia chimica di appartenenza. A scopo dimostrativo qui vengono riportati soltanto tre gruppi, sui ventitré esistenti; una catalogazione simile, con lettere e numeri diversi, è stata fatta anche dal WSSA (Weed Science Society of America) e dall'Australian Code System: ciò evidenzia la mancanza di un criterio armonizzato di catalogazione a livello mondiale, capace di eliminare qualsiasi confusione possibile [13].

**Tabella 1.1** Parte della classificazione degli erbicidi proposta dalla HRAC (Herbicide Resistance Action Committee) [13].

<b>Gruppo HRAC</b>	<b>Meccanismo d'azione</b>	<b>Famiglia chimica</b>	<b>Esempi di principi attivi</b>
A	Inibizione dell'enzima Acetil-CoA Carbossilasi (ACCasi)	Arilossifenossi-propionati 'FOPs'	clodinafop-propargyl propaquizafop
		Cicloesenoni 'DIMs'	cletodim cicloxydim
		Fenilpirazoline 'DEN'	pinoxaden
B	Inibizione dell'enzima acetolattato sintetasi (ALS)	Solfoniluree	amidosulfuron imazosulfuron
		Triazoloni	propoxycarbazone thiencarbazone methyl
		Imidazolinoni	imazamox
		Triazolopirimidine	florasulam pyroxulam
		Pirimidinil(tio) benzoati	bispyribac-Na
C1	Inibizione della fotosintesi a livello del fotosistema II	Triazine	terbutilazina
		Triazinoni	metamitron metribuzin
		Uracili	lenacil
		Piridazinoni	chloridazon
		Fenil-carbammati	desmedifam fenmedifam

Gli erbicidi sono soggetti ad ulteriori suddivisioni; possiamo trovare, ad esempio, le diciture “di copertura”, “citotropico”, “translaminare” e “sistemico” in base al tipo di rapporto, da più superficiale a più profondo, che si stabilisce tra il pesticida e la pianta su cui esso viene adoperato.

Tutto ciò aiuta a comprendere come la classificazione dei prodotti in esame sia decisamente ampia e complessa; la possibilità di adottare criteri differenti fa sì che le varie categorie si incrocino e si integrino fra di loro e che una stessa sostanza faccia parte di più categorie contemporaneamente [12].

Nonostante la vasta gamma di composti esistenti è possibile tuttavia individuare un fattore comune a tutti i pesticidi, ossia il fatto di possedere una formulazione ricorrente che prevede la presenza di un principio attivo, di sostanze coformulanti e di sostanze coadiuvanti.

Il principio attivo, chimico o biologico, è quello che effettivamente esplica l'azione desiderata nei confronti dell'organismo bersaglio e dunque, all'interno del prodotto finito, esso rappresenta la frazione prevalente; la sua concentrazione viene ridotta tramite l'uso di coformulanti inerti e diluenti, tra cui acqua e talco.

I coadiuvanti risultano utili per incrementare l'efficacia della sostanza attiva e migliorarne la distribuzione; tra essi possiamo trovare agenti [12]:

- stabilizzanti ed emulsionanti, che facilitano la dispersione di un liquido in un altro liquido creando miscele stabili;
- bagnanti, in grado di abbassare la tensione superficiale della soluzione pesticida rendendo più omogenea la sua distribuzione sull'organo trattato;
- adesivanti, che favoriscono il contatto del liquido con la superficie di uno specifico vegetale e che sono capaci, al contempo, di ridurre la tendenza al dilavamento;
- umettanti, utili per incrementare la persistenza del prodotto rallentandone l'evaporazione;
- antideriva, che accrescono il peso delle particelle acquose al fine di minimizzare la tendenza alla deriva;
- antischiuma.

Ogni sostanza aggiunta all'interno della formulazione complessiva possiede uno specifico tasso di tossicità più o meno elevato e, se dosata in maniera non adeguata, potrebbe addirittura interferire con il principio attivo vero e proprio del pesticida.

La legge vigente permette di non riportare in etichetta la composizione completa del formulato commerciale, lasciando le case produttrici libere di fornire le informazioni inerenti i composti addizionati solo all'interno delle schede di sicurezza del prodotto [14].

### *1.3 Tossicità dei pesticidi*

A causa dell'ampia varietà di formulazioni disponibili sul mercato, esistono oggi moltissime, e a volte inaspettate, modalità di contatto possibili tra i pesticidi e gli organismi animali o vegetali; risulta spesso complicato trovare correlazioni dirette tra l'azione di un pesticida e la manifestazione di determinate patologie o di anomalie ambientali, apparentemente inspiegabili.

Numerosi organi deputati alla salvaguardia dell'ambiente e alla tutela dei lavoratori e dei consumatori si sono dedicati con grande impegno, soprattutto negli ultimi anni, alla

realizzazione di studi inerenti l'azione tossica che i composti in esame possono esplicare nei confronti di organismi diversi dal solo bersaglio al quale dovrebbero rivolgersi. Il principale obiettivo è quello di comprendere, sempre più a fondo, le caratteristiche di ogni singola sostanza ed il suo meccanismo di azione, così da renderne via via più sicuro e sostenibile l'impiego.

### 1.3.1 Tossicità verso l'uomo

I pesticidi penetrano all'interno dell'organismo umano essenzialmente tramite via cutanea, inalatoria o orale; le proprietà chimico-fisiche del principio attivo, la morfologia del prodotto commerciale (polvere, granuli, liquido o gas) e le caratteristiche fisiologiche tipiche di ogni individuo (sudorazione, tendenza più o meno marcata alla vasodilatazione, presenza di lesioni cutanee...) fanno sì che una determinata via venga preferita rispetto alle altre.

Coloro che lavorano nel settore dell'agri/orticoltura sono sicuramente i soggetti più esposti all'azione nociva esplicita dai pesticidi dal momento che vi ricorrono quotidianamente. La fase ritenuta generalmente più critica è quella di preparazione e di diluizione del composto a partire dalla formulazione concentrata, subito seguita dalla fase di pulizia degli strumenti e dei recipienti utilizzati. Anche trasporto e stoccaggio possono rivelarsi fonti di pericolo di contaminazione, magari a causa di dispersioni accidentali [14].

Molti studi sono stati condotti al fine di determinare come l'esposizione continua o saltuaria ad uno specifico prodotto sia causa dell'insorgere di disturbi più o meno gravi. Numerose sono state le patologie riscontrate: si va dalle semplici reazioni cutanee ed irritazioni a malattie molto più invalidanti come il cancro (in particolare dell'apparato riproduttivo, del cervello, dei polmoni e della pelle), il diabete mellito, i disturbi dell'apparato neurologico (morbo di Parkinson, morbo di Alzheimer, sclerosi laterale amiotrofica) e le alterazioni del DNA, anche a livello fetale.

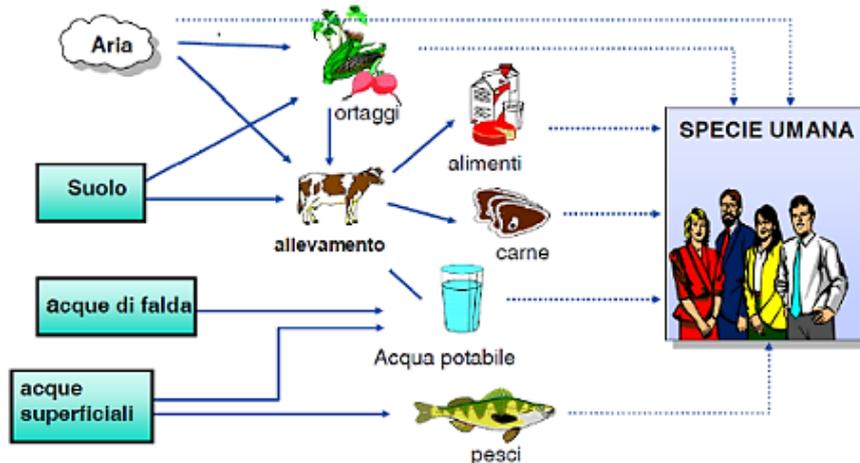
Risulta tuttavia piuttosto complicato determinare con chiarezza le modalità di contatto e le concentrazioni di pesticida più pericolose per i lavoratori; molto dipende dalla sensibilità e dallo stato di salute del singolo individuo, dalle operazioni che normalmente compie, nonché dall'ambiente stesso di lavoro [15].

Anche al di fuori del campo di impiego strettamente professionale si hanno molte possibilità di entrare in contatto con i pesticidi, sia per via diretta, tramite uso domestico o civile, sia per via indiretta, tramite la respirazione di aria inquinata o l'ingestione di acqua e alimenti contaminati.

I cibi di origine animale o vegetale, secondo le recenti direttive comunitarie, possono contenere quantità di residui di principi attivi (comprese le loro impurezze o i loro prodotti di metabolizzazione e degradazione) non superiori a determinate soglie massime: l'indicatore LMR (Limite Massimo di Residuo) esprime la massima quantità di sostanza che può entrare in contatto con l'uomo senza arrecargli alcun danno. Importante è però evidenziare il fatto che tali valori limite non tengono conto del concetto del multiresiduo, ossia della possibilità che l'alimento contenga in contemporanea più tipologie di residui, derivanti da pesticidi diversi e capaci di interagire tra loro in varie maniere: possono agire in modo indipendente senza che un composto interferisca con la tossicità di un altro; possono dare effetti additivi nel caso in cui i loro meccanismi di azione siano simili; possono creare effetti sinergici o di antagonismo a seconda che l'attività di un principio aiuti quella dell'altro o la ostacoli [16].

Il Ministero della Salute italiano ha pubblicato nel 2016 i risultati di uno studio inerente le quantità di residui di prodotti fitosanitari presenti all'interno di ortaggi, frutta, cereali, oli e

vini: il 53,7% dei campioni analizzati è risultato privo di residui, il 45,4% ne ha rivelato un contenuto entro i limiti imposti dalla normativa vigente e soltanto lo 0,9% dei campioni ha superato le soglie permesse. Tali numeri fanno riferimento ai semplici LMR, ma evidenziano comunque una situazione migliore rispetto a quella degli anni precedenti ed indicano che al momento si sta seguendo il giusto percorso per garantire la tutela dei consumatori; sono ancora possibili ampi margini di miglioramento, per esempio inerenti la creazione di un sistema armonizzato per quantificare oggettivamente la pericolosità data dal fenomeno del multiresiduo [17].



**Figura 1.2** Le vie di esposizione attraverso le quali l'uomo può venire a contatto con i pesticidi (fonte ECHA 2016).

I pesticidi possono provocare casi di intossicazione acuta, qualora essi esplicano la loro azione nociva al primo contatto con il soggetto, oppure, come avviene nella maggior parte dei casi, un'intossicazione cronica, nel caso in cui il danno alla persona si manifesti dopo mesi o anni di esposizione regolare e ripetuta alla sostanza.

Per quantificare il rischio a cui gli organismi animali sono esposti, sono stati formulati degli indici appositi tra cui la Dose Letale 50 e la Concentrazione Letale 50.

Il primo,  $DL_{50}$ , espresso in milligrammi di principio attivo per chilogrammo di peso corporeo, indica la dose di sostanza attiva che provoca la morte del 50% delle cavie, qualora venga loro somministrata per via orale o cutanea.

Il secondo,  $CL_{50}$ , espresso in mg/kg per solidi o liquidi e in  $mg/m^3$  per aerosol e vapori, indica la concentrazione di principio attivo che, somministrata per un determinato tempo tramite via inalatoria, provoca la morte del 50% della popolazione campione.

In entrambi i casi i risultati vengono poi riferiti all'essere umano per mezzo di opportuni parametri di correlazione; più i valori sono bassi, più il composto esaminato risulta tossico. Tra gli indicatori più importanti troviamo anche la DGA (Dose Giornaliera Ammessa), la quale esprime la massima quantità di composto, in mg, che può essere quotidianamente, e per tutta la vita, ingerita tramite alimenti senza apportare danni evidenti al consumatore.

Essa viene calcolata come segue:

$$\frac{NOAEL \times 70}{FS} \quad (1.1)$$

Il NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) indica la massima dose di sostanza che non causa effetti indesiderati; il termine FS (Fattore di Sicurezza) tiene conto delle differenze intrinseche esistenti tra un individuo e l'altro; il numero 70 si riferisce al peso medio di una persona [12].

### 1.3.2 Tossicità ambientale

I trattamenti effettuati per mezzo dei pesticidi, qualunque sia l'ambito di impiego a cui si fa riferimento, immettono nell'ambiente sostanze ad esso estranee capaci di interferire col delicato equilibrio inerente il complesso aria, acqua, suolo e organismi.

Il meccanismo tramite il quale i prodotti fitosanitari e i biocidi esplicano la loro azione, come già detto nella sezione 1.1, fa sì che vengano danneggiati anche esseri diversi dal target a cui sono di fatto rivolti: ciò comporta una grave perdita di biodiversità ed un impoverimento dei suoli nella loro parte biotica.

Può inoltre capitare che un composto altamente tossico per un gruppo di microrganismi, si riveli invece fonte di nutrimento ed energia per altre popolazioni che si svilupperanno ed accresceranno a scapito dei primi, andando così a marcare lo squilibrio ambientale generale.

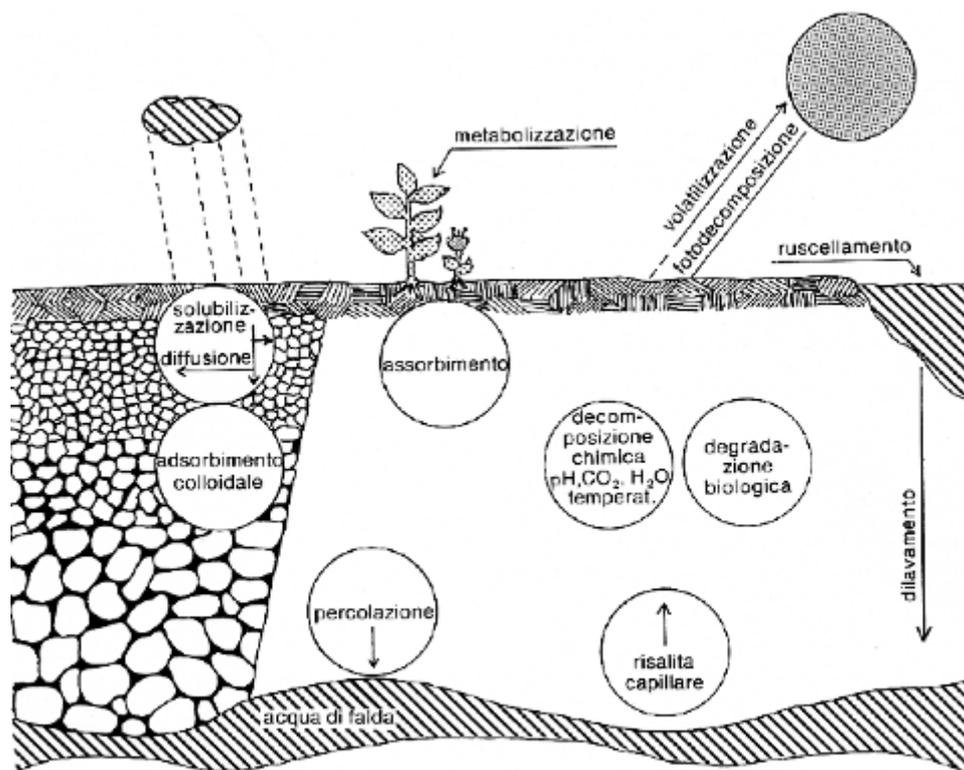
Negli ultimi anni numerosi studi si sono concentrati sulle alterazioni biologiche subite dalla fauna terrestre ed ittica a seguito di un qualsivoglia contatto con i pesticidi.

Chiara indizio dell'azione deleteria da loro esplicata è l'attuale e crescente moria di api dovuta all'utilizzo spesso sconsiderato dei neonicotinoidi, antiparassitari utili per la concia delle sementi del mais. Per quanto tali insetti siano sovente oggetto di scarsa considerazione, in realtà si è scoperto che il loro stato di salute rispecchia lo stato di salute dell'ecosistema in cui vivono; nella Terra dei Fuochi essi vengono oggi sfruttati come veri e propri indicatori biologici capaci di rilevare la presenza di veleni nell'ambiente [16].

La riduzione di alcune popolazioni batteriche e microbiche ad opera del diserbante glifosato, presente nei terreni in cui esse si sviluppano e crescono, è un altro valido esempio inerente l'argomento. Tale erbicida provoca danni non soltanto agli organismi unicellulari, ma pure a quelli multicellulari, vertebrati o invertebrati, dalle alghe ai molluschi, dai rettili o anfibi fino ai mammiferi; i disturbi riscontrati sono vari, ma perlopiù si concentrano sul sistema nervoso o riproduttivo e sull'inibizione della corretta sintesi proteica [18].

Alterazioni indesiderate inoltre possono manifestarsi a seguito di fenomeni quali: la deriva del pesticida verso altri raccolti limitrofi, il suo ruscellamento in superficie dovuto all'azione di trasporto esercitata dall'acqua proveniente dalle irrigazioni o dalle precipitazioni, la sua percolazione nelle profondità del terreno con conseguente contaminazione delle falde acquifere, la sua degradazione in composti a volte ancor più tossici [12].

Le aree più soggette all'azione deleteria dei pesticidi sono senza dubbio quelle dedicate ad una monocoltura; l'utilizzo ripetuto dello stesso formulato spesso opera una vera e propria selezione naturale sugli organismi bersaglio stessi che, col passare del tempo, sviluppano una sorta di tolleranza nei confronti del prodotto usato diventandone via via più resistenti.

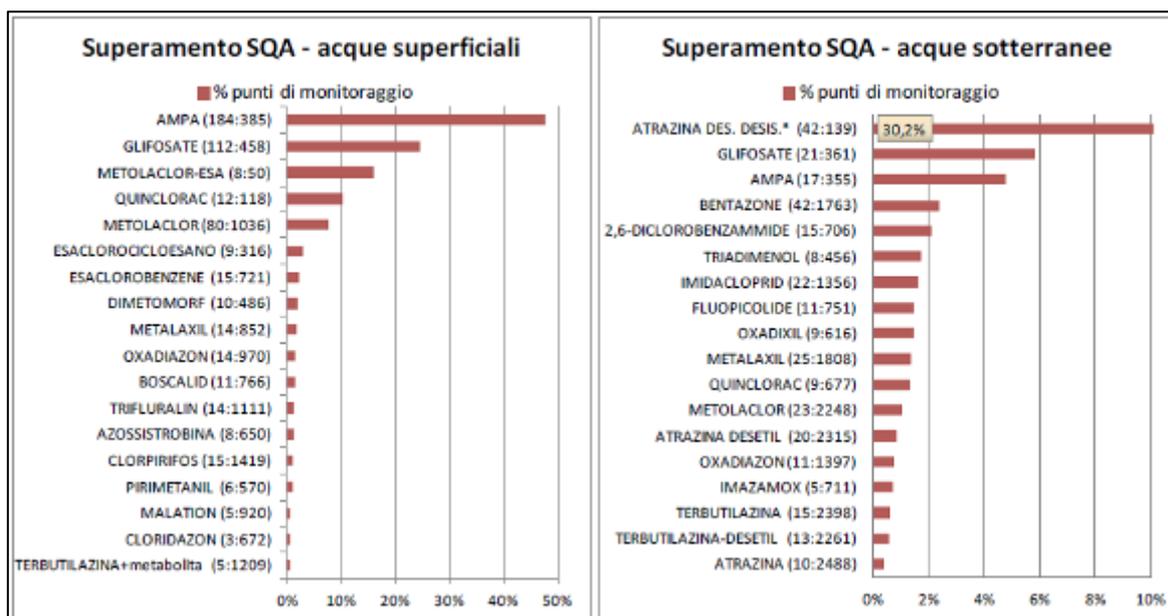


**Figura 1.3** Schema dei principali processi di dispersione di un pesticida nel suolo [19].

Prova inconfutabile dell'inquinamento provocato dall'impiego irrazionale dei pesticidi è rappresentata dagli ultimi risultati pubblicati dall'ente italiano ISPRA (Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale) inerenti l'indagine effettuata nel biennio 2015-2016 atta a rintracciare e quantificare sostanze nocive all'interno delle acque del territorio nazionale.

Sono stati analizzati 17275 campioni provenienti da 4683 punti di raccolta distribuiti in tutta l'Italia (eccetto la regione Calabria che non ha fornito materiale): il 67% delle acque superficiali ed il 33,5% di quelle sotterranee hanno mostrato tracce di pesticidi, dell'ordine di  $\mu\text{g/L}$ ; i limiti massimi imposti dalla normativa sono stati superati in 631 punti di monitoraggio, equivalenti al 32,2% del totale.

In complesso sono state rintracciate ben 259 sostanze attive diverse, con una forte preponderanza di quelle derivanti dagli erbicidi in quanto, essendo direttamente distribuiti sul suolo, essi tendono ad essere trasportati più rapidamente all'interno dei corpi idrici dislocati in superficie o in profondità [1].



**Figura 1.4** Sostanze che con maggiore frequenza presentano concentrazioni superiori agli Standard di Qualità Ambientale [1].

### 1.4 La legislazione sui pesticidi

Un qualsiasi pesticida, prima di essere disponibile per la vendita, deve essere sottoposto ad una serie di valutazioni tossicologiche, agronomiche ed ambientali che ne dimostrino l'idoneità e la relativa mancanza di pericolosità.

Gli studi necessari alla registrazione ed autorizzazione di un prodotto vengono oggi effettuati da diversi organi competenti, ognuno deputato all'analisi di un aspetto particolare della questione; tra i principali compaiono:

- l'EFSA (European Food Safety Authority), che salvaguarda la salute dei consumatori dell'Unione Europea occupandosi di stabilire quali analisi effettuare su una specifica sostanza per determinarne le proprietà e i valori massimi consentiti (LMR);
- lo IARC (International Agency for Research on Cancer), una sotto-agenzia del WHO (World Health Organization) che realizza studi volti a classificare vari agenti chimici, fisici e biologici in base alla loro tendenza a causare l'insorgere di patologie cancerogene;
- l'EPA (Environmental Protection Agency), agenzia federale del governo americano che si occupa di finanziare ed effettuare le ricerche inerenti la tutela dell'uomo e dell'ambiente, nonché di definire le classi tossicologiche a cui i pesticidi appartengono e le norme a cui sottostare per impiegarli responsabilmente;
- l'ECHA (European Chemical Agency), che offre alle aziende consulenza e informazioni circa le proprietà dei vari composti chimici, il loro utilizzo sicuro e la legislazione ad essi relativa.

Gli Enti sopracitati, assieme ad altri, collaborano tra loro allo scopo di realizzare un corpo completo di studi, privo di inutili ripetizioni, e di creare una normativa il più possibile armonizzata, ossia valida tanto negli Stati membri dell'UE, quanto negli Stati extracomunitari; così facendo si promuove la libera circolazione dei formulati commerciali e degli alimenti che ne hanno previsto l'impiego in fase di produzione.

In linea di massima, l'autorizzazione rilasciata per un determinato prodotto ha una scadenza (in genere dieci anni) dopo la quale è necessario svolgere nuove analisi di conferma. Gli studi sull'argomento sono tuttavia continuativi e molto spesso non si aspetta di raggiungere il termine imposto dalla scadenza per decidere di ritirare una sostanza dal mercato, se mai le ultime indagini ne avessero scoperto una potenziale pericolosità.

Al momento esiste un gruppo di direttive piuttosto consistente relativo le modalità di utilizzo e compra-vendita dei vari pesticidi, per cui capita di frequente che il medesimo composto debba sottostare a due o più normative differenti e possa essere impiegato in alcuni settori, ma non in altri.

Un primo passo per tentare di omogeneizzare la legislazione in esame è stato fatto considerando che l'azione di un prodotto fitosanitario o di un biocida dipende fortemente dal terreno su cui viene adoperato; l'UE è stata pertanto suddivisa in tre zone aventi condizioni climatiche, agricole ed ambientali simili: la zona Nord con gli Stati scandinavi e baltici; la zona Sud comprendente l'Italia, la Bulgaria, la Grecia, la Spagna, la Francia, Cipro e Malta; la zona del Centro che accoglie tutti gli Stati membri restanti [12].

Ovviamente ogni singolo Paese ha la piena facoltà, qualora lo reputi necessario, di non autorizzare pesticidi concessi in altre zone appartenenti alla medesima fascia.

L'Unione Europea si basa al momento su quanto specificato principalmente da [20]:

- il Regolamento (CE) N.396/2005, che fissa i limiti massimi di residui di antiparassitari rintracciabili all'interno di prodotti di origine vegetale o animale destinati a diventare alimenti o mangimi;
- il Regolamento (CE) N.1272/2008, relativo all'armonizzazione dei criteri di classificazione, etichettatura ed imballaggio (regolamento CLP) di qualsiasi sostanza, con particolare attenzione rivolta a quelle persistenti, bioaccumulanti e tossiche;
- il Regolamento (CE) N.1107/2009, che stabilisce le norme inerenti l'autorizzazione, l'immissione sul mercato, l'impiego e il controllo dei formulati commerciali tal quali, dei principi attivi, degli antidoti agronomici, dei coadiuvanti e coformulanti; lascia ogni Stato membro libero di applicare il Principio di Precauzione su composti autorizzati;
- la Direttiva 1998/93/CE, che impone i requisiti minimi necessari per poter definire un'acqua "potabile"; i livelli massimi consentiti nell'acqua sono pari a 0,1 µg/L per un singolo pesticida e a 0,5 µg/L nel caso della presenza di più pesticidi;
- la Direttiva 2008/105/CE, che istituisce gli standard di qualità ambientale (SQA) relativi ai corpi idrici superficiali ed al loro ecosistema;
- la Direttiva 2009/128/CE, che promuove l'uso sostenibile dei pesticidi tramite il ricorso alla difesa integrata o al Piano di Azione Nazionale (recepito in Italia nel 2014).

Le prescrizioni elencate rappresentano una piccola parte del grande corpus di norme costituenti la legislazione relativa ai pesticidi; esse hanno subito nel tempo revisioni e rettifiche, ma l'argomento base a cui fanno riferimento si è mantenuto costante.

### *1.5 Impiego sostenibile dei pesticidi*

Il costante progresso in ambito chimico-biologico e la possibilità di effettuare un numero consistente di studi mirati hanno fatto sì che, negli ultimi anni, avvenisse una presa di coscienza collettiva inerente la necessità di tutelare l'intero ecosistema dall'azione spesso nociva dei pesticidi.

Le tecniche messe oggi in atto allo scopo di ridurre l'impatto ambientale dei prodotti fitosanitari e dei biocidi sono davvero numerose e si va dalle più semplici, dettate dal mero buon senso, alle più strutturate, frutto delle ultime scoperte avvenute in campo scientifico.

Un esempio delle strategie applicate è stato il passaggio dalla “lotta a calendario”, in cui i trattamenti venivano effettuati a cadenza prefissata senza accertarsi prima della effettiva presenza del parassita o delle condizioni epidemiologiche favorevoli al suo sviluppo, alla “lotta guidata”, in cui si agisce solo se si raggiungono determinate soglie di intervento.

Sviluppi successivi hanno portato alla “lotta integrata”, nella quale si ricorre alla coordinazione di mezzi di difesa contro l'organismo indesiderato (mezzi biologici, biotecnici, chimici e di selezione vegetale) e alla “difesa biologica”, che prevede un'approfondita conoscenza dell'agro-sistema su cui si va ad operare, nonché la totale esclusione di prodotti di sintesi.

Diventa dunque essenziale sapere, tra le molte cose, quali sono i fattori climatici in gioco, quali specie o varietà sono meno sensibili a determinate avversità, quali sono i periodi di semina più opportuni per sfasare la crescita della pianta rispetto a quella del patogeno, quali sono i periodi di maggior vulnerabilità dell'organismo nocivo.

Importante è anche favorire la conservazione e l'incremento delle specie ausiliarie che possono aiutare a difendere le coltivazioni dai parassiti in maniera assolutamente naturale.

Al fine di limitare l'uso sconsiderato dei pesticidi, sintetici o meno, questi tipi di tecniche prendono in considerazione la soglia economica, ovvero il numero di patogeni da non superare per non avere un reale danno economico.

Molto importante, in relazione all'impiego razionale e sostenibile dei prodotti fitosanitari, è ricordare l'esistenza del PAN (Piano di Azione Nazionale), introdotto in Italia col Decreto Ministeriale del 22 gennaio 2014 come applicazione della Direttiva 2009/128/CE e del Decreto Legislativo 150/2012.

Scopo primario del PAN è sensibilizzare coloro che lavorano nel settore agricolo, ma non soltanto, riguardo la necessità di impiegare i pesticidi nella maniera più corretta e sicura possibile.

Il documento fornisce indicazioni precise circa le normative al momento vigenti e le modalità di spargimento consentite (è vietata l'irrorazione aerea, salvo casi particolari), regola il rilascio e il rinnovo del certificato di abilitazione all'acquisto e all'uso dei prodotti fitosanitari, istruisce gli operatori sull'importanza dei dispositivi di protezione individuale e su argomenti quali lo stoccaggio o lo smaltimento dei vari formulati.

L'obiettivo è informare l'intera comunità circa la concreta possibilità di minimizzare il ricorso ai pesticidi attraverso semplici accortezze, una più vasta conoscenza dell'ambiente su cui si opera e l'utilizzo di tecniche più avanzate e compatibili col territorio, ambiente acquatico compreso [12].

Di grande utilità per lo sviluppo dell'agricoltura biologica e biodinamica sono i biopesticidi, risultato degli studi effettuati in ambito della green chemistry e protagonisti di un mercato in continua espansione, con una crescita annua di circa il 10%.

I biopesticidi, esclusivamente di origine naturale, sono suddivisi dall'EPA in tre classi basate sul principio attivo che li caratterizza: microbici, biochimici e “plant-incorporated protectants” (derivati da tecnologia transgenica).

I primi contengono microrganismi come batteri o funghi (spore comprese); i secondi sono sostanze chimiche estratte da fonti naturali oppure, in alternativa, sintetizzate in modo tale da replicarne alla perfezione la struttura e le funzioni; i terzi derivano da piante che hanno subito un'alterazione genetica proprio allo scopo di produrre i composti in esame.

Come per i pesticidi sintetici, tuttavia, anche i biopesticidi possono essere classificati in svariate maniere, per esempio in base al meccanismo d'azione o all'organismo bersaglio.

Proprio in relazione a quest'ultimo, si può dire che molto spesso i biopesticidi agiscono unicamente contro l'essere target senza dunque risultare pericolosi o deleteri per altre specie e per l'uomo; essi contribuiscono alla salvaguardia della biodiversità poiché, in genere, non portano alla completa eliminazione del patogeno, ma semplicemente ne riducono la quantità presente al di sotto di una determinata soglia, in modo che i loro predatori possano continuare a cibarsene: il corretto svolgersi della catena alimentare è garantito.

Unico svantaggio connesso ai biopesticidi è che, degradandosi facilmente e rapidamente, essi hanno una scarsa persistenza nel suolo: risulta pertanto necessario effettuare i trattamenti sul terreno più volte rispetto a quanto si farebbe se si impiegassero i normali pesticidi di sintesi [21].

**Tabella 1.2** Vantaggi e svantaggi relativi all'uso dei biopesticidi rispetto all'impiego dei pesticidi convenzionali [14].

Benefits	Disadvantages
Less toxic	Short shelf life
Biodegrade more quickly	Limited field persistence
More targeted to specific pest	Narrower target range
Specific mode of action	Specific mode of action
Manage rather than eradicate (maintain ecological balance)	Slower acting (slower kill rate)

### 1.5.1 Il rilascio controllato dei pesticidi

Ai fini della riduzione della quantità di prodotti fitosanitari e di biocidi utilizzati, negli ultimi anni si è fatta strada una nuova strategia basata sul rilascio controllato dei pesticidi.

Tale tecnica è stata già ampiamente sviluppata in ambito biomedico per la somministrazione dei farmaci; incorporare un determinato principio attivo all'interno di una matrice opportuna comporta numerosi vantaggi: l'aumento della probabilità che la sostanza raggiunga il sito su cui deve agire senza disperdersi in altre parti del corpo; la maggior stabilità del principio attivo, che non subisce biodegradazione durante la fase di trasporto; la riduzione della tossicità del composto somministrato e degli effetti collaterali ad esso connessi; l'incremento dell'efficacia del farmaco con conseguente diminuzione delle dosi necessarie [22].

Sulla base dei vantaggi elencati, si è pensato di poter ottenere risultati analoghi nel settore dei pesticidi. Limitare la loro cinetica di rilascio in suolo, infatti, consente di ridurre le probabilità

che il principio attivo subisca fenomeni di degradazione chimica o microbiologica, di fotolisi ed idrolisi, di percolazione, di volatilizzazione ed evaporazione: la sostanza viene rilasciata più gradualmente nel terreno, il suo livello di concentrazione ottimale si mantiene più costante nel tempo, si ha maggiore persistenza in campo nonché una maggiore selettività nei confronti del solo organismo bersaglio.

La riduzione delle quantità di prodotto necessario ai vari trattamenti consente di ottenere benefici in termini economici e di salvaguardia ambientale, ma pure di sicurezza poiché il passaggio da un formulato generalmente liquido ad uno prettamente solido ne facilita trasporto e stoccaggio e ne limita l'infiammabilità [23].

In entrambi i settori, quello legato ai farmaci e quello connesso ai pesticidi, scopo primario del rilascio controllato è ridurre la cinetica di rilascio dei principi attivi coinvolti.

In linea generale, si tenta di ottenere una prima rapida distribuzione del composto nell'ambiente scelto, per poi arrivare in un secondo tempo ad una cinetica più lenta che permetta di mantenerne la concentrazione costante il più a lungo possibile [24].

Sono disponibili numerosi modelli matematici e statistici, dotati di opportuni parametri e coefficienti correttivi, che consentono di elaborare i dati sperimentali tenendo conto di tutte le variabili di processo e delle proprietà caratteristiche di ogni materiale.

Uno dei modelli più utilizzati è sicuramente quello ideato da Higuchi nel 1961 che suddivide il processo di rilascio in tre stadi principali: una fase di adattamento durante la quale l'acqua (o un qualsiasi altro fluido usato come mezzo di rilascio) penetra nei pori della matrice e dissolve parzialmente il principio attivo; una fase di sostanziale equilibrio tra l'acqua in ingresso e il composto in uscita; un ultimo stadio con cinetica ridotta a causa dell'esaurimento della sostanza all'interno del granulo da cui ormai è già fuoriuscito quasi del tutto [25].

Al fine di raggiungere gli obiettivi citati è essenziale scegliere con cura le matrici adeguate in cui incapsulare le molecole di farmaco o di pesticida.

I supporti devono presentare requisiti e proprietà diverse a seconda dell'applicazione a cui sono destinati; se nel campo della biomedicina è importante impiegare materiali biocompatibili, facilmente degradabili dall'organismo umano e che non causino effetti indesiderati al paziente, nel settore dei prodotti fitosanitari e dei biocidi risulta invece necessario focalizzare l'attenzione su matrici compatibili con i differenti tipi di suolo.

In entrambi gli ambiti i supporti devono garantire la stabilità del principio attivo che contengono e favorirne il trasporto verso il sito di azione, devono avere una tossicità nulla o molto bassa, devono essere economici e facilmente reperibili.

Tra le numerose sostanze adoperate per i farmaci troviamo quelle a base polimerica, i poliidrossialcanoati, il chitosano ed il sodio-alginato, i liposomi, composti ceramici e vetrosi, l'ossido di zinco. Quest'ultimo, in particolare, viene utilizzato con frequenza vista l'ampia varietà di forme sotto le quali si può presentare (nanosfere e nanoparticelle, strutture lamellari, allungate o circolari a disco) e dato il fatto che esso è uno dei cinque ossidi metallici giudicati sicuri per la salute umana ed approvati dall'US Food and Drug Administration [26].

Anche per il settore dei pesticidi si ricorre a polimeri preferibilmente non sintetici, come etilcellulosa, lignina, amido, chitosano e calcio-alginato, ma è possibile ricorrere ad infiniti altri supporti, tra cui argille (bentoniti, montmorilloniti) e carbone attivo [27].

Alcune matrici, spesso adeguatamente modificate, possono essere utilizzate in entrambi i campi: è il caso di composti silicati come le zeoliti, dotate di una porosità interna definita ed omogenea, nonché di una struttura cristallina formata da tetraedri di  $\text{SiO}_4$  e  $\text{AlO}_4$  che donano

al supporto buone capacità di scambio ionico.

Tra le silici più adottate troviamo quelle mesoporose come la MCM-41 per la quale, in letteratura, sono reperibili moltissimi esempi inerenti l'uso che se ne può fare.

Tale silice, in ambito biomedico, funzionalizzata con (3-amminopropil)trietossisilano (APTES), è stata utilizzata come matrice per farmaci chemioterapici come il cisplatino [28] oppure anti-infiammatori non steroidei come l'ibuprofene [29]; in entrambi i casi la presenza dei gruppi funzionali inseriti,  $-NH_2$  e  $-COOH$ , ha originato interazioni elettrostatiche tra supporto e farmaco (più forti dei semplici legami a idrogeno normalmente coinvolti nel processo) e ha reso così possibile incrementare sia la percentuale di principio attivo incorporata nella matrice, sia i tempi di rilascio del medesimo nell'ambiente predisposto per simulare le condizioni interne all'organismo umano.

Le prove condotte sul materiale non modificato hanno anch'esse dimostrato, seppur con meno evidenza, come l'incapsulare una sostanza all'interno della silice ne riduca la cinetica di rilascio rispetto all'impiegare il farmaco tal quale, senza carrier; ciò avviene perché anche così la matrice rappresenta una discreta barriera fisica alla diffusione del composto verso l'esterno.

Risultati analoghi sono stati raggiunti utilizzando la MCM-41 come supporto di vari pesticidi, tra cui il paraquat [30] e il triazolone [31]; anche per questi prodotti si è notato un rilascio più graduale nel tempo, indice della flessibilità con cui questa silice, ma in generale questa tecnica, può essere efficacemente adoperata allo scopo di ottenere gli obiettivi prefissati.

Attualmente, quasi tutti i pesticidi presenti sul mercato sono stati oggetto di studi inerenti il loro rilascio controllato a partire dai supporti più svariati. Ricordiamo, a scopo dimostrativo, che si è valutato come il paraquat, erbicida di natura cationica, si comporta previo inglobamento in membrane polimeriche di polivinilalcol, più o meno reticolate tramite glutaraldeide [32], oppure in strutture a base di chitosano e sodio tripolifosfato [33]. Queste ultime sono state impiegate pure per il diserbante acido 2,4-diclorofenossiacetico, per il quale, inoltre, si è esaminata la cinetica di rilascio a partire da particelle nanoassorbenti (ricavate dagli scarti e dagli involucri dei chicchi di riso) [34], oppure da zeoliti e bentoniti minerali modificate con appositi tensioattivi [35].

Gli studi qui riportati aiutano a capire come la tecnica del rilascio controllato offra pressoché infinite formulazioni possibili; è un ramo di ricerca in costante evoluzione, sul quale oggi si sta molto investendo al fine di rendere l'utilizzo dei pesticidi sempre più sostenibile, ma comunque capace di soddisfare le richieste degli operatori del settore.



## 2. Il Glifosato

### 2.1 Cenni generali

Il glifosato (N-(fosfonometil)glicina) è un erbicida fogliare, sistemico e non selettivo di post-emergenza: “fogliare”, poiché viene assorbito in via preliminare dalle parti verdi delle piante su cui agisce; “sistemico”, in quanto diffonde dall'esterno verso l'interno del vegetale così da poterne attaccare con precisione i punti responsabili della crescita o della sintesi di aminoacidi essenziali; “non selettivo”, perché esplica indistintamente la propria azione contro qualsiasi pianta in attiva sintesi clorofilliana e, in alcuni casi, anche contro funghi e batteri [36].

La prima sintesi del glifosato venne effettuata nel 1950 dallo svizzero Henri Martin, ricercatore presso la piccola azienda farmaceutica Cilag, ma non fu possibile individuare nessuna possibile applicazione del composto in ambito medicale; la molecola del principio attivo fu così venduta a svariate altre compagnie e fu sottoposta a test e studi finché nel 1970, presso la statunitense Monsanto, i chimici Phil Hamm e John Franz ne scoprirono le proprietà erbicide nei confronti delle piante infestanti sia perenni, sia annuali [37].

Nel 1974 fu messo in commercio “Roundup®”, il primo diserbante a base di glifosato; da allora la Monsanto, detentrica del monopolio di produzione fino agli inizi del 2000, si è prodigata per sviluppare formulazioni sempre più efficaci, obiettivo raggiunto soprattutto tramite l'aggiunta di opportuni tensioattivi e coformulanti che rendono più rapido l'assorbimento del pesticida attraverso la superficie fogliare e ne facilitano il trasporto all'interno del vegetale [36].

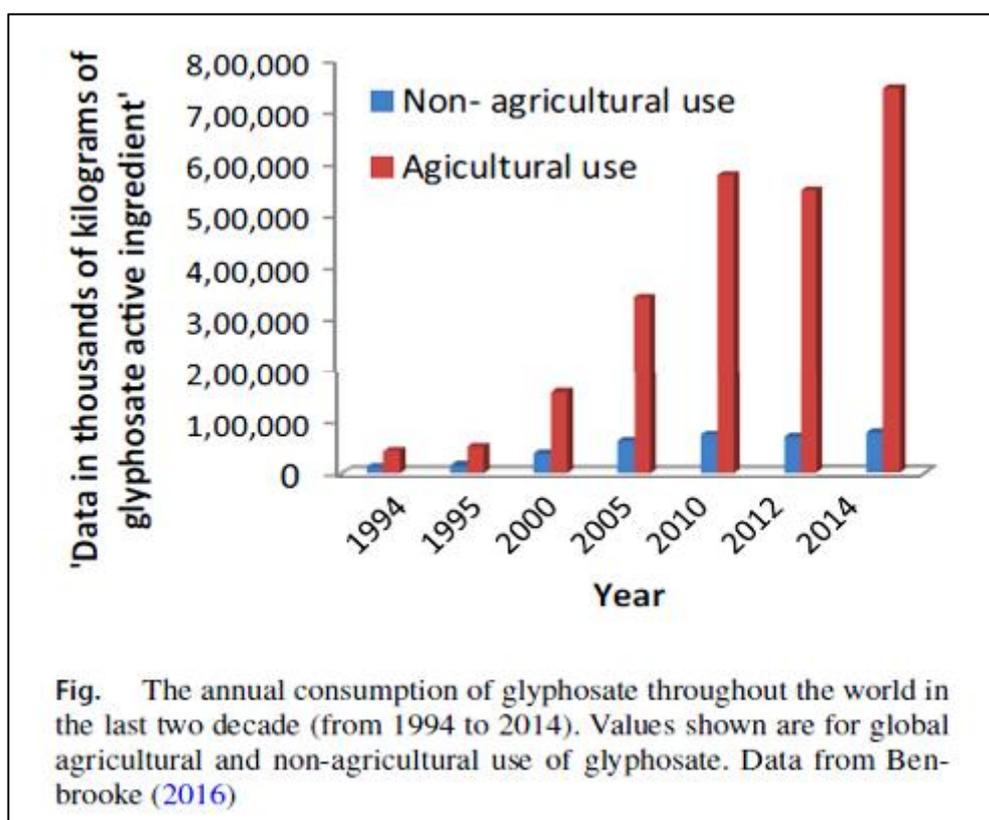


**Figura 2.1** Alcune delle formulazioni Roundup® disponibili sul mercato.

Dato l'ampio spettro di azione del glifosato, oggi esso viene utilizzato non soltanto nel settore agricolo, ma pure in ambito civile e domestico; viene impiegato per controllare la crescita delle infestanti tanto nei terreni adibiti alla coltivazione di cereali, ortaggi ed alberi da frutto, quanto nei campi incolti, nelle aree industriali oppure nella prossimità di argini e fossi.

Dal 1995 al 2014 l'uso a livello mondiale di tale pesticida è incrementato di circa 12 volte, passando da 67 a 826 milioni di kg annui richiesti. Allo stato attuale, essendo ormai scaduto il brevetto detenuto dalla compagnia Monsanto, l'elevata domanda di prodotto viene soddisfatta da decine di aziende che hanno registrato ognuna la propria particolare formulazione sotto vari nomi come, ad esempio, "Touchdown<sup>®</sup>" della svizzera Syngenta oppure "GlyphoMAX<sup>®</sup>" della Dow AgroSciences LLC di Indianapolis [38].

Interessante è evidenziare che oggi ben il 40% della produzione mondiale di glifosato avviene in Cina, Paese favorito dalla concomitanza di fattori quali la disponibilità di manodopera a basso costo, l'aumento degli investimenti relativi agli impianti chimici e l'abbondanza di materie prime disponibili sul territorio.



**Figura 2.2** Utilizzo globale del glifosato per uso agricolo e non dal 1994 al 2014 [18].

Il glifosato, come tutti gli erbicidi, ha come principale scopo quello di eliminare le piante infestanti che, pur non esplicando una vera e propria azione patogena nei confronti dei vegetali coltivati, tuttavia interferiscono con la loro crescita sia sottraendo ad essi sostanze nutritive, luce ed acqua, sia ospitando afidi e parassiti che potrebbero diffondersi nei campi.

L'ampio ricorso al glifosato quale diserbante è giustificato da alcuni vantaggi specifici che il suo impiego presenta come, ad esempio, la possibilità di limitare la lavorazione meccanica dei terreni dedicati alle coltivazioni. Questi ultimi, difatti, vengono generalmente preparati alla semina per mezzo di ripetuti passaggi di macchinari deputati all'aratura o alla vangatura,

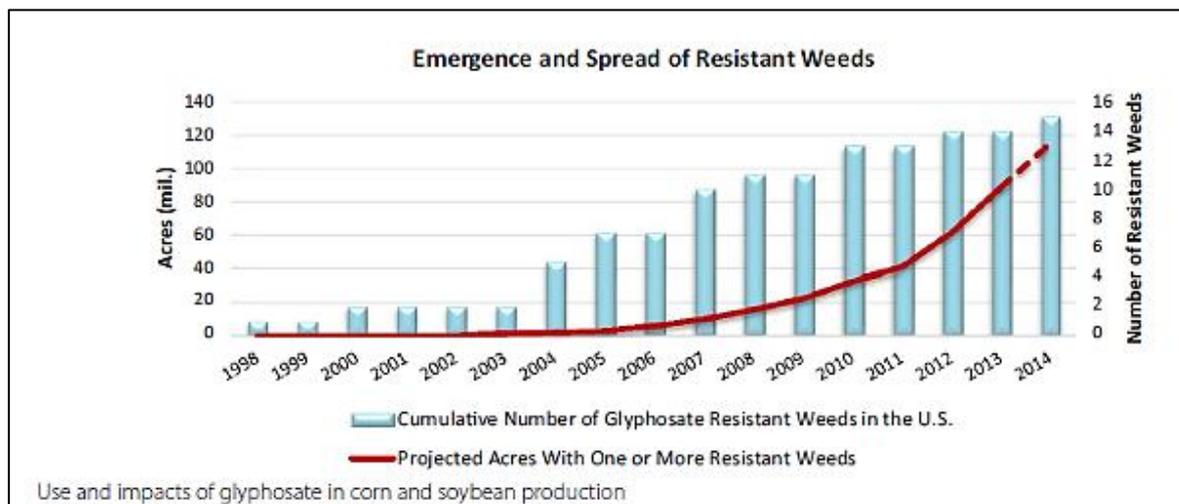
macchinari che erodono il suolo, ne modificano la struttura provocando una troppo rapida mineralizzazione della sostanza organica in esso presente e lo comprimono impedendo la corretta permeazione dell'acqua al suo interno.

L'utilizzo del pesticida in esame, capace di controllare un vasto numero di malerbe in maniera sistematica dalle foglie fino alle radici, permette di ridurre la necessità di operare meccanicamente sul terreno garantendone la protezione e, al contempo, riducendo l'impiego di mezzi agricoli e di combustibili fossili, nonché le emissioni di CO<sub>2</sub> [39].

Nonostante i vantaggi menzionati, l'uso intensivo del glifosato ha portato alla nascita di svariati problemi tra i quali, ad esempio, la naturale crescita di piante resistenti a tale principio attivo; nel tentativo di debellare queste nuove specie si è costretti ad utilizzare quantità via via crescenti di erbicida.

Negli ultimi anni, per consentire agli agricoltori di irrorare i campi in maniera rapida e diretta, sono stati prodotti vegetali geneticamente modificati capaci di opporre resistenza all'azione esplicata dal glifosato; il diserbante può essere distribuito su tutta l'area indiscriminatamente, col risultato di eliminare tutte le infestanti senza correre il rischio di rovinare le coltivazioni.

Tali piante prendono il nome di “Roundup Ready” (RR); tra queste compaiono colture di soia, mais e cotone, le quali si sono molto diffuse soprattutto in Nord e Sud America dopo che ne è stata legalizzata la semina nel 1996 [40].



**Figura 2.3** Andamento della crescita del numero di specie vegetali RR e degli acri dedicati alla loro coltivazione (negli USA) [38].

L'impiego così poco razionale del glifosato presenta forti ripercussioni per ciò che concerne la salute degli individui più o meno esposti alla sua azione e la salvaguardia dell'ambiente. L'erbicida in questione può essere ottenuto tramite tre principali metodi di sintesi, ognuno operante con differenti materie prime o composti intermedi: la scelta di una via piuttosto che un'altra rappresenta un primo passo per ridurre la tossicità connessa al glifosato fin dalla sua produzione.

Il primo processo di sintesi del pesticida prevede l'impiego di gas naturale ed ammoniaca per la formazione di HCN, acido che reagisce poi con la formaldeide per dare cianoidrina; questa a sua volta reagisce nuovamente con ammoniaca per formare l'imminodiacetonitrile (IDAN). L'IDAN viene idrolizzato in una soluzione acquosa di idrossido di sodio per dare l'acido disodio-imminodiacetico (DSIDA) che, assieme a cloruro di fosforo e metanale, consente di

ottenere l'acido N-fosfonometil-imminodiacetico. Quest'ultimo subisce infine un'ossidazione che lo trasforma in glifosato.

Il secondo metodo di produzione parte invece dalla reazione dell'ossido di etilene con ammoniaca liquida per dare come risultato una miscela di mono/di/tri-etanolammina (MEA, DEA e TEA); tramite un catalizzatore a base di rame, la DEA viene ossidata ad acido disodio-imminodiacetico. Gli stadi successivi del processo sono analoghi a quello precedentemente descritto.

La terza via di sintesi, infine, vede una prima fase di depolimerizzazione della paraformaldeide in metanolo anidro, seguita da una reazione del prodotto con dimetil-fosfonato e glicina; l'idrossimetilglicina così ottenuta è addizionata di acido cloridrico concentrato al 31% in volume che, in combinazione con un opportuno riscaldamento, rimuove il gruppo idrossimetilico ed idrolizza l'estere fosfonico: come risultato si ottiene il glifosato [41].

Dal punto di vista strettamente tossicologico, si è stimato che il valore di  $DL_{50}$  associabile ai singoli processi è pari a 26 per il primo, 28 per il terzo e 35 per il secondo. Essendo il valore relativo al metodo DEA il più elevato tra i tre, tale metodo risulta essere il più sicuro e sostenibile. In aggiunta, necessitando di un minor numero di passaggi rispetto a quelli richiesti dai processi alternativi, esso si dimostra operativamente il meno complesso.

Scegliere di produrre glifosato tramite questo metodo, dunque, può rivelarsi utile ai fini di una maggiore salvaguardia ambientale; tuttavia è importante tener conto anche dei costi totali ad esso legati, della sua efficienza e della sua richiesta energetica: è essenziale trovare un buon compromesso tra tutti i fattori coinvolti [42].

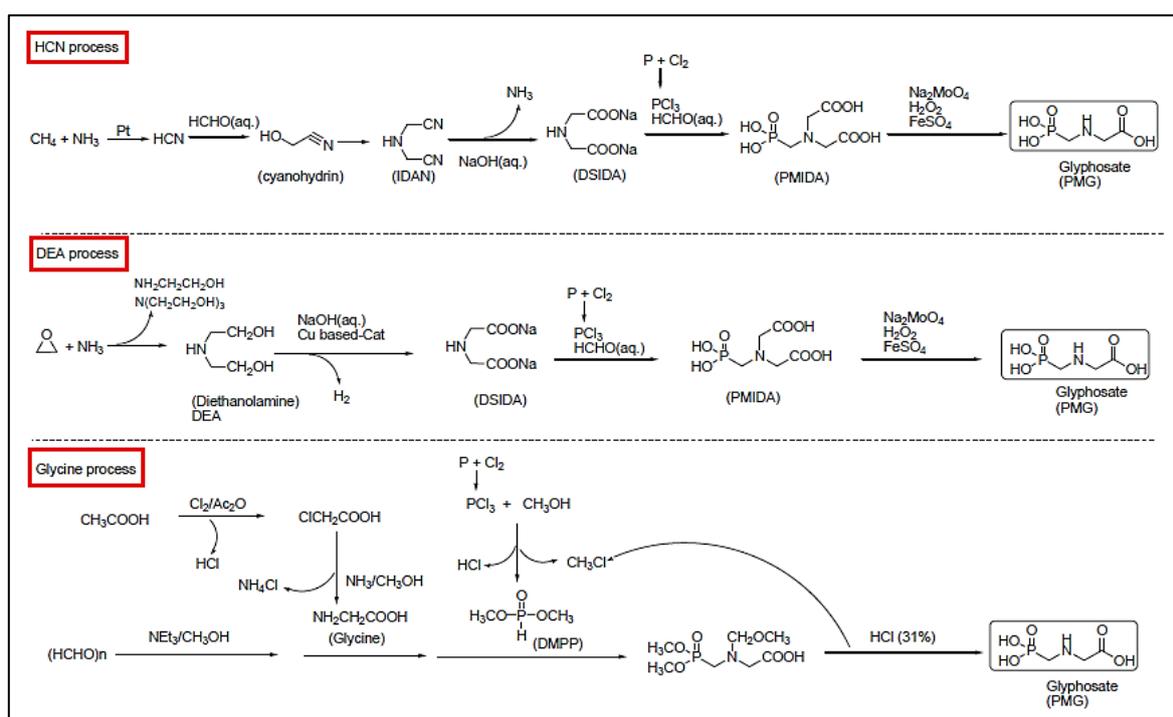
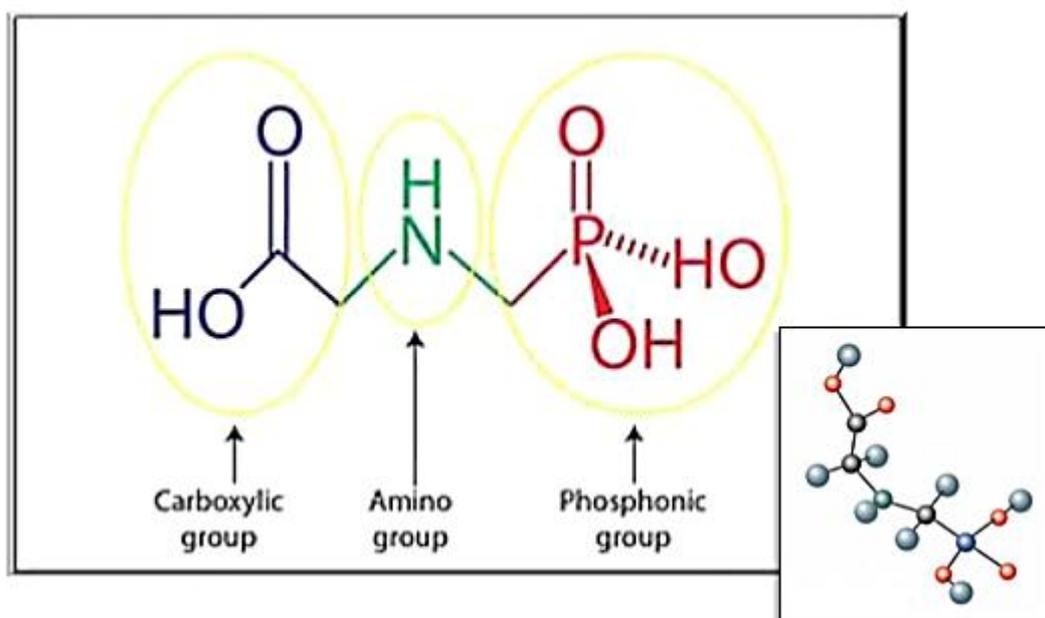


Figura 2.4 Tre dei possibili metodi di sintesi del glifosato [41].

Per un'analisi più approfondita circa la tossicità inerente il glifosato si rimanda al capitolo 2.4.

## 2.2 Struttura e proprietà chimico-fisiche

Il glifosato, che esteriormente si presenta come una fine polvere bianca, è una molecola fosfororganica polare caratterizzata da tre gruppi funzionali principali, uno carbossilico, uno amminico ed uno fosfonico. Soltanto l'esistenza di un legame azoto-fosfometile differenzia la sua struttura chimica da quella analoga dell'amminoacido glicina.



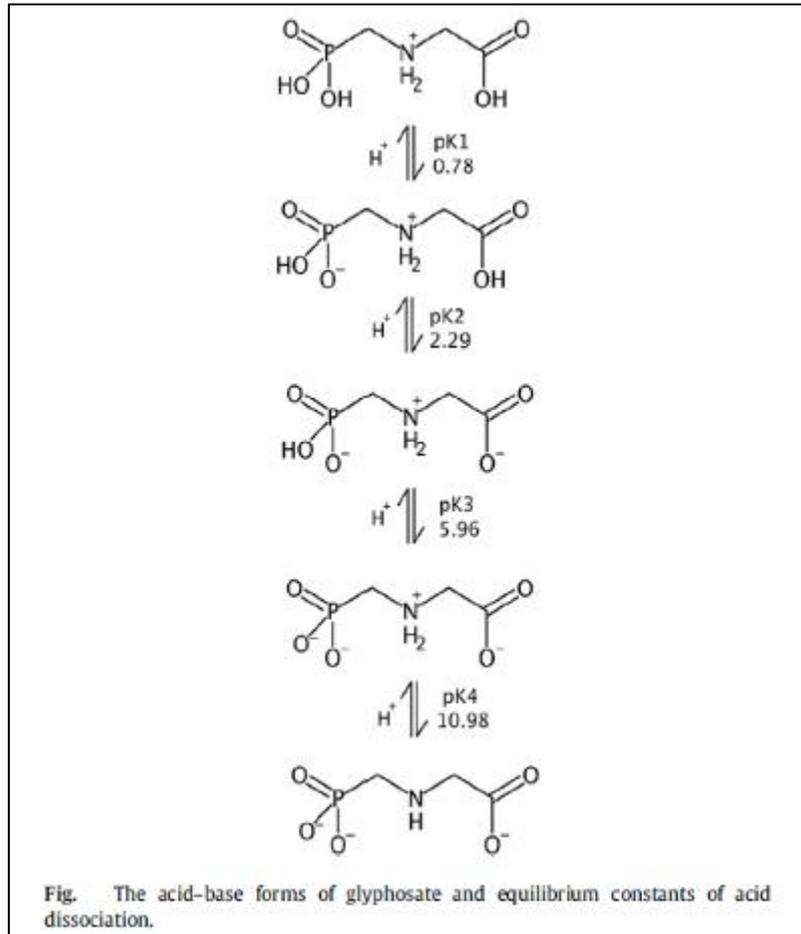
**Figura 2.5** Struttura della molecola di glifosato.

La presenza dell'ammina secondaria e di vari siti acidi, rappresentati dagli atomi di idrogeno legati al gruppo fosfonico, fa sì che il glifosato sia un acido debole di natura poliprotica e che spesso esso compaia in forma dissociata o zwitterionica.

Date le proprietà anfotere della molecola in esame, questa risulta facilmente solubile in soluzioni acquose di acidi forti oppure in soluzioni acquose basiche diluite.

Il glifosato acido libero ha di per sé una moderata solubilità in acqua (circa 1,16 g/L a 25 °C); nelle formulazioni commerciali lo si ritrova solitamente in forma anionica abbinato a composti come l'isopropilammina, il potassio, il sodio o l'ammonio allo scopo di formare sali monobasici che siano più solubili in ambiente acquoso e che non precipitino facilmente con l'abbassarsi della temperatura di lavoro.

Nei comuni solventi organici l'acido libero e i suoi sali dimostrano scarsa solubilità in quanto dotati di un'elevata polarità e di forti legami a idrogeno intermolecolari [37]. Questi ultimi sono anche responsabili della bassa volatilità del glifosato che, unita alla sua elevata densità, limita la tendenza del pesticida all'evaporazione e gli impedisce di permanere in aria per lungo tempo a seguito dell'applicazione.



**Figura 2.6** Equilibri acido-base del glifosato [43].

Grazie ad un elevato coefficiente di assorbimento nel suolo ( $61 \text{ g/m}^3$ ) e ad un basso coefficiente di ripartizione ottanolo/acqua, il glifosato possiede una scarsa mobilità nei terreni, all'interno dei quali penetra per un massimo di 20 cm circa.

Il dislocamento più o meno accentuato dell'erbicida dipende fortemente dalla composizione, dalla carica e dal pH del suolo. In generale il glifosato è coinvolto in fenomeni di drenaggio se utilizzato su terreni argillosi, strutturati e macroporosi, mentre non subisce dilavamento se applicato su superfici uniformi, poco strutturate e prive di macropori. I rischi di alta contaminazione di acque sotterranee e di falde acquifere sono limitati.

Il pesticida in questione può creare interazioni con la frazione organica del suolo (SOM, Organic Soil Matter) oppure con gli acidi umici in esso presenti; viene adsorbito più facilmente in terreni contenenti minerali a carica variabile poiché questi sono capaci di formare con lui interazioni più forti rispetto ai minerali con carica superficiale permanente.

L'adsorbimento del glifosato risulta ostacolato in suoli ricchi di fosfato, poiché quest'ultimo si comporta in maniera simile all'erbicida e si mostra competitivo per l'occupazione dei siti liberi [44].

**Tabella 2.1** Principali proprietà chimico-fisiche del glifosato.

Formula bruta	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> NO <sub>5</sub> P
Peso molecolare	169,07 [g/mol]
Densità	1,705 [g/cm <sup>3</sup> ]
Temperatura di fusione	184,5 [°C]
Temperatura di decomposizione	230 [°C]
Solubilità in acqua a 25 [°C]	12 [g/L]
pKa	0,78 – 2,29 – 5,96 - 10,98
Punto isoelettrico	1,53
Stabile all'idrolisi (5-35 [°C])	pH 3 – pH 6- pH 9
Tensione di vapore a 25 [°C]	1,31*10 <sup>-2</sup> [mPa]
Coefficiente di diffusione in aria	0,0507 [cm <sup>2</sup> /s]
Coefficiente di diffusione in acqua	8,3*10 <sup>-6</sup> [cm <sup>2</sup> /s]
Coefficiente di assorbimento	61 [g/m <sup>3</sup> ]
Coefficiente di ripartizione ottanolo-acqua (Log K <sub>ow</sub> )	-2,88

Il glifosato è un forte agente chelante capace di creare complessi con svariati ioni metallici.

I suoi tre gruppi funzionali, ad esempio, vengono coinvolti nella formazione di un complesso stabile con gli ioni rame, mentre soltanto i gruppi fosfonico e carbossilico sono sfruttati per la chelazione con cobalto e Al<sup>3+</sup> allo stato solido (l'ammina secondaria resta in forma protonata). Lo stesso avviene con il Fe<sup>3+</sup> per il quale però, in soluzione acquosa, non si vede la partecipazione dell'acido carbossilico: a seconda dell'ambiente di lavoro, dunque, i complessi glifosato-ione presentano caratteristiche e proprietà chimico-fisiche differenti.

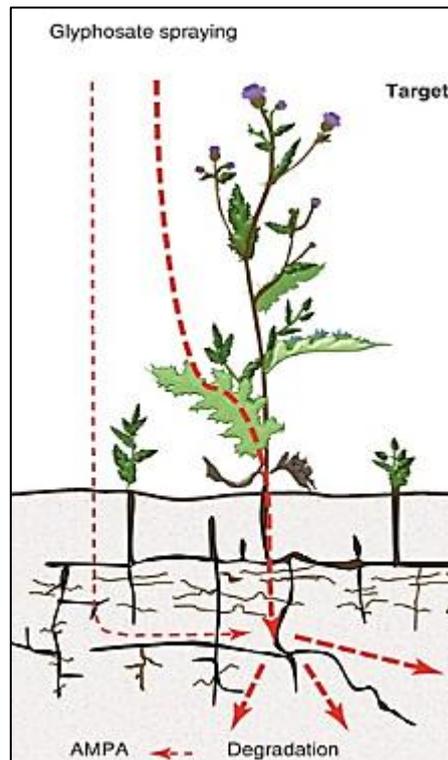
Il glifosato di norma si lega ad altri composti tramite la formazione di legami a idrogeno, di interazioni elettrostatiche e di fenomeni di scambio cationico; oltre che con gli ossidi metallici, esso crea facilmente legami con le silici e con i gruppi -OH presenti nello strato ottaedrico degli allumino-silicati argillosi [45].

## 2.3 Meccanismo d'azione e degradazione

### 2.3.1 Meccanismo d'azione del glifosato

Il glifosato appartiene alla categoria dei diserbanti “sistemici” in quanto viene assorbito dalle piante attraverso le foglie, ma in seguito viene trasferito per via floematica in tutte le zone interne al bersaglio fino a raggiungerne i punti attivi di crescita come le radici, i meristemi, i bulbi e i rizomi.

Non possedendo alcuna attività nel suolo, tale pesticida può essere impiegato solo per trattamenti di post-emergenza su vegetali in attiva sintesi clorofilliana.



**Figura 2.7** Trasferimento del glifosato negli organismi target.

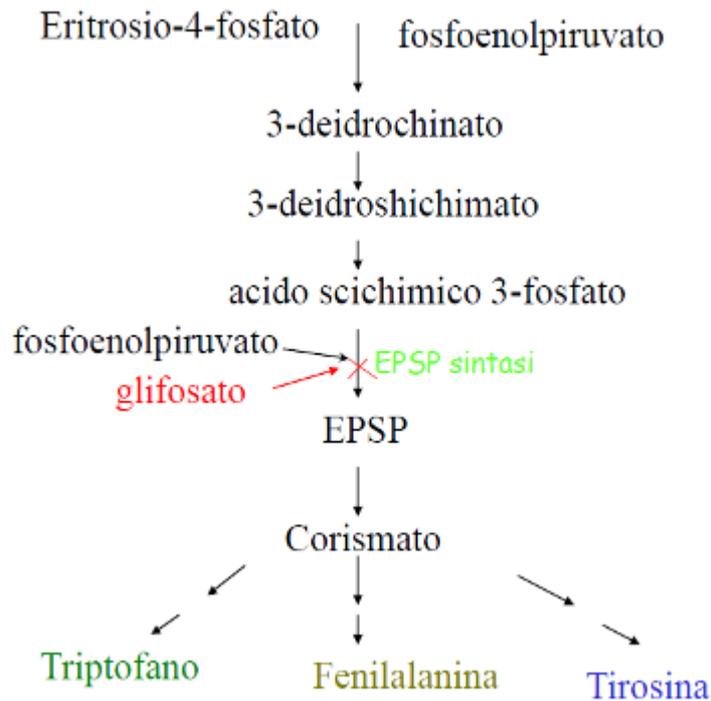
L'erbicida in esame esplica la propria azione diserbante essenzialmente sfruttando le proprie capacità chelanti nei confronti dei principali ioni metallici contenuti nei terreni (ioni di Mn, Mg, Ca, Fe, Zn, Co, Cu, Ni): tali nutrienti minerali infatti, una volta legati alla molecola di pesticida, risultano indisponibili per i vegetali e per il corretto svolgersi delle relative funzioni fisiologiche ed enzimatiche.

Allo stato attuale il glifosato è l'unico erbicida conosciuto capace di inibire l'azione dell'enzima 5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato sintetasi (EPSPS) operante nella via metabolica dello shikimato, via usata dalle piante per la biosintesi dei tre amminoacidi aromatici essenziali triptofano, fenilalanina e tirosina.

Scopo dell'EPSPS è catalizzare la reazione di condensazione tra lo shikimato-3-fosfato (S3P) ed il fosfoenolpiruvato (PEP) per dare il 5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato; il glifosato, dotato di una struttura simile a quella del substrato PEP, agisce legandosi lui stesso all'enzima EPSPS interrompendo così il ciclo e provocando un accumulo di shikimato all'interno delle cellule vegetali.

La morte delle piante, dunque, avviene sia per mancanza degli amminoacidi essenziali alla sintesi di proteine, di metaboliti primari e di metaboliti secondari, sia per la riduzione della quantità di carbonio disponibile allo svolgimento regolare di altre vie metaboliche (esso viene in larga parte impiegato per la riconversione del S3P in shikimato).

Dal momento che l'enzima EPSPS si trova soltanto all'interno degli esseri vegetali, di batteri e di funghi, il glifosato non può agire nel modo descritto nei confronti di organismi non target [46].



**Figura 2.8** Modalità di azione del glifosato [37].

A seguito dell'applicazione del pesticida, il vegetale trattato appassisce gradualmente per poi ingiallire, morire e decomporsi. In soli 60 minuti il diserbante viene assorbito per via fogliare dall'organismo bersaglio; in 24-48 ore la linfa consente la diffusione del principio attivo fino alle radici e ai bulbi; il disseccamento del vegetale è visibile ad occhio nudo dopo 10-12 giorni dal trattamento.

Il trasporto del glifosato all'interno delle piante può essere parzialmente ostacolato da fattori negativi quali temperature troppo basse o troppo alte, climi aridi, foglie spesse, cerose oppure con superficie ridotta. L'impiego di coformulanti adeguati, in particolare di miscele di tensioattivi, permette di ovviare efficacemente a questi problemi aumentando la bagnabilità delle parti verdi dei vegetali e favorendo la distribuzione dell'erbicida sopra e dentro di esse [36]. In genere i prodotti disponibili sul mercato contengono tensioattivi cationici, come le ammine etossilate, in grado di mantenere una carica positiva anche in ambiente acido [37].

Il glifosato contenuto nelle formulazioni commerciali, inoltre, è sempre presente sotto forma di sale così da poter essere solubile anche in concentrazioni vicine al 50%.

Una certa quantità di solfato d'ammonio (1-2%) può essere addizionata all'acqua destinata alla diluizione dell'erbicida; tale aggiunta permette di regolare il pH delle acque qualora fosse troppo elevato, di ridurre gli effetti negativi associati alla presenza di ioni  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  (alta durezza), di incrementare la penetrazione del principio attivo nelle cuticole vegetali tramite un'azione umettante [47].

L'importante è che qualsiasi sostanza venga addizionata al pesticida non ne renda difficoltosa l'applicazione, per esempio andando ad intasare gli ugelli delle macchine irroratrici, ma soprattutto è essenziale che essa abbia una tossicità minima nei confronti dell'uomo e dell'ambiente [37].

### 2.3.2 La degradazione del glifosato

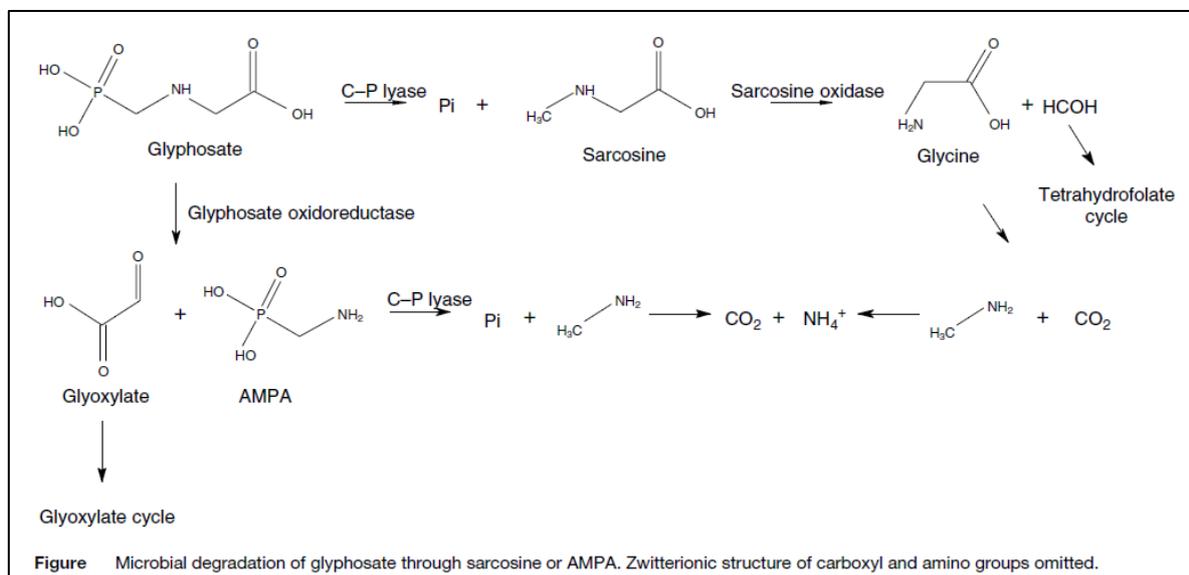
La degradazione del glifosato è stata oggetto di numerosi studi utili sia per quantificare i suoi tempi di permanenza nel suolo o nell'ambiente acquoso, sia per comprendere, e di conseguenza poter poi applicare, i metodi più efficaci di eliminazione del pesticida da soluzioni di varia natura.

La decomposizione chimica e la fotodegradazione rivestono un ruolo marginale nella rimozione dell'erbicida in esame: la prima non avviene poiché l'idrolisi del glifosato è impedita dalla stabilità che esso mostra in acqua e in suolo a valori anche molto variabili di pH; la seconda, ottenuta per mezzo di raggi UV con eventuale catalizzatore  $\text{TiO}_2$  [48-5-49], avviene solo in presenza di particolari condizioni, ma sicuramente non rappresenta la via preferenziale di degradazione [37].

Il principale percorso di degradazione del glifosato risulta pertanto essere quello microbiologico, operato da popolazioni batteriche (del genere *Pseudomonas* in primis) che sfruttano il fosforo e l'azoto ricavati come fonte di nutrimento; il tutto può svolgersi in condizioni sia aerobiche, che anaerobiche, con una decisa preponderanza delle prime.

Il tempo necessario alla completa mineralizzazione del principio attivo dipende da molti fattori, quali la dimensione e l'attività della popolazione microbica coinvolta e la forza del legame che si viene a creare tra il pesticida e le componenti organiche o gli ioni metallici presenti nel terreno: più tale legame è forte, meno rapida sarà la degradazione in quanto le molecole di diserbante, non libere, presentano una bassa biodisponibilità.

Secondo i dati reperibili in letteratura, il glifosato permane in suolo in media per due mesi ed in acqua dalle due alle dieci settimane [44].



**Figura 2.9** Degradazione del glifosato in suolo ad opera delle popolazioni batteriche [44].

Come mostrato in figura 2.9 i microrganismi possono degradare l'erbicida seguendo due vie diverse, una che prevede la formazione dell'intermedio acido amminofosfonico AMPA, l'altra che conduce alla formazione degli intermedi sarcosina e glicina.

Nel primo caso si parte dalla rottura del legame C-N ad opera dell'enzima glifosato-ossidoreduttasi per ottenere gliossilato e AMPA; da quest'ultimo si ricavano fosfato e metilammina la quale viene infine mineralizzata a  $\text{CO}_2$  e  $\text{NH}_3$ .

Nel secondo caso il passaggio iniziale consiste nello scindere il legame C-P tramite l'enzima C-P liasi al fine di ottenere fosfato e sarcosina; da questa, per mezzo della sarcosina-ossidasi, si ottengono formaldeide e glicina per poi finire, nuovamente, con la formazione di anidride carbonica ed ammoniaca.

Interessante è sapere che talvolta il glifosato può essere degradato dalle piante stesse: è il caso dei vegetali RR ("Roundup Ready"); l'introduzione nel loro metabolismo di una forma resistente di enzima EPSPS li ha resi non solo immuni all'azione dell'erbicida, ma addirittura capaci di eliminarlo [46].

## 2.4 Tossicità e legislazione

Fin dagli anni '70 del 1900, a seguito dell'incremento esponenziale della quantità di glifosato impiegata a livello mondiale, ci si è resi conto della necessità di effettuare studi completi ed approfonditi volti ad indagare le proprietà tossicologiche del pesticida in questione.

I risultati ottenuti da allora fino ad oggi appaiono spesso discordanti tra di loro; molto dipende dall'aver utilizzato come composto base della ricerca il principio attivo tal quale, oppure una delle tante sue formulazioni commerciali disponibili sul mercato.

Data l'ottima capacità chelante del glifosato verso i più comuni ioni metallici e data la sua scarsa tendenza alla permeazione nelle profondità dei terreni, l'uso non razionale di tale erbicida, a livello strettamente ambientale, arreca danni sia alla rizosfera, sia ai microrganismi presenti nei suoli. Nel primo caso l'azione del diserbante provoca una minore fissazione dell'azoto da parte dei vegetali con conseguente calo di resa delle coltivazioni, una maggiore vulnerabilità delle piante verso agenti patogeni e malattie, un ridotto assorbimento dei micronutrienti essenziali da parte delle colture; l'indisponibilità delle sostanze nutritive è ciò che attenta anche alla sopravvivenza di batteri come quelli manganese-riducenti oppure quelli appartenenti al genere *Pseudomonas* [50].

E' stato dimostrato che il glifosato rappresenta una minaccia per vari organismi unicellulari e pluricellulari, di terra, ma soprattutto acquatici (pesci, molluschi, crostacei, anfibi...). Gli effetti negativi più osservati riguardano la sfera riproduttiva, le mutazioni genetiche, le alterazioni fisiologiche a livello epatico, endocrino e neurologico [18, 51].

Nonostante oggi la maggior parte degli Enti preposti alla valutazione della tossicità del glifosato verso l'uomo sostenga che gli individui esposti a tale erbicida non possano subire alcun danno, tuttavia molti studi effettuati negli ultimi anni sembrano affermare l'esatto contrario.

Se presente nel corpo umano, il glifosato può inibire alcune funzioni metaboliche o enzimatiche e provocare l'insorgere di varie patologie quali: il linfoma non-Hodgkin, il tumore alla tiroide, la leucemia, i morbi di Alzheimer e di Parkinson, il diabete, la celiachia ed erosioni del tratto gastrointestinale [18].

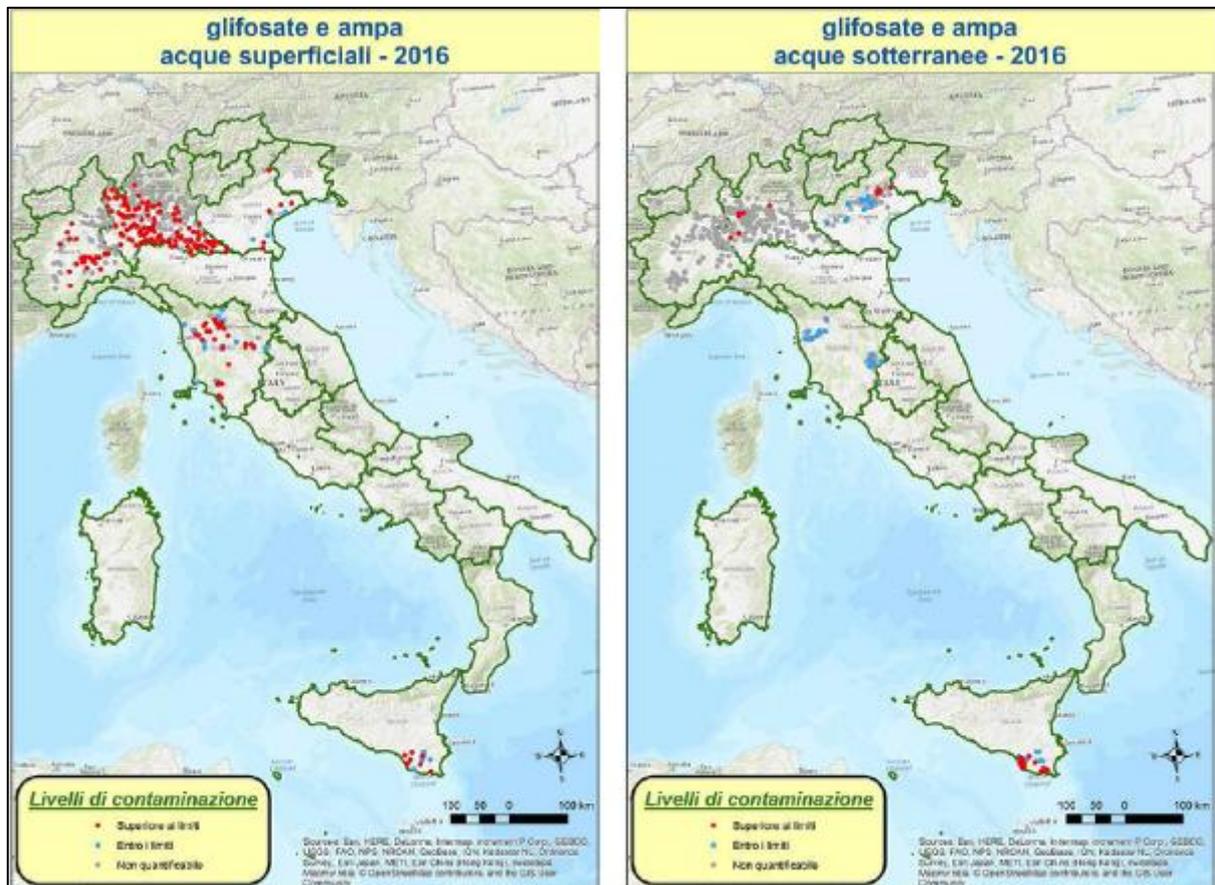
Test effettuati su animali hanno evidenziato la generale tendenza del glifosato ad accumularsi a livello renale; ciò ha condotto i ricercatori ad ipotizzare che il pesticida formi dei complessi metallici con gli ioni contenuti nell'acqua destinata al consumo, complessi che impediscono ai reni di svolgere in maniera adeguata la filtrazione dei fluidi corporei [38]. Per poter quantificare quanta parte di erbicida viene introdotta nell'organismo per via orale, cutanea o inalatoria si ricorre di norma proprio all'analisi delle urine, in quanto il diserbante non viene metabolizzato dai mammiferi e viene espulso senza aver subito sostanziali modifiche [37].

L'ingestione di acque e cibi contaminati è uno dei modi più semplici attraverso cui l'uomo può entrare in contatto con il glifosato.

La FSA (U.K. Food Standards Agency) ha rinvenuto tracce di glifosato nel 30% dei campioni di cereali analizzati tra il 2007 e il 2013; alti livelli di diserbante (fino a 1 mg/L) sono stati trovati in buona parte delle coltivazioni di soia di Stati Uniti, Canada, Brasile, Argentina e Paraguay, ovvero di quei Paesi che producono l'86,6% della soia venduta nel mondo [38].

Lo studio effettuato dall'Ente italiano ISPRA, di cui si è già scritto nel capitolo 1.3.2, ha rilevato la presenza di glifosato all'interno del 47,4% dei 458 punti di campionamento relativi ad acque superficiali, con un superamento degli Standard di Qualità Ambientale (SQA) nel 24,5% dei casi. In egual modo è stato rintracciato il metabolita AMPA, presente nel 68,6% dei punti monitorati, con un superamento degli SQA nel 47,8% dei siti.

Benché dotati di una scarsa tendenza a permeare nel suolo fino a raggiungere le acque sotterranee, il glifosato e l'AMPA hanno tuttavia superato le soglie limite imposte rispettivamente nel 5,8% e nel 4,8% delle acque di falda ispezionate [1].



**Figura 2.10** Livelli di contaminazione delle acque da parte del glifosato e del suo metabolita AMPA [1].

I dati riportati evidenziano come l'eventualità di ingerire dosi più o meno elevate di pesticida sia tutt'altro che improbabile e ciò è vero soprattutto in quelle aree dove le colture RR sono diventate la norma.

Basandosi sulla valutazione di oltre 1000 studi pubblicati da riviste indipendenti e liberamente accessibili, nel marzo del 2015 lo IARC (International Agency for Research on Cancer) ha incluso il glifosato nella categoria 2A, la categoria delle sostanze “potenzialmente cancerogene per l'uomo”. L'Ente è giunto a questa decisione asserendo che: “*Questo si è basato su di una limitata evidenza di cancro in soggetti umani ed una sufficiente evidenza di cancro in animali da esperimento. Vi è stata una forte evidenza di genotossicità sia per il glifosato puro che per formulazioni di glifosato*” [2].

Di opinione nettamente opposta è l'EFSA (European Food Safety Authority) la quale, a seguito della valutazione tecnica operata dall'Ente tedesco BfR, ritiene altamente improbabile un qualsiasi effetto genotossico o mutageno del glifosato verso l'uomo e non si propone, pertanto, di includerlo tra i composti cancerogeni dei regolamenti CLP dell'Unione Europea relativi la classificazione, l'etichettatura e l'imballaggio delle sostanze chimiche [16].

Si dimostrano in accordo con l'EFSA i principali organi deputati a simili valutazioni, ovvero l'ECHA, la canadese PMRA (Pest Management Regulatory Agency) e l'EPA; quest'ultima, in particolare, ha affermato che il pesticida in questione non risulta nocivo per l'uomo a patto che questi rispetti quanto prescritto sull'etichetta del prodotto commerciale, operi sempre munito degli adeguati dispositivi di protezione individuale ed attenda almeno dodici ore prima di entrare nei campi trattati con il diserbante [52].

Va evidenziato che le conclusioni a cui EFSA e IARC sono giunti derivano da due metodi di valutazione diversi: mentre il primo ha tenuto conto degli studi concernenti solo il principio attivo puro, il secondo ha preso in considerazione tutte le indagini pubblicate sull'argomento, sia quelle riferite al glifosato puro, sia quelle riferite alle sue formulazioni disponibili sul mercato.

Questo è il principale motivo per cui l'EFSA ritiene che la valutazione dello IARC sia priva di una solida validità scientifica. Il glifosato contenuto nei prodotti commerciali, infatti, viene di norma addizionato con coformulanti, come l'ammina di sego polietossilata, caratterizzati da significativi livelli tossicologici; lo IARC non si è preoccupato di discriminare gli effetti derivanti dal principio attivo puro da quelli derivanti dai suddetti componenti aggiunti che, secondo l'EFSA, sono i veri responsabili dell'insorgenza di tumori nell'uomo [53].

Per sua parte lo IARC difende la propria posizione puntualizzando di aver effettuato una “valutazione di pericolo” e non una “valutazione di rischio”, ossia di aver semplicemente asserito che il glifosato “*potrebbe*” causare la comparsa di tumori e non che “*è probabile*” che lo faccia. D'altronde nella categoria 2A, assieme all'erbicida, compaiono sostanze come il DDT, gli steroidi anabolizzanti, le carni rosse, le emissioni da frittura con oli ad alta temperatura e i fumi da combustione di legna; l'organizzazione dunque non ha demonizzato il glifosato, ma ne ha semplicemente resa manifesta una possibile pericolosità [2].

Nella tabella 2.2 si riportano i risultati di alcune delle ricerche indipendenti svolte negli ultimi anni e si evidenzia come essi spesso smentiscano completamente quanto dichiarato dalle case produttrici.

**Tabella 2.2** Differenze tra quanto dichiarato dai produttori di glifosato e quanto emerso dalle ricerche scientifiche effettuate [54].

Produttori	Ricerche indipendenti
Ha un basso potenziale di irritazione per occhi e pelle e non è un rischio per la salute umana	Il Glifosato è tra i pesticidi più segnalati come causa di avvelenamento accidentale. Provoca una serie di sintomi acuti tra cui eczema ricorrente, problemi respiratori, elevata pressione del sangue e reazioni allergiche.
Non causa problemi al sistema riproduttivo	Test cronici su dei conigli hanno dimostrato effetti nocivi sulla qualità dello sperma e il numero di spermatozoi.
Non è mutogeno nei mammiferi	Danni al DNA sono stati osservati in studi di laboratorio in organi e tessuti di topi. Nei topi sia il Glifosato che l'erbicida Roundup danneggiano il DNA nelle cellule del fegato e reni e causano danni genetici anche nelle ossa delle cellule del midollo.
E' sicuro per l'ambiente	Negli agroecosistemi è tossico per gli organismi benefici del suolo e gli artropodi benefici e predatori. Aumenta la suscettibilità delle colture alle malattie. In silvicoltura e agricoltura il glifosato ha effetti dannosi indiretti sugli uccelli e piccoli mammiferi danneggiando le loro scorte di cibo e l'habitat. In Australia è stato constatato che Roundup contenente POEA è letale per i girini di raganelle e altri anfibi. Il Governo australiano ha vietato l'uso di questi prodotti in prossimità di aree umide. Dosi sub-letali possono causare danni per deriva aerea e colpire habitat e specie di interesse fino a 20 metri di distanza dallo spruzzatore. In aree coltivate provoca deperimento delle siepi e delle alberature. Favorisce la crescita della popolazione di una lumaca d'acqua che è l'ospite intermedio di trematodi del fegato dei mammiferi. La ripartizione del Glifosato da parte dei microrganismi acquatici può causare effetti di eutrofizzazione.
E' rapidamente inattivato nel suolo e nelle acque	E' molto persistente nel suolo e nei sedimenti. Inibisce la formazione di noduli di batteri azoto fissatori sul trifoglio per 120 giorni dopo il trattamento. Residui di Glifosato sono stati trovati nella lattuga, carote e orzo piantati un anno dopo il trattamento. I fertilizzanti fosfatici possono inibire la ripartizione nel suolo.
E' immobile e non percola nei suoli	Può facilmente desorbire da particelle di terreno in una vasta gamma di tipi di suolo. Può essere ampiamente mobile e percolare negli strati inferiori del terreno. Il Glyphosate può essere trasportato da particelle di suolo sospese nelle acque.
Non contamina le acque potabili	Nel Regno Unito livelli di Glifosato al di sopra del limite UE sono stati individuati dal Welsh Water Company a partire dal 1993. Drinking Water Inspectorate raccomanda di monitorare il Glifosato, in particolare nelle aree in cui è utilizzato dalle autorità locali
E' quasi impossibile che la resistenza per il Glifosato si evolva nelle malerbe	Nel 1996 loglio resistente al Glifosato è stato scoperto in Australia.
Le colture Roundup Ready ridurranno i livelli di erbicidi utilizzati.	Colture resistenti agli erbicidi si intensificheranno e aumenterà la dipendenza in agricoltura piuttosto che portare ad eventuali riduzioni significative. Erbicidi dovranno essere reintrodotti per controllare le piante infestanti resistenti al Glifosato.
Le ibridazioni con OGM e il trasferimento di nuovi geni alle Wild Crops Relatives avvengono solo a breve distanza dall'irrorazione e possono essere facilmente gestite.	Nelle colture esaminate, le densità di polline sono molto più alte e i loro modelli di dispersione differiscono nei grandi campi rispetto a quelli trovati nelle parcelle sperimentali. La dispersione di polline attraverso il vento si verifica a distanze molto maggiori e in concentrazioni maggiori quanto previsto da parcelle sperimentali. Il flusso genico da coltivazioni transgeniche è, quindi, inevitabile.

Il dibattito relativo la tossicità cronica del glifosato è ben lungi dal concludersi. Tutti gli Enti coinvolti nella discussione concordano, perlomeno, sul fatto che esso non presenti una tossicità acuta se impiegato in sicurezza, secondo quanto prescritto in etichetta; dopo studi clinici effettuati sui conigli, il valore ADI (Acceptable Daily Intake) del pesticida è stato fissato a 0,5 mg/kg con un fattore di incertezza pari a 100 [3].

Alla luce di quanto scritto, è comprensibile perché, negli ultimi anni, le autorizzazioni circa l'uso del glifosato siano state caratterizzate da un continuo susseguirsi di proroghe.

Allo scadere della licenza a dicembre 2012, la Commissione Europea ne aveva richiesto il rinnovo per 15 anni, ma se l'era visto negare a causa della mancata approvazione da parte della maggioranza dei 28 Stati membri. Da allora la possibilità di impiegare il principio attivo in esame è andata avanti per differita e l'ultimo rinnovo dell'autorizzazione, valido per cinque anni, risale al 16 dicembre 2017 [55].

Ogni singolo Paese dell'UE, ovviamente, resta libero di applicare restrizioni laddove lo reputi necessario; al momento Francia, Paesi Bassi e Svezia risultano essere gli Stati più ostili all'utilizzo dell'erbicida.

Avvalendosi del Principio di Precauzione e di misure di attenuazione dei rischi, il Ministero della Salute Italiano ha emanato un decreto (22 agosto 2016) volto a limitare l'impiego ed il commercio del glifosato sul territorio nazionale: è stato revocato il permesso di immettere sul mercato formulazioni contenenti l'ammina di sego polietossilata; è stato vietato l'uso dell'erbicida su suoli pubblici frequentati e non pavimentati come parchi, giardini, zone ricreative, campi sportivi e cortili di strutture scolastiche o sanitarie; ne è stato vietato l'utilizzo in agricoltura nei periodi che precedono la raccolta o la trebbiatura.

In accordo con il PAN (Piano di Azione Nazionale), si dà la priorità alle procedure disinfestanti alternative, quali metodi fisici, biologici e meccanici; regioni come la Calabria e l'Emilia Romagna hanno ritenuto opportuno applicare norme ancora più restrittive per salvaguardare i cittadini e l'ambiente [53].

## *2.5 Rilascio controllato del glifosato*

In letteratura, allo stato attuale, sono disponibili numerosi esempi circa il rilascio controllato dei più comuni pesticidi quali l'acido 2,4-diclorofenossiacetico, il paraquat, il diuron e l'alachlor, per citarne solo alcuni. Il numero di studi relativi il rilascio controllato del glifosato, tuttavia, risulta decisamente esiguo in quanto le indagini ad esso inerenti si sono perlopiù concentrate sulla sua degradazione per via fotocatalitica od ossidativa [48, 5, 49] e sulla sua rimozione da soluzioni acquose o terreni contaminati.

Negli studi sul rilascio controllato di tale composto, come già accennato (capitolo 1.5), la scelta delle matrici in cui inglobare le molecole di pesticida deve essere effettuata con molta cura; in particolare si deve prestare attenzione a selezionare materiali che siano in grado di adsorbire efficacemente al loro interno il prodotto fitosanitario, ma con una forza di legame non eccessiva in modo che il pesticida possa diffondere nell'ambiente di rilascio in cui è stato posto il supporto incorporato.

Argille, zeoliti e silici, ossidi di Al e Fe, idrossidi e composti a base di carbonio si dimostrano le matrici ideali per il glifosato, sia grazie alla loro struttura mesoporosa, sia grazie alla loro capacità di legarsi all'erbicida mediante interazioni elettrostatiche, legami a idrogeno oppure fenomeni di scambio ionico.

Molti degli studi effettuati fino ad ora hanno previsto l'impiego di materiali silicei; a titolo di esempio, due diversi gruppi di ricerca (Liu e altri [7]; Wang ed Edwards [8]) hanno inglobato il glifosato in nanosfere cave di  $\text{SiO}_2$  e ne hanno analizzato la cinetica di rilascio in funzione del loro spessore.

In entrambi i casi i supporti sono stati sintetizzati tramite un metodo a tre stadi: dapprima, mediante un metodo di polimerizzazione in emulsione, sono state preparate le sfere templanti a base di polistirene o di acido acrilico di metil-polistirene; in seguito tali particelle sono state ricoperte da strati di spessore variabile di ossido di silicio; per finire un trattamento di calcinazione ha permesso di rimuovere gli agenti templanti.

Le matrici così approntate sono state impregnate con l'erbicida tramite la tecnica della "impregnazione a secco" (Wetness Impregnation); si è poi eseguito il rilascio inserendo pochi grammi del campione ottenuto in un litro di acqua distillata, mettendo il tutto in agitazione, prelevando il surnatante a diversi tempi ed analizzando il filtrato tramite spettrometria UV-VIS a lunghezza d'onda 242 nm [7].

Le percentuali di glifosato rilasciato si sono rivelate già piuttosto elevate (variabili dal 12% al 28% circa) dopo appena dieci minuti dal primo contatto tra pesticida e solvente; ciò è stato causato dalla rapida dissoluzione della piccola quantità di prodotto che evidentemente era stata adsorbita soltanto sullo strato più esterno delle sfere silicee.

La velocità di rilascio, in seguito, è diminuita, permettendo al prodotto di diffondere lentamente in acqua e di raggiungere percentuali di rilascio comprese tra il 30 ed il 75% solamente dopo due ore dall'inizio dell'esperimento [8].

Entrambi gli studi hanno evidenziato una certa riduzione della cinetica di rilascio all'aumentare dello spessore dei supporti.

Un ulteriore esempio di matrice impiegata per l'incorporazione del glifosato è costituita da particelle composite dove una combinazione di argilla attapulgite e carbonato acido d'ammonio forma il nucleo, mentre olio ammino-siliconico e polivinilalcol formano lo strato esterno.

Nello studio che ne ha visto l'utilizzo, il rilascio dell'erbicida è avvenuto in acqua deionizzata, sia a partire dal supporto completo appena descritto, sia a partire dal supporto dotato del solo nucleo. Dopo 13 ore dal primo contatto tra pesticida e solvente, la percentuale di rilascio è risultata pari al 12% circa nel primo caso e pari al 91% circa nel secondo [6].

Come scritto in precedenza, la maggior parte degli studi relativi al glifosato si è focalizzata sulla sua rimozione da soluzioni acquose o da terreni contaminati per mezzo del suo adsorbimento in materiali adeguatamente approntati. È ragionevole credere che quegli stessi materiali possano essere efficacemente impiegati anche come matrici dalle quali partire per rilasciare gradualmente il pesticida.

Tra i supporti più esaminati troviamo la silice SBA-15 che, grazie alla presenza di mesopori uniformi, all'elevata area specifica ed alla buona stabilità in diversi ambienti, risulta un ottimo adsorbente per il glifosato, al quale si lega mediante interazioni ioniche e legami a idrogeno.

Le proprietà adsorbenti della SBA-15 possono essere ulteriormente enfatizzate tramite l'aggiunta di nanoparticelle di ossido di ferro oppure di gruppi amminici. È stato esaminato [4] come sia possibile inserire le prime e i secondi rispettivamente attraverso l'impregnazione con una soluzione a base di  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  ed attraverso una funzionalizzazione con APTES ((3-amminopropil)trietossisilano); l'ossido di ferro ha fornito siti utili al legame col gruppo fosfonico del glifosato e, congiuntamente all'introduzione dei gruppi  $\text{NH}_2$ , ha portato a fenomeni di scambio anionico e alla formazione di complessi mono e bidentati.

Oltre alle silici, molti altri materiali mostrano una buona capacità di adsorbimento nei confronti del glifosato; tra questi abbiamo composti di natura carboniosa e varie tipologie di ossidi o di argille.

Il grafene, ad esempio, per merito delle sue ottime proprietà termiche e meccaniche, nonché della propria elevata area superficiale, si è rivelato adatto alla rimozione dell'erbicida da soluzioni acquose, garantendo il raggiungimento dell'equilibrio di adsorbimento già dopo 8 ore dall'inizio del processo [43].

Non meno efficace è risultata essere l'allumina  $Al_2O_3$ , in grado di mantenere una capacità di adsorbimento pari al 70% per più cicli di lavoro/rigenerazione, fino a quando il verificarsi di transizioni di fase cristallina non ne ha ridotto le prestazioni [5].

Tra le argille più utilizzate, infine, compaiono: bentonite, illite, caolinite e montmorillonite. Si è osservato che esse, in genere, adsorbono il glifosato tramite un processo multistadio che coinvolge almeno due siti energeticamente diversi, uno sulla superficie esterna e l'altro nello spazio interstrato; quest'ultimo subisce una vera e propria espansione nel momento in cui la molecola di erbicida si colloca al suo interno [6].

I pochi studi qui richiamati sono un chiaro esempio di come l'inserimento del glifosato in materiali opportunamente strutturati rappresenti un metodo davvero efficace sia per ridurre la velocità di diffusione nel suolo, sia per garantire un suo rilascio il più possibile costante e graduale nel tempo.



### 3. Matrici utilizzate per l'impregnazione del glifosato

Come già accennato nel capitolo 2.5, è necessario prestare attenzione alla scelta dei supporti in cui inserire il glifosato. Essi devono essere facilmente reperibili, non tossici, dotati di un'elevata area superficiale, adatti all'utilizzo nei terreni ed affini con i componenti tipici dei suoli.

Ai fini del nostro studio, si è deciso di utilizzare la  $\gamma$ -allumina, la silice SBA-15, la montmorillonite K10 (MMT-K10) e la montmorillonite pontata con alluminio (MMT-Al).

#### 3.1 La $\gamma$ -allumina

##### 3.1.1 Struttura e proprietà

L'alluminio, molto abbondante nella crosta terrestre assieme ad ossigeno e silicio, è oggi uno dei metalli più utilizzati per le ottime proprietà chimico-fisiche che possiede, fra cui stabilità, conducibilità elettrica e termica, assenza di comportamenti ferromagnetici, leggerezza, malleabilità, duttilità e minima tossicità [56]. Tali caratteristiche le si ritrova anche nei principali composti da esso ottenibili, ossia ossidi e idrossidi di alluminio.

L'allumina  $Al_2O_3$  è un ossido anfotero appartenente alla categoria dei materiali ceramici di natura ionica.

L'elevata area specifica, l'acidità superficiale, l'inertia chimica, la biocompatibilità, la capacità di garantire isolamento termico ed elettrico, nonché la buona resistenza all'ossidazione, all'usura e alla corrosione in ambienti acidi e salini, fanno sì che tale sostanza possa essere impiegata in moltissimi settori: si va dalla costruzione di protesi dentali [57] o di componenti per auto all'uso come catalizzatore eterogeneo, o supporto di catalizzatori, per processi chimici e petrolchimici (reforming, hydrotreating e riduzione delle emissioni industriali, per citarne solo alcuni).

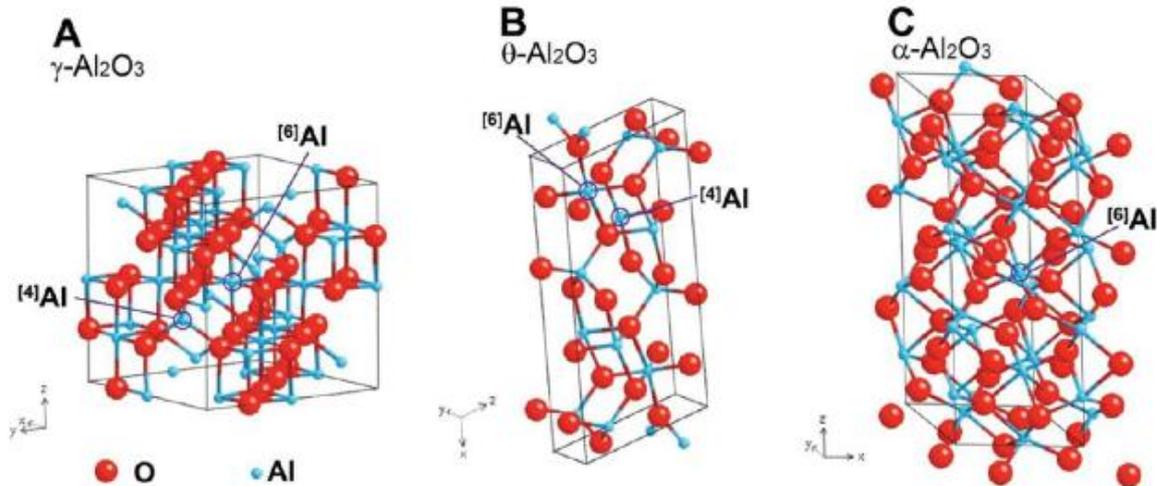
All'interno dell'allumina gli atomi di ossigeno circondano quelli di alluminio secondo disposizioni tetraedriche ed ottaedriche; talvolta per mantenere l'elettroneutralità della struttura, sono presenti vacanze di atomi di Al in corrispondenza delle quali vanno a posizionarsi gruppi idrossilici residui [58].

L'ossido di alluminio è soggetto al fenomeno del "polimorfismo", ossia può presentare strutture cristalline differenti a seconda della temperatura e della pressione di formazione; le principali forme polimorfiche dell' $Al_2O_3$ , denominate "allumine di transizione", sono rappresentate dalle fasi  $\alpha$ ,  $\gamma$  e  $\theta$ .

La struttura  $\alpha$  è comunemente nota come "corindone", dal nome del minerale naturale composto da pura  $\alpha$ -allumina; è costituita da cristalli romboedrici, per comodità descritti come celle esagonali, contenenti atomi di ossigeno ed alluminio densamente impaccati, peculiarità questa che le fornisce proprietà termiche e meccaniche superiori rispetto alle altre forme possibili. Tale fase è termodinamicamente stabile a tutte le temperature (fino al punto di fusione pari a 2051°C): tutte le altre strutture allotropiche, se sottoposte ad adeguato trattamento termico, tendono a trasformarsi irreversibilmente in  $\alpha$ -allumina al di sopra dei 1000°C.

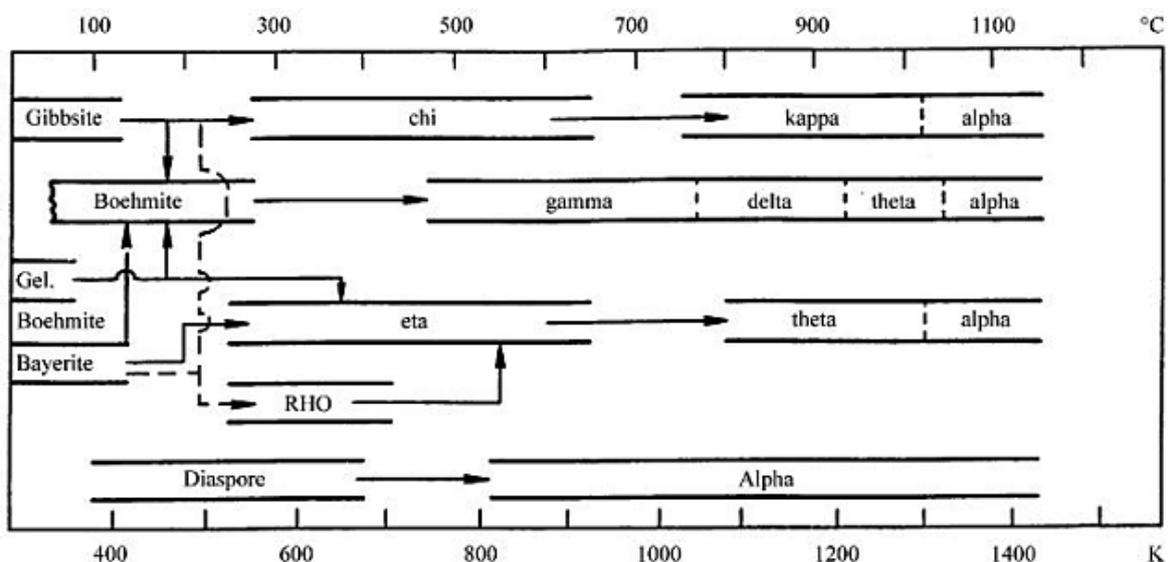
La  $\theta$ -allumina, metastabile, compie la conversione in  $\alpha$ -allumina a circa 1050/1100°C; rispetto a questa forma stabile, essa presenta una densità inferiore e un'area specifica superiore.

Una struttura fondamentale cubica, a facce centrate, è tipica della  $\gamma$ -allumina che, tuttavia, può mostrare distorsioni tetragonali createsi durante il suo processo termico di formazione. Lo scheletro della cella di tale fase è costituito da 32 ioni ossido, distribuiti in maniera ben ordinata, e dall'occupazione casuale di circa 21 dei 24 siti cationici totali disponibili (8 tetraedrici e 16 ottaedrici). Soled e altri [59] ipotizzano che i radicali -OH residui si posizionino in corrispondenza delle vacanze presenti negli interstizi tetraedrici, gli unici interessati dalle lacune cationiche [58].



**Figura 3.1** Forme allotropiche dell'allumina.

L'ottenere una determinata forma allotropica piuttosto che un'altra dipende fortemente dal precursore utilizzato e dalla storia termica a cui l'ossido di partenza è stato sottoposto; ciò conferisce ad ogni singola fase caratteristiche specifiche e, per esempio, pur essendo la  $\gamma$ -allumina una delle fasi termodinamicamente meno stabili, è proprio lei quella che mostra le migliori capacità di adsorbimento [60].



**Figura 3.2** Sequenza delle trasformazioni termiche degli idrossidi di alluminio [61].

Tipicamente dotata di una struttura con mesopori cilindrici e di un'area specifica compresa tra i 200 e i 500 m<sup>2</sup>/g (variabile a seconda del metodo di sintesi), è stato dimostrato che la  $\gamma$ -allumina può essere efficacemente impiegata come matrice di adsorbimento; Chunduri e altri l'hanno usata come mezzo per rimuovere fluoruri da effluenti e acque contaminate [60].

Le proprietà di tale forma polimorfica vengono parzialmente annullate dalla presenza di impurità quali le particelle di sodio: si è osservato [62] che anche solo una concentrazione pari allo 0,03% di Na è in grado di ridurre la reattività sia dei siti acidi di Lewis, sia dei gruppi idrossilici disposti sulla superficie dell'ossido in questione.

### 3.1.2 Metodi di sintesi

Nel 1854 il chimico Henry Sainte-Claire Deville ideò un primo metodo di estrazione dell'allumina a partire dalla bauxite minerale, ma fu Karl J. Bayer, nel 1888, ad ottimizzare il suddetto processo che da allora porta il suo nome.

La bauxite subisce una prima lisciviazione con soda caustica in soluzione, in modo da estrarre la sola allumina idrata presente nel minerale, la quale si converte in alluminato di sodio; tutti gli altri componenti ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{CaO}$ ...) restano insoluti e vengono separati mediante decantazione e filtrazione.

La soluzione di alluminato di sodio ottenuta viene inviata, previo raffreddamento, in serbatoi di precipitazione, nei quali si addiziona idrato di alluminio con funzione di innesco germinativo: l'alluminato di sodio si decompone portando alla cristallizzazione dell'allumina idrata. Quest'ultima viene sottoposta alle operazioni di lavaggio, filtrazione e calcinazione a 1000°C così da ricavare  $\text{Al}_2\text{O}_3$  pura al 99% [63].

Nel corso degli anni sono stati proposti molti metodi alternativi al processo Bayer, aventi come punto di partenza argille, nefelina, leucite o altri minerali, ma essi non sono mai stati applicati con successo su grande scala perché molto dispendiosi in termini energetici.

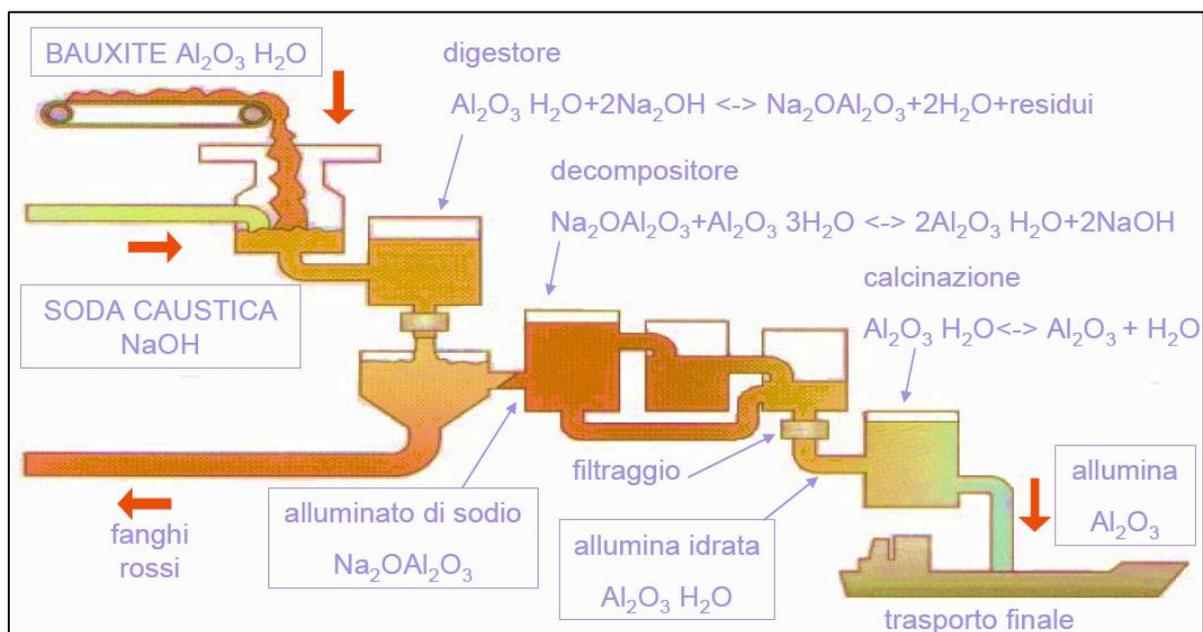
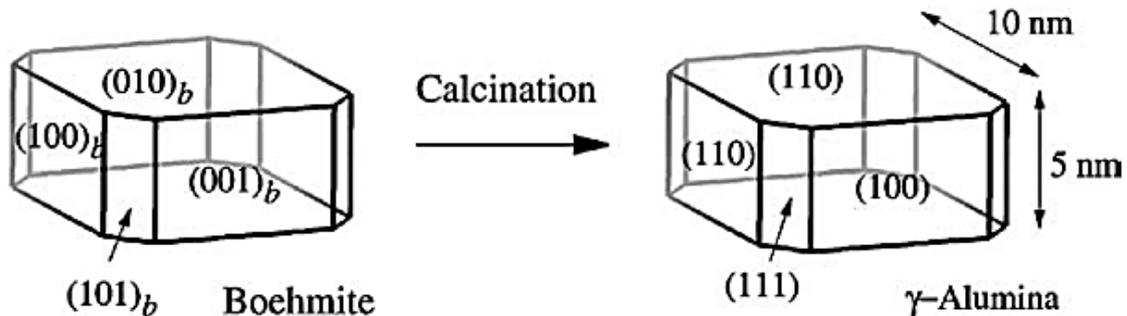


Figura 3.3 Schema del processo Bayer per la produzione di allumina.

Nello specifico caso della  $\gamma$ -allumina, essa è comunemente ricavata attraverso la disidratazione e la calcinazione a 500-600°C della boehmite ( $\text{AlOOH}$ ) ottenuta dalla decomposizione dei minerali gibbsite e bayerite ( $\text{Al}(\text{OH})_3$ ) [64].



**Figura 3.4** Trasformazione della boehmite in  $\gamma$ -allumina.

Sono state sviluppate molte altre tecniche utili all'ottenimento della  $\gamma$ -allumina, tra le quali un processo a singolo stadio di combustione che prevede l'uso del nitrato di alluminio, di una miscela combustibile a base di urea e di vari agenti tensioattivi cationici ed anionici; i vantaggi principali connessi a tale sistema innovativo di produzione riguardano la semplicità operativa, il non utilizzo di qualsivoglia solvente organico, la facilità di rimozione dei tensioattivi e, per concludere, il tempo relativamente breve necessario per lo svolgimento dell'intera operazione [60].

Numerosi progressi sono stati fatti non soltanto circa le modalità di sintesi della  $\gamma$ -allumina, ma anche circa le possibili forme sotto le quali essa può presentarsi: particelle piatte, particelle fibrose, sfere piene e sfere cave [57] tra le tante.

A livello di laboratorio, ma ciò riguarda tutti quei settori che hanno a che fare con i nanomateriali ceramici, viene impiegata l'allumina sotto forma di polvere. Essa può essere prodotta tramite numerosi sistemi, distinguibili innanzitutto tra quelli che avvengono ad altissime temperature in fase vapore (tecniche di "pirolisi") e quelli che avvengono in soluzione con successiva rimozione del solvente.

Tra i processi a cui oggi si ricorre più spesso troviamo i seguenti metodi [65]:

- "sol-gel";
- "spray-drying";
- "precipitazione-filtrazione";
- "freeze-drying";
- "sintesi idrotermale".

Il processo "sol-gel" consente di ricavare polveri di elevata purezza ed omogeneità a partire da una sospensione colloidale (il "sol") di particelle solide immerse in liquido; dopo l'evaporazione parziale del solvente, tali particelle subiscono idrolisi e polimerizzazione per essere trasformate in un "gel" che viene essiccato e, per finire, calcinato.

La procedura "spray-drying" prevede l'uso di un atomizzatore per nebulizzare in gocce minute la sospensione di particelle di partenza e, successivamente, l'uso di una camera di

essiccamento necessaria per far evaporare il solvente in eccesso; questo stadio trasforma le gocce in nano-particelle solide, in seguito recuperate attraverso un collettore elettrostatico.

Il metodo di “precipitazione-filtrazione” è uno dei più semplici ed utilizzati: tramite l'aggiunta di un opportuno agente precipitante, si ottiene la precipitazione dei cationi di interesse dalla soluzione di partenza; il sedimento ricavato viene filtrato, lavato, essiccato ed infine calcinato in modo da avere la trasformazione nella fase cristallina desiderata.

La tecnica di “freeze-drying” consiste nell'atomizzare la soluzione iniziale in piccole gocce, nel congelarle e poi nell'essiccarle sotto vuoto così da far sublimare il solvente in eccesso.

L'ultimo processo menzionato, la “sintesi idrotermale”, sottopone i reagenti (sali, ossidi o idrossidi) ad agitazione sotto pressione e ad alta temperatura (100-400°C) per tempi variabili a seconda della forma e delle dimensioni che si vogliono ottenere. Alcuni studi hanno dimostrato come, adottando tale procedura, sia possibile produrre polveri di  $\alpha$ -allumina dotate di una purezza chimica pari al 99,98%, con morfologia equiassica e scarsa tendenza all'aggregazione particellare.

Le tecniche descritte per la produzione di nano-polveri non riguardano solamente la  $\gamma$ -allumina, ma anche le altre matrici impiegate nel nostro studio, ovvero la SBA-15 e le argille montmorilloniti.

## 3.2 Le montmorilloniti

### 3.2.1 Struttura e proprietà

La montmorillonite prende il suo nome dalla località francese Montmorillon, dove fu estratta per la prima volta nei primi anni dell'800 a partire da ceneri vulcaniche. Essa è un minerale argilloso che appartiene alla famiglia dei fillosilicati e, più nello specifico, al gruppo delle smectiti; la sua formula è  $(\text{Na,Ca})_{0,33}(\text{Al,Mg})_2\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ .

La tipica conformazione della montmorillonite è quella dei fillosilicati 2:1, caratterizzati dalla presenza di due foglietti tetraedrici ai quali è interposto un foglietto ottaedrico.

I tetraedri, tra loro connessi tramite i tre atomi di ossigeno che ne costituiscono la base, vanno a formare strutture esagonali; il centro di ogni esagono è occupato da un gruppo ossidrilico posizionato alla medesima altezza degli ossigeni non condivisi. Le valenze libere di questi ultimi vengono saturate per mezzo della sovrapposizione di ottaedri, al cui centro si trova uno ione di Mg o Al, e ai cui vertici sono disposti gruppi –OH oppure atomi di ossigeno.

Tra i vari strati lamellari così formati, si instaurano legami ionici, legami a idrogeno oppure di Van der Waals.

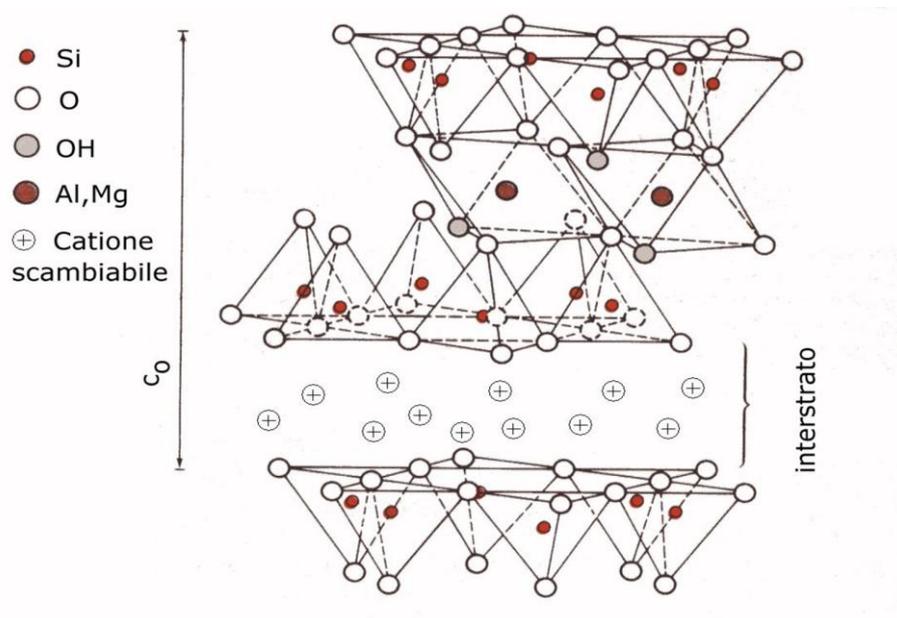
All'interno del foglietto ottaedrico possono verificarsi parziali sostituzioni degli ioni  $\text{Al}^{3+}$  con ioni  $\text{Mg}^{2+}$ , le quali creano dei difetti di carica che vengono bilanciati tramite l'interposizione di cationi alcalini o alcalino terrosi, definiti “cationi di interstrato” ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  ad esempio): questi, formando legami ionici piuttosto deboli, possono facilmente essere sostituiti con molecole organiche oppure scambiati per mezzo del contatto con soluzioni elettrolitiche.

La capacità da parte delle argille di scambiare cationi è chiamata “capacità di scambio cationico” (CEC), normalmente espressa in milliequivalenti ogni 100 grammi di materiale; per le montmorilloniti i valori di CEC sono compresi tra 80 e 150 meq/100g [66].

La quantità di acqua contenuta nell'interstrato, inoltre, può variare generando così un cambiamento continuo e reversibile del parametro  $c_0$ , definito “periodo basale”, il cui valore è generalmente compreso tra un minimo di 10 Å ed un massimo di 28 Å.

La distanza basale  $c_0$ , corrispondente al riflesso del piano (001), viene generalmente valutata tramite la tecnica di diffrazione a raggi X: ciò consente di stabilire quale sia la nuova struttura assunta dall'argilla qualora vengano inserite determinate molecole tra i pacchetti TOT. A seconda dei casi, è possibile ottenere due differenti tipologie di struttura:

- “intercalata”, se le molecole si interpongono tra le lamelle del fillosilicato aumentandone la distanza, ma mantenendone la struttura ordinata a strati; il picco di diffrazione (001) si sposta verso angoli più bassi;
- “esfoliata”, se le molecole introdotte aumentano la distanza intercorrente tra le lamelle fino ad alterarne completamente l'ordine spaziale; gli strati del silicato risultano dispersi nella matrice continua e lo spettro a raggi X non mostra più il picco (001) tipico di un reticolo definito.



**Figura 3.5** Struttura TOT della montmorillonite.

La particolare struttura della montmorillonite, fa sì che essa sia caratterizzata dalla presenza di siti acidi di Lewis, posizionati sui bordi dei piani lamellari dove prevalgono ioni  $Al^{3+}$ , unita alla presenza di gruppi ossidrilici nella zona interstrato.

Come tutti i minerali argillosi, le montmorilloniti sono caratterizzate da particolari proprietà, quali [66]:

- facile maneggiabilità;
- tossicità e corrosività nulle;
- basso costo e buona reperibilità;
- elevata area specifica;
- buona plasticità, dovuta all'azione lubrificante delle molecole di acqua che favoriscono lo scorrimento reciproco degli strati lamellari;
- capacità di adsorbire molecole organiche, rimuovendole dalle soluzioni acquose con cui entrano in contatto;

- possibilità di inglobare nella zona interstrato molecole di varia natura, le quali aumentano la distanza intercorrente tra le lamine del fillosilicato senza che la struttura collassi; tale caratteristica è comunemente nota come “capacità di rigonfiamento”.

Tali proprietà rendono le argille adatte ad essere impiegate come catalizzatori eterogenei nelle più comuni reazioni di esterificazione, che possono essere effettuate in condizioni operative non troppo spinte, pur mantenendo rese e selettività adeguate.

Le caratteristiche peculiari delle montmorilloniti possono essere ulteriormente potenziate e migliorate tramite l’apporto di modifiche strutturali, come ad esempio l’intercalazione di ponti di ferro, zirconio o alluminio. Le argille pontate con quest’ultimo elemento sono, senza dubbio, le più comunemente impiegate.

### 3.2.2 Sintesi della montmorillonite pontata con alluminio

Si descrive qui di seguito la procedura comunemente utilizzata per la sintesi della montmorillonite pontata con alluminio [67]; quantità, temperature e tempi possono variare da procedimento a procedimento, ma l’essenza del metodo rimane sempre la stessa, così come resta in genere lo stesso il policatione di partenza, ovvero lo ione di Keggin  $(Al_{13}O_4(OH)_{24}(H_2O)_{12})^{7+}$ .

Innanzitutto, una soluzione a base di policationi di alluminio, in cui il rapporto molare OH/Al risulti pari a 2, viene preparata aggiungendo  $AlCl_3$  0,2 M in idrossido di sodio 0,2 M; il tutto viene mantenuto in costante agitazione per 8 ore a  $80^\circ C$ , per poi essere lasciato per 24 ore a temperatura ambiente.

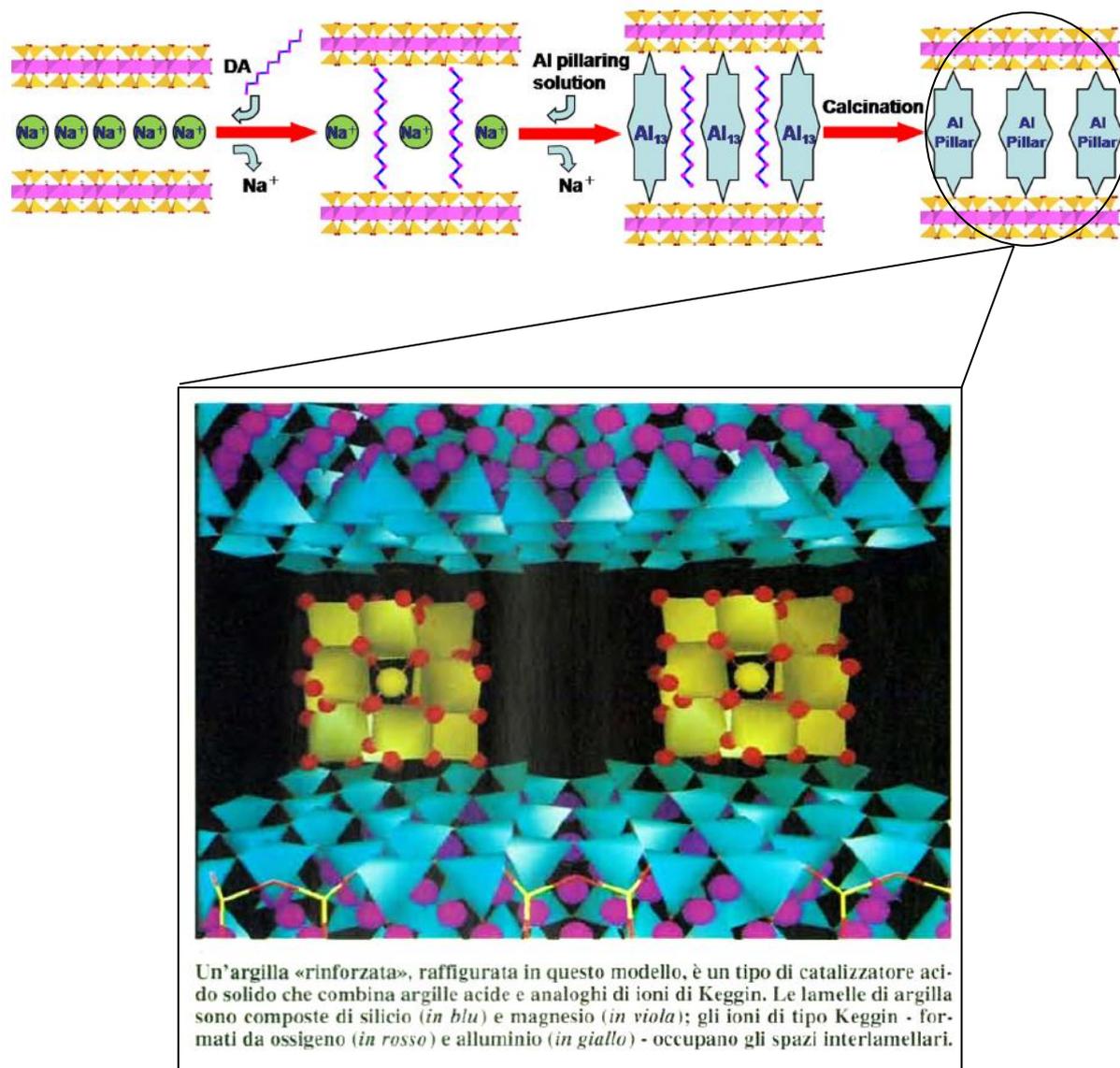
In seguito, si prepara una sospensione acquosa di montmorillonite sodica: l’acqua opera un primo parziale rigonfiamento dell’argilla.

Il vero e proprio processo di intercalazione si ottiene addizionando goccia a goccia la sospensione argillosa alla soluzione di policationi di alluminio; il tutto viene mantenuto sotto vigorosa agitazione per 12 ore a  $65^\circ C$ .

La montmorillonite pontata ottenuta viene quindi sottoposta alle operazioni di filtrazione, lavaggio ed essiccamento all’aria; per finire si procede con una calcinazione a  $300^\circ C$ .

I sistemi di ioni di Keggin sono particolari eteropoliacidi costituiti da atomi di ossigeno, uniti a molibdeno o tungsteno, che circondano un atomo centrale di fosforo o silicio. Proprio come le argille, anche questi composti sono in grado di incorporare grandi quantità di acqua o molecole polari, generando un “quasi-liquido” rigonfio in cui i protoni idrati mostrano elevata mobilità.

Per la sintesi delle MMT-Al si ricorre a sistemi di ioni di Keggin ricchi di alluminio e dotati di carica positiva: essi conferiscono alla zona interlamellare dell’argilla una porosità bidimensionale ed aumentano la stabilità termica del materiale, rendendolo così idoneo ai trattamenti a caldo [68].



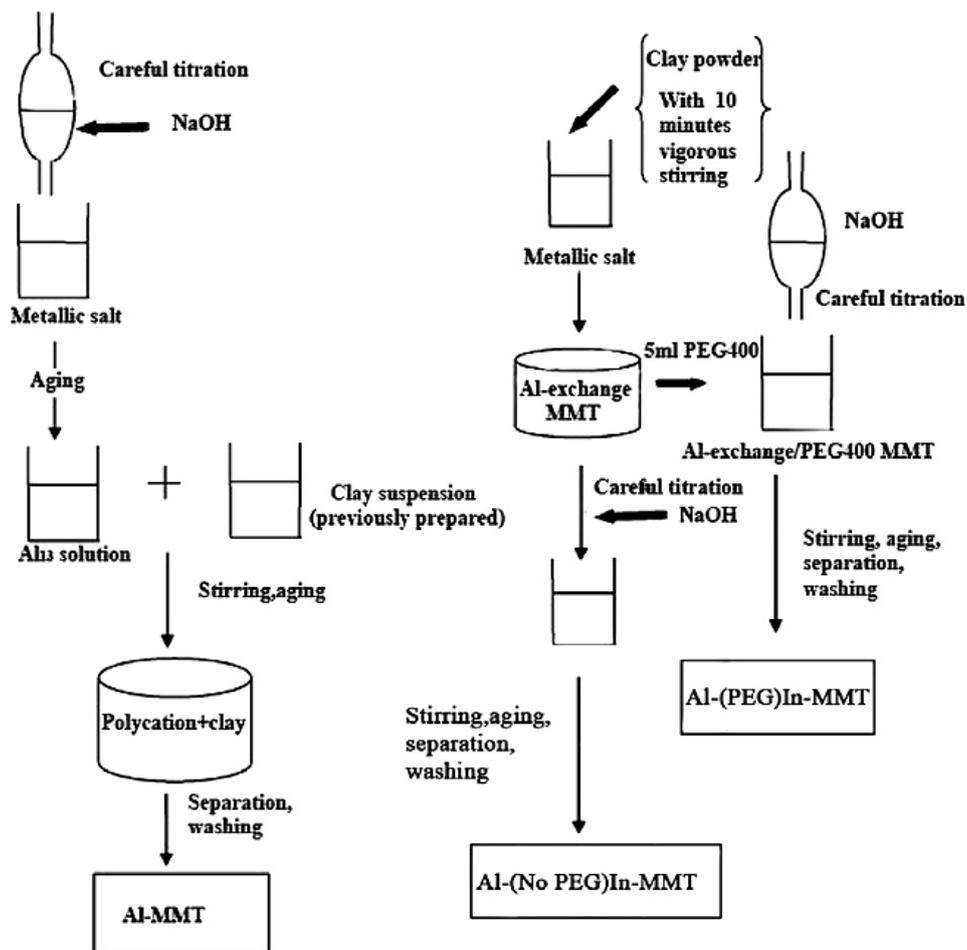
**Figura 3.6** Schema della sintesi della MMT-Al e struttura del sistema a ioni di Keggin [68, 69].

Esistono molte varianti della procedura descritta per la sintesi della MMT-Al: alcune ricorrono, per esempio, al polietilenglicole come agente rigonfiante, capace di favorire il distanziamento tra gli strati lamellari del minerale ed il conseguente inserimento dei ponti di alluminio [70]; in altri casi si utilizzano radiazioni a microonde durante la fase di intercalazione al fine di ridurre i tempi necessari proprio a questa operazione [71].

A seconda del metodo impiegato per la sintesi della MMT-Al, il prodotto finale presenta caratteristiche differenti soprattutto in termini di dimensione e distribuzione dei pori, di stabilità termica e di acidità totale.

Le argille pontate con alluminio possiedono una carica effettiva maggiore rispetto a quella delle montmorilloniti classiche, nonché una migliore cristallinità ed un d-spacing del riflesso basale (001) fino a cinque volte più elevato [67].

Le montmorilloniti pontate possono essere utilizzate con successo in numerose applicazioni, quali: ultrafiltrazione e processi di separazione a membrana, adsorbimento selettivo di gas, trattamento degli effluenti, fotocatalisi ed immobilizzazione di enzimi [72].



**Figura 3.7** Metodo classico di intercalazione dei ponti di alluminio (a sinistra) e metodo ricorrente al polietilenglicole in veste di agente rigonfiante (a destra) [70].

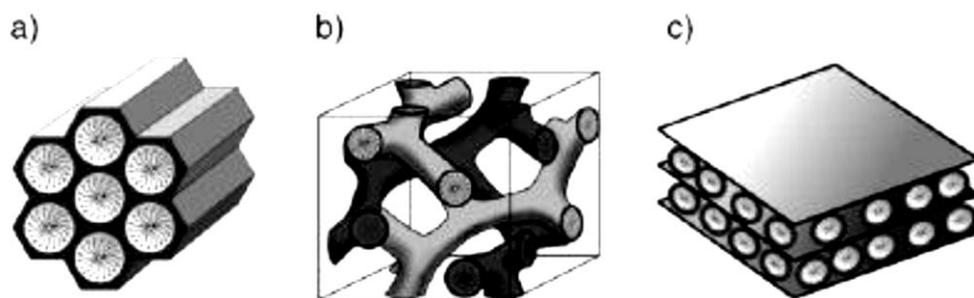
### 3.3 La silice SBA-15

#### 3.3.1 Struttura e proprietà

I silicati mesoporosi furono sintetizzati per la prima volta in Giappone nel 1990 [73] e, due anni dopo, la compagnia statunitense Mobil Oil Corporation iniziò a produrli su larga scala sotto il nome di M41S.

Il meccanismo utilizzato per la sintesi di tali composti è definito “liquid crystal templating” (LCT): esso consiste nell'idrolisi e nella successiva condensazione di ioni silicato in soluzione acquosa; la presenza di agenti strutturanti, in questo caso molecole di tensioattivo autoassemblate in cristalli liquidi, permette l'interazione elettrostatica tra le specie presenti in soluzione (cariche negativamente) ed il tensioattivo (carico positivamente), il cui compito è quello di orientare la struttura finale.

Alla famiglia delle M41S appartengono i materiali denominati MCM (Mobil Composite of Matter) tra i quali, distinti in base alle proprie condizioni di sintesi e, di conseguenza, in base alla propria struttura, compaiono i supporti MCM-41, MCM-48 e MCM-50: il primo possiede pori ordinati a simmetria esagonale; il secondo è caratterizzato da una rete tridimensionale a simmetria cubica; il terzo presenta una struttura lamellare poco stabile [74].



**Figura 3.8** Materiali della famiglia M41S: a) MCM-41 (struttura esagonale); b) MCM-48 (struttura cubica); c) MCM-50 (struttura lamellare).

Nel 1998, in California, a partire dal materiale MCM-41, fu sintetizzato un nuovo silicato mesostrutturato denominato SBA-15 (Santa Barbara Amorphous-15) [75]. Esattamente come il supporto da cui deriva, tale silice è costituita da pori a geometria esagonale, uniformemente distribuiti e tra loro paralleli; la loro dimensione risulta però maggiore, compresa tra i 4 e i 30 nm.

Inoltre, rispetto alla tipologia MCM-41, la SBA-15 presenta [76]:

- pareti dei pori più sottili;
- una maggiore area specifica;
- una più elevata stabilità termica e chimica;
- maggiore resistenza meccanica.

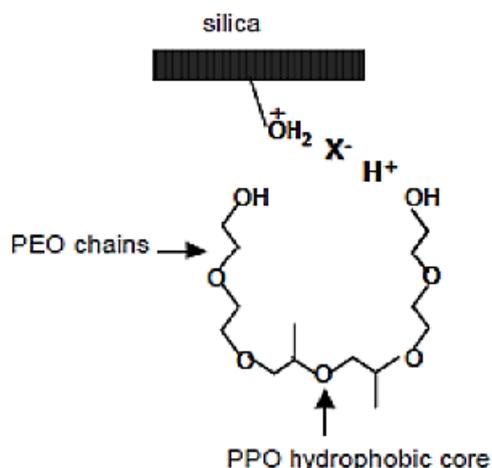
Tali caratteristiche, unite a quelle di biocompatibilità e non tossicità, fanno sì che la SBA-15 venga utilizzata, ad esempio, in ambito catalitico, per i processi di separazione a membrana, per il rilascio controllato di farmaci e come biosensore [74].

### 3.3.2 Sintesi della silice SBA-15

Il materiale amorfo SBA-15 viene sintetizzato a partire da fonti di silice quali: il tetraetossisilano (TEOS), il tetrametossisilano (TMOS) ed il tetrapropossisilano (TPOS).

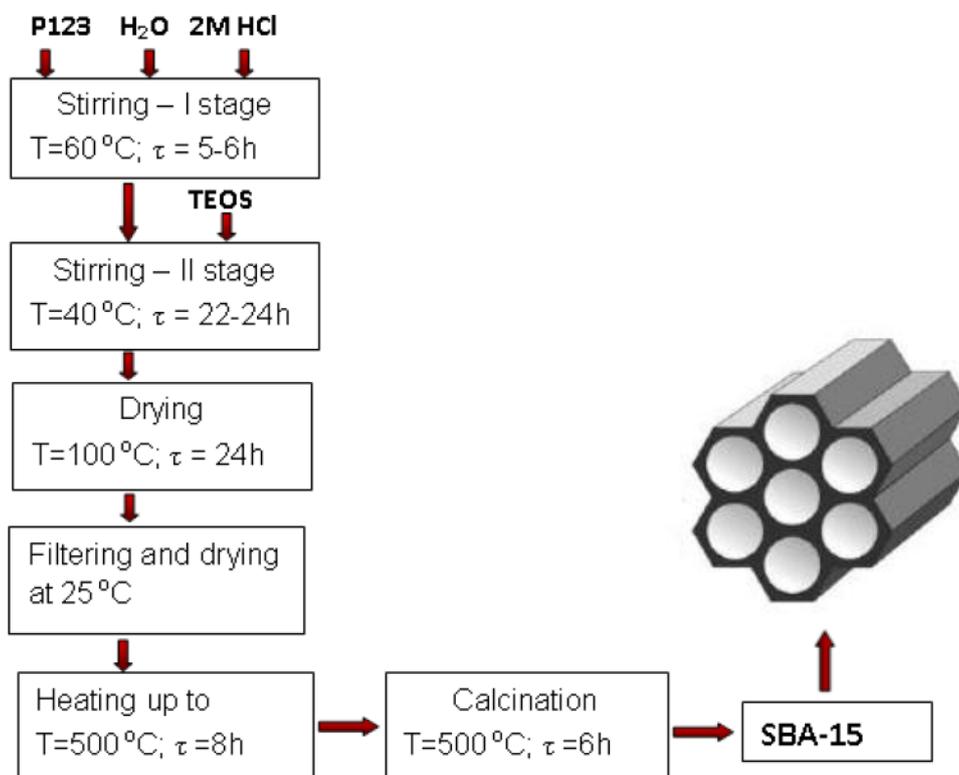
Particolari copolimeri a blocchi, di tipo polietilene ossido-polipropilene ossido-polietilene ossido (PEO-PPO-PEO), creano interazioni elettrostatiche con la silice e favoriscono la corretta orientazione della struttura mesoporosa finale. Il Pluronic P123 ( $\text{EO}_{20}\text{PO}_{70}\text{EO}_{20}$ ) è il copolimero generalmente utilizzato durante il processo di sintesi della SBA-15.

Al fine di ottenere la precipitazione e la formazione di gel di silice, è necessario operare a valori di pH circa pari a 1, ovvero al di sotto del punto isoelettrico ( $\text{pH} \approx 2$ ) delle specie silicee.



**Figura 3.9** Interazione tra la fonte di silice ed il copolimero PEO-PPO-PEO.

Una volta creata la struttura caratteristica della SBA-15, è necessario rendere disponibile la mesostruttura rimuovendo il tensioattivo rimasto all'interno dei suoi pori. A tale scopo è possibile ricorrere ad un'estrazione con solvente oppure ad una calcinazione: nel primo caso è fondamentale scegliere il solvente in maniera appropriata per evitare che esso possa provocare un collasso della mesoporosità appena formata; nel secondo caso è opportuno operare a temperature controllate per limitare il rischio che la distribuzione omogenea dei pori venga compromessa [77].



**Figura 3.10** Principali passaggi necessari alla sintesi della SBA-15 [78].

La morfologia finale assunta dalle particelle di SBA-15 è influenzata da alcuni parametri di processo come, ad esempio, le temperature alle quali si eseguono i differenti passaggi, il pH della soluzione, le velocità di agitazione. È stato dimostrato che per temperature di sintesi inferiori ai 130°C la struttura della SBA-15 ottenuta contiene una quota parte di micropori che, disposti in maniera disordinata, collegano tra loro i mesopori uniformemente distribuiti [79].

Tramite l'aggiunta di gruppi funzionali organici, per esempio amminici o carbossilici, è possibile potenziare ulteriormente le proprietà fisico-chimiche, strutturali e reattive della silice SBA-15.

La funzionalizzazione avviene di norma via co-condensazione oppure per mezzo del processo di "grafitizzazione": il primo metodo prevede l'introduzione dei gruppi funzionali tramite la co-condensazione dei silanoli con i composti organosilani, aggiunti in contemporanea all'agente templante; il secondo metodo avviene in fase post-sintesi e consiste nell'ancorare, per mezzo di un legame covalente, i gruppi di interesse alla superficie della silice [80].

## 4. Materiali, metodi, tecniche di caratterizzazione ed analisi

### 4.1 Reagenti e materiali utilizzati

Qui di seguito vengono elencati i materiali e i reagenti utilizzati nel corso di questo lavoro di ricerca:

- acqua ad elevata purezza (18.2 M $\Omega$ cm a 25°C) ottenuta con il sistema Milli-Q Academic (Millipore, Billerica, MA, USA);
- glifosato (Fluka<sup>®</sup> Analytical, purezza 99,2%);
- formulazione commerciale Roundup Gran Unkrautfrei (Monsanto<sup>®</sup>);
- silice SBA-15 (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>, pori di 8 nm);
- montmorillonite pontata con alluminio (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>);
- montmorillonite K10 (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>);
- $\gamma$ -allumina sintetizzata presso il Politecnico di Torino;
- idrossido di sodio, NaOH (Fluka<sup>®</sup> Analytical, purezza > 98%);
- etanolo (Honeywell<sup>®</sup>, purezza 99,8%);
- acido cloridrico, HCl (Honeywell<sup>®</sup>, purezza > 40%);
- acido ossalico (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>, purezza 99%);
- cloruro di calcio, CaCl<sub>2</sub> (Honeywell<sup>®</sup>, purezza > 99%).

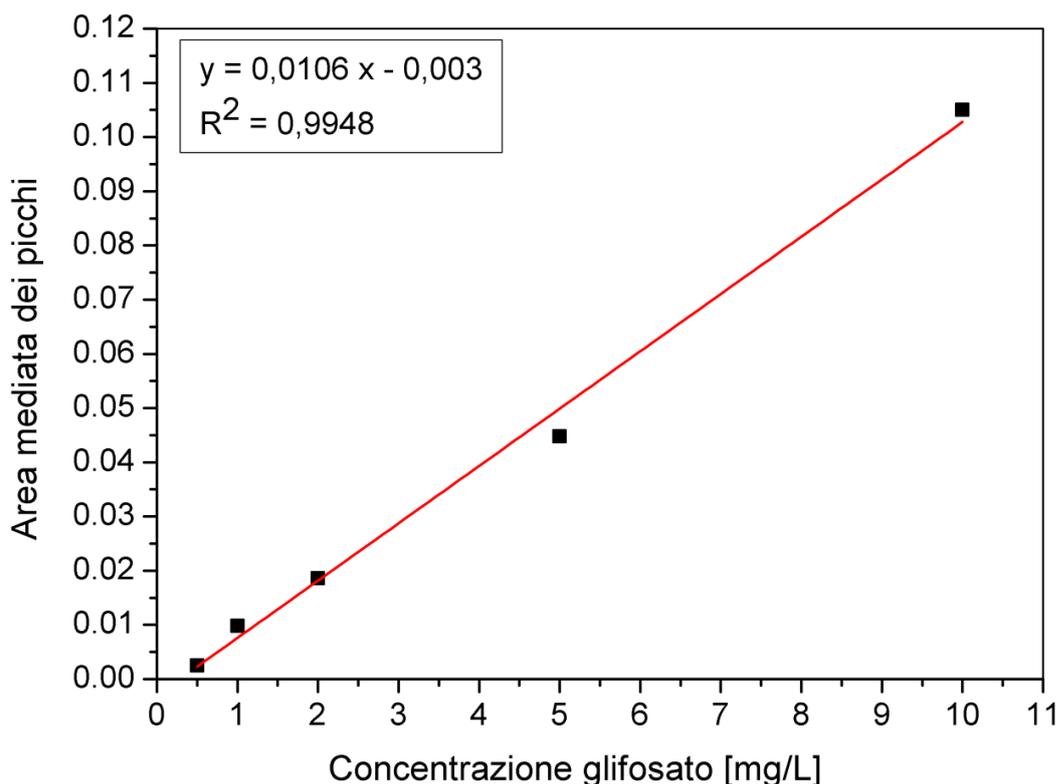
### 4.2 Incipient Wetness Impregnation

L'inserimento del glifosato all'interno delle matrici scelte è avvenuto mediante la tecnica detta Incipient Wetness Impregnation. Tale procedura prevede che un dato volume di soluzione contenente il principio attivo, circa pari al volume occupato dai pori del supporto, venga messo a contatto con la matrice stessa; per mezzo di una miscelazione manuale o meccanica, la soluzione è forzata a diffondere per capillarità all'interno dei mesopori disponibili; successivamente, il tutto viene sottoposto ad essiccamento così da far evaporare il solvente in eccesso e permettere l'effettiva deposizione nel supporto delle molecole desiderate.

Nel caso in cui il volume della soluzione necessario all'operazione fosse molto elevato, si procede con impregnazioni successive intervallate da passaggi in stufa [81].

### 4.3 Retta di taratura del glifosato

Per poter effettuare le analisi tramite la tecnica della cromatografia ionica, è stato necessario determinare il limite di rivelabilità (LOD) ed il limite di quantificazione (LOQ) del principio attivo in esame. Per far ciò sono state analizzate soluzioni di glifosato a diversa concentrazione (10, 5, 2, 1 e 0,5 mg/L), preparate con l'acido puro fornito dalla Fluka<sup>®</sup> Analytical, e si è costruita la relativa retta di taratura.



**Figura 4.1** Retta di taratura del glifosato.

Dall'interpolazione lineare effettuata è risultato che:

- $LOD = (3,3 * RMSE) / \text{pendenza retta} = (3,3 * 0,0016) / 0,0106 = 0,50 \text{ mg/L};$
- $LOQ = 3 * LOD = 1,5 \text{ mg/L}.$

#### 4.4 Analisi di adsorbimento di azoto

La tecnica di adsorbimento fisico di azoto permette di caratterizzare i materiali porosi definendone, in particolare, l'area specifica, il volume occupato dai pori, il diametro e la distribuzione dimensionale dei pori.

In fase preliminare, al fine di eliminare impurità ed acqua eventualmente fisisorbite sulla superficie del campione da analizzare, quest'ultimo viene sottoposto, per almeno due ore, a degasaggio sotto vuoto e ad alta temperatura (nel nostro specifico caso, 150°C per le matrici tal quali e 70°C per i supporti impregnati o post-rilascio).

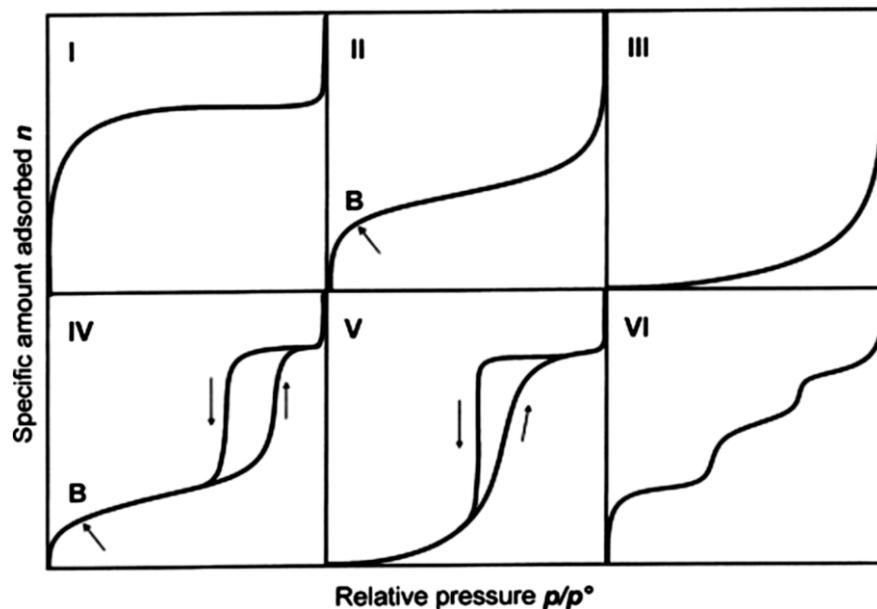
Dopodiché, il materiale viene immerso in un bagno di azoto liquido a 77 K, necessario per favorire le interazioni tra fase solida e fase gassosa tramite il raffreddamento della superficie del campione; in seguito si procede con l'adsorbimento vero e proprio, inviando N<sub>2</sub> gassoso sulla superficie del materiale e variando man mano la pressione parziale dell'adsorbato così da poterne valutare la quantità fisisorbita dal campione.

Una volta raggiunta la pressione di saturazione, corrispondente al massimo adsorbimento possibile, il materiale viene rimosso dall'atmosfera ricca in azoto e poi riscaldato al fine di agevolare il desorbimento del gas penetrato all'interno dei suoi pori.

Lo strumento utilizzato per la caratterizzazione dei nostri materiali è stato un Quantachrome AUTOSORB-1.

I dati sperimentali ottenuti permettono di costruire le isoterme di adsorbimento, le quali riportano il volume di gas adsorbito in funzione della sua pressione parziale.

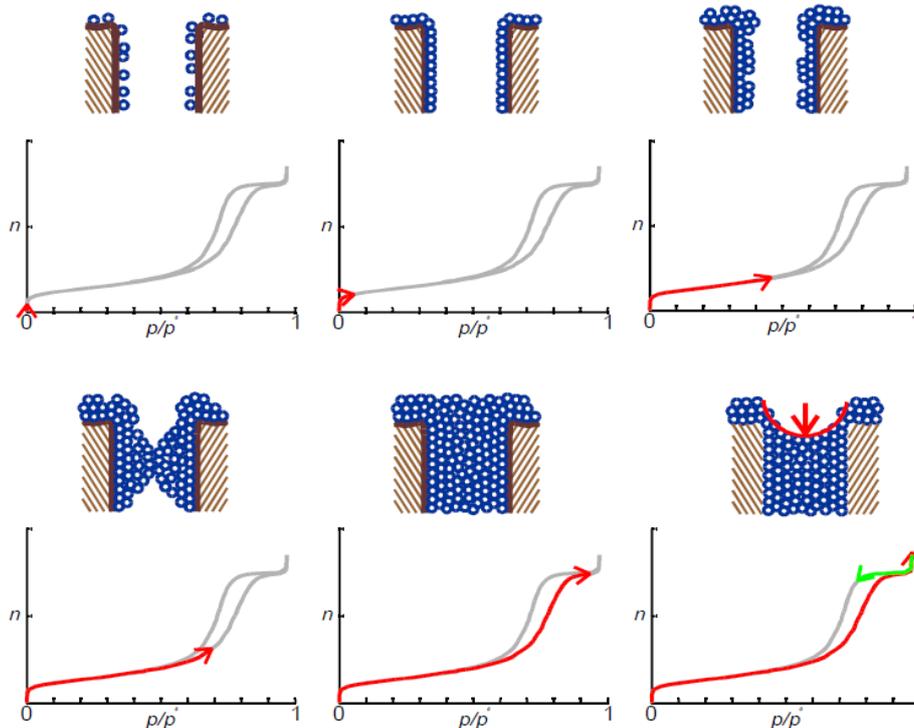
Secondo la classificazione IUPAC, è possibile distinguere sei tipologie di isoterme a seconda sia delle interazioni adsorbente-adsorbato, sia della dimensione dei pori presenti all'interno del supporto in esame.



**Figura 4.2** Isotherme di adsorbimento secondo la classificazione IUPAC.

La IV tipologia è tipica dei materiali mesoporosi, i cui pori hanno un diametro compreso tra i 2 e i 50 nm; la relativa isoterma presenta un caratteristico coppia di isteresi, correlato al fenomeno di condensazione capillare che si verifica all'interno di tali supporti.

All'aumentare della pressione parziale dell'azoto inviato in fase di adsorbimento, infatti, si assiste alla formazione di un primo monostrato di particelle di  $N_2$  sulla superficie del campione, per poi passare alla deposizione di strati multipli ed arrivare, infine, alla condensazione del gas all'interno dei pori. In corrispondenza di quest'ultimo tratto, le pressioni necessarie per allontanare l'azoto penetrato all'interno del materiale risultano inferiori a quelle registrate durante l'adsorbimento, con conseguente formazione del ciclo di isteresi. La forma di quest'ultimo fornisce informazioni relative alla morfologia dei pori.



**Figura 4.3** Costruzione dell'isoterma di adsorbimento/desorbimento in funzione della disposizione del gas all'interno dei pori.

Un'ulteriore classificazione delle isoterme di adsorbimento è quella proposta da Giles nel 1974: in essa sono previste quattro classi (S, L, H, C), ognuna associata ad una particolare pendenza della parte iniziale della curva, e cinque sottogruppi (1, 2, 3, 4, mx), distinti in base all'andamento della parte finale dell'isoterma [82].

La stima della quantità di azoto adsorbito dalla superficie del campione viene effettuata sulla base del modello BET (Brunauer-Emmett-Teller): esso distingue tra le interazioni adsorbente-adsorbato e adsorbato-adsorbato, di fatto estendendo il modello di Langmuir dal solo ricoprimento monostrato al ricoprimento multistrato.

Il volume occupato dal gas condensato viene impiegato per la valutazione del diametro dei pori, mentre per il calcolo dell'area specifica si ricorre al volume occupato dal monostrato, oppure alla sua massa.

Il modello Multipoint BET, il quale utilizza un minimo di tre dei punti sperimentali ricavati, per valori di  $P/P_0$  compresi tra 0,025 e 0,3, è quello generalmente usato per la determinazione dell'area superficiale [83].

#### 4.5 Diffrattometria a raggi X

La diffrazione a raggi X è una tecnica non distruttiva utile per ricavare informazioni circa la struttura cristallina di un solido. Essa permette, per esempio, di definire qualitativamente e quantitativamente le fasi cristalline contenute all'interno di un determinato campione, nonché di definire la tipologia di reticolo in esso presente, la distanza intercorrente tra i suoi piani, la dimensione dei suoi cristalliti.

Il principio sul quale si basa tale tecnica è che l'interazione tra un fascio di onde elettromagnetiche con un solido genera un fenomeno di diffrazione, ovvero di deviazione,

delle onde stesse; queste ultime devono possedere una lunghezza d'onda comparabile con la dimensione caratteristica del materiale sul quale vengono inviate: i raggi X soddisfano questa condizione.

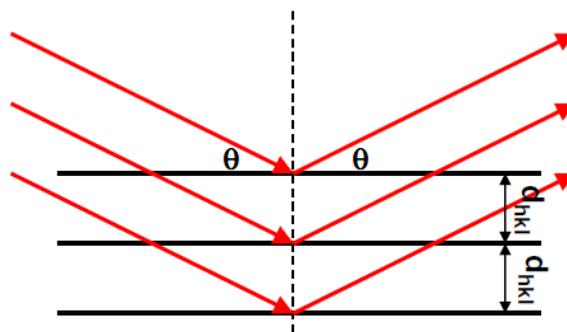
È opportuno che il solido da analizzare si trovi in forma di polvere cosicché esso possa essere disposto in modo planare sull'apposito porta-campione; in tal modo è possibile ritenere valida la legge di Bragg (4.1):

$$n\lambda = 2 d_{hkl} \sin\theta \quad (4.1)$$

Essa mette in correlazione la lunghezza d'onda  $\lambda$  della radiazione incidente con la distanza  $d$  tra i piani reticolari del cristallo e l'angolo  $\theta$  di riflessione del raggio.

La diffrazione si verifica soltanto quando la distanza percorsa dai raggi X, tra loro paralleli, è pari ad un multiplo intero  $n$  della loro lunghezza d'onda.

I pedici  $h, k, l$  vengono chiamati "indici di Miller" e si riferiscono ai diversi piani presenti all'interno di un reticolo di Bravais.

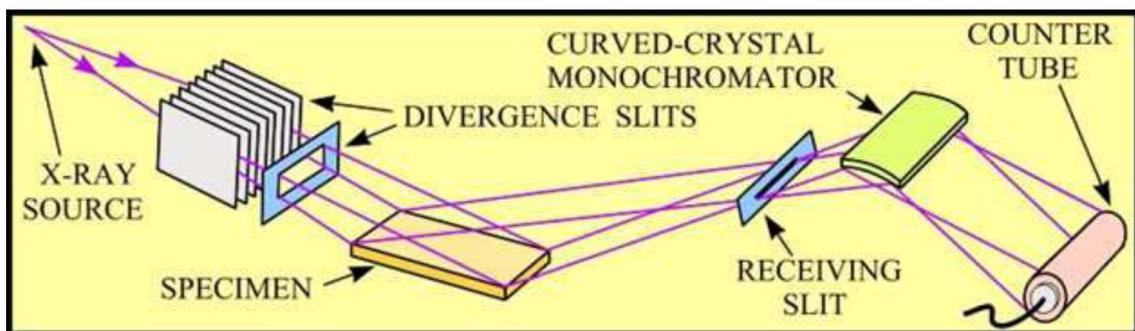


**Figura 4.4** Illustrazione geometrica della legge di Bragg [84].

I raggi X vengono prodotti da un anticatodo di rame a seguito della sua interazione con gli elettroni  $e^-$  generati da un filamento di tungsteno riscaldato.

Le radiazioni ottenute vengono convogliate in direzione del campione attraverso un sistema di slitte opportunamente regolato: questo ha il compito di filtrare i raggi X e di creare un fascio diretto monocromatico, privo della cosiddetta "radiazione bianca", responsabile della registrazione di segnali poco chiari e definiti.

Un apposito rivelatore registra sia gli angoli  $2\theta$  in corrispondenza dei quali le radiazioni subiscono diffrazione, sia l'intensità dei raggi diffratti.



**Figura 4.5** Rappresentazione schematica di un diffrattometro [85].

Per le caratterizzazioni a raggi X effettuate in questo studio, è stato utilizzato un diffrattometro a raggi X PANanalytical X'Pert Powder (Cu K $\alpha$  radiation).

#### 4.6 Spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier

La spettroscopia infrarossa è una tecnica di caratterizzazione ad assorbimento utilizzata per determinare i legami chimici e i gruppi funzionali contenuti nelle molecole di un materiale campione.

Tale tecnica si basa sulla generazione di moti vibrazionali e rotazionali all'interno della molecola organica che viene investita da un fascio di radiazioni infrarosse; se le vibrazioni prodotte provocano una variazione del momento dipolare della molecola, allora quest'ultima genera un campo elettrico oscillante tramite il quale può scambiare energia con le onde elettromagnetiche stesse.

Un tipico spettro infrarosso riporta in ascissa il numero d'onda del fotone incidente, in ordinata l'assorbanza (o la trasmittanza) del campione, la quale è correlata all'intensità delle bande di assorbimento dei singoli gruppi funzionali presenti.

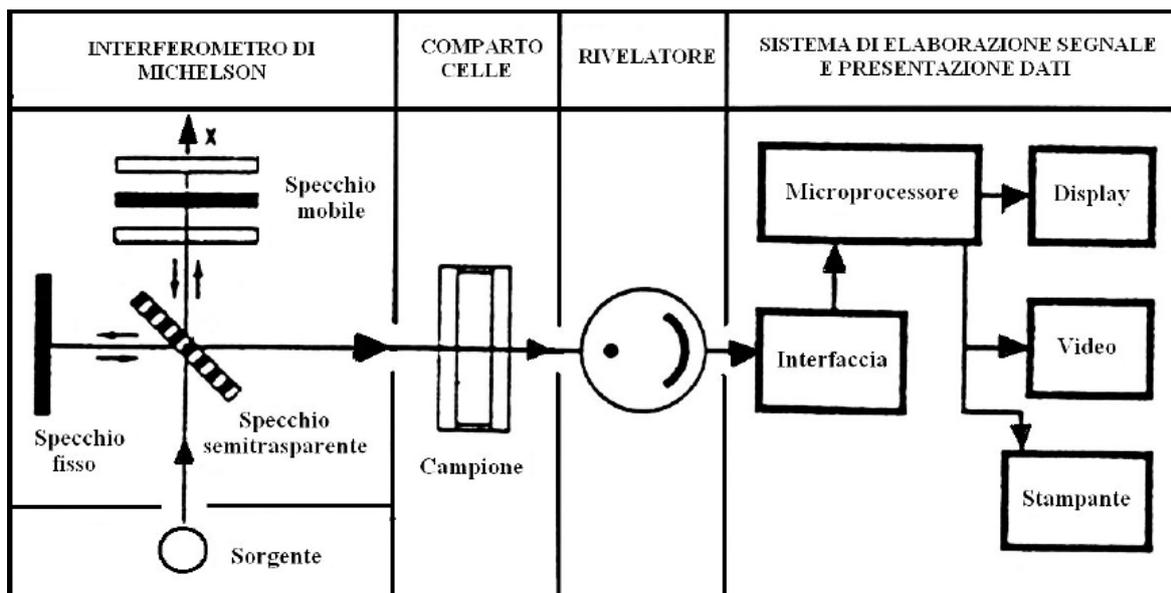
L'intensità di una banda esprime la probabilità che un determinato gruppo funzionale subisca una transizione energetica dal proprio stato fondamentale ad uno stato eccitato, con relativo assorbimento di fotoni.

Le bande comprese tra i 3800 e i 1300  $\text{cm}^{-1}$  si riferiscono ai movimenti di stiramento e deformazione degli specifici gruppi funzionali, mentre le bande comprese tra i 1300 e i 600  $\text{cm}^{-1}$  formano la cosiddetta "impronta digitale"; quest'ultima è la zona dei picchi che sono originati dalle vibrazioni dello scheletro molecolare nel suo complesso e che dipendono, quindi, dallo specifico materiale esaminato.

La spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier è una variante della più classica spettroscopia a dispersione.

La differenza più importante tra le due tecniche consiste nella possibilità, col metodo FT-IR, di effettuare la scansione contemporanea di tutte le frequenze presenti nella radiazione IR generata dalla sorgente. Ciò rende superflua la scansione della lunghezza d'onda in quanto, per mezzo di un particolare interferometro, denominato "interferometro di Michelson", la radiazione infrarossa emessa viene trasformata in un interferogramma, ossia una rappresentazione dell'intensità di assorbimento in funzione del tempo e non più della frequenza.

L'interferogramma, in seguito, viene convertito in un tradizionale spettro infrarosso tramite una serie di trasformate di Fourier, eseguite da un apposito calcolatore.



**Figura 4.6** Rappresentazione schematica dello spettrofotometro IR a trasformata di Fourier.

In figura 4.6 è riportato uno schema relativo al funzionamento di uno spettrofotometro a trasformata di Fourier.

La radiazione IR, emessa da una sorgente luminosa ad incandescenza, viene inviata ad uno specchio semi-riflettente che la scinde in due parti uguali: una metà è indirizzata verso uno specchio fisso, l'altra metà verso uno specchio mobile. I raggi riflessi da questi due specchi sono nuovamente convogliati in direzione dello specchio semi-riflettente di partenza, dove vengono riuniti in un'unica radiazione, poi inviata attraverso il materiale campione e, da lì, al rivelatore.

Il differente cammino ottico percorso dai due raggi, prima distinti, poi ricongiunti ed infine fatti passare attraverso il medesimo solido, fa sì che si creino delle interferenze costruttive o distruttive dipendenti dalla posizione assunta dallo specchio mobile in un dato istante; tali interferenze forniscono un segnale complessivo diverso, l'interferogramma, a seconda della frequenza e dell'intensità della radiazione emessa ed assorbita.

Per mezzo delle trasformate di Fourier, il segnale di intensità luminosa in funzione del tempo viene convertito in un segnale di intensità in funzione del numero d'onda [86].

Lo strumento utilizzato nel corso di questo studio è stato uno spettrofotometro FT-IR Bruker Equinox 55.

Tutti i campioni caratterizzati hanno subito un degasaggio preliminare sotto vuoto ( $10^{-3}$  mbar) della durata di un'ora, necessario per eliminare l'eventuale acqua fisisorbita sulla loro superficie.

#### 4.7 Microscopia elettronica a scansione

La microscopia elettronica a scansione con emissione di campo (FESEM) è una tecnica di caratterizzazione utile per valutare la morfologia superficiale di un materiale solido; sfruttando un fascio di elettroni, dotati di una lunghezza d'onda inferiore a quella dei fotoni, è possibile ottenere risoluzioni molto elevate, fino ad arrivare ad individuare persino strutture con dimensioni pari ad 1 nm.

La sorgente di elettroni è rappresentata da un filamento metallico, solitamente a base di tungsteno, che viene riscaldato fino a 2800°C per mezzo del passaggio di corrente al suo interno.

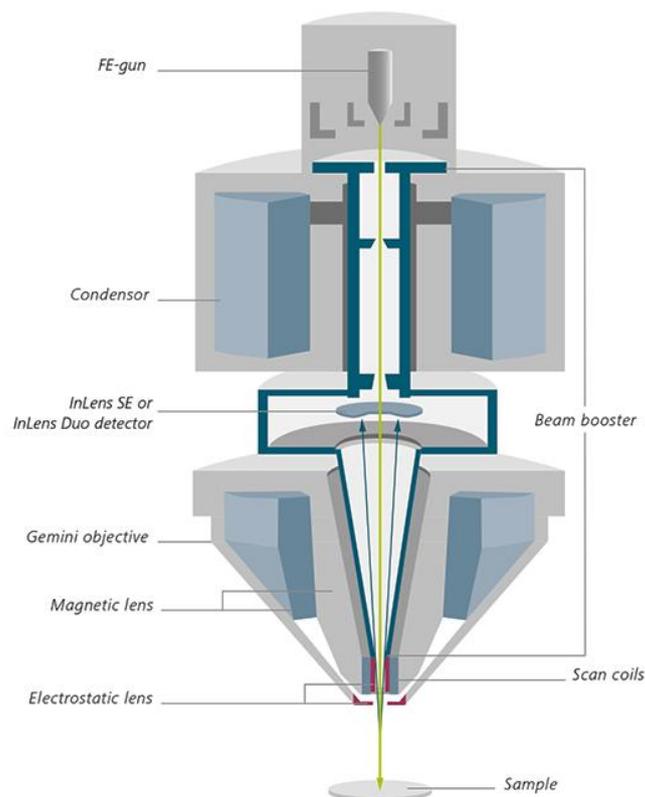
Gli elettroni, generati nella parte superiore di una colonna, vengono accelerati verso il basso grazie all'elevato voltaggio (0,5-30 KV) che viene imposto tra catodo e anodo; il fascio viene quindi diretto verso il campione mediante l'uso di un'adeguata combinazione di lenti ed aperture.

Un microscopio FESEM possiede due lenti elettromagnetiche fondamentali: il condensatore e la lente obiettivo. Il primo ha il compito di controllare e limitare il numero di elettroni del fascio che attraversano una data apertura; la seconda focalizza la radiazione sul materiale da analizzare.

Il fascio di  $e^-$  viene fatto scandire al di sopra della superficie del campione, il quale, una volta colpito dalla radiazione, genera elettroni secondari, associati ai suoi livelli atomici più esterni; le particelle prodotte sono catturate da un apposito rivelatore e convertite in impulsi elettrici.

Sia la colonna in cui viaggia la radiazione incidente, sia la camera contenente il solido sono mantenute ad un livello di vuoto molto spinto.

Affinché un materiale possa essere caratterizzato mediante tale tecnica, esso deve presentare una certa conduttività; se necessario, esso viene ricoperto da uno strato molto sottile (0,5-3 nm) di oro oppure oro-palladio [87].



**Figura 4.7** Schema di un microscopio FESEM (ZEISS®).

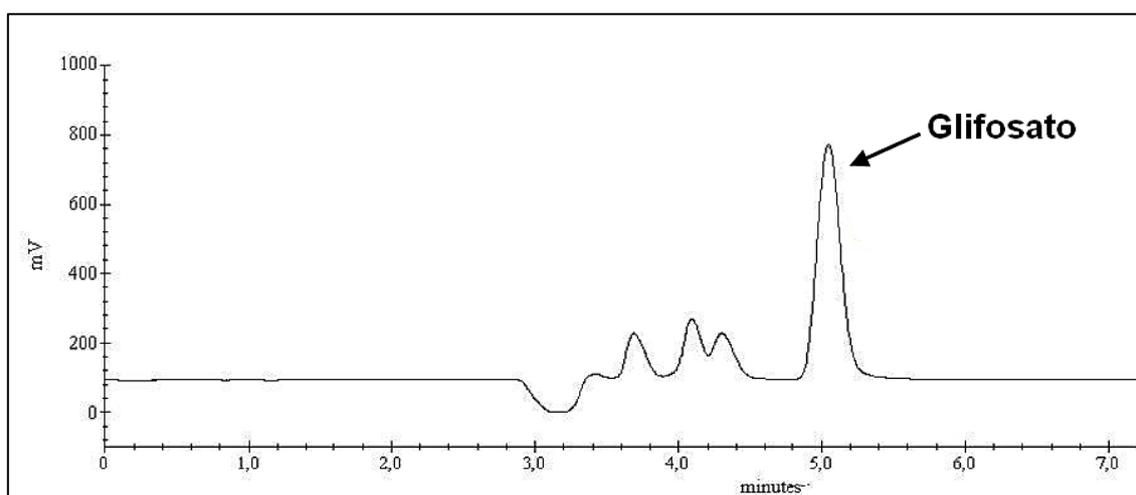
Per la caratterizzazione SEM dei nostri materiali è stato utilizzato un microscopio Supra™ 25 ZEISS.

#### 4.8 Tecniche di analisi: la cromatografia ionica

La cromatografia è oggi una delle tecniche più utilizzate in ambito analitico poiché consente di separare e determinare i componenti che costituiscono una miscela.

Gli analiti vengono ripartiti tra una fase mobile, o “eluente”, ed una fase fissa stazionaria generalmente collocata all’interno di una colonna. La distribuzione differenziale dei componenti in colonna dipende dall’affinità che essi manifestano verso una o entrambe le fasi presenti: una sostanza che si mostra più affine alla fase fissa, anziché a quella mobile, viene eluita più lentamente rispetto ad una sostanza che possiede una maggiore affinità verso l’eluente, anziché verso la fase stazionaria.

I vari componenti separati, ognuno eluito al proprio caratteristico tempo di ritenzione  $t_r$ , sono inviati ad un sistema di rivelazione; quest’ultimo registra i segnali associati ai diversi analiti e li converte in un “cromatogramma”, ossia un diagramma che consente di identificare le sostanze sia qualitativamente, sulla base del  $t_r$ , sia quantitativamente, sulla base dell’area dei picchi ottenuti.



**Figura 4.8** Esempio di cromatogramma relativo all’eluizione del glifosato.

In base al tipo di eluente utilizzato, le tecniche cromatografiche si distinguono in:

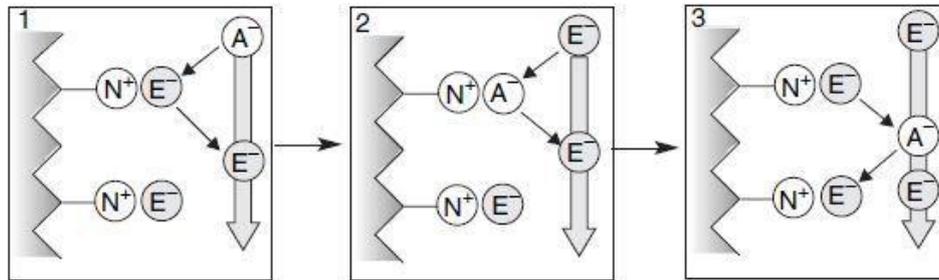
- gascromatografia (GC);
- cromatografia liquida (LC);
- cromatografia a fluido supercritico (SFC).

Ognuna di queste tre categorie è ulteriormente classificabile in base al meccanismo di separazione impiegato e alla natura dei componenti in miscela.

A tal proposito, una delle applicazioni più importanti della LC è rappresentata dalla cromatografia a scambio ionico (IC), il cui meccanismo permette di separare e determinare specie ioniche o ionizzabili.

Le fasi fisse impiegate nella IC sono sostanze solide che, grazie alla presenza di specifici gruppi funzionali, si dimostrano capaci di fissare ioni per mezzo di interazioni elettrostatiche. In genere si ricorre a gruppi solfonici per la cromatografia cationica e a gruppi ammoniacali quaternari per la cromatografia anionica.

Se analiti e ioni contenuti nell'eluente sono dotati della medesima carica, tra di essi si innesca una competizione per l'occupazione dei siti di segno opposto presenti sulla superficie della fase fissa: si ottiene una distribuzione continua e reversibile delle varie specie tra la fase mobile e quella stazionaria, con relativa separazione (figura 4.9).



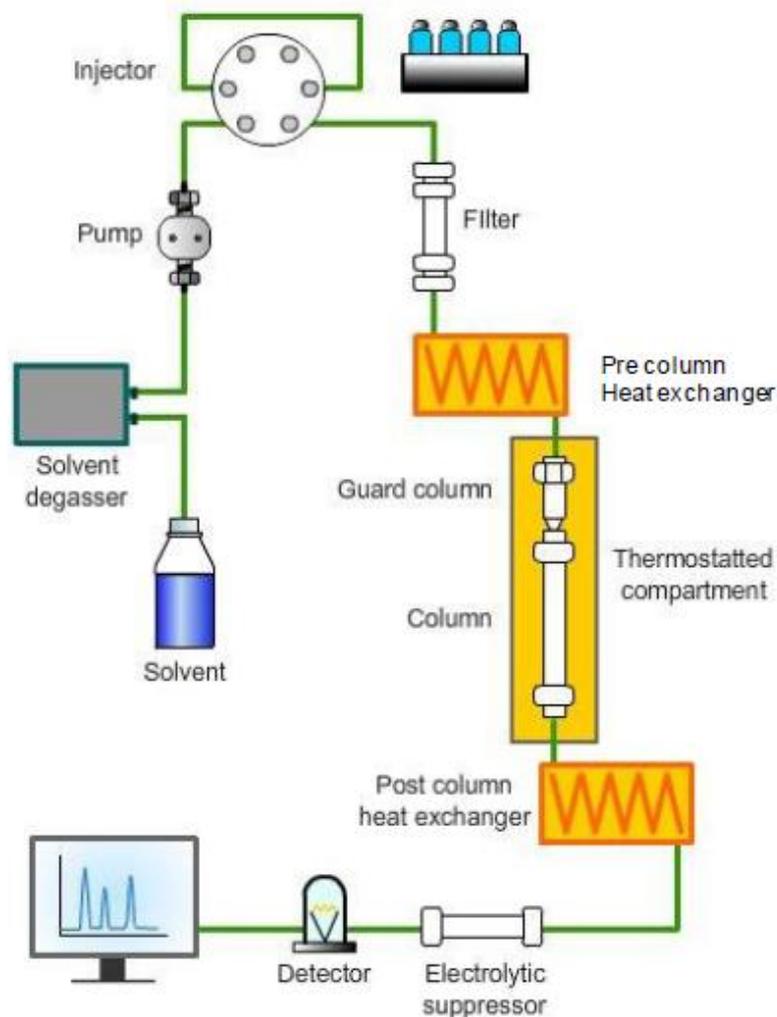
**Figura 4.9** Meccanismo di separazione nella cromatografia ionica IC.

Come fase stazionaria destinata alle colonne per IC può essere utilizzata un'ampia serie di materiali organici ed inorganici; tra questi: resine a polimero organico modificato, gel di silice modificato, zeoliti, vetri, sali inorganici, ossidi di metalli e derivati della cellulosa [88].

Le analisi cromatografiche eseguite nel corso di questo studio sono state realizzate con un cromatografo ionico DX-100 (Thermo-Fisher<sup>TM</sup>, Dionex<sup>TM</sup>, Sunnyvale, USA) abbinato al software PeakNet.

Un tipico cromatografo a scambio ionico è costituito dai seguenti elementi [89]:

- recipienti per la fase mobile;
- pompa/e ad elevata prestazione;
- sistema di iniezione;
- pre-colonna e colonna;
- rivelatore;
- soppressore.



**Figura 4.10** Schema di un cromatografo a scambio ionico IC [90].

La fase mobile può essere composta da uno o più eluenti, generalmente soluzioni acquose saline, che hanno il compito sia di trasportare il campione lungo la colonna, sia di favorire un buon processo di separazione. Al fine di ottenere un'elevata selettività, l'eluente deve possedere le proprietà chimico-fisiche più opportune per la specifica applicazione: alcuni dei parametri sui quali è possibile agire sono il pH, la forza ionica, la temperatura ed il flusso. Spesso i recipienti destinati a contenere i liquidi per la fase mobile sono collegati ad un sistema di degasaggio necessario all'eliminazione di aria o altri gas, eventualmente disciolti in soluzione, che potrebbero danneggiare la pompa o la colonna.

Nel corso di questo studio, come eluente, è stata utilizzata una soluzione di NaOH 35 mmol, operando ad una velocità di flusso pari a 1 ml/min.

La pompa atta al trasporto dell'eluente lungo la colonna deve poter garantire un flusso di liquido continuo, costante, uniforme e con minime pulsazioni; essa deve inoltre poter lavorare in presenza di altissime contro-pressioni, dell'ordine di alcune centinaia di atmosfere.

La tipologia di pompa più utilizzata è quella "alternativa a pistone": l'eluente viene richiamato in una piccola camera e ne è successivamente allontanato per mezzo di un pistone azionato da un apposito motore; due valvole, che si aprono e chiudono in maniera alternata, regolano il flusso di liquido in entrata e in uscita.

Il sistema di iniezione del campione all'interno della colonna è generalmente costituito da una valvola a sei vie: mentre l'eluente continua a fluire in colonna, il campione viene convogliato in una apposita cella capillare (loop); in seguito, ruotando la valvola, l'eluente viene fatto fluire attraverso il loop, così che il campione possa essere trasportato alla colonna. Tale metodo garantisce un flusso continuo di eluente ed evita la depressurizzazione del sistema.

Compito della pre-colonna è quello di evitare che impurità o ioni multivalenti presenti nel campione possano saturare, o comunque danneggiare, la colonna vera e propria. Di norma i materiali di impaccamento contenuti all'interno di colonna e pre-colonna sono gli stessi.

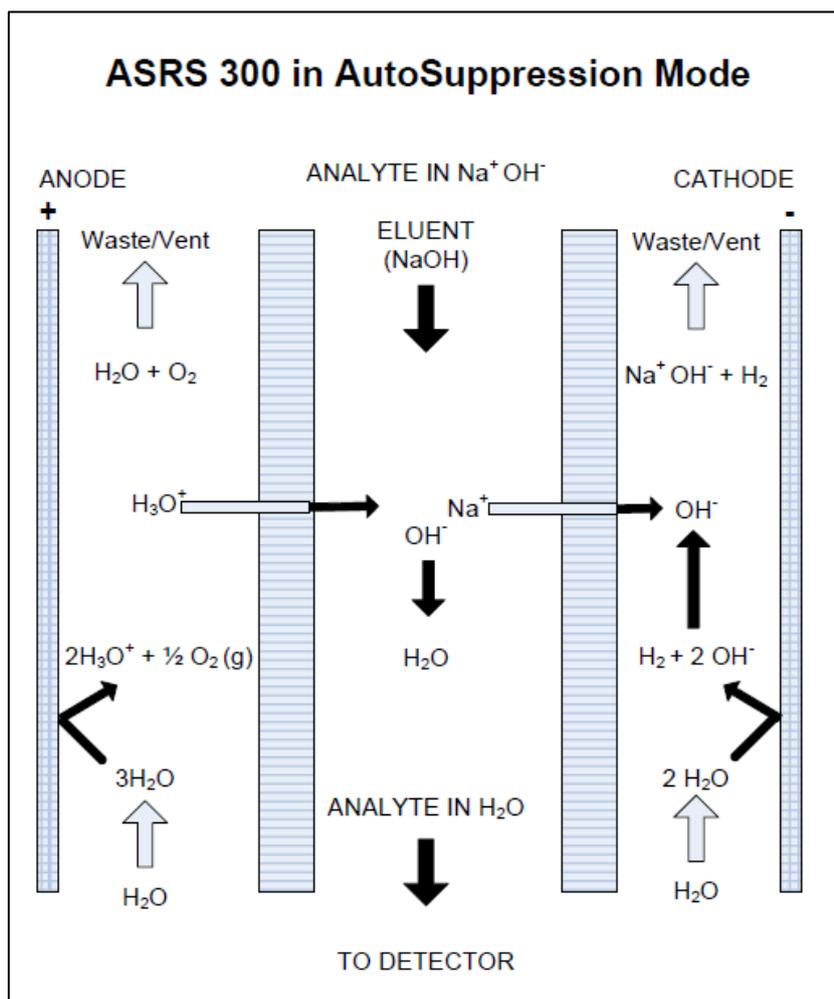
Per le analisi effettuate, sono state utilizzate una pre-colonna Dionex AG16 (4 x 50 mm) ed una colonna Dionex IonPack AS16 (250 x 4 mm, capacità di 170 µeq), entrambe costituite da una resina macroporosa a base di etilvinilbenzene/divinilbenzene caratterizzata da gruppi funzionali ammonio quaternari.

L'identificazione e la quantificazione dei composti eluiti avviene per mezzo di rivelatori. In particolare, in IC, viene generalmente utilizzato un rivelatore conduttimetrico, in grado di misurare la conduttanza delle soluzioni eluite dalla colonna analitica.

Tali sistemi sono sostanzialmente costituiti da due elettrodi tra i quali viene applicata una determinata differenza di potenziale; se nella fase mobile sono presenti degli ioni, il loro passaggio all'interno del rivelatore porta ad un aumento della conducibilità e al conseguente passaggio di corrente tra i due elettrodi: ciò si traduce nella registrazione, sul cromatogramma, di un picco di eluizione, il quale è direttamente correlabile alla concentrazione dell'analita.

Qualora si utilizzi un rivelatore di tipo conduttimetrico, il soppressore diventa uno strumento essenziale per annullare, o almeno ridurre, il contributo al segnale dato dalla conducibilità dell'eluente; gli ioni di quest'ultimo vengono convertiti in specie poco ionizzate.

Al fine di sopprimere il segnale associato all'idrossido di sodio utilizzato in qualità di eluente, nel nostro specifico caso si è ricorsi ad un soppressore Dionex ASRS 300 - 4 mm.



**Figura 4.11** Schema della reazione di soppressione operata dal Dionex ASRS 300 (ThermoScientific® Dionex).

Osservando la figura 4.11, si nota come dall'elettrolisi dell'acqua si ottengono ioni  $\text{OH}^-$  e idrogeno gassoso all'interno della camera catodica, ioni  $\text{H}^+$  ed ossigeno gassoso all'interno della camera anodica. Le due camere sono separate dall'eluente, che fluisce nella zona centrale, per mezzo di due membrane impermeabili agli anioni e permeabili ai cationi.

Gli ioni  $\text{H}^+$ , attratti dal catodo, si spostano nella zona centrale e vanno a neutralizzare gli ioni idrossido dell'eluente, formando  $\text{H}_2\text{O}$ ; gli ioni  $\text{Na}^+$ , presenti nell'eluente, per via del potenziale elettrico applicato e per il principio di elettroneutralità, si muovono verso la camera catodica dove, combinandosi con gli ioni  $\text{OH}^-$  derivati dall'idrolisi, producono nuovamente l'eluente.

Il risultato netto è la soppressione del contributo alla conducibilità dovuto all'eluente, unita all'incremento della conducibilità degli analiti.

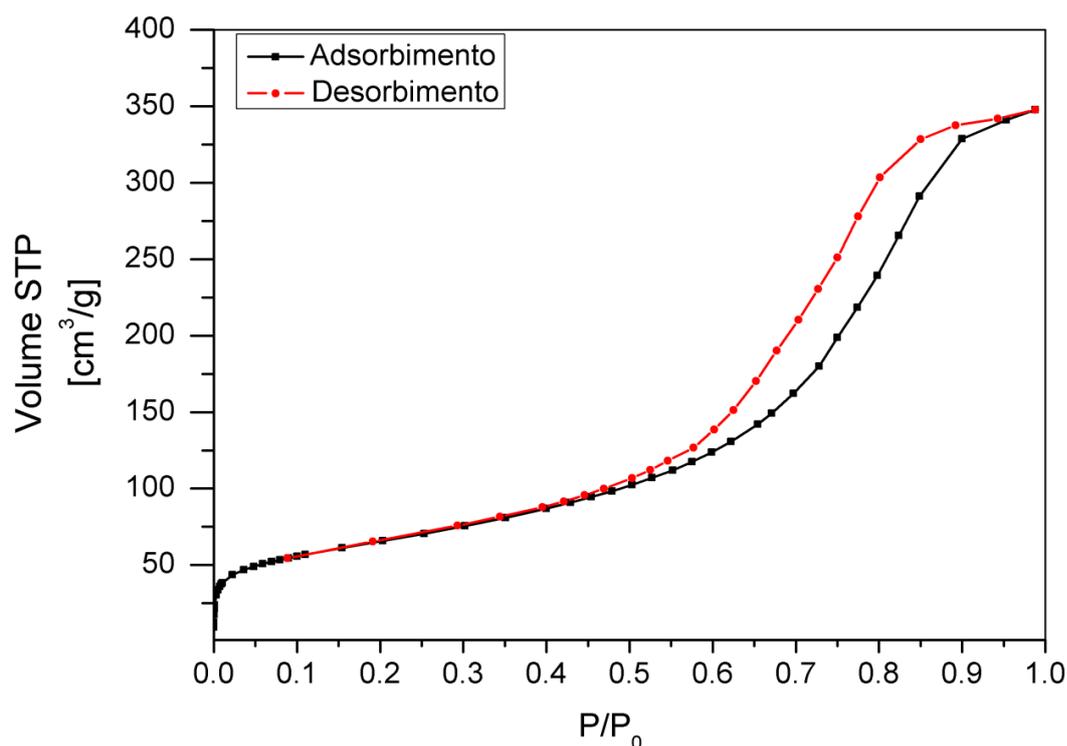


## 5. Caratterizzazione delle matrici

I materiali utilizzati come matrici per l'inglobamento del glifosato sono stati caratterizzati mediante le tecniche esposte nel capitolo 4. Si riportano i risultati ottenuti effettuando le misure di adsorbimento di azoto a 77 K, la diffrazione a raggi X e l'analisi SEM.

### 5.1 $\gamma$ -allumina

#### 5.1.1 Misure di adsorbimento di azoto (BET)



**Figura 5.1** Isoterma di adsorbimento di azoto della matrice  $\gamma$ -allumina tal quale.

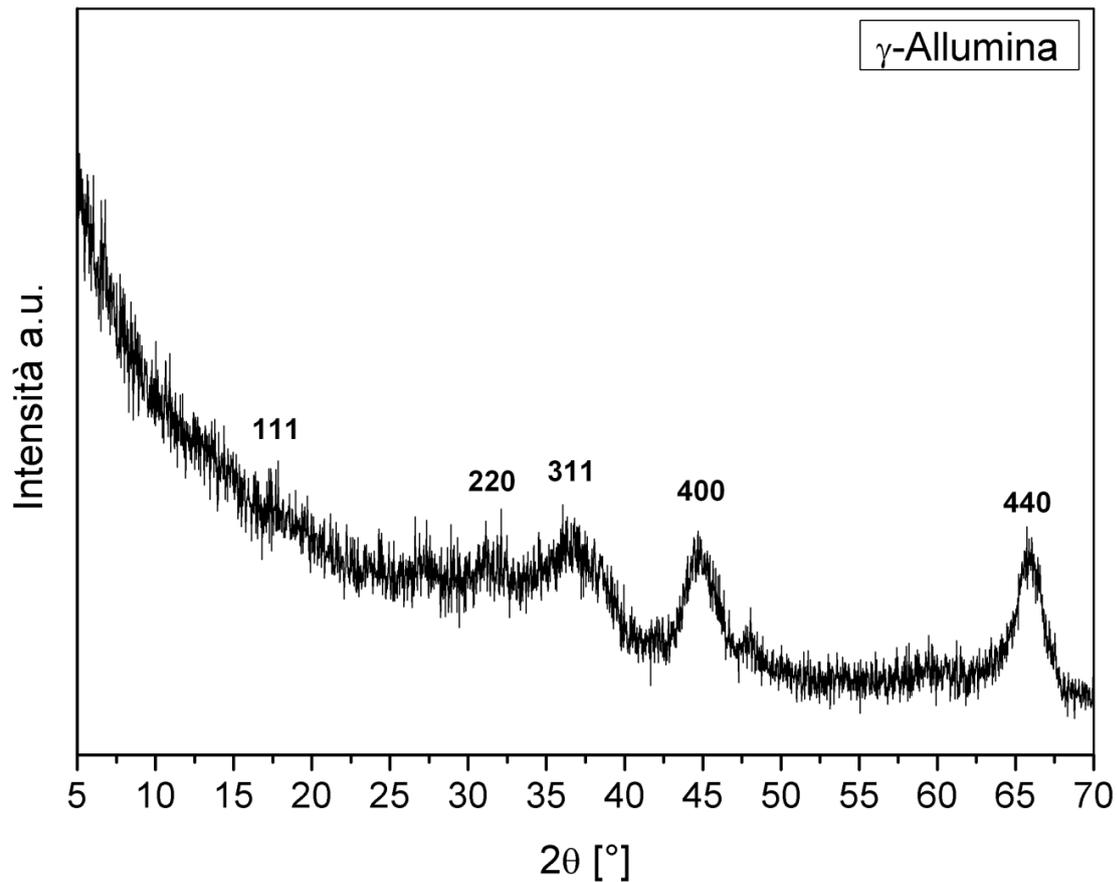
L'isoterma di adsorbimento ottenuta per la  $\gamma$ -allumina pura rientra nella IV tipologia della classificazione IUPAC.

Il fenomeno della condensazione capillare, per valori di rapporto  $P/P_0$  compresi tra 0,45 e 0,95, porta alla formazione di un cappio di isteresi, chiaro indice della natura mesoporosa del supporto in esame.

**Tabella 5.1** Volume occupato dai pori e area specifica della matrice  $\gamma$ -allumina.

Campione	Area superficiale specifica [m <sup>2</sup> /g] (Multipoint BET)	Volume dei pori [cm <sup>3</sup> /g] (metodo NLDFIT)
$\gamma$ -allumina	236	0,52

### 5.1.2 Diffrazione a raggi X

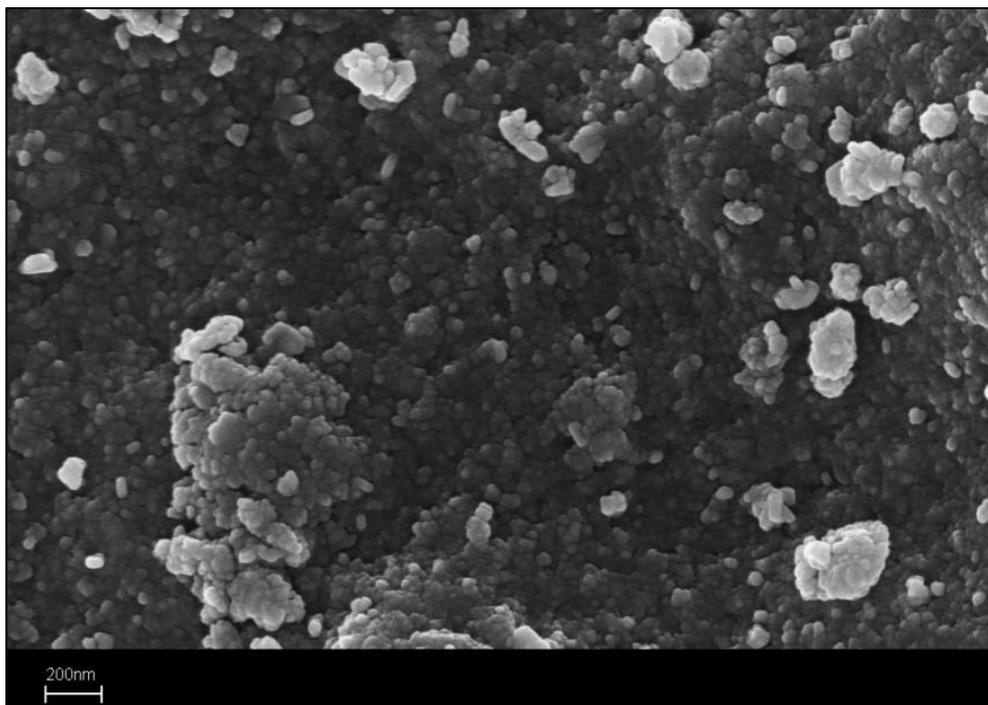
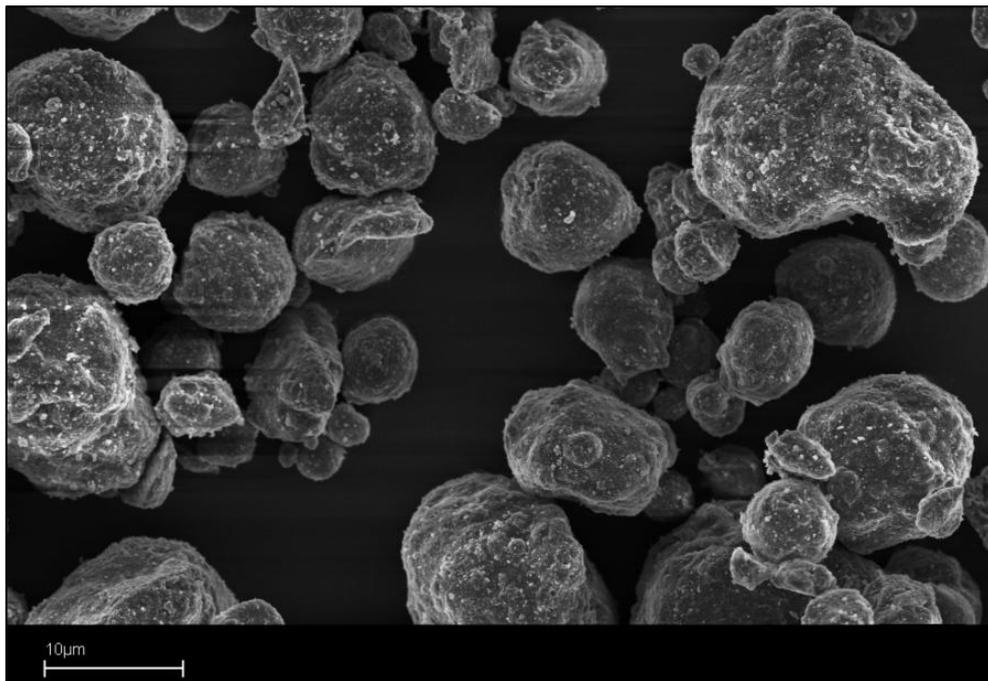


**Figura 5.2** Spettro di diffrazione a raggi X della  $\gamma$ - $\text{Al}_2\text{O}_3$  tal quale.

Il pattern di diffrazione riportato in figura 5.2 pone in evidenza la struttura cristallina della  $\gamma$ -allumina impiegata, la quale possiede tre picchi caratteristici per  $2\theta$  pari a  $37,5^\circ$ ,  $45,9^\circ$  e  $66,9^\circ$ , rispettivamente corrispondenti ai piani (311), (400) e (440). Meno intensi, ma comunque visibili, sono i picchi agli angoli  $17,2^\circ$  e  $32,1^\circ$  relativi ai riflessi (111) e (220), tipici dell'ossido in esame e non rintracciabili in altre forme allotropiche [91].

I picchi menzionati risultano piuttosto ampi, indice della presenza di cristalliti di piccola dimensione.

### 5.1.3 Microscopia elettronica a scansione (SEM)



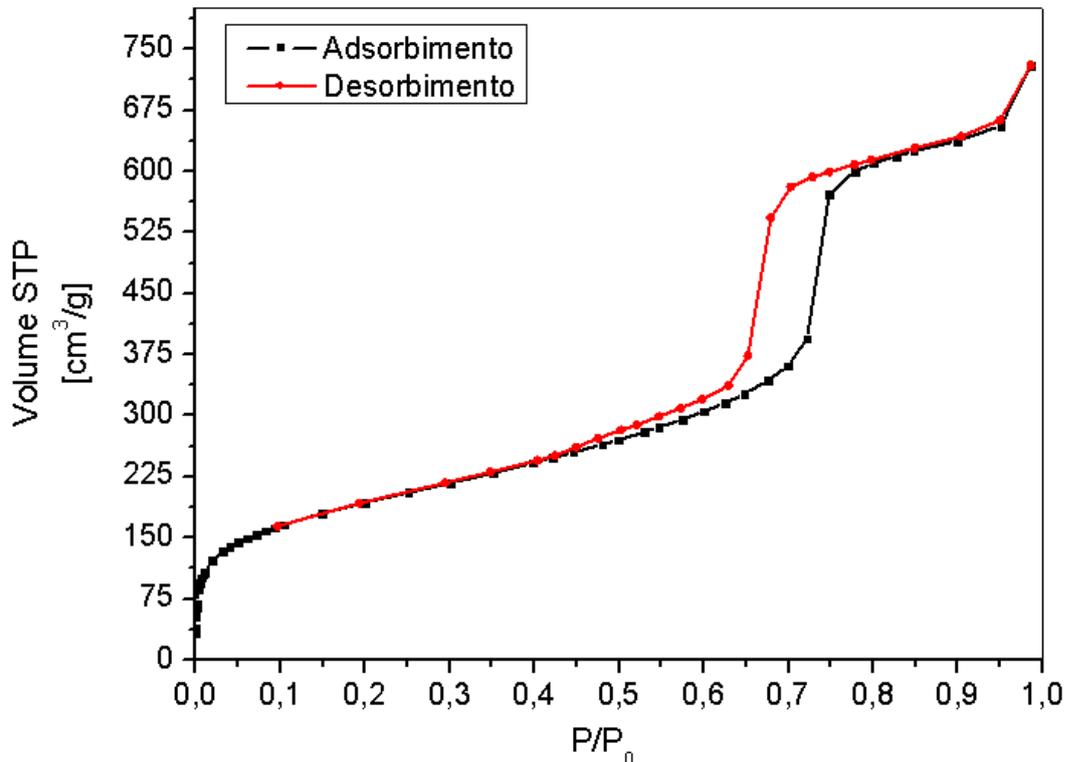
**Figura 5.3** Immagini FESEM della  $\gamma$ -allumina pura a due diversi ingrandimenti, 5KX e 100KX.

L'analisi morfologica della matrice in esame rivela come essa sia costituita da agglomerati globulari di particelle tendenzialmente sferiche, i cui diametri sono compresi tra i 20 e i 100 nm.

La porosità del materiale è interparticellare.

## 5.2 Silice SBA-15

### 5.2.1 Misure di adsorbimento di azoto (BET)



**Figura 5.4** Isotherma di adsorbimento di azoto della SBA-15 tal quale.

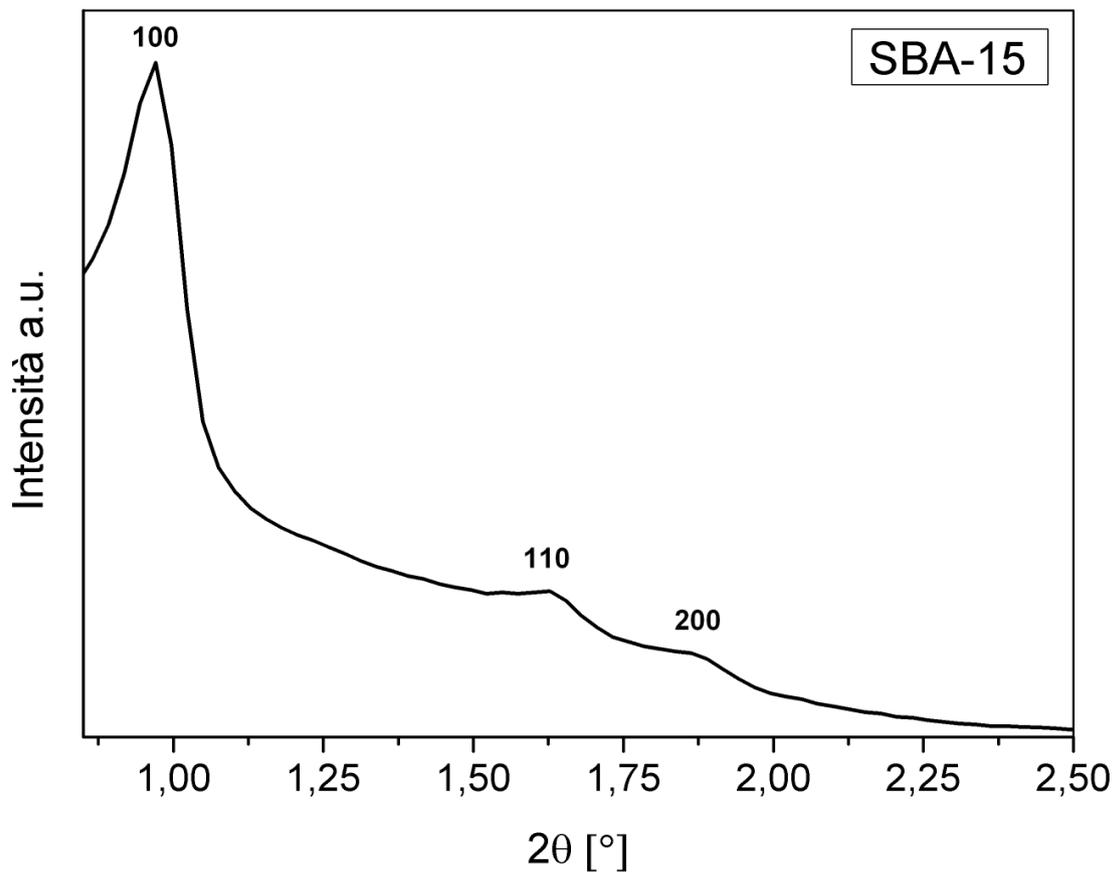
L'isoterma di adsorbimento riportata in figura 5.4 rientra nella IV tipologia della classificazione IUPAC; la presenza di un coppia di isteresi di tipo H1, con i rami di adsorbimento e desorbimento tra loro paralleli, indica l'avvenuta condensazione capillare all'interno dei pori della silice. La SBA-15 può dirsi costituita da mesopori cilindrici aperti alle estremità.

L'isoterma mostra un valore di volume di azoto adsorbito davvero molto elevato; tale dato è confermato dall'analisi della curva tramite il modello DFT Montecarlo (Density Functional Theory), secondo cui i pori della silice occupano un volume pari a  $0,997 \text{ cm}^3/\text{g}$ , garantendo alla matrice medesima un'area specifica di  $701,8 \text{ m}^2/\text{g}$ .

**Tabella 5.2** Volume occupato dai pori e area specifica della silice SBA-15.

Campione	Area superficiale specifica [ $\text{m}^2/\text{g}$ ] (Multipoint BET)	Volume dei pori [ $\text{cm}^3/\text{g}$ ] (metodo NLDFT)
SBA-15	702	0,997

### 5.2.2 Diffrazione a raggi X

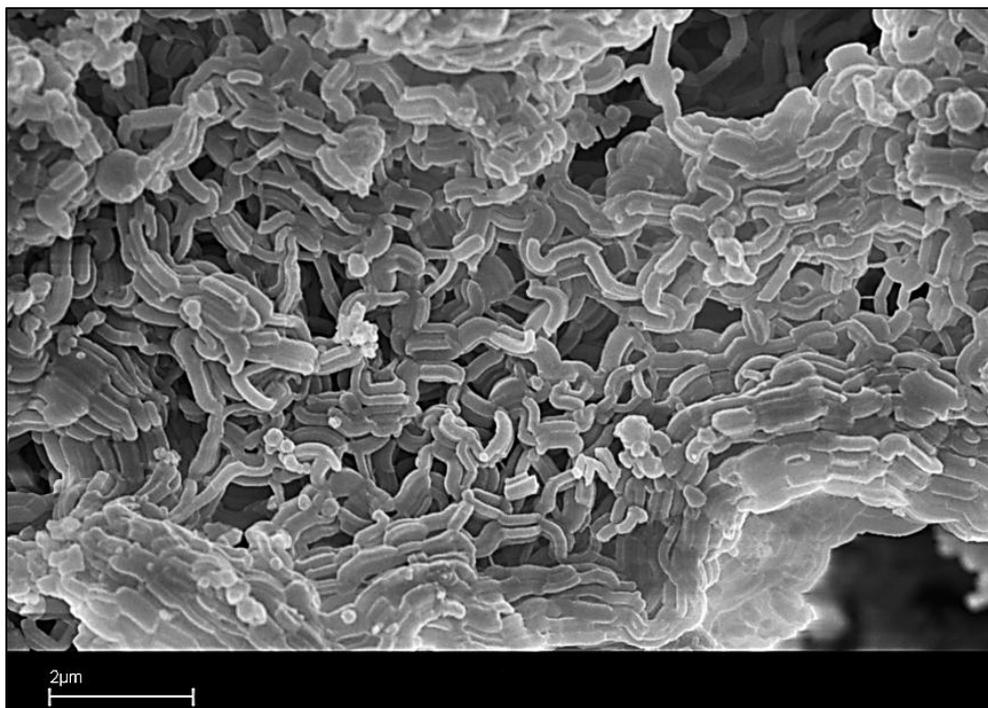
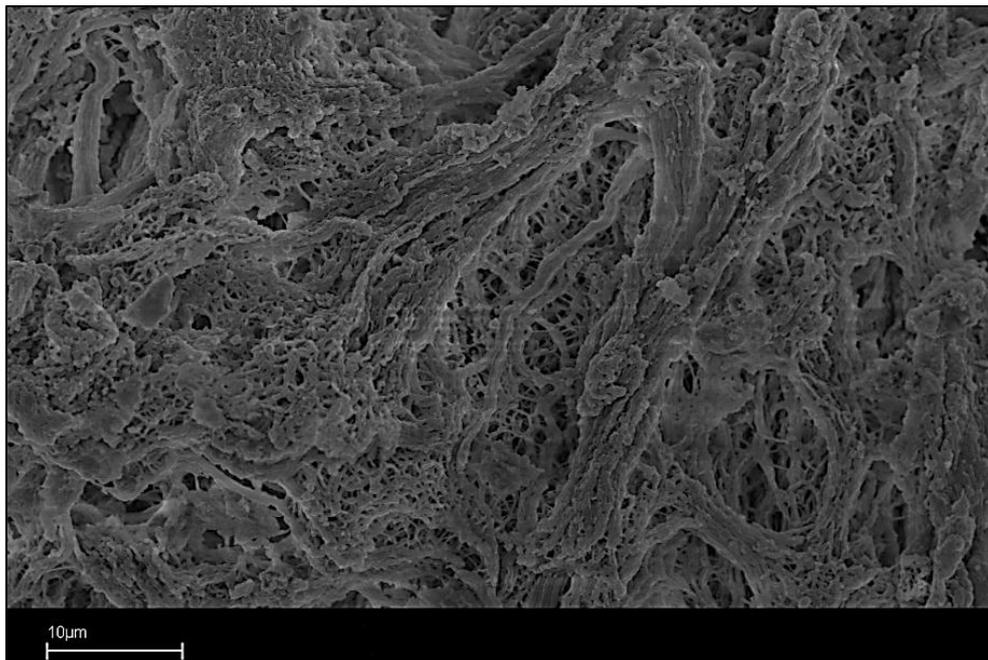


**Figura 5.5** Spettro di diffrazione a raggi X della silice SBA-15 pura.

Il diffrattogramma a basso angolo riferito alla SBA-15 mostra tre picchi ben risolti per valori di  $2\theta$  pari a  $0,93^\circ$ ,  $1,6^\circ$  e  $1,85^\circ$ , rispettivamente corrispondenti ai piani (100), (110) e (200). Il pattern diffrattometrico è tipico della silice in esame, amorfa, dotata di caratteristici pori cilindrici a simmetria esagonale a due dimensioni.

Lo spettro non evidenzia la presenza di picchi estranei al materiale analizzato il quale, dunque, può dirsi sostanzialmente privo di impurità.

### 5.2.3 Microscopia elettronica a scansione (SEM)



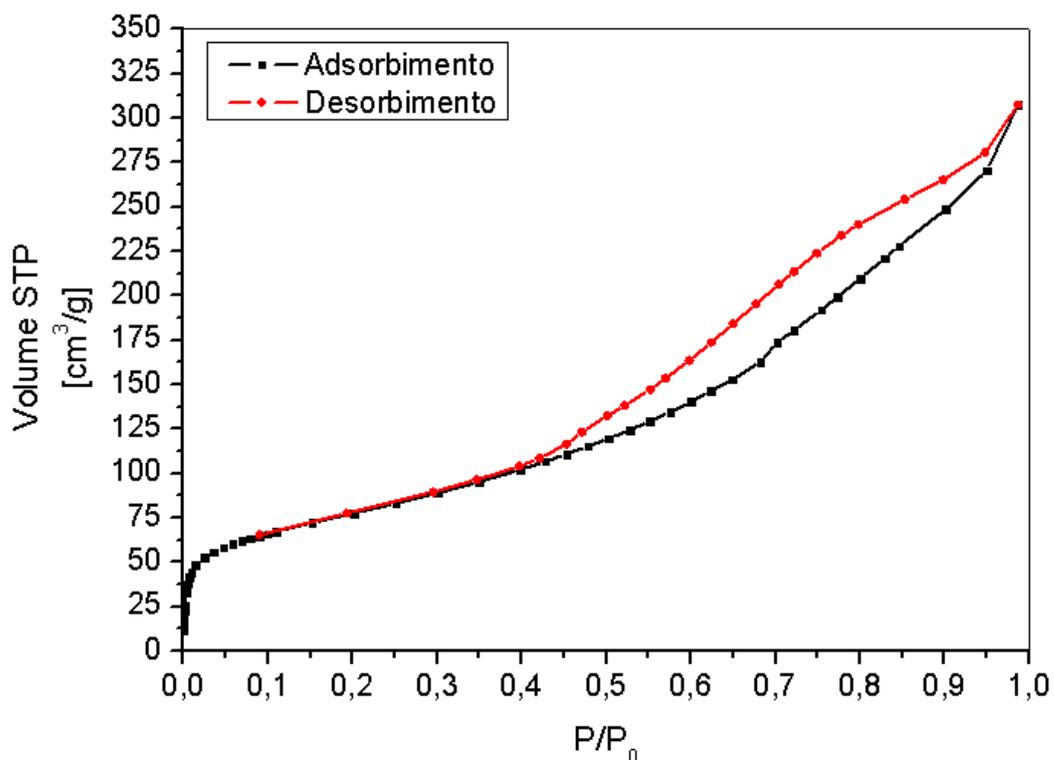
**Figura 5.6** Immagini FESEM della silice tal quale a due diversi ingrandimenti, 5KX e 25 KX.

Dalla figura 5.6, si osserva che la silice in esame è composta da particelle simili a filamenti, disposte in gruppi più o meno compatti ed ordinati, che le conferiscono una morfologia prettamente allungata.

I pori della SBA-15 sono contenuti all'interno delle particelle stesse, a differenza delle altre matrici impiegate in questo lavoro di tesi, la cui porosità è essenzialmente interparticellare.

### 5.3 Montmorillonite K10

#### 5.3.1 Misure di adsorbimento di azoto (BET)



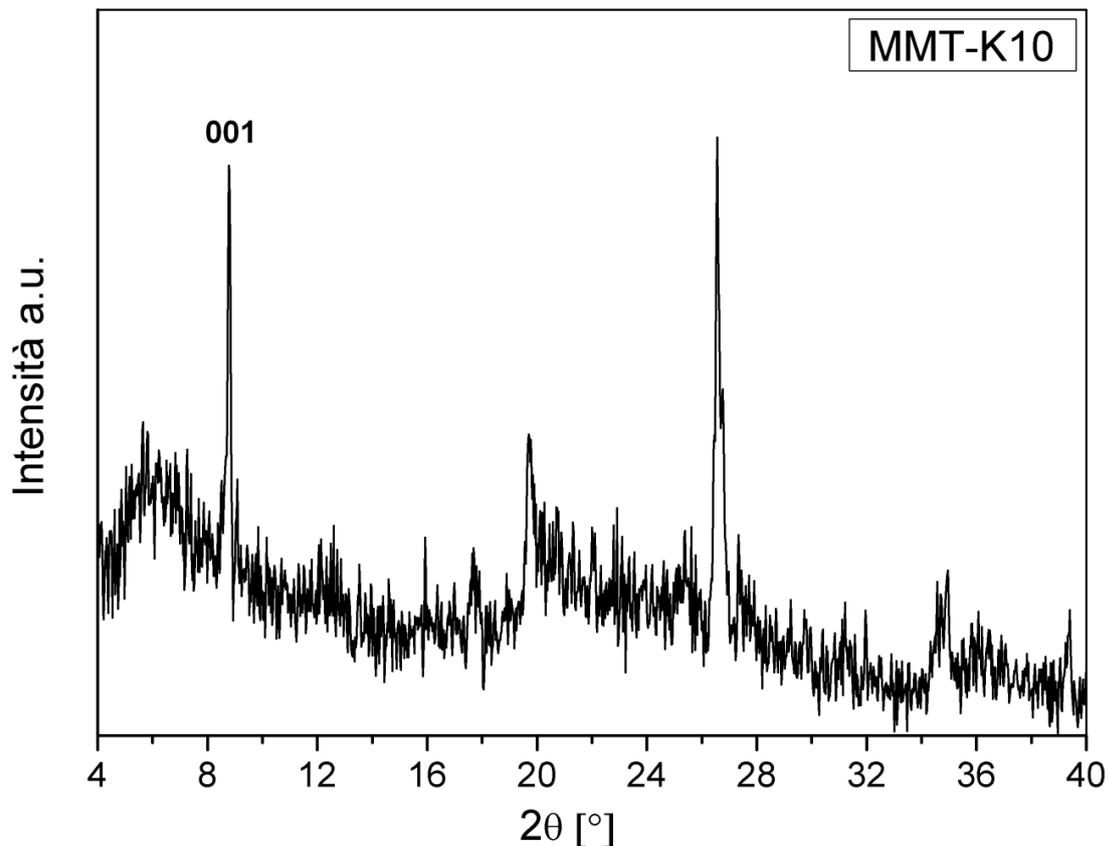
**Figura 5.7** Isotherma di adsorbimento di azoto relativa alla montmorillonite K10.

L'isoterma di adsorbimento di N<sub>2</sub> riportata in figura 5.7 è di tipo IV secondo la classificazione IUPAC; in accordo con i dati reperibili in letteratura [92], la curva mostra un coppia di isteresi di forma H3, indice di una struttura mesoporosa formata da pori stretti e a fessura.

**Tabella 5.3** Volume occupato dai pori e area specifica della montmorillonite K10.

Campione	Area superficiale specifica [m <sup>2</sup> /g] (Multipoint BET)	Volume dei pori [cm <sup>3</sup> /g] (metodo NLDFT)
MMT-K10	279	0,421

### 5.3.2 Diffrazione a raggi X



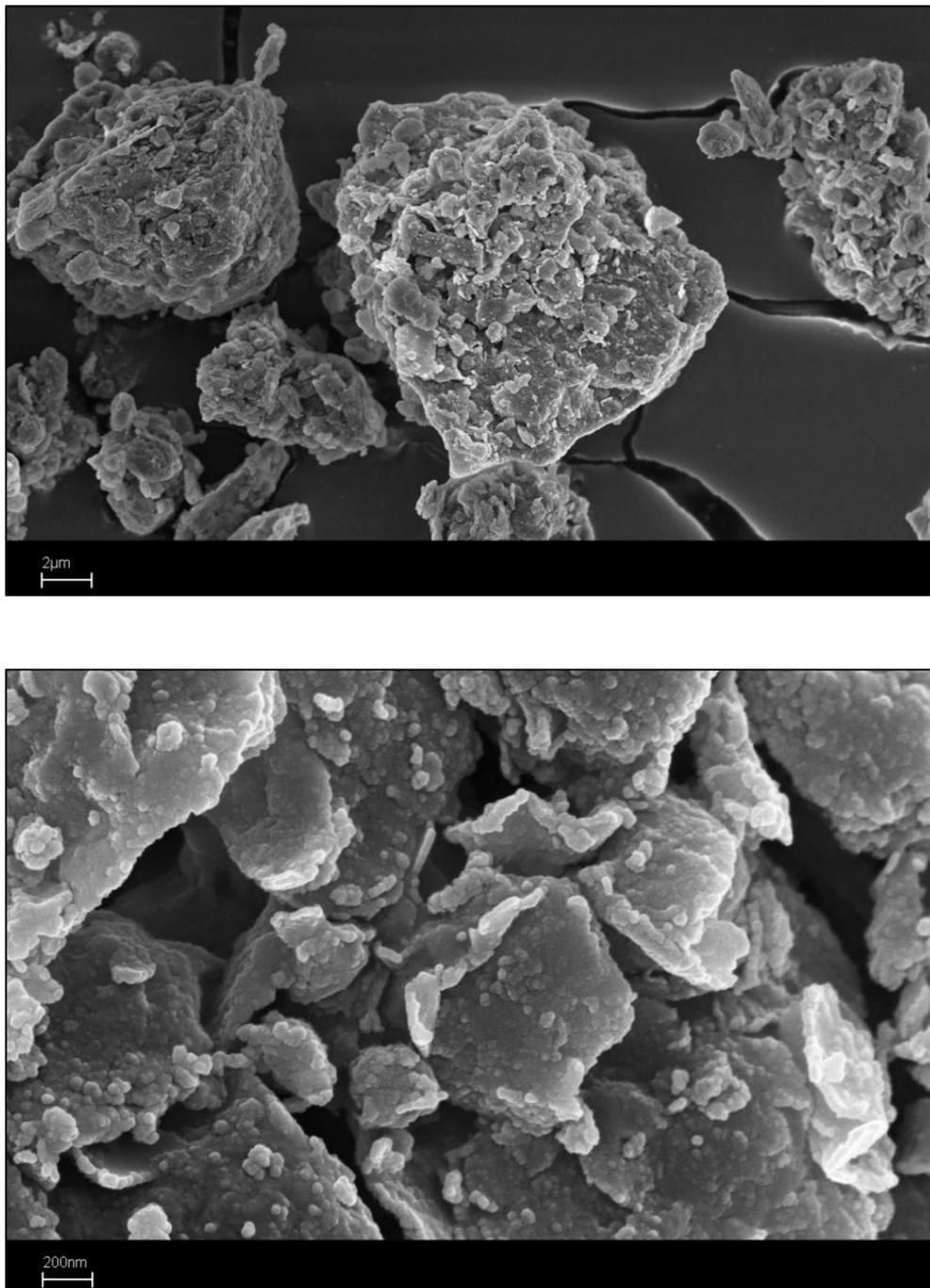
**Figura 5.8** Spettro di diffrazione a raggi X relativo alla MMT-K10.

Il diffrattogramma riportato in figura 5.8, caratterizzato da picchi di diffrazione stretti ed intensi, evidenzia come la montmorillonite K10 sia contraddistinta da una struttura altamente cristallina.

Il riflesso basale a basso angolo, corrispondente al piano (001), è quello che identifica il materiale argilloso dotato della struttura tetraedro-ottaedro-tetraedro (2:1); in questo caso specifico esso compare all'angolo  $2\theta$  di  $8,78^\circ$ .

Tutti gli altri picchi rintracciabili nel pattern sono semplicemente legati alla struttura della matrice in esame, ma non forniscono informazioni utili ai fini del nostro studio.

### 5.3.3 Microscopia elettronica a scansione (SEM)

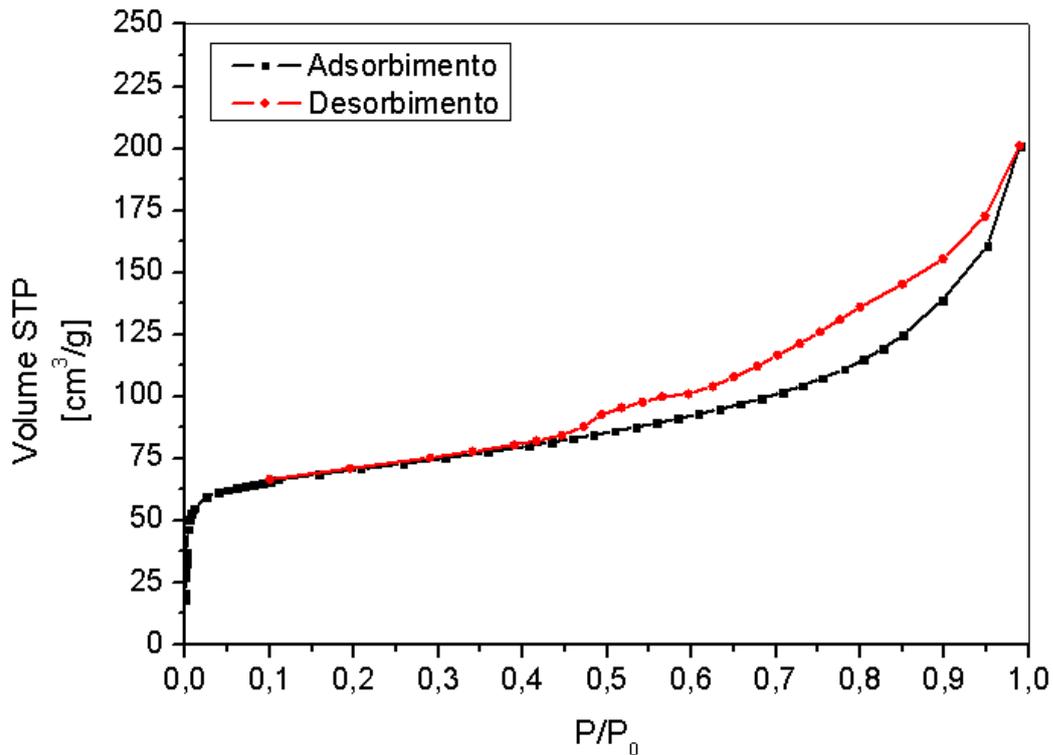


**Figura 5.9** Immagini FESEM relative alla MMT-K10 a due diversi ingrandimenti, 10KX e 100KX.

Dalla figura 5.9, si osserva che la montmorillonite K10 in esame, essendo un materiale argilloso, è costituito da particelle con morfologia lamellare; esse formano aggregati tendenzialmente globulari di dimensione molto variabile.

## 5.4 Montmorillonite pontata con alluminio

### 5.4.1 Misure di adsorbimento di azoto (BET)



**Figura 5.10** Isotherma di adsorbimento di azoto relativa alla montmorillonite pontata con alluminio.

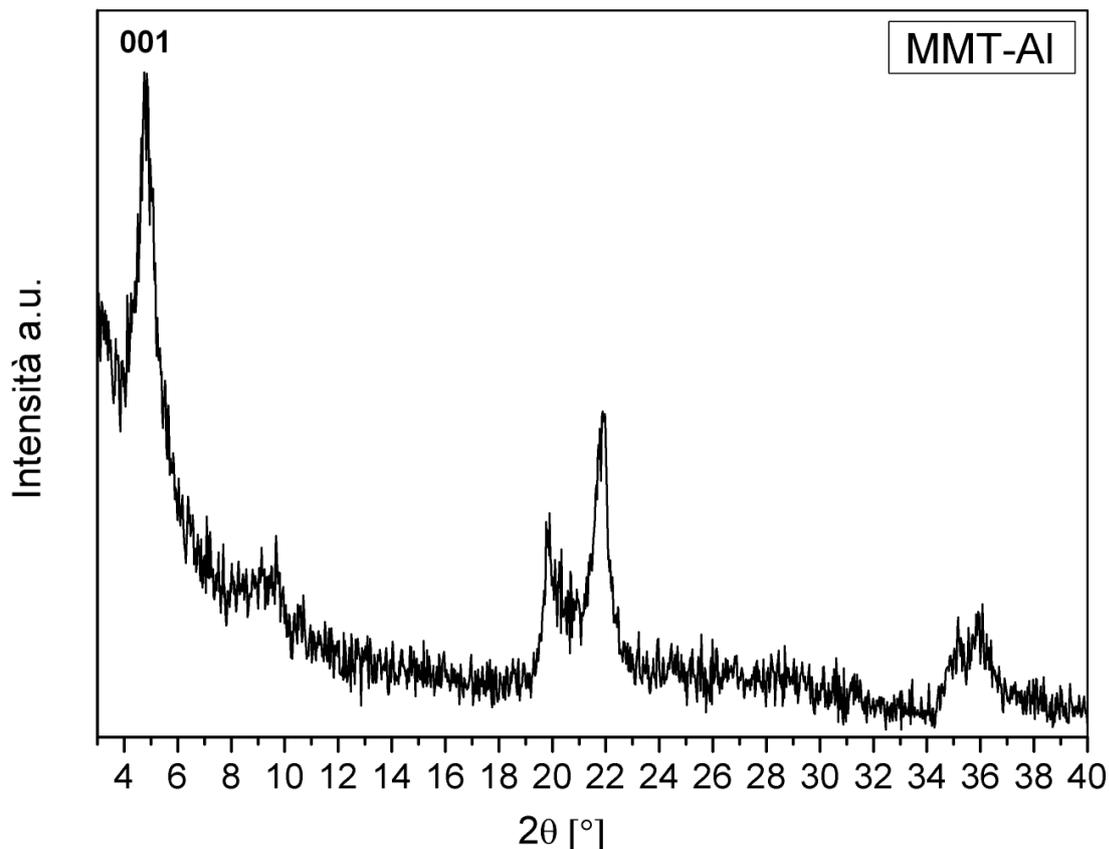
L'isoterma di adsorbimento di N<sub>2</sub> riportata in figura 5.10 rientra nella IV tipologia della classificazione IUPAC, tipologia caratteristica dei materiali mesoporosi. Come già si è osservato per la montmorillonite K10, anche la curva relativa alla MMT-Al mostra un coppia di isteresi di forma H3, indice dell'avvenuto fenomeno della condensazione capillare, nonché della presenza di pori stretti e a fessura.

A differenza dell'isoterma inerente l'argilla classica, tuttavia, quella della montmorillonite pontata presenta un coppia di minor pendenza che raggiunge valori di volume di azoto adsorbito più bassi. Ciò è coerente con i risultati forniti dall'analisi della curva tramite modello DFT, secondo la quale la MMT-Al è dotata di un'area specifica e di un volume dei pori minori rispetto alla montmorillonite K10. Si può ipotizzare che i ponti di alluminio inseriti in fase di sintesi abbiano reso una parte della superficie della MMT-Al indisponibile all'adsorbimento di azoto oppure che alcuni dei policoni introdotti si siano disposti all'interno dei micropori dell'argilla in questione.

**Tabella 5.4** Volume occupato dai pori e area specifica della MMT-Al.

Campione	Area superficiale specifica [m <sup>2</sup> /g] (Multipoint BET)	Volume dei pori [cm <sup>3</sup> /g] (metodo NLDFT)
MMT-Al	250	0,257

#### 5.4.2 Diffrazione a raggi X



**Figura 5.11** Spettro di diffrazione a raggi X relativo alla montmorillonite pontata con alluminio.

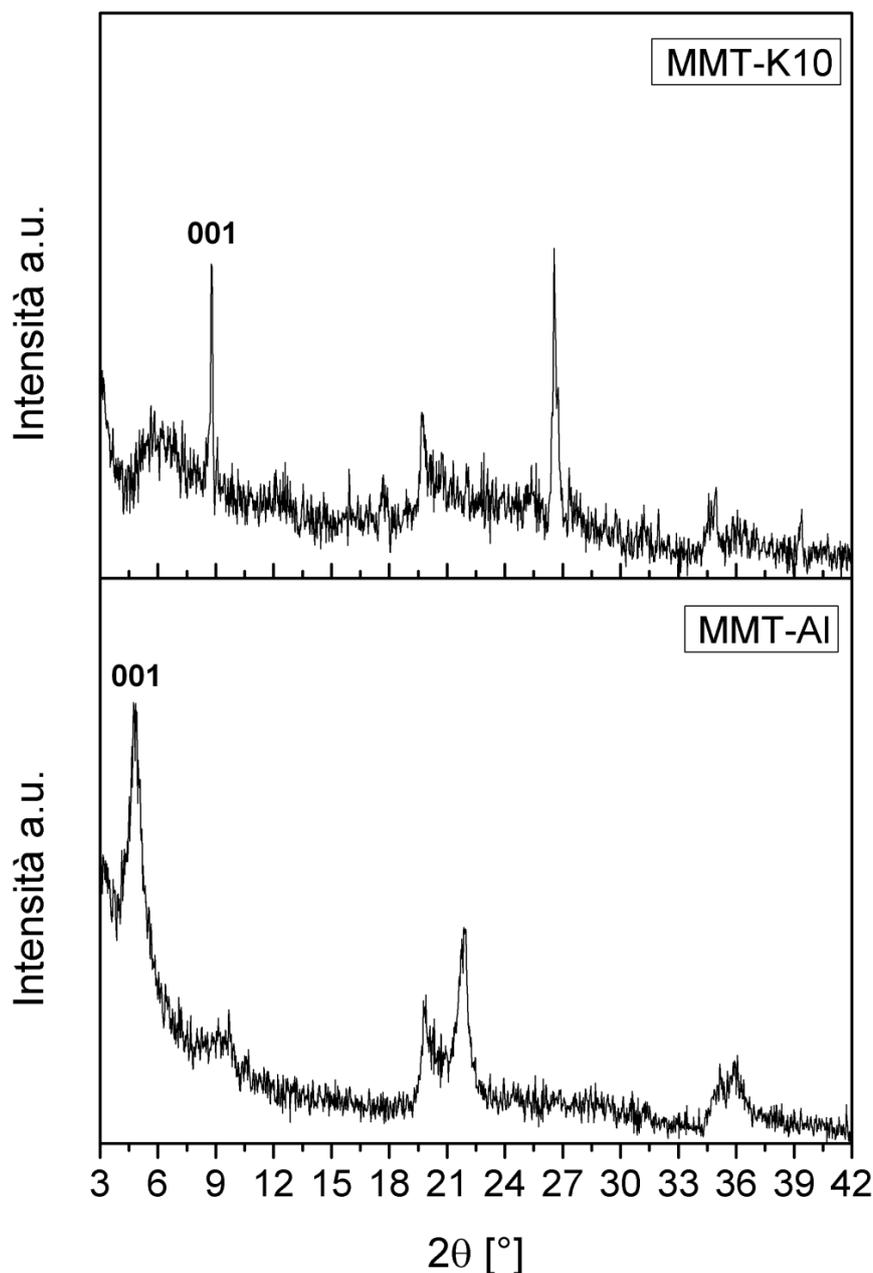
Il diffrattogramma riprodotto in figura 5.11 mostra la natura prevalentemente cristallina della matrice in esame.

Come già affermato per la MMT-K10, anche in tal caso il riflesso basale a basso angolo, corrispondente al piano (001), è caratteristico dei materiali argillosi con struttura tetraedro-ottaedro-tetraedro (2:1); in questo caso specifico, esso si trova all'angolo  $2\theta$  di  $4,74^\circ$ .

E' stato verificato [67] che più il picco relativo al riflesso (001) è stretto ed intenso, più è elevato il numero di policationi di alluminio che sono andati a sostituire i cationi inizialmente presenti nell'argilla di partenza: nel caso in esame il picco a  $4,74^\circ$  corrisponde a tale descrizione e si può affermare, dunque, che i ponti del nostro supporto sono stati inseriti in maniera efficace.

Tutti gli altri picchi visibili nello spettro sono sostanzialmente dovuti alla struttura della matrice analizzata, ma non forniscono informazioni utili ai fini del nostro studio.

Al fine di evidenziare le principali differenze esistenti tra le strutture delle due argille impiegate, qui di seguito viene riportato il confronto tra i relativi pattern diffrattometrici.

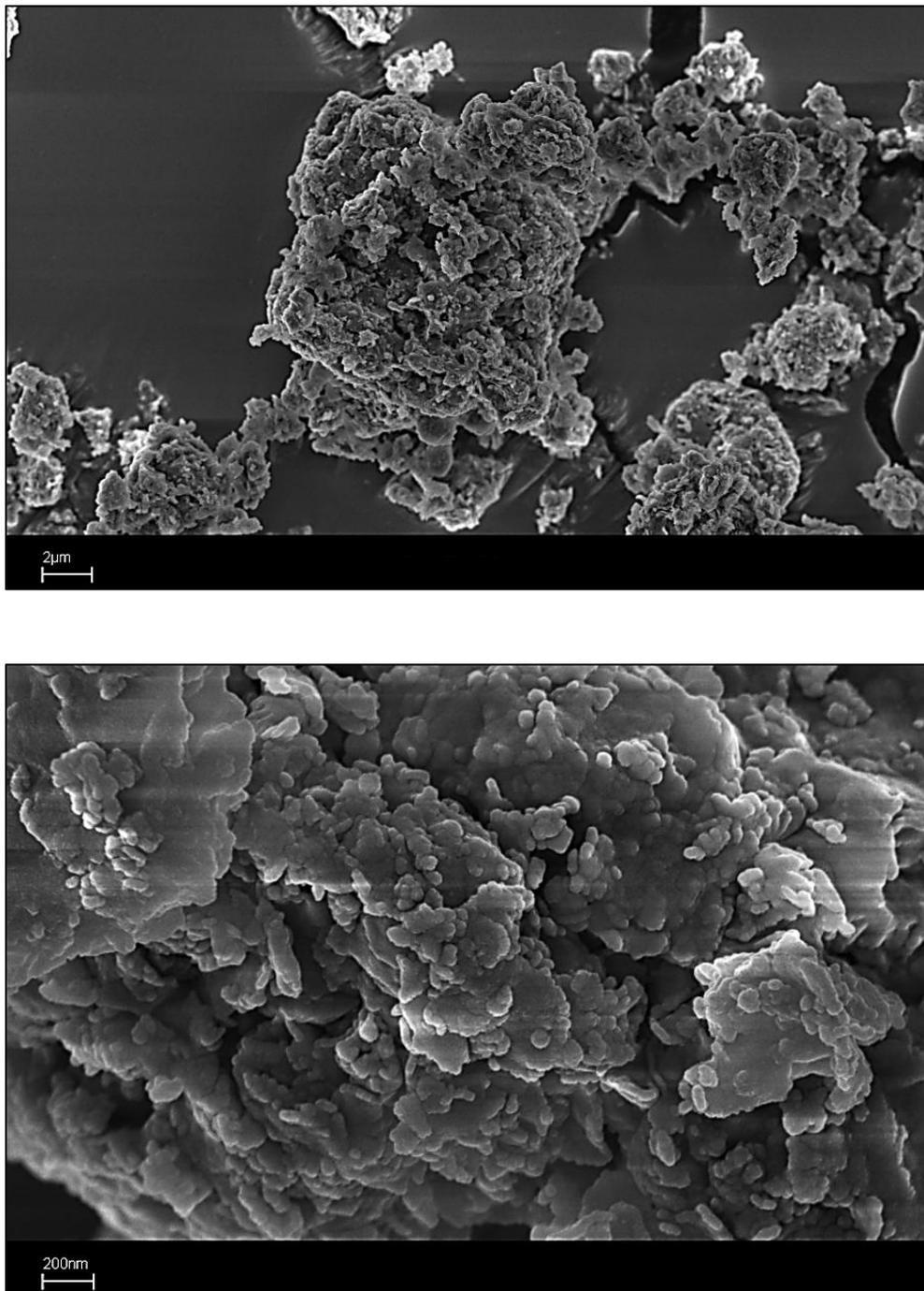


**Figura 5.12** Confronto tra i diffrattogrammi delle due argille esaminate.

Il riflesso basale corrispondente al piano (001) si trova ad angoli  $2\theta$  differenti per la matrice pontata e per la matrice classica: nella prima esso compare a  $4,74^\circ$ , con un relativo d-spacing di circa  $18 \text{ \AA}$ ; nella seconda esso è visibile a  $8,78^\circ$ , con un d-spacing associato di circa  $9 \text{ \AA}$  soltanto. Si può supporre che i ponti di alluminio inseriti nella montmorillonite pontata abbiano effettivamente provocato un allontanamento tra gli strati lamellari di cui essa è composta.

La cristallinità della MMT-Al, inoltre, risulta decisamente più definita in confronto a quella della MMT-K10 e ciò è dovuto, come riportato in letteratura [67], all'uso di un elevato rapporto tra alluminio e argilla in fase di sintesi.

### 5.4.3 Microscopia elettronica a scansione (SEM)



**Figura 5.13** Immagini FESEM relative alla MMT-Al a due diversi ingrandimenti, 10KX e 100 KX.

La figura 5.13 evidenzia come la montmorillonite pontata con alluminio abbia una morfologia molto simile a quella della MMT-K10. Come quest'ultima, infatti, la MMT-Al risulta costituita da aggregati all'incirca globulari formati da particelle lamellari; queste si mostrano però meno definite rispetto a quelle dell'argilla classica, forse a causa di alcune modifiche subite in fase di inserimento dei polimeri di alluminio.



## 6. Estrazione del glifosato e sua caratterizzazione

Per lo studio condotto in questo lavoro di tesi, le matrici sono state impregnate con glifosato estratto da una formulazione commerciale in quanto risulta economicamente più conveniente effettuare l'estrazione da un prodotto non puro, disponibile a prezzi non troppo elevati, piuttosto che impiegare direttamente il principio attivo puro venduto dalle varie aziende produttrici.

### 6.1 Estrazione del glifosato

Il formulato commerciale di partenza è stato il “Roundup Gran Unkrautfrei”, erbicida granulare contenente, secondo etichetta, il 42% in peso di glifosato acido puro ed il 47,5% in peso di glifosato sale sodico.



**Figura 6.1** Bustina del preparato “Roundup Gran Unkrautfrei” (a sinistra) e aspetto dei granuli in essa contenuti (a destra).

Per l'estrazione del glifosato ci si è basati sulla procedura messa in atto da Caldarola, Mitev ed altri [93], procedura che è stata ottimizzata in funzione delle nostre esigenze e condizioni operative.

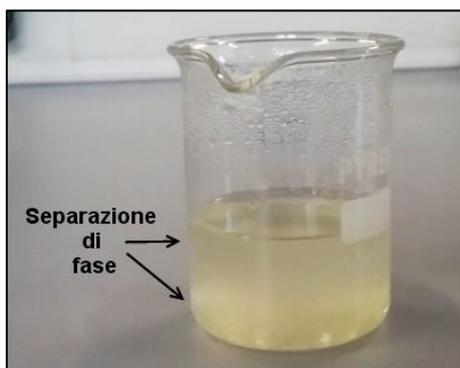
Per poter effettuare tutte le impregnazioni necessarie, garantendo la riproducibilità del principio attivo utilizzato senza rischiare di sprecare il prodotto commerciale, il glifosato è stato estratto più volte così da ottenere sempre e solo la quantità minima richiesta; i grammi di materiale ed i volumi di liquido riportati qui di seguito fanno quindi riferimento ad un singolo batch di estrazione preso come esempio.

Innanzitutto, tramite l'aiuto di un sonicatore riscaldato a 50°C, sono stati sciolti 8,5 grammi del granulato acquistato in 18 ml di acqua Milli-Q.



**Figura 6.2** Glifosato sale sodico disciolto in acqua Milli-Q.

All'erbicida così solubilizzato, sono stati aggiunti 36 ml di etanolo, ossia due volumi rispetto alla soluzione acquosa; il tutto è avvenuto sotto costante agitazione magnetica al fine di ottenere la precipitazione del glifosato sodico, la cui solubilità si è ridotta proprio a causa dell'azione dell'alcol.



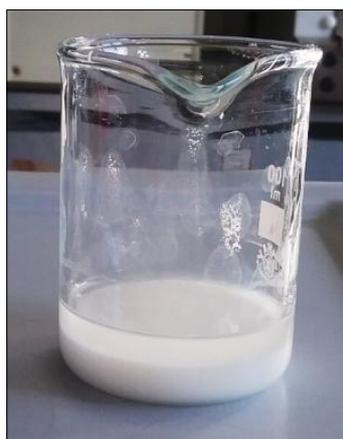
**Figura 6.3** Aspetto della soluzione a seguito dell'aggiunta di etanolo.

In seguito, sempre sotto agitazione, è stato aggiunto goccia a goccia HCl concentrato al 37%, fino ad avere la formazione di un surnatante limpido e la precipitazione del glifosato acido puro. L'acidificazione ha ridotto ulteriormente la solubilità e ha favorito la protonazione del principio attivo.



**Figura 6.4** Glifosato acido puro precipitato a seguito dell'aggiunta di HCl.

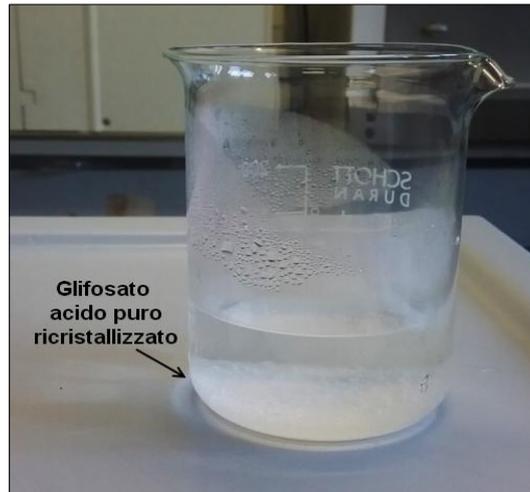
Il principio attivo estratto è stato filtrato e sottoposto ad un lavaggio in 18 ml di etanolo (un volume rispetto alla soluzione acquosa di partenza), operazione necessaria per eliminare il cloruro di sodio NaCl formatosi; per far evaporare completamente l'alcol, il tutto è stato collocato in un bagno di acqua a 50°C. Una volta evaporato l'etanolo, il glifosato è stato essiccato in stufa a 60°C.



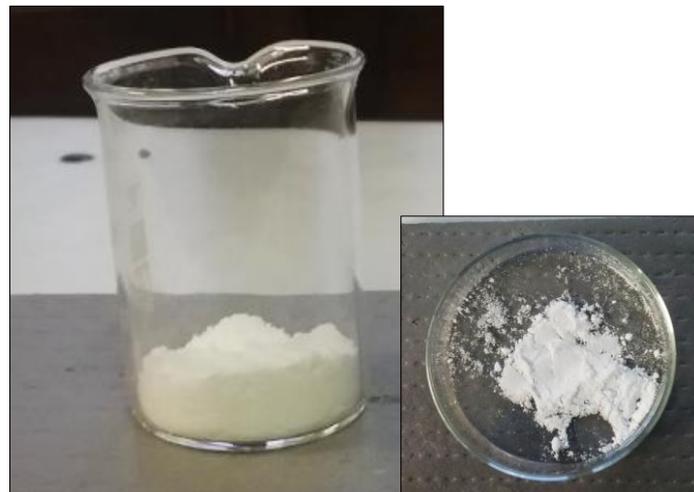
**Figura 6.5** Lavaggio tramite etanolo del glifosato puro precipitato.

Successivamente, per far ricristallizzare il glifosato e per eliminare eventuali impurità residue, il principio attivo ottenuto è stato pesato e disperso in una quantità di acqua Milli-Q tale da non avere totale solubilizzazione: nel nostro caso si sono pesati 6,58 grammi di glifosato, i quali sono stati posti in 130 ml di acqua. La soluzione sovrassatura preparata è stata collocata per un'ora in un bagno di acqua riscaldata a 50°C.

La soluzione è stata posta successivamente in freezer per dieci minuti circa al fine di far precipitare l'acido puro ricristallizzato, il quale è stato subito filtrato e poi essiccato in stufa a 60°C.



**Figura 6.6** Aspetto del glifosato ricristallizzato a seguito del passaggio in freezer.



**Figura 6.7** Aspetto finale del glifosato acido puro ricavato mediante la tecnica di estrazione descritta.

Durante lo studio condotto, la procedura di estrazione è stata eseguita cinque volte.

Sapendo che il glifosato acido puro contenuto nella formulazione commerciale di partenza è pari al 42% in peso, è stato possibile calcolare la resa % in peso media di estrazione: questa è risultata pari al 32,28% circa, mediando i risultati relativi a tutti i batch effettuati eccetto il primo. Durante la prima estrazione eseguita, infatti, l'aggiunta di etanolo necessaria per ottenere la precipitazione del sale sodico è avvenuta senza ricorrere ad agitazione, dunque in condizioni operative leggermente differenti rispetto alle altre prove. Per tale motivo, il relativo valore di resa percentuale non è stato incluso nel calcolo della media.

**Tabella 6.1** Rese % in peso dei batch di estrazione del glifosato; (\*): valore non incluso nella media.

<b>Estrazione del glifosato: resa % in peso</b>			
<b>Batch di estrazione</b>	<b>Glifosato ottenuto [g]</b>	<b>Glifosato massimo ottenibile [g]</b>	<b>Resa % in peso</b>
1	0,64	3,34	19,16% (*)
2	0,97	3,57	27,17%
3	0,26	0,98	26,53%
4	1,11	3,25	34,15%
5	1,06	2,57	41,25%
<b>Media</b>			<b>32,28%</b>

### 6.2 Valutazione della purezza del glifosato estratto

La purezza del principio attivo ottenuto dall'estrazione è stata valutata mediante l'analisi cromatografica di due soluzioni di concentrazione pari a 10 mg/L, una preparata con l'acido puro estratto, l'altra con l'acido puro fornito dalla Fluka® Analytical. Le aree dei picchi relativi all'eluizione del glifosato sono state poste in relazione tra loro, basandosi sul presupposto che al principio attivo acquistato corrispondesse una purezza del 100%.

Nella tabella 6.2 vengono riportate le purezze inerenti i singoli batch di estrazione effettuati.

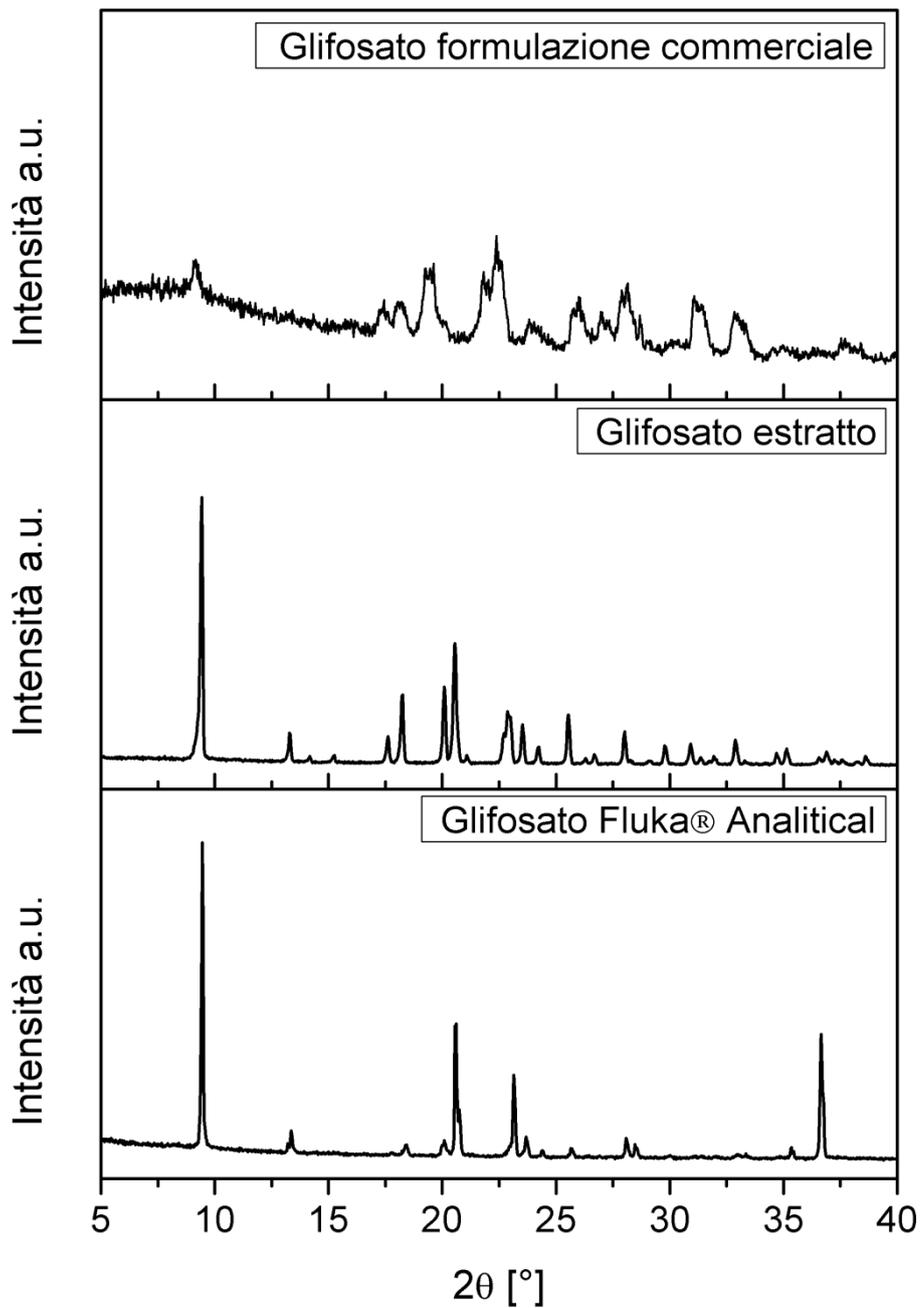
**Tabella 6.2** Purezza % del glifosato ottenuto mediante estrazione; (\*): valore non incluso nella media.

<b>Estrazione del glifosato: purezza %</b>		
<b>Batch di estrazione</b>	<b>Purezza %</b>	<b>RSD %</b>
1	98,2(*)	0,9
2	90,5	1,2
3	98,3	1,1
4	97,2	0,4
5	98,6	2,4
<b>Media</b>	96,2	-

### 6.3 Caratterizzazione del glifosato estratto

Al fine di avere un'ulteriore conferma circa la validità del processo di estrazione utilizzato e, di conseguenza, circa l'elevata purezza ottenuta per il principio attivo estratto, quest'ultimo è stato sottoposto a diffrazione a raggi X e a spettroscopia FT-IR.

#### 6.3.1 Diffrazione a raggi X



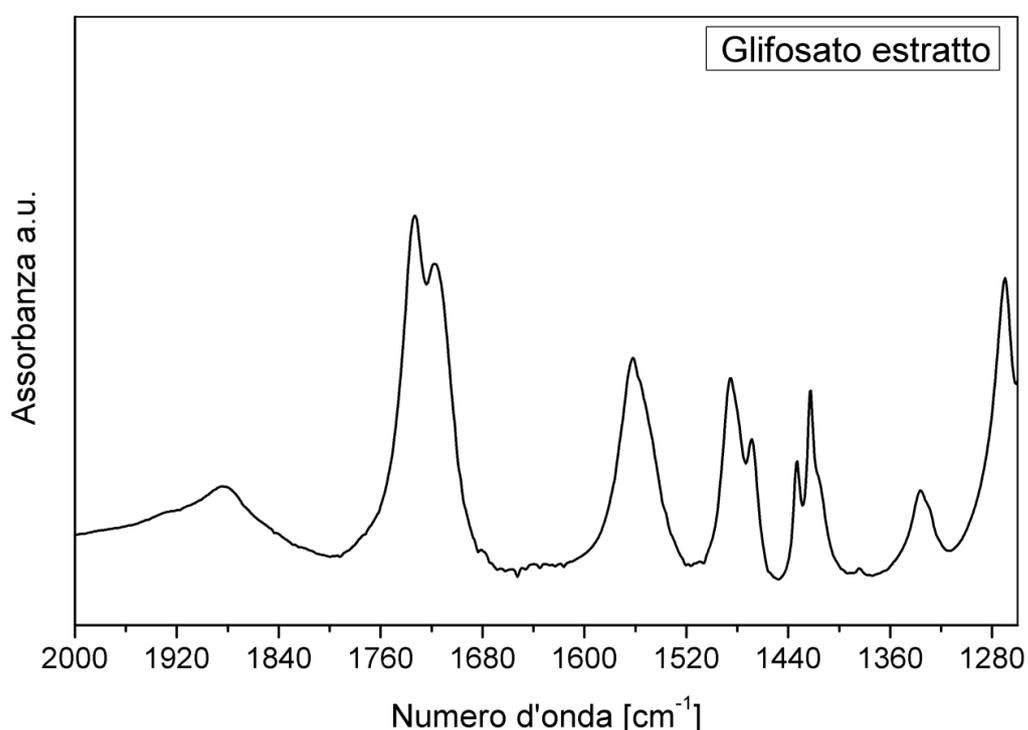
**Figura 6.8** Spettro di diffrazione a raggi X del glifosato acido puro commerciale, del glifosato estratto e della formulazione sodica di partenza.

La figura 6.8 riporta il confronto tra i pattern diffrattometrici relativi all'erbicida commerciale da cui si è partiti per l'estrazione, al glifosato da esso ricavato e all'acido puro fornito dalla Fluka® Analytical.

Il glifosato estratto, accanto al picco fondamentale visibile per  $2\theta$  pari a  $8,9^\circ$ , mostra la maggior parte dei picchi caratteristici della molecola pura. Sono presenti alcuni picchi estranei di bassa intensità che potrebbero essere sostanzialmente ricondotti a residui della formulazione commerciale.

Dallo spettro del glifosato estratto, in generale, si evincono sia una struttura ben cristallizzata, sia una purezza accettabile, mentre dallo spettro riferito al prodotto sale sodico si rileva una scarsa cristallinità unita alla presenza di molti composti estranei al principio attivo.

### 6.3.2 Spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier



**Figura 6.9** Spettro FT-IR del glifosato estratto in KBr.

L'elevata purezza ottenuta per il glifosato estratto è confermata dallo spettro FT-IR sopra riportato (figura 6.9), molto simile a quelli rintracciabili in letteratura oppure forniti dagli Enti che si occupano della caratterizzazione dei materiali (ad esempio la CHEM SERVICE inc [94]).

Sono state esaminate con maggiore attenzione le bande presenti a numeri d'onda compresi tra i 2000 ed i 1270  $\text{cm}^{-1}$ , zona di interesse ai fini del nostro studio.

I principali picchi relativi il gruppo carbossilico compaiono ai numeri d'onda di 1734, 1720 e 1422  $\text{cm}^{-1}$ : i primi due sono riconducibili allo stretching del legame C=O, il terzo al bending del legame C-O-H. Le bande inerenti l'ammina secondaria protonata si trovano a 1563 e a 1486  $\text{cm}^{-1}$ ; a 1338  $\text{cm}^{-1}$  è visibile il segnale riguardante lo stretching del gruppo fosfonico, mentre a 1270  $\text{cm}^{-1}$  si osserva la deformazione asimmetrica del legame P-C.



## 7. Impregnazione delle matrici

Il glifosato estratto, ricavato attraverso il procedimento descritto nel capitolo 6, è stato inserito all'interno delle matrici scelte mediante la tecnica della Incipient Wetness Impregnation. Qui di seguito si riportano i dettagli della procedura utilizzata, applicata su tutti i supporti.

Innanzitutto, con l'aiuto di un sonicatore riscaldato a 50°C, sono stati disciolti 0,4 grammi di glifosato ricristallizzato in 33 ml di acqua Milli-Q.

In seguito, sono stati posti in un becher 0,6 grammi della matrice da impregnare e ad essi è stato addizionato 1 ml della soluzione satura di glifosato appena preparata; polvere e soluzione sono stati ben miscelati con una spatola al fine di ottenere uno slurry omogeneo. Quest'ultimo è stato posto in stufa a 60°C per il tempo necessario alla completa evaporazione del solvente.

Le operazioni di iniezione, miscelazione ed essiccamento sono state ripetute fino ad esaurimento della soluzione satura di glifosato.

Le quantità impiegate per l'impregnazione hanno fatto sì che, su 1 grammo di prodotto finale, il 40% fosse costituito dal principio attivo puro, mentre il 60% fosse costituito dal supporto scelto.

Le matrici impregnate col glifosato estratto sono state caratterizzate mediante la tecnica BET di adsorbimento di azoto e la diffrazione a raggi X.

### 7.1 Impregnazione della $\gamma$ -allumina

#### 7.1.1 Misure di adsorbimento di azoto (BET)

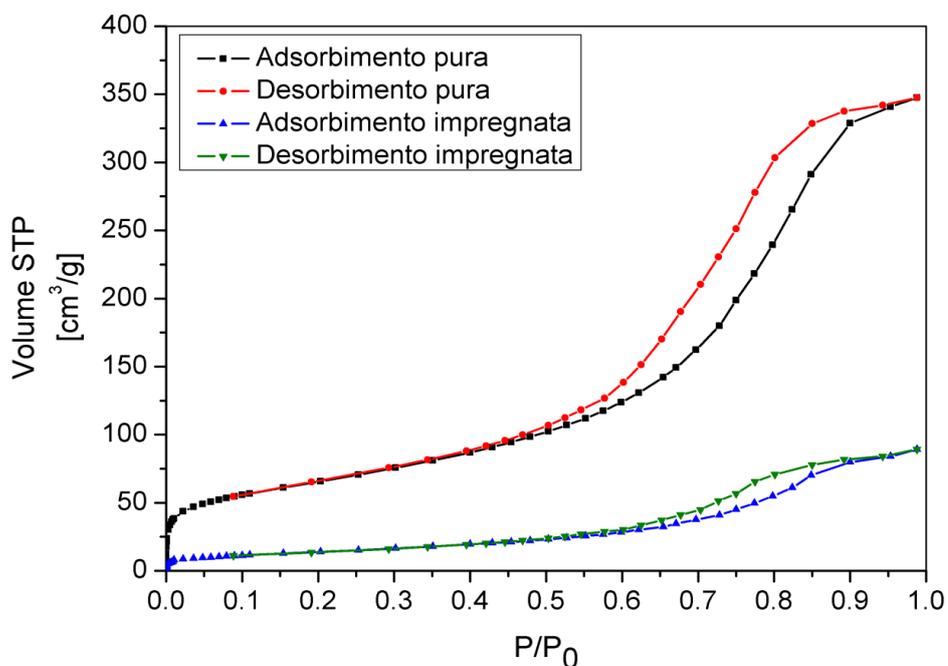


Figura 7.1 Isoterme di adsorbimento di azoto della  $\gamma$ -allumina impregnata e tal quale.

Osservando la figura 7.1, in cui sono riportate le isoterme di adsorbimento di azoto relative alla  $\gamma$ -allumina pre e post-impregnazione, si nota come la curva riferita al materiale contenente il glifosato raggiunga valori di volume di azoto adsorbito circa 5 volte inferiori a quelli del campione puro; ciò è dovuto alla presenza dell'erbicida impregnato che è andato ad occupare una quota parte dei pori disponibili.

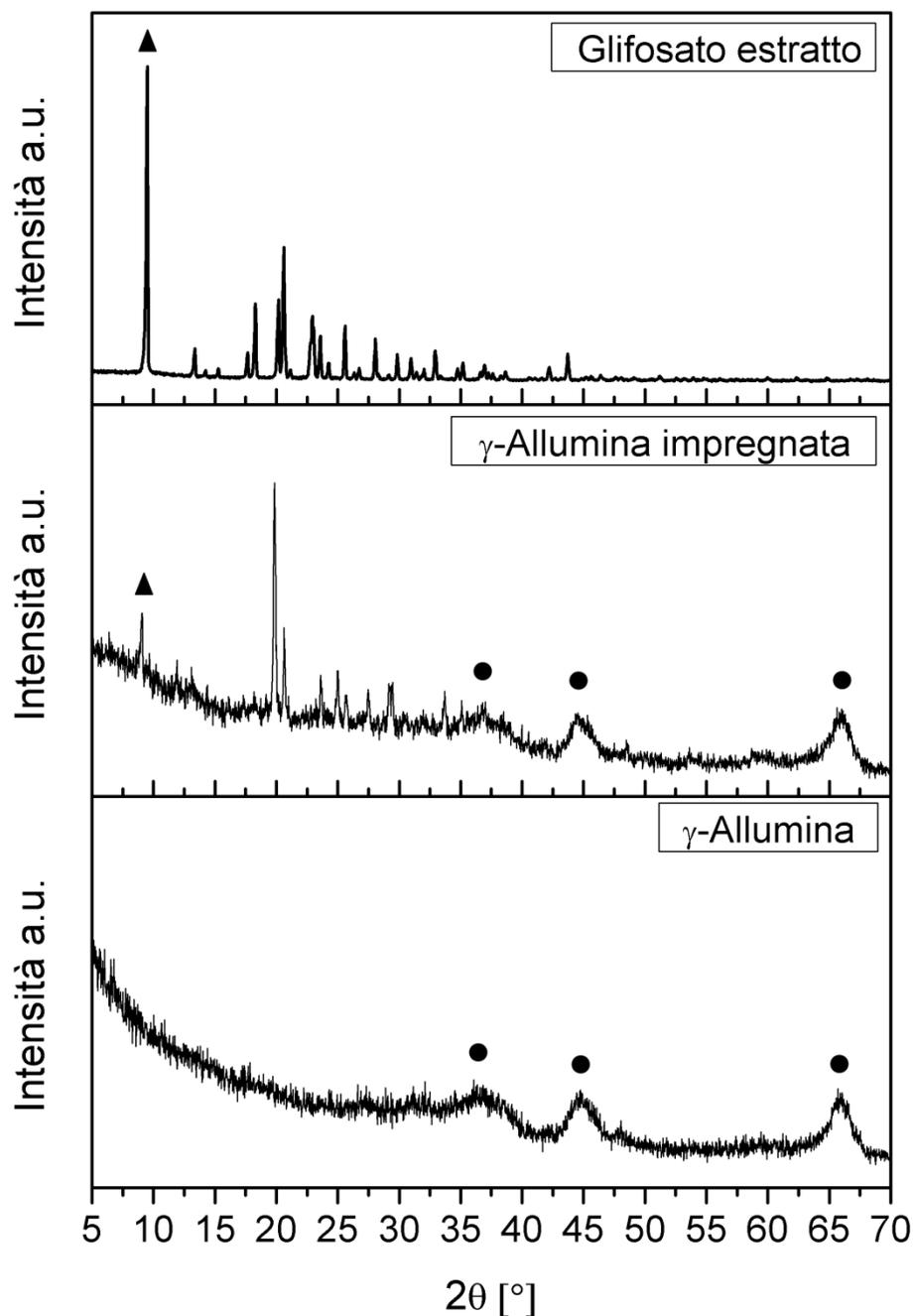
Il coppia di isteresi dell'isoterma in questione, sempre di tipo IV, si mostra poco sviluppato, con rami di adsorbimento e desorbimento molto vicini tra loro e di minore pendenza; ciò è indice del mantenimento di una struttura essenzialmente mesoporosa, ma leggermente modificata dall'inserimento del principio attivo.

Le medesime informazioni si possono ricavare confrontando i dati riportati in tabella 7.1: sia l'area superficiale, sia il volume dei pori della  $\gamma$ -allumina impregnata risultano essere circa pari ad 1/5 rispetto a quelli della matrice tal quale. Il glifosato è stato dunque inserito con efficacia all'interno del materiale.

**Tabella 7.1** Volume occupato dai pori e area specifica della  $\gamma$ -allumina pre e post-impregnazione.

<b>Campione</b>	<b>Area superficiale specifica [m<sup>2</sup>/g] (Multipoint BET)</b>	<b>Volume dei pori [cm<sup>3</sup>/g] (metodo NLDFT)</b>
$\gamma$ -allumina	236	0,52
$\gamma$ -allumina impregnata	48	0,12

### 7.1.2 Diffrazione a raggi X



**Figura 7.2** Spettri di diffrazione a raggi X del glifosato estratto e della  $\gamma$ - $\text{Al}_2\text{O}_3$  pura ed impregnata.

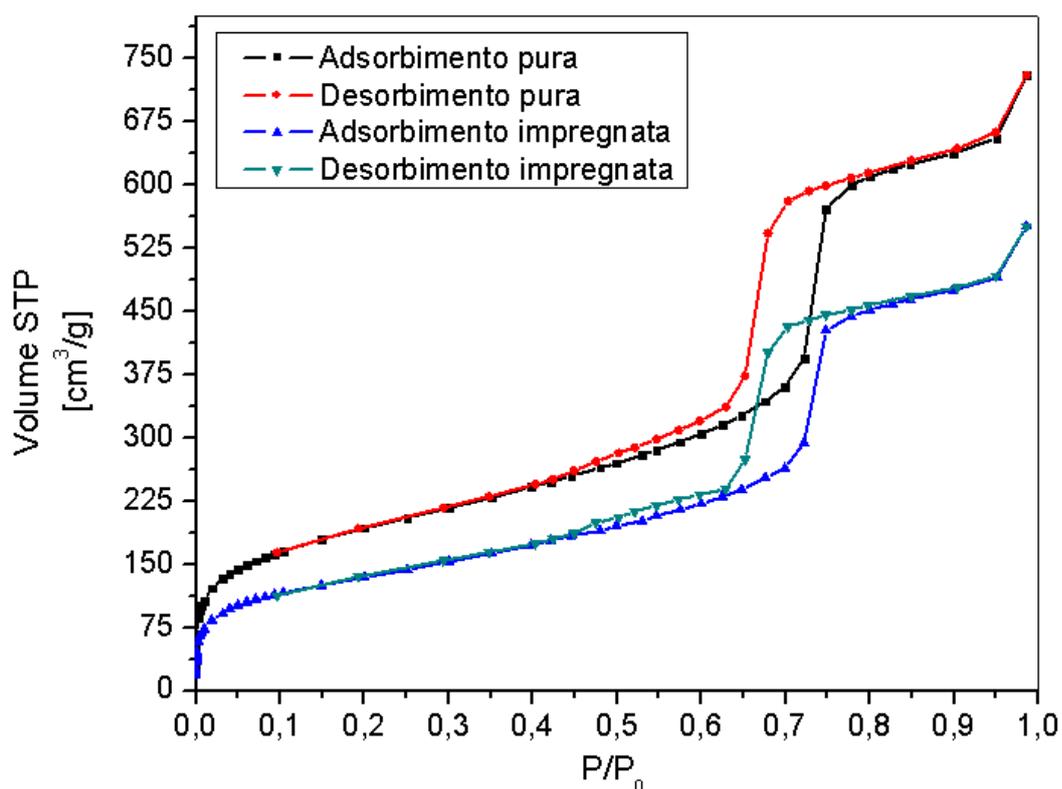
Il diffrattogramma riferito al materiale impregnato presenta distintamente i picchi tipici della  $\gamma$ -allumina tal quale (agli angoli  $37,5^\circ$ ,  $45,9^\circ$  e  $66,9^\circ$ ), ma mostra anche il picco caratteristico del glifosato (visibile a  $8,9^\circ$ ), seppur con una intensità decisamente inferiore rispetto a quella presente nello spettro del principio attivo puro.

Si può ipotizzare, dunque, che parte del glifosato sia effettivamente penetrato all'interno dei pori del supporto, acquisendo una struttura amorfa, mentre una parte sia rimasta dispersa sulla superficie dell'ossido, mantenendo la propria cristallinità.

Da un confronto diretto tra i pattern della  $\gamma$ -allumina impregnata e della  $\gamma$ -allumina pura (figura non riportata), si osserva che i picchi del campione post-impregnazione hanno la medesima ampiezza, ma intensità leggermente minori, rispetto al campione tal quale: la dimensione dei cristalliti è quindi rimasta pressoché immutata, ma lo scattering di diffrazione è cambiato essendo ora presente un'interfaccia solido/solido/aria e non più semplicemente solido/aria.

## 7.2 Impregnazione della silice SBA-15

### 7.2.1 Misure di adsorbimento di azoto (BET)



**Figura 7.3** Isotherme di adsorbimento di azoto della silice SBA-15 impregnata e tal quale.

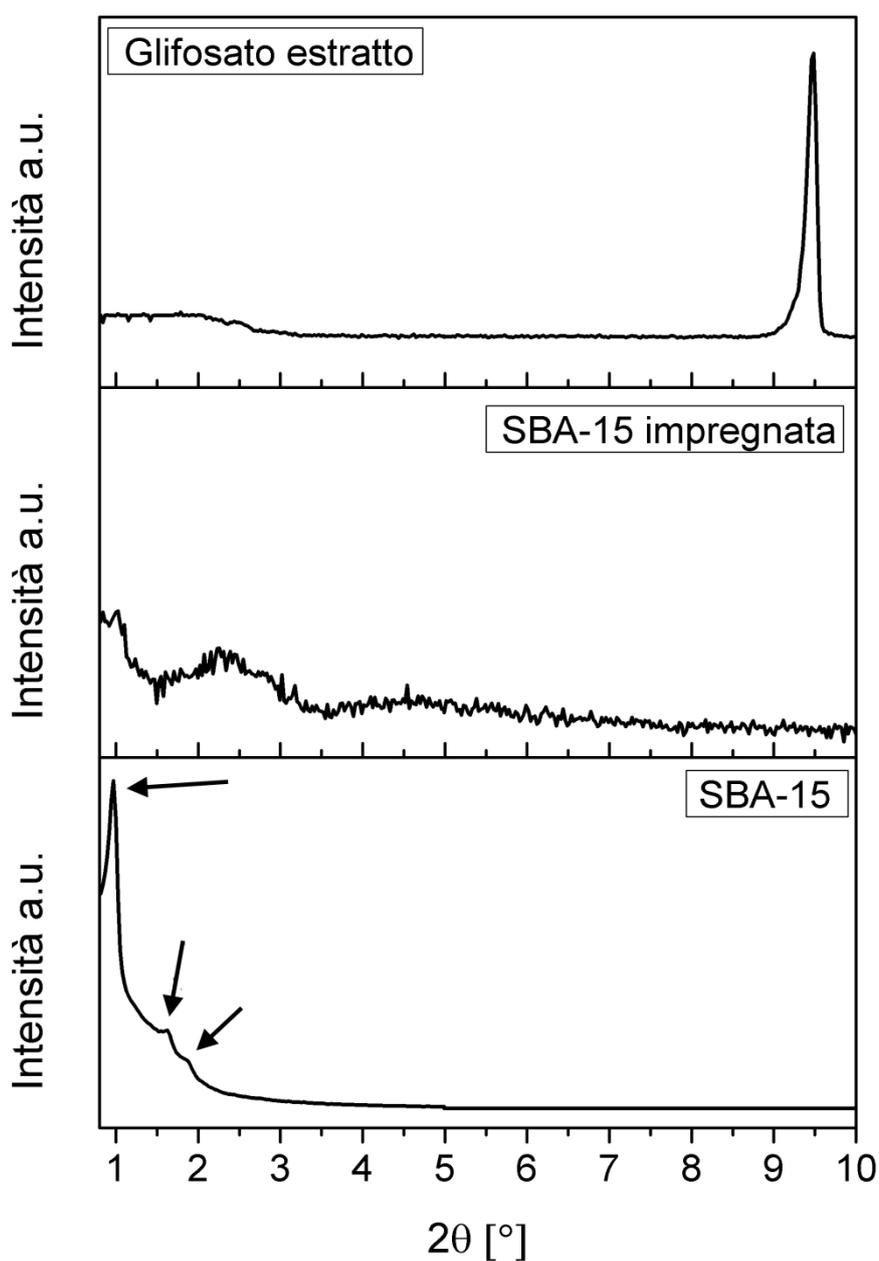
L'isoterma di adsorbimento di  $N_2$  relativa alla silice impregnata mostra la stessa identica conformazione di quella riferita alla matrice pura: come quest'ultima, infatti, essa appartiene alla quarta tipologia, possiede un coppia di isteresi di forma H1 e presenta condensazione capillare per rapporti  $P/P_0$  compresi tra 0,4 e 0,9. Soltanto il diverso volume occupato dall'azoto rende le due curve distinguibili; nella silice impregnata i valori raggiunti sono ridotti di circa 1/4 rispetto a quelli inerenti il materiale tal quale.

Nella tabella 7.2 sono riportati i valori di area superficiale e di volume dei pori associati ai due campioni in esame: è evidente come il glifosato sia stato inserito con successo all'interno della SBA-15, della quale non ha modificato la struttura mesoporosa.

**Tabella 7.2** Volume occupato dai pori e area specifica della SBA-15 pre e post-impregnazione.

Campione	Area superficiale specifica [m <sup>2</sup> /g] (Multipoint BET)	Volume dei pori [cm <sup>3</sup> /g] (metodo NLDFT)
SBA-15	702	0,997
SBA-15 impregnata	492	0,74

### 7.2.2 Diffrazione a raggi X



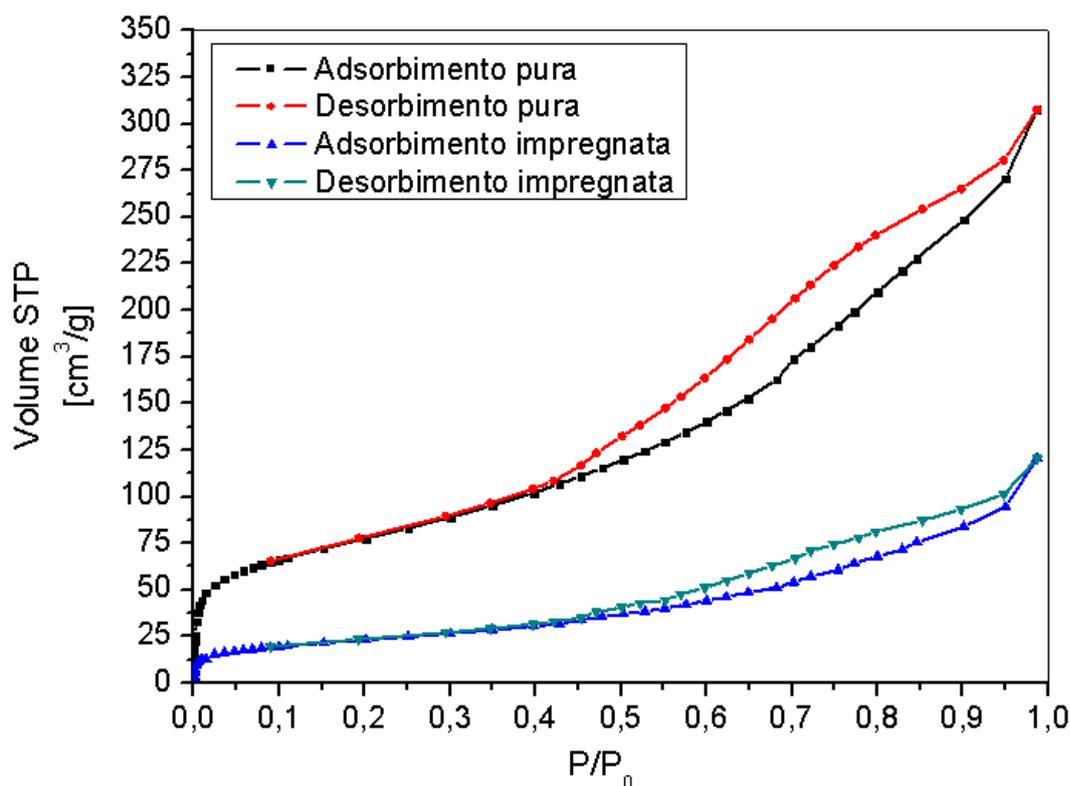
**Figura 7.4** Spettri di diffrazione a raggi X del glifosato estratto e della SBA-15 pura ed impregnata.

Lo spettro di diffrazione a raggi X inerente la silice impregnata non mostra più alcun picco tipico della matrice di partenza: si può ipotizzare che il glifosato inserito nel supporto abbia causato la perdita della simmetria esagonale dei pori.

Il picco caratteristico dell'erbicida, quello a  $2\theta$  pari a  $8,9^\circ$ , non è visibile nel pattern del materiale impregnato dimostrando così che il glifosato, in forma perfettamente amorfa, è penetrato completamente all'interno dei mesopori disponibili.

### 7.3 Impregnazione della montmorillonite K10

#### 7.3.1 Misure di adsorbimento di azoto (BET)



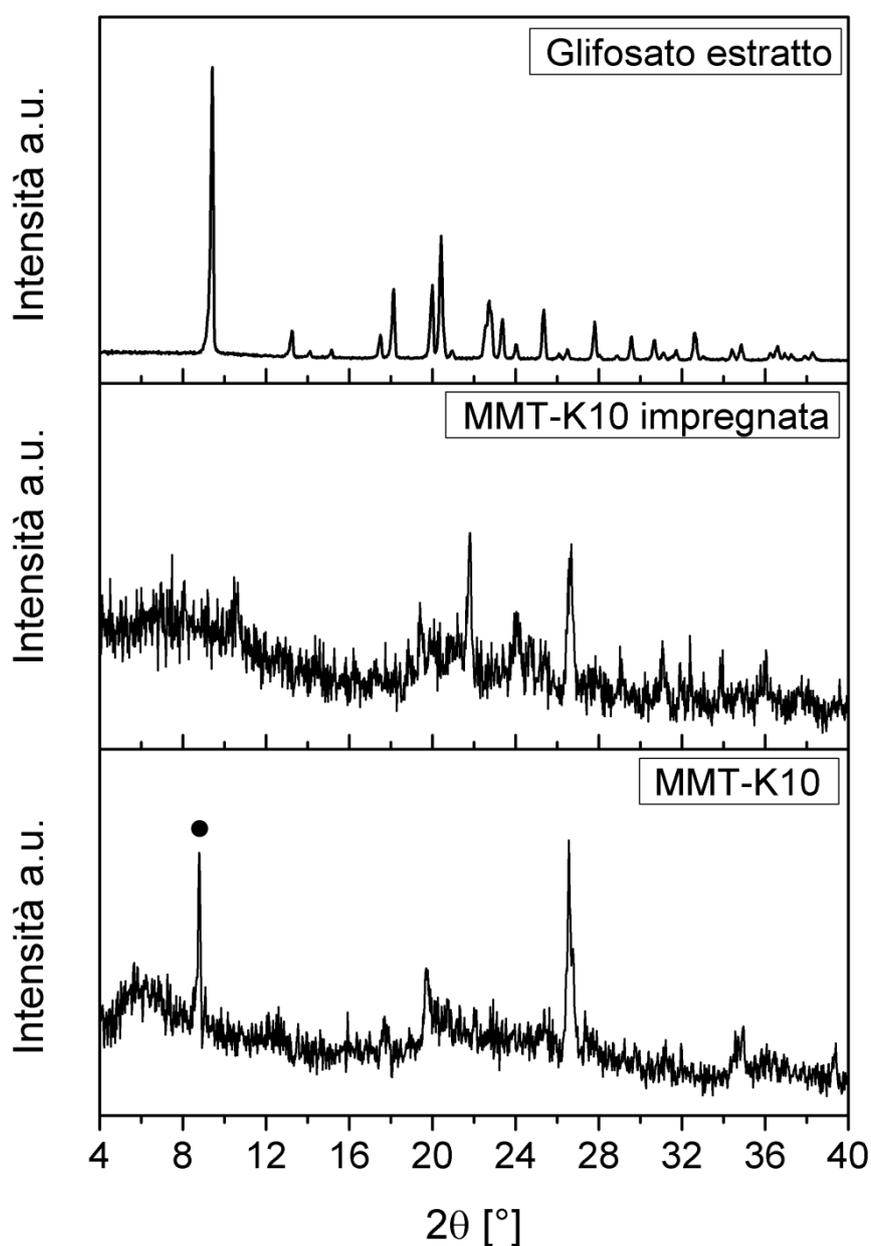
**Figura 7.5** Isotherme di adsorbimento di azoto della montmorillonite K10 impregnata e tal quale.

Le due isoterme riportate in figura 7.5 mostrano una conformazione molto simile: entrambe sono di tipo IV, secondo la classificazione IUPAC, ed entrambe hanno un coppia di isteresi di forma H3, indice della presenza di pori stretti e a fessura. Nonostante ciò, si notano alcune importanti differenze tra le due isoterme di adsorbimento. Innanzitutto, il ciclo di isteresi relativo alla montmorillonite K10 impregnata risulta meno sviluppato e con una minor pendenza rispetto a quello del supporto puro: ciò suggerisce che la natura mesoporosa della matrice sia stata sostanzialmente conservata, pur avendo subito piccole variazioni a seguito dell'introduzione del glifosato. Inoltre, si osserva che il volume di azoto adsorbito dalla MMT-K10 post-impregnazione raggiunge valori circa tre volte inferiori rispetto a quelli raggiunti dall'argilla tal quale; tale dato è coerente con la netta diminuzione di area specifica e di volume occupato dai pori riscontrabile nel campione contenente il glifosato (tabella 7.3). Simili risultati portano a concludere che sia stata effettuata un'efficace impregnazione dell'erbicida all'interno del materiale.

**Tabella 7.3** Volume occupato dai pori e area specifica della MMT-K10 pre e post-impregnazione.

Campione	Area superficiale specifica [m <sup>2</sup> /g] (Multipoint BET)	Volume dei pori [cm <sup>3</sup> /g] (metodo NLDFT)
MMT-K10	279	0,421
MMT-K10 impregnata	83	0,152

### 7.3.2 Diffrazione a raggi X



**Figura 7.6** Spettri di diffrazione a raggi X del glifosato estratto e della MMT-K10 pura ed impregnata.

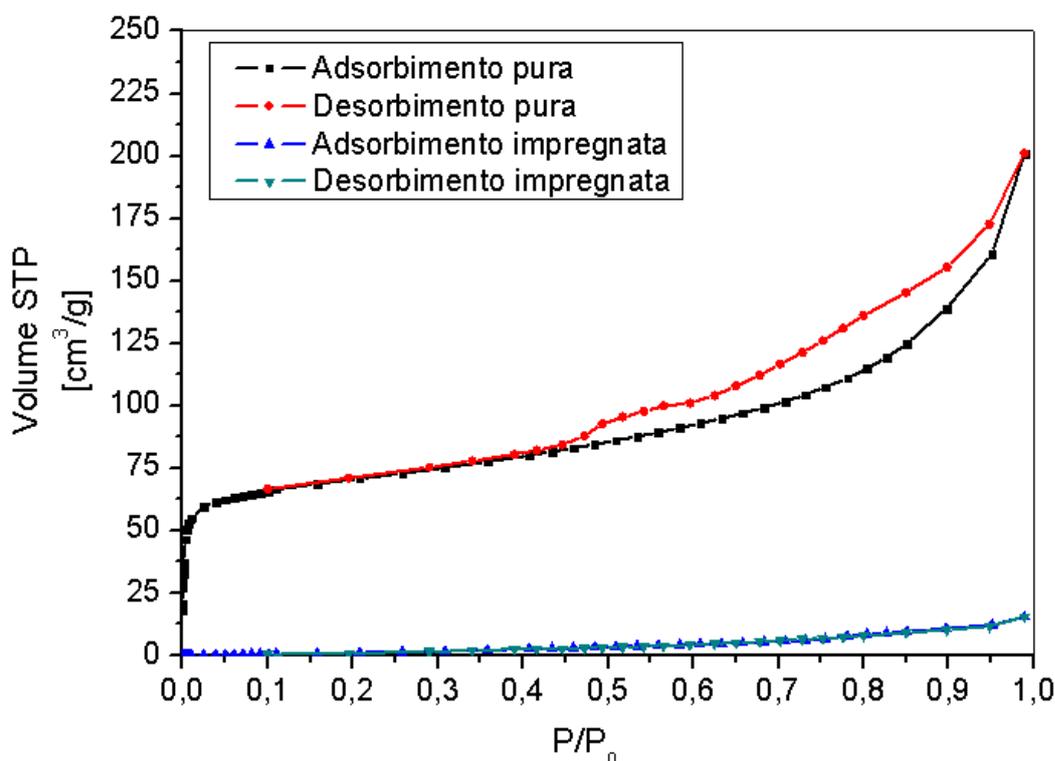
Dai pattern diffrattometrici riprodotti, si nota che la montmorillonite K10 ha subito importanti modifiche strutturali a seguito della sua impregnazione con il glifosato.

La scomparsa del riflesso basale (001) a  $2\theta$   $8,78^\circ$  conferma per l'argilla una struttura esfoliata, dovuta al rigonfiamento causato dall'intercalazione dell'erbicida e di una parte dell'acqua usata in fase di impregnazione.

La struttura amorfa del principio attivo è dimostrata dall'assenza del picco caratteristico all'angolo di  $8,9^\circ$ .

## 7.4 Impregnazione della montmorillonite pontata con alluminio

### 7.4.1 Misure di adsorbimento di azoto (BET)



**Figura 7.7** Isotherme di adsorbimento di azoto della MMT-Al impregnata e tal quale.

Le isoterme di adsorbimento di  $N_2$  riprodotte in figura 7.7 mostrano andamenti completamente diversi tra di loro: quella inerente il materiale puro, infatti, presenta il coppia di isteresi caratteristico delle strutture mesoporose mentre, al contrario, la curva relativa al supporto impregnato non mostra più alcun segno di un'avvenuta condensazione capillare.

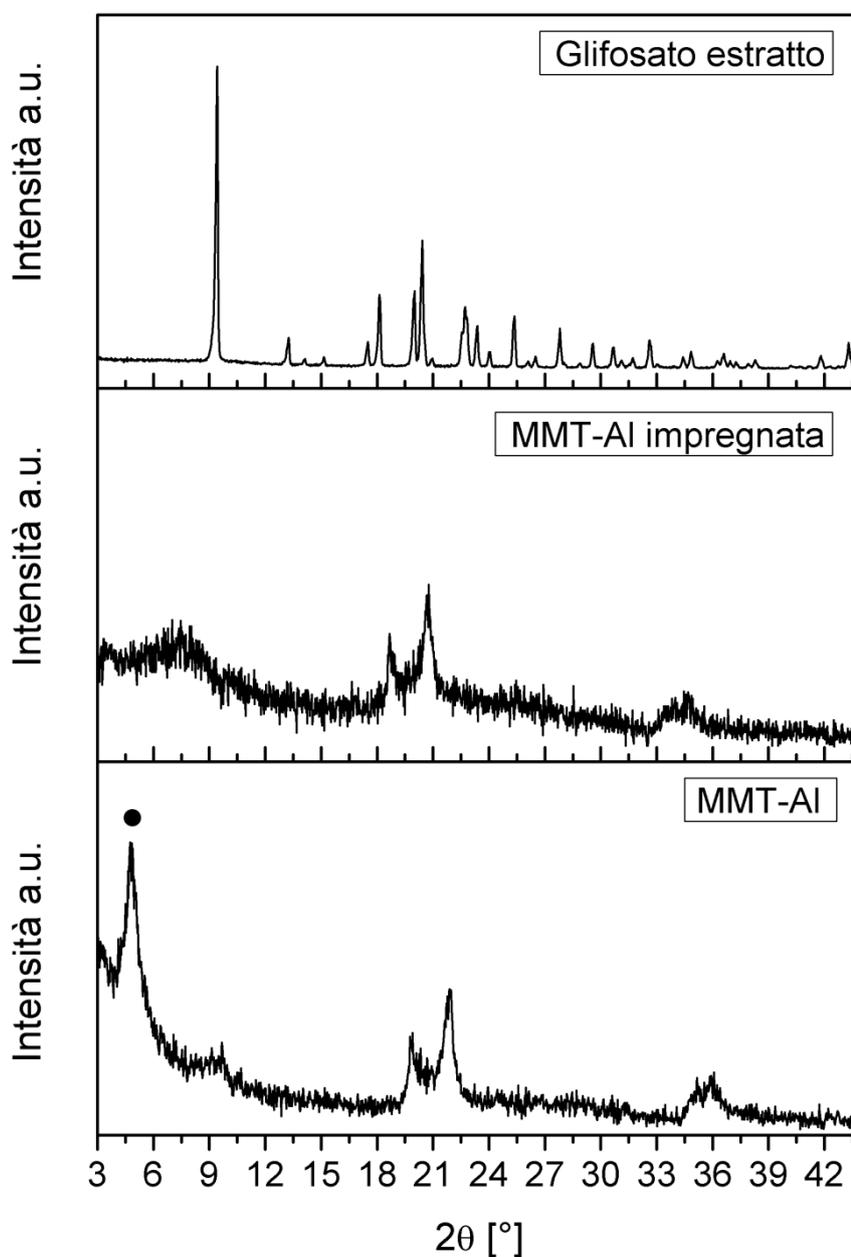
I volumi di azoto adsorbito dalla matrice post-impregnazione, inoltre, raggiungono valori decisamente inferiori a quelli raggiunti dal campione puro; ciò è visibile anche dai risultati dell'analisi DFT, riportati nella tabella 7.4.

Si può concludere che il glifosato inserito all'interno della MMT-Al è andato ad occuparne completamente i mesopori, modificandone in maniera sostanziale la struttura.

**Tabella 7.4** Volume occupato dai pori e area specifica della MMT-Al pre e post-impregnazione.

Campione	Area superficiale specifica [m <sup>2</sup> /g] (Multipoint BET)	Volume dei pori [cm <sup>3</sup> /g] (metodo NLDFT)
MMT-Al	250	0,257
MMT-Al impregnata	6	0,017

#### 7.4.2 Diffrazione a raggi X



**Figura 7.8** Spettri di diffrazione a raggi X del glifosato estratto e della MMT-Al pura ed impregnata.

La scomparsa del riflesso basale (001) a  $2\theta$   $4,74^\circ$  conferma la completa esfoliazione della matrice a seguito di un rigonfiamento dovuto all'intercalazione sia del glifosato, sia di una parte dell'acqua utilizzata in fase di impregnazione.

L'assenza dei picchi caratteristici del principio attivo, analogamente a quanto già osservato per la MMT-K10, porta a concludere che l'inserimento dell'erbicida sia avvenuto correttamente e che questi, una volta protonato, abbia perso la propria cristallinità.

## 8. Curve di rilascio e relative cinetiche

Quanto riportato sull'etichetta della formulazione commerciale Roundup Gran Unkrautfrei consiglia di disciogliere in un litro di acqua i 15,5 grammi di granulato contenuti all'interno della bustina; ciò consente di ottenere una soluzione adeguatamente concentrata di glifosato (6510 mg/L in questo specifico caso), utile al trattamento delle piante infestanti.

I rilasci sono stati eseguiti ponendo 0,2425 grammi di materiale contenente il principio attivo in 15 ml di liquido, così da ottenere una concentrazione massima teorica di glifosato pari a 6466 mg/L; tale concentrazione è simile a quella che si ottiene dalla formulazione commerciale pronta per l'utilizzo. Anche il granulato commerciale è stato sottoposto ad una prova di rilascio: in tal caso sono stati dispersi 0,2309 grammi di sostanza in modo da ricavare la stessa concentrazione massima degli altri casi, essendo il formulato sodico composto per il 42% in peso da glifosato acido puro.

Si sono effettuati prelievi a tempi diversi: ne sono stati eseguiti sette entro la prima ora (30 secondi, 1 minuto, 2 minuti, 5 minuti, 10 minuti, 30 minuti e 1 ora), dopodiché si è provveduto a prelevare ogni 24 ore per al massimo una settimana.

Per tutti i campioni impregnati, le prove di rilascio sono state effettuate seguendo la medesima procedura. Tutte le prove sono state eseguite in duplicato.

I rilasci sono stati effettuati utilizzando piccole quantità di campione impregnato a fronte di volumi di liquido relativamente elevati sia per evitare la saturazione delle soluzioni, sia per simulare il rilascio in campo aperto.

Per determinare la concentrazione di glifosato presente all'interno di ogni singolo prelievo si è ricorsi alla tecnica della cromatografia ionica, mettendo in atto la procedura già vista per la valutazione della purezza del glifosato estratto dalla formulazione commerciale (capitolo 6.2). È stato analizzato al cromatografo uno standard di riferimento a concentrazione nota (10 mg/L), preparato impiegando l'acido puro acquistato presso la Fluka<sup>®</sup> Analytical; l'area del picco relativo al glifosato ricavata per tale standard è stata correlata a quelle ricavate dall'analisi dei campioni così da poter risalire alla loro concentrazione.

### 8.1 Rilascio in ambiente neutro

Per i rilasci in ambiente neutro si è utilizzata acqua Milli-Q ad elevata purezza (18.2 MΩcm a 25°C).

**Tabella 8.1** Percentuali medie cumulative di glifosato rilasciato in acqua ai diversi tempi di prelievo e deviazioni standard relative associate.

<b>% cumulativa di glifosato rilasciato in ambiente neutro</b>				
<b>Tempi di prelievo</b>	<b>γ-Allumina</b>	<b>RSD % γ-Allumina</b>	<b>MMT-AI</b>	<b>RSD % MMT-AI</b>
<b>30 secondi</b>	43,4	35,8	17,3	21,9
<b>1 minuto</b>	44,5	37,8	21,3	9,1
<b>2 minuti</b>	53,5	46,1	33,6	38,1
<b>5 minuti</b>	82,7	5,1	27,5	37,3
<b>10 minuti</b>	79,8	4,7	26,6	12,9
<b>30 minuti</b>	90,4	11,7	47,5	33,9
<b>1 ora</b>	91,9	7,9	51,9	25,7
<b>24 ore</b>	95,1	2,6	-	-

**Tabella 8.2** Percentuali medie cumulative di glifosato rilasciato in acqua ai diversi tempi di prelievo e deviazioni standard relative associate; valori superiori al 100% sono dovuti all'effetto matrice.

<b>% cumulativa di glifosato rilasciato in ambiente neutro</b>				
<b>Tempi di prelievo</b>	<b>SBA-15</b>	<b>RSD % SBA-15</b>	<b>MMT-K10</b>	<b>RSD % MMT-K10</b>
<b>30 secondi</b>	40,1	36,5	70,4	5,1
<b>1 minuto</b>	53,1	14,2	75,7	1,4
<b>2 minuti</b>	74,7	4,3	85,6	0,1
<b>5 minuti</b>	97,4	0,3	88,5	6,1
<b>10 minuti</b>	102,8	0,8	97,1	5,1
<b>30 minuti</b>	107,1	7,3	97,7	0,4
<b>1 ora</b>	103,5	4,2	98,3	0,1
<b>24 ore</b>	99,1	3,5	99,5	3,8

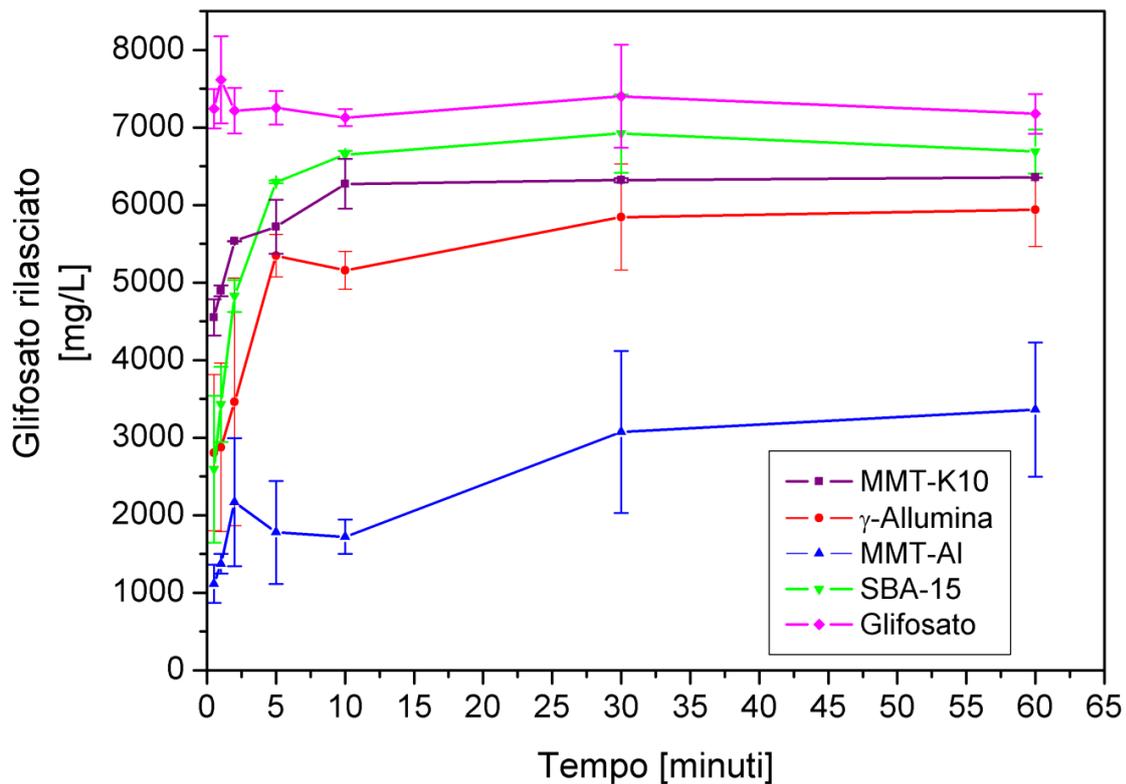


Figura 8.1 Concentrazioni di glifosato rilasciato in ambiente neutro, da 30 secondi ad un'ora.

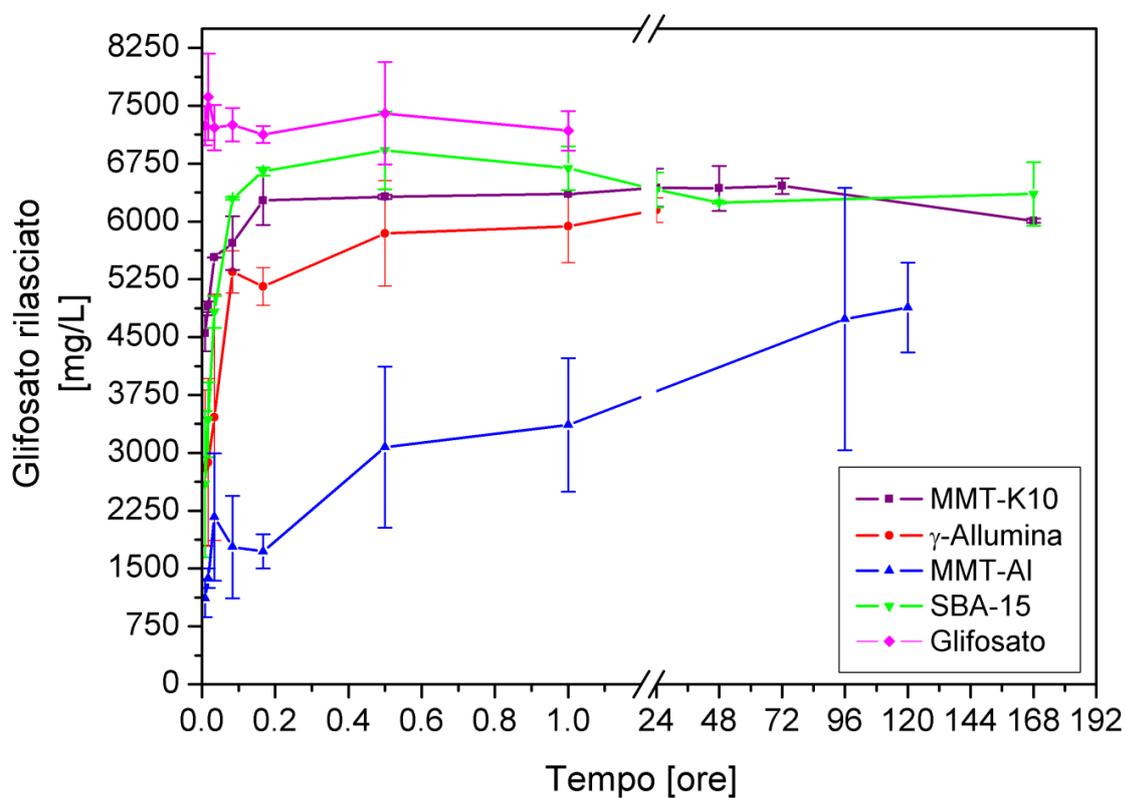


Figura 8.2 Concentrazioni di glifosato rilasciato in ambiente neutro, da 30 secondi a 7 giorni.

Nelle figure 8.1 e 8.2 sono riportate le curve relative al rilascio del glifosato in acqua, a partire dalle quattro matrici impregnate; i valori diagrammati di concentrazione di erbicida rilasciato sono la media dei risultati ottenuti effettuando le prove in duplicato.

Tenendo conto delle deviazioni standard, talvolta anche piuttosto elevate, si osserva che la montmorillonite pontata con alluminio ha rilasciato il principio attivo molto più lentamente e gradualmente rispetto agli altri supporti: per la MMT-Al, infatti, la percentuale media di glifosato fuoriuscito è risultata pari al 17,3% dopo 30 secondi dall'inizio della prova, è arrivata ad appena il 51,9% dopo un'ora e ha raggiunto il 75,5% soltanto dopo cinque giorni (V. tabella 8.1 e figura 8.2).

La SBA-15 e la MMT-K10 hanno rilasciato l'erbicida molto più velocemente: per essi si è arrivati alla concentrazione massima teorica di circa 6466 mg/L già entro 24 ore.

La  $\gamma$ -allumina ha mostrato una capacità di trattenimento leggermente superiore rispetto alla silice e all'argilla classica, ma sicuramente inferiore rispetto alla MMT-Al.

Il fatto che durante le prove effettuate le concentrazioni di erbicida rilasciato si siano stabilizzate a valori intorno ai 6466 mg/L, conferma che le matrici sono state impregnate al 40% in peso di glifosato, come desiderato.

Una nota a parte merita la curva relativa al glifosato rilasciato dalla formulazione commerciale tal quale: in tal caso si è osservata fin da subito una concentrazione pari alla massima teorica possibile.

Le curve di rilascio presentate riportano talvolta un andamento non strettamente crescente imputabile, in alcuni casi, ad un moto controdiffusivo del glifosato già fuoriuscito dalla matrice.

L'interazione tra il glifosato e la SBA-15 è dovuta principalmente alla formazione di legami a idrogeno tra i silanoli della silice ed i gruppi carbossilico e fosfonico dell'erbicida; l'interazione tra il glifosato e la  $\gamma$ -allumina si ottiene grazie ad interazioni elettrostatiche e a forze di Van der Waals.

La MMT-Al si è rivelata la matrice in grado di rilasciare il glifosato in maniera più lenta e graduale poiché in essa, oltre ai gruppi -OH rintracciabili anche nella MMT-K10, sono presenti altri siti di interazione, ossia gli atomi di alluminio sotto-coordinato dei ponti: essi creano legami con l'erbicida man mano che diffonde verso l'esterno, rallentandone di fatto l'uscita.

## *8.2 Rilascio in tampone acido*

Il pH dei terreni può talvolta rivelarsi inferiore alla norma, generalmente compresa tra 4 e 8, a causa del fenomeno sempre più ricorrente delle piogge acide.

Al fine di simulare il possibile comportamento del glifosato in un ambiente che ha subito gli effetti di simili precipitazioni, sono state effettuate delle prove di rilascio in tampone acido a pH 3.

La scelta del tampone è ricaduta sull'ossalato di sodio in quanto nell'analisi cromatografica non genera interferenze, essendo eluito prima del glifosato; per prepararlo si è partiti da una soluzione di acido ossalico ( $H_2C_2O_4$ ) 50 mmol, poi portata al pH desiderato tramite aggiunta goccia a goccia di NaOH al 50%.

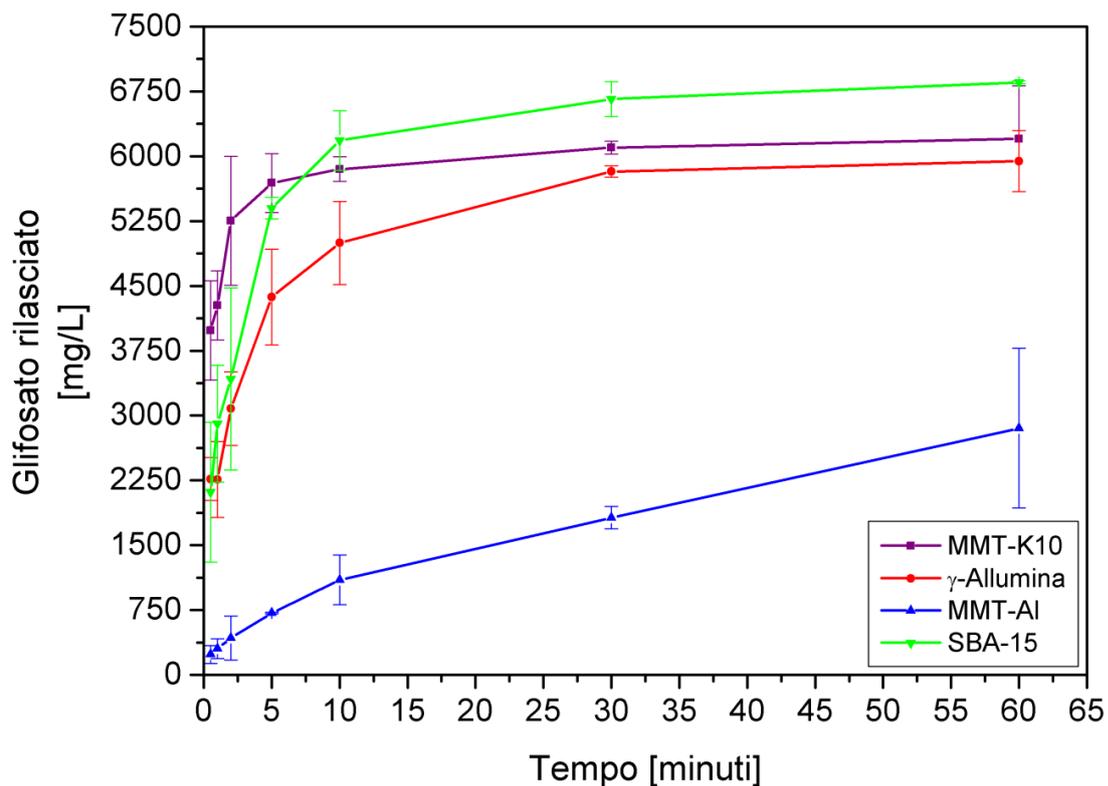
Lo standard di riferimento a concentrazione di 10 mg/L è stato preparato usando come liquido di diluizione il tampone acido, anziché la semplice acqua Milli-Q, in modo da poterlo effettivamente impiegare come termine di confronto con i campioni analizzati.

**Tabella 8.3** Percentuali medie cumulative di glifosato rilasciato in tampone acido ai diversi tempi di prelievo e deviazioni standard relative associate.

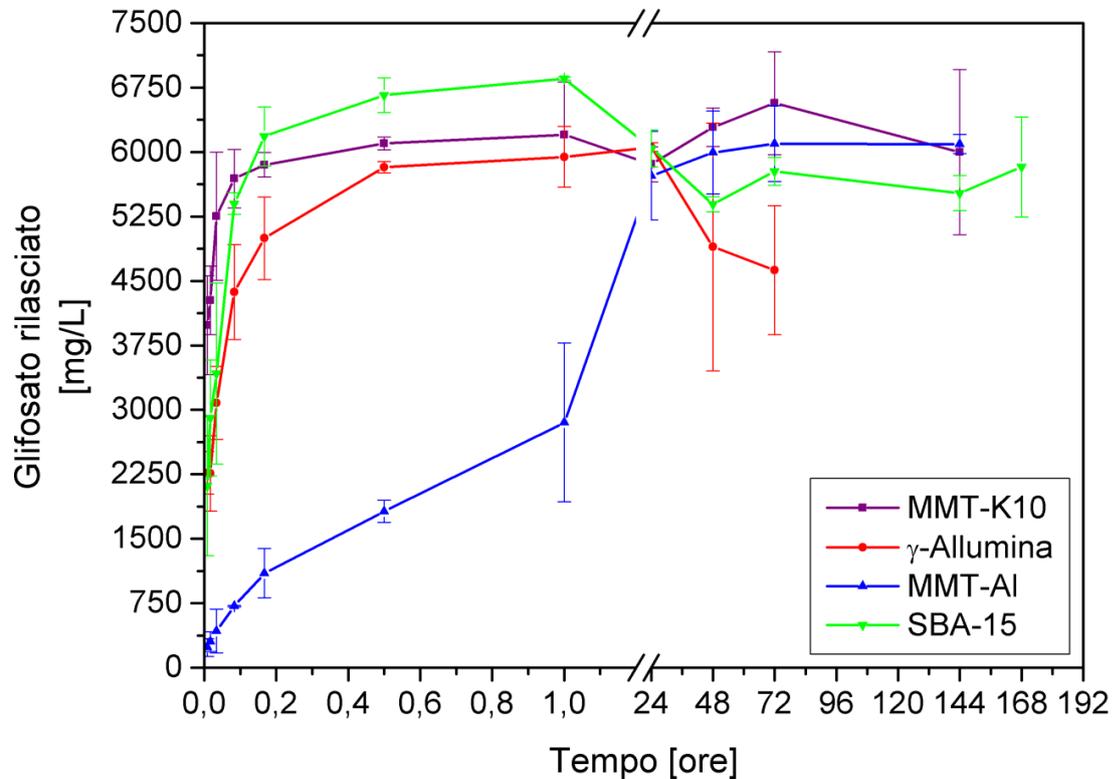
<b>% cumulativa di glifosato rilasciato in tampone acido</b>				
<b>Tempi di prelievo</b>	<b><math>\gamma</math>-Allumina</b>	<b>RSD % <math>\gamma</math>-Allumina</b>	<b>MMT-AI</b>	<b>RSD % MMT-AI</b>
<b>30 secondi</b>	35,1	10,9	3,6	44,3
<b>1 minuto</b>	34,9	19,3	4,7	37,6
<b>2 minuti</b>	47,6	13,8	6,6	60,3
<b>5 minuti</b>	67,6	12,7	11,1	1,4
<b>10 minuti</b>	77,3	9,6	16,9	26,3
<b>30 minuti</b>	90,1	1,1	28,1	7,2
<b>1 ora</b>	91,9	5,9	44,1	32,3
<b>24 ore</b>	93,7	0,8	88,5	8,9

**Tabella 8.4** Percentuali medie cumulative di glifosato rilasciato in tampone acido ai diversi tempi di prelievo e deviazioni standard relative associate; valori superiori al 100% sono dovuti all'effetto matrice.

<b>% cumulativa di glifosato rilasciato in tampone acido</b>				
<b>Tempi di prelievo</b>	<b>SBA-15</b>	<b>RSD % SBA-15</b>	<b>MMT-K10</b>	<b>RSD % MMT-K10</b>
<b>30 secondi</b>	32,7	38,3	61,6	14,4
<b>1 minuto</b>	44,9	23,2	66,1	9,3
<b>2 minuti</b>	52,9	30,7	81,2	14,2
<b>5 minuti</b>	83,5	2,3	88,1	5,9
<b>10 minuti</b>	95,6	5,6	90,5	2,4
<b>30 minuti</b>	103,1	3,1	94,3	1,2
<b>1 ora</b>	106,1	0,2	95,9	9,8
<b>24 ore</b>	93,4	3,6	90,6	3,5



**Figura 8.3** Concentrazioni di glifosato rilasciato in tampone acido, da 30 secondi ad un'ora.



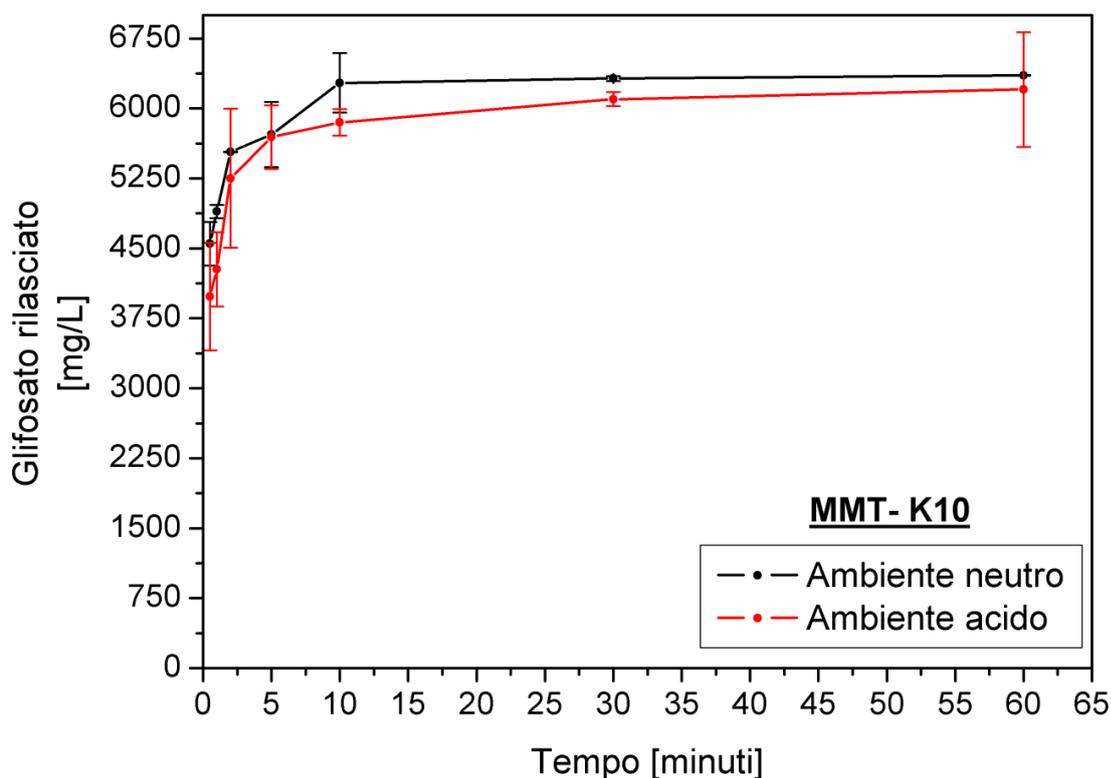
**Figura 8.4** Concentrazioni di glifosato rilasciato in tampone acido, da 30 secondi a 7 giorni.

Nelle figure 8.3 e 8.4 sono riportate le curve relative al rilascio di glifosato in tampone acido, a partire dalle quattro matrici impregnate; i valori diagrammati di concentrazione di erbicida rilasciato, analogamente al caso delle prove in ambiente neutro, sono la media dei risultati ottenuti replicando le analisi due volte.

Si nota come la montmorillonite pontata con alluminio, pur considerando le deviazioni standard, sia anche in questo caso la matrice che ha rilasciato l'erbicida nella maniera più lenta e graduale: la percentuale media di principio attivo fuoriuscito dalla MMT-Al è risultata pari appena al 3,6% dopo 30 secondi dall'inizio della prova, è arrivata al 44,1% dopo un'ora e ha raggiunto il 94,2% dopo sei giorni (V. figura 8.4 e tabella 8.3).

La silice SBA-15, la montmorillonite K10 e la  $\gamma$ -allumina hanno mostrato rilasci molto più rapidi, arrivando alla concentrazione teorica massima entro le 48 ore. Le deviazioni standard associate alle curve inerenti questi tre supporti non sono risultate particolarmente elevate, soprattutto per i dati relativi ai prelievi effettuati tra i 5 ed i 30 minuti: si può dunque affermare che, per tempi limitati entro la prima ora dall'inizio delle prove, tra questi tre materiali l'ossido di alluminio sia stato quello con una capacità di trattenimento leggermente superiore, mentre la silice sia stato quello con una capacità di trattenimento inferiore. Tale considerazione non è più valida una volta superate le 24 ore.

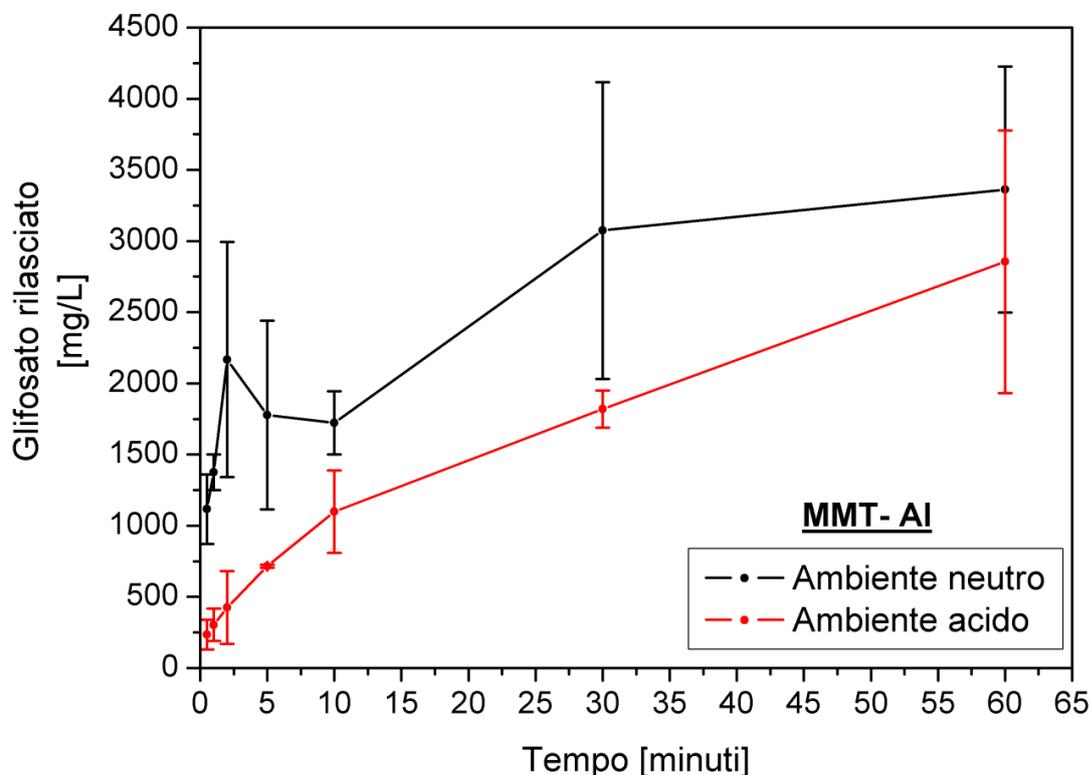
### 8.3 Confronto tra i rilasci in ambiente neutro e in tampone acido



**Figura 8.5** Confronto tra il glifosato rilasciato dalla MMT-K10 in acqua e in tampone acido.

In figura 8.5 è possibile osservare il confronto diretto tra le curve di rilascio del glifosato in ambiente neutro e in tampone acido per la MMT-K10.

Si nota che i valori di concentrazione misurati ai diversi tempi sono molto simili tra loro, soprattutto considerando le deviazioni standard associate alle singole analisi; si ha una situazione analoga per la silice SBA-15 e per la  $\gamma$ -allumina, i cui grafici non sono qui riportati. Pare pertanto che l'ambiente non influenzi significativamente il rilascio da tali supporti.



**Figura 8.6** Confronto tra il glifosato rilasciato dalla MMT-Al in acqua e in tampone acido.

A differenza di quanto osservato per l'argilla classica, la silice e l'ossido di alluminio, le concentrazioni di glifosato rilasciato dalla MMT-Al entro la prima ora dall'inizio delle prove risultano inferiori nel tampone acido: la diffusione del principio attivo dai pori del supporto verso l'esterno viene rallentata sia dalla presenza dei ponti di Al, sia dalla maggiore stabilità che il glifosato acido puro acquista nell'ambiente a pH 3.

#### 8.4 Rilascio in $\text{CaCl}_2$

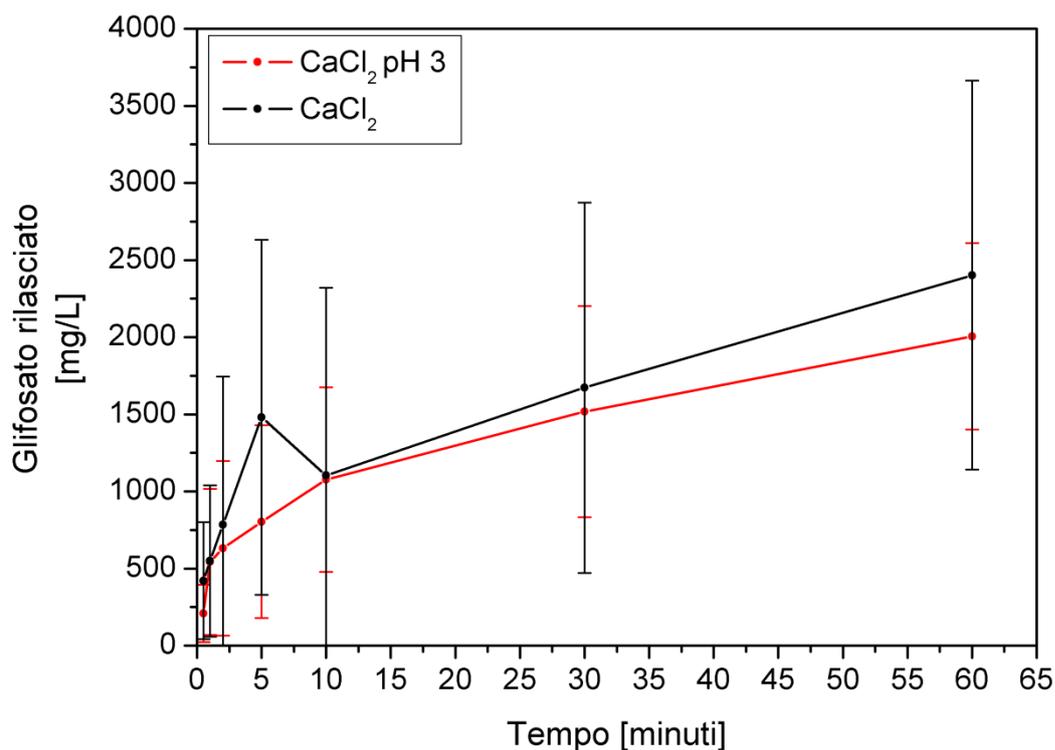
Al fine di valutare le possibili cinetiche di trasferimento del glifosato dalle matrici impregnate verso il suolo, sono state effettuate prove di rilascio in  $\text{CaCl}_2$ , tipico componente dei terreni. Il rilascio in ambiente salino è stato eseguito soltanto utilizzando la montmorillonite pontata con alluminio, essendosi essa dimostrata, dalle analisi precedenti, la più promettente ai fini del nostro studio.

Per l'esecuzione delle prove in cloruro di calcio, si è ricorsi sia a  $\text{CaCl}_2$  0,01M a pH non controllato (pari a 6,37), sia a  $\text{CaCl}_2$  0,01M portato a pH 3 tramite aggiunta goccia a goccia di HCl concentrato al 37%.

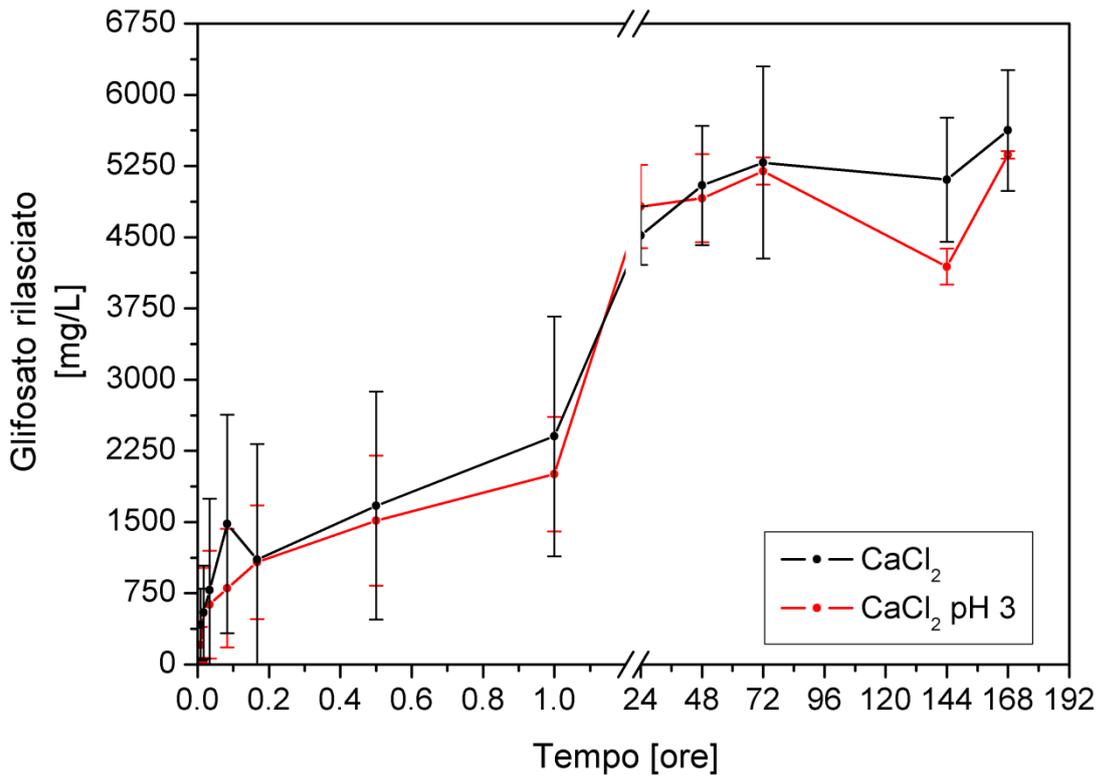
Lo standard di riferimento a concentrazione di 10 mg/L è stato preparato impiegando come liquido di diluizione il cloruro ai due diversi pH, al fine di ottenere la stessa matrice dei campioni successivamente analizzati.

**Tabella 8.5** Percentuali medie cumulative di glifosato rilasciato in CaCl<sub>2</sub> ai diversi tempi di prelievo e deviazioni standard relative associate.

% cumulativa di glifosato rilasciato dalla MMT-AI				
Tempi di prelievo	CaCl <sub>2</sub>	RSD % CaCl <sub>2</sub>	CaCl <sub>2</sub> pH 3	RSD % CaCl <sub>2</sub> pH 3
30 secondi	6,5	89,9	3,2	89,1
1 minuto	8,4	89,4	8,3	87,3
2 minuti	12,1	122,5	9,7	89,9
5 minuti	22,8	77,7	12,4	77,8
10 minuti	17,0	109,9	16,6	55,5
30 minuti	25,7	71,7	23,3	45,1
1 ora	36,9	52,5	30,8	30,1
24 ore	69,5	6,8	74,2	9,1



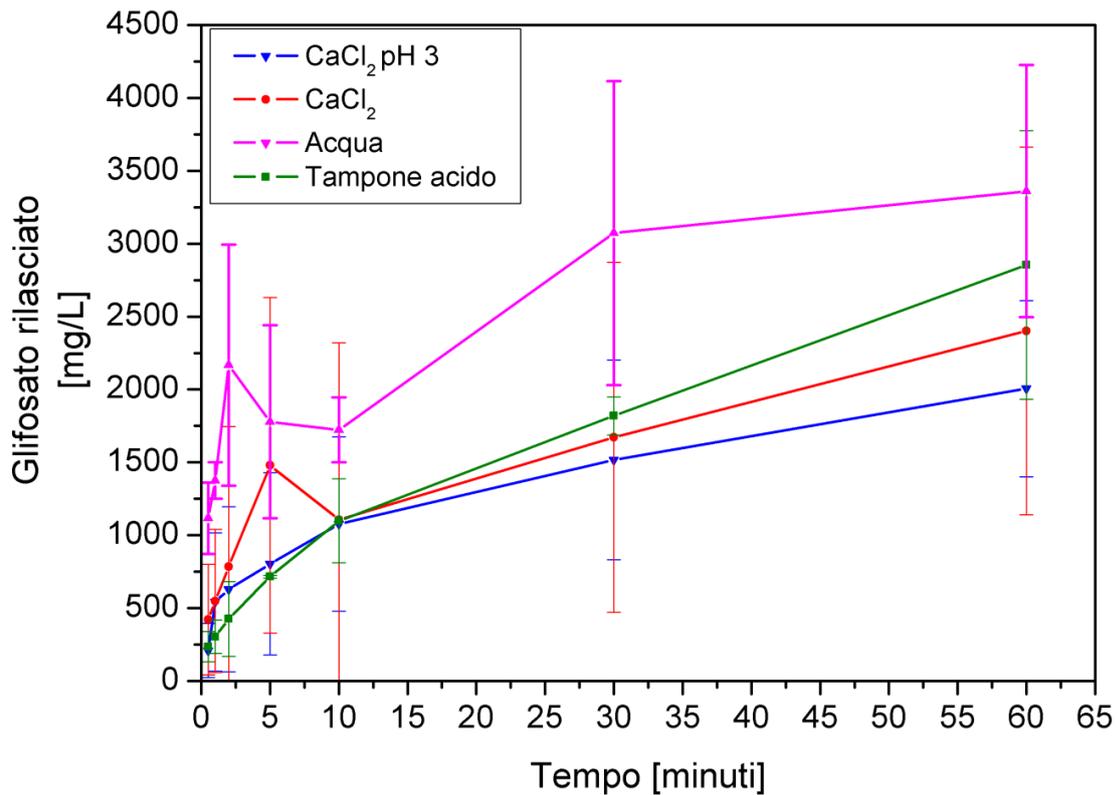
**Figura 8.7** Concentrazioni di glifosato rilasciato nelle due soluzioni di CaCl<sub>2</sub>, da 30 secondi ad un'ora.



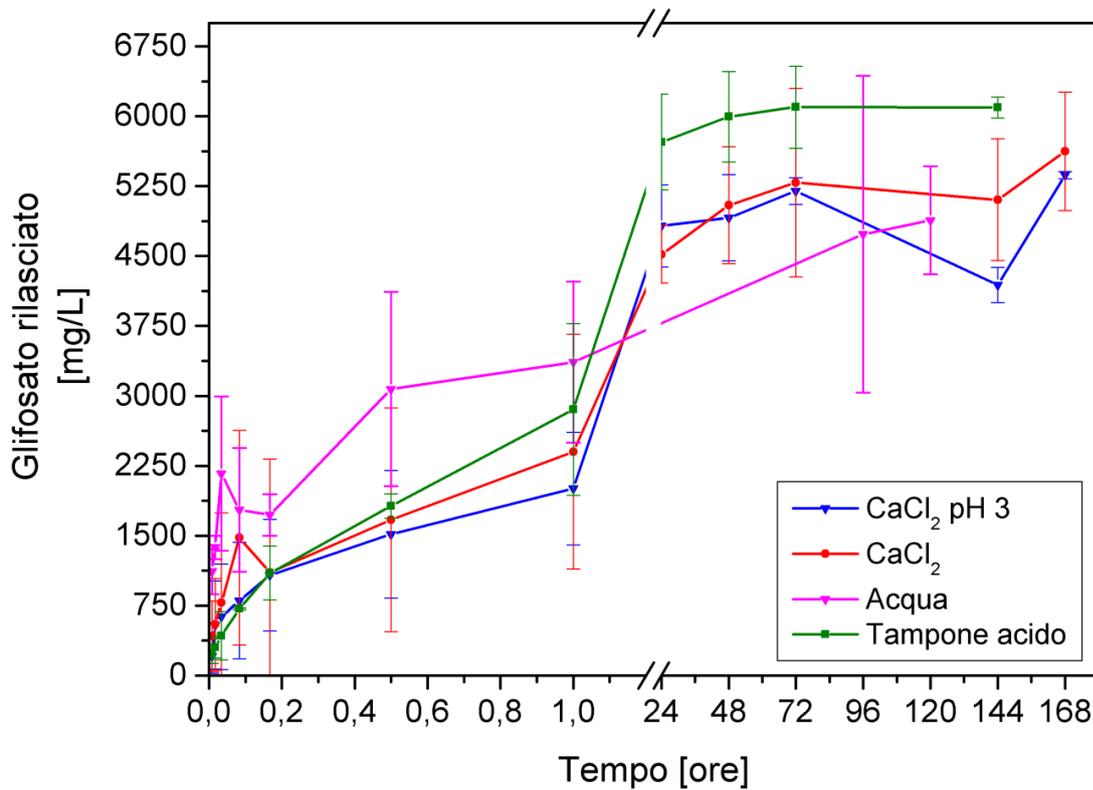
**Figura 8.8** Concentrazioni di glifosato rilasciato nelle due soluzioni di CaCl<sub>2</sub>, da 30 secondi a 7 giorni.

Nelle figure 8.7 e 8.8 sono riportate le curve relative al rilascio del glifosato in CaCl<sub>2</sub>, a pH non controllato e a pH 3; i valori diagrammati sono la media dei risultati ottenuti effettuando le prove in duplicato.

Considerate le deviazioni standard delle singole analisi, si osserva che non vi sono significative differenze tra le concentrazioni di glifosato misurate ai diversi tempi all'interno dei due ambienti salini; in entrambi la percentuale media di erbicida rilasciato dalla MMT-Al è risultata circa pari all'85% dopo sette giorni dall'inizio delle prove.



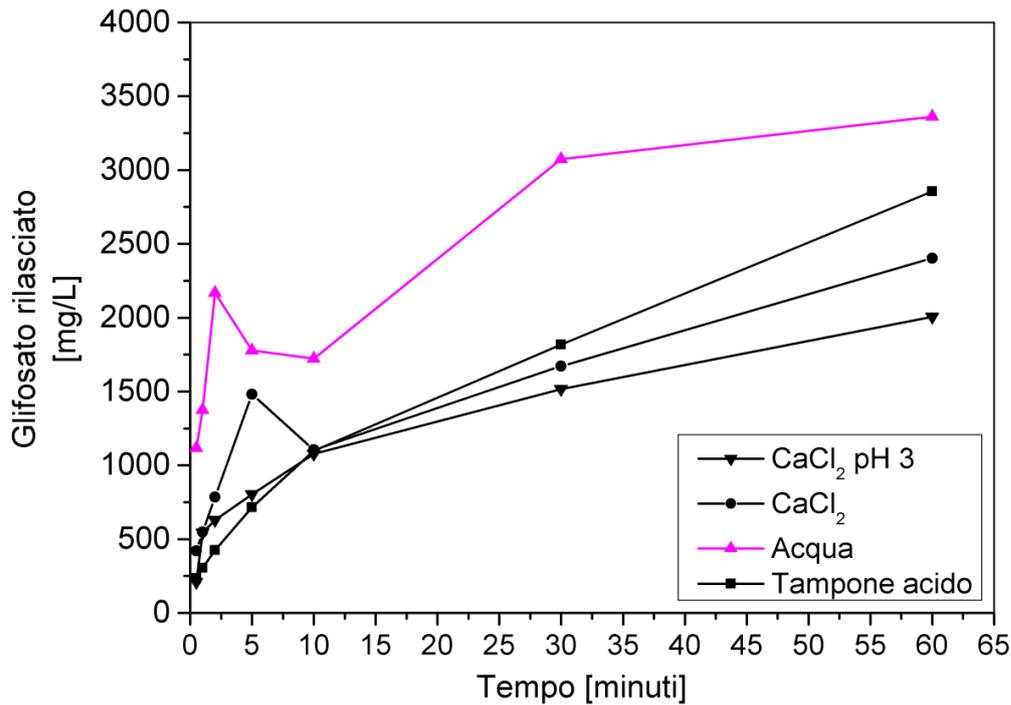
**Figura 8.9** Concentrazioni di glifosato rilasciato dalla MMT-Al nei diversi liquidi, da 30 secondi ad un'ora.



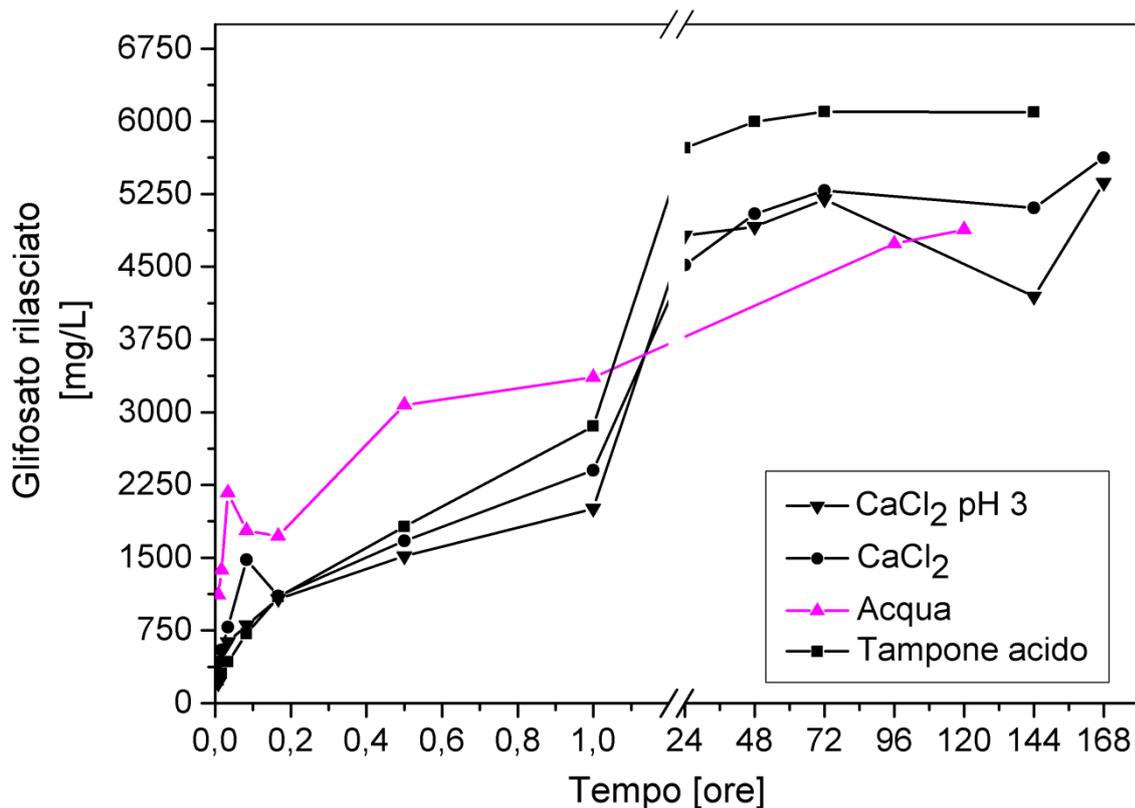
**Figura 8.10** Concentrazioni di glifosato rilasciato dalla MMT-Al nei diversi liquidi, da 30 secondi a 7 giorni

Esaminando le figure 8.9 e 8.10, si nota che il glifosato è stato rilasciato lentamente e gradualmente dalla MMT-Al sia all'interno dell'ambiente salino, sia all'interno del tampone acido.

Le differenze più evidenti tra le concentrazioni di erbicida rilasciato nei vari liquidi sono state osservate soprattutto per i tempi inferiori all'ora; in seguito i valori raggiunti si sono dimostrati tra loro comparabili, in particolar modo dopo quattro/cinque giorni dall'inizio delle prove.



**Figura 8.11** Concentrazioni di glifosato rilasciato dalla MMT-Al nei vari liquidi, da 30 secondi ad un'ora.



**Figura 8.12** Concentrazioni di glifosato rilasciato dalla MMT-Al nei vari liquidi, da 30 secondi a 7 giorni.

Alla luce delle valutazioni fatte, nelle figure 8.11 e 8.12 vengono riportate le curve di rilascio senza deviazioni standard: nere sono le curve riferite agli ambienti in cui la MMT-Al ha mostrato circa la medesima capacità di trattenimento; colorata è la curva inerente l'ambiente neutro, in cui l'argilla ha mostrato un comportamento differente dagli altri casi.

Le due figure evidenziano come il rilascio di glifosato sia maggiore in acqua ultrapura a tempi brevi, mentre sia maggiore nella soluzione tampone ed in quella salina a tempi lunghi.

### 8.5 Cinetiche di desorbimento

In base ai risultati ottenuti, ci si è focalizzati sulla ricerca di modelli in grado di interpretare in maniera adeguata le cinetiche di desorbimento del glifosato dalla MMT-Al.

Le cinetiche ritenute più adatte allo scopo sono state quelle di pseudo-primo ordine e di pseudo-secondo ordine; equazioni ed integrazioni sono state tratte dallo studio di Bai e altri [95], i quali hanno valutato i processi di adsorbimento e desorbimento di calcio ligninsulfonato da una dolomite porosa, un minerale talvolta presente all'interno delle rocce argillose.

L'equazione differenziale relativa la cinetica di desorbimento di pseudo-primo ordine, derivata dall'equazione inerente il fenomeno di adsorbimento, è:

$$-\frac{dq_t}{dt} = K_{d1} * (q_t - q_r) \quad (8.1)$$

Dalla sua integrazione si ottiene:

$$\ln(q_t - q_r) = K_{d1}t + \ln(q_i - q_r) \quad (8.2)$$

L'equazione differenziale relativa la cinetica di desorbimento di pseudo-secondo ordine, anch'essa derivata dall'equazione inerente il fenomeno di adsorbimento, è:

$$- \frac{dq_t}{dt} = K_{d2} * (q_t - q_r)^2 \quad (8.3)$$

Dalla sua integrazione si ottiene:

$$\frac{1}{q_t} = K_{d2}t + \frac{1}{(q_i - q_r)} \quad (8.4)$$

In esse:

- $q_t$  (mg/g) indica la densità di glifosato presente nella matrice ad un dato tempo;
- $q_r$  (mg/g) indica la densità residua di glifosato che si trova all'interno della matrice al termine del processo di desorbimento;
- $q_i$  (mg/g) indica la densità iniziale di glifosato contenuta all'interno della matrice;
- $k_{d1}$  e  $k_{d2}$  sono le costanti cinetiche di desorbimento riferite ai due casi.

I risultati ottenuti dalla prova di rilascio in acqua ultrapura, per tempi compresi tra i 30 secondi e i 60 minuti, sono stati interpretati in maniera soddisfacente con una cinetica di pseudo-primo ordine (figura 8.13).

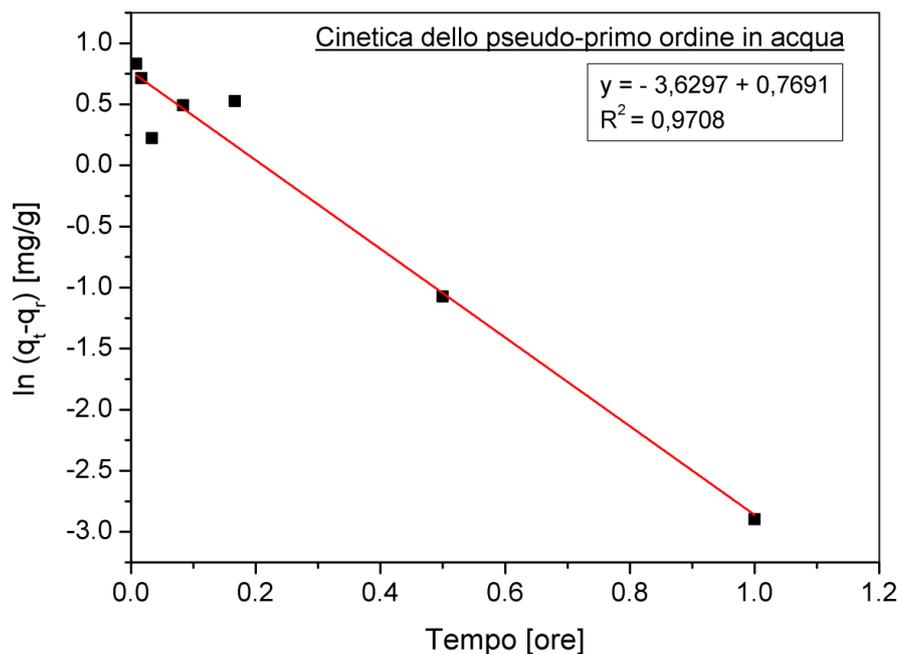


Figura 8.13 Cinetica di pseudo-primo ordine per il rilascio in acqua.

Il rilascio in tampone acido ha fornito dati approssimabili con entrambe le cinetiche, in tal caso per tempi compresi tra i 30 secondi e le 24 ore (figure 8.14 e 8.15).

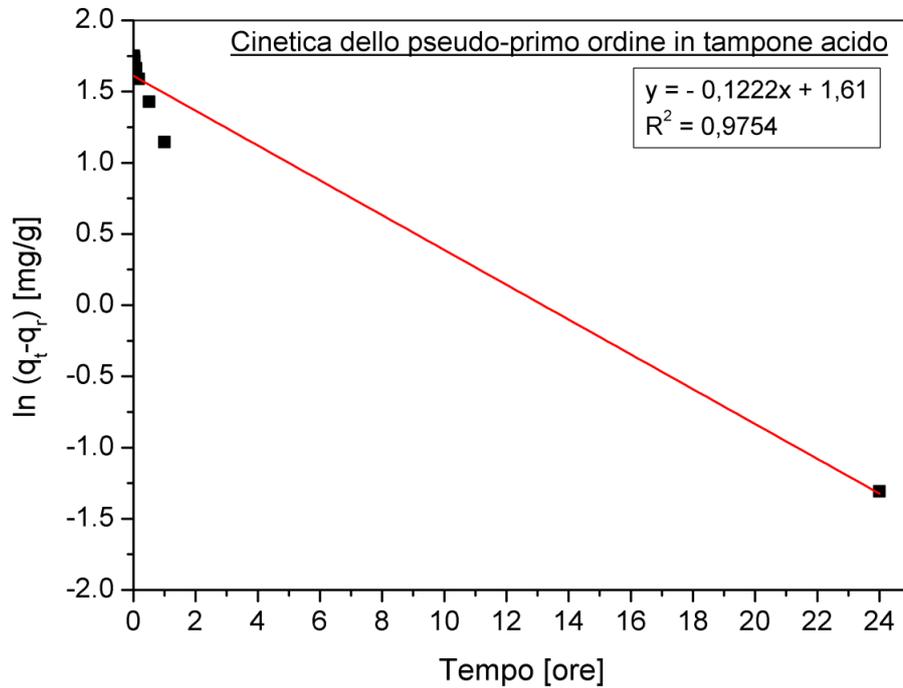


Figura 8.14 Cinetica di pseudo-primo ordine in tampone acido.

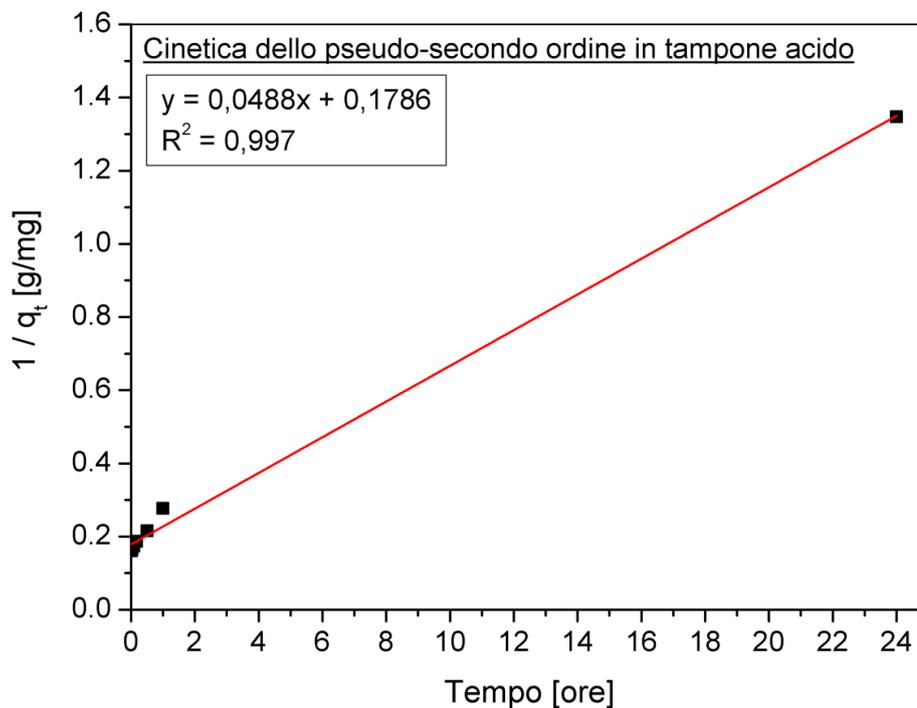


Figura 8.15 Cinetica di pseudo-secondo ordine in tampone acido.

I risultati relativi alle prove effettuate in  $\text{CaCl}_2$  a pH non controllato sono stati interpretati con una cinetica dello pseudo-secondo ordine suddivisa in due stadi: il primo per tempi da 30 secondi ad un'ora, il secondo per tempi dalle 24 ore ai 7 giorni. La diversa pendenza delle due

rette di regressione lineare ottenute (figura 8.16 e 8.17) conferma la necessità di ripartire l'analisi completa in due grafici distinti.

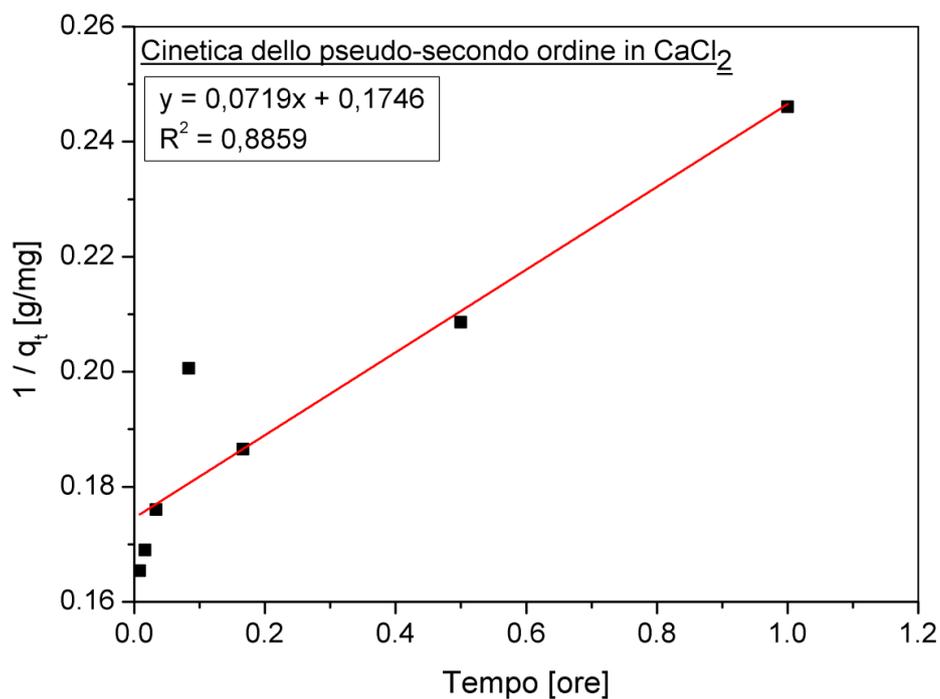


Figura 8.16 Cinetica di pseudo-secondo ordine, nell'intervallo di un'ora, in  $\text{CaCl}_2$ .

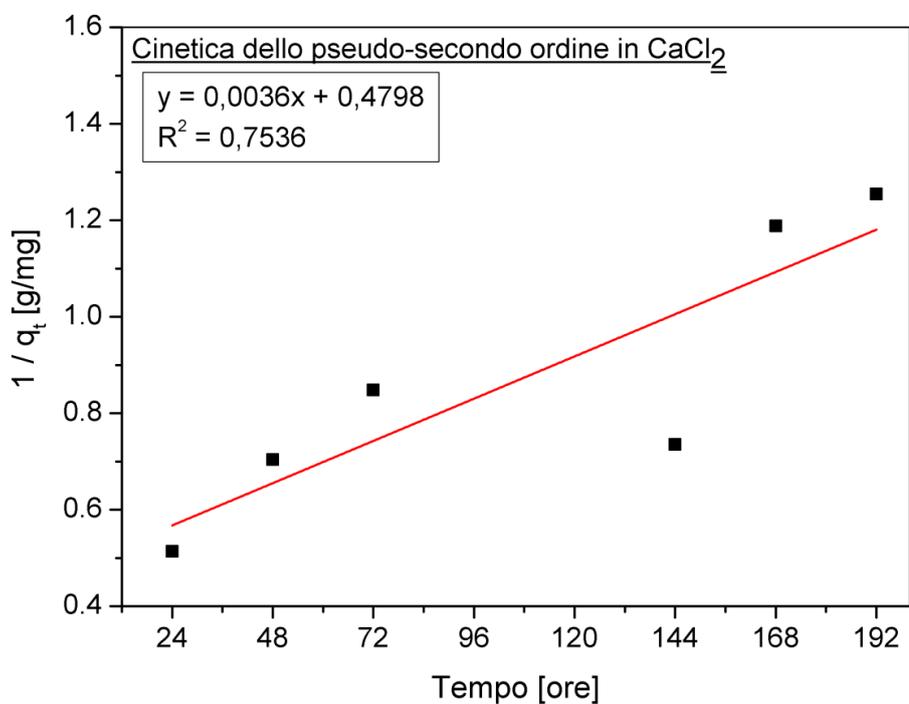
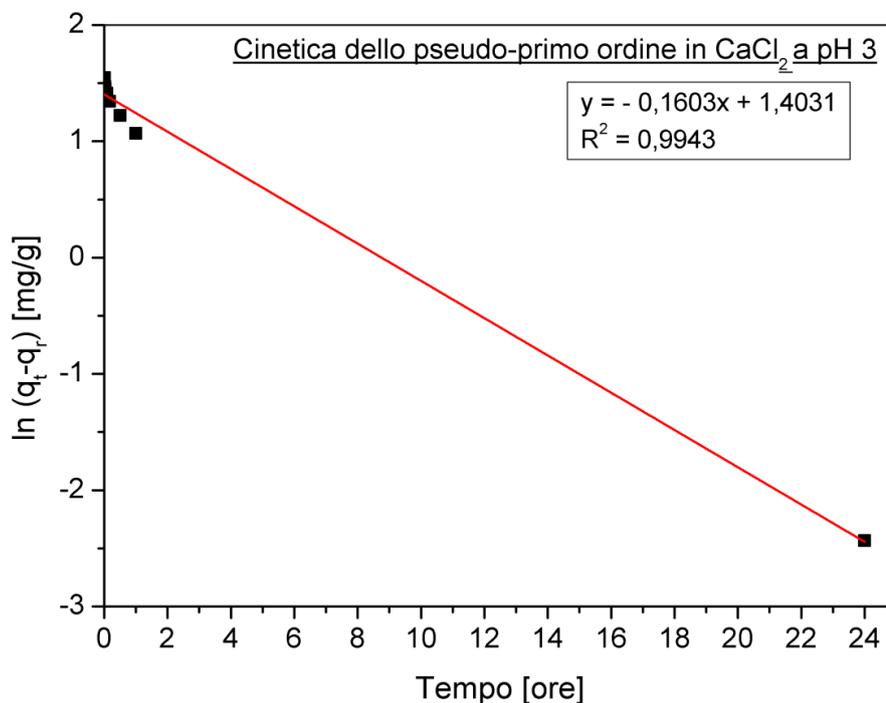


Figura 8.17 Cinetica di pseudo-secondo ordine, da 24 ore a 7 giorni, in  $\text{CaCl}_2$ .

Infine, il rilascio eseguito in  $\text{CaCl}_2$  a pH 3 ha fornito risultati adeguatamente approssimabili ad una cinetica dello pseudo-primo ordine, per tempi fino alle 24 ore (figura 8.18).



**Figura 8.18** Cinetica di pseudo-primo ordine in  $\text{CaCl}_2$  a pH 3.

**Tabella 8.6** Costanti cinetiche e coefficienti di determinazione inerenti le cinetiche diagrammate.

Tipo di cinetica	$K_{d1}$	$K_{d2}$	$R^2$
Pseudo-primo ordine acqua	3,63	/	0,97
Pseudo-primo ordine tampone acido	0,12	/	0,97
Pseudo-secondo ordine tampone acido	/	0,048	0,99
Pseudo-secondo ordine 1 ora $\text{CaCl}_2$	/	0,072	0,88
Pseudo-secondo ordine 24 ore / 7giorni $\text{CaCl}_2$	/	0,004	0,76
Pseudo-primo ordine $\text{CaCl}_2$ pH 3	0,16	/	0,99

Osservando i risultati riportati in tabella 8.6, si nota come la costante cinetica relativa al rilascio in acqua risulti maggiore rispetto alle altre; coerentemente con quanto affermato in precedenza, ciò indica che la MMT-Al ha rilasciato il glifosato in ambiente neutro molto più velocemente di quanto abbia fatto in uno qualsiasi degli altri liquidi esaminati.

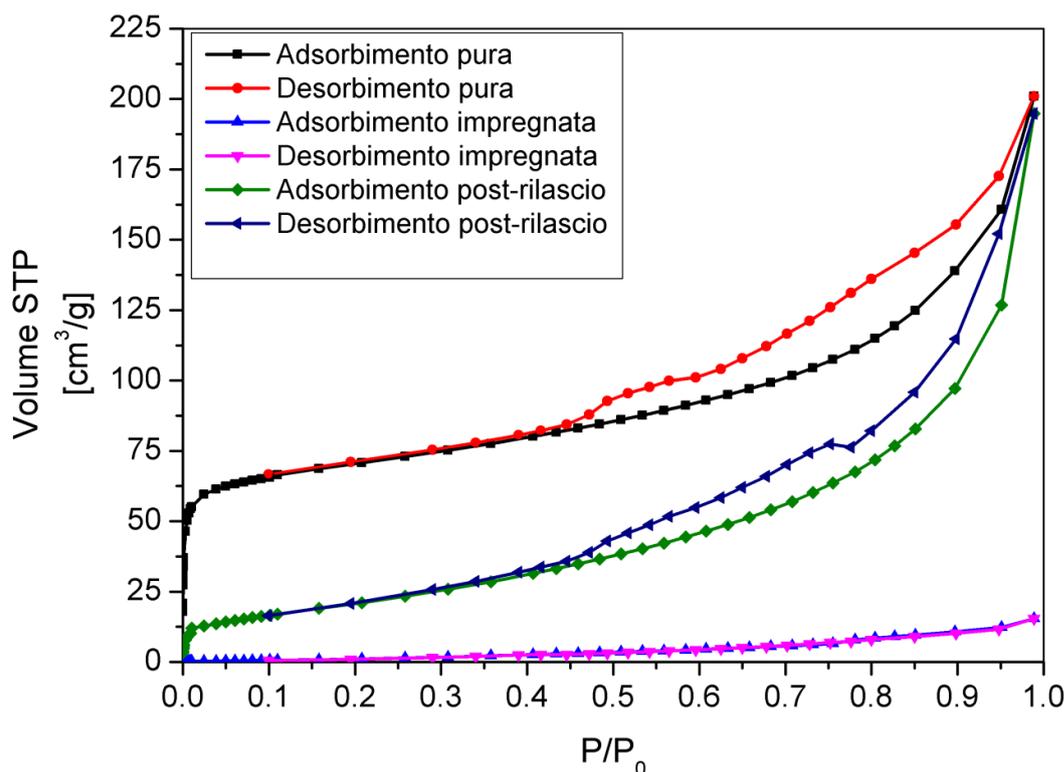
I valori delle costanti cinetiche riferite alle prove in tampone ed in  $\text{CaCl}_2$  sono comparabili con i valori riportati non soltanto nell'articolo di riferimento, ma pure in altri studi disponibili

in letteratura. Sono stati investigati, per esempio, sia il processo di adsorbimento dell'antibiotico trimetoprim da parte della montmorillonite pontata con alluminio [96], sia l'adsorbimento del glifosato all'interno di materiali nanocompositi a base di ossido di grafene [97]: in entrambi i casi le cinetiche di pseudo-primo ordine e di pseudo-secondo ordine si sono dimostrate le più adatte a descrivere i meccanismi analizzati.

## 9. Caratterizzazione della MMT-Al post-rilascio

Dal momento che la montmorillonite pontata con alluminio è stata la matrice che ha mostrato più di tutte una tendenza al rilascio controllato, soltanto per quest'ultima è stata effettuata la caratterizzazione dopo rilascio in acqua ultrapura.

### 9.1 Misure di adsorbimento di azoto (BET)



**Figura 9.1** Isotherme di adsorbimento di azoto della MMT-Al post-rilascio in acqua, impregnata e tal quale.

Dall'osservazione delle isoterme di adsorbimento riportate in figura 9.1, si nota come la MMT-Al, a seguito del rilascio del glifosato in ambiente neutro, abbia riacquisito quasi del tutto la propria mesoporosità.

Il coppia di isteresi, non presente nella curva relativa al materiale impregnato, ricompare nell'isoterma dell'argilla post-rilascio, anche se non possiede esattamente la stessa forma di quello mostrato dalla curva della matrice tal quale.

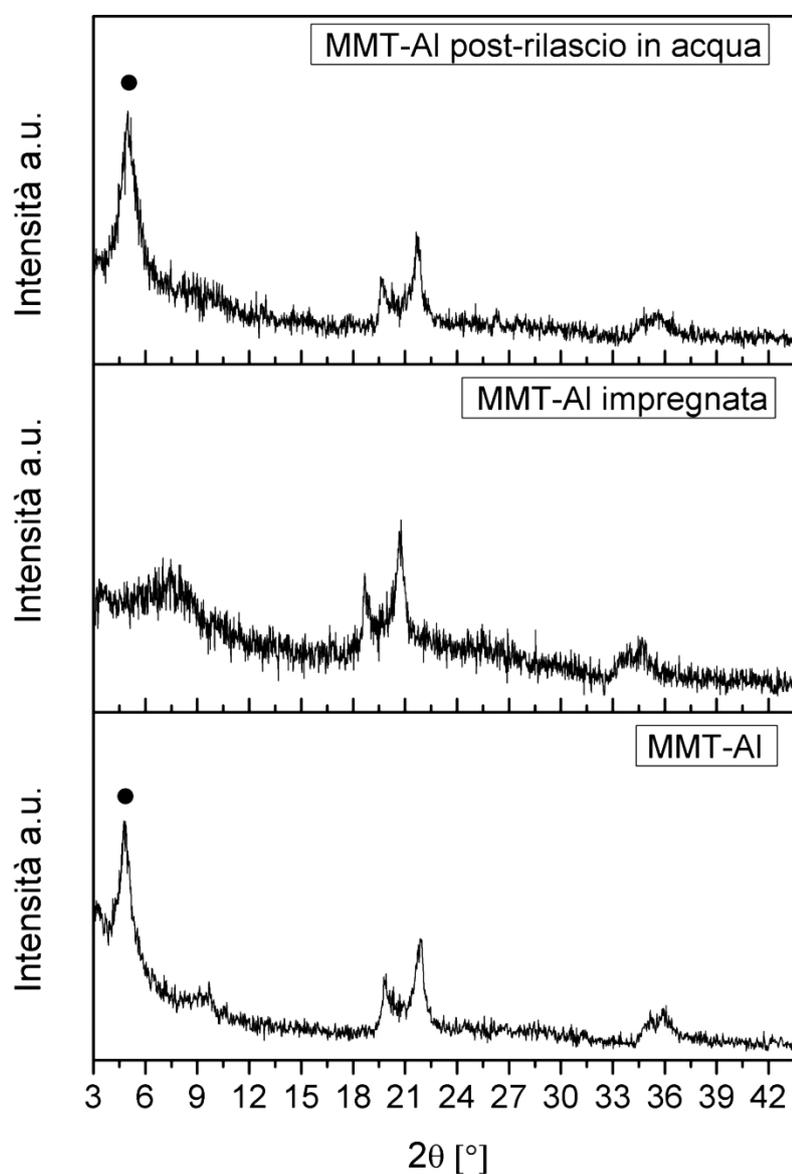
Inoltre, i valori del volume di azoto adsorbito raggiunti a seguito del desorbimento dell'erbicida risultano inferiori rispetto a quelli relativi al materiale pre-impregnazione; ciò porta a supporre che una certa quantità di acqua sia rimasta intrappolata all'interno dei micropori della MMT-Al.

Quanto affermato è coerente con i dati riportati nella tabella 9.1, inerenti l'area specifica ed il volume occupato dai pori dell'argilla nei tre casi esaminati.

**Tabella 9.1** Volume occupato dai pori e area specifica della MMT-Al tal quale, impregnata e post-rilascio.

Campione	Area superficiale specifica [m <sup>2</sup> /g] (Multipoint BET)	Volume dei pori [cm <sup>3</sup> /g] (metodo NLDFT)
MMT-Al	250	0,257
MMT-Al impregnata	6	0,017
MMT-Al post-rilascio	72	0,224

## 9.2 Diffrazione a raggi X

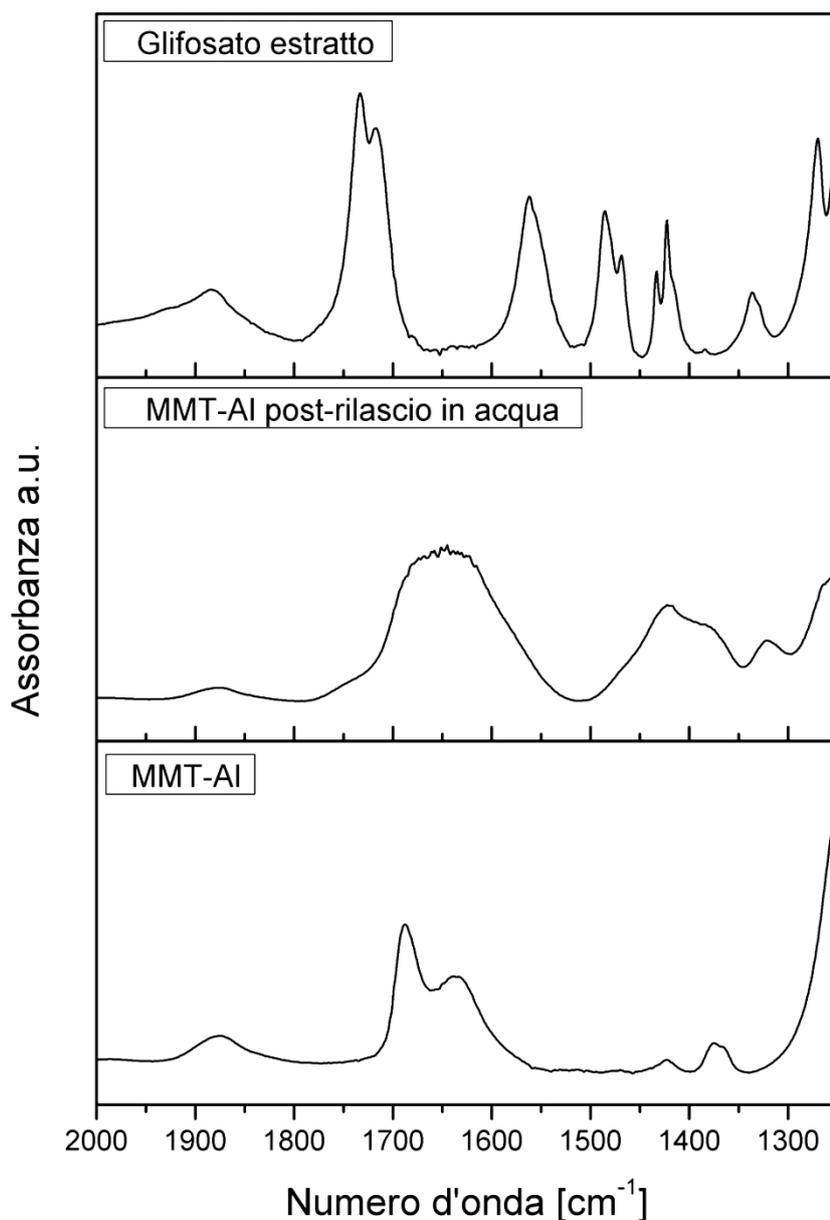


**Figura 9.2** Spettro di diffrazione a raggi X della MMT-Al post-rilascio, impregnata e tal quale.

I diffrattogrammi riprodotti in figura 9.2 mostrano come la montmorillonite pontata con alluminio, dopo aver rilasciato il glifosato in ambiente neutro, abbia riacquisito la propria tipica struttura tetraedro-ottaedro-tetraedro. Il riflesso basale corrispondente al piano (001), infatti, scomparso dal pattern della matrice impregnata, ricompare nello spettro del supporto post-rilascio; in questo specifico caso, il picco compare all'angolo  $2\theta$  di  $4,74^\circ$ , analogamente a quanto succede per la MMT-Al pura.

Nel diffrattogramma non si osservano picchi estranei alla montmorillonite in esame e si può concludere, pertanto, che il glifosato sia stato completamente rilasciato dalla matrice.

### 9.3 Spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier



**Figura 9.3** Spettro FT-IR del glifosato estratto e della MMT-Al post-rilascio e tal quale.

Gli spettri FT-IR relativi alla MMT-Al post-rilascio e tal quale, riportati in figura 9.3, presentano bande di assorbimento in corrispondenza degli stessi numeri d'onda.

I picchi caratteristici del glifosato non sono rintracciabili nello spettro della montmorillonite post-rilascio, indice di una completa fuoriuscita dell'erbicida dai pori della matrice.

Durante il desorbimento del pesticida in acqua, tuttavia, l'argilla ha subito una forte idratazione: il relativo spettro, infatti, mostra un'ampia banda di assorbimento per numeri d'onda compresi tra 1750 e 1550  $\text{cm}^{-1}$ , banda associata al bending delle molecole di acqua rimaste intrappolate all'interno dei micropori del supporto.

## 10. Conclusioni e sviluppi futuri

Tramite la ricerca condotta in questo lavoro di tesi è stato mostrato come sia possibile supportare il glifosato su quattro diversi carrier capaci di rilasciarlo in differenti ambienti acquosi.

La procedura di estrazione del glifosato acido puro a partire da una formulazione commerciale ha permesso di ottenere un principio attivo dotato di elevata purezza (96% circa), seppur con una resa percentuale in peso non altrettanto soddisfacente.

L'analisi cromatografica dei rilasci del glifosato ha confermato la Incipient Wetness Impregnation come la tecnica più adatta per inserire l'erbicida all'interno dei supporti scelti: il materiale ottenuto è risultato essere costituito dal 40% in massa di glifosato, proprio come desiderato in fase di impregnazione.

Tramite la caratterizzazione dei supporti pre e post-impregnazione, si è osservato che il principio attivo è stato inserito in forma non cristallina all'interno dei quattro supporti utilizzati.

Tra i supporti testati, la MMT-Al si è rivelata essere quella dotata di una maggiore capacità di trattenimento. Tale argilla, infatti, ha rilasciato soltanto il 75% di glifosato contenuto al suo interno dopo cinque giorni passati in acqua, mentre ne ha rilasciato il 94% dopo tre giorni in tampone ossalato; la silice SBA-15, la  $\gamma$ -allumina e la MMT-K10, al contrario, hanno rilasciato circa il 100% del glifosato già entro 24 ore dall'inizio delle prove, in entrambi gli ambienti.

Inoltre, mentre queste tre matrici non hanno mostrato cinetiche di desorbimento significativamente diversi in acqua e in tampone, per la MMT-Al si è osservato un differente comportamento a seconda dell'ambiente di rilascio: per tempi compresi entro i primi 60 minuti, le concentrazioni di glifosato in ossalato di sodio sono risultate inferiori rispetto a quelle in acqua.

La montmorillonite pontata ha mostrato in soluzione salina di  $\text{CaCl}_2$  una capacità di trattenimento comparabile a quella riscontrata in tampone.

Tale argilla, dunque, si è rivelata essere il supporto più promettente ai fini di questo studio, adatta per un eventuale vero e proprio rilascio controllato di glifosato.

Le cinetiche di desorbimento di pseudo-primo ordine e di pseudo-secondo ordine utilizzate per interpretare i dati sperimentali ottenuti hanno fornito risultati comparabili con quelli reperibili in letteratura.

La possibilità di effettuare un rilascio controllato del glifosato in suolo conduce ad un aumento dell'efficacia del pesticida stesso, con relativa riduzione della quantità necessaria ai singoli trattamenti.

La maggior efficacia del principio attivo, inoltre, fa sì che possano essere mantenute buone rese in termini di eliminazione delle piante infestanti pur utilizzando un erbicida privato dei tensioattivi. Questi ultimi, di norma, vengono aggiunti alle formulazioni commerciali allo scopo di migliorare la distribuzione del pesticida negli organismi target, ma spesso si rivelano essere più tossici del principio attivo stesso: la limitazione della loro presenza all'interno dei prodotti a base di glifosato è dunque altamente desiderabile.

I risultati ottenuti in questo studio rappresentano un buon punto di partenza per ulteriori indagini volte all'approfondimento e all'ottimizzazione delle proprietà della MMT-Al oppure

volte alla ricerca di materiali che mostrino le sue stesse capacità. Sarebbe possibile, per esempio, funzionalizzare la silice SBA-15 con gruppi  $-NH_2$  o  $-COOH$  al fine di valutare le cinetiche di desorbimento di tale supporto in queste nuove condizioni. Potrebbe, inoltre, rivelarsi utile impregnare le matrici secondo proporzioni diverse da quelle qui impiegate, in modo da determinare con maggiore esattezza la massima quantità di glifosato che può essere inserita nei supporti senza che il principio attivo assuma un aspetto cristallino.

## Bibliografia e sitografia

- [1] ISPRA, 2018, Rapporto nazionale pesticidi nelle acque, dati 2015-2016.
- [2] IARC. Disponibile su:  
<http://www.iarc.fr/en/media-centre/iarcnews/2016/glyphosate-IARC2016.php>
- [3] EFSA, 2015, Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment on the active substance glyphosate, *EFSA Journal*, **13**(11):4302.
- [4] Rivoira L., Appendini M. et al., 2016, Functionalized iron oxide/SBA-15 sorbent: investigation on adsorption performance towards glyphosate herbicide, *Environmental Science and Pollution Research*, **23**, 21682-21691.
- [5] Zheng T., Sun Y. Et al., 2016, Study on preparation of microwave absorbing MnO<sub>x</sub>/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> adsorbent and degradation of adsorbed glyphosate in MW-UV system, *Chemical Engineering Journal*, **298**, 68-74.
- [6] Khoury G.A., Gehris T.C. et al., 2010, Glyphosate adsorption on montmorillonite: An experimental and theoretical study of surface complexes, *Applied Clay Science*, **50**, 167-175.
- [7] Liu C., Yin H. et al., 2012, Size-controlled preparation of hollow silica spheres and glyphosate release, *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, **22**, 1161-1168.
- [8] Wang A., Edwards B.J., 2016, Modeling controlled release from hollow porous nanospheres, *International Journal of Heat and Mass Transfer*, **103**, 997-1007.
- [9] Commissione delle Comunità Europee, luglio 2002, Verso una strategia tematica per l'uso sostenibile dei pesticidi, Bruxelles.
- [10] Marrs Timothy C., Ballantyne Bryan, 2004, *Pesticide Toxicology and International Regulation*, ed. John Wiley & Sons, England.
- [11] Green Report. Disponibile su:  
<http://www.greenreport.it/news/agricoltura/pesticidi-italia-130mila-le-tonnellate-fitosanitari-messe-commercio-un-anno>
- [12] Regione Piemonte, marzo 2015, Guida all'uso corretto dei prodotti fitosanitari, supplemento al n.87 dei Quaderni della Regione Piemonte-Agricoltura.
- [13] Herbicide Resistance Action Committee. Disponibile su:  
<http://www.hracglobal.com/pages/classificationofherbicidesiteofaction.aspx>
- [14] Institut National de la santé et de la recherche médicale (INSERM), 2013, *Pesticides-Effets sur la santé*, Paris.
- [15] Gangemi S., Miozzi E., Teodoro M. et al., 2016, Occupational exposure to pesticides as a possible risk factor for the development of chronic disease in humans (Review), *Molecular Medicine Reports*, **14**, 4475-4488.

- [16] Legambiente, gennaio 2017, Stop pesticidi-Analisi dei residui di pesticidi negli alimenti e buone pratiche agricole, Roma.
- [17] Ministero della Salute, Direzione Generale per l'Igiene e la Sicurezza degli Alimenti e la Nutrizione, 2016, Controllo ufficiale sui residui di prodotti fitosanitari negli alimenti.
- [18] Gill J.P.K., Sethi N., Mohan A. et al., 2018, Glyphosate toxicity for animals, *Environmental Chemistry Letters*, **16**, 401-426.
- [19] Covarelli G., 1995, Principi di controllo della flora infestante, ed. Edagricole, Bologna.
- [20] EU Pesticides database. Disponibile su:  
<https://www.certifico.com/ambiente/legislazione-ambiente/286-legislazione-pesticidi>
- [21] Peabody O'Brien K., Franjevic S., Jones J., settembre 2009, Green Chemistry and Sustainable Agriculture: The Role of Biopesticides, *Advancing Green Chemistry*.
- [22] Mohanraj VJ., Chen Y., giugno 2006, Nanoparticles - A Review, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **5** (1), 561-573.
- [23] Flores Céspedes F., Pérez Garcia S., Villafranca Sanchez M., 2013, Bentonite and anthracite in alginate-based controlled release formulations to reduce leaching of chloridazon and metribuzin in a calcareous soil, *Chemosphere*, **92**, 918-924.
- [24] Dash S., Murthy P.N., Nath L., Chowdhury P., 2010, Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems, *Acta Poloniae Pharmaceutica-Dug Research*, **67**(3), 217-223.
- [25] Paradelo M., Soto-Gomez D., Perez-Rodriguez P. et al., 2014, Predicting release and transport of pesticides from a granular formulation during unsaturated diffusion in porous media, *Journal of Contaminant Hydrology*, **158**, 14-22.
- [26] Huang X., Zheng X., Xu Z., Yi C., 2017, ZnO-based nanocarriers for drug delivery application: from passive to smart strategies, *International Journal of Pharmaceutics*, **534**, 190-194.
- [27] Fernandez-Perez M., Villafranca-Sanchez M. et al., 2011, Ethylcellulose and lignin as bearer polymers in controlled release formulations of chloridazon, *Carbohydrate Polymers*, **83**, 1672-1679.
- [28] Arean C.O., Vesga M.J., Parra J.B., Delgado M.R., 2013, Effect of amine and carboxyl functionalization of sub-micrometric MCM-41 spheres on controlled release of cisplatin, *Ceramics International*, **39**, 7407-7414.
- [29] Manzano M., Aina V., Vallet-Regi M. et al., 2008, Studies on MCM-41 mesoporous silica for drug delivery: Effect on particle morphology and amine functionalization, *Chemical Engineering Journal*, **137**, 30-37.
- [30] Zhang H., Kim Y., Dutta P.K., 2006, Controlled release of paraquat from surface-modified zeolite Y, *Microporous and Mesoporous Materials*, **88**, 12-318.

- [31] Chen H., Huang G., Zhou H. et al., 2018, Highly efficient triazolone/metal ion/polydopamine/MCM-41 sustained release system with pH sensitivity for pesticide delivery, *Royal Society Open Science*, **5**: 180658.
- [32] Alemzadeh I., Vossoughi M., 2002, Controlled release of paraquat from poly vinyl alcohol hydrogel, *Chemical Engineering and Processing*, **41**, 707-710.
- [33] Grillo R., Pereira A.E.S., Nishisaka C.S. Et al., 2014, Chitosan/tripolyphosphate nanoparticles loaded with paraquat herbicide: an environmentally safer alternative for weed control, *Journal of Hazardous Materials*, **278**, 163-171.
- [34] Evy A.A.M., Melvin S.S., Ramalingam C., 2016, Application of rice husk nanosorbents containing 2,4-dichlorophenoxyacetic acid herbicide to control weeds and reduce leaching from soil, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, **63**, 318-326.
- [35] Bakhtiary S., Shirvani M., Shariatmadari H., 2013, Adsorption-desorption behavior of 2,4-D on NCP-modified bentonite and zeolite: implications for slow-release herbicide formulations, *Chemosphere*, **90**, 699-755.
- [36] Roundup. Disponibile su:  
<http://www.roundup.it/ilglifosate.php>
- [37] Dill G.M., Sammons R.D. et al., 2010, *Glyphosate: Discovery, Development, Applications and Properties*, ed. John Wiley & Sons, Inc.
- [38] Benbrook C.M., 2016, Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally, *Environmental Sciences Europe*, 28:3.
- [39] Glyphosate Facts. Disponibile su:  
<http://www.glyphosate.eu/glyphosate-basics/what-glyphosate>
- [40] Greenpeace, luglio 2011, *Resistenza agli erbicidi e colture OGM. I problemi legati al glifosato*. Disponibile su:  
<http://www.greenpeace.org/international/Global/international/publications/agriculture/2011/363%20-%20GlyphoReportDEF-LR.pdf>
- [41] 2012, *Electronic Supplementary Material (ESI) for Green Chemistry*, The Royal Society of Chemistry.
- [42] Jinping T., Han S. et al., 2012, Coupling mass balance analysis and multi-criteria ranking to assess the commercial synthetic alternatives: a case study of glyphosate, *Green Chemistry*, **14**, 1990-2000.
- [43] Yamaguchi N.U., Bergamasco R. et al., 2016, Magnetic MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>-graphene hybrid composite for efficient removal of glyphosate from water, *Chemical Engineering Journal*, **295**, 391-402.
- [44] Borggaard O.K., Gimsing A.L., 2008, Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: a review, *Pest Management Science*, **64**, 441-456.

- [45] Damonte M., Torres Sanchez R.M. Et al., 2007, Some aspects of the glyphosate adsorption on montmorillonite and its calcined form, *Applied Clay Science*, **36**, 86-94.
- [46] Duke S.O., Powles S.B., 2008, Glyphosate: a once-in-a-century herbicide (mini-review), *Pest Management Science*, **64**, 319-325.
- [47] Campagna G., Geminiani E., 2014, Come ottimizzare l'efficacia del glifosate sulle malerbe, *L'informatore agrario*, **14**, 50-54.
- [48] Ma J., Yang M. et al., 2014, Fabrication of Ag/TiO<sub>2</sub> nanotube array with enhanced photocatalytic degradation of aqueous organic pollutant, *Physica E*, **58**, 24-29.
- [49] Xu X., Ji F. et al., 2011, Degradation of glyphosate in soil photocatalyzed by Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub> under solar light, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **8**, 1258-1270.
- [50] Bianco P.M., Jacomini C., 2016, Effetti del Glifosate sulla qualità ambientale e sugli organismi viventi, technical report of PI® PURE SRL.
- [51] Bach N.C., Marino D.J.C. et al., 2018, Effects of glyphosate and its commercial formulations, Roundup® Ultramax, on liver histology of tadpoles of the neotropical frog, *Leptodactylus latrans* (amphibia: Anura), *Chemosphere*, **202**, 289-297.
- [52] EPA. Disponibile su:  
<http://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/types-pesticide-ingredients>
- [53] Ecoscienza, 2016, *Glifosate, limiti d'uso verso l'alternativa*, n.6.
- [54] Buffin D., Jewell T., 2011, Health and environmental impacts of glyphosate, Pesticide Action Network UK. Disponibile su:  
[http://www.foe.co.uk/sites/default/files/downloads/impacts\\_glyphosate.pdf](http://www.foe.co.uk/sites/default/files/downloads/impacts_glyphosate.pdf)
- [55] Gazzetta ufficiale dell'Unione europea, L 333/10, 12 dicembre 2017.
- [56] Mukherjee A., Sadiq M. et al., 2011, Antimicrobial activity of aluminum oxide nanoparticles for potential clinical application, *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*, A. Mendez-Vilas (Ed.).
- [57] Smovzh D.V., Kalyuzhnyi N.A. et al., 2013, Synthesis of hollow nanoparticles  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, *Advances in Nanoparticles*, **2**, 120-124.
- [58] Saniger J.M., 1995, Al-O infrared vibrational frequencies of  $\gamma$ -alumina, *Materials Letters*, **22**, 109-113.
- [59] Soled S. et al., 1983,  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> viewed as a defect oxyhydroxide, *Journal of Catalysis*, **81**, 252-257.
- [60] Avinash Chunduri L.A., Rattan T.M. et al., 2014, Single step preparation of nano size gamma alumina exhibiting enhanced fluoride adsorption, *Material Express*, **4**, 3.

- [61] Santos P.S; Santos H.S. et al., 2000, Standard transition aluminas. Electron microscopy studies, *Materials Research Express*, **3**(4), 104-114.
- [62] Phung T.K., Herrera C. et al., 2014, Surface and catalytic properties of some  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> powders, *Applied Catalysis A: General*, **483**, 41-51.
- [63] Ambaryan G.N., Vlaskin M.S. et al., 2018, Advanced manufacturing process of ultrahigh-purity  $\alpha$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, *Sustainable Materials and Technologies*, **17**.
- [64] Munhoz A.H.J., Figueiredo de Miranda L. et al., 2014, Study of gamma alumina synthesis-Analysis of the specific surface area, *Advances in Science and Technology*, **87**, 54-60.
- [65] Gubal V., Krug H.F. et al., 2018, Engineered nanomaterials and human health: Part 1. Preparation, functionalization and characterization (IUPAC technical report), *Pure and Applied Chemistry*, **90**(8).
- [66] Mondjinou Y.A., 2009, Investigation on montmorillonite clay-mediated reactions of aldehydes, College of Liberal Arts & Social Sciences Theses and Dissertations, 6.
- [67] Hongyan X., Aihong G. et al., 2009, Preparation and characterization of Al-pillared montmorillonites, *International Conference on Environmental Science and Information Application Technology*.
- [68] Meurig Thomas J., giugno 1992, Catalizzatori acidi solidi, *Le Scienze*, 286.
- [69] Wang G., Zhang S. et al., 2016, Synthesis of porous Al pillared montmorillonite after pre-intercalation with dodecylamine: textural and thermal properties, *Journal of Porous Materials*, **23**, 1687-1694.
- [70] Gao Y., Sun H. et al., 2014, A facile in situ pillaring method-the synthesis of Al-pillared montmorillonite, *Applied Clay Science*, **88-89**, 228-232.
- [71] Fetter G., Heredia G. et al., 1997, Synthesis of aluminum-pillared montmorillonites using highly concentrated clay suspensions, *Applied catalysis A: General*, **162**, 41-45.
- [72] Bilgiç C., Karakehya N., 2017, Preparation and characterization of pillared clays, *CEST-15<sup>th</sup> International Conference on Environmental Science and Technology*, Rhodes, Greece.
- [73] Yanagisawa T., Shimizu T. et al., 1990, The preparation of alkyltriethylammonium-kaneinite complexes and their conversion to microporous materials, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, **63**, 988-992.
- [74] Nohrasyimi R., Ahmad Z.A. et al., 2010, A review: Mesoporous Santa Barbara Amorphous-15, types, synthesis and its applications towards biorefinery production, *American Journal of Applied Sciences*, **7**(12), 1579-1586.
- [75] Zhao D. et al., 1998, Triblock copolymer syntheses of mesoporous silica with periodic 50 to 300 angstrom pores, *Science*, **279**(5350), 548-552.

- [76] Barczak M., Pikus S., 2009, Synthesis, structure and adsorption properties of nanoporous SBA-15 materials with framework and surface functionalities, *Adsorption*, **15**, 278-286.
- [77] Huirache-Acuna R., Nava R. et al., 2013, SBA-15 mesoporous silica as catalytic support for hydrodesulfurization catalysts-review, *Materials*, **6**, 4139-4167.
- [78] Azimov F., Markova I. et al., 2012, Synthesis and characterization of SBA-15 and Ti-SBA-15 nanoporous materials for DME catalysts, *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, **47**(3), 333-340.
- [79] Galarneau A., Brunel D. et al., 2002, SBA-15 versus MCM-41: are they the same materials?, *Studies in Surface Science and Catalysis*, **141**.
- [80] Izquierdo-Barba I., Sánchez-Salcedo S. et al., 2010, Synthesis and characterization of zwitterionic SBA-15 nanostructured materials, *Chemistry of Materials*, **22**, 6459-6466.
- [81] Mul G., Moulijn J.A., 2005, *Supported Metals in Catalysis*, Imperial College Press, p. 1-32.
- [82] Sing K., 2001, The use of nitrogen adsorption for the characterization of porous materials, *A: Psychochemical and Engineering Aspects*, **187-188**, 3-9.
- [83] Brunauer S., Emmett P.H., Teller E., 1938, Adsorption of gases in multimolecular layers, *Journal of the American Chemical Society*, **60** (2), 309-319.
- [84] Authier A., 1996, Dynamical Theory of X-Ray Diffraction-I. Perfect Crystals, *X-Ray and Neutron Dynamical Diffraction*, Springer, 1-31.
- [85] Speakman S. A., *Basics of X-ray powder diffraction*, Massachusetts Institute of Technology. Disponibile su: <http://prism.mit.edu/xray>
- [86] Doyle W.M., Principles and applications of Fourier transform infrared (FTIR) process analysis, Technical Note AN-906 Rev C, Hellma Axiom, Inc.
- [87] Huggett J.M., Shaw H.F., 1997, Field emission electron scanning microscopy- a high resolution technique for the study of clay minerals in sediments, *Clay Minerals*, **32**, 197-203.
- [88] Kolb M., Seubert A. et al., 2001, *Cromatografia ionica applicata. Una introduzione*, Monografia Metrohm, versione 14.
- [89] SeQuant, 2007, *A practical guide to ion chromatography*, Sweden.
- [90] CHROMacademy, The theory of HPLC-introduction to ion chromatography. Disponibile su: [www.chromacademy.com](http://www.chromacademy.com)
- [91] Benitez-Guerrero M., Perez-Maqueda L. et al., 2014, Characterization of thermally stable alumina fibres biomimicking sisal, *Microporous and Mesoporous Materials*, **185**, 167-178.

[92] Harun F.W., Almadani E.A. et al., 2016, Metal cation exchanged montmorillonite K10 (MMT K10): surface properties and catalytic activity, *Journal of Scientific Research and Development*, **3**, 90-96.

[93] Caldarola D., Mitev D.P. et al., 2014, Functionalization of mesoporous silica gel with 2-[phosphonomethyl)-amino]acetic acid functional groups. Characterization and application, *Applied Surface Science*, **288**, 373-380.

[94] ChemService. Disponibile su:  
<http://www.chemservice.com/product-certificate-analysis>

[95] Bai B., Wu Y. Et al., 2009, Adsorption and desorption kinetics and equilibrium of calcium lignosulfonate on dolomite porous media, *The Journal of Physical Chemistry C*, **113**, 13772-13779.

[96] Bekçi Molu Z., Yurdakoç K., 2010, Preparation and characterization of aluminum pillared K10 and KSF for adsorption of trimethoprim, *Microporous and Mesoporous Materials*, **127**, 50-60.

[97] Yang Q., Wang J. et al., 2017, Interface engineering of metal organic framework on graphene oxide with enhanced adsorption capacity for organophosphorus pesticide, *Chemical Engineering Journal*, **313**, 19-26.