

UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE



FACOLTÀ DI INGEGNERIA

Dipartimento di Scienze e Ingegneria della Materia dell'Ambiente e Urbanistica

Corso di Laurea in Ingegneria Civile e Ambientale

“Applicazione di nuovi materiali adsorbenti (MIPs) per la rimozione dei contaminanti emergenti nelle acque reflue ai fini del riuso”

“Application of new adsorbent materials (MIPs) for the removal of emerging contaminants in wastewater for reuse”

Relatore:

Prof.ssa Ing. Anna Laura Eusebi

Laureando:

Fouad Ramadan

Correlatori:

Prof. Ing. Francesco Fatone

Dott. Marco Parlapiano

Anno Accademico 2019/2020

Sommario

1. Introduzione	3
1.1 Riutilizzo delle acque reflue	4
1.2 Composti emergenti	5
1.3 FIT4REUSE Project.....	9
1.4 Materiali Adsorbenti ad Alta Affinità Chimica (MIPs)	11
1.4.1 Stato dell'arte	11
1.4.2 Sintesi.....	13
1.4.3 Tipologie di Polimerizzazione	20
1.4.4 Caratteristiche dei polimeri.....	25
1.4.5 Applicazioni dei polimeri.....	25
2. Materiali e Metodi.....	32
2.1 Reagenti	32
2.2 Strumentazione	32
2.3 Procedura di sintesi dei polimeri MIP e NIP	33
2.5 Macinatura e setacciatura.....	34
2.6 Test in batch.....	34
2.7 Dimensionamento della Colonna in scala Pilota.....	34
3. Risultati	37
3.1 Curva di adsorbimento del polimero.....	37
3.3 Risultati a scala pilota	41
4. Conclusioni	44
Riferimenti Bibliografici.....	45

1. Introduzione

Negli ultimi anni, nelle acque di approvvigionamento e nei reflui trattati sono stati rilevati nuove tipologie di composti provenienti da diverse fonti di inquinamento ambientale: antibiotici ad uso umano e animale, farmaci di prescrizione e generici, sottoprodotti delle acque reflue industriali e civili, ormoni sessuali e steroidei (Metcalf & Eddy, 2006). Caratteristica comune di tali inquinanti è la loro presenza nelle acque in concentrazioni molto basse, dell'ordine dei ng/L, al massimo qualche µg/L, e pertanto sono chiamati anche microinquinanti. Tali composti hanno proprietà chimico-fisiche tali da indurre effetti nocivi a lungo termine sugli organismi, in particolare quelli acquatici. Documentate, infatti, sono soprattutto le implicazioni ambientali (Pomati et al., 2006), ma alla luce delle conoscenze attuali non si possono escludere neppure effetti avversi per l'uomo derivanti dall'esposizione cronica, come ad esempio l'aumento di allergie o la selezione di ceppi batterici antibioticoresistenti (Kümmerer, 2009a). Tali inquinanti prendono anche il nome di contaminanti emergenti, poiché molti sono ancora non normati (Bolong et al., 2009). Limitare l'impiego di tali sostanze al fine di ridurre la loro presenza nell'ambiente è ragionevole ed economico, ma nel caso di alcuni prodotti, e soprattutto nel caso dei farmaci, questo è difficilmente attuabile. Pertanto, gli impianti di depurazione hanno un ruolo fondamentale nel controllo dei contaminanti emergenti, i quali sono presenti nelle acque fognarie dirette agli impianti di trattamento delle acque reflue, come risultato dell'utilizzo di prodotti quotidianamente impiegati per la cura e l'igiene personale e di farmaci che vengono rilasciati dopo azione metabolica dell'organismo attraverso le urine e le feci. Tuttavia, gli impianti di trattamento ad oggi presenti non sono progettati per rimuovere sostanze tanto complesse, così diverse tra loro e a concentrazioni tanto basse, e così, molte di queste sostanze non sono degradate e rimosse in misura completa e permangono, quindi, anche nelle acque reflue trattate, riversandosi e accumulandosi nell'ambiente. Da qui nasce la necessità di migliorare le unità di trattamento già esistenti negli impianti o implementare gli stessi con nuove tecnologie (Larsen et al., 2004).

Tra i trattamenti avanzati studiati per la rimozione dei contaminanti emergenti dalle acque reflue, rientrano i processi di ossidazione avanzata (AOPs), di adsorbimento e su membrane. Tra gli AOPs ad oggi studiati, il processo di ozonizzazione è stato sperimentato anche a scala reale ottenendo risultati soddisfacenti per un'ampia gamma di composti emergenti, tranne che per i mezzi di contrasto (Hollender et al., 2009; Reungoat et al., 2010). Il problema correlato a questo processo e ad altri AOPs è la formazione di sottoprodotti di degradazione, che non è detto siano meno tossici

dei composti di partenza (Rizzo et al., 2009a; Klamerth et al., 2010). A differenza degli AOPs, i processi di adsorbimento, attraverso l'utilizzo di materiali ad elevata superficie di contatto, come carboni attivi, non comporta la formazione di sottoprodotti, essendo un processo fisico, attua semplicemente la rimozione degli inquinanti, tramite trasferimento dalla soluzione acquosa all'adsorbente, ed inoltre, se confrontato con il trattamento su membrane, risulta essere caratterizzato da costi abbastanza contenuti.

Con l'obiettivo di superare i limiti degli impianti di trattamento delle acque reflue convenzionali, si propone l'utilizzo di polimeri a impronta molecolare (MIPs) come validi strumenti per l'adsorbimento selettivo e la rimozione di questi farmaci dall'acqua. In particolare, in questo lavoro di tesi, abbiamo preparato un polimero ad impronta molecolare (MIP) selettivo per il diclofenac (farmaco anti infiammatorio non steroideo) mediante processo di polimerizzazione. Dopo la caratterizzazione dei polimeri sintetizzati, le capacità di legame sono state valutate in dettaglio attraverso l'adsorbimento di diclofenac in soluzione acquosa, a differenti concentrazioni e confrontate con le capacità di un corrispondente polimero non stampato utilizzato come riferimento (non imprinted polymer – NIP). Attraverso gli studi di adsorbimento, il MIP ha dimostrato di avere una maggiore capacità di adsorbimento per unità di polimero impiegato rispetto al NIP, di almento 1.99 dimostrando che la sintesi ha contribuito all'aumento di efficienza e selettività nell'assorbimento del diclofenac. Inoltre, la riutilizzabilità MIP è stata dimostrata dopo una semplice fase di rigenerazione. I punti di forza di questo lavoro sono sicuramente la sintesi a basso costo del MIP e le sue prestazioni ottimali di riconoscimento molecolare in acqua, diversamente da molti dei MIP tradizionali utilizzati con solventi organici. Tali peculiarità rendono il materiale potenzialmente applicabile per il trattamento su larga scala delle acque, riutilizzabili poi per l'agricoltura.

1.1 Riutilizzo delle acque reflue

Il 60% della popolazione mondiale vive in aree in cui il fabbisogno idrico non può essere soddisfatto con le scorte disponibili. La regione mediterranea è caratterizzata da una disponibilità limitata e irregolare di risorse idriche sia nel tempo che nello spazio. Eventi di cambiamento climatico e siccità, in un contesto in cui il consumo di acqua in alcuni luoghi supera già l'esaurimento delle risorse idriche rinnovabili, renderà la regione ancora più vulnerabile nel

prossimo futuro. L'agricoltura è ancora il maggior utilizzatore di acqua nel bacino del Mediterraneo, rappresentando oltre l'80% del consumo totale, le acque reflue municipali sono una risorsa molto preziosa e dovrebbero essere valorizzate per uso irriguo. Lo sfruttamento di queste risorse idriche in modo sicuro e sostenibile, in un contesto di economia circolare e sostenibilità ambientale, potrebbe portare benefici significativi per l'intera regione mediterranea. Tuttavia, gli alti costi di trattamento, i possibili effetti negativi sulla salute umana e sull'ambiente, e la scarsa accettazione da parte del pubblico possono ostacolare e limitare l'uso sicuro delle acque reflue trattate.

1.2 Composti emergenti

Le sostanze organiche, che difficilmente possono essere rimosse tramite gli impianti di trattamento convenzionali, vengono immesse nelle acque pregiudicando la qualità delle acque superficiali, nonché quella delle riserve di acqua potabile dei laghi e delle acque sotterranee ubicate in prossimità dei fiumi. I fenoli, i solventi clorurati non biodegradabili, i pesticidi e i tensioattivi sono alcuni dei composti da sempre riconosciuti come difficilmente degradabili. Recentemente, è stata presa in considerazione una nuova classe di contaminanti, presente nelle acque in concentrazioni variabili da qualche ng/L a pochi µg/L (Hartig et al., 1999; Kasprzyk-Hordern et al., 2007, 2009), che, anche a così basse concentrazioni, possono causare disfunzioni sul sistema endocrino, soprattutto agli organismi e alla fauna acquatica (Lintelmann et al., 2003). Tali inquinanti prendono il nome di contaminanti emergenti. Per alcuni di questi contaminanti sono stati proposti limiti alle concentrazioni ma molti risultano ancora non normati (Barceló, 2003; Bertanza et al., 2009; Bolong et al., 2009).

Rientrano nella famiglia dei contaminanti emergenti i farmaci, i composti chimici presenti nei prodotti per la cura e l'igiene personale (PPCPs – pharmaceuticals and personal care products) e, in particolare, i composti che disturbano l'attività endocrina degli organismi (EDCs – endocrine disrupting compounds). Spesso alcuni PPCPs ricadono nella classe degli EDCs, rendendo difficile una distinzione netta tra le due categorie. Gli EDCs sono sostanze esogene o miscele di esse in grado di alterare il sistema endocrino, causando, di conseguenza, effetti dannosi alla salute di organismi sani, della loro progenie oppure a sottopopolazioni. Alla categoria degli interferenti endocrini appartengono gli alchilfenoli etossilati, i fenoli, gli ormoni naturali e sintetici, il bisfenolo A, i pesticidi, i PCDB (Le diossine e i bifenili policlorurati) e i PCDD (policlorodibenzo-

p-diossine), gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA), gli ftalati e i composti organostannici (Esplugas et al., 2007; Bertanza et al., 2009). Nella Tabella 1, è riportato un elenco di alcune sostanze chimiche classificate come EDCs

Tabella 1: Elenco di alcuni EDCs suddivisi per classi di composto.

Classe	Composto	Utilizzo/origine
Ftalati	Butilbenzilftalato, Di-(2-etilexil)ftalato, Di-n-butilftalato	Sono presenti in detersivi, resine ed alcuni additivi utilizzati nella produzione delle plastiche
Pesticidi	DDT, DDE, atrazina, carbofurano, deltamethrin	Utilizzati in agricoltura. Ricadono in questa classe gli insetticidi, gli erbicidi e i fungicidi.
Alchilfenoli (surfattanti)	Nonilfenolo, nonilfenolo etossilato, ottilfenolo, ottilfenoli etossilati	Sono tensioattivi utilizzati come detersivi (anche domestici), emulsionanti (per l'industria tessile, per i pesticidi ed erbicidi), solubilizzanti. Impiegati nell'industria della carta e dei metalli, tessile e conciaria.
Diossine, furani	Dibenzo-p-diossina, 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-diossina	Possono essere prodotti durante la combustione di composti aromatici clorurati, carta e nella produzione di PVC.
Bifenili	Bisfenolo A	È utilizzato nella produzione di polimeri e ritardanti di fiamma.
Parabeni	Metil, etil, propil e butilparabene	Composti utilizzati come conservanti in cosmetici e prodotti per l'igiene personale.
IPA	Fluorene, fluorentene, antracene, pirene e naftalene	Composti generati durante la combustione incompleta di carbone, oli e legno
Ritardanti di fiamma bromurati	Esabromociclododecano, tetrabromobisfenolo A	Composti utilizzati in molti prodotti, tra cui mobili, attrezzature elettroniche.
Fitoestrogeni	Genisteina e daidzeina, enterodiolo, enterolattone	Sostanze naturali trovate in molte piante (e.g. cereali, frutta, verdura)
Ormoni naturali	Estrone, 17 β -estradiolo	Estrogeni immesse nell'ambiente tramite urina umana e animale
Metalli pesanti	Cadmio, mercurio e piombo	Industria metallurgica e di estrazione

I PPCPs includono sostanze farmaceutiche, integratori alimentari, prodotti di cosmesi e altri composti presenti nei prodotti per l'igiene personale, così come i rispettivi metaboliti e i prodotti di trasformazione (Daughton e Ternes, 1999). Questi composti sono introdotti continuamente nell'ambiente con concentrazioni molto basse, tali comunque da inficiare la qualità delle acque

(Kolpin et al., 2002). Tipiche sorgenti di contaminazione da PPCPs sono gli effluenti degli impianti di depurazione, gli ospedali e i rifiuti in uscita dagli allevamenti di animali. Gli effluenti degli impianti di depurazione contengono una grande quantità di PPCPs poiché non vengono completamente rimossi dalle unità di trattamento convenzionali e quindi vengono rilasciati nei corpi idrici ricettori (Ternes et al., 1998; Carballa et al., 2004). Pertanto, è necessario trattare in modo adeguato gli effluenti degli impianti di depurazione, in modo da evitare lo sversamento dei contaminanti nelle acque superficiali. Fra i vari contaminanti emergenti che possono ritrovarsi nell'ambiente vi sono anche farmaci quali: analgesici ed antinfiammatori, antibiotici, antiepilettici, i β -bloccanti, i contraccettivi orali (Daughton e Ternes, 1999; Heberer, 2002). Nella Tabella 2 precedente sono riportati alcuni composti ricadenti nella famiglia dei PPCPs, dove è stato indicato la classe e l'origine di ciascun composto.

Tabella (2): Elenco di alcuni PPCPs suddivisi per classi di composti.

Classe	Composto	Utilizzo/origine
Analgesici - Antinfiammatori non steroidei	Diclofenac, ibuprofene, ketoprofene, naprossene, paracetamolo	Gli antinfiammatori non steroidei sono i farmaci maggiormente utilizzati oggi. Essi hanno effetti analgesici, antipiretici e antinfiammatori
Antibiotici	Sulfonamidi, fluorochinoloni, eritromicina, tilosina, trimetoprim	Sono utilizzate contro le infezioni batteriche sia negli uomini che negli animali
Antiepilettici	Carbamazepina	Gli antiepilettici sono normalmente utilizzati in medicina per bloccare, prevenire o controllare le crisi (e.g. convulsioni)
Antipertensivi	Metoprolol, propranolol	Sono utilizzati per ridurre la pressione del sangue nelle arterie.
Antisettici	Triclosan	Gli antisettici sono sostanze chimiche che bloccano la crescita dei germi sulla superficie esterna del corpo e, quindi, prevengono le infezioni. Essi sono
Contraccettivi	7 α -etinilestradiolo	diversi dagli antibiotici che distruggono i microrganismi all'interno del corpo e dai disinfettanti che, invece, distruggono i microrganismi sugli oggetti. Inibiscono la fertilità agendo sul sistema ormonale
Ansiolitici	Diazepam	Sono utilizzati per ridurre l'ansia, il nervosismo e la tensione
Mezzi di contrasto	Iopamidolo, iopromide, iomeprolo	Sono composti utilizzati per migliorare la visibilità di una parte del corpo in un'immagine a raggi X

Nel corso degli ultimi anni, i PPCPs e gli EDCs sono stati frequentemente rilevati nelle acque superficiali e reflue, in concentrazioni variabili da qualche ng/L a pochi $\mu\text{g/L}$ (Hartig et al., 1999; Kasprzyk Hordern et al., 2007, 2009).

Le acque superficiali possono essere contaminate da sostanze farmaceutiche e/o non biodegradabili, in conseguenza del loro deflusso dal terreno verso i fiumi; tuttavia, il principale percorso di contaminazione nell'ambiente è legato agli effluenti degli impianti di depurazione dei reflui civili, dal momento che i farmaceutici sono normalmente escreti dall'uomo e che i prodotti per la cura e l'igiene personale sono immessi nelle acque di scarico civili a seguito delle normali attività domestiche. Se poi si considera che tali inquinanti, i loro metaboliti e i prodotti di trasformazione sono difficilmente rimossi tramite i convenzionali processi di trattamento degli

impianti di depurazione, essi possono facilmente entrare nell'ambiente acquatico ed eventualmente raggiungere le acque potabili.

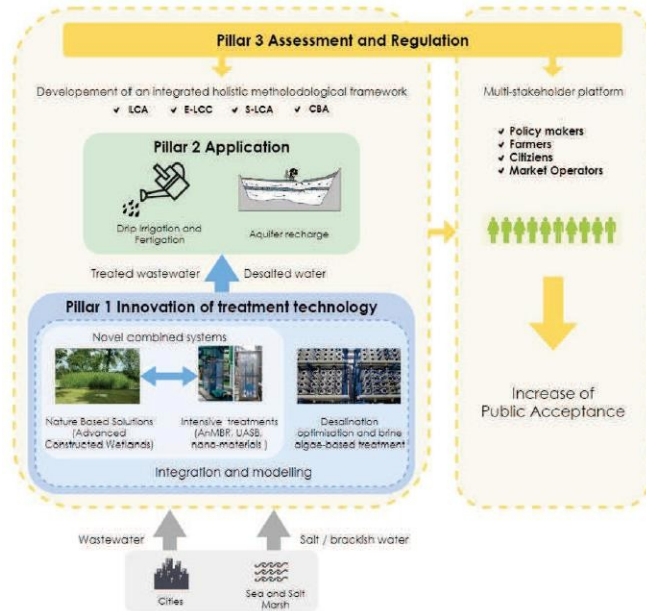
1.3 FIT4REUSE Project

Le acque reflue trattate possono contribuire a compensare il divario tra l'acqua disponibile e quella necessaria e fornire una riserva idrica regolare durante tutto l'anno. In questo contesto è stato finanziato il progetto FIT4REUSE (<https://fit4reuse.org/>), parte del programma PRIMA, che contribuirà ad affrontare queste sfide fornendo soluzioni sostenibili, anche ai fini di un riuso sicuro dell'acqua reflua trattata e adatte agli scenari locali.

L'obiettivo principale di FIT4REUSE è fornire modalità di approvvigionamento idrico sicure, sostenibili a livello locale e adatte al settore agricolo mediterraneo sfruttando risorse idriche non convenzionali, tra cui le acque reflue trattate.

Il concetto generale e la logica di FIT4REUSE sono identificati con i tre pilastri principali del progetto:

- i) innovazione delle tecnologie di trattamento,
- ii) applicazione di risorse idriche non convenzionali in ambiente simulato / rilevante e
- iii) valutazione e regolamentazione, seguito dall'impegno di partner di ricerca, governativi e industriali di diverse parti della regione mediterranea.



Il progetto prevede lo sviluppo di tecnologie innovative, sostenibili e a basso costo per il trattamento delle acque reflue urbane per il riutilizzo agricolo.

La principale tecnologia anaerobica applicata sarà il reattore upflow anaerobic sludge blanket (UASB). Tuttavia, la sua combinazione con il bioreattore a membrana anaerobica (AnMBR) sarà anche testata per aumentare l'efficienza di rimozione e raggiungere gli standard per il riutilizzo sicuro in agricoltura. Inoltre, diversi integrati e post-trattamento (Grecia) e paesi del Mediterraneo meridionale (Tunisia) considerando l'esistente tecnico regionale, economico saranno valutati i metodi. Sarà esaminata l'integrazione di reattori anaerobici con polimeri a impronta molecolare (MIP), oggetto della presente tesi, e ferro nano Zero Valance (nZVI) al fine di offrire un nuovo modo per la rimozione aggiuntiva di metalli, dei contaminanti emergenti (CEC's) e dei patogeni. FIT4REUSE mirerà a ridurre il consumo di energia e l'impronta di carbonio delle tecnologie anaerobiche e uno dei metodi applicati sarà recupero di biogas, una risorsa importante che può essere utilizzata per diversi obiettivi.

In particolare, per il trattamento delle acque reflue urbane, la combinazione di reattori anaerobici (AnMBR e UASB), nanotecnologie (MIP e ZVI), substrati di adsorbimento e NBS (CW avanzati) saranno per la prima volta sviluppati, implementati e testati, su piccola scala pilota, permettendo:

- i) una migliore rimozione di farmaci e agenti patogeni,
- ii) il mantenimento o il recupero di nutrienti a seconda dell'uso

iii) la riduzione dei costi di trattamento, carbonio e impronta energetica.

Nello specifico, il pacchetto di lavoro (WP3) prevede lo studio di trattamenti intensivi, che saranno progettati, realizzati e testati e per la rimozione dei macroinquinanti (BOD, COD, TSS, patogeni, N, P). Il reattore UASB dovrà essere combinato con la tecnologia a membrana (Anaerobic Membrane Bioreactor), con diversi metodi di pretrattamento per la rimozione di TSS e COD e con o senza disinfezione aggiuntiva. I polimeri a impronta molecolare (MIP) saranno sintetizzati mediante polimerizzazione utilizzando diclofenac come stampo e gruppi di tiourea e assemblati in colonne di adsorbimento. La colonna verrà posizionata a valle dei reattori anaerobici ai fini della rimozione del composto target: DICLOFENAC.

Lo schema di flusso è rappresentato nella Figura 1 di seguito.

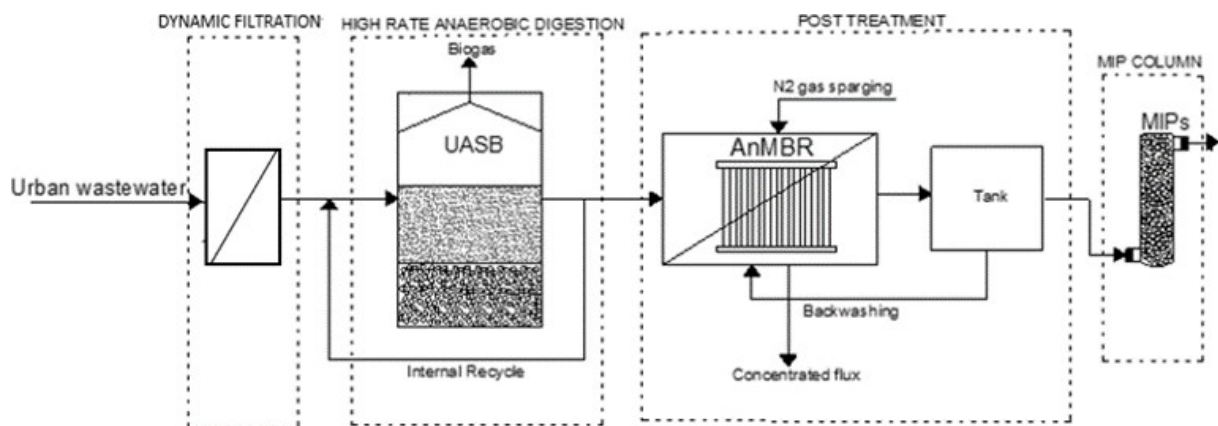


Figura 1: schema di flusso

1.4 Materiali Adsorbenti ad Alta Affinità Chimica (MIPs)

1.4.1 Stato dell'arte

Le tecniche bioanalitiche utilizzate comunemente impiegano anticorpi, enzimi e recettori per il riconoscimento di molecole presenti anche in piccole concentrazioni all'interno di matrici complesse. L'uso di queste sostanze va però incontro a diversi problemi.

Tra questi si possono notare:

- Le molecole risultano poco stabili
- La densità dei siti di legame disponibili è molto bassa

- È molto difficile rigenerare l'affinità una volta ottenuto il riconoscimento molecolare
- È difficile produrre una specificità verso determinati analiti o impedire l'accesso ai siti di legame ad altre sostanze.

Da qui nasce l'idea di produrre, attraverso la sintesi di polimeri, a basso peso molecolare in grado di riconoscere selettivamente una molecola specifica (molecola target). I primi studi sui meccanismi di stampo molecolare furono compiuti da Dickey, Wulff, Shea, Mosbach e altri a partire dai primi anni '70. L'intuizione di Dickey fu quella di produrre un materiale con una struttura solida in grado di essere sintetizzato in presenza di un determinato composto o molecola target, la quale, una volta rimossa, fosse in grado di rilegare selettivamente la stessa molecola utilizzata come stampo. A tale scopo venne utilizzato il metilarancio, come molecola target nella sintesi di nuovi composti a base di una soluzione di silicati acidificati in presenza di un colorante il metilarancio (methylorange). Dopo aver lasciato asciugare il gel e aver eluito con lo stesso colorante verificarono che il riconoscimento era più del doppio di quello ottenuto con un altro colorante simile (ethylorange) utilizzato come riferimento. (Borje Sellergren, 1997). Nel 1977 Wulff e i suoi collaboratori misero a punto la prima tecnica per lo stampo molecolare covalente: produssero un complesso covalente fra il monomero p-vinylbenzeneboronic e lo zucchero acido 4-nitrophenyl- α -mannopyranoside in rapporto 2:1, da usare come molecola stampo o molecola template. Dopo la polimerizzazione il polimero venne rotto e l'acido 4-nitrophenyl- α -mannopyranoside rimosso. Il polimero risultante era in grado di legare selettivamente lo zucchero già precedentemente utilizzato come molecola template. Nel 1981 Mosbach e i suoi collaboratori dimostrarono che il legame covalente, tra gruppo funzionale presente nei monomeri e la molecola template, non era strettamente necessario nel processo di sintesi del polimero, ma che era sufficiente l'istaurarsi di interazioni non covalenti fra il monomero e la molecola template. In questo modo, mescolando i reagenti nella miscela di reazione, si venivano a formare spontaneamente delle interazioni non-covalenti. La polimerizzazione avveniva lo stesso con risultati soddisfacenti, più velocemente e in modo più semplice.

I polimeri a stampo molecolare (MIPs) sono resine sintetiche altamente ramificate che presentano al loro interno siti selettivi per il riconoscimento molecolare. Vengono sintetizzati in modo abbastanza semplice lasciando polimerizzare i monomeri funzionali in presenza di una molecola che agisce da stampo.

Una volta rimosso il templante i siti vengono lasciati liberi e sono in grado di legare le molecole bersaglio, composti con struttura uguale o molto simile a quella usata come stampo. Il comportamento di questi polimeri è simile a quello degli anticorpi, per questo sono anche definiti “anticorpi sintetici”.

Grazie alla loro selettività possono essere impiegati sia come biosensori, sia come adsorbenti nelle tecniche di estrazione in Fase Solida (SPE).

I polimeri a stampo molecolare presentano siti di legame incorporati in una matrice solida in grado di resistere in condizioni ambientali anche molto difficili (temperature e pressioni elevate, soluzioni non acquose e pH estremi)

Possono essere rigenerati e riutilizzati senza diminuire le proprie capacità anche dopo un uso prolungato. Un altro importante vantaggio è la possibilità di analizzare un carico maggiore di campione grazie all’elevata densità dei siti di legame, di alcuni ordini di grandezza superiore a quella degli anticorpi usati come immuno-adsorbenti. La possibilità di ottenere un maggior recupero di analiti, di abbassare i limiti di rilevamento, l’elevata stabilità, la maggiore selettività, la possibilità di lavorare con solventi organici e il basso costo di produzione, rendono questo approccio molto promettente rispetto agli attuali protocolli per SPE. (Sellergren, 1997)

1.4.2 Sintesi

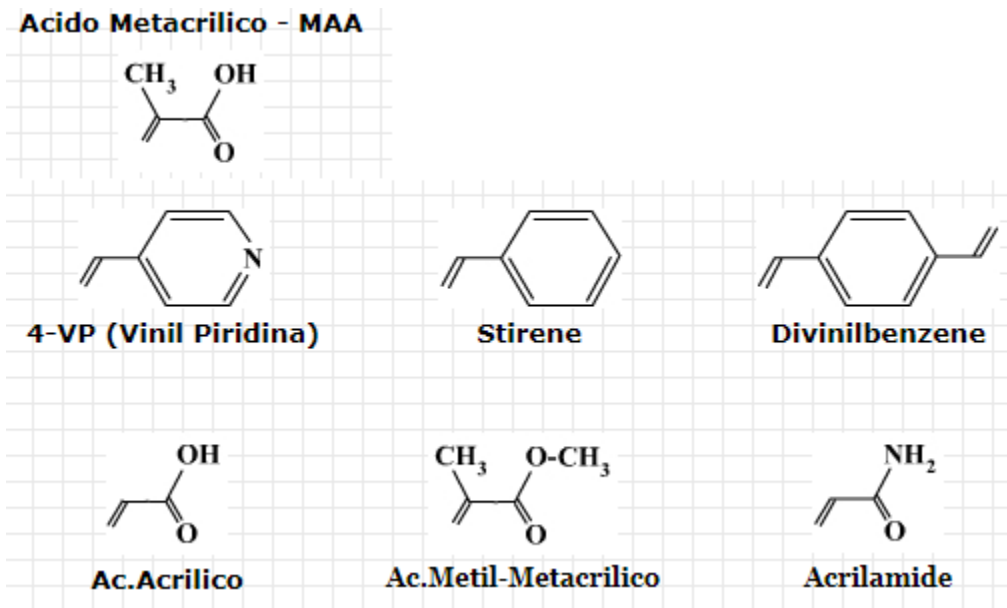
La tecnologia a impronta molecolare (Molecular Imprinting Technology) è una tecnica di polimerizzazione radicalica la cui peculiarità risiede nel realizzare siti o cavità ad elevata selettività o affinità per una o più classi di molecole di varia tipologia e struttura chimica; le matrici polimeriche ottenute chiamate “Molecularly Imprinted Polymers” (MIPs), sono materiali con elevate proprietà selettive, le quali possono essere impiegate in svariate applicazioni, come nella separazione di molecole da matrici più o meno complesse come fluidi biologici o soluzioni acquose ambientali. (Mosbach, K. ; Ramström, O. 1996.)

Il processo di sintesi polimerica delle MIPs avviene principalmente per mezzo dell’utilizzo di alcuni reagenti fondamentali:

- La molecola template o molecola target: la molecola target non solo crea le cavità ma è anche la molecola bersaglio ovvero la stessa molecola che si vuole rimuovere selettivamente dalla matrice reale.
- Il monomero: durante la sintesi dei polimeri a stampo molecolare, i monomeri funzionali hanno il compito di legare in modo reversibile la molecola template. Nello stampo covalente vengono spesso utilizzati esteri e ammidi dell'acido acrilico o dell'acido metacrilico per formare legami covalenti con il template. Nello stampo non covalente possono essere impiegati monomeri vinilici con opportuni gruppi funzionali. I monomeri funzionali vengono scelti per interagire con la molecola stampo poiché la formazione di un complesso stampo-monomero stabile è fondamentale. I monomeri sono posizionati spazialmente attorno alla molecola template e la loro posizione, fissata attraverso la polimerizzazione, porta alla formazione delle cavità selettive attraverso le quali la molecola target viene riconosciuta e legata.

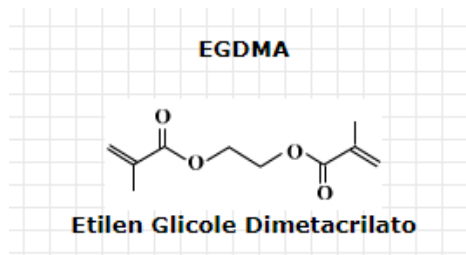
Tra gli altri principali monomeri funzionali, figura 2, impiegati nelle sintesi dei MIPs troviamo:

Figura 2: manomeri utilizzati nelle sintesi dei MIPs



- il cross-linker o agente legante: per lo stampo molecolare in presenza di solventi organici spesso vengono usati etilene glicol dimetacrilato (EGDMA), che è stato riportato anche la sua formula chimica (Figura 3), e il divinilbenzene. Il loro ruolo è quello di fissare saldamente i siti di legame nella struttura desiderata, rendere il polimero stampato insolubile nel solvente, facilitando le loro applicazioni pratiche. Per uno stampo efficiente, la reattività del crosslinker deve essere simile a quella dei monomeri funzionali, usando un crosslinker appropriato la copolimerizzazione casuale può avvenire con successo e i residui funzionali, derivati dai monomeri funzionali, saranno distribuiti uniformemente nella rete formata dal polimero. Anche il rapporto crosslinker/monomero funzionale è importante. Se è troppo piccolo i siti di legame saranno distribuiti troppo vicini tra loro e interferiranno gli uni con gli altri, inibendo addirittura il legame con i vicini siti di legame. D'altra parte, un rapporto troppo elevato danneggia anch'esso l'efficienza dello stampo, soprattutto se i crosslinker mostrano delle interazioni non covalenti con i monomeri funzionali o con il template.

Figura 3: formula chimica del EGDMA

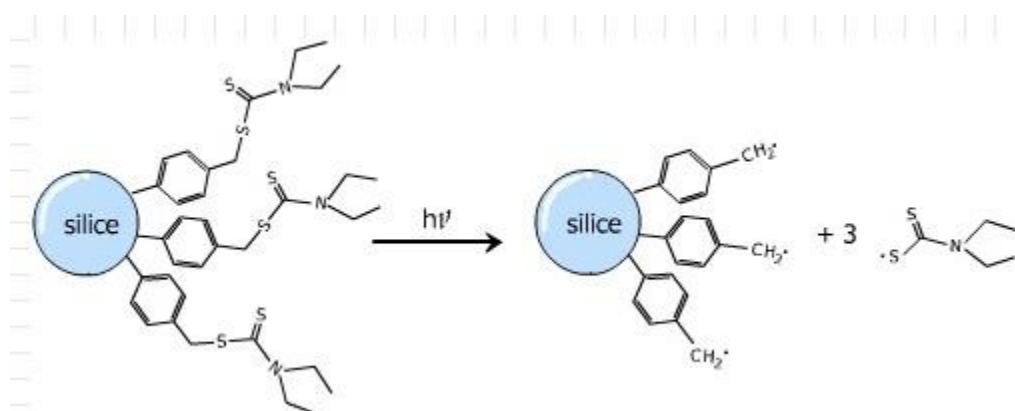


l'iniziatore radicalico: è la fonte di radicali liberi necessaria per avviare la polimerizzazione delle molecole presenti nella miscela di reazione. E' attivo durante l'intera reazione di polimerizzazione. Il 2,2'-azobis-isobutironitrile (AIBN) può essere attivato grazie a fotolisi (mediante lampada UV) o termolisi. Permette la polimerizzazione del metil metacrilato a polimetil-metacrilato, una molecola lineare, solubile in un solvente compatibile termodinamicamente come toluene o THF.

L'iniferter (Sodio dietilditiocarbammato triidrato) è un iniziatore radicalico fotosensibile, attivato mediante UV, utilizzato nella sintesi mediante grafting su beads.

Le particelle di silice o di divinilbenzene e clorometilstirene, vengono ricoperte con l'iniziatore che, una volta attivato con luce UV, forma radicali liberi in grado di promuovere la formazione di un film di polimero sulla sua superficie, come riporta la figura 4.

Figura 4: attivazione dell'Iniferter su beads di silice mediante luce UV



- il solvente di reazione: il ruolo del solvente non è solo quello di permettere la soluzione delle diverse componenti della miscela di reazione, in modo che la polimerizzazione avvenga con successo. Durante la fase di polimerizzazione le molecole di solvente vengono incorporate all'interno del polimero per essere poi rimosse nella fase di lavaggio. Lo spazio originariamente occupato dal solvente contribuisce alla formazione dei pori all'interno della resina così da fornire al polimero una struttura porosa aumentando la superficie di contatto del polimero. Inoltre, durante la reazione il solvente permette una omogenea distribuzione del calore nel reattore così da evitare che la temperatura nella miscela sia localmente elevata, evitando effetti indesiderati come l'inibizione della formazione del complesso templante-monomero. La scelta del solvente dipende dal tipo di molecola stampo che si vuole utilizzare e la sua solubilità insieme agli altri reagenti.

Il cloroformio è uno dei solventi più usati grazie alla sua capacità di sciogliere vari tipi di monomeri e molecole stampo, durante la procedura di produzione, il cloroformio viene stabilizzato con etanolo per evitare la formazione di fosgene o cloruro di carbonile (che a temperatura ambiente è un gas incolore estremamente tossico e aggressivo, dal tipico odore di fieno ammuffito.). Dopo aver stabilizzato il solvente con l'etanolo, il cloroformio deve essere distillato prima dell'uso perchè l'etanolo è dannoso e inibisce la formazione del legame idrogeno tra monomero e templante.

Un altro solvente molto utilizzato nelle sintesi dei polimeri e che non ha bisogno di nessun trattamento prima del suo impiego è il **Toluene**.

La sintesi di polimeri a impronta molecolare (MIPs), avviene attraverso la formazione del complesso di pre-polimerizzazione fra il monomero ed una o più molecole template; entrambi, sono selezionati in base ai gruppi funzionali in essi presenti attraverso i quali avvengano interazioni intermolecolari di vario tipo: elettrostatiche, legami idrogeno, forze di Van der Waals,

dipolo e dipolo indotto. Nella Figura 5, si riporta la procedura schematica per la sintesi delle MIPs. La polimerizzazione inizia con la dissoluzione della molecola template ed il monomero nel solvente di reazione, in un opportuno pallone di reazione. Una volta raggiunta la formazione del complesso pre-polimerico, fondamentale per il successo del riconoscimento molecolare, vengono aggiunti il cross-linker e l'iniziatore insufflando azoto gassoso per rendere inerte l'ambiente di reazione. Una volta sigillato, il reattore viene riscaldato ad una determinata temperatura il tempo necessario affinché la polimerizzazione abbia fine. Successivamente la molecola template viene rimossa attraverso una miscela di acidi e solventi organici. Il polimero ottenuto è una matrice macro porosa dotata di cavità con struttura tridimensionale le quali sono complementari in dimensione e interazione chimica a quelle della molecola target. Di conseguenza, il polimero risultante riconosce e lega selettivamente le molecole target attraverso i siti di legame opportunamente realizzati, che interagiscono tramite legami intermolecolari con la molecola target la quale può essere rimossa selettivamente dalla soluzione in cui si trova.

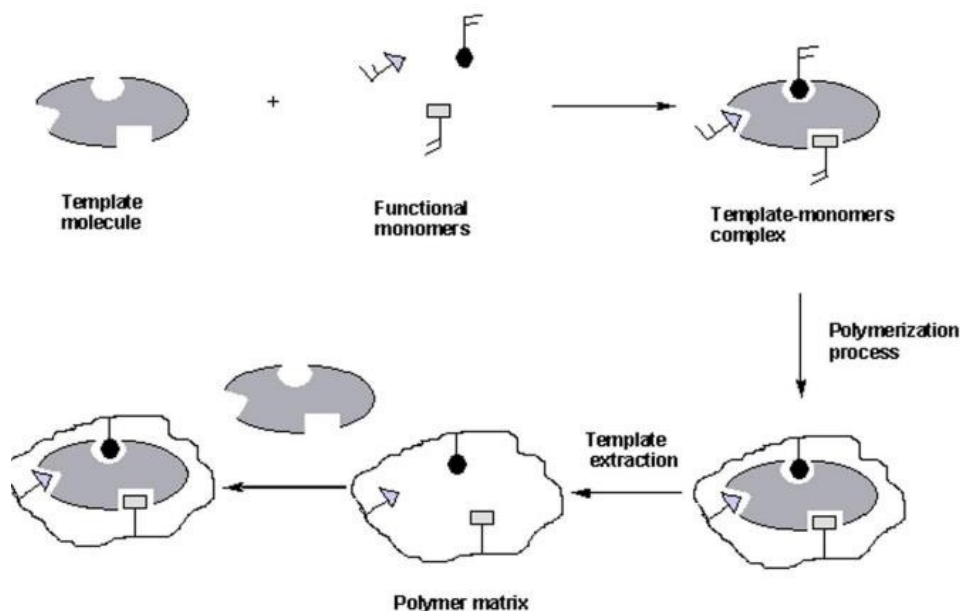


Figura 5: procedura schematica per la realizzazione dei MIPs

Buone interazioni tra monomero e molecola template rappresentano una condizione essenziale preliminare per ottenere una matrice polimerica con potenziali siti di legame selettivi. A seconda della natura delle interazioni del complesso pre-polimerico fra la molecola template ed il monomero, si distinguono due principali strategie di sintesi:

- legame non covalente (o approccio “self assembly”), simile ai sistemi di riconoscimento biologico, che utilizza forze non covalenti, come legami idrogeno, forze di Van der Waals, interazioni ioniche o idrofobiche e coordinazioni metalliche. (Arshady, R. ; Mosbach, K., 1981)

- legami covalenti (o approccio preorganizzato), che utilizza legami covalenti reversibili dando una popolazione piuttosto omogenea di siti di legame e riducendo i siti non specifici. Tuttavia, per rimuovere lo stampo dalla matrice polimerica, è necessario rompere i legami covalenti. (Wulff, G. ; Sarhan, A., 1972)

Tra questi, il self assembly è ancora l'approccio più frequentemente adottato per la preparazione dei polimeri ad impronta molecolare grazie alla semplicità di formazione e dissociazione complessa e alla flessibilità in termini di monomeri funzionali disponibili che possono interagire con quasi tutti i tipi delle molecole template. Tuttavia, questi polimeri hanno una minore affinità di legame rispetto ad i polimeri sintetizzati attraverso legami covalenti. Hwang e Lee hanno preparato polimeri ad affinità specifica per le molecole di colesterolo da utilizzare all'interno di colonne per HPLC. Attraverso la polimerizzazione bulk, hanno messo a confronto le prestazioni delle sintesi eseguite con approccio covalente e non covalente, riscontrando una migliore risoluzione dei picchi cromatografici, una maggiore capacità di adsorbimento e un'efficienza selettiva delle molecole di colesterolo pari a cinque volte superiore per il polimero con impronta covalente rispetto ai polimeri con impronta non covalente.

Vari lavori riportati in letteratura (O'Mahony et al, 2007; Hwang et al, 2002) hanno dimostrato che gli studi di pre-polimerizzazione su sistemi "self assembly" possono essere utili per la selezione di monomeri funzionali e solventi idonei per specifiche molecole template. La formazione di complessi monomero-template funzionali è stata studiata mediante approcci spettroscopici (UV-Vis (spettroscopia uv visibile) e NMR (risonanza magnetica nucleare)) e modelli teorici (Molinelli et al., 2005). Il metodo di Job, le curve di titolazione e le isoterme di legame sono attualmente utilizzati per determinare la natura delle interazioni, il numero di coordinazione del complesso monomero-stampo e la costante di associazione mediante tecniche di spettroscopia. Ad esempio, la formazione del complesso tra nitrofurantoina con 2,6-bis methaacrylamido piridina (BMP) è stata studiata mediante spettroscopia NMR rivelando un'interazione di legame idrogeno tra l'imide della nitrofurantoina con i protoni della porzione piridinica di BMP e consentendo anche il calcolo della costante di associazione.

Longo et al. nel 2006 ha valutato l'affinità di legame e la selettività di una nuova ftalocianina, come potenziale monomero verso derivati nucleosidici, utilizzando esperimenti di titolazione UV-vis. L'esperimento ha consentito il calcolo della costante di associazione K_a , determinata dall'equazione di Benesi-Hildebrand modificata, di una ftalocianina di zinco con tri-O-acetadenosina (TOAA). Il valore calcolato era $1,35 \times 10^4$ M, il che conferma il potenziale utilizzo della ftalocianina di zinco come monomero funzionale nella formazione di polimeri a impronta molecolare per i recettori nucleosidici. Successivamente, Longo et al. hanno preparato MIP selettivi aventi il centro di riconoscimento basato sulla ftalocianina come recettori per la tri-O-acetiladenosina (TOAA) o per il nucleoside di RNA (Figura 6)

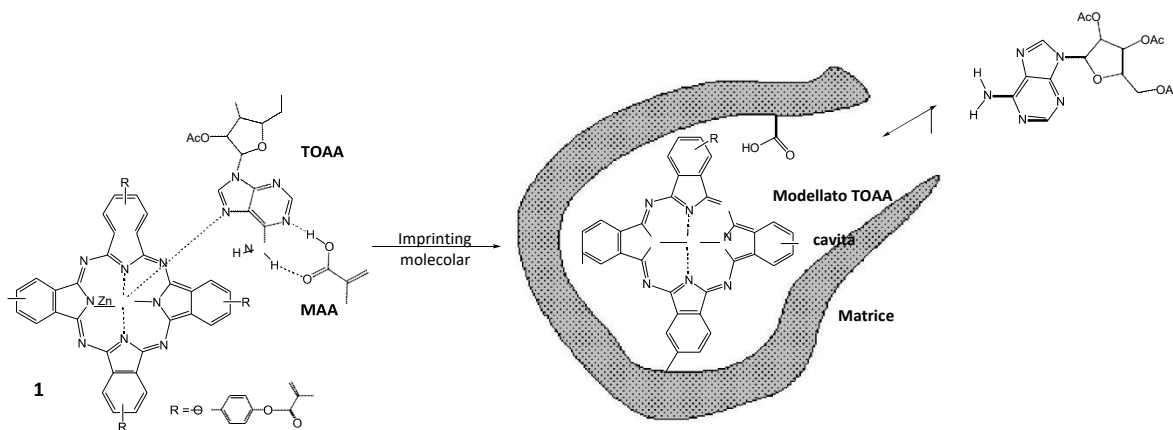


Figura 6. Rappresentazione schematica dell'imprinting molecolare della tri-O-acetadenosina (TOAA) utilizzando Zn (II) tetra (4'-metacriloilossifenossi) ftalocianina 1 e acido metacrilico.

Nel 2009 Del Sole et al. hanno riportato gli studi sulle interazioni di pre-polimerizzazione tra nicotinamide e acido metacrilico in cloroformio e acetonitrile utilizzando la spettroscopia $^1\text{H-NMR}$. I risultati di questo lavoro hanno suggerito una possibile interazione tra nicotinamide e acido metacrilico principalmente basata sulla formazione di legami idrogeno tra protoni amidici dello stampo e acido metacrilico. Inoltre, gli studi di Teoria Funzionale della Densità Computazionale (DFT) sul complesso (figura 7) e sul solvente hanno permesso una migliore comprensione delle interazioni dei legami idrogeno.

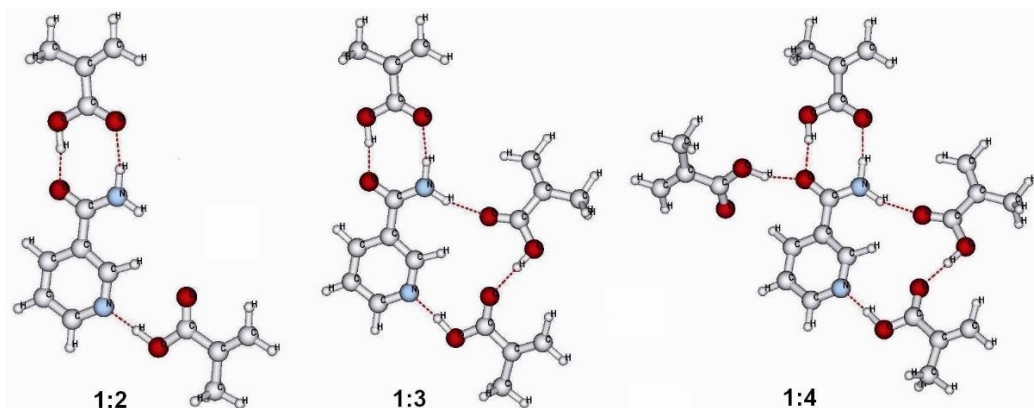


Figura 7: Le strutture complesse di pre-polimerizzazione più stabili per un rapporto di 1: 2, 1: 3 e 1: 4 tra nicotinamide e acido metacrilico

Wei et al. hanno esplorato il potenziale utilizzo delle simulazioni di Molecular Dynamics (MD) per selezionare i monomeri più adatti per il 17β -estradiolo che è stato utilizzato come modello di modello. È stata valutata la forza del legame idrogeno e i risultati concordano con i risultati precedentemente riportati sugli esperimenti di rilegatura in batch. Inoltre, studi sperimentali di

titolazione ^1H NMR hanno confermato i risultati teorici.

In lavori recenti è stato dimostrato che tutti i componenti (stampo, monomero funzionale, solvente, iniziatore, reticolante) in una miscela di prepolimerizzazione possono influenzare la complessazione dello stampo. Ad esempio, sono state eseguite simulazioni di dinamica molecolare dello stampo di bupivacaina (anestetico locale) in un tipico sistema di prepolimerizzazione e la complessazione stampo-acido metacrilico, il ruolo del cloroformio e dell'etilene dimetacrilato in presenza dell'iniziatore, sono stati valutati in combinazione con esperimenti di spettroscopia NMR ^1H , al fine di sostengono l'eterogeneità osservata nei MIP. (Karlsson, BCG; O'Mahony, J. ; Karlsson, JG; Bengtsson, H. ; Eriksson, LA; Nicholls, IA, 2009).

1.4.3 Tipologie di Polimerizzazione

I MIP possono essere preparati in una varietà di forme fisiche, usando metodi diversi (a seconda della loro applicazione finale; di seguito sono riportati i metodi principali riportati in Figura 8:

La Bulk polymerization è uno delle sintesi più utilizzate, dove il polimero viene sintetizzato con una piccola quantità di solvente così da creare un vero e proprio monolite. Il polimero viene successivamente macinato e setacciato per ottenere la frazione granulometrica desiderata a seconda dell'applicazione specifica. Questo metodo è il più popolare nonché il più semplice; tuttavia, la frantumazione del polimero e la sua setacciatura sono delle procedure di difficile riproducibilità che richiedono tempo, con l'ulteriore rischio di perdere la frazione più volatile del polimero o l'ottenimento di granulometrie indesiderate; un altro aspetto negativo della bulk polymerization, riguarda i siti di interazione selettivi i quali vengono parzialmente distrutti durante la macinazione, riducendo l'efficienza del polimero. La maggior parte delle pubblicazioni di imprinting si basano ancora sull'uso di questo metodo, sebbene lo scarso controllo della forma delle particelle e le difficoltà nel ridimensionare la produzione dei MIPs siano importanti aspetti da tenere in considerazione. Al fine di superare questi problemi, negli ultimi anni sono stati sviluppati metodi alternativi per preparare i MIPs attraverso nuove tecniche di polimerizzazione in situ (Poma, A; Turner, A. e Piletsky, S., 2010).

La tecnologia di imprinting superficiale (o Surface polymerization) è un potente strumento per realizzare un sottile strato di materiale polimerico ad alta affinità molecolare su diversi substrati utilizzati come supporto fisico, atto ad ampliare le proprietà del composito, come ad esempio i nano tubi di carbonio (CNT), Fe_3O_4 , TiO_2 , SiO_2 . Questo strato di MIP, che contiene cavità

imprese sulla superficie delle particelle, fornisce siti di adsorbimento più accessibili, un rapido trasferimento di massa, una cinetica di legame più rapida, annessi ad un'elevata selettività. (Yu-Min Yin, 2012). Un esempio molto interessante, riguarda la realizzazione di MIPs magnetici che possono essere dispersi in soluzione e rimossi facilmente in virtù del loro nucleo ferroso tramite l'applicazione di un campo magnetico (Yang, 2015). Un sottile strato di MIPs può essere formato sulla superficie della silice dove si ottiene un maggiore trasferimento di massa degli analiti molto utile nel settore della separazione cromatografica (X. Hua, 2016).

Nella polimerizzazione per precipitazione, simile alla bulk, vengono utilizzati grandi volumi di solvente porogeno. Durante la fase di polimerizzazione, una volta raggiunta la massa critica, il polimero non viene più solubilizzato e precipita sotto forma di particella sferica. A differenza della bulk, attraverso il corretto dosaggio del solvente e l'opportuna agitazione del reattore, è possibile controllare la grandezza delle particelle sferiche nonché, con l'opportuno solvente (che talvolta può essere costituito da uno o più solventi miscibili fra loro), la porosità delle particelle (Qin-Zhong Fenga, 2009). Il gruppo di ricerca di W. Lu nel 2007 ha usato un metodo di precipitazione per la sintesi di MIP e NIP multi-template per il riconoscimento di diversi composti fenolici. Nello studio si sottolinea come nella polimerizzazione per precipitazione ci sia stato un aumento della capacità di assorbimento del materiale verso i composti target in seguito alla maggiore superficie disponibile (da circa 481 a 759 m² g⁻¹) rispetto alla bulk polymerization, con una morfologia più omogenea delle particelle. Tuttavia, molecole aventi gruppi funzionali simili a quelli del template sono state lo stesso adsorbite dai MIPs a causa della formazione di siti aspecifici. La selezione del porogeno nella polimerizzazione per precipitazione è cruciale e necessita di un'attenta ottimizzazione dei vari parametri di reazione per ottenere la morfologia di polimero sintetizzata; la polimerizzazione per precipitazione è svantaggiosa in quanto parte del monomero e della molecola template vengono irreversibilmente solubilizzate dal solvente diminuendone la resa di circa il 50% (Yang, 2015)

La polimerizzazione per emulsione è un tipo di sintesi radicalica in cui l'ambiente di reazione è inizialmente costituito da un monomero, un solvente ed un tensioattivo; quest'ultimo ha lo scopo di stabilizzare la formazione di piccole goccioline, all'interno delle micelle, le quali costituiscono la fase dispersa del sistema, in cui i reagenti prendono parte alla polimerizzazione in un sistema acquoso. Un vantaggio di questa tipologia di sintesi vede la formazione di sfere molto piccole e

di più facile controllo morfologico mentre a suo svantaggio i tensioattivi potrebbero andare ad interferire con la formazione dei legami intermolecolari del complesso monomero-template. Un metodo che riesce ad eliminare questi inconvenienti ma che risulta particolarmente più complesso rispetto alle altre sintesi è la soluzione di Pickering o anche detta “Pickering emulsion polymerization”, questa sintesi impiega un grande volume di porogeno ed è limitata dalla necessità di condizioni di reazione altamente specifiche. L'approccio all'emulsione di Pickering è stato utilizzato per preparare particelle MIP regolari con siti selettivi superando alcune difficoltà incontrate nelle polimerizzazioni per precipitazione. L'emulsione di Pickering utilizza particelle solide per stabilizzare la formazione di goccioline in una miscela di due liquidi immiscibili, eliminando o riducendo la dipendenza da emulsionanti tensioattivi, con procedure più economiche e minor utilizzo di solventi. Sun et al. nel 2016 utilizzano nano-particelle di silice come stabilizzante. Pertanto, la tensione superficiale tra due fasi immiscibili viene ridotta e la polimerizzazione si verifica nelle goccioline stabilizzate. Dopo la polimerizzazione, la miscela contenente i MIP viene trattata con acido fluoridrico per rimuovere le particelle di silice. I polimeri risultanti possono essere utilizzati per l'estrazione selettiva di inquinanti direttamente dall'acqua e dalle acque reflue o da una fase non polare, dopo l'estrazione del solvente per isolarne i composti.

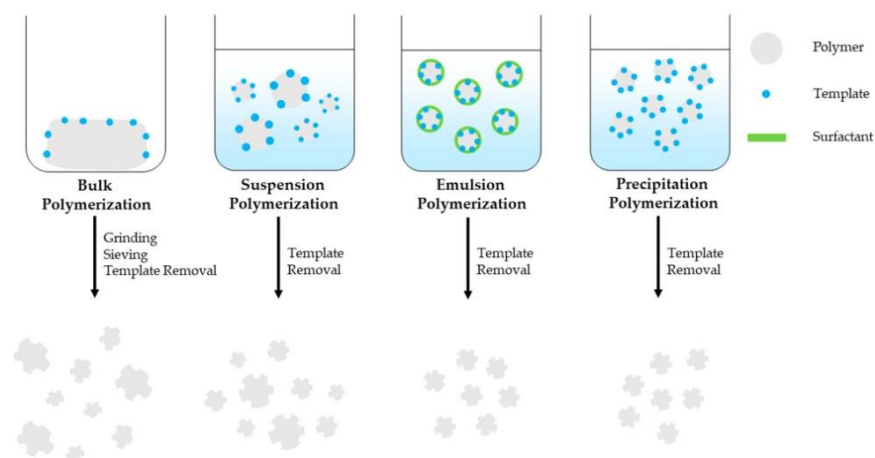


Figura 8: Tipologie di polimerizzazione delle MIPs.

Nella seguente tabella 3 sono riportati gli articoli presenti in letteratura scientifica presi in considerazione in questa tesi, riguardanti polimeri utilizzati per la rimozione mediante adsorbimento di differenti composti organici ritenuti contaminanti emergenti, in particolare diclofenac-Na (DFC), dalle acque reflue e non. Il metodo di sintesi più utilizzato risulta essere la polimerizzazione a partire da monomeri. Successivamente, in seguito alla caratterizzazione dei polimeri così ottenuti, questi sono stati testati sotto differenti condizioni operative (pH...). Inoltre, in uno degli articoli presi in esame, è anche operata un'analisi del meccanismo di rilascio di DFC a seguito dell'adsorbimento su nanocarrier polimerici.

1.4.4 Caratteristiche dei polimeri

I polimeri (MIPs) ottenuti attraverso le tecniche di sintesi prescritte hanno caratteristiche chimico-fisiche vantaggiose rispetto alle corrispondenti molecole biologiche che potrebbero essere utilizzate; infatti, le MIPs sono stabili a stress meccanici, resistenti a temperature e pressioni relativamente elevate, nonché a trattamenti con acidi e basi forti; si possono conservare a temperatura ambiente per lunghi periodi e riutilizzare numerose volte senza una sostanziale perdita della loro efficacia. Bisogna tenere in considerazione anche alcuni aspetti svantaggiosi. Un primo problema è rappresentato dalla necessità di disporre di quantità discrete della molecola di partenza, che può essere di per sé costosa o di difficile reperibilità

1.4.5 Applicazioni dei polimeri

Le proprietà peculiari dei MIPs li hanno resi uno strumento estremamente interessante per diverse aree di applicazione, tra cui metodi di separazione e purificazione (Song et al., 2009, Jiang et al., 2009), sensori e biosensori (Xiang et al., 2009), catalisi (Mosbach et al., 1999) e nel drug delivery (Alvarez-Lorenzo et al., 2004, Sellergren et al., 2005)

La cromatografia (Tan et al., 1999) per impronta molecolare è una delle aree di applicazione più ampiamente studiate, dove i MIPs sono particolarmente adatti alla preparazione di supporti su misura con selettività specifica per gli analiti selezionati. La crescente domanda di composti otticamente puri rende i MIP per le separazioni chirali un'altra importante applicazione, soprattutto in campo farmaceutico per la risoluzione racemica degli enantiomeri (Alvarez-Lorenzo et al., 2004). I MIPs sono anche emersi come nuovi materiali ad adsorbimento selettivo per le procedure di estrazione in fase solida (SPE), consentendo non solo la pre-concentrazione e la pulizia dei campioni, ma anche l'estrazione selettiva di analiti target da matrici complesse. Recentemente, diversi studi hanno dimostrato che i MIPs possono essere applicati nel campo biologico nelle analisi di tipo immunologico. Un'altra caratteristica vede l'utilizzo dei MIPs come catalizzatori solidi in alcune tipologie di reazioni (Sellergren et al., 2005).

Infine, un'area che rappresenta la sfida maggiore per i MIPs è quella della terapia terapeutica e medica. La capacità dei MIP di legare molecole bioattive in condizioni specifiche rende questa

tecnologia un enorme potenziale per il rilascio controllato di farmaci prerogativa nel settore del drug delivery.

1. materiali per separazioni

La prima area di applicazione dei MIPs è stata la cromatografia. Il molecular imprinting è una tecnica che si adatta molto bene alle separazioni permettendo la preparazione di supporti fatti su misura con una certa specificità. Di particolare interesse sono le separazioni chirali in cui l'ordine di eluizione dipende dall'enantiomero che si è utilizzato per la costruzione del polimero. Con le colonne classiche infatti la separazione dipende da scambi ionici e esclusione molecolare e gli enantiomeri avrebbero lo stesso tempo di ritenzione. Le tradizionali fasi stazionarie chirali commerciali (CSPs) utilizzano composti chirali immobilizzati (da piccole molecole organiche a proteine intere) che formano complessi diastereomerici con l'analita da separare ma con questa tecnica generalmente è necessario un range di CSPs per trovare il sistema adatto alla specifica separazione e le molecole biologiche che vengono usate hanno una stabilità chimica, termica e meccanica significativamente minore dei MIPs. Ci sono oggi più di 500 molecole di interesse farmaceutico otticamente attive e la risoluzione delle soluzioni racemiche è una delle principali possibili applicazioni.

Il primo MIP in questo campo fu realizzato per il Timolol (Fischer et al., 1991), repressore dei recettori β -adrenergici, seguito dal Naproxen (Kempe and Mosbach, 1994), agente antinfiammatorio non steroideo e dall'efedrina, agonista adrenergico, (Ramström et al., 1996). Altri polimeri per separazioni chirali sono stati preparati per analiti importanti nella diagnostica medica e nei processi biotecnologici: aminoacidi, derivati di amminoacidi e peptidi, (Kempe and Mosbach, 1995), carboidrati (Mayes et al., 1994; Nilsson et al., 1995; Wulff and Haarer, 1991) e ormoni (Andersson et al., 1995). E' stata verificata la possibilità di sfruttare la tecnologia dell'imprinting molecolare per estrazioni in fase solida per la purificazione di estratti. Nella prima applicazione in questo settore sono stati prodotti MIP specifici per atrazina da utilizzare su estratti di fegato di bue (Muldoon and Stanker, 1997). Questo tipo di sistema, il "Molecularly Imprinted Solid Phase Extraction" (MISPE), permette così di separare analiti da campioni biologicamente complessi e potrebbe offrire una valida alternativa nelle fasi di pretrattamento per composti lipofili. Oltre alle tradizionali colonne cromatografiche sono stati sviluppati

con i MIPs altri sistemi di separazione come la cromatografia a strato sottile (L-phenilalanina anilide, Kriz et al., 1994) e l'elettroforesi capillare (Nilsson et al., 1994).

2. sostituti di anticorpi e recettori

Gli anticorpi per la loro alta specificità e affinità vengono largamente impiegati per realizzare saggi immunologici per scopi diagnostici in campo biomedico e negli ultimi anni per la rilevazione qualitativa e quantitativa di contaminanti in matrici di interesse ambientale. La possibilità di preparare anticorpi (Henricksen and Martin, 1996) e recettori artificiali potrebbe rappresentare un'alternativa interessante viste le caratteristiche chimico-fisiche dei polimeri rispetto a molecole proteiche quali gli anticorpi. Sono stati portati avanti diversi progetti per verificare se i MIPs possano rappresentare una valida alternativa all'uso di anticorpi come elementi di riconoscimento negli immunosaggi. I "molecularly imprinted sorbent assays" fino ad ora realizzati, sono saggi competitivi in cui l'analita da rilevare compete, per i siti chimicamente e stericamente specifici nel polimero, con l'analogo radioattivo (protocollo simile ai RIA). La misura della radioattività nel supernatante sarà direttamente proporzionale alla concentrazione di analita non marcato presente nel campione. Sono stati prodotti polimeri per il riconoscimento del farmaco broncodilatatore, teofillina e del tranquillante diazepam (Vlatakis et al., 1993). Un saggio competitivo tipo-RIA è stato utilizzato per determinare la concentrazione di teofillina nel siero dei pazienti e i risultati ottenuti mostrano una buona correlazione con quelli avuti con i kits immunoenzimatici commerciali. I valori di cross-reattività dei polimeri stampati con teofillina e diazepam sono inoltre molto vicini a quelli riportati per gli anticorpi monoclonali e il polimero "anti-teofillina" è risultato in grado di distinguere questa molecola dalla caffeina, che differisce per un solo gruppo metile. Altre molecole di interesse biomedico utilizzate per la polimerizzazione di MIPs sono state la morfina e il neuropeptide endogeno leu-encefalina (Andersson et al., 1995-1996) Negli ultimi anni ha avuto particolare attenzione lo sviluppo di nuovi sistemi che permettano il riconoscimento qualitativo e quantitativo anche di molecole di rilevanza ambientale. Allo scopo di verificare l'utilità dei MIP in questo settore sono stati ad esempio costruiti polimeri per la triazina (molecola base degli erbicidi s-triazinici) utilizzati in sistemi di rilevazione ottica con triazina fluorescente (Piletsky et al., 1997): il saggio è di tipo competitivo tra l'erbicida libero e lo stesso coniugato ad una molecola fluorescente e la misura viene fatta sulla fluorescenza residua nel supernatante. Sono stati anche prodotti MIP per il riconoscimento specifico dell'atrazina la cui presenza e

concentrazione viene poi rilevata con saggi di tipo competitivo tra l'erbicida libero e l'atrazina marcata, in questi casi, radioattivamente (Muldoon and Stanker, 1995; Siemann et al., 1996).

Un vantaggio nella scelta dell'uso di polimeri in sostituzione agli anticorpi o ai recettori risiede, oltre che nelle già citate proprietà chimico-fisiche, nella possibilità di ottenere, facilmente e a basso costo, polimeri specifici per molecole contro le quali sarebbe artificioso e costoso produrre anticorpi monoclonali. Esempi sono le molecole a basso peso molecolare difficilmente immunogeniche quali gli apteni che devono essere coniugati con una proteina carrier prima dell'immunizzazione o gli antibiotici come l'eritromicina o molecole immunosoppressive come le ciclosporine (Senholdt et al., 1997).

3. sostituti di enzimi in funzioni catalitiche

Un'applicazione interessante è l'uso dei MIP come sostituti di enzimi in reazioni catalitiche. Sono state adottate diverse strategie che prevedono l'uso come stampo di: 1) analoghi dello stato di transizione come. Altri approcci sfruttano 2) analoghi dei coenzimi per sviluppare un sistema con una determinata attività catalitica; 3) composti di coordinazione per mediare la reazione catalitica e infine strategie "bait and switch" per la corretta organizzazione del gruppo catalitico nel sito. Nel primo caso, per esempio, lo stato di transizione dell'idrolisi dell'estere carbossilico può essere mimato da derivati fosfonati (Robinson e Mosbach, 1989). E' stato preparato un polimero usando come stampo il p-nitrofenilmetilfosfonato, un analogo dello stato di transizione dell'idrolisi del p-nitrofenilacetato e il MIP ottenuto lega preferenzialmente l'analogo dello stato di transizione inducendo anche un certo aumento del tasso di idrolisi del p-nitrofenilacetato a p-nitrofenolo e acetato. Studi più recenti si sono concentrati sull'idrolisi di esteri di aminoacidi e sulla preparazione di polimeri enantioselettivi cataliticamente attivi (Ohkubo et al., 1995; Sellergren and Shea, 1994). Nel secondo caso Andersson and Mosbach (1989) hanno provato ad usare come stampo l'analogo del complesso coenzima-substrato N-piridossil-L-fenilalanina anilide e hanno osservato che la capacità di catalizzare la formazione dell'addotto piridossale libero e fenilalanina anilide è aumentata di 8 volte rispetto al controllo. Per quanto riguarda i composti di coordinazione metallica è stato eseguito un esperimento con la classe II delle aldolasi (Matsui et al., 1996). Anche in questo caso si è avuto un incremento dell'attività catalitica.

Nel caso della strategia del bait-and-switch sono state fatte alcune prove (Müller et al., 1993; Beach and Shea, 1994) con la reazione di β -eliminazione coinvolta nella deidroalgenazione dei β -fluorochetoni, un sistema già utilizzato con gli anticorpi catalitici.

4. elementi di riconoscimento nei biosensori

Una delle applicazioni più interessanti è l'uso dei polimeri come elementi di riconoscimento in sistemi tipo biosensori. I biosensori sono dispositivi in grado di identificare da un punto di vista qualitativo e quantitativo un determinato analita presente in un campione e sono costituiti da una componente biologica, cui è deputata la specificità, in intimo contatto con un trasduttore atto alla rilevazione ed amplificazione del segnale. L'elemento biologico che può essere un enzima, un recettore o un anticorpo, costituisce la componente sensibile in grado di riconoscere selettivamente e con alta affinità la molecola target e viene posto all'interfaccia tra il sensore e il campione contenente l'analita di interesse. L'interazione della molecola target con l'elemento biologico determina un cambiamento in uno o più parametri chimico-fisici come la produzione di ioni, elettroni, gas, calore, cambiamenti di massa o luce che il trasduttore, converte in un segnale elettrico che viene poi amplificato e convertito nella forma interpretabile. Le caratteristiche importanti di un biosensore sono la selettività, sensibilità, stabilità e possibilità di rigenerazione. La selettività è determinata dalla componente biologica deputata al riconoscimento di una determinata molecola in una miscela contenente anche eventuali altri composti con struttura chimica simile. La sensibilità dipende sia dalla componente biologica che dal trasduttore ed essendo in relazione al rapporto segnale/rumore (S/N), ulteriori passaggi di amplificazione possono incrementare la sensibilità e abbassare il limite della minima concentrazione rilevabile. L'uso dei MIPs come sostituti delle molecole biologiche quale elemento sensibile permette di conservare le caratteristiche di specificità e selettività essendo le cavità di questi complementari in forma e funzionalità alla molecola intorno alla quale è stato realizzato il polimero. La scelta dei MIPs come alternativa alle molecole proteiche offre molti vantaggi sia per le caratteristiche chimico-fisiche proprie di questi polimeri sia per la possibilità di usare come stampo molecole contro le quali sarebbe molto difficile e costoso produrre degli anticorpi nonché per la semplicità della procedura e il basso costo di questa tecnica. L'approccio che più si avvicina al concetto di biosensore (con l'elemento sensibile in prossimità del trasduttore) prevede l'uso di polimeri in forma particelle ottenute dalla macinazione del bulk o di membrane ottenute con la tecnica del sandwich ed il cambiamento che

avviene nel polimero in seguito al legame dell'analita viene rilevato dal trasduttore. Uno dei primi lavori nello sviluppo di questi nuovi sensori rientra nell'ambito dei sensori elettrochimici capacitativi (Field Effect Capacitors): membrane polimeriche realizzate con la tecnica del sandwich, contenenti siti di riconoscimento specifici per la L-fenilalanina anilide utilizzata come molecola stampo, sono accoppiate ad un sistema di trasduzione che, misurando la variazione di capacità in funzione del voltaggio applicato), rivela il legame della molecola target sotto forma di una diminuzione della capacità applicando lo stesso range di voltaggio (Hedborg et al., 1993). Si può pensare di applicare lo stesso tipo di procedura con trasduttori field-effects transistors ed in questo caso sono interessanti anche le dimensioni ridotte, il basso costo di fabbricazione e la possibilità di integrarli nella microelettronica. Altri tipi di trasduttori elettrochimici conduttimetrici e amperometrici sono stati accoppiati con la tecnologia dell'imprinting molecolare. E' stato realizzato un sensore basato su un sistema di rilevazione conduttimetrica da Kriz (Kriz et al., 1996) per un analita carico, lo ione benzyltriphenylphosphonium: il legame dell'analita carico ai siti specificatamente reattivi del polimero porta ad un significativo aumento di conducibilità opportunamente rilevato. Sempre nell'ambito dei trasduttori conduttimetrici si trova il sensore per la rilevazione di atrazina (Piletsky et al., 1995); in questo caso il legame dell'atrazina provoca una diminuzione della conducibilità. Utilizzando come trasduttore un sistema amperometrico è stato sviluppato un sensore competitivo per la misura di morfina (Kriz and Mosbach, 1995). La procedura prevede due steps: il legame della morfina con il polimero e successivamente il distacco da questo per l'azione competitiva della codeina elettroinattiva; si misura poi elettrochimicamente la morfina tornata in soluzione. Nell'ambito dei sensori ottici è stato realizzato un sistema a fibre ottiche in fluorescenza (Kriz et al., 1995) basato su MIPs polimerizzati in presenza del derivato di un aminoacido marcato fluorescente (Dansyl-L-fenilalanina anilide) la cui rilevazione avviene in maniera diretta. Un significativo miglioramento potrebbe venire dai polimeri che mostrano contemporaneamente riconoscimento molecolare e conduttività elettrica (Kriz et al., 1995). Un esperimento in questo senso è stato eseguito preparando polimeri specifici per il riconoscimento della morfina (MIPs). Le particelle ottenute dalla macinazione del bulk sono state saturate con monomeri di pirrolo; un successivo passaggio di ossidazione in soluzione acida del pirrolo a polipirrolo ha portato a particelle dotate di memoria per la morfina e di elettroconducibilità (M-MIP-PPy), interessanti per lo sviluppo della tecnologia dei sensori

elettrochimici. Un ulteriore metodo di rilevazione che dia una risposta immediata è rappresentato dai sensori piezoelettrici, tra i quali si annoverano gli acustici, che si basano su misure del cambiamento della frequenza di risonanza del cristallo piezoelettrico come risultato di un cambiamento di massa sulla sua superficie (Okahata et al., 1994). In un altro approccio il trasduttore è separato dalla soluzione contenente il campione da una membrana selettivamente permeabile alla molecola stampo (Piletsky et al., 1994) la cui presenza viene rilevata con misure elettrochimiche. In questo caso l'elemento di riconoscimento non si trova in prossimità del trasduttore ed è più corretto parlare di sistemi di misura più che di sensori.

2. Materiali e Metodi

Una colonna MIPs ad adsorbimento è progettata come trattamento terziario innovativo per ridurre i contaminanti emergenti dall'effluente finale da riutilizzare per l'applicazione in agricoltura. Il MIP è stato scelto come materiale adsorbente e sintetizzato attraverso la polimerizzazione di tipo bulk riportata nel lavoro di Dai et al., 2011. Il diclofenac è stata scelta come molecola target, nelle procedure di caratterizzazione del polimero, e template nelle procedure di sintesi. La molecola bersaglio come indicatore dell'efficacia del trattamento è stato Diclofenac (DCF), che è stato spiked nell'influenta a diverse concentrazioni. La sintesi MIPs è stata eseguita utilizzando acido metacrilico (MAA) come monomero e DCF come molecola bersaglio, per stabilire il complesso di pre-polimerizzazione. In seguito, sono stati aggiunti il dimetilacrilato di glicole etilenico (EGDMA) e 2,2' azobisisobutirronitrile (AIBN), come reticolante e iniziatore, per creare e promuovere la matrice polimerica intorno alle molecole target. Successivamente, DCF è stato rimosso attraverso vari fasi di lavaggio con una miscela di metanolo e acido acetico (9/1). Alla fine, il polimero è stato essiccato, schiacciato e setacciato per raggiungere la dimensione corretta. I polimeri non stampati (NIP) sono stati sintetizzati nello stesso modo senza utilizzare la molecola bersaglio durante la fase di pre-polimerizzazione e sono stati utilizzati come controllo per valutare l'efficacia dei polimeri ottenuti.

2.1 Reagenti

L'acido metacrilico (MAA, 98%), diclofenac sodico, dimetilacrilato di glicole etilenico (EGDMA, 98%), 2,2'- Azobisisobutyronitrile (98%), acetonitrile, metanolo ed acido acetico. Inoltre, è stata impiegata dell'acqua bidistillata e dell'azoto gassoso al 99% in purezza. Acido cloridrico 1,0 M e Idrossido di sodio 1,0 M per il controllo pH nei test ove era variato. Per le prove di cinetica e batch sono stati utilizzate soluzioni di acqua bidistillata a differenti concentrazioni di diclofenac in forma salificata.

2.2 Strumentazione

Per la sintesi dei polimeri è stata utilizzata una piastra Arex Digital (VELP) con sonda per la termoregolazione del bagno ad olio (Pt-1000); durante i lavaggi sono stati utilizzati: un bagno ad ultrasuoni ed una centrifuga Hemerle modello Z-380. Per la valutazione del contenuto di diclofenac in soluzione sono state utilizzate: una centrifuga per eppendorf Hettich, uno

spettrofotometro UV-VIS Synergy HT (Biotek), un Vortex mixer Classic (VELP) ed una pompa peristaltica con controllo della pressione di ritorno C-601 e controllo di flusso C-610 (BUCHI). I polimeri sono stati caratterizzati mediante misurazione a infrarossi in trasformata di Fourier (FT-IR), microscopia elettronica a scansione (SEM).

2.3 Procedura di sintesi dei polimeri MIP e NIP

In questo contesto, sono stati eseguiti test preliminari di adsorbimento utilizzando diclofenac (DCF) come molecola target per ottimizzare le condizioni operative e aumentare il processo su scala pilota.

I MIP sono stati sintetizzati tramite polimerizzazione in massa adattando la procedura riportata da Samah et al (2018). La forma acida DCF è stata ottenuta sciogliendo il sale di diclofenac sodico (DCF-Na) in acqua (7 mg / L) e acidificando la soluzione con HCl 1M: soluzione DCF-Na / acqua e agitata per 10 minuti; HCl 1M è stato quindi aggiunto in rapporto molare 1: 1 con la precipitazione di DCF, che è stato filtrato su carta da filtro 0,45 µm e lavato con HCl 1M per rimuovere il reagente non reagito. La sintesi MIP è stata eseguita mediante sonicazione sciogliendo 1 mmol di DCF come stampo e 4 mmol di acido metacrilico (MAA) come monomero in 30 mL di acetonitrile. Sono stati aggiunti 20 mmol di glicole etilenico dimetil acrilato (EGDMA) e 0,12 mmoli di 2,2 azobisisobutirronitrile (AIBN) per creare e promuovere la matrice polimerica attorno alle molecole stampo. La soluzione è stata spurgata con azoto per 10 minuti per rimuovere l'ossigeno dalla soluzione. La soluzione sigillata è stata riscaldata a 60 ° C per 24 ore per ottenere un polimero monolitico che è stato frantumato e lavato più volte mediante sonicazione con miscela metanolo / acido acetico (9/1, v / v) fino a completa rimozione del DCF. È stata eseguita una fase di lavaggio finale con 50 mL di metanolo per due cicli e il polimero è stato centrifugato a 6000 rpm per 10 min. Successivamente, il polimero è stato essiccato a 40 ° C in forno per una notte, quindi macinato e setacciato per avere particelle da 20-100 µm. Allo stesso modo, i polimeri non stampati (NIP) sono stati sintetizzati senza utilizzare la molecola stampo nel prefase di polimerizzazione e utilizzato come controllo per valutare l'efficacia dei polimeri ottenuti.

2.5 Macinatura e setacciatura

Una volta essiccati, i polimeri (MIP e NIP) sono stati macinati con pestello e mortaio, per 15 minuti e setacciati, attraverso l'uso di setacci a maglie. Per comodità soltanto la frazione granulometrica inferiore a 100 μm e superiore a 20 μm .

2.6 Test in batch

Al fine di caratterizzare il profilo di assorbimento dei MIPs e NIPs, sono state effettuate delle analisi utilizzando differenti concentrazioni di diclofenac sodico (DCF-Na) disciolto in acqua; per cui sono state preparate delle soluzioni di DCF-Na da 50 mg/L a 600 mg/L in acqua bidistillata a $\text{pH} = 7$ a temperatura ambiente (20°C). Per ogni concentrazione sono stati prelevati 4 ml per 10 mg di polimero e collocati in vial da 5 ml. Le vial sono state agitate a 300 rpm per 2 ore. Dopodiché, 2 ml di ogni vial sono stati prelevati e centrifugati a 6000 rpm per 10' per separare il polimero dalla soluzione. La concentrazione di DCF è stata verificata per mezzo della spettrofotometria UV-Vis tramite il picco che si verifica alla lunghezza d'onda di 276 nm.

2.7 Dimensionamento della Colonna in scala Pilota

Considerando il tempo di contatto minimo per raggiungere la rimozione del 95% di DFC, un tempo di contatto (EBCT) della colonna di 30 minuti è stato considerato sufficiente per il dimensionamento del reattore. Conoscendo il flusso dell'influente e assumendo le principali caratteristiche di progetto della colonna, il parametro volume dell'EBCT può essere calcolato come:

$$V = \text{EBCT} * Q = s * \text{m}^3/s$$

In base al diametro, l'altezza della colonna è stata calcolata conseguentemente.

Test a flusso continuo sono stati ulteriormente realizzati su MIP o su un supporto misto di riempimento (MIP e altri materiali come la sabbia e biglie di vetro), per aumentare la permeabilità dell'assorbente e ridurre la pressione nella colonna. Successivamente sono state testate le configurazioni in down flow ed Up flow per l'alimentazione del reattore. La configurazione ottenuta con la colonna riempita con particelle MIP e biglie di vetro verso il basso sembrava mostrare il successivo punto di rottura delle curve; tuttavia, la miscela di MIP con granelli di sabbia, di dimensioni inferiori alle biglie di vetro, consente di avere un miglior rapporto portata-pressione.

Le caratteristiche principali della colonna in PVC trasparente sono riportate nella Tabella 4:

Tabella 4: Caratteristiche geometriche della colonna MIP su scala pilota

Colonna MIP	-	Cilindrica
Materiale	-	PVC
Volume totale della Colonna	L	0.45
Volume del letto di adsorbimento	L	0.23
Diametro interno della Colonna	cm	3,4
Area della Colonna	cm ²	9,08
Altezza della Colonna	cm	50
Altezza del letto di adsorbimento	cm	25
Rapport MIP/Sabbia	-	1/3

I parametri di progetto della colonna pilota installata sono descritti nella Tabella 5. Nello specifico, il volume della colonna è riempito per 1/3 in volume da MIP (corrispondevano a 15 g) e 2/3 in volume con sabbia (corrispondevano a 250 g) (Figura 9). La portata di progetto è di 3 L/h, il carico idraulico superficiale pari a 3,3 m³ /m²/h e l'EBCT nell'intervallo di 5-8 minuti. Tuttavia per mantenere il giusto tempo di contatto fra polimero e influente, la portata è stata ridotta a 0,5 L/h

Tabella 5: progetto della Colonna MIP su scala pilota

Colonna pilota MIP	
Flusso di progetto	3 L/h
Carico idraulico superficiale (Cis)	3.3 m ³ /m ² /h
Tempo di caontatto a letto vuoto (EBCT)	5-8 min
Concentrazione influente DCF	5mg/L
Densità MIP	0,20 g/cm ³
Massimo adsorbimento MIP	31,13 mg/g
Percentuale volume MIP	33,2
	5 %
Volume MIP	75,46 cm ³
Massa MIP	15,09 g
Densità sabbia	1,65 g/cm ³
Percentuale volume sabbia	66,75 %
Volume sabbia	151,52 cm ³
Massa sabbia	250,00 g

Al fine di valutare le prestazioni della colonna MIP su scala pilota in termini di rimozione di CEC, 1,07 gr di sale di sodio Diclofec sono stati aggiunti nel serbatoio in ingresso per ottenere una concentrazione iniziale di 5 mg/L.

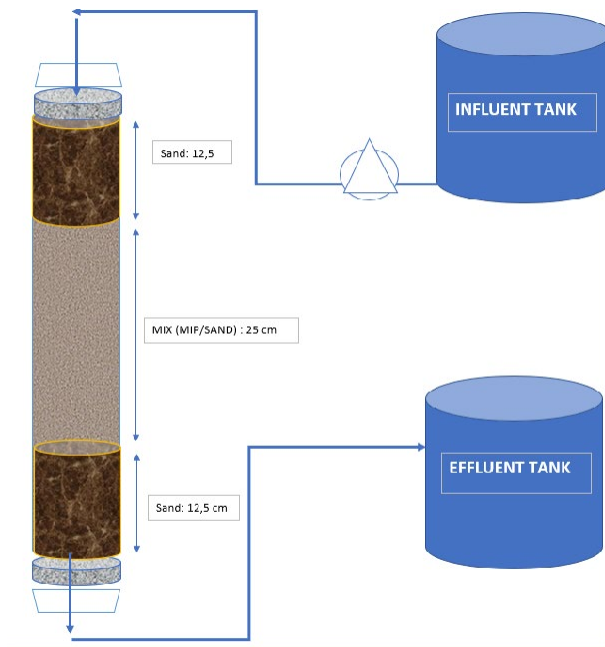


Figura 9: diagramma di flusso e configurazione Colonna

3. Risultati

3.1 Curva di adsorbimento del polimero

Per progettare la colonna del test pilota, sono stati inizialmente eseguiti test di laboratorio per valutare l'efficienza del polimero attraverso due parametri essenziali: capacità massime di adsorbimento (q_{max}) all'equilibrio e le cinetiche di adsorbimento (fig.10). Per ottenere questi dati, il sale sodico di diclofenac è stato utilizzato come indicatore della presenza dei contaminanti emergenti. I test di adsorbimento in batch su MIP e NIP sono stati eseguiti utilizzando soluzioni di DFC nell'intervallo di concentrazione 25-600 mg/L e il DFC è stato misurato utilizzando una spettroscopia UV a 276 nm.

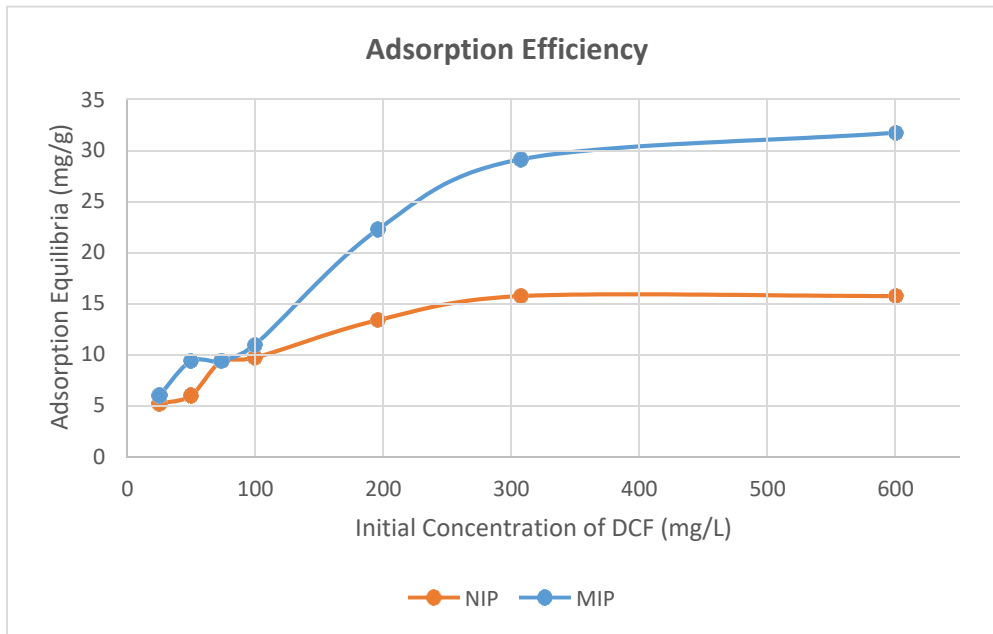


Figura 10: Analisi del diagramma Scatchard di MIP (blu) e NIP (arancione)

L'analisi Scatchard (Zheng et al., 2017) è stata utilizzata per elaborare i dati sperimentali del test dell'isoterma di adsorbimento attraverso la seguente equazione:

$$\frac{q_e}{C_e} = \frac{q_{max} - q_e}{K_d}$$

dove q_e (mg/g) è la quantità di adsorbato per unità di massa di adsorbente all'equilibrio e q_{max} (mg/g) è l'adsorbimento massimo, C_e (mg/L) è la concentrazione di adsorbato all'equilibrio e K_d è il Coefficiente di Scatchard. La quantità di diclofenac che può essere rimossa da un adsorbente può essere ottenuta dalla seguente equazione:

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e)V}{m}$$

dove q_e (mg/g) è la quantità di materiale adsorbito per unità di massa di adsorbente all'equilibrio, C_0 e C_e (mg/L) sono la concentrazione di adsorbito al tempo zero e all'equilibrio, rispettivamente, V è il volume della soluzione (L), ed m è la massa dell'adsorbente (g).

Per analizzare il meccanismo di legame dei polimeri, sono stati utilizzati modelli isotermici, e i dati sperimentali di equilibrio ottenuti con MIP e NIP sono stati ulteriormente interpretati con i modelli isotermici di Langmuir e Freundlich come mostra la Tabella 6.

Tabella 6 Equazione isoterma degli adsorbenti espressa in forma lineare

Modello isotermico	Equazione	Forma Lineare	Parametri	Referenze
Langmuir	$\frac{q_e}{q_m} = \frac{K_L C_e}{1 + K_L C_e}$	$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{q_m} + \left(\frac{1}{K_L q_m}\right) \frac{1}{C_e}$	q_m, K_L	(Dąbrowski, 2001)
Freundlich	$q_e = K_f C_e^{1/n}$	$\ln q_e = \ln K_f + \frac{1}{n} \ln C_e$	n, K_F	(Ayawei et al., 2015)

Il miglior adattamento come mostra la tabella 7 è stato trovato con il modello Freundlich per MIP ($r^2=0,96$), invece per i NIP il miglior adattamento è trovato attraverso l'isoterma di Langmuir ($r^2=0,97$). L'adsorbimento massimo di MIP e NIP era $q_{MIP} = 31,3$ e $q_{NIP} = 15,7$ mg/g, con il valore del fattore di impronta (IF) di 1,99, indicando che l'effetto di imprinting della molecola bersaglio nella polimerizzazione migliora l'efficienza del polimero di due ordini di grandezza.

$$IF = \frac{q_{MIP}}{q_{NIP}}$$

Table 7: Adsorption calculation on the base of isotherm equation

Polymer s	Langmuir R ²	Freudlich R ²	K _L	q _{max, eq.}	K _F	q _{max, exp}	IF
MIPs	0,7229	0,9638	0,0145	27,5	2,97	31,3	1,99
NIPs	0,9735	0,8791	0,0148	19,4	2,30	15,7	

Vengono eseguiti test cinetici per verificare come varia nel tempo la capacità di adsorbimento dei polimeri. L'adsorbimento q_t al tempo t , in modalità batch, è stato calcolato come segue:

$$q_t = \frac{(C_0 - C_t)V}{m}$$

dove q_t (mg/g) è la quantità di adsorbito per unità di massa di adsorbente all'equilibrio, C_0 e C_t (mg/L) sono la concentrazione di adsorbito a t uguale a zero e al tempo t , rispettivamente, V è il volume della soluzione (L) ed m è la massa dell'adsorbente (g).

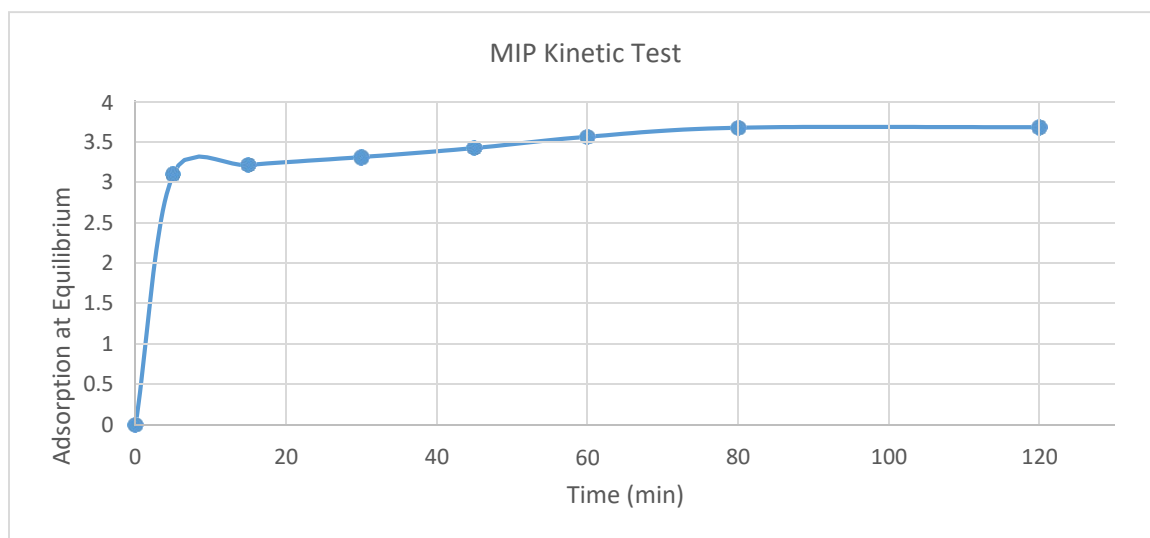


Figura 11: Curva cinetica di adsorbimento MIP di diclofenac

Come si può vedere nella Figura 11, tre aree hanno coefficienti di adsorbimento differenti:

- Nei primi 5 minuti, i MIP hanno mostrato un tasso di rimozione di DCF dell'84%, indicando una cinetica di adsorbimento rapido che si adattava meglio con un modello di ordine zero:

$$q_t = q_e - k_0 t$$

- Nel mezzo degli esperimenti, è stato ottenuto un lento adsorbimento cinetico con il miglior adattamento con uno pseudo primo ordine (r^2 0,9907):

$$q_t = q_e - e^{-k_1 t}$$

- Negli ultimi 40 minuti, l'adsorbimento di diclofenac ha mostrato una tendenza decrescente.

3.3 Risultati a scala pilota

Per quanto riguarda l'avvio della colonna MIP, è stato effettuato un primo tentativo con portata di progetto pari a 2 L/h. In questa condizione la pressione della colonna è salita fino a 3 bar (Figura 11), questo è dovuto principalmente alla resistenza dei MIP al lavaggio con acqua, invece la portata di esercizio è stata ridotta fino a 0,5-1 L/h.

La pressione sarà ottimizzata nei periodi di funzionamento modificando il rapporto MIP/sabbia.

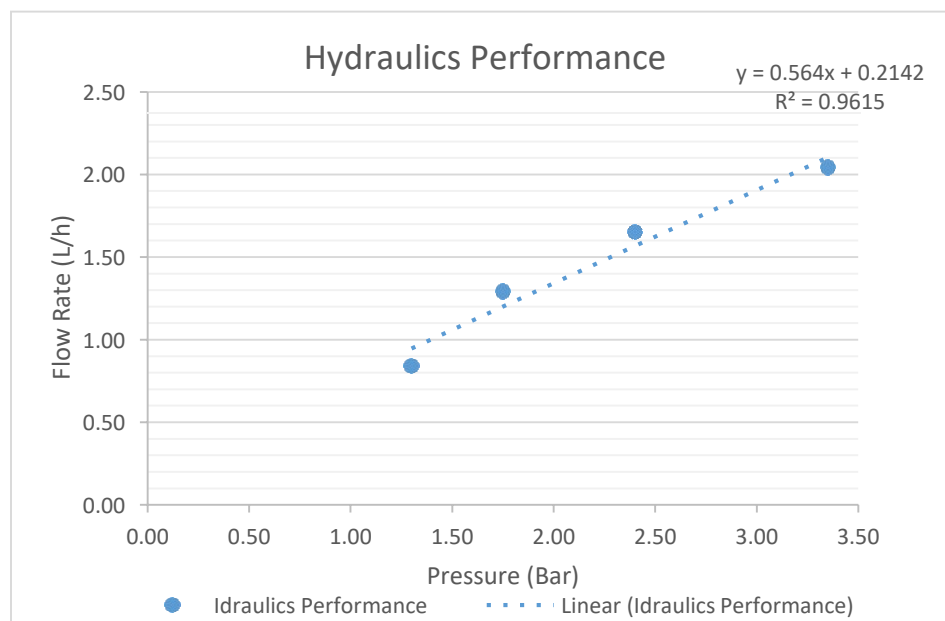


Figure 11: Prestazioni idrauliche della colonna MIP

Gli andamenti della pressione e della portata durante il funzionamento della colonna MIP sono riportati nella Figura 12. Nello specifico, la portata influente era quasi intorno a $7,6 \pm 0,4$ ml/min e la pressione è aumentata da 1 bar a 2,3 bar dopo 24 L di influente trattato dopo 54 ore di marcia del pilota.

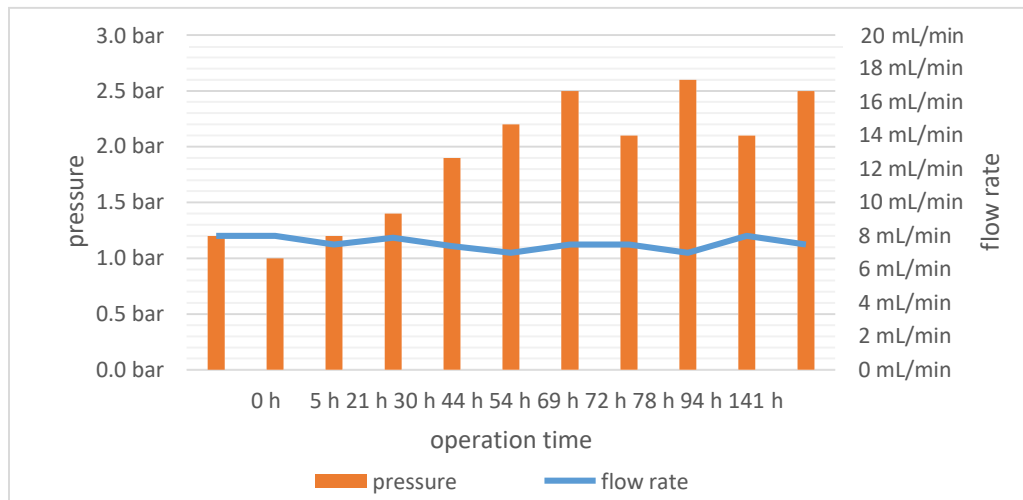


Figure 12: Monitoraggio della portata e della pressione durante l'attività sperimentale

Nella Figura 13 sono riportati i risultati preliminari della rimozione di DCF nella colonna MIP. Al momento non è possibile valutare la rottura e il breakthrough della curva di rimozione del DCF a causa delle fluttuazioni della prima analisi dei dati. Probabilmente, il condizionamento preliminare della colonna necessita di essere mantenuto meglio in relazione all'andamento della pressione in aumento. Dopo 50 L di volume trattato, quando si prevedeva che i MIP fossero esauriti, è stato osservato un incremento nella rimozione di DCF del 20%, il che ha dimostrato che i polimeri non erano ancora saturi e che potevano esistere percorsi preferenziali nella colonna.

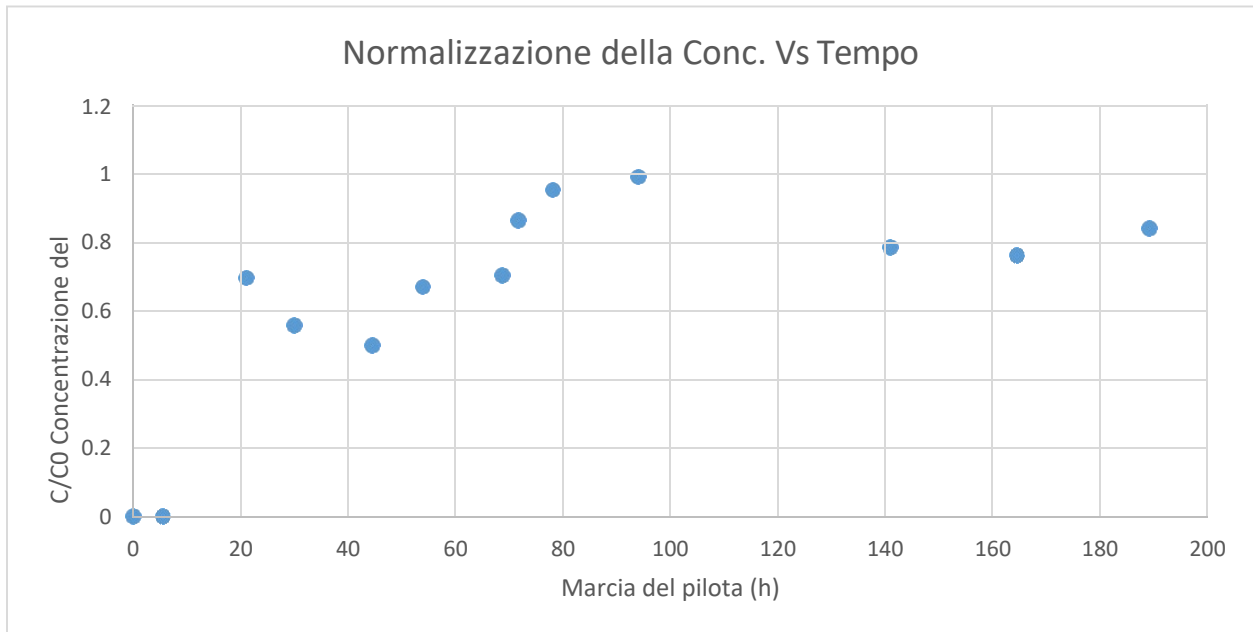


Figura 13: Risultati della rimozione dei MIP

Per concludere, verranno condotte ulteriori attività sperimentali per indagare meglio il comportamento dei MIP nella configurazione della colonna e verranno testati diversi rapporti di miscelazione tra MIP e sabbia.

Al termine di questo primo periodo di sperimentazione: abbiamo dimostrato una significativa differenza nella selettività del diclofenac fra il polimero sintetizzato, attraverso la bulk polymerization, ed il polimero senza template, nonostante la correlazione dei test in batch non sia perfetta.

Nel prossimo futuro l'attività di laboratorio dovrà focalizzarsi sulla problematica di lavaggio dei polimeri, riducendo l'uso dei solventi e applicando una procedura più funzionale, e sui test in flusso continuo, con acqua e con la matrice reale, per identificare il vero potenziale del MIP in condizioni simili all'utilizzo che ne verrà fatto in impianto pilota.

4. Conclusioni

La presenza nei corpi idrici di contaminanti emergenti provenienti dagli scarichi degli impianti di depurazione è motivo di preoccupazione in relazione soprattutto agli effetti tossici indotti da tali inquinanti sugli organismi acquatici e sull'uomo. L'impiego di trattamenti avanzati a valle dei processi biologici convenzionali permetterebbe di ridurre notevolmente le immissioni di microinquinanti nell'ecosistema.

Molti studi di letteratura hanno già documentato l'efficacia di tale processo nel trattamento dei microinquinanti, tuttavia la maggior parte di questi si focalizza sulla rimozione di singoli composti da soluzioni sintetiche in concentrazioni non realistiche, mediante prove in scala di laboratorio e senza valutare le problematiche connesse allo scale-up del processo. È indubbio che valutare la cinetica e le modalità di degradazione di uno specifico composto su un particolare adsorbente è di primaria importanza, ma è anche fondamentale stimare l'efficacia del trattamento su miscele di composti così come si ritrovano normalmente nell'ambiente, studiando, inoltre, le condizioni di processo in scala pilota per la successiva implementazione su scala reale.

I valori ottenuti con questi esperimenti sono risultati promettenti. Tuttavia, saranno necessari ulteriori sperimentazioni su scala pilota che possano validare con ulteriori dati sperimentali il trattamento di adsorbimento con MIP.

Riferimenti Bibliografici

1. K. Nilsson, K. Sakaguchi, P. Gemeiner and K. Mosbach, *J. Chromatogr. A*, 1995, 707, 199.
2. G. Wulff and J. Haarer, *Makromol. Chem.*, 1991, 192, 1329.
3. LI. Andersson , R. Müller, G. Vlatakis and K. Mosbach, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995, 92,
4. M. T. Muldoon and L.H. Stanker, *Anal. Chem.*, 1997, 69, 803.
5. D. Kriz , C. Berggren Kriz, LI. Andersson and K. Mosbach, *Anal. Chem.*, 1994, 66, 2636.
6. K. Nilsson, J. Lindell, O. Norrlöw and B. Sellergren, *J. Chromatogr. A*, 1994, 680, 57.
7. B. Sellergren, *J. Chromatogr. A*, 1994, 673, 133.
8. GP. Henricksen and MT. Martin, *IVD Technol. Mag.*, 1996, 7, 46.
9. G. Vlatakis, LI. Andersson, R. Müller and K. Mosbach, *Nature*, 1993, 361, 645.
10. LI. Andersson, R. Müller and K. Mosbach, *Makromol. Chem., Rapid Commun.*, 1996, 17, 65.
11. R. Arshady, K. Mosbach, *Makromol. Chem.*, 1981, 182, 687.
12. S.A. Piletsky, E.V. Piletskaya, R. Levi, K. Yano and I. Karube, *Anal. Lett.*, 1997, 30, 445.
13. M. T. Muldoon and LH. Stanker, *J. Agric. Food Chem.*, 1995, 43, 1424.
14. M. Siemann, LI. Andersson and K. Mosbach, *J. Agric. Fd. Chem.*, 1996, 44, 141.
15. M. Senholdt, M. Siemann, K. Mosbach and L.I. Andersson, *Anal Lett.*, 1997, 30, 1809.
16. D. Robinson, K. Mosbach, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1989, 969.
17. K. Ohkubo, Y. Urata, S. Hirota, Y. Funakoshi, T. Sagawa, S. Usui, K. Yoshinaga , *J. Mol. Catal.*
18. B. Sellergren and KJ. Shea, *Tetrahedron Asymm.*, 1994, 5, 1403.
19. LI. Andersson and K. Mosbach., *Makromol. Chem., Rapid Commun.*, 1989, 10, 491.
20. J. Matsui, I. Nicholls, I. Karube and K. Mosbach, *J. Org. Chem.*, 1996, 61, 5414.
21. R. Müller, LI. Andersson and K. Mosbach, *Makromol. Chem. Rap. Comm.*, 1993, 14, 637.

22. M. Glad, O. Norrlöw, B. Sellergren, N. Siegbahn, K. Mosbach, *J. Chromatogr.*, 1985, 347, 11.
23. J.V. Beach and K.J. Shea, *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, 116, 379.
24. E. Hedborg, F. Winqvist, I. Lundström, L.I. Andersson, and K. Mosbach, *Sensor. Actuator., A-*
25. D. Kriz, M. Kempe and K. Mosbach, *Sens. Actuator. B*, 1996, 33, 178.
26. S.A. Piletsky, E.V. Piletskaya, A.V. Elgersma, K. Yano, I. Karube, Y.P. Parhometz, *Biosens.*
27. D. Kriz and K. Mosbach, *Anal. Chim. Acta*, 1995, 300, 71.
28. M. Kempe, M. Glad and K. Mosbach, *J. Mol. Recogn.*, 1995, 8, 35.
29. L.Fischer, R. Müller, B. Ekberg and K. Mosbach, *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, 113, 9358.
30. M. Kempe and K. Mosbach, *J. Chromatogr.*, 1994, 664, 276.
31. O. Ramström, C. Yu and K. Mosbach, *J. Mol. Recogn.*, 1996,9, 691.
32. M. Kempe and K. Mosbach, *J. Chromatogr.A*, 1995, 691, 317.
33. A.G. Mayes, L.I. Andersson and K. Mosbach, *Analytical Biochemistry* , 1994, 222, 483.
34. A.Poma, A. Turner e S. Piletsky, «dvances in the manufacture of MIP nanoparticles.» *Trends Biotechnol.*, vol. 28, p. 629–637, 2010.
35. A.G. Mayes, L.I. Andersson and K. Mosbach, *Analytical Biochemistry* , 1994, 222, 483.
36. Arshady, R. ; Mosbach, K. Sintesi di polimeri selettivi del substrato mediante polimerizzazione ospite-ospite.
37. A.Sellergren and K.J. Shea, *Tetrahedron Asymm.*, 1994, 5,1403.
38. A.Sellergren, *J. Chromatogr. A*, 1994, 673, 133.
39. Barceló D., Emerging pollutants in water analysis. Special issue, *Trends in Analytical Chemistry*, 22 (10).
40. Bertanza G., Pedrazzani R., Zambarda V. (2009). I microinquinanti organici nelle acque di scarico urbane: presenza e rimozione. *Ingegneria Ambientale*, 48, II supplement alla rivista
41. *Bioelectron.*, 1995, 10, 959.
42. Bolong N., Ismail A.F., Salim M.R., Matsuura T. (2009). A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal. *Desalination*, 239: 229-246.
43. Carballa M., Omil F., Lema J.M., Llompart M., Garcia-Jares C., Rodriguez I., Gomez

- M., Ternes T. (2004). Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant. *Water Research* 38: 2918–2926.
44. A.Kriz and K. Mosbach, *Anal. Chim. Acta*, 1995, 300, 71.
 45. A.Kriz , C. Berggren Kriz, LI. Andersson and K. Mosbach, *Anal. Chem.*, 1994, 66, 2636.
 46. D. Kriz, M. Kempe and K. Mosbach, *Sens. Actuator. B*, 1996, 33, 178.
 47. D. Robinson, K. Mosbach, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1989, 969.
 48. Daughton C.G., Ternes T.A. (1999). Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? *Environmental Health Perspectives*, 107: 907–942.
 49. Del Sole, R .; Lazoi, MR; Arnone, M .; Della Sala, F .; Cannoletta, D .; Vasapollo, G. Studi sperimentali e computazionali su microsfere impresse non covalenti come sistema di riconoscimento per nicotinamide. *Molecules* 2009, 14, 2632-2649.
 50. Del Sole, R .; Lazoi, MR; Arnone, M .; Della Sala, F .; Cannoletta, D .; Vasapollo, G. Studi sperimentali e computazionali su microsfere impresse non covalenti come sistema di riconoscimento per nicotinamide. *Molecules* 2009, 14, 2632-2649.
 51. Del Sole, R .; Lazoi, MR; Arnone, M .; Della Sala, F .; Cannoletta, D .; Vasapollo, G. Studi sperimentali e computazionali su microsfere impresse non covalenti come sistema di riconoscimento per nicotinamide. *Molecules* 2009, 14, 2632-2649.
 52. A.Hedborg, F. Winquist, I. Lundström, LI. Andersson, and K. Mosbach, *Sensor. Actuator., A-Phys*, 1993, 37-38, 796.
 53. Esplugas S., Bila D.M., Krause L.G.T., Dezotti M. (2007). Ozonation and advanced oxidation technologies to remove endocrine disrupting chemicals (EDCs) and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in water effluents. *Journal of Hazardous Materials*, 149: 631-642.
 54. A.Vlatakis, LI. Andersson, R. Müller and K. Mosbach, *Nature*, 1993, 361, 645.
 55. A.Wulff and J. Haarer, *Makromol. Chem.*, 1991, 192, 1329. [12] LI. Andersson , R. Müller, G. Vlatakis and K. Mosbach, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995, 92, 4788.
 56. G. Wulff, A. Sahran, K. Zabrocki, *Tetrahedron Lett.* , 1973, 14, 4329.
 57. G. Wulff, A. Sahran, K. Zabrocki, *Tetrahedron Lett.* , 1973, 14, 4329.
 58. GP. Henricksen and MT. Martin, *IVD Technol. Mag.*, 1996, 7, 46.

59. B.G. Z. & J. X. Z. & C. R. Z. & L. S. & M. X. & P. G. & Y. D. & H. Yang, «Preparation of malathion MIP-SPE and its application in environmental analysis,» *Environmental Monitoring Assessment* , pp. 187-394, 2015.
60. H. S. Y. L. J. Y. X. S. C. H. X. Z. J. Chen, «Preparation of dummy-imprinted polymers by Pickering emulsion polymerization for the selective determination of seven bisphenols from sediment samples,» *Journal Separation Science*, vol. 39, pp. 2188-2195, 2016.
61. Hartig C., Ernst M., Jekel M. (2001). membrane filtration of two sulphonamides in tertiary effluents and subsequent adsorption on activated carbon. *Water Research*, 35 (16): 3998-4003
62. Hartig C., Storm T., Jekel M. (1999). Detection and identification of sulphonamide drugs in municipal wastewater by liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 854: 163-173.
63. Heberer T. (2002). Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology Letters*, 131: 5–17.
64. Hollender J., Zimmermann S.G., Koepke S., Krauss M., McArdell C.S., Ort C., Singer H., Gunten U.V., Siegrist H. (2009). Elimination of organic micropollutants in a municipal wastewater treatment plant upgraded with a full-scale postozonation followed by sand filtration. *Environmental Science and Technology*, 43: 7862-7869.
65. Hwang, CC; Lee, WC Caratteristica cromatografica dei polimeri con impronta di colesterolo preparati con metodi di stampa covalente e non covalente. *J. Chromatogr. A* 2002, 962, 69-78.
66. A.Matsui, I. Nicholls, I. Karube and K. Mosbach, *J. Org. Chem.*, 1996, 61, 5414.
67. JV. Beach and KJ. Shea, *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, 116, 379.
68. A.Nilsson, J. Lindell, O. Norrlöw and B. Sellergren, *J. Chromatogr. A*, 1994, 680, 57.
69. A.Nilsson, K. Sakaguchi, P. Gemeiner and K. Mosbach, *J. Chromatogr. A*, 1995, 707, 199.
70. K. Ohkubo, Y. Urata, S. Hirota, Y. Funakoshi, T. Sagawa, S. Usui, K. Yoshinaga , *J. Mol. Catal. A*, 1995, 101, L111.
71. A.Karlsson, BCG; O'Mahony, J. ; Karlsson, JG; Bengtsson, H. ; Eriksson, LA; Nicholls, IA *Struttura e dinamica della complessazione del monomero-modello: una*

spiegazione per l'eterogeneità del sito di riconoscimento del polimero impresso molecolarmente. *Marmellata*. *Chem. Soc.* 2009, 131, 13297–13304.

72. A.Kasprzyk-Hordern B., Dinsdale R.M., Guwy A.J. (2007). Multi-residue method for the determination of basic/neutral pharmaceuticals and illicit drugs in surface water by solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography–positive electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1161: 132–145.
73. A.Kasprzyk-Hordern B., Dinsdale R.M., Guwy A.J. (2009). The removal of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs during wastewater treatment and its impact on the quality of receiving waters. *Water Research*, 43: 363-380.
74. A.Klammerth N., Rizzo L., Malato S., Maldonado M.I., Agüera A., Fernández-Alba A.R. (2010). Degradation of fifteen emerging contaminants at $\mu\text{g/L}$ initial concentrations by mild solar photo-Fenton in MWTP effluents. *Water Research*, 44(2): 545-554.
75. Kolpin D.W., Furlong E.T., Meyer M.T., Thurman E.M., Zaugg S.D., Barber L.B., Buxton H.T. (2002). Pharmaceuticals, hormones and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999–2000: a national reconnaissance, *Environmental Science and Technology*, 36: 1202–1211.
76. Kümmerer K. (2009a). Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I. *Chemosphere*, 75: 417-434.
77. Kümmerer K. (2009b). The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use – present knowledge and future challenges. *Journal of Environmental Management*, 90: 2354-2366.
78. L.Fischer, R. Müller, B. Ekberg and K. Mosbach, *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, 113, 9358.
79. L.-X. Z. W. Y. J.-M. L. Z.-X. Z. Qin-Zhong Fenga, «Molecularly imprinted solid-phase extraction combined with high performance liquid chromatography for analysis of phenolic compounds from environmental water samples,» *Journal of Hazardous Materials*, vol. 167, pp. 282-288, 2009
80. Larsen T.A., Lienert J., Joss A., Siegrist H. (2004). How to avoid pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal of Biotechnology*, 113: 295-304
81. LI. Andersson and K. Mosbach., *Makromol. Chem., Rapid Commun.*, 1989, 10, 491.

82. LI. Andersson, R. Müller and K. Mosbach, *Makromol. Chem., Rapid Commun.*, 1996, 17, 65.
83. Lintelmann J., Katayama A., Kurihara N., Shore L., Wenzel A., (2003). *Endocrine disruptors in the environment (IUPAC technical report)*, *Pure and Applied Chemistry*, 75: 631–681.
84. Longo, L .; Scorrano, S .; Vasapollo. Riconoscimento del nucleoside G. RNA da polimeri a impronta molecolare a base di ftalocianina. *J. Polym. Res.* 2010, 17, 683–687.
85. Longo, L .; Vasapollo, G .; Scardino, A .; Picca, RA; Malitesta, C. Sintesi di una nuova ftalocianina di zinco sostituita come monomero funzionale nella preparazione di MIP. *J. Porphyr. Ftalocianine* 2006, 10, 1061–1065.
86. Glad, O. Norrlöw, B. Sellergren, N. Siegbahn, K. Mosbach, *J. Chromatogr.*, 1985, 347, 11.
87. Kempe and K. Mosbach, *J. Chromatogr.*, 1994, 664, 276.
88. M. Kempe and K. Mosbach, *J. Chromatogr.A*, 1995, 691, 317.
89. M. Kempe, M. Glad and K. Mosbach, *J. Mol. Recogn.*, 1995, 8, 35.
90. M. Senholdt, M. Siemann, K. Mosbach and L.I. Andersson, *Anal Lett.*, 1997, 30, 1809.
91. M. Siemann, LI. Andersson and K. Mosbach, *J. Agric. Fd. Chem.*, 1996, 44, 141.
92. M. T. Muldoon and L.H. Stanker, *Anal. Chem.*, 1997, 69, 803.
93. M. T. Muldoon and LH. Stanker, *J. Agric. Food Chem.*, 1995, 43, 1424.
94. *Macromol. Chem. Phys.* 1981, 182, 687–692.
95. Makoto Komiyama, Toshifumi Takeuchi, Takashi Mukawa, Hiroyuki Asanuma. *Molecular Imprinting: From Fundamentals to Applications*, 2003, 159
96. Metcalf & Eddy (2006). 4th ed. *Ingegneria delle acque reflue. Trattamento e riuso.* Milano: The McGraw-Hill Companies
97. Molinelli, A .; O'Mahony, J .; Nolan, K .; Smyth, MR; Jakusch, M .; Mizaikoff, B. *Analisi dei meccanismi di selettività negli autoassemblaggi biomimetici tramite spettroscopia IR e NMR di soluzioni di prepolymerizzazione e simulazioni di dinamica molecolare.* *Anale. Chem.* 2005, 77, 5196–5204.
98. Mosbach, K .; Ramström, O. La tecnica emergente dell'imprinting molecolare e il suo futuro impatto sulla biotecnologia. *Nat. Biotechnol.* 1996, 14, 163–170.

99. Noi siamo.; Jakusch, M .; Mizaikoff, B. Indagare sui meccanismi dell'imprinting del 17 β -estradiolo mediante predizione computazionale e analisi spettroscopica. *Anale. Bioanal. Chem.* 2007, 389, 423–431.
100. Ramström, C. Yu and K. Mosbach, *J. Mol. Recogn.*, 1996,9, 691.
101. O'Mahony, J .; Karlsson, BCG; Mizaikoff, B .; Nicholls, IA Correlati studi teorici, spettroscopici e cristallografici a raggi X di un sistema di polimerizzazione a impronta molecolare non covalente. *Analista* 2007, 132, 1161–1168.
102. O'Mahony, J .; Karlsson, BCG; Mizaikoff, B .; Nicholls, IA Correlati studi teorici, spettroscopici e cristallografici a raggi X di un sistema di polimerizzazione a impronta molecolare non covalente. *Analista* 2007, 132, 1161–1168.
103. *Phys*,1993, 37-38, 796.
104. Pietrzyk, A .; Kutner, W .; Chitta, R .; Zandler, ME; D'Souza, F .; Sannicolò, F .; Mussini, PR Chemosensor acustico in melammina a base di film polimerico a impronta molecolare. *Anale. Chem.* 2009, 81, 10061–10070.
105. Pietrzyk, A .; Kutner, W .; Chitta, R .; Zandler, ME; D'Souza, F .; Sannicolò, F .; Mussini, PR Chemosensor acustico in melammina a base di film polimerico a impronta molecolare. *Anale. Chem.* 2009, 81, 10061–10070.
106. Pomati F., Castiglioni S., Zuccato E., Fanelli R., Rossetti C., Calamari D. (2006). Effects of environmental contamination by therapeutic drugs on human embryonic cells. *Environmental Science and Technology*, 40: 2442-2447.
107. R. Arshady, K. Mosbach, *Makromol. Chem.*, 1981, 182, 687.
108. R. Müller, LI. Andersson and K. Mosbach, *Makromol. Chem. Rap. Comm.*, 1993, 14, 637.
109. Rizzo L., Meric S., Kassinos D., Guida M., Russo F., Belgiorno V. (2009a). Degradation of diclofenac by TiO₂ photocatalysis: UV absorbance kinetics and process evaluation through a set of toxicity bioassays. *Water Research*, 43: 979-988.
110. S. M. M. S. W. H. G. Z. C. J. S. F. J. Y. C. L. H. Yang, «Core–Shell Magnetic Molecularly Imprinted Polymers as Sorbent for Sulfonylurea Herbicide Residues,» *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 63, p. 3634–3645, 2015.
111. S.A. Piletsky, EV. Piletskaya, AV. Elgersma, K. Yano, I. Karube, YP. Parhometz, *Biosens. Bioelectron.*, 1995, 10, 959.

112. S.A. Piletsky, E.V. Piletskaya, R. Levi, K. Yano and I. Karube, *Anal. Lett.*, 1997, 30, 445.
113. Ternes T.A. (1998). Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Research*, 32: 3245–3260.
114. W. Lu, X. Wang, X. Wu, D. Liu, J. Li, L. Chen e X. Zhang, «Multi-template imprinted polymers for simultaneous selective solid-phase extraction of six phenolic compounds in water samples followed by determination using capillary electrophoresis,» *Journal of Chromatography A*, vol. 1483, pp. 30-39, 2017
115. Wulff, G .; Sarhan, A. Uso di polimeri con strutture analoghe agli enzimi per la risoluzione dei racemi. *Angew. Chem. Int. Ed.* 1972, 11, 341–342.
116. X. Hua, X. Wua, F. Yanga, Q. Wang, C. Hea e S. Liub, «Novel surface dummy molecularly imprinted silica as sorbent for solid-phase extraction of bisphenol A from water samples,» *Talanta*, vol. 148, pp. 29-36 , 2016.
117. Y.-P. C. X.-F. W. Y. L. H.-L. L. M.-X. X. Yu-Min Yin1, «*Journal of Chromatography A*,» Dummy molecularly imprinted polymers on silica particles for selective solid-phase extraction of tetrabromobisphenol A from water samples, n. 1220, pp. 7-13, 2012.
118. Yañez, F .; Chianella, I .; Piletsky, SA; Concheiro, A .; Alvarez-Lorenzo, C. Modellazione computazionale e imprinting molecolare per lo sviluppo di polimeri acrilici con elevata affinità per i sali biliari. *Anale. Chim. Acta* 2010, 659, 178–185.
119. T. Jiang, L. Z. Baolin, C. Qinzhong, F. Wei, Y. Jin e M. Lin, «Molecularly imprinted solid-phase extraction for the selective determination of 17 β -estradiol in fishery samples with high performance liquid chromatography,» *Talanta*, vol. 78, n. 2 , pp. 442-447, 2009.
120. H. Xiang e W. Li, «Electrochemical Sensor for trans-Resveratrol Determination Based on Indium Tin Oxide Electrode Modified with Molecularly Imprinted Self-Assembled Films,» *Electroanalysis*, 2009.
121. H. Xiang e W. Li, «Electrochemical Sensor for trans-Resveratrol Determination Based on Indium Tin Oxide Electrode Modified with Molecularly Imprinted Self-Assembled Films,» *Electroanalysis*, 2009
122. Ramström e K. Mosbach, «Synthesis and catalysis by molecularly imprinted

- materials,» *Current Opinion in Chemical Biology*, vol. 3, n. 6, pp. 759-764, 1999.
123. C. Alvarez-Lorenzo e A. Concheiro, «Molecularly imprinted polymers for drug delivery,» *Journal of Chromatography B*, vol. 804, n. 1, pp. 231-245 , 2004.
124. B. Sellergren e C. J.Allender, «Molecularly imprinted polymers: A bridge to advanced drug delivery,» *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 57, n. 12, pp. 1733-1741, 2005.
125. V. T., R. Z. e J. Tan, «Peer Reviewed: MIPs as Chromatographic Stationary Phases for Molecular Recognition,» *Analytical chemistry*, vol. 71, n. 7, pp. 248A-255A, 1999.
126. Longo, L .; Vasapollo, G .; Scardino, A .; Picca, RA; Malitesta, C. Sintesi di una nuova ftalocianina di zinco sostituita come monomero funzionale nella preparazione di MIP. *J. Porphyr. Ftalocianine* 2006, 10, 1061–1065.
127. N. Ayawei, M. Horsfall Jnr, and I. Spiff, “Rhizophora mangle waste as adsorbent for metal ions removal from aqueous solution,» *European Journal of Scientific Research*, vol. 9, no. 1, p. 21, 2005.
128. Dabrowski, A., *Adsorption: From Theory to Practice. Advances in Colloid and Interface Science*, 93, 135-224, 2001.
- .
- .
- .

Ringraziamenti:

Volendo ribadire in questo contesto quello che spero di aver già fatto a voce e individualmente, dedico questa pagina a tutti coloro che, direttamente o indirettamente, hanno reso possibile il mio lavoro.

Un ringraziamento particolare va alla mia relatrice Eusebi Anna Laura che mi ha seguito, con la sua infinita disponibilità, in ogni step della realizzazione dell'elaborato, fin dalla scelta dell'argomento.

Grazie anche al Dott. Marco Parlapiano e alla Dott.ssa Alessia Foglia, per i loro preziosi consigli e per avermi suggerito puntualmente le giuste modifiche da apportare alla mia tesi.

Ringrazio infinitamente miei genitori Ali e Salma e tutta la mia famiglia, senza i loro insegnamenti e senza il loro supporto, questo lavoro di tesi non esisterebbe nemmeno.

Vorrei ringraziare i miei fratelli Zein alabidin e Mahassen e la mia nipote Alissar per essere stati sempre vicini e mi hanno aiutato in questo lavoro con pazienza

Ringrazio i miei due amici Mostafa zakariya e Mohammad el fay per essermi stati accanto in questo periodo intenso e per gioire, insieme a me, dei traguardi raggiunti.

Grazie a tutti i miei colleghi di corso in particolare Koutayba al kassar, per avermi sempre incoraggiato fin dall'inizio del percorso universitario.

A tutti coloro che a causa del mio svampitismo ho omesso di ringraziare... semplicemente grazie!