



Università Politecnica delle Marche

Scuola di Dottorato di Ricerca in Ingegneria Civile,
Ambientale, Edile e Architettura
XVI ciclo

Studio del processo biologico via nitrito applicato a reflui a basso carico di azoto

Relatore:
Dott. Anna Laura Eusebi

Tesi di dottorato di:
Matteo Spinelli

Università Politecnica delle Marche
Dipartimento di Scienze e Ingegneria della Materia, dell'Ambiente ed Urbanistica
Via Breccie Bianche 12, 60131 Ancona, Italia

Indice

1.	Introduzione.....	1
2.	Stato dell'arte.....	3
2.1.	La rimozione biologica dell'azoto	3
2.2.	Il processo via nitrito	5
2.3.	L'impatto della depurazione nelle emissioni gassose.....	9
2.4.	Parametri di influenza sul condizionamento via nitrito	11
2.5.	Full scale e impianti dimostrativi via nitrito a basso carico	56
2.6.	Emissioni gassose	60
3.	Materiali e metodi.....	82
3.1.	L'impianto di Vallechiara	82
3.2.	La piattaforma sperimentale	84
3.3.	Il sistema di telecontrollo per il monitoraggio del processo biologico	91
3.4.	Il monitoraggio delle emissioni gassose	94
3.5.	Studi preliminari dei meccanismi di inibizione e condizionamento	98
3.6.	Fasi sperimentali up-scale del processo di nitrificazione/denitrificazione in continuo	100
3.7.	La caratterizzazione chimico-fisica	101
3.8.	Studi cinetici e studi del ciclo	112
3.9.	Il bilancio dell'azoto	115
4.	Risultati.....	117
4.1.	Configurazione 1 – Condizionamento in vasca	117
4.1.1.	Prove preliminari	117
4.1.2.	Up-scale del condizionamento.....	122
4.1.3.	Monitoraggio delle emissioni gassose	128
4.2.	Configurazione 2 – Condizionamento sull'influente.....	132
4.2.1.	Prove preliminari	132
4.2.2.	Up-scale del condizionamento.....	151
4.2.3.	Monitoraggio delle emissioni gassose	162
4.3.	Configurazione 3 – Reattore di selezione	164
4.3.1.	Prove preliminari	164
4.3.1.1.	Prove per la comprensione del ruolo dei fattori costituenti l'FA e del tempo di contatto	164
4.3.1.2.	Prove per la comprensione dell'effetto dell'ORP, del pH e degli MLSS.....	174
4.3.2.	Up-scale del condizionamento.....	181
4.3.3.	Monitoraggio delle emissioni gassose	186
4.4.	Applicabilità predittiva in scala reale	186

4.4.1.	Studio della variazione della velocità gravitazionale	186
4.4.2.	Valutazione preliminare per l'ipotesi di inserimento del processo via nitrito in un impianto reale	187
4.4.3.	Confronto emissioni di gas serra tra processi biologici a fanghi attivi.....	191
5.	Conclusioni	202
Bibliografia		204

Indice delle Figure

Figura 2.1 Nitrificazione-denitrificazione biologica tramite nitrificazione parziale.	5
Figura 2.2 Variazione tipica di DO e pH per la rimozione del substrato organico e la nitrificazione in un processo SBR.	6
Figura 2.3 Curva di crescita dei due tipi di batteri ammoniacca-ossidanti.	7
Figura 2.4 Schema di inibizione di Anthonsien.	7
Figura 2.5 Percorsi di produzione di N ₂ O e NO nei processi biologici.	9
Figura 2.6 Fattori che influenzano la produzione di N ₂ O.	10
Figura 3.1 Localizzazione impianto di depurazione Valledaia.	82
Figura 3.2 Planimetria impianto di depurazione Valledaia.	83
Figura 3.3 Localizzazione piattaforma sperimentale.	85
Figura 3.4 Piattaforma sperimentale.	85
Figura 3.5 Serbatoio stoccaggio influente e reattore biologico.	85
Figura 3.6 Interno reattore biologico: elettromeccanica e diffusori.	85
Figura 3.7 Cisterne stoccaggio reagenti.	86
Figura 3.8 Sedimentatore secondario e raschiatore.	86
Figura 3.9 Planimetria piattaforma sperimentale.	87
Figura 3.10 Schema di flusso piattaforma sperimentale.	88
Figura 3.11 Pompa di supero (sx) e di ricircolo (dx).	89
Figura 3.12 Centraline e sonde.	89
Figura 3.13 Sonda Chemtec – DO Serie 4283.	90
Figura 3.14 Sonda Chemtec – ORP Serie 4283.	90
Figura 3.15 Sonda Chemtec –	91
Figura 3.16 Sonda Hach Lange –	91
Figura 3.17 Sonda Hach Lange –	91
Figura 3.18 Interfaccia grafica EasyGestWWTP.	92
Figura 3.19 Pannelli di controllo del processo biologico.	92
Figura 3.20 Opzioni dei pannelli di controllo.	93
Figura 3.21 Analizzatore MIR9000CLD.	94
Figura 3.22 Componentistica interna MIR9000CLD.	94
Figura 3.23 Principio di misura della spettroscopia ad infrarossi.	95
Figura 3.24 Flussi in ingresso all'analizzatore.	97
Figura 3.25 Copertura, camino e linea di captazione delle emissioni gassose.	98
Figura 3.26 Sonda per la determinazione dell'ammoniaca.	98
Figura 3.27 Layout della piattaforma e del sistema di campionamento delle emissioni gassose.	98
Figura 3.28 Schema riassuntivo delle diverse configurazione impiantistiche adottate.	99
Figura 3.29 Schema di flusso configurazione 2 e reattore per condizionamento dell'influente.	101
Figura 3.30 Schema di flusso configurazione 3 e reattore di selezione.	101
Figura 3.31 Piaccametro Hanna edge HI 2002-02.	102
Figura 3.32 Titolatore Metrohm mod. 848 con agitatore magnetico Stirrer mod. 801.	102
Figura 3.33 Stufa ventilata.	103
Figura 3.34 Essiccatore in vetro.	103
Figura 3.35 Bilancia analitica ORMA mod. BCA.	103
Figura 3.36 Sistema di filtrazione.	103
Figura 3.37 Schema di funzionamento cromatografia liquida a scambio ionico.	104
Figura 3.38 Auto campionatore Dionex AS40.	105
Figura 3.39 Supporti, vials e filter caps.	105
Figura 3.40 DX-120 e ICS-1000.	105
Figura 3.41 Esempi di cromatogramma.	105

Figura 3.42 Pompa JP per il vuoto, scrubber SMS e digestore DK6.	107
Figura 3.43 Distillatore in corrente di vapore mod. UDK 127.	107
Figura 3.44 Spettrofotometro.	108
Figura 3.45 Termoreattore Velp Scientifica mod. ECO 6.	108
Figura 3.46 Apparato filtrante con imbuto Buchner.	109
Figura 3.47 Forno a muffola.	109
Figura 3.48 Schema delle zone di sedimentazione di un fango attivo.	110
Figura 3.49 Interfaccia fango-acqua durante la prova di sedimentabilità.	111
Figura 3.50 Lettura finale del volume di fango che sedimenta per compressione.	111
Figura 3.51 Esempio di curva per la determinazione del flusso gravitazionale.	111
Figura 3.52 Configurazione schematica dell'apparato respirometrico.	112
Figura 3.53 Esempio di andamento delle concentrazioni durante un test AUR.	113
Figura 3.54 Esempio di andamento delle concentrazioni durante un test NUR.	114
Figura 4.1 Configurazione impiantistiche adottate nel corso della sperimentazione.	117
Figura 4.2 Andamento kn e % nitriti prodotti biomassa di Valledara.	118
Figura 4.3 Andamento kn e % nitriti prodotti in condizioni di DO limitante e non.	118
Figura 4.4 Effetto del pH sulla velocità di nitrificazione/nitrificazione e %NO ₂ -N/NO _x -N.	119
Figura 4.5 Effetto del carico di NH ₄ -N iniziale e del pH sulla %NO ₂ -N/NO _x -N.	119
Figura 4.6 Andamento di nitriti e nitrati nel corso della prova 1.	120
Figura 4.7 Andamento di nitriti e nitrati nel corso della prova 2.	121
Figura 4.8 Andamento di nitriti e nitrati nel corso della prova 3.	121
Figura 4.9 Variazione della kd al variare del rapporto C/N.	122
Figura 4.10 Andamento delle concentrazioni di COD, CODs, TSS e Ntot, NH ₄ -N.	124
Figura 4.11 Andamento delle concentrazioni di cloruri e sodio.	124
Figura 4.12 Andamento delle concentrazioni effluenti delle forme azotate.	127
Figura 4.13 Tracciati delle diverse emissioni gassose per una giornata tipo.	128
Figura 4.14 Correlazione tra concentrazione di N ₂ O emesso e DO in vasca.	129
Figura 4.15 Carichi di massa emessi di CO ₂ e CH ₄ e concentrazione DO.	129
Figura 4.16 Carichi di massa emessi di N ₂ O e velocità di nitrificazione.	130
Figura 4.17 Percentuali di impatto N ₂ O – Configurazione 1.	131
Figura 4.18 Andamento degli NO _x -N durante la prova.	133
Figura 4.19 Andamento degli NO _x -N durante la prova.	134
Figura 4.20 Andamento degli NO _x -N durante la prova.	136
Figura 4.21 Andamento degli NO _x -N durante la prova.	137
Figura 4.22 Andamento degli NO _x -N durante la prova.	138
Figura 4.23 Percentuale di nitriti prodotti nelle varie fasi di prova con i diversi basificanti.	138
Figura 4.24 Reagente effettivamente dosato (kg reagente/unità pH/m ³).	150
Figura 4.25 Andamento del pH durante la prova di dosaggio con NaOH.	150
Figura 4.26 Andamento del pH durante la prova di dosaggio con Ca(OH) ₂ .	151
Figura 4.27 Andamento del pH durante la prova di dosaggio con Na ₂ CO ₃ .	151
Figura 4.28 Reattore per il condizionamento dell'influente e schema della configurazione 2.	152
Figura 4.29 Andamento delle concentrazioni di COD, CODs, TSS e Ntot, NH ₄ -N.	153
Figura 4.30 Andamento delle concentrazioni di cloruri e sodio.	153
Figura 4.31 Andamento dei parametri di condizionamento (pH, NH ₄ -N, FA).	154
Figura 4.32 Andamento della concentrazione dei MLSS e portata di supero biologico.	155
Figura 4.33 Andamento della velocità di nitrificazione e della percentuale di nitrito prodotto nelle diverse vasche.	155
Figura 4.34 Andamento della concentrazione di cloruri influenti e percentuali di nitrito prodotto nella linea 1.	156
Figura 4.35 Variazione della % di nitrificazione raggiunta in funzione dell'FA iniziale di prova.	157
Figura 4.36 Variazione della velocità di consumo di FA in funzione del pH di prova.	158

Figura 4.37 Ossidazione % dell'ammoniaca raggiunto in funzione della kn.	159
Figura 4.38 Valori delle cinetiche in funzione del rapporto %FA/NH ₄ delle AUR.	159
Figura 4.39 Percentuali di nitrito raggiunte in funzione delle condizioni iniziali di prova.	160
Figura 4.40 Variazione del rapporto %FA/NH ₄ al variare del pH di prova.....	160
Figura 4.41 Tracciati delle diverse emissioni gassose per una giornata tipo.	162
Figura 4.42 Carichi di massa emessi di CO ₂ e CH ₄ e concentrazione DO.	163
Figura 4.43 Carichi di massa emessi di N ₂ O e velocità di nitrificazione.....	163
Figura 4.44 Andamento delle kn e % di nitriti prodotti alle diverse temperature di prova.	164
Figura 4.45 Confronto tra le prove effettuate a diverso tempo di contatto.	165
Figura 4.46 Andamento delle kn e % di nitriti prodotti ai diversi tempi di contatto.	166
Figura 4.47 Andamento delle kn e % di nitriti prodotti.	167
Figura 4.48 Andamento delle kn e % di nitriti prodotti.	168
Figura 4.49 Confronto tra le prove cinetiche isoterme effettuate.	168
Figura 4.50 Confronto tra le prove cinetiche isoterme effettuate.	169
Figura 4.51 Confronto tra le prove cinetiche isoterme effettuate.	169
Figura 4.52 Andamento della %NO ₂ -N in funzione del parametro FA*tmix.	170
Figura 4.53 Andamento aggiornato della %NO ₂ -N in funzione del parametro FA*tmix.	170
Figura 4.54 Andamento aggiornato della %NO ₂ -N in funzione del parametro FA*tmix.	171
Figura 4.55 Andamento aggiornato della %NO ₂ -N in funzione del parametro FA*tmix.	172
Figura 4.56 Andamento della %NO ₂ -N nelle prove a FA costante.....	173
Figura 4.57 Riassunto della %NO ₂ -N prodotti nelle prove preliminari alla Configurazione 3.	173
Figura 4.58 Velocità specifiche di produzione di NO _x a 20°C per prove a ORP condizionato.	176
Figura 4.59 Velocità specifiche di produzione di NO ₂ a 20°C per prove a ORP condizionato.....	176
Figura 4.60 Andamento delle %NO ₂ -N/NO _x -N per prove a ORP condizionato.	177
Figura 4.61 Andamento delle %NO ₂ -N/NO _x -N in funzione del parametro FA*tmix per prove a ORP condizionato.	177
Figura 4.62 Velocità specifiche di produzione di NO _x e NO ₂ a 20°C per prove a pH condizionato.	178
Figura 4.63 Andamento delle %NO ₂ -N/NO _x -N in funzione delle prove e del parametro FA*tmix.	178
Figura 4.64 Velocità specifiche di produzione di NO _x e NO ₂ a 20°C per prove a diversi MLSS. .	179
Figura 4.65 Andamento FA*tmix-%NO ₂ -N/NO _x -N riassuntivo di tutte le prove svolte.	180
Figura 4.66 Andamento FA*tmix-kn (NO ₂ -N) riassuntivo di tutte le prove svolte.	180
Figura 4.67 Andamento delle concentrazioni di COD, CODs, TSS e N _{tot} , NH ₄ -N.....	182
Figura 4.68 Andamento delle concentrazioni di cloruri e sodio.	182
Figura 4.69 Andamento della concentrazione dei MLSS.	183
Figura 4.70 Andamento della velocità di nitrificazione e della percentuale di nitrito prodotto nel reattore di selezione.....	184
Figura 4.71 Andamento della velocità di nitrificazione e della percentuale di nitrito prodotto in vasca 1.....	184
Figura 4.72 Andamento della velocità di nitrificazione e della percentuale di nitrito prodotto in vasca 2.....	184
Figura 4.73 Andamento delle percentuali di nitriti prodotte in funzione del fattore FA*tmix.....	185
Figura 4.74 Flusso gravitazione a temperature fisse e pH variabili.....	186
Figura 4.75 Flusso gravitazione a pH fissi e temperatura variabile.....	187
Figura 4.76 Schema a blocchi della filiera di processo dell'impianto di Carbonera.	189
Figura 4.77 Bilancio di massa dell'impianto di Carbonera.	190
Figura 4.78 Tipologie di campionatori utilizzati: a sinistra, campionatore flottante, a destra, campionatore fisso.	191
Figura 4.79 Concentrazioni medie durante le prove di calibrazione.	193
Figura 4.80 Andamento delle concentrazioni di N ₂ O al variare del tempo di ritenzione.	193

Figura 4.81 Andamento delle concentrazioni di N_2O al variare della velocità di uscita.	194
Figura 4.82 Andamento delle concentrazioni N_2O al variare della portata d'aria fornita alla vasca.	194
Figura 4.83 Influenza del rapporto di campionamento sulle concentrazioni di N_2O	194
Figura 4.84 Posizionamento dei campionatori a inizio e fine vasca durante il monitoraggio in continuo.....	195
Figura 4.85 Andamento del carico di COD in ingresso durante il monitoraggio in continuo.	196
Figura 4.86 Carichi di massa ottenuti dal monitoraggio con campionatori fissi.	197
Figura 4.87 Carichi di massa ottenuti dal monitoraggio con campionatori galleggianti.	197
Figura 4.88 Carico di massa di N_2O emesso nel reattore di nitrificazione.	198
Figura 4.89 Variabilità diurna delle emissioni di N_2O	198
Figura 4.90 Carichi di massa cumulativi specifici per quantità di azoto totale influente al sistema.	199
Figura 4.91 Carichi di massa ottenuti dal monitoraggio del processo via nitrito.	200
Figura 4.92 Carico di massa cumulativo specifico per quantità di azoto totale influente al sistema.	200
Figura 4.93 Influenza della concentrazione delle specie chimiche in ingresso sui fattori di emissione cumulativi.....	201

Indice delle Tabele

Tabella 2.1 Sintesi della letteratura sui parametri di influenza sul processo via nitrito.	55
Tabella 2.2 Sintesi della letteratura sulle emissioni gassose.	81
Tabella 3.1 Impostazioni dei parametri EasyGestWWTP.	94
Tabella 3.2 Componentistica interna MIR9000CLD.	95
Tabella 3.3 Fondo scala dello strumento	97
Tabella 3.4 Fasi sperimentali e sintesi dei principali parametri operativi.	100
Tabella 3.5 Sintesi dei parametri determinati.	102
Tabella 3.6 Esempio di dati ottenuti da una prova di sedimentabilità.	111
Tabella 4.1 Fasi sperimentali e sintesi dei principali parametri operativi.	117
Tabella 4.2 Riepilogo prove condizionate.	118
Tabella 4.3 Riepilogo prove AUR-NUR condizionate.	120
Tabella 4.4 Tabella riassuntiva delle prove di NUR preliminari alla fase2.	122
Tabella 4.5 Impostazioni dei parametri EasyGestWWTP – Configurazione 1.	123
Tabella 4.6 Caratterizzazione refluo influente – Configurazione 1.	124
Tabella 4.7 Rapporti caratteristici e carichi di massa influenti – Configurazione 1.	125
Tabella 4.8 Carichi di massa comprensivi del dosaggio di reagenti – Configurazione 1.	125
Tabella 4.9 Parametri operativi e velocità cinetiche del processo biologico – Configurazione 1.	125
Tabella 4.10 Durata delle fasi e statistica cicli – Configurazione 1.	126
Tabella 4.11 Caratterizzazione refluo effluente – Configurazione 1.	127
Tabella 4.12 Carichi di massa emessi – Configurazione 1.	129
Tabella 4.13 Percentuali di impatto N ₂ O nel bilancio dell’azoto – Configurazione 1.	130
Tabella 4.14 Velocità cinetiche e concentrazione dei solidi.	133
Tabella 4.15 Velocità cinetiche e concentrazione dei solidi.	134
Tabella 4.16 Concentrazione di FA nelle varie fasi di prova.	135
Tabella 4.17 Velocità cinetiche e concentrazione dei solidi.	136
Tabella 4.18 Velocità cinetiche e concentrazione dei solidi.	137
Tabella 4.19 Velocità cinetiche e concentrazione dei solidi.	138
Tabella 4.20 Dosaggi NaOH con pH raggiunti.	139
Tabella 4.21 Dosaggi Ca(OH) ₂ (g) con pH raggiunti.	140
Tabella 4.22 Dosaggi Ca(OH) ₂ (ml) con pH raggiunti.	141
Tabella 4.23 Dosaggi Ca(OH) ₂ (ml) con pH raggiunti.	141
Tabella 4.24 Dosaggi Na ₂ CO ₃ (g) con pH raggiunti – Prova 1.	142
Tabella 4.25 Dosaggi Na ₂ CO ₃ (g) con pH raggiunti – Prova 2.	142
Tabella 4.26 Calcolo di NaOH effettivamente dosata, a partire da una soluzione al 15%.	144
Tabella 4.27 Calcolo di Ca(OH) ₂ effettivamente dosata, a partire da reagente solido.	145
Tabella 4.28 Calcolo di Ca(OH) ₂ effettivamente dosata, a partire da una soluzione 0.17%.	146
Tabella 4.29 Calcolo di Ca(OH) ₂ effettivamente dosata, a partire da una soluzione 0.5%.	147
Tabella 4.30 Calcolo di Na ₂ CO ₃ effettivamente dosato, a partire da reagente solido.	148
Tabella 4.31 Calcolo di Na ₂ CO ₃ effettivamente dosato, a partire da reagente solido.	149
Tabella 4.32 Schema riassuntivo degli alcalinizzanti utilizzati per le diverse matrici.	150
Tabella 4.33 Impostazioni dei parametri EasyGestWWTP – Configurazione 2.	152
Tabella 4.34 Caratterizzazione refluo influente – Configurazione 2.	152
Tabella 4.35 Rapporti caratteristici e carichi di massa influenti – Configurazione 2.	153
Tabella 4.36 Carichi di massa comprensivi del dosaggio di reagenti – Configurazione 2.	154
Tabella 4.37 Confronto consumo reagenti per m ³ di refluo trattato.	154
Tabella 4.38 Parametri operativi e velocità cinetiche del processo biologico – Configurazione 2.	155
Tabella 4.39 Durata delle fasi e statistica cicli – Configurazione 2.	156
Tabella 4.40 Condizioni iniziali delle prove considerate per il confronto.	157

Tabella 4.41 Valori delle velocità di consumo di FA in prova.	157
Tabella 4.42 Valori di consumo % di FA e NH_4 in prova.	158
Tabella 4.43 Valore del rapporto NH_4/FA iniziale delle prove AUR.	160
Tabella 4.44 Caratterizzazione refluo effluente – Configurazione 2.	161
Tabella 4.45 Carichi di massa emessi – Configurazione 2.	162
Tabella 4.46 Risultati prove eseguite al variare delle diverse temperature.	164
Tabella 4.47 Confronto tra le prove effettuate a diverso tempo di contatto.	165
Tabella 4.48 Risultati prove isoterme a 20°C e $\text{FA} = 2.5 \text{ mgNH}_4\text{-N/L}$	166
Tabella 4.49 Risultati prove isoterme a 20°C e $\text{FA} = 4.5 \text{ mgNH}_4\text{-N/L}$	166
Tabella 4.50 Risultati prove isoterme a 30°C	167
Tabella 4.51 Risultati prove isoterme a 10°C	167
Tabella 4.52 Risultati prove a elevato $\text{FA} \cdot t_{\text{mix}}$	170
Tabella 4.53 Condizioni testate e risultati prove a elevato $\text{FA} \cdot t_{\text{mix}}$	171
Tabella 4.54 Condizioni testate e risultati prove a 20°C e $\text{FA} \cdot t_{\text{mix}} = 400 \text{ min} \cdot \text{mgNH}_4\text{-N/L}$	171
Tabella 4.55 Condizioni testate e risultati prove a FA costante.	172
Tabella 4.56 Condizioni applicate durante le prove a ORP condizionato.	175
Tabella 4.57 Prestazioni ottenute dalle prove a ORP condizionato.	175
Tabella 4.58 Condizioni applicate durante le prove a pH condizionato.	177
Tabella 4.59 Prestazioni ottenute dalle prove di condizionamento del pH.	177
Tabella 4.60 Condizioni applicate durante le prove a diversi MLSS.	178
Tabella 4.61 Prestazioni ottenute dalle prove a diversi MLSS.	179
Tabella 4.62 Caratterizzazione refluo influente – Configurazione 3.	181
Tabella 4.63 Rapporti caratteristici e carichi di massa influenti – Configurazione 3.	182
Tabella 4.64 Parametri operativi e velocità cinetiche del processo biologico – Configurazione 3.	183
Tabella 4.65 Durata delle fasi e statistica cicli – Configurazione 3.	185
Tabella 4.66 Caratterizzazione refluo effluente – Configurazione 3.	185
Tabella 4.67 Parametri progettuali e operativi per l'upgrading del processo.	187
Tabella 4.68 Caratteristiche dei diversi sistemi di campionamento.	191
Tabella 4.69 Sintesi prove di calibrazione.	192
Tabella 4.70 Caratterizzazione chimico-fisica dell'influente ed effluente, efficienze di rimozione e parametri cinetici.	195
Tabella 4.71 Sintesi dei carichi di massa ottenuti dal monitoraggio in continuo.	197
Tabella 4.72 Sintesi dei carichi di massa ottenuti dal monitoraggio del processo via nitrito.	200
Tabella 4.73 Confronto tra le concentrazioni medie misurate nei due processi considerati.	201

1. Introduzione

«È necessario che il mondo capisca, una volta per tutte, che il tempo per agire è ora, e dobbiamo lavorare insieme per affrontare questa enorme sfida. Si tratta di un obiettivo morale della nostra generazione.»

Ban Ki-moon (Segretario generale delle Nazioni Unite), 2009.

L'acqua, la risorsa primaria senza cui gli uomini e gli esseri viventi del pianeta non potrebbero sopravvivere, si trova in profonda crisi. Il benessere delle popolazioni e la salute degli ecosistemi si trovano, in molti luoghi del pianeta, sotto pressione a causa dei cambiamenti del ciclo dell'acqua causati, per la maggior parte, da attività antropiche. Cause importanti dello stress idrico in cui versa il nostro pianeta sono, oltre ai cambiamenti climatici: l'uso smodato delle risorse, l'urbanizzazione, la desertificazione, il degrado dell'acqua dolce, la crescita della popolazione, la diffusione e l'aumento di stili di vita consumistici, la migrazione della popolazione dalla campagna alle città. Accanto a questo scenario vi è la consapevolezza che l'uso di acqua è triplicato a partire dalla metà del ventesimo secolo. Il prosciugamento di numerosi bacini e fiumi, nonché l'abbassamento delle falde, testimoniano l'impossibilità delle risorse idriche di tenere il passo con l'aumento della domanda: le popolazioni crescono, il consumo di acqua aumenta e di pari passo cresce anche l'inquinamento delle acque e il loro degrado. Ogni anno il 10% dei principali fiumi del pianeta non riesce a sfociare nel mare per alcuni mesi l'anno a causa spesso della domanda del settore agricolo. Il tutto riporta ad uno scenario drammatico in ambito mondiale. Secondo l'Organizzazione delle Nazioni Unite (ONU) un miliardo e seicentomila persone non hanno accesso all'acqua potabile e il 40% della popolazione mondiale non dispone di servizi igienici adeguati. Secondo le stime dell'ONU nei prossimi venti anni la quantità media pro capite di acqua disponibile diminuirà di un terzo rispetto ad oggi provocando gravissimi problemi all'agricoltura e all'irrigazione. Secondo i dati dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) nel 2025 due persone su tre potrebbero vivere in condizioni di scarsità di acqua e nei paesi in via di sviluppo il consumo di acqua aumenterà del 50% e del 18% nei paesi industrializzati. Se non si interverrà la crisi idrica colpirà nel 2050 tra i due e i sette miliardi di persone. L'acqua pur essendo un problema globale di fatto emerge nella sua drammaticità in scala locale: nei paesi ricchi (fra cui anche l'Italia), i problemi derivano dall'eccessivo sfruttamento, dagli sprechi, dalla mancanza di tutela, da un utilizzo sbagliato; nei paesi poveri, la sua carenza e penuria, provoca la morte di milioni di persone. In Italia, ancora oggi, il 35% della popolazione non dispone di acqua sufficiente per almeno tre mesi all'anno. Questo succede perché l'acqua è scarsa ma soprattutto perché è sprecata. Infatti meno del 20% dell'acqua potabile è usata per usi civili, rispetto agli altri usi (industriali ed agricoli) che potrebbero utilizzare acqua opportunamente trattata per il riutilizzo.

Non più rosea è la situazione dal punto di vista delle emissioni di composti gassosi, dell'aumento della temperatura globale, fenomeno planetario noto come *Global Warming*, e il notevole aumento dei casi di patologie legate all'inquinamento atmosferico. Le concentrazioni atmosferiche dei gas serra anidride carbonica (CO₂), metano (CH₄) e protossido di azoto (N₂O), sono tutte aumentate dal 1750 per effetto delle attività umane. Nel 2011 le concentrazioni di questi gas serra erano 391 ppm, 1803 ppb, e 324 ppb, e superavano i livelli pre-industriali rispettivamente di circa il 40%, 150%, e 20%. Ben chiara all'opinione pubblica è la connessione tra riscaldamento globale, combustione di vettori energetici fossili e disboscamento delle foreste, ma non molti sanno che l'incremento di questi gas è dovuto principalmente all'agricoltura industrializzata e all'allevamento intensivo. L'agricoltura industrializzata contribuisce in maniera significativa alle emissioni in atmosfera di questi tre gas, sia attraverso un uso elevato di energia sussidiaria proveniente dal combustibile fossile e sia attraverso una forte alterazione del metabolismo del suolo in seguito alle diverse forme di trattamento e di lavorazione. In particolare rappresenta la principale fonte di protossido di azoto, dovuto in gran parte al notevole apporto di N organico o minerale come fertilizzante che stimola i processi microbici di mineralizzazione del suolo. Si stima, infatti, che proprio dal suolo provenga circa il 50-70% delle emissioni totali di N₂O in atmosfera. Il metano, invece, viene rilasciato in grandi quantità dagli allevamenti zootecnici, sia come sottoprodotto dei processi digestivi degli animali allevati sia dalla gestione delle deiezioni che ne vengono generate. Secondo i dati diffusi dall'ISPRA (Istituto Superiore per la Protezione e Ricerca Ambientale) nel 2015 le emissioni di metano derivanti da questo settore sono state il 43% delle emissioni totali di CH₄.

Anche il settore della depurazione delle acque reflue contribuisce alla produzione di questi gas, N₂O e CH₄ durante i trattamenti biologici di rimozione dei nutrienti (sia aerobici che anaerobici) e CO₂ indirettamente dal consumo di energia per il funzionamento delle diverse unità operative. L'anidride carbonica emessa a causa del consumo di energia può essere ridotta direttamente aumentando l'efficienza energetica del sistema, realizzato contemporaneamente in questo modo un duplice obiettivo: la riduzione delle emissioni e la diminuzione dei costi di trattamento. Il protossido di azoto viene generato dai processi di nitrificazione e denitrificazione utilizzati per rimuovere i composti azotati. La sua produzione si verifica principalmente nelle unità biologiche a fanghi attivi (90%), mentre il restante 10% proviene dalla grigliatura e dalle vasche di stoccaggio dei fanghi. Le principali emissioni di metano sono legate alla linea fanghi, soprattutto negli

impianti in cui viene effettuata la digestione anaerobica. Questa unità e le altre operazioni a corredo di essa contribuiscono a circa il 72% delle emissioni di metano negli impianti di trattamento delle acque reflue, mentre la restante parte proviene dai reattori biologici in cui il metano può essere presente in forma disciolta. I dati purtroppo ancora oggi risultano incerti a causa di una carente rete di monitoraggio mondiale in grado di dare una stima più precisa ed attendibile.

Di fronte ai vasti e complessi problemi ambientali con cui la nostra generazione trova a interfacciarsi, economia, industria e singoli individui sono chiamati a cambiare abitudini e obiettivi, costruendo una società più sostenibile attraverso l'efficienza nell'uso delle risorse e dell'energia, la riduzione degli sprechi, la diffusione delle energie rinnovabili. L'equilibrio tra ambiente e sviluppo è una sfida continua per la gestione delle risorse e gli ecosistemi. Questo equilibrio richiede la collaborazione tra tecnologia, popolazione, istituzioni e mercati. Nella maggior parte dei casi fino ad oggi, le iniziative nei confronti dei problemi ambientali, non hanno avuto un approccio integrato. Agire in maniera efficace vuol dire agire in maniera pratica e puntuale, sviluppando nuovi approcci al problema valutando le tematiche ambientali ma anche gestionali e politiche, sviluppando regole sul mercato ed accordi internazionali che tutelino realmente le risorse, coinvolgendo in maniera partecipativa i diversi livelli della società. Tecnologie e tecniche atte a diminuire i consumi dell'acqua e le emissioni di gas serra rappresentano un importante aspetto di questi nuovi approcci, la cui implementazione risulta necessaria per la tutela della risorsa. La comunità scientifica internazionale è designata a ricoprire un ruolo chiave per vincere questa sfida epocale, essendo chiamata a fornire gli strumenti tecnici e le soluzioni idonee alla formazione di una consapevolezza dalla quale derivino scelte razionali tanto nella politica d'alto livello quanto nella vita quotidiana di ogni persona.

Il presente lavoro di ricerca si propone di contribuire, seppure in maniera insignificante, a quel grande sforzo che il mondo della ricerca è chiamato a compiere, non avendo assolutamente la pretesa di entrare nel merito delle complesse e multidisciplinari tematiche che negli ultimi decenni sempre più influenzano e condizionano la vita di milioni di persone a tutte le latitudini.

Lo studio della letteratura scientifica conferma la crescente attenzione per la ricerca di nuovi processi di trattamento delle acque reflue perseguendo l'obiettivo di combinare il raggiungimento di alti standard di qualità nell'effluente, la riduzione dei inquinanti rilasciati direttamente o indirettamente nell'atmosfera e il recupero di energia e di preziose materie prime dalle acque di scarico.

Il sistema tradizionale per la rimozione biologica dell'azoto dalle acque reflue urbane è il processo di nitrificazione-denitrificazione a fanghi attivi ma i limiti sempre più severi imposti dalle leggi sulla qualità dell'effluente e la crescente complessità delle matrici da trattare hanno richiesto un incremento dell'efficienza di rimozione da parte dei processi classici. Negli ultimi anni sono state sviluppate nuove tecnologie per migliorare la rimozione dell'azoto dai reflui: la nitrificazione-denitrificazione tramite nitrito, i processi ad aerazione intermittente, la bio-augmentation, i bioreattori a membrana (MBR) e i processi di rimozione autotrofa dell'azoto, come ad esempio la nitrificazione parziale associata all'ossidazione anaerobica dell'ammoniaca (Anammox). I vari processi presentano diversi campi di applicabilità in funzione delle differenti tipologie di refluo, delle configurazioni impiantistiche e delle prestazioni che si devono garantire. Bisogna inoltre tenere presenti le problematiche ambientali legate alla rimozione, piuttosto che al recupero, dei nutrienti e alla formazione ed emissione di composti gassosi. Data la natura del refluo da trattare e lo stato di fatto degli impianti presenti, sia in Italia che nel resto del mondo, il presente lavoro di ricerca si è incentrato sullo studio di un processo di nitrificazione-denitrificazione in continuo per la rimozione dell'azoto dalle acque reflue di origine urbana, valutando nello specifico le prestazioni e gli impatti idrici e gassosi. Questa tecnologia presenta diversi vantaggi rispetto al processo tradizionale di nitrificazione-denitrificazione, come ad esempio minori richieste di ossigeno da fornire in fase aerobica e di substrato carbonioso a supporto della fase anossica. L'obiettivo della ricerca è stato quello di comprendere i meccanismi che favoriscono l'avvio e la stabilità del processo via nitrito, studiando selettivamente attraverso la combinazione dei diversi parametri, prima tramite test in laboratorio poi in scala dimostrativa, quelli che maggiormente incidono sulle prestazioni del processo, cercando di velocizzare la fase di start-up e ridurre progressivamente il dosaggio dei reagenti esterni necessari per il condizionamento della biomassa. Inoltre, attraverso il monitoraggio continuo delle emissioni gassose, si è cercato di comprendere i meccanismi di formazione e rilascio in atmosfera dei gas, correlando i dati disponibili in letteratura con quelli ottenibili dalla sperimentazione.

Nella presente tesi sono descritti la piattaforma sperimentale universitaria ed il suo funzionamento: la struttura ed il processo ad aerazione intermittente con cui si è operato, i sistemi di controllo e di gestione della filiera e i risultati ottenuti dal trattamento. Il lavoro verrà presentato suddiviso in più sezioni, i risultati ottenuti in ciascuna fase sono stati interpretati in funzione sia dei segnali acquisiti in campo tramite sonde on-line sia delle caratterizzazioni dei reflui influenti, effluenti e del fango biologico. Inoltre sono stati condotti studi cinetici sulla biomassa per monitorare la variazione dei principali parametri del processo durante la sperimentazione. Sempre presso la piattaforma, una stazione di monitoraggio in continuo delle emissioni ha permesso di ottenere i profili dei gas emessi dall'unità biologica oggetto dello studio.

2. Stato dell'arte

L'obiettivo principale da conseguire nel trattamento biologico delle acque reflue è quello di rimuovere o ridurre la concentrazione dei composti organici e inorganici riproducendo, almeno in parte, quello che avviene in natura, ma in spazi contenuti e con velocità nettamente superiori. I processi biologici si basano sull'impiego di microrganismi (quali batteri, funghi, protozoi, rotiferi, alghe) specializzati nella trasformazione di materiale organico carbonioso e di nutrienti quali azoto e fosforo. Tali sostanze infatti rappresentano per i microrganismi il substrato, ossia le sostanze nutritive, che utilizzano per il loro metabolismo (crescita e riproduzione). A livello di reazioni biochimiche si realizzano una serie di degradazioni aerobiche, o più raramente anaerobiche, ed una più o meno spinta mineralizzazione di una parte del substrato con formazione di prodotti gassosi di catabolismo (CO_2 , N_2 , N_2O , NO_x , H_2 , CH_4) e H_2O . Un'altra parte di substrato viene invece utilizzata per la sintesi di nuove cellule. Si verifica così che mentre una parte del substrato viene trasformato e si libera in atmosfera, una seconda parte va a costituire il residuo definito fango di depurazione. In questo capitolo, dopo una breve introduzione sui meccanismi biologici per la rimozione dell'azoto, si descriverà il processo di nitrificazione parziale (*partial nitrification*) e tutti gli aspetti connessi con l'applicazione del processo a reflui a basso carico di azoto e le emissioni gassose correlate con il processo passando in rassegna gli articoli di letteratura che hanno in qualche modo guidato la ricerca effettuata.

2.1. La rimozione biologica dell'azoto

L'azoto ammoniacale smaltito in un corpo idrico naturale esercita una azione tossica e va incontro, a causa dei fenomeni di autodepurazione biologica, all'ossidazione fino a nitrato, che avviene con un notevole consumo di ossigeno disciolto e causa quindi un certo deficit di ossigeno nel corpo idrico. La rimozione dei nitriti e dei nitrati dai liquami, mediante il processo di denitrificazione, viene perseguita allo scopo sia di evitare fenomeni di eutrofizzazione sia di preservare gli usi idropotabili dell'acqua dai rischi per la salute connessi alla presenza di nitrati. Poiché negli impianti di depurazione per liquami domestici e similari, l'azoto è presente principalmente in forma ammoniacale, 60%, ed in forma organica, 40%, i sistemi di denitrificazione devono essere, in genere, accoppiati a sistemi di nitrificazione che siano in grado di trasformare la maggior parte dell'azoto totale presente in azoto nitrico perché possa essere in seguito sottoposto a denitrificazione. Mentre un trattamento biologico classico a fanghi attivi ha un'efficienza di rimozione dell'azoto totale dell'ordine del 10-40% dovuta a fenomeni di bioflocculazione e sintesi batterica, la denitrificazione, accoppiata alla nitrificazione, è in grado di rimuovere il 90%, ed oltre, dell'azoto totale presente nel liquame.

Nitrificazione

Con il termine nitrificazione si indica il processo biologico a due stadi, nel quale l'azoto ammoniacale ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) viene ossidato a nitriti ($\text{NO}_2^-\text{-N}$), e quindi i nitriti vengono ossidati a nitrati ($\text{NO}_3^-\text{-N}$). Il processo di nitrificazione rientra nell'ambito degli interventi finalizzati alla protezione della qualità delle acque, dal momento che (i) l'azoto ammoniacale modifica la concentrazione di DO nei corpi idrici ricettori e può essere tossico per le forme di vita acquatiche, (ii) attraverso la rimozione dell'ammoniaca è possibile limitare il fenomeno dell'eutrofizzazione, e (iii) la limitazione del contenuto ammoniacale nelle acque contribuisce a produrre un effluente adatto al riutilizzo.

I batteri autotrofi aerobici sono responsabili del processo di nitrificazione negli impianti di trattamento a fanghi attivi. La nitrificazione è un processo a due stadi che coinvolge due gruppi distinti di batteri, responsabili ciascuno di uno degli stadi. I batteri nitrificatori, denominati AOB (*Ammonia Oxidizing Bacteria*), sono responsabili della formazione dei nitriti a partire dall'ammoniaca. Il ceppo batterico dei Nitrosomonas è comunemente riconosciuto come principale responsabile del processo, appartengono al gruppo degli AOB anche i Nitrospira, Nitrosococcus, Nitrosolobus, Nitrosovibrio. I batteri nitratatori, denominati NOB (*Nitrite Oxidizing Bacteria*), ossidano a loro volta i nitriti prodotti e danno origine ai nitrati. I Nitrobacter sono i più diffusi, ma sono coinvolti anche i gruppi Nitrosopina, Nitrococcus, Nitrospira. Il processo è strettamente aerobico (AOB e NOB sono aerobi obbligati, cioè la crescita avviene solo in ambiente aerobico ma l'assenza di ossigeno non è letale) e autotrofico, cioè la fonte di carbonio per la riproduzione cellulare è costituita da CO_2 o bicarbonati (carbonio inorganico), mentre l'energia deriva dall'ossidazione dell'ammoniaca. La stechiometria di conversione di articola sulle seguenti reazioni successive:

Reazione di nitrosazione



La quale avviene a sua volta nelle due fasi:





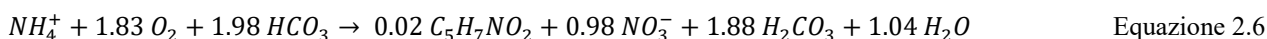
Reazione di nitratazione



La reazione globale risulta quindi:



Considerando anche il processo di assimilazione costituito dalla produzione di biomasse ($C_5H_7NO_2$) tramite l'uso di CO_2 e NH_4 , la reazione globale può essere scritta nella forma:



Dall'equazione stechiometrica emerge che complessivamente sono richiesti 4.57 g di ossigeno per 1 g di NH_4^+ -N ossidato a NO_3^- -N. La concentrazione di ossigeno disciolto da tenersi nei reattori può costituire un fattore limitante e generalmente è almeno pari a 2 mg/L. Il consumo di alcalinità è pari a 7.14 g di calcio carbonato ($CaCO_3$), per 1 g di NH_4^+ -N ossidato a NO_3^- -N con conseguente riduzione del pH quando l'alcalinità iniziale non è sufficientemente elevata per tamponare l'acidità prodotta durante la nitrificazione. Globalmente il 98% dell'ammoniaca viene ossidata mentre solo il 2% è impiegata per la sintesi di nuova biomassa.

Denitrificazione

La denitrificazione è parte integrante del processo di rimozione biologica dell'azoto e prevede la riduzione dei nitrati ad azoto molecolare gassoso attraverso gli intermedi nitrito e protossido di azoto ad opera di batteri eterotrofi facoltativi. La presenza contemporanea di ossigeno disciolto e nitrati porta all'utilizzo preferenziale dell'ossigeno per motivi energetici; tuttavia la differenza tra il processo di respirazione aerobica e di denitrificazione è nella presenza di un enzima nitrato-riduttasi il quale contribuisce al trasferimento dell'idrogeno e degli elettroni verso l'accettore finale rappresentato dai nitrati. Il processo è schematizzabile come segue:



I substrati necessari alla denitrificazione possono provenire da fonti di carbonio esterno (sostanze organiche esterne rapidamente biodegradabili come CH_3OH metanolo, o CH_3COOH acido acetico) o da fonti di carbonio interne, cioè da substrati normalmente presenti nelle acque reflue in ingresso. Le reazioni dissimilative di riduzione dell' NO_3^- -N sono rappresentate dalle seguenti equazioni stechiometriche:



Dall'equazione, emerge una produzione di alcalinità pari a 3.57 mg di calcio carbonato ($CaCO_3$) per mg di NO_3^- -N ridotto (o NO_2^- -N ridotto). Per questo motivo, nei processi a fanghi attivi durante il processo di denitrificazione, si assiste in genere ad un aumento del pH; questo comportamento è opposto rispetto al calo di pH che si rileva durante la nitrificazione, ma i due contributi non si equilibrano, in quanto la perdita di alcalinità per la rimozione dell'ammoniaca (7.14 mg $CaCO_3$) è maggiore della frazione che viene recuperata con la denitrificazione (3.57 mg $CaCO_3$).

Attualmente il processo a fanghi attivi a crescita sospesa rappresenta la tecnologia più diffusa negli impianti per la rimozione di carbonio e azoto. Il processo di ossidazione dell'ammoniaca combinato insieme a quello di riduzione dei nitrati prodotti consente la rimozione di elevati carichi di nutrienti e garantisce, nonostante la complessità delle matrici sia domestiche che industriali, affidabilità gestionale un'ampia scala di applicabilità. Tali processi si distinguono principalmente per il layout impiantistico adottato, nello specifico nel posizionamento della zona di anossia. Essa può essere inserita a valle, all'interno oppure a monte della vasca di nitrificazione: tali alternative vengono rispettivamente definite post-denitrificazione, nitrificazione-denitrificazione simultanea (SNDN), in cui la nitrificazione e la denitrificazione si svolgono nella medesima vasca e pre-denitrificazione.

2.2. Il processo via nitrito

Il nitrito è un composto intermedio in entrambi i passaggi di nitrificazione e denitrificazione. In fase aerobica sono coinvolti due diversi gruppi di batteri, quelli che ossidano l'ammoniaca a nitrito (AOB, *Ammonia Oxidizing Bacteria*) e gli ossidanti del nitrito a nitrato (NOB, *Nitrite Oxidizing Bacteria*), mentre in fase anossica lo stesso azoto nitroso viene riconvertito in nitrito e successivamente in azoto molecolare gassoso. La rimozione dell'azoto può essere effettuata via nitrificazione parziale dell'ammoniaca allo stadio di nitrito e denitrificando i nitriti in fase anossica (Surmacz-Gorska, 1997; Hellinga, 1998).

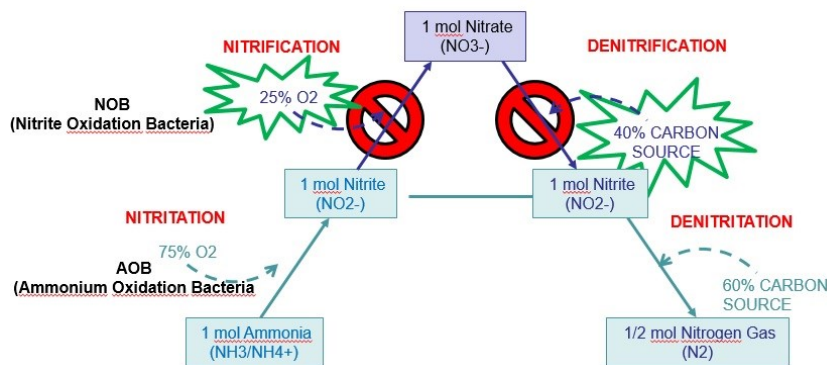


Figura 2.1 Nitrificazione-denitrificazione biologica tramite nitrificazione parziale.

La nitrificazione parziale può essere ottenuta inibendo selettivamente i batteri NOB che ossidano i nitriti a nitrati, regolando opportunamente alcuni parametri di processo, in modo da favorire un accumulo di nitriti e impedire la seconda fase della nitrificazione. Rispetto alla nitrificazione-denitrificazione convenzionale, i principali vantaggi (Beccari, 1983; Turk e Mavinic, 1987; van Kempen, 2001) del passaggio via nitrito sono:

- La riduzione del consumo di ossigeno in fase aerobica del 25% con risparmi energetici fino al 60%;
- Minor richiesta di carbonio esterno, fino al 40%, in fase anossica;
- Le velocità di denitrificazione via nitrito sono da 1.5 a 2 volte più alte di quelle tramite nitrati;
- Le emissioni di CO₂ sono ridotte del 20%;
- La produzione di fanghi è mediamente ridotta del 40%.

Il punto chiave è favorire il processo di nitritazione e allo stesso tempo inibire o sopprimere il processo di nitratazione per avere una biomassa autotrofa arricchita in AOB. Come si vedrà in seguito le condizioni più favorevoli alla promozione di tale processo risultano facili da trovare nei reflui ad alta concentrazione di ammoniaca o bassi rapporti C/N (Surmacz-Gorska, 1997; Hellinga, 1998) quali ad esempio i surnatanti della linea fanghi, i percolati di discarica, i reflui zootecnici, agroalimentari o industriali. Come raggiungere e mantenere stabile il processo in altre tipologie di acque reflue e nelle condizioni usuali degli impianti tradizionali attrae l'attenzione di un numero sempre maggiore di ricercatori. Fino ad ora i processi di nitrificazione parziale sono stati ottenuti principalmente in reattori a carico sequenziale, limitandone la diffusione e applicabilità su grande scala. Di seguito verranno descritti i parametri che entrano in gioco nel controllo del processo via nitrito.

Temperatura

L'energia di attivazione dei due gruppi di batteri AOB e NOB e la loro sensibilità ai cambiamenti di temperatura sono nettamente differenti. (Hellinga, 1998). L'aumento di temperatura può non solo promuovere i tassi di crescita degli AOB, ma può anche amplificare le differenze dei tassi di crescita specifici tra AOB e NOB. (Yoo, 1999). Tonkovic (1998) ha rilevato che il nitrito viene accumulato in un impianto a fanghi attivi soprattutto nel periodo estivo, tuttavia ci sono vari punti di vista riguardo la temperatura ottimale. Utilizzando colture pure, quella per gli AOB è 35°C mentre per gli NOB 38°C (Camilla e Gunnel, 2001). Dal punto di vista dei tassi di crescita specifici, diversi studi hanno dimostrato che per temperature al di sopra dei 25°C la velocità di crescita specifica dei batteri AOB prevale su quella dei batteri NOB, mentre si verifica il contrario per temperature al di sotto dei 15°C (Van Dongen, 2001; Brouwer, 1997).

Età del fango (SRT)

L'accumulo degli AOB e il washout degli NOB si possono ottenere regolando adeguatamente l'SRT in un sistema a crescita sospesa a causa delle diverse età minime dei fanghi richieste. Sulla base di esperienze di lavoro in piena scala, van Kempen (2001) suggerisce di mantenere l'SRT tra 1 e 2.5 giorni. In letteratura sono riportati anche casi di nitrificazioni parziali ottenute con SRT lunghi compensando con concentrazioni di ossigeno limitanti (Pollice, 2002) o con alte concentrazioni ammoniacali (Wu, 2016).

Concentrazione dell'ossigeno disciolto

I coefficienti di semi-saturazione dell'ossigeno disciolto per gli AOB e gli NOB sono rispettivamente 0.2-0.4 mg/L e 1.2-1.5 mg/L (Picioreanu, 1997). Di conseguenza una bassa concentrazione di ossigeno disciolto è più limitante per la crescita degli NOB che per quella degli AOB, portando all'accumulo di nitriti. Anche se molte ricerche riportano che DO più bassi possono inibire la crescita degli NOB e determinare l'accumulo degli AOB, in letteratura sono riportati diversi valori critici di ossigeno disciolto (Laanbroek and Gerards, 1993; Wyffels, 2004). Ciudad (2005) riportano i risultati ottenuti facendo lavorare un reattore a fanghi attivi con diverse concentrazioni di ossigeno disciolto e analizzando l'accumulo di nitriti e la rimozione dell'ammoniaca. I risultati hanno mostrato che a 1.4 mgO₂/L si verificava un accumulo di nitriti del 75% e una rimozione dell'ammoniaca del 95%. Inoltre l'accumulo di nitriti rimaneva stazionario per oltre 170 giorni di lavoro. È da notare il fatto che concentrazioni di ossigeno disciolto più basse rallentano la velocità di nitrificazione e causano bulking sludge (fango con scarse caratteristiche di sedimentabilità e presenza di microrganismi filamentosi). Considerando il grado di ossidazione dell'ammoniaca e l'accumulo di nitriti, la concentrazione di ossigeno disciolto dovrebbe essere mantenuta attorno a 1.0-1.5 mgO₂/L. È opportuno usare un sistema di controllo in tempo reale per regolare la concentrazione dell'ossigeno disciolto nel reattore. Spesso nel profilo del DO compare un break point dell'ammoniaca, al quale corrisponde un minimo del pH alla fine della nitrificazione per processi SBR. Il processo di nitrosazione può essere, quindi, controllato identificando i due punti ("ammonia valley" e "ammonia break point") ed evitando alte concentrazioni di ossigeno disciolto e sovra-aerazione (Peng, 2006).

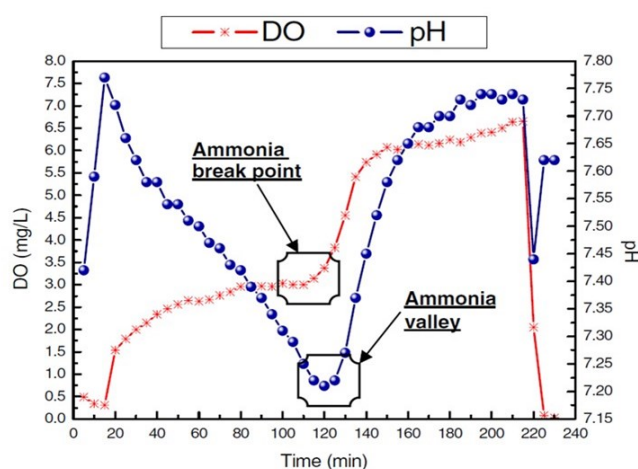


Figura 2.2 Variazione tipica di DO e pH per la rimozione del substrato organico e la nitrificazione in un processo SBR.

Condizioni operative e di aerazione

Le condizioni operative di aerazione si propongono come parametro alternativo per controllare l'ossidazione di ammoniaca a nitrito (Hidaka, 2002). La durata del tempo di aerazione è risultata essere inversamente proporzionale al grado di accumulo di nitrito (Turk e Mavinic, 1987). I processi ciclici, in adeguate condizioni di controllo, sono quelli che riescono maggiormente ad ottenere una certa stabilità nella nitrificazione. L'uso dell'aerazione intermittente favorisce l'accumulo dei nitriti (Pollice, 2002) ed è necessario garantire un set-point massimo su base DO in modo da non superare i valori limite precedentemente esposti. Per quanto riguarda la fase anossica: l'attivazione dei diversi enzimi per la denitrificazione non è immediata ma progressiva, dipendente dalla sintesi di composti intermediari all'interno delle cellule, dunque è necessario aspettare un certo tempo per rendere realmente funzionali i batteri denitrificanti. In questo senso la lunghezza del periodo anossico è importante per raggiungere la completa denitrificazione. Secondo Baumann (1997), un periodo anossico di 4 ore è sufficiente per sintetizzare tutti gli enzimi e avere una completa denitrificazione. Oltre al tipo di aerazione è importante la concentrazione di substrato presente, infatti gli r-AOB (batteri a crescita veloce) sono caratterizzati da un valore di costante di semi-saturazione dell'ammoniaca più alto rispetto ai batteri a crescita lenta (K-AOB), rispettivamente 5.23 mgN/L e 3.47 mgN/L (Wu, 2016). Per questo motivo una riproduzione più veloce è facilmente ottenibile in presenza di alte concentrazioni di ammoniaca e lo è meno nelle comuni acque reflue urbane.

Controllo della concentrazione del substrato e del carico

I risultati della ricerca hanno mostrato che gli AOB possono essere divisi in due diversi gruppi di batteri: a crescita lenta e a crescita veloce. Il gruppo di batteri a crescita veloce presenta una maggiore affinità per il substrato ammoniacale in quanto il coefficiente di semi saturazione per l'ammoniaca risulta più basso, perciò può crescere in condizioni di bassa concentrazione di substrato con un tasso di crescita specifico elevato. Al contrario, il gruppo di batteri a crescita lenta mostrano una minore affinità per il substrato e può crescere solo con elevata concentrazione di ammoniaca. I tassi di crescita in funzione del substrato per gli AOB sono mostrati in Figura 2.3. Per tale motivo ne risulta che la nitrificazione parziale è più facilmente applicabile in acque reflue con elevate concentrazioni di ammoniaca perché la crescita degli AOB è superiore mentre è di più difficile attuazione e mantenimento nel trattamento di acque reflue urbane (van Dongen, 2001). Un altro parametro da tenere in considerazione è il rapporto C/N, in quanto secondo Okabe (1999) un valore

elevato ritarda l'accumulo dei batteri nitrificanti, in particolare NOB. I risultati sperimentali di Nowak (1996) hanno dimostrato che l'ossidazione del nitrito potrebbe essere influenzata anche dalla carenza di fosforo, il cosiddetto blocco fosfato. Il coefficiente di semi saturazione del fosfato per gli NOB è di 0.2 mgP/L, circa un ordine di grandezza superiore per AOB (0.03 mgP/L). L'ossidazione del nitrito risulta sostanzialmente ridotta a livelli di fosfato inferiori a 0.2 mgPO₄-P/L. La presenza di fosfato, piuttosto che la sua assenza, ha anche un profondo effetto sulla denitrificazione e favorisce quindi l'accumulo di nitrito.

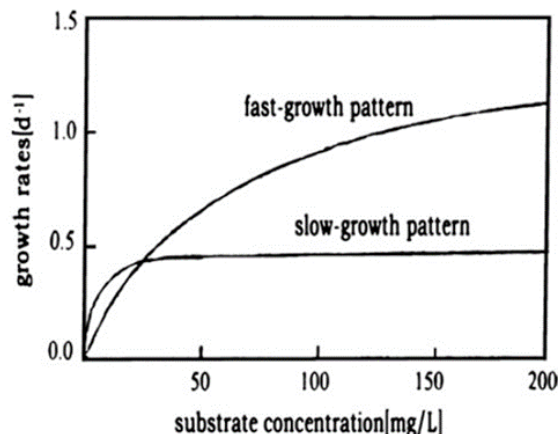


Figura 2.3 Curva di crescita dei due tipi di batteri ammoniacali-ossidanti.

pH

L'attività dei batteri della nitrosazione AOB e della nitratazione NOB può essere compromessa dalla presenza di inibitori della nitrificazione in maniera diversa e a concentrazioni diverse. Il pH può essere usato per controllare la concentrazione di tali inibitori in modo da ridurre la velocità di crescita degli NOB rispetto a quella degli AOB e creare un conseguente accumulo di nitriti. Le condizioni di inibizione furono illustrate per la prima volta da Anthonisen (1976) (Figura 2.4). Questa figura mostra quattro zone di interazione:

- Zona 1: inibizione di Nitrobacter e Nitrosomonas da NH₃;
- Zona 2: inibizione di Nitrobacter da NH₃;
- Zona 3: completa nitrificazione;
- Zona 4: inibizione dei Nitrobacter da HN0₂.

Queste zone sono delimitate da intervalli che dipendono dalle varie condizioni operative, in particolare la temperatura e l'acclimatazione dei microrganismi all'inibizione da substrato il quale, secondo Turk (1987), gioca un ruolo importante. Da letteratura si nota come l'ambiente preferito dai batteri nitrificanti sia quello alcalino con valori maggiori di 7.5, con un pH raccomandato pari a 8.3 (Jubany, 2009).

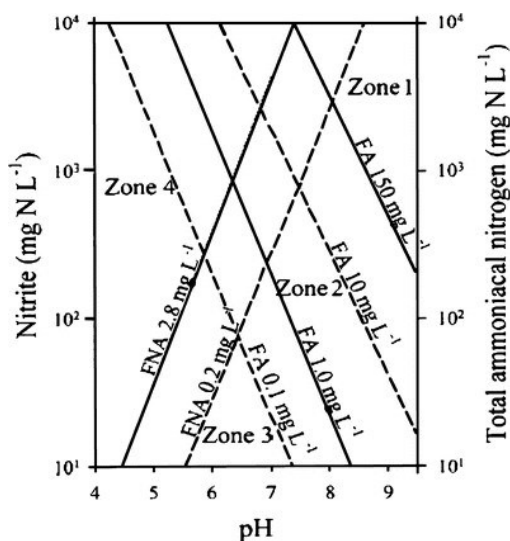


Figura 2.4 Schema di inibizione di Anthonisen.

Influenza dell'ammoniaca libera (FA)

L'Ammoniaca libera (FA – *Free Ammonia*) è un inibitore per l'attività di ossidoriduzione dei nitriti, che si trova sulla membrana delle cellule degli NOB (Yang, 2007). L'inibizione di ammoniaca libera sui due gruppi di batteri è differente, e la relazione tra concentrazione di ammoniaca libera e pH è la seguente (Anthonisen, 1976):

$$FA = \frac{17[NH_4^+] + 10^{pH}}{14K_a/K_w 10^{pH}} \quad \text{Equazione 2.11}$$

Dove:

FA = concentrazione ammoniaca libera in mgNH₃-N/L;

[NH₄⁺] = concentrazione di ammoniaca in mgNH₄/L;

K_a = costante di dissociazione ionica dell'ammoniaca;

K_w = costante di dissociazione ionica dell'acqua.

Il rapporto fra queste due costanti dipende dalla temperatura $K_a/K_w = e^{6334/[273+T(^{\circ}C)]}$.

Molti ricercatori hanno confermato che l'accumulo di nitrito potrebbe essere raggiunto mediante il controllo del pH per controllare la concentrazione di ammoniaca libera (Peng, 2006). Una concentrazione di FA di 0.1-1 mgNH₃-N/L inibisce gli NOB mentre una concentrazione di 10-150 mgNH₃-N/L inibisce anche gli AOB (Beck, 2007). Per concentrazioni FA > 7 mgNH₃-N/L la reazione di ossidazione dell'ammoniaca ad opera dei batteri AOB viene inibita e può quasi cessare per FA = 20 mgNH₃-N/L secondo Abeling e Seyfried (1992). Gli NOB risultano più sensibili alla presenza di NH₃ libera anche per concentrazioni basse come 1 mgN/L, con una percentuale di inibizione che raggiunge il 90% per circa 2 mgN/L. Tuttavia, risultati leggermente diversi sono stati ottenuti in reattori con alimentazioni continue e semicontinue, sulle quali l'acclimatazione dei microrganismi consente più alte concentrazioni di NH₃ libera. Nonostante l'inibizione in presenza di concentrazioni limite di ammoniaca FA > 3.5 mgNH₃-N/L per gli NOB, è stato riportato che il sistema può lavorare in condizioni stazionarie fino a concentrazioni di FA = 50 mgNH₃-N/L (Wong-Chong e Loehr, 1978). L'ammoniaca libera inibisce l'attività dei batteri NOB ma non li uccide. Infatti Ford et al. (2005) riportano che sia la nitrosazione che la nitratazione possono essere inibite per concentrazioni di FA > 24 mgNH₃-N/L, ma che esse riprendono non appena la concentrazione di ammoniaca libera torna sotto al limite. Si introduce quindi il concetto di "tempo di recupero" per spiegare il fatto che gli NOB possono riconquistare la propria attività nitrante dopo un ritorno a condizioni non inibenti.

Influenza dell'acido nitroso libero (FNA)

I risultati della ricerca suggeriscono una concentrazione di acido nitroso libero (FNA – *Free Nitrous Acid*) pari a 0.13 mgHNO₂/L come soglia di tossicità per i batteri nitrito denitrificanti NOB (Abeling e Seyfried, 1992). Un meccanismo di inibizione che è stato proposto per descrivere la tossicità dell'acido nitroso è che questo agisce come un disaccoppiatore donando un protone all'interno della cellula, che interferisce direttamente con il gradiente transmembrana del pH richiesto per la sintesi dell'ATP. Il pH regola l'equilibrio tra nitriti e acido nitroso secondo il seguente rapporto:

$$FNA = \frac{47[N - NO_2] + 10^{pH}}{14 K_b 10^{pH}} \quad \text{Equazione 2.12}$$

Dove:

FNA = concentrazione acido nitroso libero in mgHNO₂-N/L;

[N – NO₂] = concentrazione di nitriti in mgNO₂-N/L;

K_b = costante di dissociazione ionica dell'acido nitroso.

Valori di pH maggiori di 7 presentano l'effetto di limitare la conversione dei nitriti in acido nitroso favorendo così la stabilità di una nitrificazione parziale. Per concentrazioni maggiori di 2.8 mgHNO₂/L si ha inibizione di AOB e NOB (Anthonisen, 1976).

Influenza dell'idrossilammina

La presenza di idrossilammina (NH₂OH) ha una forte correlazione con una bassa attività di nitrificazione. È un prodotto intermedio che si forma durante la nitrosazione (AOB) e mostra una tossicità acuta verso gli NOB, determinando un accumulo di nitriti nel sistema di nitrificazione (Hu, 1990). Già in presenza di una concentrazione di 0.42 mgNH₂OH/L gli NOB vengono inibiti e non avviene l'ossidazione dei nitriti a nitrati. Inoltre questo effetto di inibizione è stato dimostrato irreversibile. L'accumulo di NH₂OH avviene soprattutto in sistemi nitrificanti con alta concentrazione di NH₃/NH₄⁺, carenza di ossigeno e pH elevati.

2.3. L'impatto della depurazione nelle emissioni gassose

Dalla teoria classica dei processi biologici di nitrificazione/denitrificazione sembrerebbe che le uniche forme gassose che si sviluppano in fase liquida e si trasferiscono in atmosfera siano costituite da emissioni di azoto gas (N_2). Solo negli ultimi anni è iniziata una fase di valutazione per indagare l'effettiva composizione e quantità di tali emissioni: oltre all'atteso N_2 , evidenze sperimentali hanno mostrato la presenza di ossido nitrico (NO) e protossido di azoto (N_2O), ammoniaca (NH_3), ma anche metano (CH_4) e anidride carbonica (CO_2) (Bani, 2009; Cakira, 2005; Foley, 2010; Monteith, 2005). Dal momento che ogni tonnellata di N_2O ha lo stesso GWP di 310 t di CO_2 l'emissione di protossido d'azoto desta particolare preoccupazione; si stima che le emissioni di N_2O derivanti dalla gestione delle acque reflue contribuiscono al 25% del totale di emissioni dei gas a effetto serra dell'intera catena dell'acqua, intesa come produzione di acqua potabile, trasporto di acqua, acque reflue, fanghi di trattamento e scarico (Frijters, 2007).

Secondo diversi studi, le emissioni di composti d'azoto si registrano principalmente in fase aerobica, nonostante il protossido di azoto si produca anche in fase anossica: la mancanza di aereazione attiva nei comparti anossici non fa registrare emissioni significative da queste zone, per cui il protossido resta solubile in fase liquida, prima di essere strappato con l'avvio dell'aerazione. Durante le fasi pienamente aerobiche, con $DO > 2$ mg/L, la nitrificazione dell'ammoniaca presente in fase liquida a NO_2^- avviene dapprima grazie agli AMO (enzima ammoniaca mono ossinagenasi), che ossidano l'ammoniaca ad idrossilammina (NH_2OH), e successivamente grazie agli HAO (enzima idrossilammina ossido reduttasi), che ossidano l'idrossilammina generando prima NOH (radicale nitrosile instabile) e poi NO_2^- . Durante quest'ultimo passaggio ($NOH \rightarrow NO_2^-$) si forma sempre NO come prodotto intermedio per scissione enzimatica, mentre N_2O può formarsi dalla ripartizione instabile di NOH per via chimica o dalla riduzione di NOH per via biologica. Le condizioni operative hanno un forte impatto sull'emissione di ossido di diazoto, le cui concentrazioni aumentano ad esempio a seguito di una transizione anossico-aerobico in vasca e da un pH elevato, poiché entrambi incrementano il tasso di ossidazione di NH_3 da parte degli AOB. Oltre all'ossidazione aerobica dell'ammoniaca, durante la nitrificazione potrebbe formarsi anche il tetraossido di diazoto N_2O_4 . La fase di nitrificazione è completata dagli NOB che ossidano, mediante l'enzima NOS, NO_2^- a NO_3^- .

Nei casi in cui o non si hanno condizioni aerobiche certe ($DO < 0.5$ mg/L) o si hanno bassi SRT, potrebbe innescarsi una nitro/denitro simultanea che comporta la riduzione di NO_2^- a NO, N_2O e N_2 da parte degli AOB autotrofi.

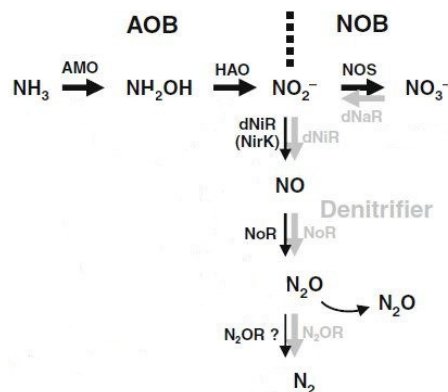


Figura 2.5 Percorsi di produzione di N_2O e NO nei processi biologici.

Quando si innesca un processo di nitrificazione/denitrificazione simultaneo, i prodotti della nitrificazione possono sommarsi ai prodotti del percorso N/D aggravando il bilancio delle emissioni globali. N_2O e NO si formano nel caso in cui si ha inattivazione e/o assenza di determinati enzimi che non riescono a completare la conversione a N_2 . Nel caso di denitrificazione eterotrofa, si ha la riduzione sequenziale del nitrato prodotto nella nitrificazione a nitrito e poi ad azoto gassoso, per cui il N_2O è un intermedio obbligatorio. Di seguito verranno descritti i parametri operativi che influenzano la produzione e rilascio delle emissioni gassose nei processi biologici associati alla depurazione.

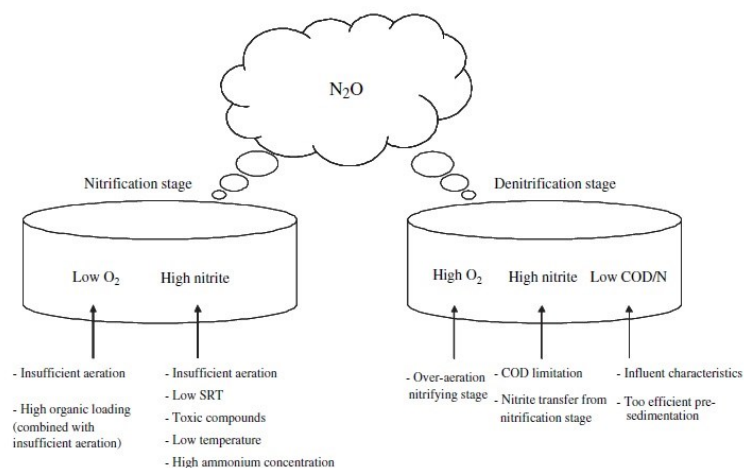


Figura 2.6 Fattori che influenzano la produzione di N₂O.

Aerazione

Come accennato, le emissioni dipendono moltissimo dalle condizioni aerobiche che si instaurano in vasca, per cui il tasso di aerazione risulta fondamentale nello strippaggio di N₂O e NO, prodotti durante una nitrificazione incompleta e/o accumulati in fase anossica. Nei processi di nitrificazione la concentrazione di ossigeno disciolto è il parametro che influenza maggiormente le emissioni di NO e N₂O (Kuai, 1998). Durante le fasi di aerazione, un fattore fondamentale per limitare le emissioni di ossidi di azoto è l'efficienza del controllo dell'ossigeno, in quanto un incremento della portata di aria può determinare un aumento delle emissioni. Al contrario, se si mantiene l'ossigeno ad un valore troppo basso, si verificherà un aumento delle concentrazioni dei gas emessi, dovuto proprio alla limitazione dell'ossigeno. Durante le fasi anossiche, si verifica un accumulo di N₂O e, in misura minore, di NO che porta alle emissioni di ossidi di azoto a causa dello strippaggio in fase di aerazione (Hanak, 1992). Lo studio condotto da Hu (2010), sugli effetti dell'aerazione in un sistema SBR alimentato con un refluo sintetico, hanno evidenziato che la maggiore produzione di N₂O si ha in fase aerobica, indipendentemente dal tasso dell'aerazione. Infatti lo studio ha mostrato che la denitrificazione incompleta era la principale causa delle alte emissioni di N₂O a portate di aria basse, mentre la nitrificazione incompleta lo era in caso di portate di aria alte. Per migliorare l'efficienza del processo di rimozione dell'azoto e, nello stesso tempo, ridurre i consumi energetici e le emissioni di ossidi di azoto è necessario individuare la portata di aerazione ottimale in base alle caratteristiche del refluo da trattare.

Variazioni delle condizioni operative

Un altro parametro che influenza le emissioni è rappresentato dalle transizioni aerobiche-anossiche all'interno della vasca biologica, causate da variazioni di DO legate ad aumenti di carico o limitazioni nell'aerazione, ma anche dall'alternanza stessa delle fasi, prevista dal tipo di processo. Questi cambi di condizioni ambientali possono causare un aumento delle emissioni dovute essenzialmente all'innescarsi di un processo di denitrificazione autotrofa da parte degli AOB. Anche le repentine variazioni delle condizioni operative di processo hanno un impatto sulle emissioni: variazioni del carico di ammoniaca in ingresso, di DO in vasca e di concentrazione di nitriti, portano ad un incremento delle emissioni di N₂O.

Concentrazione di nitriti

L'accumulo di nitrito è stato considerato uno dei principali fattori che determinano l'aumento della produzione di N₂O nel reattore di nitrificazione dei processi BNR (Beline, 1999; Park, 2000). Infatti è stata dimostrata l'esistenza di una forte correlazione tra l'aumento del carico di ammoniaca, l'accumulo di nitrito nella vasca di ossidazione e l'incremento dell'emissione di N₂O (Colliver, 2000). I nitriti, se presenti in concentrazioni maggiori di 10 mg/l, possono influire sulla formazione di protossido di azoto da parte dei batteri denitrificanti. Con riferimento alle emissioni di NO, Kampschreur (2007) hanno condotto un esperimento per identificare quale percorso metabolico è il principale responsabile delle emissioni in un processo convenzionale. Le possibilità esaminate erano la nitrificazione, la denitrificazione da parte degli AOB con ammoniaca come donatrice di elettroni e la denitrificazione eterotrofa. Durante la sperimentazione lo 0.025% dell'ammoniaca influente è stata emessa come NO, indipendentemente dall'aerazione imposta, ed è stato valutato che la presenza di nitrito e la limitazione di ossigeno contribuivano ad aumentare le emissioni di NO. Nei processi convenzionali il principale meccanismo di produzione di NO è risultato essere la denitrificazione tramite AOB, in quanto NO viene prodotto ed emesso contemporaneamente all'ossidazione dell'ammoniaca, mentre si può escludere che gli NOB siano responsabili delle emissioni di NO, in quanto l'ossidazione del nitrito si verifica anche dopo che la produzione di NO si è fermata e l'ammoniaca è stata completamente ossidata.

Rapporto COD/Ntot

Bassi rapporti carbonio/azoto determinano incrementi di emissione, in quanto la mancanza di carbonio organico biodegradabile a supporto della denitrificazione comporta un aumento di N₂O. Itokawa (2001) ha osservato che, durante il funzionamento a regime in un bioreattore nello stadio aerato con un COD/N < 3.5 le emissioni di N₂O erano all'incirca

il 25% del carico influente di azoto. In condizioni di carbonio limitante si può avere un blocco della denitrificazione con accumulo di ossido in fase liquida (Lu, 2010), aspetto ancor più amplificato se è presente un'eccessiva quantità di azoto da denitrificare. Un'aggiunta di carbonio esterno potrebbe ridurre le emissioni di N_2O (Park, 2000) anche se è sempre bene non eccedere nel dosaggio oltre valori di $COD/N > 10$. Sempre per valutare gli effetti di limitazione di carbonio, Hwang (2006) hanno effettuato uno studio sulle emissioni di N_2O da un sistema di rimozione biologica dell'azoto, mettendo a confronto un sistema convenzionale (nitro-denitro tramite nitrato) con un processo via nitrito. Lo studio ha evidenziato l'effetto del rapporto C/N, del carico di ammoniaca e dell'HRT sulla produzione di N_2O . Secondo quanto ottenuto, nel sistema convenzionale un abbassamento del rapporto C/N determina un incremento nella produzione di N_2O nel reattore anossico, mentre nel processo via nitrito non si ha una rilevante produzione di N_2O . Jingrong (2009) hanno studiato l'effetto del rapporto C/N su un processo di rimozione dell'azoto che usava il nitrito e il nitrato come differenti accettori di elettroni, aggiungendo etanolo come fonte di carbonio esterno. Dalla sperimentazione sono emersi rapporti ottimali di C/N influente da garantire, per garantire la denitrificazione/denitrificazione e minimizzare le emissioni: questi rapporti risultano compresi tra 2.7-4.3 (nitrito) e 5.2-6.8 (nitrato). Come accertato, una limitazione di C/N comporta un accumulo di nitrito con conseguente produzione di N_2O . Di conseguenza, per ridurre la produzione di N_2O , è importante mantenere il rapporto C/N del sistema ad un valore ottimale che consenta di evitare l'accumulo di nitrito. Anche la tipologia di carbonio presente può portare ad efficienze e velocità diverse nel percorso di denitrificazione e quindi a valori diversi di emissione: ad esempio, è stato registrato che l'acetato porta ad avere emissioni di N_2O maggiori rispetto al metanolo, a causa di un miglior adattamento della biomassa al secondo elemento.

Età del fango (SRT)

L'SRT del sistema ha un'influenza sul tasso di emissioni. Lunghi SRT riescono a tamponare meglio i carichi in arrivo, a ridurre il rischio di DO limitante e ad assorbire meglio le fluttuazioni ambientali e dunque a diminuire il rischio di emissioni (Kampschreur, 2009).

2.4. Parametri di influenza sul condizionamento via nitrito

Selection of ammonium oxidizing bacteria (AOB) over nitrite oxidizing bacteria (NOB) based on conversion rates.

Jun Wu, Chengda He, Mark C.M. van Loosdrecht, Julio Pérez.

Chemical Engineering Journal (2016), 304, 953-961.

<https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.07.019>

Abstract

Per incrementare la nitrificazione e l'effettiva rimozione dell'azoto è stato studiato l'arricchimento degli r-strategist ammonium oxidizing bacteria (AOB). A tal scopo è stato usato un reattore a scala di laboratorio con tre compartimenti per la rimozione dell'azoto da un'acqua reflua sintetica contenente ammoniaca e COD ($COD/NH_4^+ = 8$). Un processo di nitrificazione-denitrificazione stabile è stato raggiunto. Il primo compartimento era anossico poiché dedicato alla fase di denitrificazione mentre gli altri due erano aerobici in modo da permettere l'ossidazione dell'ammoniaca a nitriti (nitrificazione). Una denitrificazione effettiva è stata permessa grazie al ricircolo tra l'ultimo e il primo compartimento. Si è raggiunta la nitrificazione attraverso un'intensificazione della riproduzione dei nitrificatori a crescita rapida (r-AOB) e un ambiente ad alte concentrazioni ammoniacali nel primo reattore aerobico (chiamato selettore r-AOB). Il fango è stato gradualmente spurgato in modo da avere nel selettore r-AOB, una concentrazione di NH_4^+ compresa tra 10 e 20 mgN/L. Tale adattamento ha portato ad avere un SRT breve di 4.2 d, il quale ha consentito il raggiungimento della nitrificazione completa nell'arco di 100 giorni operativi. La stima dei parametri cinetici ha indicato un incremento della velocità massima specifica di crescita degli AOB da 0.39 a 1.45 d^{-1} , mentre la costante di semi saturazione del NH_4^+ è aumentata da 0.51 a 5.23 mgN/L, indicando un passaggio dagli K-AOB (aventi velocità di crescita più lente) agli r-AOB. Le simulazioni matematiche hanno mostrato che i parametri principali determinanti l'esito della competizione tra le specie nitrificanti erano l'SRT e la concentrazione di NH_4^+ .

1. Introduzione

La rimozione dell'azoto attraverso la denitrificazione, cioè il processo via-nitrito o nitrificazione-denitrificazione offre numerosi vantaggi rispetto al trattamento di rimozione convenzionale dell'azoto sia nel risparmio di ossigeno che nella riduzione della fonte esterna di carbonio. La nitrificazione è anche un prerequisito per l'utilizzo dell'ANAerobic AMMonium OXidation per la rimozione autotrofica dell'azoto. Per ottenere la nitrificazione gli NOB andrebbero inibiti o lavati via. La repressione degli NOB viene raggiunta tramite una limitazione dell'ossigeno disciolto, un'alta concentrazione di ammoniaca libera (FA) e di acido nitroso libero (FNA), e un breve SRT. Da Jubany et al. è stato utilizzato un reattore di nitrificazione a 3 compartimenti applicato ad acque reflue con alta concentrazione di ammoniaca (2 gN/L). Nel loro studio, la repressione della velocità di crescita degli NOB da parte della FA, era il principale meccanismo per ottenere la nitrificazione. La stabilità della nitrificazione e quindi l'effettiva repressione degli NOB può essere ottenuta anche attraverso l'incremento dell'attività degli AOB. Per esempio, in un'acqua reflua ad alta concentrazione

ammoniacale, come quella dei surnatanti della linea fanghi, gli AOB a crescita veloce (r-AOB, alti valori di μ_{AOB}) potrebbero aumentare proprio grazie all'ambiente ad alta concentrazione di ammoniaca. Un esempio tipico di dilavamento degli NOB è lo SHARON nel quale è applicato un SRT pari a 1 d. La predominanza degli AOB è costituita dai *Nitrosomonas eutropha*, che sono stati descritti in letteratura come dei rapidi nitrificatori capaci di crescere ad alte concentrazioni di ammoniaca. Si è pensato che il successo nella repressione degli NOB ad alte temperature fosse correlato ad una più alta velocità di crescita specifica degli AOB rispetto a quella degli NOB. I parametri cinetici associati ad una certa popolazione batterica non vanno considerati come delle rigide costanti, ma dipendenti dalle condizioni di processo. Infatti è noto che condizioni come la disponibilità di substrato o la concentrazione di DO possono incidere fortemente sia sul substrato, sia sull'affinità all'ossigeno di una popolazione nitrificante. È stato dimostrato che il tipo di regime operativo nella rimozione biologica dell'azoto abbia una forte influenza sulla tipologia di comunità nitrificante. Nei tradizionali CSTR del trattamento di acque reflue, la bassa concentrazione ammoniacale favorisce la crescita degli AOB a crescita lenta (K-AOB, bassi valori di μ_{AOB}). Ciò rende difficile l'utilizzo di un basso SRT per il washout degli NOB. D'altra parte, negli SBR, l'alta concentrazione iniziale di ammoniaca può invece condurre ad una predominanza degli r-AOB. Perciò l'uso di un'alta concentrazione ammoniacale residua può intensificare la nitrificazione grazie all'aumento degli r-AOB e può contribuire alla stabilità delle condizioni di nitrificazione nel mainstream. Il basso contenuto di ammoniaca spiega anche perché la repressione degli NOB risulti più difficoltosa combinando in un singolo reattore la nitrificazione e l'ANNAMOX. In questo studio è stato utilizzato un reattore pilota di nitrificazione-denitrificazione a 3 compartimenti per il trattamento di acqua reflua a bassa concentrazione ammoniacale (circa. 50 mgN/L). Il primo compartimento era anossico poiché destinato alla denitrificazione e gli altri due erano aerobici per ossidare l'ammoniaca a nitrito (nitrificazione). La concentrazione relativamente alta di ammoniaca nel primo compartimento aveva lo scopo di intensificare l'attività degli AOB (possibilmente la specie a crescita veloce: r-AOB). È stato imposto un basso SRT mirato alla repressione degli NOB e dunque alla rimozione biologica dell'azoto via-nitrito. Sebbene il reattore a tre compartimenti possa essere utilizzato come un metodo alternativo di trattamento delle acque reflue, l'obiettivo di questo studio non era quello di sviluppare un metodo pratico di trattamento, ma piuttosto di comprendere i ruoli svolti dalla concentrazione ammoniacale e dall'SRT nella repressione degli NOB.

2. Materiali e metodi

2.1 Set-up sperimentale

Il layout schematico del sistema sperimentale include tre compartimenti ognuno dei quali avente un volume di reazione effettivo pari a 2 L (anossico, selettore r-AOB e anaerobico). Il compartimento aerobico, oltre ai 2 L di volume di reazione ha un sedimentatore integrato con un volume di 1.5 L. Il secondo compartimento è stato chiamato Selettore r-AOB poiché serviva a selezionare l'aumento della popolazione nitrificante a rapida crescita.

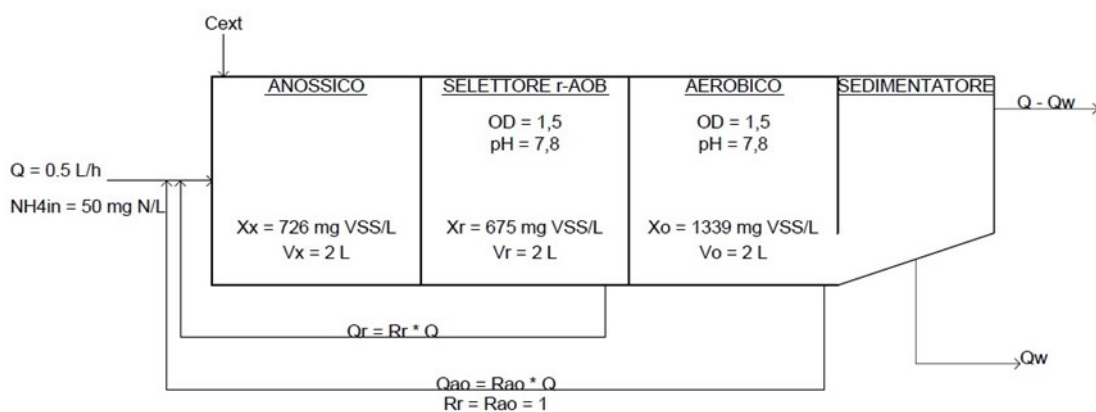


Figura 1 Diagramma di flusso della rimozione dell'azoto via nitrito.

La portata in ingresso (Q) è stata mantenuta stabile a 0.5 L/h comportando un HRT di 12 h. Il rapporto di ricircolo (R_r) dal selettore al compartimento anossico e il rapporto di ricircolo dall'aerobico all'anossico (R_{ao}), sono stati fissati pari a 1. Il fango di supero (Q_w) è stato estratto dal compartimento aerobico. La concentrazione di NH_4^+ è stata mantenuta fissa a 50.0 ± 5.0 mgN/L. È stato aggiunto acetato all'anossico per realizzare la denitrificazione. La quantità di acetato è stato periodicamente controllata per evitare delle eccedenze di COD nei compartimenti di nitrificazione. La composizione dell'acqua reflua sintetica in ingresso era la seguente: $(NH_4)_2SO_4$ 236 mg/L, CH_3COONa 512 mg/L (che corrisponde ad un COD di 378 mg/L), KH_2PO_4 17.6 mg/L, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 2.42 mg/L, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.37 mg/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 5.08 mg/L, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 0.28 mg/L, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.44 mg/L, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0.39, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.42, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 1.26 mg/L. Il bioreattore a tre compartimenti è stato posizionato all'interno di una stanza con aria condizionata permettendo di avere

una temperatura costante di $25.0 \pm 0.8^\circ\text{C}$. La concentrazione di DO nel selettore r-AOB e nell'aerobico è stata mantenuta a $1.5 \text{ mgO}_2/\text{L}$. Il pH è stato mantenuto a 7.8 ± 0.2 grazie al dosaggio automatico di soluzioni di HCl 0.2 M e NaOH 0.2 M . Sono stati usati degli agitatori per garantire la miscelazione nei tre compartimenti. Il fango di inoculazione proveniva dalla vasca aerobica di un impianto reale di depurazione locale e successivamente acclimatato in un CSTR anossico-aerobico in scala di laboratorio operante a 15 d di SRT, 12 h di HRT e concentrazione di DO maggiore di 5 mg/L per 30 giorni, prima di essere trasferito nel bioreattore mostrato in Fig. 1. Tale biomassa è stata divisa egualmente nei tre compartimenti. A causa della bassa concentrazione di NH_4^+ (fango operante in condizioni di azoto limitante: $<1 \text{ mgN/L}$), si prevedeva che la biomassa preparata in questa maniera fosse carica di K-AOB.

2.2 Modalità spurgo fanghi

La portata di supero (Q_w , tratta dal compartimento aerobico come mostrato in Fig. 1) è stata regolata in modo da ottenere una concentrazione ammoniacale di $15 \pm 5 \text{ mgN/L}$ nel selettore r-AOB ($S_{\text{NH}_4}^S$) e una concentrazione in uscita ($S_{\text{NH}_4}^O$) minore di 3 mgN/L . La Q_w è stata regolata secondo la seguente equazione (1):

$$\frac{Q_{wo}}{Q_w} = 1 + [k_s(S_{\text{NH}_4}^S - 15) + k_o(S_{\text{NH}_4}^O - 3)] \quad (1)$$

Dove, Q_w è la portata del fango di supero (L/d); Q_{wo} è la portata di supero iniziale (pari a 1 L/d); k_s è il coefficiente proporzionale per regolare la concentrazione di ammoniaca nel selettore r-AOB ($S_{\text{NH}_4}^S$). Il valore di k_s è una funzione di $S_{\text{NH}_4}^S$, mostrato nell'eq. (2), la quale esprime che se $S_{\text{NH}_4}^S$ è compreso nel range $10\text{-}20 \text{ mg/L}$ non sono richieste regolazioni, mentre se non lo fosse il valore Q_{wo}/Q_w va regolato in maniera proporzionale a $S_{\text{NH}_4}^S$.

$$k_s = 0, \text{ if } |S_{\text{NH}_4}^S - 15| \leq 5; k_s = 0.0133, \text{ if } |S_{\text{NH}_4}^S - 15| > 5 \quad (2)$$

Il coefficiente proporzionale k_o mostrato nell'eq.3 assicura una concentrazione ammoniacale effluente ($S_{\text{NH}_4}^O$) minore di 3 mg/L .

$$k_o = 0.0167, \text{ if } S_{\text{NH}_4}^O > 3; k_o = 0, \text{ if } S_{\text{NH}_4}^O \leq 3 \quad (3)$$

k_s e k_o sono stati regolati durante l'operazione in modo da raggiungere un buon controllo sulla concentrazione ammoniacale nel selettore. L'SRT è definito come la quantità totale di solidi contenuta nel reattore biologico, diviso la quantità di solidi spurgata giornalmente:

$$SRT = \frac{V_X X_X + V_R X_R + V_O X_O}{Q_w X_O} \quad (4)$$

Dove, V_X , V_R e V_O sono rispettivamente i volumi del comparto anossico, del selettore r-AOB e dell'aerobico; X_X , X_R e X_O sono rispettivamente le concentrazioni dei solidi del comparto anossico, del selettore r-AOB e dell'aerobico. Lo studio è incentrato sugli AOB e NOB. Sebbene sia più preciso usare un SRT aerobico, l'SRT totale è direttamente proporzionale a quello aerobico. Poiché il volume dei tre reattori era lo stesso, l'SRT aerobico corrispondeva ai due terzi dell'SRT totale e ad un terzo dell'SRT nel reattore ad alta NH_4^+ . Una definizione di SRT più complessa non è stata utilizzata, bensì, è stata adottata quella base.

2.3 Monitoraggio dell'attività degli AOB e NOB

L'attività degli AOB e degli NOB è stata monitorata utilizzando come respirometro un reattore batch contenente 1 L fango di supero, ad una temperatura costante di 25°C . Dopo un'areazione di 24h per raggiungere lo stato di respirazione endogena, l'OUR (Oxygen Uptake Rate, $\text{mgO}_2/(\text{L}\cdot\text{h})$) è stato misurato e registrato come respirata endogena (OUR_{END}). L'ammoniaca è stata aggiunta in impulsi per raggiungere una concentrazione di 5 mgN/L , e l'OUR totale raggiunte nuovamente le condizioni endogene è stato registrato. L'OUR esogeno (OUR_{EXO}) è ricavato dalla sottrazione dell' OUR_{END} dall'OUR totale, sia per l'attività degli AOB che degli NOB. La stessa procedura è stata ripetuta per la misurazione dell' OUR_{NOB} (OUR degli NOB) dopo l'aggiunta di NO_2^- fino ad una concentrazione di 5 mgN/L . L' OUR_{AOB} (OUR degli AOB) è stato ricavato per differenza tra l' OUR_{EXO} e l' OUR_{NOB} .

2.4 Stima dei parametri cinetici

Sia per gli AOB che per gli NOB le velocità specifiche massime di crescita ($\mu_{\text{max(AOB)}}$, $\mu_{\text{max(NO B)}}$) e le costanti apparenti di semi-saturazione (K_{S,NH_4} , K_{S,NO_2}) sono state stimate regolarmente. È importante sottolineare che le costanti di semi-saturazione si riferiscono a valori apparenti e sono quindi affette dalla diffusione. Il fango di supero è stato utilizzato per la valutazione dei parametri cinetici mediante l'utilizzo di un reattore batch separato. Le $\mu_{\text{max(AOB)}}$ e $\mu_{\text{max(NO B)}}$ sono state misurate secondo delle condizioni di substrato non limitante. Il fango di supero è stato distribuito in due camere di misurazione OUR e fatto areare durante la notte per raggiungere uno stato di respirazione endogena. Sono stati aggiunti 60 mg/L di $\text{NH}_4^+\text{-N}$ costituiti da una piccola quantità di biomassa (circa 50 mgVSS/L) per produrre un ambiente a substrato non limitante per la crescita degli AOB (elevato rapporto cibo massa F/M), nel quale l' OUR_{NH} esogeno può essere espresso dalla seguente equazione:

$$\text{OUR}_{\text{NH}}(t) = \text{OUR}_{\text{NH}}^O e^{(\mu_{\text{max(AOB)}} - b_{\text{AOB}})t} \quad (5)$$

Nessun tipo di reagente inibitorio degli NOB è stato utilizzato durante la misurazione dell'OUR_{NH}. Quest'ultimo è stato dunque corretto mediante la sottrazione dell'OUR_{NO2} a causa del consumo di ossigeno degli NOB. L'OUR_{NO2} è stato misurato dopo l'aggiunta di 60 mg/L di NO₂-N. La $\mu_{\max(\text{AOB})}$ è stata stimata utilizzando la seguente equazione:

$$OUR_{NO2}(t) = OUR_{NO2}^0 e^{t(\mu_{\max(\text{NOB})} - b_{\text{NOB}})} \quad (6)$$

Sia b_{AOB} che b_{NOB} sono state considerate pari al 5% di $\mu_{\max(\text{AOB})}$ e $\mu_{\max(\text{NOB})}$. Tramite il curve-fitting dell'OUR possono essere stimati i valori di $\mu_{\max(\text{AOB})}$ e $\mu_{\max(\text{NOB})}$ usando le eq.5 e 6. Le costanti di semi-saturazione per gli AOB e gli NOB sono state stimate attraverso la misurazione della velocità di rimozione del substrato a differenti concentrazioni di substrato. In presenza di condizioni di ossigeno non limitante (sopra 8 mgO₂/L), il tasso di rimozione di NH₄⁺ (dS_{NH4}/dt) può essere espresso dalla seguente equazione:

$$\frac{dS_{NH4}}{dt} = -\mu_{\max(NH4)} \frac{S_{NH}}{K_{S,NH} + S_{NH}} \quad (7)$$

Dove, $\mu_{\max(NH4)}$ rappresenta la massima velocità di rimozione di NH₄⁺. Tramite il curve-fitting dei tassi di rimozione di NH₄⁺ a differenti concentrazioni di NH₄⁺, può essere calcolata la costante di semi-saturazione. Analogamente, la costante di semi-saturazione del NO₂⁻ può essere desunta dal curve-fitting del tasso di rimozione del NO₂⁻ (dS_{NO2}/dt) a differenti concentrazioni di NO₂⁻ utilizzando la seguente equazione:

$$\frac{dS_{NO2}}{dt} = -\mu_{\max(NO2)} \frac{S_{NO2}}{K_{S,NO2} + S_{NO2}} \quad (8)$$

Dove, $\mu_{\max(NO2)}$ è la velocità di rimozione massima dei NO₂⁻.

2.5 Altre misure

Il COD, NH₄⁺, NO₂⁻, NO₃⁻, e la concentrazione di VSS sono stati determinati in base agli Standard Methods. La dimensione media del fiocco del fango attivo è stata misurata secondo il metodo di analisi dell'immagine sviluppato da Wu et al.

2.6 Modello matematico

Un modello matematico è stato sviluppato per descrivere e valutare la concorrenza tra r-AOB, K-AOB e NOB. Una singola popolazione NOB è stata sufficiente per la descrizione degli esperimenti perché nessuna differenza significativa è stata riscontrata nei parametri cinetici dei NOB durante il corso dell'esperimento. Va notato che le r-AOB e K-AOB potrebbero essere diverse specie di batteri (selezione della popolazione), o le stesse specie di batteri ma con differenti parametri cinetici (adattamento o acclimatazione di una data popolazione). Per le simulazioni, entrambe le spiegazioni sono possibili, dal momento che si è utilizzato un diverso gruppo di parametri cinetici per r-AOB e K-AOB. La biomassa eterotrofa (X_H) e i prodotti inerti (X_I), sono stati considerati componenti particolate. Cinque componenti solubili tra cui il COD solubile (S_S), DO (S_O), NH₄⁺, NO₂⁻, NO₃⁻. La matrice stechiometrica completa del modello e le espressioni delle velocità cinetiche sono mostrate nelle informazioni a sostegno nell'allegato A.1. A causa della bassa concentrazione influente di NH₄⁺, il potenziale di inibizione della AOB e NOB da ammoniaca e acido nitroso libero non sono stati inclusi. La velocità specifica massima di crescita e la costante di semi-saturazione del substrato per r-AOB, K-AOB e NOB sono stati determinate da respirometria come spiegato nel paragrafo 2.4. Il resto dei parametri sono stati presi dalla letteratura ed è riportato nella Tabella A.2. Il modello è stato risolto utilizzando le ode15s ODE solver all'interno dell'ambiente MATLAB 7.5.

2.7 Descrizione dei risultati sperimentali di simulazione

La capacità del modello di descrivere i risultati sperimentali è stata verificata tramite il confronto tra la simulazione e le concentrazioni di ammonio, nitriti e nitrati misurati nel selettore e nei reattori aerobici. Al modello è stata imposto un SRT variabile risultante dalla portata di supero espressa come mostrato nella Eq. (4). Le concentrazioni di biomassa iniziali per ciascuna popolazione batterica (r-AOB, K-AOB e NOB) sono stati scelte pari a 0.01, 60 e 50 mgCOD/L rispettivamente. La velocità specifica massima di crescita e la costante di semi-saturazione del substrato per AOB ($\mu_{\max(\text{AOB})}$, $K_{S,NH}$) determinato all'inizio e alla fine dell'esperimento sono stati assegnate rispettivamente a K-AOB e r-AOB. I valori principali di $\mu_{\max(\text{NOB})}$ e $K_{S,NO2}$ misurati durante l'esperimento sono stati usati per gli NOB. Altri parametri stechiometrici e cinetici sono mostrati in tabella A.2.

2.8 Il ruolo della strategia operativa sulla competizione delle specie nitrificanti

Negli esperimenti la concentrazione di ammonio nel selettore r-AOB è stata mantenuta a un valore desiderato manipolando l'SRT. Pertanto, entrambe erano variabili operative dipendenti. Poiché gli effetti della concentrazione di ammonio e SRT erano impossibili da separare, simulazioni specifiche sono state condotte per valutare il loro effetto in modo indipendente. Per valutare in modo indipendente come la competizione delle specie nitrificanti è influenzata da (i) la concentrazione di ammonio nel selettore e (ii) l'SRT, due serie di simulazioni sono state condotte. Nella prima sono

stati indagati gli effetti della concentrazione di ammonio nel selettore r-AOB (nell'intervallo 0.5-20 mgN/L) ad un valore SRT costante. Le simulazioni sono state ripetute a 4.2, 7, 10 e 15 d di SRT e tracciati in diverse curve. La concentrazione di DO nel selettore r-AOB e nel vano aerobico era costante 1.5 mgO₂/L. Le concentrazioni di biomassa iniziali per r-AOB e K-AOB state assunte uguali (100 mgCOD/L). In una seconda serie di simulazioni, il ruolo del SRT (nell'intervallo 3-15 d) è stato esplorato in quattro casi con concentrazione di ammonio costante nel selettore r-AOB. Le concentrazioni di ammonio studiate erano 1, 4, 6 e 12 mgN/L, è stato inoltre mantenuto un OD pari a 1.5 mgO₂/L in tutte le simulazioni. Il supero dei fanghi (Q_w) è stato manipolato per imporre valori SRT nel range dei 3-15 giorni. La concentrazione iniziale della biomassa è stata adottata la stessa della precedente serie di simulazioni (100 mgCOD/L per r-AOB e K-AOB).

3. Risultati

3.1 Prestazioni del reattore

Le prestazioni del reattore sono riassunte in tabella 1. Al tasso di carico di NH₄⁺ di 0.1 kgN/(m³ d), il 96.4% di NH₄⁺ è stato ossidato e una rimozione del 72% di azoto totale (TN) è stata raggiunta. Nel vano anossico, la somma media della concentrazione di nitriti e nitrati era di 0.2 mgN/L, indicando che la denitrificazione era quasi completa. La concentrazione del COD nel selettore r-AOB e nel compartimento aerobico era simile alla concentrazione effluente del COD solubile pari a 44 mgCOD/L. Ciò indicava che il COD nel selettore r-AOB, nel vano aerobico e nell'effluente era composto dai prodotti microbici solubili non biodegradabili (SMP). La concentrazione di solidi nel compartimento aerobico era all'incirca il doppio rispetto a quella del vano anossico e del selettore r-AOB (Tabella 1). La superficie media di diametro dei fiocchi di fango è rimasta stabile durante il periodo di sperimentazione ed è stata misurata a 188 ± 22 µm.

Table 1
Conditions and reactor performance.

Measured items	Value	Unit
NH ₄ ⁺ loading rate	0.1	kg N/(m ³ .d)
NH ₄ ⁺ oxidation percentage	96.4	%
TN removal percentage	72	%
Nitrite accumulation percentage	100	%
NH ₄ ⁺ concentration in the anoxic compartment	23 ± 4	mg N/L
Sum of nitrite and nitrate in the anoxic compartment	0.2 ± 0.2	mg N/L
Soluble COD in the anoxic compartment	68 ± 8	mg/L
Soluble COD in the r-AOB selector	37 ± 6	mg/L
Soluble COD in the aerobic compartment	39 ± 7	mg/L
Soluble COD in the effluent	44 ± 3	mg/L
Solids in the anoxic compartment	726 ± 65	mg VSS/L
Solids in the r-AOB selector	675 ± 72	mg VSS/L
Solids in the aerobic compartment	1339 ± 124	mg VSS/L

Le concentrazioni di NH₄⁺, NO₂⁻, NO₃⁻ nel selettore r-AOB e nel vano aerobico sono state misurate regolarmente (Fig. 2 (a, b)). Regolando la portata dei fanghi di supero dal selettore r-AOB (Q_w) (Fig. 2 (c)), la concentrazione media NH₄⁺ nel selettore r-AOB è stata mantenuta intorno al valore bersaglio di 15.5 mgN/L (Fig. 2 (a)). Nessun nitrato è stato rilevato nel selettore r-AOB e nel compartimento aerobico dopo 30 e 100 giorni di funzionamento, mostrando quindi una nitrificazione stabile nei compartimenti aerobici. Si è mandato avanti il reattore a nitrificazione stabile e completa per altri 50 giorni, pari a circa 13 volte l'SRT.

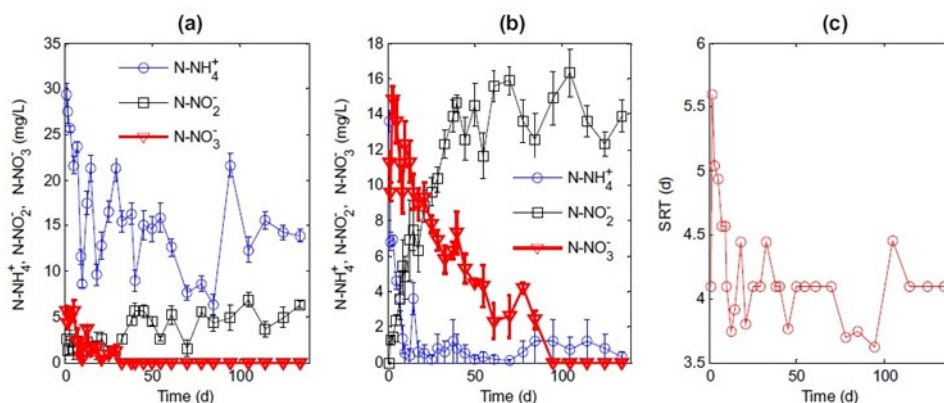


Fig. 2. Time course concentrations of NH₄⁺, NO₂⁻ and NO₃⁻ in the (a) r-AOB selector and (b) aerobic compartment. (c) SRT calculated through Eq. (4) from the adaptive sludge wasting flow rate to keep the NH₄⁺ concentration in r-AOB selector within 10–20 mg N/L.

3.2 La valutazione delle analisi respirometriche e dei parametri cinetici

L'attività degli AOB e NOB è stata monitorata tramite misurazioni sulla velocità di assorbimento di ossigeno (OUR) dopo aggiunta sequenziale ad impulso di NH_4^+ e NO_2^- in un respirometro batch (Fig. 3). I valori massimi specifici di OUR (SOUR) sono stati utilizzati per indicare la loro attività. Un esempio di misura esogena OUR (OUR_{EXO}) è raffigurato in Fig. 3 (b). Ripetendo periodicamente la misurazione dell'OUR mediante l'utilizzo di fanghi di supero, l'attività degli AOB e NOB è stata monitorata (Fig. 3 (a)). A partire da 80 giorni in poi, non vi era alcuna attività NOB misurabile, come indicato da un OUR esogeno pari a zero. L'attività specifica degli AOB è invece aumentata costantemente.

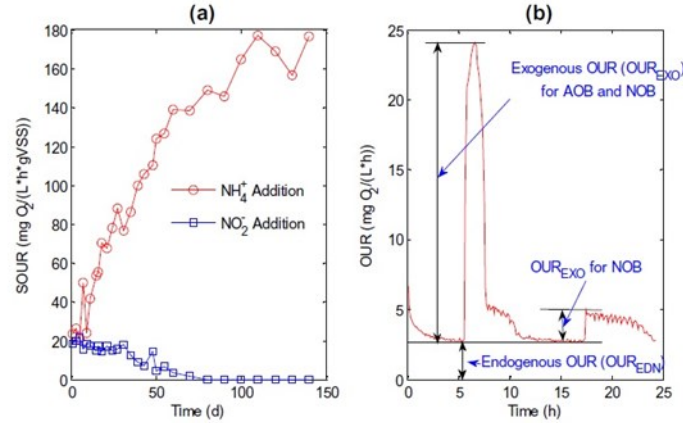


Fig. 3. (a) The AOB and NOB activity monitored by the maximum SOUR during the experiment. (b) Exemplary oxygen uptake rate (OUR) measurement after pulse addition of NH_4^+ and NO_2^- respectively (measured at day 1).

La $\mu_{\text{max(AOB)}}$ è aumentata gradualmente da 0.39 a 1.45 d⁻¹, mentre la $\mu_{\text{max(NO2)}}$ era relativamente stabile a 0.4 d⁻¹ (vedi fig. 4 a). La $\mu_{\text{max(NO2)}}$ è stata stimata per solo 43 giorni, perché la risposta dopo l'aggiunta NO_2^- è diventata così piccola che non è stato possibile prendere alcuna misura dopo quel giorno (così come per la misura della $K_{\text{S,NO}_2}$. Il $K_{\text{S,NH}}$ è aumentato da 0.5 a 5.2 mgN/L, mentre nessuna modifica sostanziale è stata riscontrata per $K_{\text{S,NO}_2}$ (valore medio di 0.25 mgN/L) (Fig. 4 (b)).

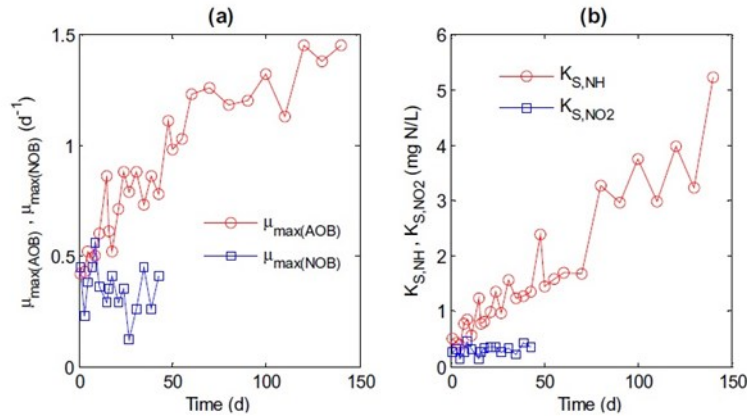


Fig. 4. (a) Variation of the maximum specific growth rate for AOB and NOB ($\mu_{\text{max(AOB)}}$ and $\mu_{\text{max(NO2)}}$) during the experiment. (b) Variation of the substrate half saturation constant for AOB and NOB ($K_{\text{S,NH}}$ and $K_{\text{S,NO}_2}$) during the experiment. An example of their measurement is shown in Fig. A.3 in the online Supporting Information.

3.3 La simulazione dei risultati sperimentali

I parametri cinetici stimati ($\mu_{\text{max(AOB)}}$, $\mu_{\text{max(NO2)}}$, $K_{\text{S,NH}}$, $K_{\text{S,NO}_2}$, Fig. 4) sono stati usati per caratterizzare le tre specie batteriche nitrificanti utilizzate (r-AOB, K-AOB e NOB, vedi Tabella 2). L'inoculo per l'esperimento è stato acclimatato in un ambiente a bassa concentrazione di NH_4^+ . Pertanto, i parametri cinetici misurati all'inizio dell'esperimento sono stati assunti per K-AOB. La popolazione r-AOB dopo 140 giorni è stata descritta con la $\mu_{\text{max(AOB)}}$ e la $K_{\text{S,NH}}$ determinate alla fine del periodo di funzionamento (Tabella 2). La strategia di utilizzare i parametri cinetici stimati nel modello matematico è un approccio semplicistico, ma permette facilmente di esplorare, attraverso la simulazione numerica, la competizione tra le specie di nitrificazione.

Table 2
The measured kinetic parameters for r/K AOB and NOB.

Nitrifying species	$\mu_{\max}$ (d ⁻¹)	$K_{S,NH}$ or K_{S,NO_2} (mg N/L)
r-AOB	1.45	5.2
K-AOB	0.39	0.5
NOB	0.40	0.3

Utilizzando i valori di SRT sperimentali mostrati in Fig.2 (c) e le concentrazioni iniziali degli r-AOB, K-AOB e NOB (rispettivamente pari a 0.01, 60 e 50 mgCOD/L), il modello è stato in grado di descrivere (i) lo stato stazionario (Tabella 3), e (ii) la dinamica per tutto il periodo di funzionamento (Fig. A.4).

Table 3
Model validation. Comparison of experimental results ("exp.") and model outputs ("model") in steady state. The NO_2^- accumulation rate (NAR) is defined by the amount of NO_2^- produced divided by the amount of oxidized.

Compartment	NH_4^+ oxidized (%)		NAR (%)		Biomass concentration	
					mg VSS/L	mg COD/L
	Exp.	Model	Exp.	Model	Exp.	Model
r-AOB selector	43 ± 18	58	100	100	726 ± 72	641
Aerobic compartment	53 ± 19	35	100	100	1339 ± 124	1146

3.4 Gli effetti della concentrazione di NH_4^+ sulla competizione delle specie nitrificanti

Nei reattori utilizzati in questo studio, la concentrazione di ammonio nel selettore e l'SRT erano accoppiati. La Figura. A.5 in allegato ha mostrato l'impatto combinato di SRT e la dimensione del selettore r-AOB sulla concorrenza tra r-/K-AOB e NOB. La SRT è sembrato essere il fattore chiave per i risultati della competizione. Tuttavia, la concentrazione di NH_4^+ nel selettore r-AOB è stata accoppiata al SRT e alle dimensioni del selettore r-AOB. Pertanto, l'impatto indipendente di ciascuna di queste variabili è stata valutata con l'ausilio di diverse serie di simulazioni numeriche. Per valutare l'effetto della concentrazione di NH_4^+ sulla competizione della specie nitrificante è stata valutata la concentrazione di ammoniaca nel selettore r-AOB a diversi valori di set-point, mantenendo costante l'SRT. La Figura 5 (a) mostrava la percentuale normalizzata di r-, K-AOB e NOB sotto un SRT costante di 4.2 d e una concentrazione di NH_4^+ tra 0.5-20 mgN/L. Per set point inferiore a 1.8 mgN/L, la popolazione AOB è stata dominata da K-AOB. L'r-AOB è dominante per valori di set point più grandi di 2.0 mg N/L. In tutta la gamma di set point di ammoniaca tra 0.5 e 20 mgN/L, la specie NOB risulta repressa. Le cinque stelle corrispondono ai risultati sperimentali in questo studio, che ha permesso un confronto diretto di esperimenti e simulazioni.

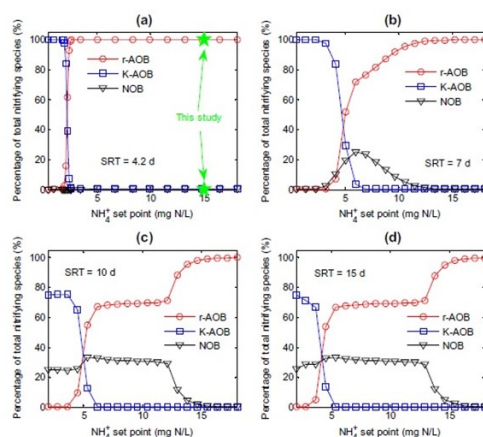


Fig. 5. Model based assessment of the effect of NH_4^+ set point in the selector on nitrifying species competition ($DO = 1.5$ mg O_2 /L in all cases). (a) SRT = 4.2 d, green star indicates the values tested in the experiments (Fig. 2); (b) SRT = 7 d; (c) SRT = 10 d; (d) SRT = 15 d. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

A SRT = 7 d (Fig. 5 (b)), K-AOB domina quando il set point del NH_4^+ è inferiore a 3 mgN/L; r e K-AOB coesistono nella gamma dei set point NH_4^+ tra 3-7 mg N/L e gli r-AOB dominano quando il set point NH_4^+ è più grande di 7 mgN/L. Gli NOB sono stati messi fuori competizione da K-AOB e r-AOB per set point NH_4^+ inferiori a 3 mgN/L e rispettivamente superiore a 12 mgN/L. Ad alta concentrazione di NH_4^+ (>12 mgN/L), l'r-AOB domina e gli NOB sono stati messi fuori competizione, con SRT più basso di 7 d. Per una concentrazione di NH_4^+ più piccola di 3 mgN/L, i K-AOB dominano, e sia K-AOB e NOB erano sotto condizioni di substrato limitante (DO , NH_4^+ e NO_2^-). Gli NOB possono ancora essere messi fuori competizione a causa della bassa affinità con l'ossigeno utilizzato nella simulazione. Un simile insieme di

simulazioni sono state ottenute per SRT a 10 d e 15 d (Fig. 5 (c, d)). I risultati indicano che l'effetto dell'SRT diventa piccolo quando è maggiore di un certo valore di soglia (tra 7 e 10 d, nelle condizioni delle simulazioni). L'effetto dell'SRT sulla competizione tra le specie nitrificanti è indagato nella prossima sezione. Sia per un SRT di 10 che di 15 d, la specie NOB è stata repressa ad un set point NH_4^+ di 15.5 mgN/L. I risultati della simulazione indicano che un alto set point NH_4^+ nel selettore r-AOB è stato fondamentale per la repressione degli NOB e il dominio degli r-AOB (Fig. 5). In generale, il set point NH_4^+ necessario per la repressione NOB e il dominio r-AOB è più elevata per valori di SRT più alti.

3.5 L'effetto dell'SRT sulla competizione tra le specie nitrificanti

Le simulazioni hanno indicato come K-AOB domina a tutti gli SRT e come gli NOB vengano repressi per SRT inferiori a 9 d con concentrazione di NH_4^+ pari a 1 mgN/L (Fig. 6 (a)). Quando il set point NH_4^+ è 4 mgN/L, i risultati del modello indicano come r-AOB dominano a SRT inferiori ai 5 d; r-/K- AOB coesistono in corrispondenza di SRT di 5 d. la repressione della NOB viene conseguita ad un SRT inferiore ai 6 d (Fig. 6 (b)). Per valori di set point NH_4^+ pari a 6 e 15 mgN/L, gli r-AOB dominano in corrispondenza di quasi tutti gli SRT e gli NOB sono invece repressi per valori di SRT minori di 6 d (Fig. 6 (c, d)). Le stelle a cinque punti corrispondono ai risultati sperimentali di questo studio (Fig. 6 (d)).

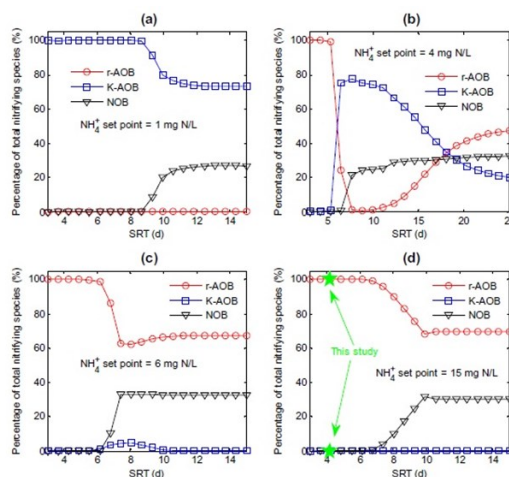


Fig. 6. Effect of SRT on nitrifying species competition ($\text{DO} = 1.5 \text{ mg O}_2/\text{L}$) assessed with the mathematical model. (a) NH_4^+ set point in the r-AOB selector = 1 mg N/L. (b) NH_4^+ set point in the r-AOB selector = 4 mg N/L. (c) NH_4^+ set point in the r-AOB selector = 6 mg N/L. (d) NH_4^+ set point in the r-AOB selector = 15 mg N/L.

4. Discussione

4.1 Variazioni nei parametri cinetici indicano un arricchimento di r-AOB

Il forte aumento misurato per le velocità specifiche massime di crescita (μ_{max} , d^{-1}) e della costante di semi-saturazione del substrato indicano che ha avuto luogo un arricchimento di r-AOB. L'aumento misurato in attività specifica potrebbe essere spiegato anche se il fango sarebbe risultato più arricchito di AOB. Tuttavia, la misura di μ_{max} non si è basata sulla concentrazione di biomassa iniziale e quindi l'aumento di μ_{max} non poteva essere spiegato da un fango altamente arricchito di AOB. I risultati ottenuti con la caratterizzazione cinetica stechiometria sono stati confrontati con i valori attuali riportati in letteratura in Tabella 4. In generale, sotto bassi SRT ed alte concentrazione di NH_4^+ , si assiste ad un aumento di r-AOB, associato ad alti valori di μ_{max} e $K_{\text{S,NH}}$ (Tabella 4).

Table 4
Summary of conditions (SRT and bulk ammonium concentration) and kinetic parameters, selecting for r- or K-AOB as dominant population.

References	SRT(d)	Bulk NH_4^+ (mg N/L)	Reactor type	μ_{max} (d^{-1})	$K_{\text{S,NH}}$ (mg N/L)	Dominant AOB	Temperature (°C)
van Dongen et al. [9]	1 (=HRT)	500	CSTR, no biomass retention	Above 1	20-40	r-AOB	Above 25
This study	4.2	10-20	2-compartment CSTR	1.45	5.23	r-AOB	25
Dytczak et al. [10]	12	5-30	SBR	N/A	N/A	K-AOB	N/A
		10-40		N/A	N/A	r-AOB	N/A
Terada et al. [11]	20	0-300	SBR	0.92	28.9	r-AOB	29
		1.3	CSTR	0.42	3.47	K-AOB	29
Jubany et al. [7,20]	30	25-100	3-compartment CSTR	0.54	N/A	N/A	25
Sliekers et al. [5]	No biomass wastage	0.14	Retentostat	1.56	N/A	N/A	25
		158.2	Retentostat	N/A	8.68	N/A	30

In un reattore con simile set-up, ma dedicato al trattamento delle acque di scarico ad alta concentrazione di ammonio, è stata segnalata una nitrificazione stabile e la repressione degli NOB (Jubany et al., 2009). La maggior concentrazione di NH_4^+ nel primo e nel secondo compartimento è stata rispettivamente misurata e pari a 100 e 25 mgN/L. Un basso valore di $\mu_{\text{max(AOB)}}$ (0.54 d^{-1}) è stato riportato. Questo supporta l'ipotesi che sotto alto SRT (30 giorni utilizzati da Jubany et al.) la K-AOB non può essere dilavata. La μ_{max} per AOB in SBR e CSTR è stata rispettivamente misurata con valori pari a 0.92 e 0.47 d^{-1} (Terada et al.). Usando la fluorescenza in situ (FISH) Terada et al. ha rivelato che la specie di Nitrosomonas a rapida crescita r-AOB erano predominanti nel SBR, mentre nel CSTR dominava la K-AOB (Nitrosospira). Il valore di $\mu_{\text{max(AOB)}}$ per SBR (0.97 d^{-1}), riportato da Terada et al., è più piccolo rispetto a questo studio. Il lungo SRT di 20 giorni

utilizzato da Terada et al. può spiegare la coesistenza di r- e K-AOB. La bassa concentrazione di NH_4^+ alla fine del ciclo di aerazione nel SBR potrebbe spiegare l'esistenza di K-AOB. Per il processo SHARON con SRT di 1 giorno (= HRT) e alla concentrazione NH_4^+ di 500 mg/L, il valore di $\mu_{\max(\text{AOB})}$ è risultato pari a 2.1 d^{-1} per evitare il washout degli AOB. Questi risultati hanno indicato che la velocità di crescita e la concentrazione di ammonio potrebbe portare alla selezione o all'adattamento di specie r- e K-AOB caratterizzate da diversi parametri cinetici. La $K_{S,\text{NH}}$ era rispettivamente pari a 28.9 e 3.5 mgN/L per AOB in SBR e CSTR (Terada et al.) Alte $K_{S,\text{NH}}$ tra 20 e 40 mgN/L sono state riscontrate anche nel reattore SHARON. Questi valori sono superiori al nostro studio: probabilmente a causa dell'elevata concentrazione di NH_4^+ utilizzata nei loro studi. Il risultato è anche coerente con lo studio di Dytczak et al., in cui operavano due SBR alle stesse condizioni, tranne che uno aveva un sistema alternato anossico/aerobico e l'altro era invece strettamente aerobico. Alte percentuali di r-AOB (*Nitrosomonas*) sono state trovate nel sistema alternato anossico/aerobico, probabilmente a causa dell'elevata concentrazione di NH_4^+ nel periodo di aerazione. Studi precedenti hanno indicato che il mantenimento di un'alta concentrazione di ammoniaca è importante per la repressione degli NOB nei reattori a biomassa adesa. Qui, ipotizziamo che questa alta concentrazione di NH_4^+ possa avere una forte influenza sull'aumento degli r-AOB, e che questa sia la maggior ragione per cui si ha una repressione degli NOB. La strategia operativa utilizzata, che comprende una concentrazione di ammonio pari a 15 mgN/L in una frazione del volume di reazione aerobico e un SRT di 4.2 d provocano la repressione degli NOB e l'aumento di una popolazione di AOB nel fango attivo caratterizzato da (i) elevata attività specifica, (ii) elevata velocità specifica massima di crescita e (iii) elevata costante di semi-saturazione del NH_4^+ . Indipendentemente da queste osservazioni, sono necessari maggiori studi per chiarire se queste variazioni nelle cinetiche degli AOB siano collegate ad un cambiamento della specie dominante o ad un adattamento/acclimatamento.

4.2 Influenza della resistenza del trasferimento di massa sulla misura dei parametri cinetici

La resistenza esterna ed interna al trasferimento di massa flocculante nei fanghi è nota per influenzare il valore delle costanti (apparenti) di semi-saturazione del substrato. Nel nostro sistema l'influenza della dimensione del fiocco sulla variazione delle costanti (apparenti) di semi-saturazione del substrato ($K_{S,\text{NH}}$, K_{S,NO_2} rispettivamente per AOB e NOB) è stata ridotta poiché i reattori utilizzati in questo studio erano fortemente agitati e la dimensione del fiocco è rimasta su un valore stabile di $188 \pm 22 \text{ }\mu\text{m}$. Inoltre, il forte aumento del valore $K_{S,\text{NH}}$ non può essere attribuito alle variazioni dimensionali del fiocco non essendo contemporaneamente evidente nella K_{S,NO_2} (Fig. 4 (b)). Tuttavia, anche in condizioni di dimensione del fiocco stabile, era possibile che l'incremento del valore $K_{S,\text{NH}}$ fosse dovuto al trasferimento di massa. Una relazione lineare tra la costante di semi-saturazione e la velocità di crescita specifica massima, per effetto del trasferimento di massa, è stata riportata (Shaw et al., 2015). Questo spiegherebbe anche il valore stabile di K_{S,NO_2} , dal momento che la velocità specifica massima di crescita per gli NOB era stabile. Un'altra possibilità è che la biomassa fosse più arricchita di AOB. Ciò ha comportato anche l'aumento della costante apparente di semi-saturazione del NH_4^+ per gli AOB. Una possibilità diversa potrebbe essere che AOB e NOB siano stati diversamente distribuiti all'interno dei fiocchi. Tuttavia, poiché è stato utilizzato un sedimentatore, la struttura attesa dei fiocchi dovrebbe essere perlopiù costituita fortuitamente durante il processo di flocculazione, e successivamente disturbata dalle pompe, dall'aerazione e dagli agitatori meccanici, come noto per fanghi attivi convenzionali.

4.3 Le simulazioni sulla competizione r-/K-AOB

I risultati delle simulazioni hanno confermato, in questo e precedenti studi sul sistema di crescita sospesa, le osservazioni sperimentali in cui i batteri a rapida crescita r-AOB sono aumentati in ambienti ad alte concentrazioni di NH_4^+ . L'alta concentrazione residua NH_4^+ è stata identificata come un fattore chiave per l'outcompeting degli NOB e il raggiungimento di una nitrificazione stabile nei reattori a fango granulare (Perez et al., 2014; Isanta et al., 2015). La ragione principale per la stabilità della nitrificazione era che la velocità specifica di crescita degli AOB non fosse limitata dall'ammonio anche a temperature basse. Per la descrizione matematica, hanno usato un valore piuttosto elevato di $K_{S,\text{NH}}$ (11 mgN/L), che starebbe anche ad indicare che il fango granulare risulta arricchito di r-AOB. Per una valutazione corretta della competizione AOB-NOB risulta necessaria una ricerca più approfondita mirata alla caratterizzazione cinetica della popolazione di r-AOB a basse temperature. Anche esperimenti utilizzando lo stesso set-up presentato qui, ma operando a temperature più basse chiariscono le potenzialità di questo approccio. Recentemente, i batteri del genere *Nitrospira* sono stati scoperti come ossidanti completi dell'ammonio (comammox) (Daims, 2015). Come i biofilm che possono essere più inclini a sviluppare popolazioni di questi batteri, la nitrificazione parziale con fanghi attivi che operano a SRT piuttosto bassi, potrebbe impedire lo sviluppo di comammox a causa del basso tasso di crescita dei comammox. I risultati della simulazione mostrati in Fig. 6 indicano che l'SRT sia stato un altro fattore operativo chiave per determinare l'esito della competizione tra le specie nitrificanti. I risultati della simulazione spiegano anche perché r-AOB potrebbe essere la specie selezionata nel reattore Sharon, in cui è applicato un SRT di 1 giorno. Il risultato della simulazione è stato coerente con il rapporto di Regmi et al., in cui è stato utilizzato un basso SRT (6.5 ± 4.3 giorni) per la repressione degli NOB. La coesistenza di r-/K-AOB a lungo SRT (Fig. 6 (b)) potrebbe spiegare la bassa $\mu_{\max(\text{AOB})}$ derivata da un'alta concentrazione di NH_4^+ e una condizione a lungo SRT (Tabella 2). La competizione tra le specie AOB è stata sperimentalmente esaminata nel reattore a biofilm e matematicamente simulata utilizzando il modello 0-dimensional da Volcke et al., in cui la concentrazione di ossigeno e SRT sono state usate come fattori chiave per la competizione.

I risultati della simulazione in questo studio indicano il cambio di specie AOB nel caso di modifica di SRT e di concentrazione di NH_4^+ . Tuttavia, per una prova diretta sul cambio di specie AOB, è necessario un ulteriore studio che analizzi le comunità batteriche mediante l'utilizzo di strumenti della biotecnologia molecolare.

5. Conclusioni

- La nitrificazione-denitrificazione a basse concentrazioni di NH_4^+ è stata stabilmente raggiunta ad una temperatura di 25°C, utilizzando un sistema reattistico a fanghi attivi con tre comparti.
- La stima dei parametri cinetici indica che la velocità specifica massima di crescita degli AOB è aumentata da 0.39 a 1.45 d^{-1} , e allo stesso tempo la costante di semi-saturazione di NH_4^+ a 25°C è aumentata da 0.51 a 5.23 mgN/L , suggerendo un incremento di r-AOB sui K-AOB.
- Il mantenimento di una concentrazione di NH_4^+ tra 10 e 20 mgN/L in uno dei compartimenti ha innescato l'incremento della popolazione degli r-AOB.
- La simulazione del modello ha indicato che la concentrazione di NH_4^+ nel liquido risulta fondamentale nel determinare l'esito della competizione tra le specie di nitrificazione.
- La simulazione del modello ha anche indicato che per bassi SRT la popolazione degli AOB è prevalentemente composta da r-AOB rispetto ai K-AOB, e gli NOB sono repressi.

Optimized operational strategies based on maximum nitrification, stability, and nitrite accumulation potential in a continuous partial nitrification reactor.

Hammad Khan, Wookeun Bae.

Process Biochemistry (2016), 51 (8), 1058-1068.

<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.04.012>

Abstract

La velocità relativa di nitrificazione (q_{AOB}^*), di nitrificazione (q_{NOB}^*), e l'accumulo potenziale di nitriti (NAP, q_{AOB}^*/q_{NOB}^*) sono stati studiati per valutare le condizioni operative per stabilizzare e massimizzare la nitrificazione in un CSTR con fanghi attivi (flocculante). Un'innovativa cresta di stabilità e curve a pH ottimali sono state identificate su un piano S_{TAN} -pH. La cresta di stabilità divide le regioni di reazione stabili e instabili, mentre la curva di pH ottimale identifica valori di pH ottimali per una nitrificazione più veloce per qualsiasi S_{TAN} . Così, il migliore pH operativo per una desiderata S_{TAN} si trova sulla curva del pH optimum quando essa si trova nella regione stabile; in caso contrario, la cresta di stabilità stessa indica le posizioni e quindi i valori di pH migliori. Le posizioni della cresta di stabilità e della curva a pH-Optima sono soggette alla struttura dei valori dei parametri cinetici presenti nell'equazione. Mentre il NAP diminuisce con un aumento di DO, un NAP necessario per un sufficiente accumulo di nitriti (ad esempio, $\text{NAP} \geq 2$) è comunque garantito a meno che S_{TAN} diventi molto bassa (ad esempio, $\leq 40 \text{ mgN/L}$). Perciò le prestazioni desiderate della nitrificazione possono essere raggiunte ottimizzando sia il pH che l'SRT; un pH minore è essenziale per generare un'alimentazione adatta agli anammox. I risultati del modello sono stati verificati trattando un digestato semi-sintetico dei fanghi di depurazione degli effluenti con $\sim 600 \text{ mgTAN/L}$ a 30°C e variando il pH.

1. Introduzione

I processi di rimozione dell'azoto che combinano la nitrificazione-denitrificazione o la nitrificazione-anammox hanno portato molta attenzione sul trattamento di liquidi ad alta concentrazione di ammoniacale, in quanto permettono un risparmio sostanziale di ossigeno ed hanno una minore richiesta di donatori di elettroni se comparati con i convenzionali processi di rimozione dell'azoto (BNR). Una nitrificazione efficiente e stabile è essenziale per l'implementazione di un processo avanzato di rimozione dell'azoto, dal momento che sarebbe un ostacolo nella matrice di tali processi combinati. Ricerche precedenti hanno mostrato che la velocità di carico di azoto (ALR) della nitrificazione, nella maggior parte dei casi rimane inferiore ai 5 $\text{kgN}/(\text{m}^3 \text{ d})$ nella nitrificazione parziale (55% di ammoniacale ossidata) e meno di 2.5 $\text{kgN}/(\text{m}^3 \text{ d})$ nella nitrificazione completa (guarda tabella S1 e S2 del materiale in allegato). Al contrario la velocità di carico di azoto per l'anammox o la denitrificazione eccede di molto i 5 $\text{kgN}/(\text{m}^3 \text{ d})$ (guarda tabella S3 e S4). Sebbene la inerente lentezza degli AOB sia in parte responsabile per la bassa velocità di nitrificazione, un fattore molto più importante è la soppressione degli NOB attraverso una inibizione indotta da ammoniacale libera (FA) e acido nitroso libero (FNA) oppure operando delle limitazioni sull'ossigeno disciolto (DO). Anche se entrambi i processi offrono una intensificazione della selezione tra AOB e NOB e producono un alto rapporto di accumulazione dei nitriti (NAR), rallentano anche significativamente le attività degli AOB. Oltre alla riduzione delle velocità, l'instabilità dell'alimentazione è un altro fattore da tenere in considerazione quando si parla di sistemi di nitrificazione. Se l'HRT in un digestore diventa inusualmente basso o alto, o se una certa acqua industriale viene trattata, la composizione e la concentrazione nell'alimentazione della nitrificazione possono cambiare derivando l'instabilità del sistema. La situazione diventa ancora più difficile quando si ha a che fare quando si trattano acque reflue ad alto contenuto ammoniacale dovuto alla presenza di elevate concentrazioni di FA o FNA. Per minimizzare l'inibizione non necessaria, la limitazione, e l'instabilità, l'ottimizzazione delle condizioni

operazionali strategiche è essenziale. In questo studio gli effetti delle condizioni ambientali sulla stabilità della nitrificazione e la capacità di un CSTR vengono esaminate a vari livelli di pH e DO. Dei modelli cinetici che integrano gli effetti simultanei della inibizione dovuta alla FA e FNA, gli effetti diretti e indiretti del pH e le limitazioni sul DO sono stati utilizzati per (1) valutare le velocità di nitrificazione e l'accumulazione dei nitriti a varie condizioni operative, (2) accertare dei limiti operativi stabili, e (3) raggiungere una prestazione desiderata di nitrificazione sotto varie condizioni di pH e DO, attraverso la regolazione di un corretto SRT (θ_x). I risultati del modello vengono verificati attraverso il trattamento di un surnatante semi-sintetico proveniente dal digestore avente ~600 mgTAN/ L a 30°C e vari pH con un NAR elevato >97% e un ALR~6 kgN/(m³ d).

2. Materiali e metodi

2.1 Definizione di stabilità del sistema

Quando un CSTR opera in condizioni di stato stazionario, allora la concentrazione (S) nel reattore rimane costante. Anche nel caso di una accidentale fluttuazione nella concentrazione del substrato o della portata, S tende a recuperare velocemente il suo stato stazionario, così come la velocità specifica di utilizzazione del substrato (q) aumenta con un aumento di S (o diminuisce con una diminuzione di S). Questo comportamento è definito stabilità del sistema. D'altra parte, nelle cinetiche di auto-inibizione, q diminuisce quando S eccede la concentrazione di substrato critica. Un aumento improvviso di S ridurrebbe quindi la q, ostacolando il recupero delle precedenti condizioni stazionarie. In questa particolare situazione la stabilità del sistema fallisce e la reazione diventa instabile.

2.2 Valutazione delle velocità di nitrificazione e nitratazione

Un modello globale è stato sviluppato in un precedente lavoro basato su osservazioni sperimentali, per valutare le velocità dei nitrificatori se si considerano rispettivamente l'azoto ammoniacale totale (TAN) e l'azoto nitrico totale (TNN) come substrati degli AOB e NOB, gli effetti diretti e indiretti del pH, la inibizione dovuta a FA e FNA e le limitazioni sul DO. Il modello è stato esteso includendo gli effetti della temperatura e l'alcalinità, e può essere espresso come:

$$q = \frac{\hat{q}_{max}}{2} \left\{ 1 + \cos \left[\frac{\pi}{w} \left(\text{pH} - \text{pH}_{\text{AOB/NOB}}^{\text{opt}} \right) \right] \right\} \frac{S_{ED}}{\left(K_{ED} \left(1 + \frac{I_{FNA}}{K_{IFNA}} \right) + S_{ED} \left(1 + \frac{I_{FNA}}{K_{IFNA}} + \frac{I_{FA}}{K_{IFA}} \right) \right)} \left(\frac{S_{EA}}{K_{EA} + S_{EA}} \right) \left(\frac{S_{IC}}{K_{IC} + S_{IC}} \right) \left([a(T - T_{\min})]^2 \{ 1 - e^{c \cdot (T - T_{\max})} \} \right) \quad (1)$$

$$\text{where } \text{pH}_{\text{opt}}^{\text{AOB/NOB}} - w \leq \text{pH} \leq \text{pH}_{\text{opt}}^{\text{AOB/NOB}} + w$$

$$\text{and } I_{FA} = \frac{S_{\text{TAN}} \cdot 10^{\text{pH}}}{e^{\left(\frac{6344}{273 + T} \right)} + 10^{\text{pH}}} (\text{mgNH}_3 - \text{N/L}) \quad (2a)$$

$$I_{FNA} = \frac{S_{\text{TNN}}}{\left(e^{\left(\frac{-2300}{273 + T} \right)} \cdot 10^{\text{pH}} \right) + 1} (\text{mgHNO}_2\text{-N/L}) \quad (2b)$$

Dove $\hat{q}_{max}$ è la velocità teorica specifica di utilizzazione del substrato di un donatore di elettroni (mgS/mgVSS d) ottenuto a pH e temperature ottimali e condizioni sature di DO e carbonio inorganico (IC). S_{ED} , S_{EA} , e S_{IC} sono rispettivamente le concentrazioni dei substrati (mg/L) per il donatore di elettrone (TAN), l'accettore di elettroni (DO) e il carbonio inorganico. I_{FA} , I_{FNA} sono rispettivamente le concentrazioni di FA e FNA intesi come inibitori (mgN-NH₃/L o mgN-HNO₂/L). K_{ED} , K_{EA} , K_{IC} sono rispettivamente le concentrazioni di semi-saturazione (mg/L) per il donatore di elettroni (S_{ED}), l'accettore di elettroni (S_{EA}) ed il carbonio inorganico. K_I è la costante di inibizione per FA o FNA (mg/L). I parametri $T_{\min}$ e $T_{\max}$ sono le temperature minime e massime alle quali è stata osservata la crescita, mentre a e c sono dei parametri dipendenti dalla temperatura. In realtà $\hat{q}_{max}$ non può essere osservata sotto inibizione in quanto la velocità di reazione decade per alte concentrazioni di substrato. La velocità di nitrificazione relativa ($q/\hat{q}_{max}$) AOB, chiamata q_{AOB} , può essere calcolato attraverso:

$$q_{\text{AOB}}^* = \frac{\frac{1}{2} \{ 1 + \cos \left[\frac{\pi}{w} (\text{pH} - \text{pH}_{\text{opt}}^{\text{AOB}}) \right] \} \cdot S_{\text{TAN}}}{\left(K_{\text{S}}^{\text{AOB}} \left(1 + \frac{I_{\text{FNA}}}{K_{\text{I,FNA}}^{\text{AOB}}} \right) + S_{\text{TAN}} \left(1 + \frac{I_{\text{FNA}}}{K_{\text{I,FNA}}^{\text{AOB}}} + \frac{I_{\text{FA}}}{K_{\text{I,FA}}^{\text{AOB}}} \right) \right)} \left(\frac{S_{\text{DO}}}{K_{\text{DO}}^{\text{AOB}} + S_{\text{DO}}} \right) \left(\frac{S_{\text{IC}}}{K_{\text{IC}}^{\text{AOB}} + S_{\text{IC}}} \right) \left([a(T - T_{\min}^{\text{AOB}})]^2 \{ 1 - e^{c \cdot (T - T_{\max}^{\text{AOB}})} \} \right) \quad (3a)$$

Analogamente, la velocità di nitratazione relativa, chiamata, può essere scritta come:

$$q_{NOB}^* = \frac{\frac{1}{2} \{1 + \cos [\frac{\pi}{w} (pH - pH_{opt}^{NOB})]\} \cdot S_{TNN}}{(K_S^{NOB}(1 + \frac{I_{FNA}}{K_{I,FNA}^{NOB}}) + S_{TNN}(1 + \frac{I_{FNA}}{K_{I,FNA}^{NOB}} + \frac{I_{FA}}{K_{I,FA}^{NOB}}))} (\frac{S_{DO}}{K_{DO}^{NOB} + S_{DO}}) (\frac{S_{IC}}{K_{IC}^{NOB} + S_{IC}}) ([a(T - T_{min}^{NOB})]^2 - 1 - e^{c \cdot (T - T_{max}^{NOB})}) \quad (3b)$$

The relative activity of AOB over NOB, defined as the nitrite accumulation potential (NAP), can be estimated by

$$NAP = q_{AOB}^*/q_{NOB}^* \quad (4)$$

Questo NAP è simile al rapporto usato da Tokutomi et al. μ_{AOB}/μ_{NOB} . Noi abbiamo normalizzato il valore di q con il suo rispettivo $\hat{q}_{max}$, il quale è ^{teoretico} e non determinabile direttamente da esperimenti. Il motivo di avere selezionato il NAP è basato sull'assunzione che in condizioni di crescita ideale i nitriti non si accumulano. Il rapporto q_{AOB}^*/q_{NOB}^* confronta la relativa differenza di ogni velocità di ossidazione di substrato (q_{AOB} e q_{NOB}) a quelle in condizioni ideali ($q_{max,AOB}$ e $q_{max,NOB}$).

2.3 Reattore, fango di inoculo e metodi analitici

Un CSTR con un volume operativo di 5 L, seguito da un sedimentatore con ugual volume operano a 30°C con una concentrazione di DO di 0.6-1.0 mg/L. Tramite l'aggiunta di bicarbonato o acido, una sonda online regola il pH mantenendolo su valori desiderari (7.3-8.0). Il reattore è stato inoculato con fango attivato preso dall'impianto di trattamento di Ansan, nella Corea del Sud. La concentrazione degli MLSS iniziale del fango di inoculo era approssimativamente pari a 2300 mg/L. Il CSTR è stato assunto per trattare un surnatante semi-sintetico (10% surnatante vero del digestore e 90% di mezzo sintetico) che conteneva mediamente ~600 mgN/L di azoto ammoniacale totale (TAN), ~400 mg/L di COD e ~2150 mg/L di alcalinità espressa come CaCO₃. La concentrazione dell'ammoniaca, dei nitriti, dei nitrati, degli MLSS e l'alcalinità sono state misurate secondo gli Standard Methods. I calcoli delle velocità di ossidazione dell'ammoniaca (AOR%), ALR (kg/m³ d) e il NAR (%) sono stati eseguiti secondo le procedure descritte nel lavoro precedente.

2.4 Stima dei parametri

Il fango è stato prelevato dai reattori durante i 180-200 giorni di funzionamento per determinare i coefficienti cinetici (K_S e K_I) di AOB e NOB. La dimensione media del fiocco era di ~100 μ m, che è stato esaminato usando un analizzatore di dimensioni particellari Malvern Mastersizer S. La caratterizzazione microbica è stata eseguita mediante un'analisi PCR, la quale ha mostrato le specie *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* rispettivamente predominanti per gli AOB e per gli NOB. Tutti i test cinetici sono stati eseguiti in un reattore batch da 500 mL, un dispositivo di agitazione con controllo di temperatura a 30±1°C, un diffusore d'aria, un pHmetro, e un DO-metro. Per una data concentrazione media di substrato (S), è stato usato il valore di q per esprimere la velocità massima di degradazione per unità di biomassa in ogni prova batch, consentendo in tal modo di generare dei dati S-q a condizioni date. L'Allulthiurea (ATU, 10 mg/L) e sodio azide (NaN₃, 1.5 mg/L) sono stati utilizzati per la soppressione della nitrificazione e della nitratazione come necessario. Il pH è stato mantenuto a circa 8.0 nell'inibizione con FA, e a circa 7.0 per le prove di inibizione con FNA. Per le prove di affinità e inibizione del substrato, sono stati stimati i parametri cinetici $K_{S,AOB}$, $K_{I,FA,AOB}$, $K_{S,NOB}$, $K_{I,FNA,NOB}$ per regressione non-lineare. Negli esperimenti di substrato non-inibito (cioè, FNA per gli AOB, FA per gli NOB) il metodo a grafico lineare diretto è stato utilizzato per stimare $K_{I,FNA,NOB}$ e $K_{I,FA,AOB}$. Corrispondentemente, i parametri dipendenti dalla temperatura (T_{min} , T_{max} , a e c) sono stati stimati utilizzando il modello di Grundiz et al., ed il modello modificato di Ratkowsky è stato utilizzato per l'adattamento della curva.

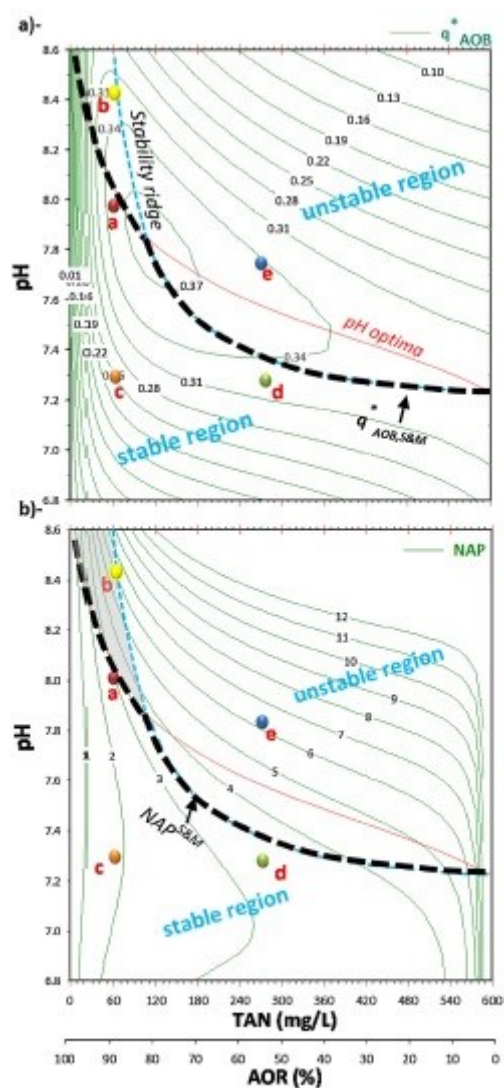


Fig. 1. (a) Relative nitritation rate (q_{AOB}^*) and (b) nitrite accumulation potential (NAP) in a CSTR at various substrate concentrations and pH values (S^o : 600 mgN/L, DO concentration: 1.5 mg/L).

3. Risultati

3.1 L'individuazione delle condizioni di massima e stabile nitritazione nel CSTR

Le curve caratteristiche della velocità di nitritazione relativa (q_{AOB}^*) per S^o : 600 mgN/L a differenti valori di pH (6.8-8.6) e una concentrazione ammoniacale totale/nitriti (0-600 mgN/L) per una concentrazione di DO data (1.5 mg/L) e una temperatura di 30°C sono presentate in Fig.1. I calcoli sono stati eseguiti usando l'equazione 3(a) e i parametri cinetici di Tabella 1, basati sui casi di accumulazione riuscita di nitriti, è stato assunto che il 98% dell'ammoniaca totale ossidata si sia accumulata come nitriti. È evidente che ad un dato pH, q_{AOB}^* aumenta con la concentrazione del substrato (S_{TAN}), raggiunge un massimo ad un valore di concentrazione del substrato critico (S_C) e poi diminuisce. Un andamento del genere rispecchia un comportamento di self-inibizione indotto dall'inibizione di FA, la quale aumenta con l'aumentare di S_{TAN} .

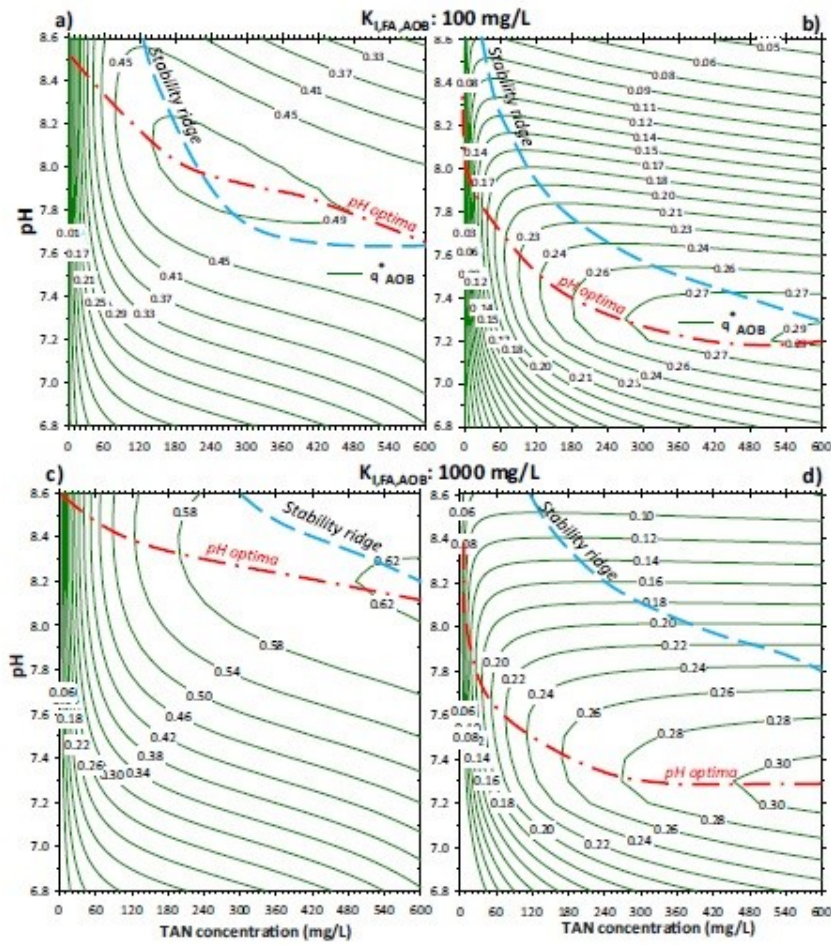


Fig. 2. Impact of $K_{LFA, AOB}$: 100, 1000 mg/L on relative nitrification rate (q_{AOB}^*) and stable operation conditions at various TAN concentrations in a CSTR, considering substrate for AOB as (a, c)- TAN and (b, d)- FA.

Quando il pH è invariante, le reazioni al di sopra della concentrazione di substrato S_C sono instabili. I risultati dell'analisi di sensibilità nella determinazione degli effetti di FA, FNA, pH su q_{AOB}^* a diverse S_{TAN} sono presentati in fig. S2 nel materiale allegato. La linea blu spezzata in Fig. 1a connette il valore massimo di q_{AOB}^* ottenuto quando il pH viene fatto variare. Qui, la parte inferiore sinistra della linea è identificata come la regione stabile, mentre la parte superiore destra è denotata come regione instabile. La linea blu rappresenta quindi una "cresta di stabilità" tra le regioni stabili ed instabili. Operazioni stabili a qualsiasi S_{TAN} possono essere raggiunte nella regione stabile. D'altra parte, la massima q_{AOB}^* a qualsiasi S_{TAN} può essere riscontrata lungo la curva a pH ottimale (mostrata in Fig. 1a come una linea rossa piena). Questo rispecchia gli effetti diretti e indiretti (di inibizione) del pH sull'ossidazione dell'ammoniaca. La cresta di stabilità e la curva del pH ottimale si intersecano a grandi valori ottimali di TAN (S_{opt}) e pH (~120 mgN/L e 7.8, in questo caso), sotto le fornite equazioni cinetiche, parametri e temperatura. In particolare il valore S_{opt} è direttamente influenzato da K_S e K_I a causa della natura inibitoria su sé stesso della reazione di nitrificazione. Di conseguenza, ad ogni S_{TAN} desiderato la velocità di nitrificazione massima e stabile ($q_{AOB, S\&M}^*$) può essere raggiunta sulla cresta di stabilità se S_{TAN} è maggiore di S_{opt} , o se nella curva di pH ottimale S_{TAN} è minore di S_{opt} , la quale viene rappresentata dalla linea tratteggiata in grassetto in Fig. 1a. Se per esempio è richiesto un tasso di ossidazione dell'ammoniaca (AOR) del ~90%, un pH di circa 8.0 (punto a) è vicino alla condizione ottimale. Un pH eccessivamente basso (7.3, punto c) riduce significativamente il tasso di reazione di circa il 30%. Analogamente, per generare un anammox adatto (cioè circa 55% di nitriti e circa 45% di ammoniaca), il pH dovrebbe rimanere al di sotto del valore limite (pH_{AOB}^{thres}) come nel caso del punto d; pH più elevati (7.6, punto e) conducono all'instabilità. Il comportamento dinamico di q_{AOB}^* rispecchia gli effetti aggregati di inibizione da parte di FA e FNA, del pH e della concentrazione di substrato. La Fig. 1b mostra l'accumulo potenziale di nitriti (NAP) del sistema sotto varie condizioni. Il NAP è stato calcolato confrontando q_{AOB}^* e q_{NOB} in base all'eq.4. È evidente che il NAP cresce quando aumentano o il pH o S_{TAN} , principalmente a causa dell'effetto amplificato di inibizione da parte di FA. Comunque, la reazione diventa instabile al di sopra della linea blu tratteggiata. I valori di NAP posizionati sulla linea di $q_{AOB, S\&M}^*$ sono chiamati $NAP^{S\&M}$. Le condizioni operative in corrispondenza dei punti a e d forniscono un NAP significativamente alto (≥ 2.5), mentre in corrispondenza di c (dove q_{AOB}^* è relativamente basso) si ha un basso NAP. Sebbene l'accumulo potenziale di nitriti appaia sufficientemente alto sulla $NAP^{S\&M}$ nella maggior parte dei casi, un beneficio maggiore può essere riscontrato se viene scelto un pH operativo alto, dove è collocato il punto b. Questo

beneficio può risultare utile quando si deve emettere un effluente con valori bassi di TAN e solamente se un alto pH non risulti troppo dispendioso.

Table 1
Kinetic parameters for the model simulations.

Kinetic parameters				Source
Parameter	Definition	AOB	NOB	
K_S	half-max-rate concentration (mgN/L)	32.60	97.60	This study
K_{DO}	half-max-rate concentration (mgDO/L)	0.50	1.00	
K_{IC}	half-max-rate concentration (mg-C/L)	21.4	–	Tokutomi et al. [12]
$K_{I,FA}$	inhibition concentration (mg NH ₃ -N/L)	16.7	1.60	
$K_{I,FNA}$	inhibition concentration (mg HNO ₂ -N/L)	0.17	0.03	This study
T_{max}	maximum temperature at which growth is observed	49.28	50.6	Estimated ^b
T_{min}	minimum temperature at which growth is observed	2.64	0	
a	Temperature dependency coefficient	1.33	0.06	Park et al. [6]
c		0.000037	0.02	
w	pH range	3.20	2.40	Park et al. [6]
pH_{opt}	optimal pH	8.40	7.70	

^a Average of 20 reported values.

^b From Grunditz et al. [16].

3.2 Gli effetti dell'equazione cinetica e dei suoi parametri su q_{AOB}^*

Sebbene prendere TAN come substrato per le cinetiche di ossidazione dell'ammoniaca (eq.1) sia basato su osservazioni sperimentali, esistono degli indizi sperimentali che l'ammoniaca risulta il substrato attuale per gli AOB. Inoltre, Van Hulle et al. adottano una inibizione anti-competitiva tramite FA e FNA sugli AOB e una funzione a campana del pH. Una differente equazione cinetica può produrre differenti risultati nell'analisi di q_{AOB}^* . Prendendo in considerazione tutte queste differenze è stata formulata la seguente equazione da Van Hulle et al.

$$q_{AOB} = \hat{q}_{max} \frac{S_{FA}}{K_{S,FA}^{AOB} + S_{FA}} \frac{K_{I,FA}^{AOB}}{K_{I,FA}^{AOB} + S_{FA}} \frac{K_{I,FNA}^{AOB}}{K_{I,FNA}^{AOB} + S_{FNA}} \frac{S_{DO}}{K_{DO}^{AOB} + S_{DO}} \frac{K_{pH}^{AOB}}{K_{pH}^{AOB} - 1 + 10^{|pH_{opt}^{AOB} - pH|}} \left([a(T - T_{min}^{AOB})]^2 \{1 - e^{c \cdot (T - T_{max}^{AOB})}\} \right) \quad (5)$$

Dove K_{pH}^{AOB} e pH_{opt}^{AOB} sono parametri rispettivamente dipendenti dal pH e dal pH ottimale per gli AOB. Per i calcoli del modello i valori cinetici proposti da Van Hulle et al. sono stati usati ad esclusione di $K_{I,FA}^{AOB}$, il quale è stato preso dalla Tabella 1. I risultati sono presentati in Fig. S3, in cui si illustra che il trend generale è quello di Fig. 1a, mantenendo la cresta di stabilità e il pH massimo come descritto in precedenza. Comunque le curve di stabilità e di pH ottimale scendono verso valori di pH più bassi. I più importanti cambiamenti si hanno in corrisponde di un pH ottimale (circa 7.2) e S_{opt} (circa 300 mgN/L) che risulta molto probabilmente causato da un valore molto minore di pH (7.23) applicato in Fig. S3 rispetto a 8.4 applicato in Fig. 1a. La magnitudo del valore massimo q_{AOB}^* (circa 0.23) è ora significativamente minore (circa 0.39, se comparato con quello di Fig. 1a), principalmente a causa dei differenti coefficienti di temperatura applicati nei modelli (vedi Tabella 1 e Tabella S5). Il valore massimo calcolato di q_{AOB}^* rimane lo stesso in entrambi i modelli se vengono applicati gli stessi coefficienti di temperatura. Oltre ai parametri cinetici, $K_{I,FA}^{AOB}$ è molto importante in quanto influenza direttamente S_C e quindi la regione stabile. L'acclimatazione delle cellule all'inibizione con FA è ben noto. Per esempio, nel trattamento di un'acqua reflua ad alto contenuto ammoniacale (S^0 : ~3000 mgTAN/L), Jubany et al. hanno trovato una significativa inibizione di FA con fango non acclimatato (~7 mgFA/L); comunque, con fango acclimatato la $K_{I,FA}^{AOB}$ aumenta a ~93 mgFA/L. Van Hulle et al. hanno riscontrato una inibizione insignificante anche a ~300 mgFA/L con un fango prelevato da un reattore SHARON, utilizzato nel trattamento di un flusso con alto contenuto ammoniacale S_{TAN} . Rispecchiando l'acclimatazione degli AOB a concentrazioni FA, l'influenza di altri valori di impatto superiore $K_{I,FA}^{AOB}$ (100 e 1000 mgFA/L) sono stati testati (precedentemente $K_{I,FA}^{AOB}$ era 16.7 mgFA/L) sui modelli attuali (Eq. (3a) e (5)) e i risultati sono illustrati in Fig. 2a e c calcolati usando l'Eq. (3a) e dei parametri nella Tabella. 1, mentre l'Eq. (5) e i parametri in Tabella S5 sono stati utilizzati per simulare Fig. 2b e D. Con una $K_{I,FA}^{AOB}$: 100 mg/L e TAN come substrato, Fig. 2a mostra che la cresta di stabilità e il pH optima sono (rispetto alla Fig. 1 bis) leggermente sollevati e, quindi, S_{opt} aumenta (~240 mgN/L), il che suggerisce una produzione adatta all'alimentazione di un processo anammox. Essa mostra inoltre che la grandezza di q_{AOB}^* aumenta significativamente (~35% rispetto alla Fig. 1a) grazie alla riduzione di inibizione FA. Con FA come substrato, Fig. 2b mostra che non vi è alcuna intersezione tra la cresta di stabilità e pH optima, il che rende la reazione sempre stabile a qualsiasi pH ottimale. Quando un S^0 superiore viene testato, tuttavia, ancora si incrociano (dati non mostrati). Lo spostamento di S_{opt} verso una maggiore S_{TAN} è simile al caso con TAN come substrato. Quando $K_{I,FA}^{AOB}$ = 1000 mg/L (Fig. 2c e d), il cambiamento più evidente è la contrazione della regione instabile. Ciò viene previsto perché l'inibizione FA (che provoca la reazione non stabile ad un valore alto) è ora debole. Sebbene le curve pH optima sono identificate in entrambi i casi. Con TAN come substrato (Fig. 2c) l'optimum pH si posa vicino alla posizione fisiologica ottimale (8.4 in questo caso) in quanto non vi è alcuna inibizione significativa FA ad un pH elevato. È inoltre dimostrato

che la grandezza di q_{AOB}^* aumenta in modo significativo a causa della minore inibizione FA. Figura 2 suggerisce che la misurazione di un valore di $K_{I,FA}^{AOB}$ accurato è molto importante per valutare q_{AOB}^* e la stabilità di reazione.

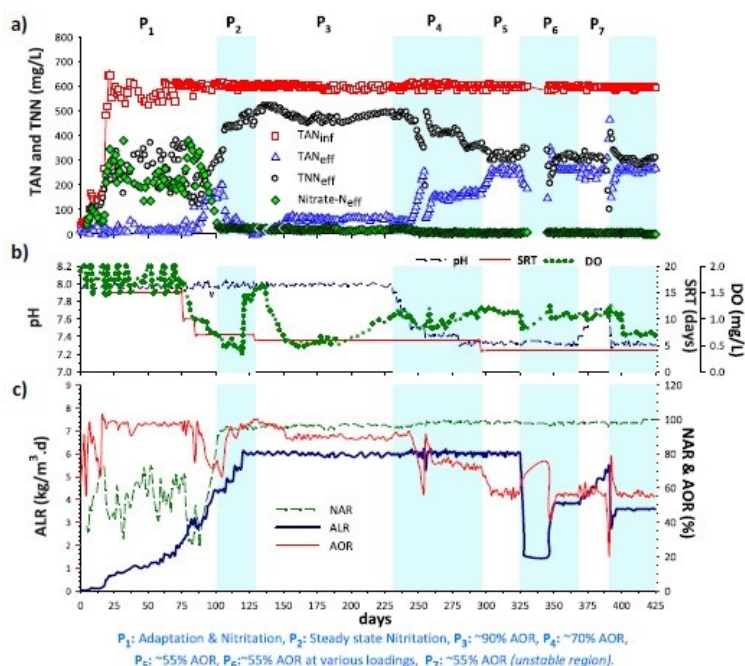


Fig. 4. Daily profile and performance of the CSTR (TAN: ~600 mg/L, Temperature: ~30°C).

3.3 Gli effetti del DO sull'accumulo potenziale di nitriti

Generalmente, l'affinità a DO è più alta per gli AOB rispetto che per gli NOB, producendo quindi un accumulo di nitriti maggiore per basse concentrazioni di DO.

Table 2
Summary of the operational parameters and performance for the different operational conditions.

AOR (%)	Operational days (phase)	pH Operational	DO (mg/L)	SRT (d)	MUS (mg/L)	TAN (mg/L) observed	TAN (mg/L) calculated ^a	q_{AOB} estimated ^b	NAP Estimated ^c	NAR (%)	ALR (kg N/m ³ ·d)	SACR ^c (kg N/kg MS·d)
~90%	151-200 (P1)	~8.0	~0.6	6	80.00 ± 300	62 ± 7	72	0.29	3.3	>97%	5.97 ± 0.06	0.67
~75%	261-280 (P4)	~7.4	~0.8	6	75.00 ± 250	150 ± 10	125	0.30	3.1	>98%	6.02 ± 0.07	0.62
~55%	304-322 (P5)	~7.3	~1.0	4	54.00 ± 250	257 ± 10	263	0.31	3.59	>98%	5.99 ± 0.05	0.61
~55%	351-367 (P6)	~7.3	~1.0	4	34.00 ± 150	263 ± 5	263	0.31	3.59	>99%	3.81 ± 0.03	0.62

^a The lower value calculated from Eq. (6), under the given experimental conditions.

^b By using Eqs. (3a) & (3b), under the given experimental conditions of DO, pH, temperature and S_{NH} and S_{NOB} .

^c Specific ammonium conversion rate which is calculated by $ALR \cdot AOR/100 = MUS/MS$ [kg AOR].

I ricercatori hanno raggiunto e mantenuto una eccellente accumulazione di nitriti a bassi livelli di DO, ma è stato osservato un ripristino dell'ossidazione dei nitriti a livelli elevati di DO. Per questo motivo, l'accumulo di nitriti è spesso stato raggiunto a scapito della velocità di reazione mantenendo una concentrazione troppo bassa di DO nel sistema. Figura 3 presenta i valori $NAP^{S\&M}$ per $S^o = 600$ mgN/L a varie concentrazioni di ammoniaca ($AOR \geq 50\%$) e livelli di DO (0.5-5.0 mg/L), che sono stati calcolati utilizzando Eq. (4) e i valori di parametri in Tabella 1. Come evidente nella Fig. 3, $NAP^{S\&M}$ espone una relazione inversa con la concentrazione di DO. Inoltre, gli alti valori di $NAP^{S\&M}$ sono stati ottenuti ad un livello DO di 0.5 mg/L. Variando la concentrazione di DO, $NAP^{S\&M}$ aumenta con un aumento della S_{TAN} , raggiunge un massimo a ~ 120 mgN/L (ossia, a S_{opt}), poi scende leggermente a causa di un calo della inibizione FA causata da una riduzione del pH (vedi anche Fig. 1b). È evidente che $NAP^{S\&M}$ diminuisce significativamente quando il contenuto DO passa da 0.5 a 3.0 mg/L, ma la riduzione diventa banale se esso supera i 3.0 mg/L. Da un punto di vista della sicurezza, un NAP di 2, che può essere raggiunto quando $S_{TAN} > 30-40$ mgN/L, è suggerito al fine di mantenere un sistema di nitrificazione efficace. Ciò ha suggerito che il NAP minimo è in buon accordo con i nostri risultati sperimentali e le nostre analisi (che verranno mostrati più avanti). In alcuni casi (di solito in condizioni tradizionali) i ricercatori hanno segnalato $K_{O,AOB} > K_{O,NOB}$ a causa della presenza di Nitrospira invece di Nitrobacter come specie dominante. Così, una relazione opposta tra $DO-NAP^{S\&M}$ può essere in tale caso prevista. Le simulazioni con due diverse combinazioni di $K_{O,AOB}$ e $K_{O,NOB}$ (in mg/L, $K_{O,AOB} = 0.8$, $K_{O,NOB} = 0.5$ e $K_{O,AOB} = 1.16$, $K_{O,NOB} = 0.16$) hanno mostrato che dei $NAP^{S\&M}$ più grandi di 2 saranno raggiunti ad alte concentrazioni di DO e TAN (vale a dire, $DO > 2$ e $TAN > 60$ mg/L).

3.4 Le operazioni del reattore

Gli esperimenti nel reattore sono stati avviati in un CSTR da 5 L seguito da un sedimentatore con stesso volume, e utilizzando un feed diluito di ~ 40 mgN/L a pH 8 e concentrazione DO di ~ 1.5 mg/L; HRT e SRT iniziali erano rispettivamente 2.5 e 15 giorni (Fig. 4). L'ALR è stato gradualmente aumentato aumentando la concentrazione di

alimentazione nelle fasi e la portata in un secondo tempo (P_1). Vale la pena notare che l'accumulo potenziale di nitriti (NAP) durante i giorni 20-80 è stato stimato essere ~ 1.3 . La NAR ha oscillato intorno al 55%, dimostrando che un accumulo potenziale di nitrito di 1.3 non è stato sufficiente agli AOB per superare gli NOB. Tuttavia, la NAR è aumentata fortemente nel corso del periodo di 90-100 giorni, dove il NAP è stato intorno ~ 6 . Per l'avvio e la stabilizzazione del CSTR ci sono voluti circa 110 giorni. Una volta che il processo di nitrificazione è stato completamente stabilito e mantenuto, un graduale aumento nel carico è stato attuato per determinare la massima capacità del sistema (P_2). Il HRT è progressivamente ridotto da 3 h a 2.4 h al giorno n° 120. Un aumento nel carico fino a ~ 6.0 kgN/(m³ d) non peggiora le prestazioni del sistema, anche se la concentrazione di DO sia scesa a circa ~ 0.5 mg/L. Nessun aumento ulteriore del ALR è stato effettuato a causa delle limitazioni sulla fornitura di DO nel nostro sistema del reattore. Con il pH e ALR fissati a 8 e ~ 6.0 kgN/(m³ d) rispettivamente, il reattore è stato fatto operare per 9 giorni aggiuntivi con un SRT di 7 giorni. Il reattore ha mostrato prestazioni molto stabili, producendo un S_{TAN} di 25 ± 10 mgN/L, un AOR $\sim 96\%$ ed un NAR $> 95\%$.

3.4.1 Funzionamento a AOR di progetto

Per ottenere un tasso di ossidazione di ammonio nominale del 90%, il SRT è stato ridotto da 7 a 6 giorni il giorno 129 (P_3) portando ad un costante aumento di S_{TAN} fino a quasi 60 mgN/L (giorno 150), senza influenzare l'accumulo di nitriti. Per i successivi 80 giorni, la nitrificazione tendeva ad essere stabile con un S_{TAN} di ~ 60 mgN/L a pH 8.0, NAP: 3.3 e NAR $> 97\%$. L'eccellente stabilità del NAR è attribuita sia al washout degli NOB che al valore alto del NAP. Per esaminare le prestazioni del sistema in un AOR nominale del 75% ($S_{TAN} \sim 150$ mgN/L), il pH è stato gradualmente diminuito 8.0-7.6 a partire dal giorno 231 (P_4). Un piccolo cambiamento nelle prestazioni del reattore (compreso S_{TAN}) è stato osservato durante i giorni 231-243, anche se il valore q_{AOB}^* è diminuito solamente del $\sim 8\%$ (in base alle stime, Fig. 1a). Tuttavia, quando il pH è stato ulteriormente ridotto a 7.5 (e il valore q_{AOB}^* è diminuito del $\sim 18\%$ rispetto a quello a pH 8), il valore di S_{TAN} è fortemente aumentato raggiungendo ~ 255 mgN/L in 10 giorni. In questa fase, il reattore è stato interrotto e il surnatante è stato sostituito in modo da ridurre la S_{TAN} a ~ 65 mgN/L per mantenere la reazione nella regione stabile. L'operazione è stata ripresa dopo aver regolato il pH a 7.4, il che ha stabilizzato il reattore ad un nuovo stato stazionario, la S_{TAN} media durante i giorni 261-280 era 150 ± 10 mgN/L ($\sim 75\%$ AOR). La riduzione ulteriore del pH a 7.3 non degradava le prestazioni del sistema, e una concentrazione costante S_{TAN} di ~ 160 mgN/L con un NAR di $\sim 98\%$ sono stati ottenuti durante i giorni 280-295. Per ottenere un feed adatto all'anammox (cioè, un AOR del 55%), SRT è stato ulteriormente ridotto da 6 a ~ 4 giorni dal giorno 296, con un conseguente aumento graduale S_{TAN} fino a ~ 260 mgN/L (P_5). In questa condizione, le prestazioni del sistema erano stabili per i successivi 30 giorni con un ALR di ~ 6.0 kgN/(m³ d) ed un NAR del $\sim 99\%$. Per studiare le prestazioni del reattore a vario titolo (ad esempio, carichi) e al 55% di AOR (P_6), la portata è stata gradualmente ridotta da 50 L/d a 12.5 L/d (risultando in una diminuzione di ALR a ~ 1.5 kgN/(m³ d)) durante i giorni 325-330, poi gradualmente aumentata da 12.5 L/d a 32 L/d nei giorni 346-350 (risolvendo la ALR da ~ 1.5 a ~ 3.8 kg/(m³ d)). Tali fluttuazioni del carico non hanno influenzato le prestazioni del reattore, in quanto è stato osservato un comportamento di stato stazionario per i successivi 16 giorni (351-367) con NAR di $\sim 99\%$ e AOR di $\sim 55\%$.

3.4.2 Le operazioni nella regione instabile

Nella regione stabile (P_2 - P_6), il carico è stato aumentato da (i) 4.84 a ~ 6.0 kgN/(m³ d) nei giorni 108-120, (ii) da ~ 1.5 a ~ 3.8 kgN/(m³ d) durante i giorni 346-350, e (iii) ridotto da ~ 6.0 a ~ 1.5 kgN/(m³ d) durante i giorni 325-330. Nessuno di questi cambiamenti ha causato un fallimento nelle prestazioni, in quanto il sistema ha sempre recuperato rapidamente la stabilità. Il pH_{AOB}^{thres} calcolato per la nitrificazione stabile con un AOR $\sim 55\%$ era ~ 7.42 alle condizioni sperimentali date. Per studiare le prestazioni della nitrificazione nella regione instabile con un AOR 55%, il pH è stato gradualmente aumentato da ~ 7.3 a ~ 7.6 (P_7); ALR è aumentata (aumentando Q) causando quindi un aumento di q_{AOB}^* con un aumento del pH. A 372 giorni, la reazione è entrata nella regione instabile appena il pH ha raggiunto il valore di 7.5. Con un aumento nel carico, la concentrazione di ammonio è leggermente aumentata, ma la stabilità del sistema è stata mantenuta per un certo periodo di tempo. Tuttavia, un altro incremento di carico al giorno 388 ha disturbato la stabilità, e la concentrazione di ammonica è aumentata da ~ 260 al ~ 450 mgN/L in tre giorni. Confrontando questo comportamento a quello in P_2 (in cui la modalità di aumento del carico ammoniacale era simile ma la reazione era posizionata nella regione stabile), è stata osservata una risposta completamente diversa sulla concentrazione di ammoniaca effluente. Quando il pH è stato abbassato in modo da essere all'interno della regione stabile, la stabilità di reazione viene gradualmente ripristinata. Tali risultati sperimentali convalidano pienamente le previsioni del nostro modello proposto. Una sintesi della performance del CSTR in varie condizioni operative è presentata nella Tabella 2.

4. Discussione

4.1 Strategie operazionali per ottenere un S_{TAN} stabile e desiderato e per ottenere un massimo accumulo di nitriti nel CSTR in varie condizioni

Il raggiungimento di un S_{TAN} desiderato con un NAR elevato è fondamentale nei sistemi di nitrificazione. Per garantire il NAR massimo, i ricercatori hanno spesso implementato diverse condizioni operative, come l'elevata inibizione di FA e FNA o concentrazioni di DO basse. Di conseguenza, i sistemi a nitrificazione parziali sono stati stabiliti con controlli sul livello di DO o il rapporto bicarbonato/ammoniaca. Per quanto a nostra conoscenza, nessuna strategia operativa è stata proposta per realizzare un S_{TAN} desiderato (o tasso di rimozione di ammonio desiderato), pur mantenendo un tasso massimo di nitrificazione, a meno che non siano applicati dei sistemi di controllo. Al fine di valutare le prestazioni di una nitrificazione stabile e massima, considerando gli effetti simultanei di pH, DO, e θ_X , Eq. (3°) può essere utilizzata una equazione di bilancio di massa per la biomassa attiva (X_a), come dettagliato nei materiali di supporto. Una formula quadratica è risolto per S_{TAN} come segue:

$$S_{TAN} = \frac{\{Y \hat{q}' \theta_X - (1 + b \theta_X)\} \pm \sqrt{\{Y \hat{q}' \theta_X - (1 + b \theta_X)\}^2 - 4\beta'/(1 + b \theta_X)^2 K_S}}{2\beta'/(1 + b \theta_X)} \quad (6)$$

$$\text{Where } \hat{q}' = \frac{\hat{q}_{max} f(pH) f(DO) f(temp) f(IC)}{1 + \alpha}, \beta' = \frac{1 + \alpha}{\beta}$$

$$\text{in which } \alpha = \frac{I_{FNA}}{K_{I,FNA}}, \text{ and } \beta = \frac{I_{FA}}{S_{TAN} K_{I,FA}}$$

θ_X , Y e b nell'Eq. (6) rappresentano rispettivamente SRT, la resa e il coefficiente di decadimento. Dal momento che I_{FA} è una funzione di S_{TAN} , β non è influenzato da S_{TAN} (vedi Eq. (2a)). D'altra parte anche I_{FNA} è una funzione di S_{TAN} come $(S^\circ - S_{TAN})NAR/100$. Così, il termine sul lato destro dell'equazione (6) contiene S_{TAN} . Eq. (6) mostra che il S_{TAN} desiderato è una funzione del tempo di ritenzione dei fanghi (θ_X), coerentemente con la cinetica di Monod, ed è influenzato anche dal pH e dalla concentrazione di DO. Nell'Eq. (6), il valore di S_{TAN} più basso ottenibile si trova nella regione stabile, mentre quello più alto giace nella regione instabile. La Tabella 2 presenta i valori di S_{TAN} calcolati per le varie condizioni di funzionamento utilizzando i parametri cinetici e stechiometrici indicati nella Tabella S6. I valori di S_{TAN} calcolati sono simili a quelli ottenuti dalla sperimentazione, dimostrando così la validità di Eq. (6). Anche se alcuni dei parametri cinetici nella Tabella S6 (K_S e K_I) sono leggermente superiori a quelli in Tabella 1, tali differenze possono essere giustificate in quanto i primi riflettono l'adattamento dei batteri alla maggiore concentrazione del substrato. Eq. (6) ed i risultati della Tabella 2 mostrano che la nitrificazione stabile desiderata può essere raggiunta ottimizzando θ_X . I risultati quantitativi che dimostrano gli effetti di θ_X , pH e concentrazione di DO su S_{TAN} sono mostrati in Fig. 5. I parametri in Tabella S6 sono stati usati per simulare Fig. 5. Le linee continue nei valori di S_{TAN} denotano che possono essere realizzati nella regione stabile, mentre le linee tratteggiate rappresentano i valori instabili di S_{TAN} . È evidente che un più breve θ_X è richiesto per ottenere una maggiore S_{TAN} , coerentemente con la cinetica di Monod. Tuttavia, controllando il solo θ_X non è sufficiente a generare un feed adatto all'anammox; un pH più basso (7.3 o 7.0 in questo esempio) è essenziale per ottenere un così alto valore di S_{TAN} . Quando l'alcalinità dell'alimentazione è molto elevata, potrebbe non essere possibile abbassare il pH ad un livello sufficiente senza una dose di acido. In tali situazioni, un maggior grado di conversione per una frazione dell'alimentazione risulta forse più economico. Ad esempio, la conversione dell'80% di ammoniaca su una frazione di concentrazione del substrato del 70% produce una soluzione che contiene 56% di nitrito (e il 44% di ammonio). D'altra parte, il contenuto di DO sembra avere un effetto considerevole sul θ_X , così come un θ_X significativamente più lungo è necessario per ottenere un S_{TAN} desiderato ad una concentrazione DO inferiore. Il mantenimento di un lungo θ_X richiede un ricircolo dei fanghi superiore, il che implica un incremento del costo in termini di energia. Poiché il mantenimento di un livello di DO superiore aumenta anche il costo, è necessaria una strategia di ottimizzazione quando si va a scegliere la combinazione più economica tra DO e θ_X . Si è stimato il NAP in condizioni operative specifiche utilizzando Eq. (4) ed i parametri cinetici della Tabella S6 per valutare le condizioni di accumulo di nitriti. I risultati, mostrati in Fig. 5, forniscono una regione a $NAP < 2$ (la regione ombreggiata) nello scenario dato.

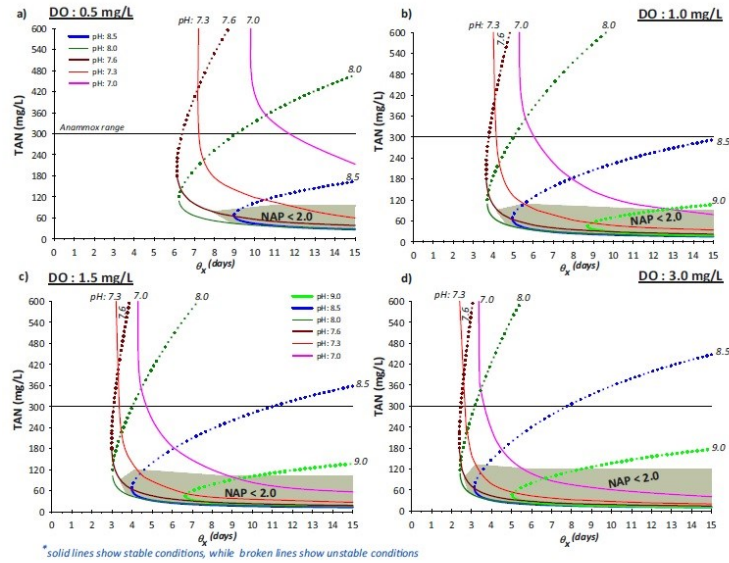


Fig. 5. Achieving the desired substrate concentration at various θ_x , pH, and DO conditions.

Così, le linee continue al di fuori della regione ombreggiata rappresentano le condizioni operative in cui la stabilità del CSTR può essere conservata e si afferma un accumulo di nitriti ($\text{NAP} \geq 2$). Le condizioni operative identificate in Fig. 5 sotto i parametri forniti, non solo garantiscono il raggiungimento stabile della concentrazione di ammoniaca desiderata, ma consentono anche il funzionamento alla massima capacità, evitando l'accumulo della FA o FNA non essenziali.

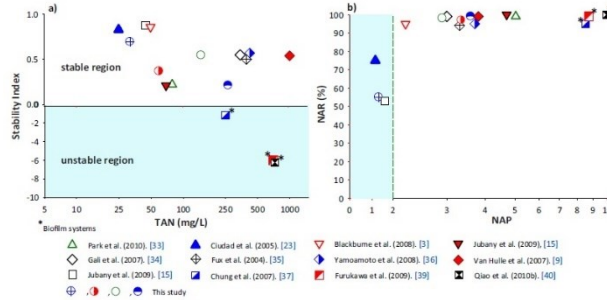


Fig. 6. Comparison of (a) the stability index and (b) NAR and corresponding NAP values of various reported nitrification systems under given conditions of S_{NH_4} , S_{NH_3} , pH, DO and temperature. The shape of the symbols indicate the reactor pH, such as: triangle-alkaline (pH: 7.8-8.3), diamond-acidic (pH: 6.5-7.0), and squares-slightly alkaline (pH: 7.3-8.0).

4.2 Applicazione pratica del presente lavoro

La validità del modello qui proposto è stato valutato in termini di stabilità e NAP, esaminando i vari sistemi a fanghi e biofilm di nitrificazione descritti in letteratura. Per confrontare la stabilità delle prestazioni tra i sistemi, viene introdotto lo "Stability Index (SI)"; questo indice di stabilità può essere definito come:

$$\text{Stability Index (SI)} = \frac{S_c - S_{\text{TAN}}}{S_c} \quad (7)$$

Dove S_c è la concentrazione residua di TAN in cui il massimo q_{AOB}^* (che può essere stimato da Eq. (3a)) si ottiene per dati valori di S° , di concentrazioni di DO, di pH e di temperatura. La Figura. 6a mostra i valori SI dei vari dati di nitrificazione segnalati. La stabilità del sistema aumenta con l'aumentare del valore SI mentre i valori vicino allo zero indicano una stabilità inferiore (quando S_{TAN} si avvicina S_c), ma maggiore attività. È evidente che la maggior parte dei dati riportati sulla nitrificazione, si trovano nella regione stabile. In tutti gli studi pubblicati in precedenza, S_{TAN} è relativamente bassa in condizioni alcaline mentre è relativamente elevata in condizioni acide, che è in eccellente accordo con i risultati di modellazione di Fig. 1a. È interessante vedere che tre operazioni si trovano nella regione instabile secondo i nostri calcoli (indicati con quadrati mezzi pieni), anche se sono state percepite come operazioni stabili dagli autori. Infatti, tali dati sono dei sistemi a biofilm di Chung et al. (blu) in cui hanno utilizzato dei mezzi polivinilici, mentre Furukawa et al. (rosso) e Qiao et al. (nero) hanno utilizzato pellets per la nitrificazione. Così, l'effettiva inibizione di FA avrebbe potuto essere minore a causa della resistenza alla diffusione o al pH interno acido. I valori SI sono stati valutati anche mediante l'applicazione del modello cinetico alternativo (Eq. (5)) e dei parametri di Van Hulle et al. (in cui FA è assunto come substrato per AOB). La Figura. S4 del materiale di supporto illustra i risultati che sono quasi simili alla Fig. 6a, dimostrando che SI è contenuto in entrambe le strutture cinetiche. Figura. 6b mostra i valori corrispondenti NAP calcolati a partire dai dati. La NAR è superiore al 97% quando il NAP è nella gamma di 2.2-5.4, mentre è sotto dell'80%

quando $NAP < 1.5$. Questo suggerisce che un NAP di 2 è un criterio ragionevole per mantenere un sistema efficace di accumulo dei nitriti. Anche se la validità dei risultati di Eq. (3) e (6) sono stati supportati da Fig. 5 e Tabella. 2 (si noti che le concentrazioni di TAN calcolate con l'equazione (6) risultano vicine a quelle osservate), ci sono stati diversi pensieri sulle equazioni cinetiche per quanto riguarda i veri substrati di nitrificazione. Mentre, Eq. (3a) adotta TAN come substrato basato sui risultati sperimentali di Park et al., alcuni ricercatori hanno riferito che sia FA ad essere il vero substrato. Abbiamo scoperto che il modello in cui TAN è il substrato (Eq. (3a)) sembra essere accettabile per spiegare i nostri risultati sperimentali. Nella Tabella 2 (ultima colonna) abbiamo presentato il tasso di conversione specifica di ammonio (SACR) per ogni fase del reattore. I SACRs sono simili tra loro, ad eccezione di P_3 (a pH ~ 8.0) che è leggermente più grande delle altre (a pH 7.3-7.4). Nel complesso questo è in accordo con la stima di q_{AOB}^* in Tabella 2 e riflette bene anche la tendenza crescente di q_{AOB}^* in Fig. 1a come la reazione si sposta dal punto d al punto a. Inoltre, la base comune della tesi opposta che stima un serio cambiamento del valore di K_S avente TAN come substrato, potrebbe avere un valore limitato. I valori apparenti di K_S stimati nel range della gamma non inibitoria (come hanno fatto i ricercatori) dovrebbero cambiare a seconda del tipo di modello di auto-inibizione. Una simulazione numerica dell'eq. (3a) rivela che la K_S apparente aumenta 4 volte quando il pH varia da 9.0 a 6.0 sebbene la K_S in ingresso sia costante. Le discussioni sopra riportate suggeriscono la necessità di ulteriori indagini sulle strutture cinetiche appropriate. Inoltre, è necessaria una più ampia ricerca sul cambiamento di $K_{I,FA}$, in quanto esso influisce direttamente sulla stabilità della reazione.

Factors affecting the growth rates of ammonium and nitrite oxidizing bacteria.

Giulio Munz, Claudio Lubello, Jan A. Oleszkiewicz.

Chemosphere (2011), 83 (5), 720-725.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.01.058>

Abstract

Le velocità specifiche massime di crescita di entrambi i batteri ammonio ossidanti (AOB) e batteri nitrito ossidanti (NOB) sono state studiate al variare del tempo aerobico di ritenzione solidi (SRT_a) e della condizione presenza/assenza di ossigeno (alternate). Due SBR, reattore R1 e R2, sono stati eseguiti in parallelo per 150 d. Il reattore R1 operava in condizioni aerobiche, mentre R2 viene utilizzato in condizioni di alternanza anossico/ aerobico. L'alimentazione (acqua reflua sintetica), la temperatura, il tempo di ritenzione idraulica e la miscelazione erano parametri identici in entrambi i reattori. Il SRT_a in entrambi i reattori è stato fissato, sequenzialmente, a quattro valori: 5, 4, 3 e 2 d. Dei test cinetici sulle biomasse di entrambi i reattori sono stati effettuati per le velocità specifiche massime di crescita (μ_{max}) e della velocità di decadimento ad ogni SRT_a testato, sia in condizioni aerobiche che anossiche. I parametri cinetici dei nitrificatori sono stati stimati attraverso la calibrazione di un modello a fanghi attivi di nitrificazione-denitrificazione. I risultati indicano un leggermente superiore $\mu_{max(AOB)}$ e $\mu_{max(NOBS)}$ in condizioni alternate, mentre sia $\mu_{max(AOB)}$ che $\mu_{max(NOBS)}$ non hanno mostrato di variare nell'intervallo di SRT_a testato (da 2 a 5 d) a 20°C. Essi risultavano relativamente alti rispetto ai dati della letteratura: $1,05\text{ d}^{-1} < \mu_{max(AOB)} < 1,4\text{ d}^{-1}$ e $0,91\text{ d}^{-1} < \mu_{max(NOBS)} < 1,31\text{ d}^{-1}$. I coefficienti di decadimento sia degli AOB che degli NOB erano molto più elevati nella fase aerobica (da $0,22\text{ d}^{-1}$ - $0,28\text{ d}^{-1}$) che nell'anossica ($0,04\text{ d}^{-1}$ - $0,16\text{ d}^{-1}$) sia in R1 che in R2, il che ha spiegato le maggiori velocità di nitrificazione osservate nel reattore alternato.

1. Introduzione

Le velocità specifiche massime di crescita (μ_{max}) e i coefficienti di decadimento dei batteri ammoniacali ossidanti (AOB) e batteri ossidanti nitrito (NOB) sono i parametri più importanti per la progettazione del reattore e il funzionamento nel trattamento a fanghi attivi. L'adozione di un modello di nitrificazione a due step è stato un passo importante verso una migliore descrizione meccanicistica del processo di nitrificazione (Ossenbruggen et al., 1996) in cui la stabilità dipende strettamente dall'interazione reciproca tra AOB e NOB e i loro substrati (Graham et al., 2007; Kaelin et al., 2009). Tuttavia, la maggiore complessità del modello a due step non ha risolto il precario accordo sulle cinetiche dei nitrificanti come parametro caratterizzante della popolazione microbica come risultato di pressioni selettive. I parametri cinetici della popolazione nitrificante hanno dimostrato di essere variabile nel tempo su un esperimento eseguito in condizioni di un regime di alimentazione stazionario/funzionamento a regime (Daebel et al., 2007) e dipendente dalle condizioni di start-up e dall'inoculo (Villaverde et al., 2000; Graham et al., 2007; Wittebolle et al., 2009). Mentre l'ammoniaca non ionizzata e l'acido nitroso influenzano le velocità biologiche di ossidazione (Parco e Bae, 2009), l'effetto sulla concorrenza interspecie, che diventa chiaro quando si utilizzano degli inibitori (Juliastuti et al., 2003; Mertoglu et al., 2008), ancora deve essere valutato. La selezione della comunità microbica è risultata essere correlata alle condizioni operative, come l'abbondanza di substrati (Geets et al., 2006; Dytczak et al., 2008; Volcke et al., 2008); infatti, sulla base di teorie ecologiche come la risorsa-ratio (Tilman, 1982) e la teoria di invecchiamento (Lavric e Graham, 2010), sembra che sia la concentrazione del substrato che il tempo di ritenzione dei solidi (SRT) potrebbero influenzare le cinetiche dei nitrificanti. Vari ricercatori hanno descritto la selezione dei nitrificanti facendo riferimento alla cinetica di crescita (Yuan e Blackall, 2002; Geets et al., 2006; Kim e Kim, 2006; Logemann et al., 2006; Dytczak et al., 2008). In conformità con la teoria risorsa-ratio l'abbondanza di substrati, o il basso SRT, può selezionare i batteri a crescita rapida (r-strategist), mentre una bassa concentrazione di substrato può selezionare i batteri K-strategist. La teoria di invecchiamento è stata già utilizzata

per spiegare l'instabilità nei sistemi a fanghi attivi (Lavric e Graham, 2010). L'invecchiamento delle cellule batteriche (Nyström, 2002) ha potenziali implicazioni sulla cinetica di crescita e decadimento (Curtis et al., 2003; Lavric e Graham, 2010). Insieme alla cinetica di crescita batterica, la selezione può essere influenzata anche da processi di decadimento che comprendono il sostentamento, la lisi, decadimento interno ed esterno e la predazione (van Loosdrecht e Henze, 1999; van Bodegom, 2007). Poiché le cinetiche degli AOB e NOB variano ampiamente, un'ulteriore delucidazione delle relazioni che intercorrono tra cinetiche, le condizioni ambientali e la dinamica delle popolazioni è garantita durante la ricerca di condizioni di processo che dovrebbero portare la biomassa nitrificante nella direzione più ottimale. Lo scopo di questa ricerca è stato quello di verificare se le condizioni ossiche-anossiche alternate e SRT aerobico (SRT_a) influenzano la cinetica dei nitrificanti selezionati in quelle condizioni. In particolare la ricerca era quella di trovare se la μ_{max} della biomassa selezionata è influenzata da SRT e SRT_a , e l'effetto delle condizioni aerobiche e anossiche sui coefficienti di decadimento endogeni dei nitrificanti selezionati, sia in condizioni aerobiche che alternate (ossiche/anossiche).

2. Materiali e metodi

2.1 Set-up reattore

Due reattori SBR sono stati messi a punto con un volume di liquido totale di 3L ciascuno e gestiti a $20 \pm 1^\circ\text{C}$. I reattori avevano una sequenza di riempimento, reazione, supero fanghi, sedimentazione e decantamento. Il reattore 1 (R1) è stato operato in condizioni aerobiche, mentre il reattore (R2) è stato operato in condizioni alternate anossiche/aerobiche. Gli SRT_a erano identici per entrambi i reattori in parallelo e sono stati adeguati durante l'esperimento come segue: $SRT_a = 5; 4; 3; 2$ d. L'esperimento è durato 150 d ed è stato suddiviso in quattro periodi (periodo 1: $SRT_a = 5$ d, durata = 50 d; Periodo 2: $SRT_a = 4$ d, durata = 30 d; Periodo 3: $SRT_a = 3$ d, durata = 37 d; Periodo 4: $SRT_a = 2$ d, durata = 22 d); ogni periodo era lungo almeno sette SRT. L' SRT totale era maggiore in R2 a causa del tempo trascorso dai solidi in condizioni anossiche ($SRT(R2) = 1.5 SRT(R1)$). Il tempo di ritenzione idraulica (HRT) era 12 h ed il pH è stato mantenuto nel range 7.2-7.5, per entrambi i reattori. L'ossigeno disciolto (DO) è stato controllato durante la fase aerobica con concentrazione non limitante (5-7 mg/L). L'alcalinità è stata sufficientemente fornita per sostenere una nitrificazione non-inibita.

2.2 Alimentazione e inoculi

Come inoculo è stata utilizzata la biomassa di uno studio precedente sulla nitrificazione in condizioni alternate. Il refluo sintetico utilizzato come alimentazione (in mg/L), è costituito da estratto di carne = 90; estratto di lievito = 90; $MnSO_4 = 1.22$; $FeSO_4 = 10.1$; $KCl = 3.125$; $K_2HPO_4 = 87.6$; $NaHCO_3 = 163.5$; $CaCl_2 = 1.68$; $NH_4Cl = 33.5$; $MgSO_4 = 10.86$. Il COD medio influente era 290 mg/L mentre il TN era 30 mg/L.

2.3 Il funzionamento e il monitoraggio del processo

I reattori hanno eseguito tre cicli al giorno. Per ogni ciclo, R1 ha attraversato un periodo di 20 minuti di riempimento (aerobico), seguito da un periodo aerobico di 6 h e 40 min quindi 40 min di sedimentazione e 20 minuti di decantazione. Il reattore R2 ha attraversato un periodo di 20 min di riempimento (anossico), un periodo anossico di 2 h, seguito da un 4 h e 40 min di periodo aerobico; poi un periodo di 40 min di sedimentazione e infine 20 min di decantazione. Il fango attivo di scarto è stato rimosso al termine del periodo aerobico sia per R1 che per R2. I solidi sospesi del mixed liquor (MLSS) e i solidi sospesi volatili del mixed liquor (MLVSS) e l'alcalinità sono stati analizzati secondo i metodi standard (1998). Le fiale di digestione Hach COD sono state usate per misurare il COD. Il fosfato e l'ammoniaca disciolti sono stati misurati utilizzando uno strumento Lachat Quik Chem 8500, seguendo il metodo di Quik Chem ortofosfato 10-115-01-1-O, e Quik Chem metodo di ammoniaca 10-107-06-1-I. Nitrati e nitriti sono stati analizzati mediante analisi di iniezione di flusso (LACHAT Quickchem 8500). Il DO è stato misurato con HQ10 Hach LDO portatile DO meter. Durante ciascun periodo sperimentale, sono stati effettuati almeno cinque studi di cinetica di nitrificazione a breve termine (8 h) su ciascun reattore, per valutare la risposta delle comunità al diminuire dell' SRT . All'inizio di ciascuna prova, la stessa concentrazione di azoto (come TKN) e COD presente all'inizio di ogni ciclo del processo SBR, è stata aggiunta. OD (> 6 mg/L) e pH (7.3-7.5) sono stati controllati. I campioni sono stati raccolti ogni 30 minuti per 8 ore e sono stati misurati i composti di azoto. I coefficienti di decadimento della AOB (b_{AOB}) e NOB (b_{NOB}) sono stati valutati nel corso di tre prove più lunghe (8 d), effettuate con la biomassa di R1 e R2 conservate sia in condizioni aerobiche (OD = 6 mg/L) che anossiche. Questi test sono stati fatti quando il SRT_a era 3 d; i campioni di biomassa raccolti dal SBR sono stati trasferiti a diversi reattori e mantenuti in condizioni sia aerobiche che anossiche e nutriti ogni 2 d per la durata totale di 8 d con 10 mgN/L di NH_4Cl . Le aggiunte istantanee sono state effettuate nello stesso reattore e le forme di azoto sono state misurate fino ad esaurimento dell'ammoniaca. Il pH è stato controllato a 7.3 ± 0.2 e la temperatura a $20 \pm 0.5^\circ\text{C}$. La concentrazione di ammoniaca per le prove è stata scelta come compromesso per evitare sia la limitazione che l'inibizione del substrato sulla base di dati osservati e di letteratura. La procedura per la stima di b_{AOB} e b_{NOB} , che include l'effetto di rilascio dell'ammoniaca a causa del decadimento degli eterotrofi, è descritta in dettaglio da Munz et al. (2011).

2.4 La modellazione dei processi

Un modello a fanghi attivi (ASM) con i processi di nitrificazione-denitrificazione a due fasi è stato utilizzato (Kaelin et al., 2009). Questo modello, che rappresenta separatamente la popolazione AOB e NOB, è stato già convalidato dagli autori con risultati sperimentali. Le equazioni di crescita di AOB e NOB (Park e Bae, 2009) sono state modificate per tener conto della eventuale inibizione da ammoniaca libera e acido nitroso libero sia per AOB che NOB mentre il decadimento endogeno è stato considerato come una funzione della concentrazione di DO come riportato da Munz et al. (2010). I parametri sono stati parzialmente assunti dalla letteratura, in parte valutati utilizzando tutti i dati sperimentali e in parte stimati modellando sulla base dei risultati dei test a breve termine. La procedura è la seguente: b_{AOB} e b_{NOB} sono stati stimati con il modello dinamico, utilizzando i risultati delle prove cinetiche batch specificamente progettate per la valutazione del decadimento, cioè dei test (durata = 8 d) con più aggiunte di ammoniaca su campioni di fanghi attivi conservati sia in condizioni aerobiche che anossiche. In questa fase la concentrazione iniziale di biomassa AOB e NOB (X_{AOB} e X_{NOB}) sono stati stimati attraverso bilancio di massa in stato stazionario, utilizzando i valori di riferimento per b_{AOB} , b_{NOB} e substrati consumati nel reattore, mentre i valori iniziali di $\mu_{max(AOB)}$, $\mu_{max(NO2)}$ e le costanti di semi-saturazione degli AOB per l'ammoniaca K_{AOB,NH_4} e degli NOB per i nitriti K_{NOB,NO_2} sono state calibrate con i risultati delle prove batch. Successivamente sono stati stimati con maggior precisione i valori della X_{AOB} e X_{NOB} grazie al modello dinamico delle condizioni sperimentali presenti nei reattori e sulla base delle nuove b_{AOB} e b_{NOB} . Infine, sono stati stimati i valori finali di b_{AOB} e b_{NOB} e le tendenze X_{AOB} e X_{NOB} , K_{AOB,NH_4} , K_{NOB,NO_2} , $\mu_{max(AOB)}$ e $\mu_{max(NO2)}$ attraverso la calibrazione del modello per ogni prova cinetica sulla base dei vari SRT testati - Tabella 1. Tutti i simboli della tabella, nonché i parametri di biomassa eterotrofi, sono come nel modello di riferimento presentato da Kaelin et al. (2009). Questo approccio, per la stima del decadimento dei nitrificanti, è stato già applicato e convalidato per la biomassa eterotrofa (Munz et al., 2008). Aquasim è stato utilizzato come strumento di modellazione.

3. Risultati e discussioni

Quando SRT_a operativo era compreso tra 5 e 3 d, l'ossidazione dell'ammoniaca a nitriti e di questi ultimi a nitrati, era completa in entrambi i reattori (R1 e R2). A SRT_a di 2 d l'ossidazione dell'ammoniaca a nitriti era quasi completa ma il nitrito non era completamente ossidato a nitrato sia in R1 che in R2. La fase anossica era sempre sufficientemente lunga per diminuire la concentrazione di nitriti e nitrati al di sotto di 1 mg N-NO₂/L e 1 mg N-NO₃/L rispettivamente.

3.1 Stima dei coefficienti di decadimento

Il modello è generalmente in grado di descrivere i fenomeni osservati, come esemplificato in Fig. 1 in cui vengono presentati i risultati sperimentali e simulati di un test per la stima di b_{AOB} e la stima di b_{NOB} . La Tabella 2. mostra b_{AOB} e b_{NOB} stimati, che sono in una gamma di valori maggiore rispetto ai dati di letteratura anche se valori più elevati sono stati trovati in presenza di alte concentrazioni di DO (Nowak et al., 1995; Yuan et al., 2000; Ahn et al., 2008). I valori di b_{AOB} e b_{NOB} in letteratura sono comunque altamente variabile quando riferiti ad una stessa temperatura di 20°C utilizzando i coefficienti di Arrhenius per AOB e NOB ($\theta_{b,AOB} = \theta_{b,NOB} = 1,05$) (AOB: $0,06 \text{ d}^{-1} < b_{AOB} < 0,31 \text{ d}^{-1}$; NOB: $0,04 \text{ d}^{-1} < b_{NOB} < 0,34 \text{ d}^{-1}$; Wett e Rauch, 2003; Galí et al., 2007; Vadivelu et al., 2006; Munz et al., 2008; Jubany et al., 2009). Questo lavoro ha confermato ciò che altri autori hanno trovato (Tabella 2) i tassi di decadimento dei nitrificanti sono significativamente inferiori sotto condizioni anossiche piuttosto che in condizioni aerobiche (Leenen et al., 1997; Siegrist et al., 1999; Martinage e Paolo, 2000; Yuan e Blackall, 2002). Alcuni autori suggeriscono che il tasso di decadimento può essere descritto come una funzione continua della concentrazione di DO (Yuan et al., 2000; Manser et al., 2006; Munz et al., 2010). La predazione da parte dei protozoi, che è fortemente influenzata dalla concentrazione di DO (Griffiths, 1997), è ritenuta da alcuni ricercatori (Verhagen e Laanbroek, 1992; van Loosdrecht e Henze, 1999) di essere uno dei processi coinvolti nel decadimento della biomassa più significativi anche se le recenti ricerche lo mettono in dubbio nel caso dei nitrificanti (Lee e Oleszkiewicz, 2003).

Table 1
Parameters used to model the two step nitrification–denitrification process.

Parameter	Unit	Aerobic R1 (@ 20 °C)	Alternating R2 (@ 20 °C)	Reference
b_{AOB}	d^{-1}	Variable with DO	Variable with DO	Calibrated
b_{NOB}	d^{-1}	Variable with DO	Variable with DO	Calibrated
K_{AOB,NH_4}	$mg\ NH_4^+-N\ L^{-1}$	Variable with SRT	Variable with SRT	Calibrated
K_{NOB,NO_2}	$mg\ NO_2^- -N\ L^{-1}$	Variable with SRT	Variable with SRT	Calibrated
K_{H,NO_2}	$mg\ NO_2^- -N\ L^{-1}$	–	1.80	Calibrated
K_{H,NO_3}	$mg\ NO_3^- -N\ L^{-1}$	–	4	Calibrated
$k_{a,ox}$	d^{-1}	0.03	0.03	Calibrated
$k_{a,anox}$	d^{-1}	0.02	0.02	Calibrated
$K_{O,AOB}$	$mg\ O_2\ L^{-1}$	0.34	0.40	Calibrated
$K_{O,NOB}$	$mg\ O_2\ L^{-1}$	0.49	0.61	Calibrated
η_{NO_2}	$X_{H-DN}\ X_H^{-1}$	–	0.25	Kaelin et al., 2009
η_{NO_3}	$X_{H-DN}\ X_H^{-1}$	–	0.15	Kaelin et al., 2009
$\mu_{max,AOB}$	d^{-1}	Variable with SRT	Variable with SRT	Calibrated
$\mu_{max,NOB}$	d^{-1}	Variable with SRT	Variable with SRT	Calibrated
Y_{AOB}	$mg\ COD_{cell}\ mg\ N_{ox}^{-1}$	0.18	0.18	Kaelin et al., 2009
Y_{NOB}	$mg\ COD_{cell}\ mg\ N_{ox}^{-1}$	0.06	0.06	Kaelin et al., 2009

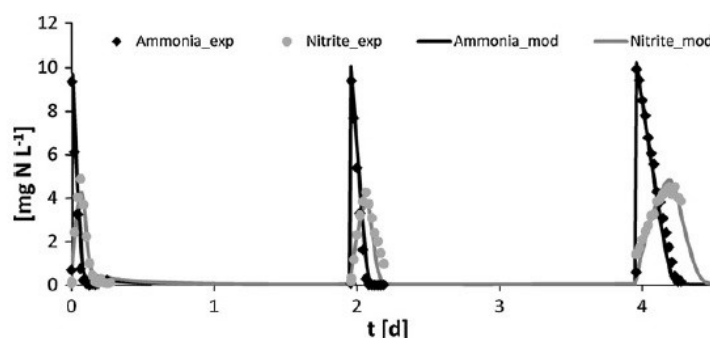


Fig. 1. Experimental results (exp) and calibration with the ASM (mod) of a test for endogenous decay coefficient estimation. Sample collected in R2 (alternating reactor) and stored in aerobic conditions ($DO = 7\ mg\ L^{-1}$; $7.3 < pH < 7.5$; $T = 21 \pm 0.5\ ^\circ C$).

Table 2
Endogenous decay coefficient of AOB and NOB in R1 and R2.

Biomass	Parameter	Units	R1 aerobic reactor				R2 alternating reactor			
			Aerobic test		Anoxic test		Aerobic test		Anoxic test	
			Aver.	St. Dev.	Aver.	St. Dev.	Aver.	St. Dev.	Aver.	St. Dev.
AOB	b_{AOB}	d^{-1}	0.28	0.06	0.16	0.08	0.28	0.06	0.07	0.02
NOB	b_{NOB}	d^{-1}	0.22	0.05	0.10	0.05	0.27	0.10	0.04	0.03

3.2 Velocità massime specifiche di crescita

Le Figure 2a e 2b mostrano esempi di monitoraggio e calibrazione utilizzando l'ASM per R1 e R2 ($SRT = 5\ d$). In entrambi i reattori durante la fase aerobica, e nel reattore alternato (R2) durante la fase anossica, c'era un accumulo transitorio di nitriti che era significativo per una accurata stima dei parametri cinetici. Utilizzando l'approccio di nitrificazione-denitrificazione a due fasi proposto da Kaelin et al. (2009), il modello rappresenta, con una buona misura, le tendenze di ammoniaca, nitriti e nitrati misurati sia per R1 che per R2 quando l' SRT_a era compreso tra 5 e 3 d. Tuttavia, ad un valore minore di $SRT_a = 2\ d$, è stato difficile ottenere una buona misura. Una recente ricerca ha evidenziato come la contemporanea inibizione da ammoniaca libera e acido nitroso libero può influenzare l'attività degli NOB (Park e Bae, 2009), tuttavia, qui a $SRT_a = 2\ d$, le concentrazioni non hanno mai superato $15\ mg\ NH_4^+-N/L$ e $6\ mg\ NO_2^- -N/L$ e l'inibizione da ammoniaca libera e acido nitroso non dovrebbe svolgere un ruolo importante nel modificare le velocità specifiche di crescita o la loro stima.

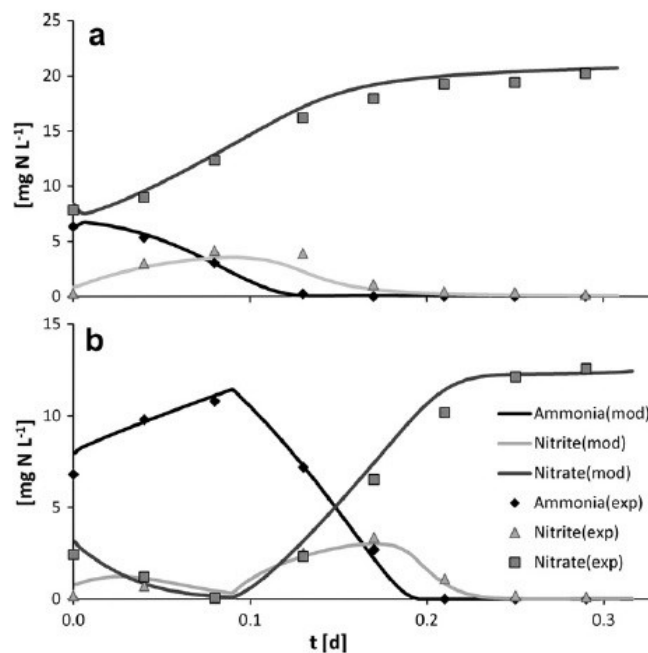


Fig. 2. Example of experimental (exp) and simulated (mod) trends of ammonia, nitrite and nitrate during a kinetic test for specific growth rate estimation (at $SRT_A = 5$ d). – Fig 2a for R1 and Fig 2b for R2.

Le Figure 3a e 3b mostrano i risultati dei test a breve termine come velocità di nitrificazione sia di AOB che NOB in R1 e R2 a differenti SRT. Le velocità specifiche di nitrificazione ($\text{mgN}/(\text{gVSS}\cdot\text{h})$) sono state precedentemente dimostrate essere costantemente maggiori in condizioni alternate rispetto alle condizioni aerobiche, allo stesso SRT (Dytczak et al., 2008). Dei tassi più elevati sono attesi nell'esperimento qui riportato a causa della maggiore concentrazione di biomassa in R2, risultante dalla SRT complessivo maggiore (aerobico+anossico). La simultanea attività di eterotrofi e nitrificatori in R1 potrebbe anche influenzare le velocità di nitrificazione, a causa di possibili limitazioni di trasferimento di ossigeno all'interno dei fiocchi. Inoltre è stata prevista la diminuzione della $\mu_{\max}$ con la diminuzione dell'SRT, a causa della concentrazione inferiore di biomassa.

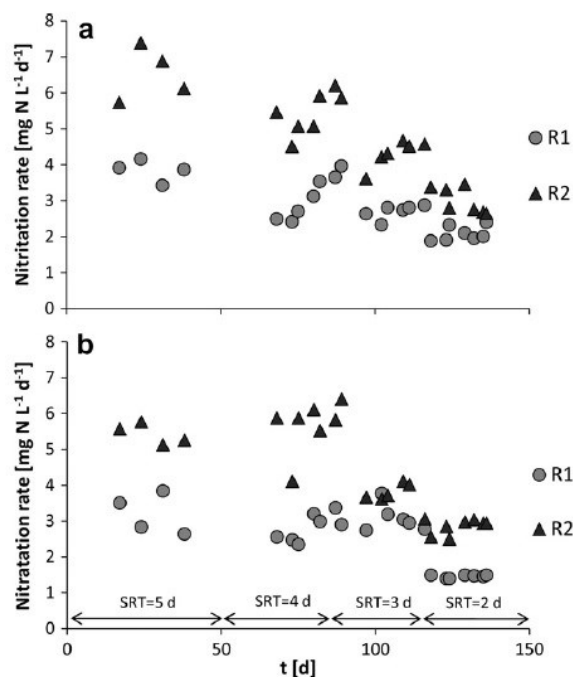


Fig. 3. Maximum nitritation rate ($\mu_{\max, \text{AOB}} X_{\text{AOB}} Y_{\text{AOB}}^{-1}$) – Fig 3a – and nitration rate ($\mu_{\max, \text{NOB}} X_{\text{NOB}} Y_{\text{NOB}}^{-1}$) – Fig 3b – during the experiment in reactor R1 and reactor R2 at different SRT.

Le tendenze di $\mu_{max(AOB)}$ e $\mu_{max(NOBS)}$ sono mostrati in figura. 4a e 4b. Le cinetiche sia degli AOB che degli NOB sono leggermente superiore in R2 che in R1 per SRT di 4 e 5 d. A SRT inferiore non c'era quasi nessuna differenza. Una possibile spiegazione è che, anche se il carico TKN era identico in R1 e R2, in presenza di condizioni alternate inizia la fase di nitrificazione quando quasi tutto l'azoto organico è già idrolizzato, cioè con una maggiore concentrazione di ammoniaca. Una maggiore concentrazione iniziale di ammoniaca potrebbe esercitare una pressione selettiva e favorire i batteri che crescono più rapidamente. Inoltre, la competizione per l'ossigeno tra batteri eterotrofi e autotrofi nel reattore R1 potrebbe esercitare una pressione selettiva, sempre in favore dei nitrificanti a rapida crescita nel reattore R2. La maggiore densità dei fiocchi aerobici potrebbe anche contribuire a tale scopo. Quando si diminuisce l'SRT da 5 a 2 d, non è stato riscontrato il previsto aumento di $\mu_{max(AOB)}$ e $\mu_{max(NOBS)}$. Il tempo necessario per il cambio di popolazione può essere molto lungo e dipende dalla differenza tra i parametri cinetici. Per stimare, a priori, il tempo necessario per raggiungere l'equilibrio dell'ecosistema microbico è necessario conoscere almeno i parametri cinetici delle specie concorrenti; tuttavia questi parametri non sono facili da stimare separatamente in una popolazione mista.

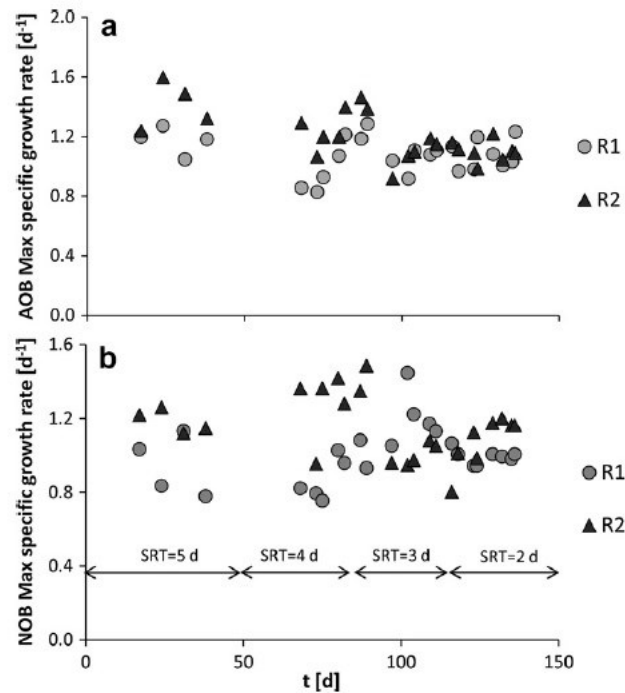


Fig. 4. $\mu_{max,AOB}$ (Fig 4a) and $\mu_{max,NOB}$ (Fig 4b) – during the experiment in R1 and R2 at different SRTs.

Le Figure 5a e 5b da pubblicazioni recenti insieme ai dati che si trovano in questo lavoro mostrano $\mu_{max(AOB)}$ e $\mu_{max(NOBS)}$ in funzione del SRT (Chandran et al., 2005, 2008; Hellings et al., 1999; Jubany et al., 2005). Teoricamente, questi valori dovrebbero dipendere solo dalla composizione della comunità microbica, cioè, dalle caratteristiche genetiche del consorzio batterico. Sulla base delle correlazioni che sussistono in Fig. 5 le seguenti considerazioni devono essere prese in considerazione: le tecniche utilizzate per la stima dei parametri cinetici (test respirometrico e titolazione e/o analisi chimiche), i test cinetici adottati (a breve termine vs. lungo termine e prove batch vs. test on-line) nonché le strategie di taratura del modello non erano sempre le stesse (automatico, manuale, semi-automatico); inoltre la stima di $\mu_{max(AOB)}$ e $\mu_{max(NOBS)}$ può dipendere dalla particolarità del modello: con o senza l'inibizione da acido nitroso o ammoniaca libera (Park e Bae, 2009) o la limitazione da carbonio inorganico (Wett e Rauch, 2003), per esempio. La stima di $\mu_{max(AOB)}$ e $\mu_{max(NOBS)}$, dipende dalla concentrazione di biomassa stimata che a sua volta dipende dai coefficienti di decadimento (Lee e Oleszkiewicz, 2003; Dold et al., 2005). Infine, il tipo di alimentazione può influenzare la cinetica: qui con alimentazione sintetica $\mu_{max(AOB)} = 0.9 \pm 0.5$ e $\mu_{max(NOBS)} = 1.4 \pm 0.9 d^{-1}$; con acque reflue domestiche e industriali $\mu_{max(AOB)} = 0.7 \pm 0.4$ e $\mu_{max(NOBS)} = 0.8 \pm 0.4 d^{-1}$ per (valori medi di cui i dati riportati in Fig. 5). Anche se la correlazione è debole, c'è stata una chiara tendenza di velocità di crescita inferiore a SRT più lunghi sia per AOB che per NOB. Considerando i valori medi di $\mu_{max(AOB)}$ e $\mu_{max(NOBS)}$ al SRT più utilizzato tra 10 e 20 d ($\mu_{max(AOB)} = 1.0 \pm 0.1$ e $\mu_{max(NOBS)} = 1.2 \pm 0.5 d^{-1}$ per SRT = 10 d; $\mu_{max(AOB)} = 0.5 \pm 0.2$ e $\mu_{max(NOBS)} = 0.5 \pm 0.1 d^{-1}$ per SRT = 20 d), la differenza sia per gli AOB che per gli NOB è abbastanza significativa (rispettivamente 45% e 57%). Con riferimento ai nitrificanti come una singola popolazione, è stata trovata da Katehis et al. (2002) una correlazione simile (maggiore è SRT minore è la μ_{max}). Gli esperimenti presentati non permettono dimostrare che è possibile selezionare, in un tempo relativamente breve, una biomassa nitrificante caratterizzata da una cinetica di crescita veloce. Le velocità ottenute per SRT brevi erano tuttavia relativamente elevate rispetto ai dati di letteratura (Fig. 5). Ulteriori test a lungo termine sono necessari, sia per una gamma più ampia di SRT,

sia per il decadimento e per i processi di crescita, per chiarire queste differenze e stabilire se è possibile selezionare una biomassa nitrificante con le caratteristiche desiderate.

4. Conclusioni

I parametri cinetici di AOB e NOB trovati in letteratura e in questo studio, variano su una gamma molto ampia senza una spiegazione meccanicistica apparente. In questo lavoro $\mu_{max(AOB)}$ e $\mu_{max(NO B)}$ sono state valutate per vari SRT_a e in presenza/assenza di condizioni anossiche. I risultati indicano un valore leggermente superiore per le condizioni alternate; mentre non è stata trovata alcuna correlazione chiara tra l' SRT_a e $\mu_{max(AOB)}$ o $\mu_{max(NO B)}$ forse a causa della insufficiente gamma di valori testati. Sia b_{AOB} che b_{NOB} hanno dimostrato essere dipendenti sia dalle condizioni operative (aerobiche e anossiche) che dalle condizioni selettive (aerobiche e alternate).

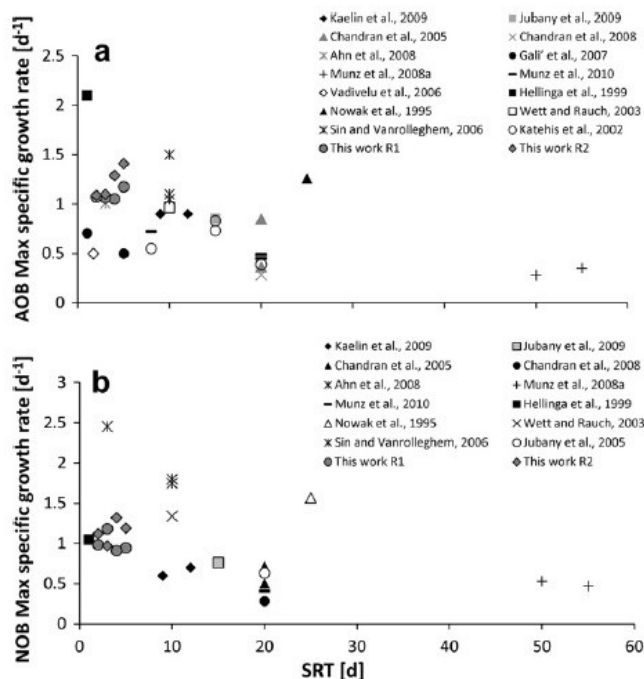


Fig. 5. $\mu_{max,AOB}$ (Fig 5a) and $\mu_{max,NOB}$ (Fig 5b) as a function of SRT (the values were obtained or reported at 20 °C; $\theta_{\mu,AOB} = 1.072$; $\theta_{\mu,NOB} = 1.06$; pH range 7–8).

Effects of predation and ORP conditions on the performance of nitrifiers in activated sludge systems.

Y. Lee, J.A. Oleszkiewicz.

Water Research (2003), 37 (17), 4202-4210.

[https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(03\)00341-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(03)00341-5)

Abstract

Sono stati studiati gli effetti del cambiamento del potenziale di ossido-riduzione (ORP) e la predazione di protozoi sui batteri nitrificanti nei sistemi a fanghi attivi. Questo studio ha utilizzato i reattori SBR con microrganismi predatori che sono stati acclimatati in condizioni aerobiche e in condizioni alternate aerobiche/anossiche, con e senza l'inibizione dei protozoi. L'alimentazione usata era un'acqua reflua sintetica contenente come fonte di carbonio estratti di carni bovine e lievito. Si è constatato che la biomassa, determinata dal MLVSS nei reattori, è stata significativamente influenzata dalla predazione mentre l'ORP (condizioni aerobiche ed alternate anossiche/aerobiche) non incide sulla MLVSS indipendentemente dalla presenza o assenza di predazione. Tuttavia, i tassi di nitrificazione nei reattori mostrano andamenti completamente diversi che indicano che l'ORP del sistema ha un impatto significativo sui tassi, mentre per la predazione non è così. Si è constatato che i tassi di nitrificazione nei reattori alternati sono stati quasi il doppio rispetto a quello dei reattori aerobici, con e senza inibizione dei predatori. Il tasso di decadimento dei batteri autotrofi (b_A) nei reattori aerobici è stato determinato con il tracciamento della diminuzione del tasso massimo di nitrificazione sia in condizioni di fame anossiche che aerobiche. Il b_A è stato determinato anche sotto condizioni alternate aerobiche/anossiche e condizioni di fame. Si è constatato che, in ogni caso, il b_A della biomassa autotrofa in condizioni alternate anossiche/aerobiche era molto più piccolo rispetto al b_A della biomassa aerobica determinato in condizioni di fame aerobiche e anossiche. Il b_A in condizioni alternate era il 62.1% in meno rispetto al b_A della biomassa aerobica sotto fame

aerobica e il 40.2% in meno per la biomassa aerobica in condizioni anossiche di fame. Non sono state osservate differenze statisticamente significative di b_A tra i reattori, con o senza l'inibizione dei predatori.

1. Introduzione

La progettazione di sistemi a fanghi attivi per la rimozione biologica dei nutrienti (BNR) è generalmente definita dalla velocità di nitrificazione nel processo. Poiché gli autotrofi svolgono un ruolo vitale, è necessario valutare tutti i potenziali fattori che influenzano la loro attività nei fanghi attivi. Molti fattori come il pH, la temperatura, le sostanze inibitrici, e l'ossigeno o la limitazione di azoto ammoniacale, che regolano la dimensione e l'attività della popolazione biomassa autotrofi, sono relativamente ben capiti. Altri fattori, come l'influenza dell'esposizione ad ambienti con diversi potenziali di ossido-riduzione (ORP) e l'effetto dei microrganismi predatori non sono ben documentati ed esistono opinioni contrastanti sugli effetti della predazione sulle velocità di nitrificazione. Lee e Welander hanno riportato che i tassi di nitrificazione raddoppiato quando si utilizzano degli inibitori chimici specifici per i protozoi in un sistema a biofilm aerobico, suggerendo quindi che la predazione ha un notevole impatto negativo sul processo di nitrificazione. Alcuni autori, d'altra parte, hanno suggerito che la predazione può migliorare il processo di nitrificazione nei sistemi a fanghi attivi. Griffiths non ha trovato alcun effetto dei protozoi sui nitrificanti, spiegando che ciò fosse dovuto alla tendenza degli autotrofi di formare grandi agglomerati di batteri, rendendoli quindi più resistenti alla predazione dei protozoi rispetto alle singole cellule batteriche. Anche Rensink e Rulkens hanno scoperto che l'aggiunta di metazoi (Tubificidae) non ha avuto alcun impatto sulla nitrificazione sia nei percolatori che nei sistemi a fanghi attivi. È evidente che l'effetto di predazione sui tassi di nitrificazione è tutt'altro che risolto. La raggiunta della nitrificazione nei reattori con variazioni di ORP non ha ricevuto adeguata attenzione a riguardo del comportamento dei batteri autotrofi. Dal momento che gli autotrofi sono aerobi obbligati, l'esposizione ad ambienti anossici li farà morire di fame. Chen et al. ha valutato l'effetto delle varie condizioni ORP sulla velocità di riduzione della domanda chimica di ossigeno (COD) dei batteri eterotrofi. L'attività dei batteri dopo un periodo di fame anossica è risultato essere sostanzialmente maggiore che in un reattore continuamente aerato. Questo solleva una domanda per quanto riguarda la possibilità di esposizione a condizioni di fame di influenzare l'attività dei nitrificanti nei sistemi di trattamento a ORP misti. Oltre all'evidente vantaggio di rimozione dell'azoto nei sistemi che incorporano denitrificazione, diversi ricercatori hanno anche suggerito che le configurazioni ad ORP misti possono causare diminuzione della produzione di fanghi in eccesso. Altri autori hanno riscontrato delle differenze significative nella produzione di biomassa in presenza di zone anossiche incorporate in sistemi completamente aerobici. Tali pareri contrastanti lasciano la relazione tra produzione di fanghi e le condizioni di ORP misti irrisolta. Le variazioni nella velocità di decadimento autotrofa (b_A) a diverse condizioni di ORP sono state valutate. La maggior parte dei dati pubblicati sugli effetti dei differenti regimi di ORP sulle b_A sono da prove eseguite in condizioni di fame su una biomassa aerobica in cui si effettuano prove di decadimento separate, uno in carestia in condizioni aerobiche e l'altro in condizioni anossiche. La maggior parte degli autori hanno trovato che la b_A è stata notevolmente ridotta se la biomassa era affamata in condizioni anossiche o anaerobiche, piuttosto che in condizioni solamente aerobiche. Queste differenze devono ancora essere adeguatamente spiegate. La predazione da parte di protozoi in ambienti aerobici è il meccanismo proposto dalla maggior parte degli autori per tenere conto di questo fenomeno. Gli impianti BNR incorporano la nitrificazione come una fase di un processo multifase, che utilizza tipicamente condizioni aerobiche, anossiche o anaerobiche. Gli autotrofi decadranno in ciascuna condizione di ORP in quanto essi attraversano l'intero processo di trattamento. Non esistono dati pubblicati in cui sono stati determinate le velocità di decadimento per fame sotto il sequenziamento di ambienti anossici e aerobici. L'utilizzo di un unico tasso di decadimento ottenuto in condizioni aerobiche potrebbe portare a problemi con la previsione delle velocità massimi di nitrificazione in condizioni di alternanza dell'ORP. Gli obiettivi di questo lavoro sono determinare l'effetto della variazione di regime dell'ORP e la predazione di protozoi sulle prestazioni dei reattori SBR nitrificanti. I parametri valutati includeranno le velocità massime di nitrificazione, i tassi di decadimento dei batteri autotrofi e gli MLVSS.

2. Materiali e metodi

2.1 SBR

Set-up degli SBR principali: i reattori in questo esperimento hanno operato in condizioni aerobiche e alternate aerobiche/anossiche, con duplicazione di ogni condizione. I quattro SBR sono stati inizialmente inoculati con biomassa di North End Water Pollution Control Centre della città di Winnipeg, che è un fango attivo non nitrificante a solo ossigeno puro per la rimozione di BOD operante ad un SRT di 2.5 d. Ogni reattore aveva un volume di liquido totale di 3 L ed è stato utilizzato un SRT di 10 d (1/decimo di biomassa del reattore era spurgato giornalmente) e un tempo di residenza idraulico (HRT) 0.75 d. È stata usata una camera con temperatura costante di 20°C. Tutti i reattori sono stati eseguiti utilizzando due cicli di riempimento-svuotamento al giorno, le sequenze operative sono mostrate in Fig. 1.

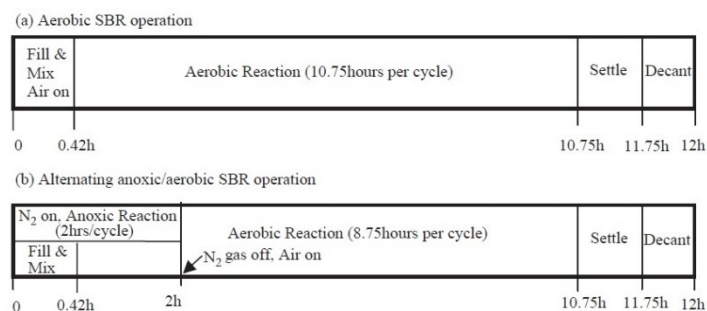


Fig. 1. SBR operational sequences.

Come alimentazione è stata utilizzata acqua reflua sintetica come indicato nella Tabella 1, che è stata preparata e conservata in frigorifero a 4°C. La concentrazione iniziale di azoto ammoniacale iniziale (NH₃-N) nei reattori è stata mantenuta a circa 20 mg/L per garantire che NH₃-N fosse limitante. Una quantità sufficiente di NaNO₃ è stata aggiunta al reattore a condizioni alternate anossiche/aerobiche al momento della somministrazione per produrre una concentrazione iniziale di 30 mg NO₃-N/L all'inizio della fase di reazione anossica. I livelli di ossigeno disciolto si sono mantenuti al di sopra 5mg/L (ORP > 100 mV) durante i periodi di aerazione con aria compressa. Azoto gassoso è stato fatto gorgogliare attraverso diffusori durante i periodi di reazione anossiche per garantire che l'ORP residuo fosse al di sotto di 50 mV. Un agitatore magnetico è stato usato per ciascun reattore per assicurare una miscelazione omogenea in ogni momento. Il pH è stato mantenuto tra 7.5 e 7.7 con un regolatore di pH (Oakton Instruments, Alpha 100 Series 1/8 DIN). Tutti i reattori sono stati acclimatati per più di cinque SRT, in condizioni pseudo-stazionarie.

Table 1
Composition of synthetic wastewater

Chemical constituent	Concentration (mg/L)
Beef extract (paste)	100.0
Beef extract (powder)	100.0
Yeast extract	200.0
MgSO ₄ · 7H ₂ O	50.0
MnSO ₄ · 7H ₂ O	5.0
FeSO ₄ · 7H ₂ O	2.2
KCl	7.0
NH ₄ Cl	150.0
K ₂ HPO ₄	196.4
NaHCO ₃	555.6
CaCl ₂	3.8
Resultant COD	350
Resultant Ammonium (NH ₃ -N)	20

Set-up degli SBR con inibizione dei protozoi: Una seconda serie di reattori SBR è stata creata usando biomassa dai reattori principali. Qui, l'inibizione selettiva dei predatori è stata avviata con l'aggiunta di nistatina e cicloesimide (2.5 mg/L per ogni inoculo). Nistatina e cicloesimide sono stati scelti da Lee e Welander poiché hanno riscontrato che queste sostanze chimiche siano altamente efficaci nell'inibizione dei rotiferi, che sono noti per essere i principali organismi predatori nei sistemi a fanghi attivi. I rotiferi sono stati scelti come microrganismi indicatori per valutare l'efficacia di inibizione chimica. Tutte le altre procedure operative per i reattori inibiti erano le stesse per i principali reattori, con l'eccezione che il volume totale di liquido era 1.5 L.

Analisi: Dopo l'alimentazione dei reattori SBR e un periodo iniziale di stabilizzazione di 10 minuti, la velocità massima di nitrificazione è stata analizzata attraverso la raccolta di campioni da 10 ml ogni 30 minuti per NH₃-N e per l'analisi NO_x-N utilizzando un apparato Technicon automatizzato (Technicon Instrument Co) in accordo agli Standard Methods 4500- NH₃-G e standard Method 4500-NO₃-F. Il periodo di prova è stato di 2 ore per i reattori aerobici e 4 ore per i reattori a fasi alternate. Gli MLVSS dei reattori sono stati analizzati utilizzando il metodo standard 2540G. Un bilancio del TKN è stato effettuato anche per verificare l'accuratezza dei dati raccolti. Il TKN dell'influente così come dell'effluente e gli spurghi dai reattori sono stati determinati utilizzando un apparato Technicon automatizzato secondo gli Standard Method 4500-N_{org}-G. Un microscopio a contrasto di fase (Leica, Leitz Laborlux S) è stato utilizzato per valutare la presenza o l'assenza di rotiferi nei reattori inibiti e non.

Metodi di conteggio dei rotiferi: inizialmente, 75 ml di campione prelevati dai reattori aerobici e alternati sono stati posti in un becher da 100 ml e miscelati con una barra magnetica per ottenere delle condizioni omogenee. Tramite l'utilizzo di una pipetta automatica a punta di plastica con dimensione di 1-200 μL , 20 μL di campione sono stati prelevati dal becher e trasferiti in un vetrino da microscopio (dimensione 25x75x1 mm in vetro) e coperti con un vetro di copertura (dimensioni 22x22 mm). Si è avuto cura di evitare che il liquido si estendesse oltre i bordi del vetro di copertura, se questo è avvenuto poi la parte esterna del vetro di copertura è stata inclusa nell'osservazione. I rotiferi nel vetrino preparato, sono stati sistematicamente esaminati al 100x ingrandimento del microscopio (un microscopio a contrasto di fase binoculare composto con 100x, 400x, e il 1000x ingrandimento, Leica, Leitz Laborlux S).

2.2 Procedure di prova delle velocità di decadimento

Set-up dei reattori per il decadimento: Tre reattori per la prova di decadimento sono stati creati dai reattori principali. Due reattori per le prove sul tasso di decadimento sono stati creati dal reattore aerobico e sottoposti a condizioni di fame eliminando l'alimentazione. Uno di questi è stato mantenuto in una condizione aerobica mediante aerazione e l'altro in una condizione anossica iniettando gas N_2 . Il terzo reattore per lo studio del tasso di decadimento è stato creato dal reattore a condizioni aerobiche/anossiche alternate e fame alternata. Le stesse procedure sono state usate per creare tre reattori per il decadimento con inibizione. Tutti i reattori di decadimento sono stati mantenuti ad un pH di 7.7 ± 0.2 durante il periodo di prova (7-9d) mediante l'aggiunta di acido fosforico o bicarbonato di sodio. Le perdite per evaporazione state compensate con l'aggiunta di acqua deionizzata.

Misurazione della velocità di decadimento: La procedura adottata da diversi ricercatori per determinare il tasso di decadimento dei batteri autotrofi è quello di monitorare la riduzione del tasso di nitrificazione della biomassa durante l'esposizione a condizioni di fame. Per garantire la completa eliminazione di qualsiasi contenuto di ammoniaca all'interno del feed della biomassa deve essere sottoposta a condizioni di carenza di cibo per un paio di giorni prima di determinare i tassi di decadimento. In questo studio, dopo un periodo di fame iniziale di 3 giorni, un campione di 100 ml è stato rimosso quotidianamente da ogni reattore e collocato in un reattore di misurazione della velocità il quale è stato arricchito con ammoniaca sufficiente a creare una concentrazione di 20 mg $\text{NH}_3\text{-N}$ /L. Per ogni misura della velocità, il reattore è stata aerato per ottenere condizioni aerobiche, dal momento in cui si procede con il primo prelievo di determinazione della velocità massima di nitrificazione per quel particolare giorno del test di decadimento. Un campione da 10 ml è stato prelevato dal reattore con una frequenza di 30 minuti per un periodo di 2 h, che servirà poi per le analisi di $\text{NH}_3\text{-N}$ e $\text{NO}_x\text{-N}$, come descritto sopra. Usando l'ipotesi che non avvenga nessuna crescita durante il periodo di fame, il tasso di decadimento degli autotrofi è stato calcolato come la pendenza del grafico semi-logaritmico delle velocità di nitrificazione determinati durante la prova, in conformità con il lavoro di altri autori.

3. Risultati e discussioni

3.1 Variazioni degli MLVSS in funzione dell'ORP e dell'attività dei predatori

L'esame al microscopio ha rivelato che i rotiferi erano abbondanti negli SBR principali (Fig. 2), tra 32 e 56 contati nel vetrino per i reattori aerobici e per i reattori alternati seguendo i metodi descritti nel paragrafo 2.1. Non ci sono differenze significative nel numero di rotiferi trovati tra i reattori puramente aerobici e quelli a condizioni alternate. Dopo l'aggiunta di cycloheximide e nistatina è stato notato un calo drammatico e rapido nella popolazione di rotiferi. Entro i quattro periodi di SRT di acclimatazione prima del test, la popolazione dei rotiferi era del tutto scomparsa. Variazioni di concentrazioni di biomassa in reattori con e senza l'aggiunta di inibitori sono rappresentati nelle Fig. 3a e 3b. È stato osservato che la concentrazione media di MLVSS nel reattore aerobico sia aumentata del 21.5% da 1.353 ± 84 a 1.644 ± 102 mg/L quando sono stati aggiunti gli inibitori (Fig. 3a). Un simile aumento di MLVSS si è verificato anche nel reattore alternato, in cui l'eliminazione della predazione ha causato un aumento del 16.2% da 1.366 ± 85 a 1.587 ± 94 mg/L (Fig. 3b). Queste tendenze sono in accordo con il lavoro di Lee e Welander e Rensink e Rulkens, dimostrando che la minor predazione porta ad un aumento della produzione di biomassa. Come accennato in precedenza, diversi autori hanno dichiarato che l'incorporazione di zone anossiche in sistemi a fanghi attivi completamente aerobici comporterebbe produzione di fanghi inferiore. Ip et al. ha mostrato come la produzione di biomassa in eccesso è stata ridotta di circa il 15% utilizzando un sistema alternato aerobico/anaerobico. Va notato che questo risultato non è stato misurato direttamente, ma è stato piuttosto stimato utilizzando calcoli stechiometrici. Tuttavia, Lishman et al. e Smyth, constatato che la produzione di fanghi era maggiore in condizioni anossiche che in condizioni aerobiche, hanno indicato che l'incorporazione di una zona anossica in un sistema completamente aerobico non ridurrebbe ma piuttosto farebbe aumentare la produzione di fanghi. I risultati di Lishman et al. e Smyth erano basati sull'uso di sistemi anossici e aerobici separati, i valori determinanti per la produzione di fanghi erano indipendenti per ciascun reattore. I sistemi ad ORP misti possono favorire la crescita di alcune specie di microrganismi sugli altri, e possono causare l'alterazione dei percorsi metabolici dei batteri come risposta ai cambiamenti dell'ambiente fisico. Con questo in mente, i valori di produzione di fanghi ottenuti dai reattori batch in condizioni aerobiche e anossiche separate, non possono essere in grado di stimare con precisione la produzione di fanghi in un sistema a ORP. In questo studio, differenze significative nella MLVSS sono state trovate tra le condizioni alternate anossiche/aerobiche e aerobica con o senza inibizione dei predatori (Fig. 3c e d). Questo

indica che non vi sarebbe un vantaggio in termini di minor produzione di fanghi quando la denitrificazione è incorporata in un sistema completamente aerobico.

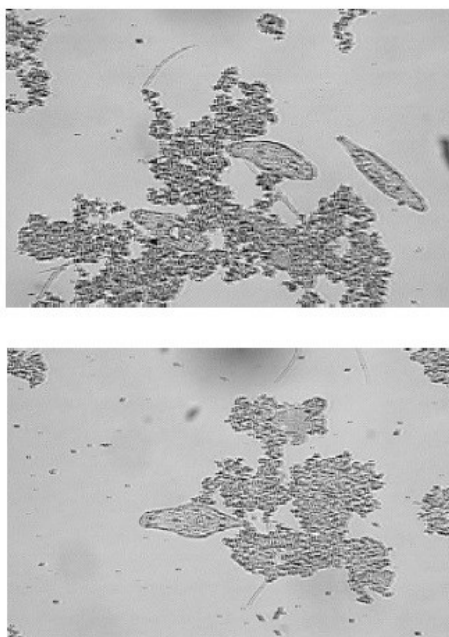


Fig. 2. Microscopic pictures of rotifers in aerobic SBRs without predator inhibition (10 × magnification).

3.2 Le velocità di nitrificazione

L'effetto della predazione e dell'ORP sulle prestazioni degli SBR è stato determinato dalla velocità massima di nitrificazione ottenuta, mentre i reattori operavano in condizioni pseudo-stazionarie (Tabella 2). Per i reattori aerobici, la produzione di nitrato è stata 7.67 e 7.43 mgN/(L·h) rispettivamente senza e con l'inibizione di rotiferi. Nei reattori a fasi alternate senza e con l'inibizione si avevano rispettivamente tassi di produzione di nitrato di 10.89 e 11.68 mgN/(L h). Si è constatato che non vi era alcun aumento significativo dei tassi di nitrificazione ad un livello di confidenza del 95% quando la predazione è stata eliminata sia per condizioni aerobiche che alternate. Analogamente, Rensink e Rulkens hanno scoperto che l'aggiunta di predatori (Tubificidae) non ha influenzato la nitrificazione sia di un fango attivo sia di sistemi filtranti a gocciolamento. Lee e Welander hanno trovato dei tassi di nitrificazione raddoppiati quando sono stati inibiti i rotiferi, illustrando quindi un forte impatto negativo di predazione sulla nitrificazione.

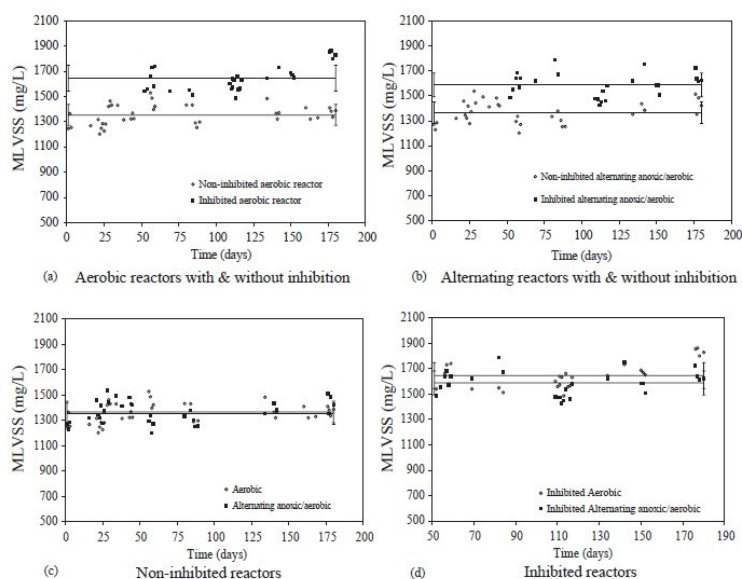


Fig. 3. MLVSS comparisons for (a) non-inhibited and inhibited aerobic reactors, (b) non-inhibited and inhibited alternating reactors, (c) non-inhibited aerobic and alternating reactors, and (d) inhibited aerobic and alternating reactors.

Va notato che i tassi di nitrificazione in condizioni anossiche/aerobiche sono risultati costantemente maggiore rispetto a quelli di condizioni aerobiche (vedi Fig. 4), con e senza l'inibizione dei predatori. Sulla base dei dati di produzione di

nitrato (Tabella 3), i tassi di nitrificazione erano 42% ($p=6.5E-5$) più grandi negli SBR alternati rispetto ai reattori aerobici. Per i reattori inibiti, i tassi di nitrificazione in condizioni alternate erano 57% ($p = 2.4E-4$) più grandi di quelli nelle condizioni aerobiche. Le velocità di nitrificazione nelle condizioni alternate erano del 78% ($p = 3.0E-09$) superiori a quelli con condizioni aerobiche in reattori non inibito e 83% ($p = 2.5E-06$) maggiori per i reattori con inibizione (Tabella 2 e la Fig. 4), sulla base di misurazioni dell'azoto ammoniacale.

Table 2
Average nitrate production and ammonium nitrogen removal rates under aerobic and alternating anoxic/aerobic conditions with and without predator inhibition

	Non-inhibited		Inhibited	
	Aerobic	Alternating anoxic/aerobic	Aerobic	Alternating anoxic/aerobic
Nitrate production rate (mg N/L/h)	7.67	10.89	7.43	11.68
Std. dev.	1.21	1.91	1.31	1.80
%RSD	15.71	17.58	17.65	15.39
Ammonium nitrogen removal rate (mg N/L/h)	4.22	7.52	4.82	8.83
Std. dev.	0.52	0.74	0.64	1.15
%RSD	12.38	9.77	13.34	13.06

Poiché rotiferi sono microrganismi aerobici, delle incorporazioni a condizioni anossiche in un impianto a fanghi attivi dovrebbero ostacolare la loro crescita e la loro attività, causando una ridotta predazione sugli autotrofi e un aumento del tasso massimo di nitrificazione. Così, i tassi di nitrificazione nei reattori a condizioni alterne anossiche/aerobiche dovrebbero essere superiori nei reattori aerobici a causa della ridotta attività di rotiferi. Se la predazione fosse responsabile di queste differenze, allora ci dovrebbe essere poca differenza nei tassi di nitrificazione tra la condizione puramente aerobica e quella alternata quando si utilizzano gli inibitori. In questo studio, tuttavia, le condizioni alternate dimostrano costantemente velocità di nitrificazione più elevate rispetto a quelle che si riscontrano in condizioni puramente aerobiche, indipendentemente dall'uso di inibitori sui protozoi. L'andamento dei tassi di nitrificazione aumenta enormemente quando la fase aerobica è preceduta da un periodo di anossia, il che può essere correlato ai fenomeni di abbondanza/carestia nel sistema. Mason et al. hanno discusso gli effetti della fame sui processi microbici di manutenzione. L'energia viene continuamente richiesta per mantenere e regolare le funzioni cellulari vitali, così l'energia interna, sotto forma di adenosina trifosfato (ATP) viene consumata durante i periodi in cui il substrato esogeno è assente. Nel caso in cui la biomassa è sottoposta alla fame, seguita da ambienti ricchi di substrato, un fenomeno di abbondanza/carestia può svilupparsi. Le riserve di ATP sono state esaurite, mentre la biomassa a digiuno si rifornisce durante l'abbondanza di cibo. Chen et al. pensano che le velocità di rimozione del COD aumentano quando la biomassa aerobica è sottoposta a condizioni di fame in un ambiente anossico e successivamente ri-aerato con un approvvigionamento alimentare adeguato rispetto ai sistemi esclusivamente aerobici. L'aumento osservato è stato spiegato dal rapporto abbondanza/carestia del sistema. Le concentrazioni di ATP nelle biomasse sono state monitorate da Chen et al. durante l'esperimento, ma non si sono verificati aumenti significativi durante il periodo di abbondanza. È stata poi introdotta la possibilità che la biomassa possa subire fenomeni di stress e danni al suo metabolismo durante il periodo di digiuno. Una volta che il periodo di abbondanza comincia, la quantità di energia necessaria per le funzioni metaboliche aumenta notevolmente rispetto a quello di una popolazione non affamata dovuta all'energia addizionale richiesto per il processo di riparazione. Chen et al. deduce che l'aumento di quantità di ATP prodotta (come dimostra l'aumento del tasso di rimozione COD) è stato utilizzato per soddisfare questo fabbisogno energetico. Una simile relazione può essere applicata ai batteri autotrofi. Sebbene NH_3-N sia presente durante la fase anossica, gli autotrofi (aerobi-obbligati) non possono utilizzarla a causa della mancanza di ossigeno. Essi sono anche incapaci di immagazzinare in condizioni anossiche energia in modo facoltativo da substrati. Così lo stesso tipo di stress e di danno può verificarsi durante le condizioni anossiche, con un conseguente aumento di substrato richiesto durante il periodo aerobico rispetto agli SBRs pienamente aerobici. Inoltre, il COD è ridotto durante la fase di anossia, il quale può ridurre la competizione tra eterotrofi per NH_3-N . La combinazione di questi due processi potrebbe portare ad un aumento delle velocità di nitrificazione nei reattori a condizioni alternate anossiche/aerobiche.

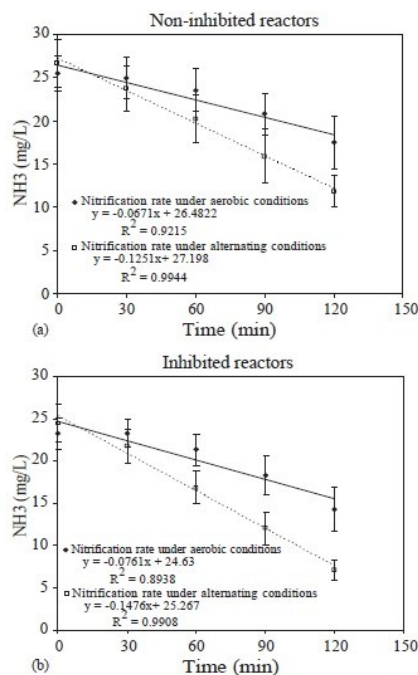


Fig. 4. Average nitrification rates based on ammonium nitrogen reduction for aerobic and alternating anoxic/aerobic reactors (a) without inhibition of predators, and (b) with inhibition of predators.

3.3 La determinazione della velocità di decadimento

Velocità di decadimento osservata: il tasso di decadimento autotrofo è stato calcolato come la pendenza del grafico semi-logaritmico delle velocità di nitrificazione determinate durante la prova di decadimento, di cui un esempio è mostrato in Fig. 5. La Tabella 3a riassume i valori medi di b_A ottenuti dalle prove di decadimento senza inibizione dei predatori. Il b_A medio dell'aerobico, dell'anossico, e delle fasi alternate erano rispettivamente 0.153, 0.097 e 0.058 d^{-1} . Il valore di b_A in condizioni anossiche è risultato essere minore del 36.6% rispetto al valore trovato in condizioni aerobiche. Ciò si accorda anche alle tendenze rilevate da Siegrist et al. e Martinage e Paul che hanno trovato che b_A era ridotto del 52.4% e 50%, rispettivamente.

Table 3
Observed b_A values obtained with and without inhibition of protozoa under aerobic, anoxic, and alternating anoxic/aerobic ORP conditions

ORP condition	b_A (d ⁻¹)				Average	Std. dev.	%RSD
	Test 1	Test 2	Test 3	Test 4			
(a) <i>Non-inhibited SBRs</i>							
Aerobic	0.193	0.154	0.130	0.135	0.153	0.022	14.607
Anoxic	0.155	NA	0.064	0.073	0.097	0.036	36.633
Alternating	0.055	0.041	0.051	0.086	0.058	0.015	25.946
(b) <i>Inhibited SBRs</i>							
Aerobic	0.2074	0.1051	0.1448		0.152	0.042	27.626
Anoxic	0.1707	0.1162	0.1108		0.133	0.027	20.408
Alternating	0.0538	NA	0.0715		0.063	0.009	14.126

Note: NA = Not available.

Una possibile spiegazione proposta da molti autori è che la predazione da protozoi sui batteri autotrofi fa sì che i tassi di decadimento osservati aumentino. Il valore ottenuto per b_A in condizioni alternate non supporta l'idea che la causa delle differenze sia solamente dovuta alla predazione. Dalla Tabella 3a, l'alternanza anossica/aerobica comportava un b_A minore del 62.1% rispetto al valore per condizioni puramente aerobiche, e il 40.2% in meno rispetto al valore anossico facendone così il valore più basso delle tre condizioni ORP esaminate. Se fosse stato il meccanismo di predazione ad essere responsabile, il valore b_A del reattore alternato sarebbe stato intermedio tra i reattori a condizioni puramente aerobiche e quelli a condizioni solamente anossiche. Chen et al. hanno monitorato la diminuzione degli MLSS per colture microbiche miste cresciute in condizioni aerobiche e condizioni ad aerazione intermittente, durante le 2 h del test. Hanno anche osservato che la coltura microbica ad aerazione intermittente mostrava una diminuzione minore degli MLSS rispetto a quella del batch di coltura aerobica. Il processo di abbondanza/caresia nel reattore alternato può offrire una possibile spiegazione dei risultati ottenuti. I batteri autotrofi nel sistema alternato aerobico/anossico incontrano ordinariamente una situazione in cui l'energia non può essere derivata dal substrato esogeno, quindi possono avere una maggiore tolleranza contro le condizioni di fame rispetto ai microrganismi negli SBRs aerobici. In altre parole, gli autotrofi dall'ambiente alternato aerobico/anossico possono essere in grado di sopravvivere per lunghi periodi di tempo in uno stato inattivo o di riposo prima che si verifichi la morte cellulare. I tassi di decadimento nei reattori alternati

possono anche offrire un'ipotesi alternativa per l'aumento delle velocità di nitrificazione osservato in questi reattori. La popolazione di nitrificanti può aumentare quando i tassi di decadimento sono ridotti, portando a velocità di nitrificazione più elevate. Ulteriori ricerche sarebbero necessarie per determinare se ci sono differenze nella popolazione nitrificante tra i reattori aerobici/anossici e quella dei puramente aerobici attraverso l'utilizzo di una tecnica come la FISH per quantificare le popolazioni. Quando è stata inibita la predazione, la b_A media dei reattori aerobici, anossici, e alternati erano rispettivamente 0.152, 0.133 e 0.063 d⁻¹ (Tabella 3b). Questi risultati sono molto simili ai valori osservati durante le prove di decadimento senza inibizione. In entrambi i casi la b_A in caso di fasi alternate era significativamente inferiore sia ai valori aerobici che a quelli anossici. I dati hanno dimostrato che non vi erano differenze statisticamente significative a un livello di accuratezza del 95% tra i valori di b_A in presenza di inibizione o assenza. La consistenza delle tendenze rispetto alle condizioni ORP e la mancanza di differenze significative tra i valori b_A senza e con inibitori, forniscono ulteriori prove che la predazione non influenza significativamente i tassi di decadimento di nitrificanti in entrambi i sistemi, sia aerobici che ad ORP misti.

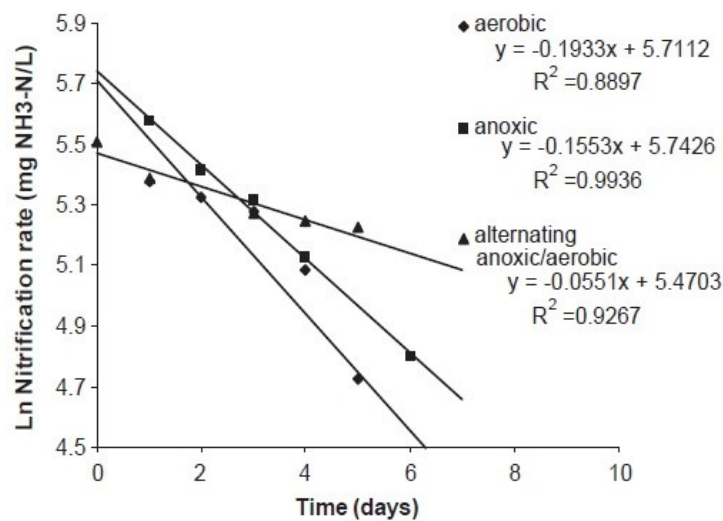


Fig. 5. Decay rate of nitrifiers in aerobic, anoxic, and alternating anoxic/aerobic decay reactors for 9-day starvation period without predator inhibition.

4. Conclusioni

Gli effetti del potenziale di ossido-riduzione (ORP) e la predazione dei protozoi sulle prestazioni della nitrificazione nei reattori batch (SBR) sono stati esaminati. È stato trovato che:

- 1- La concentrazione media di MLVSS nel reattore aerobico è aumentata del 21.5%, quando sono stati aggiunti gli inibitori. Un simile aumento di MLVSS si è verificato anche in fasi alternate, in cui l'eliminazione della predazione ha causato un aumento del 16.2%.
- 2- Nessuna differenza significativa nella concentrazione degli MLVSS è stata trovata tra le condizioni aerobiche e quelle alternate e con o senza inibitori.
- 3- Sia per le condizioni aerobiche che alternate, non vi sono stati incrementi significativi delle velocità di nitrificazione quando è stata inibita la predazione.
- 4- Le velocità di nitrificazione negli SBR alternati sono maggiori del 42% rispetto agli aerobici. Per i reattori con l'inibizione dei protozoi, le velocità di nitrificazione erano più grandi del 57% per le condizioni alternate rispetto alle aerobiche.
- 5- Il b_A per le condizioni anossiche/aerobiche alternate era del 62.1% più piccolo rispetto al valore aerobico, e del 40.2% più piccolo rispetto al valore anossico. Nessuna differenza statistica significativa nel valore di b_A è stata osservata tra i reattori con o senza inibizione.

In sintesi, si è constatato che la predazione ha avuto poco impatto sui tassi massimi di nitrificazione e sul tasso di decadimento dei nitrificanti. Le condizioni di ORP alternate si sono dimostrate avere un impatto sia per i tassi massimi di nitrificazione che per quelli di decadimento autotrofi. Ulteriori studi devono essere realizzati per spiegare le ragioni di questi cambiamenti.

Activated sludge operational regime has significant impact on the type of nitrifying community and its nitrification rates.

Magdalena A. Dytczaka, Kathleen L. Londryb, Jan A. Oleszkiewicz.

Water Research (2008), 42 (8-9), 2320-2328.

<https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.12.018>

Abstract

Un SBR per nitrificazione operante in condizioni alternate anossiche/aerobiche ha registrato una velocità di nitrificazione doppia rispetto alla sua controparte puramente aerobica. Le popolazioni microbiche di entrambi i reattori sono state esaminate con la FISH e studi cinetici batch sono stati condotti per determinare gli effetti di ammoniaca, nitriti, e ossigeno. La FISH ha rivelato una predominanza di nitrificanti rapidi come *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* (79.5% della popolazione dei nitrificanti) nel reattore alternato, rispetto al dominio di nitrificanti lenti come *Nitrosospira* e *Nitrospira* (78.2%) nel reattore strettamente aerobico. I nitrificanti del reattore aerobico operavano con le velocità massime ma erano negativamente influenzati da ammoniaca o nitrito, mentre i tassi di nitrificazione nel reattore alternato erano proporzionali alle concentrazioni di ammonio e nitriti. Le condizioni alternate erano più favorevoli per la selezione dei nitrificanti più veloci a causa della loro velocità di ossidazione, di crescita e di decadimento. I risultati sono importanti per i progettisti, in quanto i reattori sono in genere progettati sulla base della velocità di crescita dei nitrificanti determinata in condizioni rigorosamente aerobiche.

1.Introduzione

Un passo importante nella rimozione dell'azoto dalle acque reflue è la nitrificazione: processo biologico di due fasi aerobiche che porta all'ossidazione di ammoniaca a nitrato. Per la rimozione dell'azoto totale, la nitrificazione è spesso combinata con la denitrificazione: la riduzione anossica biologica dei nitrati in azoto. Queste opposte condizioni redox possono essere realizzate da cicli in un sequencing batch reactor (SBR) attraverso le fasi anossiche e aerobiche. Precedenti ricerche di laboratorio hanno dimostrato che un SBR alternato, azionato con un periodo anossico iniziale di denitrificazione prima di un periodo aerobico per la nitrificazione, rimuove efficacemente i nitrati nella fase di denitrificazione. Sorprendentemente, l'SBR alternato ha esposto anche velocità più elevate di nitrificazione ($6.16 \pm 0.34 \text{ mgNH}_4^+ \text{-N/gVSS h}$) rispetto ad un identico SBR che ha operato in condizioni rigidamente aerobiche ($2.95 \pm 0.26 \text{ mg NH}_4^+ \text{-N/gVSS h}$) (Dytczak et al., 2007, 2008b). Il funzionamento di SBR in regime aerobico o a fasi alternate può probabilmente influenzare i tassi di nitrificazione che alterano le popolazioni microbiche. Due gruppi di organismi sono coinvolti nella nitrificazione: i batteri ammonio-ossidanti (AOB) e i batteri nitriti-ossidanti (NOB). Entrambi i gruppi sono autotrofi aerobici che dovrebbero preferire le condizioni più costanti di un reattore puramente aerobico. La velocità di nitrificazione maggiore nel reattore alternato è stata inaspettata, in quanto queste condizioni selezionano i denitrificatori a scapito delle condizioni aerobiche preferite dai nitrificanti. È stato suggerito che le differenze nei tassi di nitrificazione potrebbero essere causate dallo sviluppo di diversi generi di AOB e NOB nei due reattori, piuttosto che impatto diretto delle diverse condizioni ambientali (Dytczak et al., 2008b). Le diverse condizioni ambientali durante il funzionamento a lungo termine del SBR dovrebbero portare alla selezione di diverse popolazioni microbiche nitrificanti, indipendentemente dall'inoculo di biomassa iniziale. Lo sviluppo di specifici nitrificanti influenzerà attraverso una combinazione di cinetica enzimatica, i tassi di nitrificazione, i tassi di crescita e i tassi di decadimento. I batteri nitrificanti possono essere classificati sia come r-strategists o K-strategists (Schramm et al., 1999). I nitrificanti "classici" (*Nitrosomonas* e *Nitrobacter* spp.), comunemente utilizzati nei testi di ingegneria per descrivere la nitrificazione, crescono rapidamente con alte concentrazioni di substrato, e come "r-strategists" catalizzano le reazioni con velocità elevate e alti valori di K_s . Al contrario, i "K-strategists", come *Nitrosospira* e *Nitrospira* spp. crescono lentamente, ma possono sopravvivere a lunghi periodi di fame, a causa della loro velocità più lenta e valori più bassi di K_s . I principali coefficienti cinetici (costanti di semi-saturazione K_s per substrato ammoniaca/nitriti, costanti di semi-saturazione dell'ossigeno K_o , velocità di crescita μ_{max} e tasso di decadimento b_{max}) per queste coppie di AOB (*Nitrosospira* e *Nitrosomonas*) e NOB (*Nitrospira* e *Nitrobacter*) sono riassunte in Tabella 1; i tests sono stati eseguiti ad un pH 7.5-8.5 e temperatura di 20°C con le eccezioni indicate nella tabella di nota. Una comprensione della relazione tra le popolazioni e l'ambiente è importante per il mantenimento di condizioni che favoriscano la crescita dei nitrificanti veloci, che a sua volta potrebbero portare a risparmi nella progettazione e nel funzionamento degli impianti. Lo sviluppo di diverse popolazioni AOB e NOB in diverse condizioni operative per il trattamento delle acque reflue è stato studiato utilizzando una varietà di tecniche molecolari. I metodi molecolari comunemente utilizzati come la DGGE, la RFLP, la clonazione e il sequenziamento (Logemann et al., 1998; Regan et al., 2003; Cébron e Garnier, 2005; Mertoglu et al., 2006), si basano sull'estrazione del DNA e la reazione a catena della polimerasi (PCR). Essi sono gli strumenti fondamentali di analisi microbiologica, in particolare per l'identificazione di specie nuove, ma hanno dei limiti quantitativi a causa della estrazione del DNA e influenze sulla purificazione. L'altro approccio in situ rilevante è la FISH. È comunemente utilizzato negli studi ambientali per identificare la struttura della comunità con sonde specifiche per il ceppo e per quantificare i gruppi di batteri selezionati con il software di immagine (Wagner et al., 1995, 2002; Logemann et al., 1998; Okabe et al., 1999; Morgenroth et al., 2000; Wilen et al., 2004; Kindaichi et al., 2004; Kim e Kim, 2006; Li et al., 2006a, b). Tuttavia,

la FISH può essere limitata a causa del basso contenuto di rRNA cellulare o per la limitata accessibilità ai siti bersaglio della sonda; essa, inoltre, non dà informazioni sulla distribuzione della comunità microbica. Lo scopo di questa ricerca è stato quello di usare la FISH al fine di confrontare e contrapporre la coppia di AOB (Nitrosospira e Nitrosomonas) e NOB (Nitrospira e Nitrobacter), scelti come rappresentanti di r- e K-strategists, nei reattori a condizioni puramente aerobiche e in quelli alternate. Questo studio ha anche esaminato le cinetiche di nitrificazione per i due tipi di trattamento, e l'influenza delle concentrazioni iniziali del substrato. Infine sono state discusse le implicazioni pratiche delle velocità sul processo di progettazione e funzionamento dell'impianto.

Table 1 – Kinetic coefficients for selected AOB and NOB						
Nitrifiers		Strategy	K_s (substrate) (mg N/L)	K_o (mg O ₂ /L)	μ_{max} (1/h)	b_{max} (1/d)
AOB	Nitrosospira	K (slow)	1.96 (NH ₄) ^a 0.01–0.02 (NH ₄) ^a 0.08–0.15 (NH ₄) ^{a,c}	–	–	–
AOB	Nitrosomonas	r (fast)	26.60 (NH ₄) ^a 5.88–46.20 (NH ₄) ^a 12.27–27.44 (NH ₄) ^f 0.17–0.27 (NH ₄) ^b 0.42–0.84 (NH ₄) ^b	0.51 ^b 0.22–0.56 ^f	0.043 ^d 0.039 ^e	0.26 ^d
NOB	Nitrospira	K (slow)	0.14 (NO ₂) ^b 0.11–0.50 (NO ₂) ^b	0.13 ^b 0.47 ^b	–	0.14–0.15 ⁱ
NOB	Nitrobacter	r (fast)	7.00 (NO ₂) ^b 9.88–17.36 (NO ₂) ^f 1.49 (NO ₂) ^j	1.98 ^b 0.17–4.32 ^f	0.020 ^j 0.032 ^k 0.043 ^e	0.07 ^j

^a Taylor and Bottomley (2006).

^b Schramm et al. (1999).

^c Jiang and Bakken (1999).

^d Vadivelu et al. (2006b) (30 °C).

^e Stehr et al. (1995).

^f Laanbroek et al. (1994).

^g Keen and Prosser (1987) (30 °C).

^h Manser et al. (2005).

ⁱ Manser et al. (2006).

^j Vadivelu et al. (2006c).

^k Yoshioka et al. (1982).

2. Materiali e metodi

2.1 Set-up sperimentale

Due reattori SBR identici in scala di laboratorio aventi una sequenza di riempimento, reazione, sedimentazione e decantazione precedentemente descritta (Dytczak et al., 2007), sono stati operati in parallelo in condizioni aerobiche e condizioni anossiche/aerobiche alternate, con un volume totale di 3 L ciascuno, con un tempo di residenza solidi (SRT) di 12 d e un tempo di residenza idraulico (HRT) di 36 h. Gli MLSS erano 1800 mg/L e il rapporto VSS/TSS era 0.85 e 0.79 rispettivamente per il trattamento aerobico e alternato. Per solo questa fase della ricerca, i reattori sono stati fatti operare a 24±1°C, piuttosto che a 20±1°C come precedentemente utilizzato, a causa di limitazioni nella climatizzazione del laboratorio. La velocità di aerazione era la stessa per entrambi i reattori (3 L/min) e il rapporto tra il periodo anossico e il tempo totale del ciclo nei reattori alternati è stata del 30%. All'inizio di ogni ciclo giornaliero, sono stati alimentati con una acqua reflua sintetica costituita da estratto di carni e lievito come fonte di carbonio (COD risultante 740 mg/L) e cloruro di ammonio come sorgente di ammoniaca (NH₃ risultante totale 62mg NH₄⁺-N/L). Al reattore alternato venivano aggiunti anche 10mL di 40 g/L di soluzione NaNO₃ all'inizio della fase di reazione anossica per creare una quantità sufficiente di NO₃ per la denitrificazione (40±4mgNO₃-N/L). L'ammoniaca e nitriti non sono mai stati rilevati nel effluente finale. I reattori hanno lavorato per più di 2 anni sotto questi due regimi prima dell'esecuzione del presente studio.

2.2 Esperimenti batch

Per valutare la risposta delle comunità all'incremento del carico di substrato, sono stati condotti studi cinetici sulle velocità di nitrificazione in scala batch al di fuori dei reattori principali, in vasche aerate come precedentemente descritto (Dytczak et al., 2008b). La biomassa per queste prove proveniva dai reattori principali, ed è stata mantenuta separatamente in condizioni rigorosamente aerobiche e alternate, simili a quelle dei reattori principali. Per testare la prima fase della nitrificazione, ammoniaca (cloruro di ammonio 3.6–82.7 mgNH₄⁺-N/L) e alcalinità (bicarbonato di sodio 0.5 g NaHCO₃/L a 0.2 gNH₄Cl/L) sono state fornite in eccesso; per valutare il secondo passo della nitrificazione, nitriti (sodio nitrito 2.0–62.7 mgNO₂-N/L) è stato usato al posto dell'ammoniaca. Per entrambi i test sono state misurate le AUR e le NO₂UR.

2.3 Analisi chimiche

L'AUR e la NO₂UR sono state calcolate sulla base dei cambiamenti nella concentrazione di ammoniaca o nitriti misurata in funzione del tempo come già descritto. VSS, TSS, NH₄⁺, NO₂⁻, NO₃⁻, COD e alcalinità sono stati analizzati secondo gli Standard methods. L'ossigeno disciolto (DO) è stato misurato con HQ10 Hach Portable LDOTM.

2.4 Le analisi FISH

Per studiare la dinamica delle popolazioni, due gruppi di AOB (Nitrosospira e Nitrosomonas) e NOB (Nitrospira e Nitrobacter) sono stati selezionati per l'analisi FISH con sonde di oligonucleotidi mirate per le sequenze 16SrRNA (Nsv 443, Nsm 156, Ntspa 662, NIT 3: Tabella 2) sono state utilizzate per quantificare i nitrificanti. I dettagli sulle sonde oligonucleotidiche sono disponibili presso probeBase (Loy et al., 2003). Le procedure di ibridazione e di lavaggio sono state eseguite secondo Amann et al. (1995). Le analisi microscopiche sono state condotte utilizzando il microscopio Nikon Eclipse E400 con fotocamera Olympus DP70. Il software imagi-Pro Plus è stato utilizzato per il conteggio delle popolazioni target rispetto alla popolazione microbica totale nel campione. Dei campioni di fango attivo sono stati campionati dai due tipi di reattori e colorati con 4',6-diamidino-2-fenylindole (DAPI) in una delle quattro sonde. Per ogni combinazione di reattori e sonda, quattro campioni indipendenti sono stati analizzati, presi ad intervalli di 1 settimana. In totale, almeno 70 campioni di studio microscopici sono stati esaminati per ciascuna combinazione di reattore e sonda. In ogni campo, la superficie media di cellule colorate con DAPI era 0.073mm², con nessuna differenza statisticamente significativa tra i campioni di biomassa aerobica e quella alternata ($p = 0,05$). I controlli positivi sono stati eseguiti per la sonda Nsm 156 (marcato con Cy3) e NIT 3 (etichettati con FITC) utilizzando colture di Nitrosomonas Europea e Nitrobacter winogradskyi, (American Type Culture Collection). Per controlli negativi, è stata utilizzata una coltura di Escherichia coli. Inoltre, dei campioni di fango colorato solo con DAPI sono stati esaminati utilizzando filtri Cy3 e FITC per confermare la mancanza di fluorescenza di fondo.

Table 2 - 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes used (Loy et al., 2003)				
Probe	Nitrifiers	Sequence (5'-3')	FA (%) ^a	Label
Nsv 443	Nitrosospira spp.	CCGTGACGGTTTGTTCGG	30	FITC
Nsm 156	Nitrosomonas spp.	TATTAGCACATCTTTCGAT	5	Cy3
Ntspa 662	Genus Nitrospira	GGAATTCCGGGCTCCTCT	35	Cy3
NIT 3	Nitrobacter spp.	CCTGTGCTCCATGCTCGG	40	FITC

^a FA—formamide concentration in the hybridization buffer.

3. Risultati

3.1 La nitrificazione negli SBR

I profili di NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- e O_2 da quattro cinetiche medie, compresa quella con sola fase di nitrificazione aerobica, sono riportate in Fig. 1. L'inizio della diminuzione di ammoniaca è stato assegnato come tempo 0, tipicamente dopo 1.5 h nel reattore aerobico (fine ammonificazione) e 3.5 ore per il reattore alternato (dopo il passaggio da anossico a condizioni aerobiche). La nitrificazione era sempre più veloce nel reattore alternato rispetto a quello strettamente aerobico. Come mostrato in Fig. 1a, la diminuzione di ammonio dopo un breve ritardo era più veloce nella fase aerobica del reattore alternato, che aveva una AUR media di $6.10 \pm 0.37 \text{ mgNH}_4^+-\text{N/gVSS} \cdot \text{h}$ quando i reattori sono stati stabili a $6.16 \pm 0.34 \text{ mgNH}_4^+-\text{N/gVSS} \cdot \text{h}$ per questo studio 2 anni più tardi. L'AUR per i reattori aerobici era inizialmente $4.88 \pm 0.43 \text{ mgNH}_4^+-\text{N/gVSS} \cdot \text{h}$ ma gradualmente diminuita nel corso degli anni a $2.95 \pm 0.26 \text{ mgNH}_4^+-\text{N/gVSS} \cdot \text{h}$. I nitriti transitoriamente accumulati durante la denitrificazione nel reattore alternato sono rimasti elevati dopo il passaggio a condizioni aerobiche, mentre erano costantemente bassi nel reattore aerobico (Fig. 1b). Tuttavia, la produzione di nitrato è stato più veloce nel reattore alternato (Fig. 1c), coerente e proporzionale alla AUR ($3.03 \pm 0.69 \text{ mgNO}_3-\text{N/gVSS} \cdot \text{h}$ per aerobica e $4.82 \pm 0.49 \text{ mgNO}_3-\text{N/gVSS} \cdot \text{h}$ per reattore alternato). L'incremento di DO è anche molto più veloce nel reattore alternato, anche se è avviato in una condizione anossica (Fig. 1d).

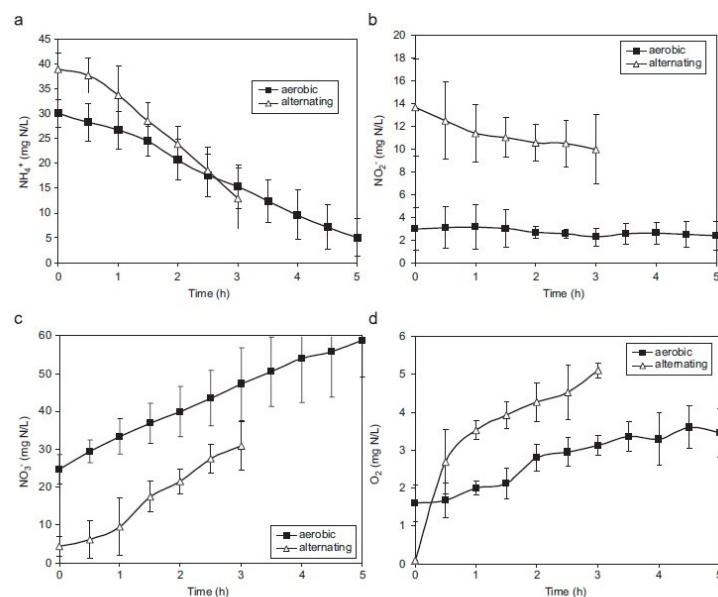


Fig. 1 – Concentration profiles of ammonia (a), nitrite (b), nitrate (c) and dissolved oxygen (d) during nitrification stage in the aerobic and alternating reactors.

3.2 Test batch: la velocità di nitrificazione vs. la concentrazione iniziale di substrato

La velocità di nitrificazione può dipendere dalla concentrazione iniziale del substrato se la popolazione nitrificante non è il fattore limitante. Nel reattore aerobico, l'esaurimento lineare di NH_4^+ (Fig. 1a) e produzione di NO_3 (Fig. 1c) ha suggerito una cinetica di ordine zero. Esperimenti ripetuti con contenuti di ammonio iniziale variabile hanno confermato che l'AUR era $2.92 \pm 0.49 \text{ mgNH}_4^+\text{-N/gVSS}\cdot\text{h}$, indipendentemente dalla concentrazione di NH_4^+ (Fig. 2a). Questo suggerisce che l'attività degli AOB limita l'AUR. La popolazione AOB nel reattore alternato ha dato una risposta fondamentalmente diversa da quella della biomassa aerobica. L'AUR aumentava con l'aumento di ammonio, almeno fino a $60 \text{ mgNH}_4^+\text{-N/L}$, indicando che gli AOB erano più attivi. Le cinetiche indicano che la concentrazione del substrato iniziale piuttosto che l'attività degli AOB era il fattore limitante per la nitrificazione. Allo stesso modo, la maggiore offerta di nitrito ha stimolato l'ossidazione dei nitriti per la comunità del reattore alternato, ma non per la comunità dell'aerobico (Fig. 2b). L'ossidazione dei nitriti era pari all'ossidazione dell'ammoniaca nelle prove batch nella comunità strettamente aerobica, il che era coerente con il fatto che il nitrito non si accumula nel reattore principale aerobico. Per prove batch in condizioni aerobiche con la comunità sviluppata in condizioni alterne, la rimozione dei nitriti è più lenta rispetto all'ossidazione dell'ammoniaca, che era in accordo con l'accumulo di nitriti nelle prime ore della fase aerobica nel reattore principale. Quindi il nitrito stimola gli NOB del reattore alternato, ma non abbastanza per fargli raggiungere le alte percentuali numeriche di AUR degli AOB. Al contrario, il nitrito inibisce l'ossidazione di nitriti nella comunità strettamente aerobica (Fig. 2b). Gli NOB nel reattore alternato tollerano concentrazioni più elevate di nitriti rispetto alle loro controparti aerobiche. Per testare l'effetto dei nitriti sull'ossidazione dell'ammoniaca, sono stati eseguiti degli esperimenti discontinui per analizzare l'effetto dei nitriti sull'AUR di ogni comunità. Come mostrato in Fig. 2c, fino a $35 \text{ mgNO}_2\text{-N/L}$ non causava alcuna inibizione per gli AOB dal reattore alternato, e lo stesso valeva con una dose enorme come $80 \text{ mgNO}_2\text{-N/L}$, in cui la diminuzione dell'AUR è stata minore del 20%. Al contrario si è riscontrata una diminuzione della popolazione di AOB nel reattore aerobico all'aumentare dei nitriti, con una diminuzione del 50% dell'AUR alla dose di $40 \text{ mgNO}_2\text{-N/L}$. Pertanto, gli AOB nel reattore alternato, tollerano alte concentrazioni di nitriti che la loro controparte aerobica non tollera.

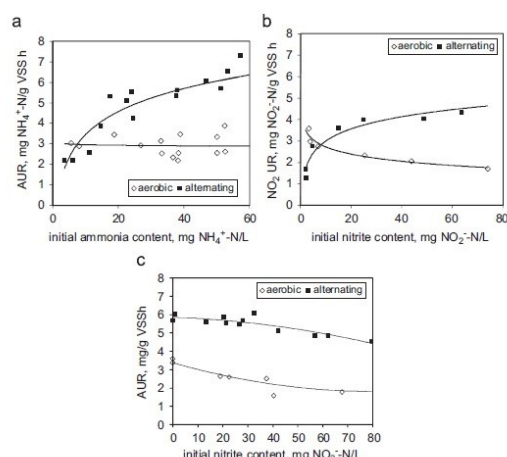


Fig. 2 – Initial ammonia uptake rate (AUR) vs. initial ammonia (a), Initial nitrite uptake rate (NO₂UR) vs. initial nitrite content (b) and initial ammonia uptake rate (AUR) vs. initial nitrite content (c) for nitrifying communities from two different SBR-operating conditions (batch aerobic tests).

3.3 Le dinamiche della popolazione

Le diverse risposte delle due comunità all'incremento delle concentrazioni di substrato nelle prove batch hanno confermato che le loro cinetiche di nitrificazione erano fondamentalmente diverse. Diverse popolazioni di nitrificanti potrebbero essere responsabili di questi diverse velocità di nitrificazione. Questo è stato indagato ulteriormente analizzando le popolazioni più comuni di AOB e NOB grazie alla FISH. Una chiara differenza tra le popolazioni nei due tipi di reattore è stata osservata (Tabella 3). La specie AOB nel reattore aerobico ha visto prevalere i Nitrosospira, mentre nel reattore alternato è stata dominata da Nitrosomonas. La percentuale totale di AOB di tutte le cellule colorate con DAPI è stata maggiore nel reattore alternato, ma di gran lunga la più grande differenza erano le proporzioni delle due popolazioni AOB, con i Nitrosomonas che costituiscono l'81% degli AOB totali nel reattore alternato e il 19% nel reattore aerobico. Allo stesso modo, la popolazione degli NOB nel reattore aerobico è dominata dai Nitrosospira, mentre il reattore alternato ha una percentuale maggiore di Nitrobacter. La percentuale totale di NOB era maggiore nel reattore alternato, ma la grande differenza è che nel reattore alternato la popolazione dei Nitrobacter componeva il 76% del NOB, rispetto al 27% nel reattore aerobico. Sia la AOB e NOB erano più abbondanti nel reattore alternato, il quale è anche caratterizzato da un rapporto AOB/NOB superiore.

Table 3 – AOB and NOB populations in two types of treatment, percentage relative to DAPI

	Aerobic (%)	Alternating (%)
AOB		
<i>Nitrosospira</i> (Nsv 443)	16.1 ± 3.4	4.8 ± 1.2
<i>Nitrosomonas</i> (Nsm 156)	3.8 ± 2.1	21.1 ± 1.2
Total AOB	19.9	25.9
NOB		
<i>Nitrosospira</i> (Ntspa 662)	7.9 ± 2.2	3.3 ± 1.9
<i>Nitrobacter</i> (NIT 3)	2.9 ± 1.3	10.4 ± 1.7
Total NOB	10.8	13.7
AOB+NOB	30.7	39.6
AOB/NOB	1.85	1.90

4. Discussione

Sia gli studi sulle cinetiche che le analisi FISH hanno dimostrato che il reattore alternato contiene la più grande e robusta comunità di nitrificatori. In questo studio, le frazioni totali di AOB rispetto alla popolazione microbica totale erano in media il 19.9% per il reattore aerobico e il 25.9% per l'alternato (Tabella 3). Dato che una popolazione nitrificante in quantità inferiore al 10% si suppone essere sufficiente per la nitrificazione in impianti di depurazione (Gerardi, 2002), i risultati FISH sembrano sovrastimare la popolazione nitrificante, ma è stata riportata una variazione di popolazioni nitrificante enorme tra i bioreattori. La quantità degli AOB sulla popolazione microbica totale va dal 6% per acque con

contenuti di ammoniaca influente più bassi di 35 mgNH₄⁺-N/L (Li et al., 2006a), al 18-30% con 65-70 mgNH₄⁺-N/L (Okabe et al., 1999; Morgenroth et al., 2000; Kindaichi et al., 2004), e fino al 35-76% per concentrazioni iniziali di ammoniaca più alte di 500-700 mgNH₄⁺-N/L (Wagner et al., 1995; Daims et al., 2001; Li et al., 2006b). Nell'SBR di questo studio, i nitrificanti possono risultare sovrabbondanti rispetto a quelli del trattamento delle acque reflue normali, ciò è dovuto principalmente al design (alto SRT e HRT), uso di alimentazione sintetica con un contenuto significativo di ammoniaca che promuove la crescita dei nitrificanti, e il funzionamento del sistema a lungo termine (> 2.5 anni) selettivo per i nitrificanti. Inoltre, la temperatura elevata durante questa particolare fase dell'esperimento potrebbe anche contribuire ai numeri così elevati. È anche noto che il metodo FISH non è sempre correlato con l'attività dei batteri bersaglio, in quanto gli AOB hanno un meccanismo per mantenere il proprio contenuto ribosomico anche con attività relativamente basse (Wagner et al., 1995). Gli NOB rispetto agli AOB di solito rappresentano una frazione minore della popolazione totale nitrificante (Gerardi, 2002); in questa ricerca, la frazione totale di NOB è stata stimata come il 10.8% per l'aerobico e il 13.7% per il trattamento alternato (Tabella 3). Ancora una volta, la precedente percentuale è riferita a popolazioni di NOB in studi batch la quale varia ampiamente, dal 2.5% in biomassa totale (Li et al., 2006a), 14% (Morgenroth et al., 2000) al 22-39% (Kindaichi et al., 2004). Il rapporto di AOB su NOB (Tabella 3) è una media di 1.9 per entrambi i reattori, ed era addirittura inferiore rispetto alla gamma segnalata come sufficiente per la nitrificazione completa (2.0-3.5) (Si et al., 2003; Li et al., 2006a), il che spiega perché né ammoniaca né nitriti sono mai stati rilevati nel effluente finale. Inoltre, con le quattro sonde FISH utilizzati in questo studio, il 30% di nitrificanti in più sono stati rilevati nel reattore alternato (Tabella 3). A causa della presenza del periodo anossico, si può prevedere una maggior presenza di nitrificanti nel reattore alternato a causa di condizioni più favorevoli per gli autotrofi nella fase aerobica (elevato pH e alcalinità dopo denitrificazione) e un inferiore decadimento autotrofo. Tuttavia, poiché il numero totale di AOB e NOB non è stato studiato direttamente, non è chiaro in che misura l'aumento della popolazione dei nitrificanti veloci r-strategists controlli la velocità di nitrificazione. Sono necessarie ulteriori ricerche sulla crescita e specialmente sui tassi di decadimento delle varie specie nitrificanti, o altri mezzi di enumerazione del numero totale di nitrificanti per chiarire il fattore dominante controllante le velocità. Le condizioni ambientali nei reattori sono selezionanti per le diverse popolazioni di nitrificazione (Tabella 3). Le ragioni per il cambiamento di popolazioni tra i due tipi di regimi di trattamento possono essere dedotti dopo l'analisi dettagliata di ossigeno e substrati dei reattori principali (Fig. 1) e dai profili di prove batch eseguite separatamente (Fig. 2). Nel reattore aerobico, la rimozione dell'ammoniaca e la produzione di nitrato sono avvenute simultaneamente con la rimozione della materia organica, senza l'accumulo di nitriti (Fig. 1). La degradazione eterotrofica consuma ossigeno, diminuendo la sua disponibilità per i nitrificanti. Precedenti ricerche hanno dimostrato che la biomassa aerobica è costituita da fiocchi densi, sferici e compatti, che erano più forti a causa di un elevato contenuto di sostanze polimeriche extracellulari (EPS) (Dytczak et al., 2006, 2007). Tale struttura offre una resistenza al trasferimento di massa superiore e può ridurre la penetrazione di ossigeno e substrati agli strati interni (Wilén et al., 2004). In questo modo, l'accesso ai substrati potrebbe essere ancora più limitato per questa biomassa. I più lenti K-strategists *Nitrosospira* e *Nitrospira*, si adattano alle condizioni di scarsità di ossigeno e di nitriti (Schramm et al., 1999), e sono stati rilevati con la FISH nella biomassa aerobica in quantità maggiori di 4.2 e 2.7 volte rispetto agli r-strategists *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*. Al contrario, i più veloci r-strategists *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*, essendo più concorrenti in ambienti con concentrazioni alte di ossigeno e substrato (Schramm et al., 1999), proliferano nella biomassa sotto le condizioni alternate anossiche/aerobiche, con un miglioramento di 4.3 e 3.2-volte rispetto ai K-strategists *Nitrosospira* e *Nitrospira*. Il periodo della reazione anossica di trattamento, durante il quale il COD biodegradabile viene rimosso dalla soluzione (COD solubile diminuito da 491±49 a 98±13 mg/L), riduce la concorrenza per l'ossigeno con la crescita più rapida degli eterotrofi, e rende l'ossigeno più disponibile durante la fase di nitrificazione (Dytczak et al., 2007). Inoltre, la biomassa alternata consiste principalmente di batteri con un minor numero di filamenti, che consistono in fiocchi deboli, sottili e allungati (struttura chaintype), con EPS meno legati (Dytczak et al., 2006); il trasferimento di ossigeno e substrati è quindi più facile in tali aggregati aperti (Wilén et al., 2004). Sono stati inoltre osservati cambiamenti simili nella struttura della comunità a causa della concentrazione di ossigeno e nitriti nei biofilm aerati (Schramm et al., 2000; Gieseke et al., 2001; Okabe et al., 1999, 2004). Per la fase di ossidazione dell'ammoniaca, la disponibilità di DO è probabilmente la ragione principale per il cambiamento nella popolazione nitrificante. Anche il livello iniziale di ammoniaca nei reattori potrebbe avere un'influenza. Nonostante lo stesso contenuto di ammoniaca nel feed di entrambi i reattori, nel trattamento puramente aerobico il livello di ammoniaca all'inizio della nitrificazione è stato di circa 27 mg/L, mentre nel trattamento alternato l'ammoniaca dopo idrolisi e ammonificazione della sostanza organica (ulteriore NH₄⁺ liberato dall'alimentazione) raggiunge valori elevati: fino a 37 mg/L durante la fase anossica (Fig. 1a). Questa differenza, tuttavia, non sembra essere significativa quando questi valori sono posti sulle prove batch come mostra il grafico (Fig. 2a). Al contrario, la competizione con gli eterotrofi, la struttura a fiocco e così come l'accesso all'ossigeno sono in questo caso dei fattori critici. Ciò è coerente con altri risultati (Li et al., 2006a). Il differente accumulo del nitrito finale prodotto era probabilmente molto meno significativo dell'ossigeno, così come il nitrito ha avuto poco impatto sugli AOB (Fig. 2c). È stato suggerito che *Nitrosomonas* spp. può essere più resistente ai nitriti e all'acido nitroso libero rispetto alla *Nitrosospira* spp. (Vadivelu et al., 2006d, 2007), il che potrebbe anche essere importante in quanto un'alta formazione di nitrito è auspicabile per il processo di nitrificazione in un impianto di trattamento delle acque reflue. Pertanto, il dominio di particolari specie di AOB potrebbe verificarsi a seguito di nitrito, indipendentemente dalle differenze di concentrazioni di ossigeno. Infatti, le prove batch (Fig. 2c) hanno mostrato che i *Nitrosomonas* nella biomassa alternata risultano essere resistenti alla inibizione dei nitriti nello stesso range tipico che si verifica nel reattore principale (0-30mgNO₂-N/L). La

biomassa aerobica testata nello stesso intervallo di nitriti ha mostrato una diminuzione in termini di AUR, anche se una inibizione totale non è mai stata osservata. È possibile che la minor frazione di *Nitrosomonas* resistenti ai nitriti potrebbe sostenere parzialmente il processo, mentre la *Nitrospira* è inibita con dosi crescenti di nitriti nel reattore aerobico. Le cinetiche della seconda fase di nitrificazione erano molto facili da controllare essenzialmente mediante l'accesso all'ossigeno in quanto gli NOB sono più sensibili alle basse concentrazioni di ossigeno rispetto agli AOB (Okabe et al., 1999; Schramm et al., 2000; Mertoglu et al., 2006). Tuttavia, i diversi livelli di nitriti che sono stati sperimentati nei due reattori potrebbero anche influenzare i generi nitrificanti. Nel reattore aerobico, i nitriti non si accumulano (Fig. 1c), mostrando che l'ossidazione dei nitriti da parte degli NOB è stata veloce come l'ossidazione dell'ammoniaca (Fig. 2a, b). Nel reattore alternato, la denitrificazione incompleta durante la fase anossica causa un aumento transitorio dei nitriti, che pur diminuendo, rimangono elevati durante l'inizio della fase aerobica (Fig. 1b; Dytczak et al., 2007, 2008b). Sebbene il NO₂-UR era inferiore all'AUR, così che il nitrito si accumulava inizialmente, è stato rimosso dagli NOB durante il trattamento aerobico prolungato, fino a che nessun nitrito è stato rilevato nell'effluente finale (Dytczak et al., 2007). Tuttavia, questa concentrazione di nitrito temporaneamente elevata potrebbe favorire lo sviluppo di *Nitrobacter* spp. a causa della loro maggiore tolleranza di nitriti e della cinetica di ossidazione dei nitriti più veloce (Kim e Kim, 2006; Vadivelu et al., 2006a.). È chiaro dalle prove batch (Fig. 2b), che per il basso contenuto di nitriti (<7mgNO₂-N/L) i nitrificanti aerobici, in linea con *Nitrospira* spp. sono dei migliori concorrenti, mentre per i livelli di nitriti alti i batteri alternati, identificati come *Nitrobacter* sarebbero dominanti (Tabella 3). Le proporzioni relative di diverse specie di NOB sono state attribuite a concentrazioni di nitriti in altri sistemi (Wagner et al., 2002; Kim e Kim, 2006; Li et al., 2006a.). Okabe et al. (1999) specularono che i *Nitrobacter* spp. competono bene solo quando sia l'ossigeno che le concentrazioni di nitrito sono elevate. Vale la pena notare che nel sistema aerobico, nonostante una netta prevalenza di *Nitrospira*, i *Nitrobacter* contribuiscono a quasi un terzo della popolazione degli NOB, il che può spiegare la rimozione veloce dei nitriti che può essere causata dall'elevata resistenza di questa specie a effetti inibitori di nitriti, ammoniaca libera e acido nitroso libero (Vadivelu et al., 2006a, 2007). Anche se non siamo in grado di delineare chiaramente quale dei due fattori, ossigeno o nitrito, sia principalmente responsabile per il cambiamento della popolazione, è evidente da questa ricerca che le condizioni nella fase aerobica seguita da denitrificazione comporta lo sviluppo di nitrificanti "veloci". Migliorare la nitrificazione è ovviamente un bene per l'intero processo di trattamento. Vi è anche la prova della degradazione biologica delle sostanze estrogene, 17- α -etinilestradiolo e l'aumento dell'estrone con l'aumento dei tassi di nitrificazione (Dytczak et al., 2008a). Da un punto di vista economico, le velocità di nitrificazione più veloci possono portare a risparmi sui costi nella progettazione dell'impianto di depurazione, sostenendo una più ampia adozione delle modalità di alternanza di funzionamento. Inoltre, la conoscenza delle preferenze ambientali microbiche sarebbe importante nella progettazione di strategie di bioaugmentation, per evitare un potenziale wash-out di organismi non adattati alle condizioni reali del bioreattore.

5. Conclusioni

Diverse popolazioni di batteri ammoniacali-ossidanti e batteri nitrito-ossidanti, sviluppate in trattamenti aerobici e aerobici/anossici alternati, hanno portato a differenze molto significative tra le velocità di nitrificazione. L'ossigeno ridotto nel reattore strettamente aerobico, a causa della concorrenza eterotrofica e la struttura densa del fiocco, hanno favorito le specie K-strategists *Nitrosospira* e *Nitrospira*, spiegando le velocità di nitrificazione più basse. I periodi di anossia, un più facile accesso all'ossigeno durante la fase di nitrificazione per i nitrificanti nei fiocchi più aperti nel reattore alternato, e la concentrazione di nitriti elevata dopo la denitrificazione, hanno contribuito alla selezione della specie verso gli r-strategists come *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*, che si distinguono per delle velocità di nitrificazione più elevate. Oltre ai vantaggi di denitrificazione nella fase anossica, sembra che utilizzando un trattamento alternato si crei l'ambiente adatto per la crescita di popolazione nitrificanti ad elevate velocità di nitrificazione, unito alla potenziale riduzione dei costi di rimozione dell'azoto. Va aggiunto che i protocolli di progettazione attuali richiedono la determinazione delle velocità di nitrificazione in condizioni rigorosamente aerobiche.

Effect of free ammonia on the respiration and growth processes of an enriched *Nitrobacter* culture.

Vel M. Vadivelu, Jurg Keller, Zhiguo Yuan.

Water Research (2007), 41 (4), 826-834.

<https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.11.030>

1. Introduzione

La nitrificazione è un processo che consiste in due step dove l'ammoniaca, un composto ridotto dell'azoto, è ossidato a nitrito che sarà ulteriormente ossidato a nitrato. Questi due step sono compiuti da due gruppi di microrganismi autotrofi, chiamati batteri ossidanti dell'ammoniaca (AOB) e batteri ossidanti dei nitriti (NOB). In condizioni normali di crescita, il nitrato è il prodotto principale della nitrificazione. In ogni caso, un'incompleta nitrificazione con molti livelli di accumulo di nitriti è stata ampiamente riportata in letteratura (Hanaki et al., 1990; Yang e Alleman, 1992; Vilaverde et al., 2000). Negli anni recenti, sono stati sviluppati molti processi per la rimozione dell'azoto tramite nitrificazione (ossidazione dell'ammoniaca a nitrito) e denitrificazione (denitrificazione del nitrito ad azoto gas). Rimuovendo l'azoto

con questo percorso detto “via nitrito”, rispetto alla tradizionale nitrificazione-denitrificazione, si riduce la domanda di ossigeno del 25% e di carbonio del 40% (Fux et al., 2003). L’accumulo dei nitriti deriva da una più elevata attività degli AOB rispetto agli NOB (Smith et al., 1997). Fattori come il pH, la temperatura e la concentrazione di DO, la CO₂ e la presenza di metalli pesanti influenzano molto l’aumento dei nitriti (Randall e Buth, 1984; Hanaki et al., 1990; Surmacz-Gorska et al., 1997). In ogni caso le cause principali sembrano essere gli effetti inibitori dell’Ammoniaca libera (FA) (Mauret et al., 1996; Villaverde et al., 2000) e dell’acido nitroso libero (FNA) (Anthonisen et al., 1976; Philips et al., 2002). L’effetto inibitore del FA sugli NOB è stato ampiamente riportato (Balmelle et al., 1992; Philips et al., 2002). Mentre è stato supposto che anche l’attività degli AOB può essere inibita dall’FA, gli NOB sono stati descritti come più sensibili al FA rispetto agli AOB (Painter, 1970). Anthonisen et al. (1976) riportano che l’inibizione dell’FA sui Nitrobacter comincia a 0.1-1 mgNH₃/L, mentre per i Nitrosomonas il valore limite è 10-150 NH₃/L. I dati di letteratura riassumono chiaramente che FA ha un effetto inibitorio significativo sul metabolismo degli NOB. In ogni caso, la maggior parte degli studi riportati finora si sono concentrati sulla misura dell’OUR (Oxygen Uptake Rate) al variare del FA. I livelli di inibizione venivano calcolati confrontando queste velocità con quelle in assenza o in basse concentrazioni di FA. Questi studi rivelarono solo l’effetto del FA sulla respirazione degli NOB, ma si sono ottenute poche informazioni sulla crescita degli NOB. In questo lavoro, si riportano informazioni aggiuntive sull’effetto inibitore del FA sull’attività metabolica degli NOB. Si è usata una coltura arricchita di Nitrobacter e si è misurata in vari batch test, la velocità di presa dell’ossigeno a vari FA e in presenza o meno di carbonio inorganico. L’effetto inibitorio del FA sul processo anabolico o catabolico degli NOB è stato stimato attraverso il confronto tra le velocità di presa dell’ossigeno.

2. Materiali e metodi

2.1 Arricchimento di NOB con un SBR

Un SBR è stato adoperato per far crescere in modo selettivo una coltura arricchita di NOB. Come inoculo per l’SBR è stato utilizzato un mixed liquor prelevato dall’impianto di depurazione di Brisbane, Australia. Il reattore sequenziale aveva un volume di lavoro di 8 L ed è stato alimentato con nitrito (acque reflue sintetiche con 1000 mgNO₂-N/L) come unica fonte di energia e bicarbonato come unica fonte di carbonio. L’SBR è stato utilizzato con un tempo di ciclo di 6 h e un tempo di ritenzione idraulica (HRT) di 1 giorno. Ciascun ciclo consisteva di una alimentazione aerobica di 270 minuti e il tempo di reazione aerobica era di 20 minuti; questa era seguita da 60 minuti di sedimentazione e un periodo di decantazione di 10 minuti. Il reattore è stato utilizzato in un ambiente a temperatura controllata (21-23°C). La concentrazione dell’ossigeno disciolto (DO) è stata mantenuta nel range di 2.75-3.25 mg/l utilizzando un sistema di controllo ON/OFF. Anche se non controllato, il pH nel reattore variava in un intervallo ristretto tra 7.2 e 7.4, dovuto alle acque reflue influenti. La composizione per litro delle acque reflue sintetiche era (adattato da Kuai e Verstraete, 1998): 4.93 g di NaNO₂ (1 gNO₂-N); 0.4 g di NaHCO₃; 1 g di KH₂PO₄ e di K₂HPO₄ e 2 ml di una soluzione madre contenente oligoelementi. La soluzione conteneva tracce di vari elementi (per litro): 1.25g di EDTA; 0.55g di ZnSO₄·7H₂O; 0.40g di CoCl₂·6H₂O; 1.275g di MnCl₂·4H₂O; 0.40g di CuSO₄·5H₂O; 0.05g di Na₂MoO₄·2H₂O; 1.375 g di CaCl₂·2H₂O; 1.25g di FeCl₃·6H₂O e 44.4g di MgSO₄·7H₂O. Studi dei cicli sono stati eseguiti regolarmente misurando le concentrazioni di nitriti e nitrati ogni 15-30 minuti per confermare le prestazioni del reattore, per l’intera durata dello studio. Le concentrazioni di nitriti e nitrati effluenti sono stati misurati settimanalmente per tutto il periodo per monitorare le prestazioni a lungo termine del reattore. La composizione della comunità microbica è stata misurata utilizzando la FISH.

2.2 Metodi di analisi off-line

Nitriti e nitrati sono stati analizzati utilizzando un analizzatore a iniezione di flusso Lachat Quikchem 8000 (FIA). I campioni sono stati ottenuti attraverso il filtraggio del mixed liquor (fango) prelevato dall’SBR, utilizzando filtri a siringa Millex GP con pori da 0.22 micron. La concentrazione di ML(V)SS, e di COD sono stati misurati con i metodi standard della APHA (1998).

2.4 Esperimenti per determinare gli effetti inibitori di FA

Per determinare gli effetti inibitori della FA sui metabolismi della coltura arricchita di NOB sono stati effettuati esperimenti batch con sensore per la titolazione e l’analisi dei gas (TOGA-Tritation and Off-Gas Analysis: Pratt et al., 2003). Il sensore TOGA è uno strumento basato sul reattore per la caratterizzazione di processi biologici. Ciascuna prova nel reattore TOGA è durata diverse ore. Il reattore è stato riempito con 1.3 L di mixed liquor prelevato dal SBR. La concentrazione di ammoniaca nel reattore è stata aumentata gradualmente fino a circa 1600 mgN-NH₄⁺/l. OD e pH sono stati controllati rispettivamente a circa 3 mg/l e 7.3. Questi livelli sono simili a quelli applicati al reattore SBR madre. Tutti i test sono stati condotti in batch a temperatura ambiente 21-23°C. La misurazione di nitriti e nitrati è stata effettuata durante le prove batch nello stesso modo come in un normale ciclo di studio. Durante ciascuna prova, la velocità di trasferimento dell’ossigeno (OTR) dalla fase gassosa alla fase liquida, e la velocità di trasferimento della CO₂ (CTR) dalla fase liquida alla fase gassosa, sono state misurate in linea tramite bilancio di massa. Il rapporto produzione/consumo di protoni (HPR) è stato monitorato registrando il tasso di aggiunta acido/base, effettuata per il controllo del pH. Dettagli

per i metodi di OTR, CTR e determinazione HPR possono essere trovati in Pratt et al. (2003). Ogni esperimento era costituito da due prove distinte: un test è stato effettuato in presenza di carbonio inorganico nella fase liquida e l'altro in assenza di carbonio inorganico. Queste condizioni sono state raggiunte alimentando il reattore con una miscela di gas contenente O_2 , rispettivamente con e senza CO_2 . Nella seconda fase, il gas non contenente CO_2 è stato insufflato nel reattore per diverse ore per strappare il carbonio inorganico presente (CO_2 , bicarbonato e carbonato) prima dell'aggiunta di nitriti e ammoniaca. Il completamento dello strappaggio è stato confermato sia da un segnale di intensità molto bassa di rilevamento di CO_2 (sotto al limite di rilevazione) che da un segnale HPR pari circa a zero (il segnale HPR non dovrebbe essere zero se lo strappaggio di CO_2 sta ancora avvenendo). Le concentrazioni di MLSS e MLVSS sono state misurate all'inizio e alla fine di ogni prova.

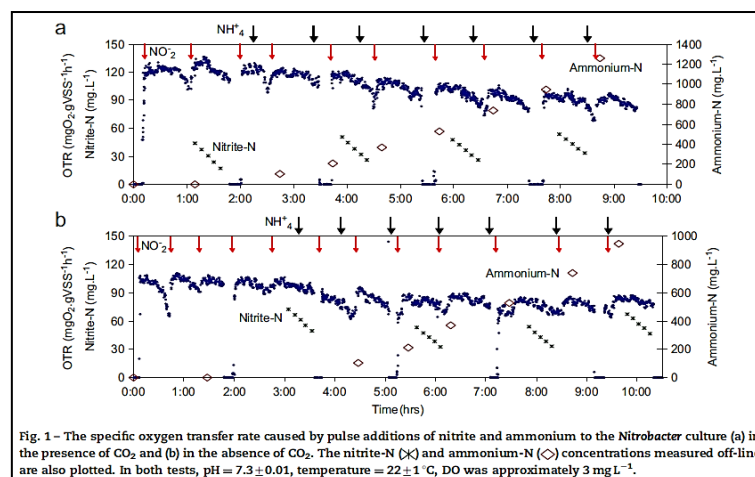
3. Risultati e discussioni

3.1. Performance del reattore e comunità batteriche

Il monitoraggio nel lungo termine delle prestazioni del reattore ha rivelato che la completa ossidazione del nitrito era stata raggiunta. Il livello di nitrito nell'effluente è stato impercettibile. Studi del ciclo hanno dimostrato che c'era solo un basso livello di accumulo di nitrito durante l'alimentazione di nitriti, e che la maggior parte del nitrito veniva ossidata immediatamente dopo lo stop dell'alimentazione.

3.2 Esperimenti batch

Le Fig. 1(a) e (b) mostrano i tipici profili di OTR_{withCO_2} e $OTR_{withoutCO_2}$ specifici (rapporto tra gli OTR misurati e la concentrazione della biomassa) determinati durante le prove batch con una serie di aggiunte successive di ammoniaca, rispettivamente in presenza e assenza di carbonio inorganico. Le concentrazioni di MLVSS misurate all'inizio e alla fine di ogni prova erano molto simili e il valore medio è stato utilizzato nel calcolo dell'attività specifica. Vengono inoltre visualizzati i profili di azoto ammoniacale (NH_3-N) e di azoto dei nitriti (NO_2-N) misurati durante la prova. Il nitrito è stato anche aggiunto ad impulsi con la concentrazione massima mantenuta al di sotto 60-70 mgN/L. Vadivelu et al. (2006b) ha mostrato che il nitrito in questo intervallo (corrispondente ad una concentrazione di FNA sotto 0.008 mgN/L a pH 7.3) non avrebbe alcun effetto inibitorio sia sul processo catabolico che su quello anabolico di questa coltura di *Nitrobacter*. D'altra parte, come mostrato in Fig.1, sia il profilo di OTR_{withCO_2} che quello di $OTR_{withoutCO_2}$ arrivano ad un plateau dopo ogni aggiunta di nitriti, indicando che è stata indotta la massima attività batterica. Le velocità di trasferimento dell'ossigeno (OTR) misurate in questi esperimenti sono uguali all'OUR biologico quando viene raggiunto uno stato pseudo stazionario delle reazioni biologiche (Pratt et al., 2003). In riferimento alla Fig.1(a) e (b), l'OUR della biomassa è pari al valore di OTR durante periodi in cui quest'ultimo è approssimativamente costante. In questo studio, siamo soprattutto interessati alla massima velocità di presa dell'ossigeno (OUR) raggiunta dopo ogni aggiunta di ammoniaca; nelle seguenti sezioni OTR è perciò sostituito direttamente da OUR.

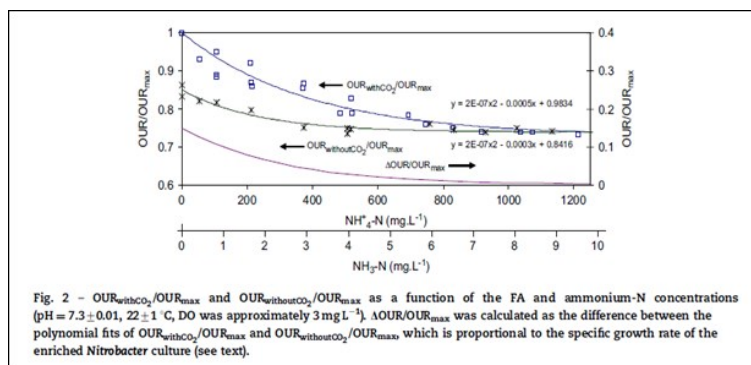


I batteri eterotrofi consumano ossigeno per ossidare le sostanze organiche disponibili nel reattore risultanti dalla lisi cellulare per ottenere energia per la crescita. L'OUR dei batteri eterotrofi nella coltura è stato valutato in uno studio separato (Vadivelu et al, 2006a) come OUR in assenza di nitrito; si è dimostrato che ha contribuito meno dell'1% al massimo OUR mostrato in Fig.1a. In assenza di alimentazione esterna di CO_2 (Fig.1b), la coltura *Nitrobacter* è destinata a crescere ad una velocità molto bassa, utilizzando solo la CO_2 prodotta dagli eterotrofi attraverso la lisi cellulare. Pertanto, in assenza di un'alimentazione esterna di fonte di carbonio, la crescita di *Nitrobacter* è trascurabile. L'aggiunta di ammoniaca riduce immediatamente i plateau raggiunti dopo ogni aggiunta di nitriti sia dell' OUR_{withCO_2} che dell' $OUR_{withoutCO_2}$. Il minimo plateau raggiunto dell' OUR_{withCO_2} , quando la concentrazione di ammoniaca era superiore a

900 mgN/l, era circa il 75% del massimo plateau dell' OUR_{withCO_2} sostenute in assenza di ammonio. L' $OUR_{withoutCO_2}$, a partire da circa l'85% del massimo OUR_{withCO_2} , ha raggiunto il suo livello minimo quando la concentrazione di ammoniaca è stata di circa 500 mgN/l. Un ulteriore aumento di concentrazione di ammoniaca non diminuiva l' $OUR_{withoutCO_2}$. Il minimo $OUR_{withoutCO_2}$ è stato circa il 75% del massimo raggiunto. L'esperimento è stato ripetuto sei volte e sono stati ottenuti risultati simili. Per ogni test in batch, sono stati calcolati i rapporti tra OUR_{withCO_2} e $OUR_{withoutCO_2}$ raggiunti dopo ogni aggiunta di nitriti e l' OUR_{withCO_2} massimo complessivo misurato nelle varie prove (OUR_{max}). L' OUR_{max} in ciascuna prova è stato sempre raggiunto in presenza di CO_2 e assenza di ammoniaca, e quando i nitriti erano in eccesso. Facendo riferimento alla Fig.1, i primi tre picchi in Fig.1a soddisfano queste condizioni. La loro media è stata utilizzata come OUR_{max} per questo particolare test. I risultati dei sei esperimenti sono riportati in funzione della concentrazione di ammonio/FA in Fig. 2.

3.4 Effetti inibitori della FA sulla respirazione dei Nitrobacter

La Fig. 2 mostra chiaramente che l'aggiunta di ammoniaca diminuisce immediatamente sia l' OUR_{withCO_2} che l' $OUR_{withoutCO_2}$, indicando che la respirazione dei Nitrobacter è stata inibita dall'ammoniaca libera. L'effetto di inibizione della FA è avviato ad una concentrazione inferiore a 1.0 mgNH₃-N/L. Questa osservazione concorda bene con Anthonisen et al. (1976), il quale ha riferito che l'inibizione della FA su Nitrobacter inizia a 0.1-1.0 mgNH₃-N/L. Tuttavia, l'effetto inibitorio è limitato. I dati di $OUR_{withoutCO_2}$, che rappresentano l'attività respiratoria della coltura Nitrobacter quando la crescita è trascurabile, e che quindi non dovrebbe essere influenzata dalla possibile inibizione della FA sui processi anabolici, dimostrano che ad una concentrazione di FA pari a 4.0 mgNH₃-N/L la respirazione dei batteri si riduce solo del 12%. Un ulteriore aumento della concentrazione della FA da 4.0 a 9.0 mgNH₃-N/L (il livello più alto utilizzato in questo studio) non ha avuto un ulteriore effetto inibitorio sulla velocità della respirazione.



La scoperta che l'ammoniaca libera ha un effetto inibitorio limitato sulla respirazione di Nitrobacter concorda bene con Fux et al. (2003), che ha riferito che la velocità di ossidazione del nitrito in una biomassa di un sistema di trattamento biologico SBR era diminuito solo del 10% (rispetto al suo valore massimo ottenuto in assenza di FA) quando la concentrazione FA era 24-80 mgNH₃-N/L. I meccanismi responsabili per l'inibizione della FA sulla respirazione di Nitrobacter non sono ancora chiari. Essi possono essere dovuti ad un effetto inibitorio diretto sul nitrito ossido reductasi, o su un enzima coinvolto nel trasporto degli elettroni o nella traslocazione dei protoni. Indipendentemente dai dettagli dei meccanismi coinvolti, si può concludere che la FA inibisce, in misura limitata, la produzione di energia dal processo catabolico dei Nitrobacter.

3.5 Confronto con metodi e risultati precedenti

In studi precedenti, l'effetto di un composto inibitore sui batteri nitrificatori è stato valutato misurando la loro attività respiratoria in presenza di fonti di energia e di fonti di carbonio (cioè OUR_{withCO_2} come definito in questo studio). Questo approccio è stato applicato sia sugli AOB (Anthonisen et al, 1976; Hellinga et al, 1999) che sugli NOB (Balmelle et al, 1992; Fux et al, 2003). Il grado di inibizione è stato calcolato confrontando i dati di OUR_{withCO_2} , a diversi livelli di un composto inibitore, con quelli misurati in assenza di questo inibitore. Con il presupposto implicito che la velocità di consumo dell'ossigeno dei batteri sia proporzionale alla loro velocità di crescita, che è un assunto comune nella modellazione dei fanghi attivi (ad esempio in IWA Activated Sludge Models, Henze et al, 2000), la riduzione dell'attività respiratoria è stata considerata essere l'effetto inibitorio sui processi di crescita batterica. Se questo metodo di interpretazione dei dati fosse stato impiegato in questo studio, si sarebbe dovuto concludere, in base ai dati misurati dell' OUR_{withCO_2} , che la FA avrebbe avuto un effetto inibitorio limitato sulla crescita degli NOB. Questo effetto sarebbe stato di circa il 25% ad una concentrazione di ammoniaca libera di 6.0-9.0 mgNH₃-N/L. Tuttavia, i batteri producono energia da entrambi i processi, sia di crescita che di mantenimento, per soddisfare il loro fabbisogno energetico. Pertanto, la respirazione batterica non è sempre accoppiata alla loro crescita, e di conseguenza la velocità di respirazione non è necessariamente proporzionale alla velocità di crescita batterica. Di conseguenza, il metodo ampiamente utilizzato fino ad oggi per valutare gli effetti inibitori di un composto misurando solo l'attività di respirazione, potrebbe potenzialmente

dare risultati fuorvianti. In questo lavoro, sono stati misurati le velocità di respirazione dei Nitrobacter, in presenza e in assenza di CO₂. L'OUR_{withoutCO2} non è correlata alla crescita e, di conseguenza, la sua dipendenza dalle concentrazioni di FA rispecchia in pieno gli effetti inibitori della FA sui processi di produzione di energia. Si può dunque asserire che la differenza tra OUR_{withCO2} e OUR_{withoutCO2} dovrebbe essere direttamente correlata alla crescita dei Nitrobacter.

Table 1 – Summary of FNA and FA inhibition on Nitrobacter and Nitrosomonas				
	Nitrobacter		Nitrosomonas	
	Anabolism	Catabolism	Anabolism	Catabolism
FNA	Likely stopped completely at 0.02 mgHNO ₃ -NL ⁻¹	No inhibition up to 0.04 mgHNO ₃ -NL ⁻¹	Likely inhibited completely at 0.40 mgHNO ₃ -NL ⁻¹	50% inhibition at 0.40–0.63 mgHNO ₃ -NL ⁻¹
FA	Likely inhibited completely at above 6.0 mgNH ₃ -NL ⁻¹	Inhibited by 12% at 6.0–9.0 mgNH ₃ -NL ⁻¹	No inhibition at up to 16.0 mgNH ₃ -NL ⁻¹	No inhibition at up to 16.0 mgNH ₃ -NL ⁻¹

4. Conclusioni

L'effetto dell'ammoniaca libera (FA) sul metabolismo dei Nitrobacter è stato valutato utilizzando una coltura arricchita di Nitrobacter. Si è constatato che la respirazione dei Nitrobacter è stata inibita anche a basse concentrazioni di FA (inferiori 1 mgNH₃-N/L). Tuttavia, questo effetto inibitorio è stato limitato. Il tasso di respirazione dei Nitrobacter è stato ridotto del 12% e 25%, rispettivamente, in assenza e in presenza di carbonio inorganico, quando la concentrazione FA è stata aumentata da 0 a 9 mgNH₃-N/L. La Free Ammonia potrebbe avere un forte effetto inibitorio sui processi anabolici dei Nitrobacter. Mentre lo studio non ha fornito la prova inequivocabile di questo effetto inibitorio, i dati sperimentali indicano fortemente che i Nitrobacter probabilmente cessano di crescere ad una concentrazione di FA 6-9 mgNH₃-N/L. Questa sperimentazione dimostra chiaramente la necessità di studi fisiologici per rivelare i meccanismi di inibizione della FA sul metabolismo batterico. I metodi convenzionali per valutare gli effetti inibitori della FA sui Nitrobacter (e forse altri batteri simili) attraverso un substrato generico, possono produrre risultati fuorvianti utilizzando semplicemente un raffronto delle velocità in condizioni inibitorie e non inibitorie. Si suggerisce uno studio separato dei processi catabolici e anabolici.

La seguente tabella riassume i principali parametri operativi e le caratteristiche delle prove descritte in questo paragrafo.

Tabella 2.1 Sintesi della letteratura sui parametri di influenza sul processo via nitrito.

Autore	Tipo di processo	Refluo testato	Scala	Volume	Condizioni operative							Parametri di controllo del processo
					NH ₄ -N (mg/L)	pH	Temp (°C)	FA (mg/L)	DO (mg/L)	HRT (h)	SRT (d)	
Wu (2016)	CSTR	S	L	6	50	7.8±0.2	25±0.8		1.5	12	4.2	SRT Concentrazione NH ₄ Reattore di selezione
Khan (2016)	CSTR	Semi-S	L	5	40-450	7.3-8.0	30	16.7	0.6-1.0	2.5	6-15	pH DO
Munz (2011)	SBR	S	L	3	10	7.2-7.5	20±1	<15	5-7	12	2-5	SRT Alternanza fasi Aerobiche/Anossiche
Lee (2003)	SBR	S	L	3	20	7.7±0.2	20		>5	12	10	ORP
Dytczaka (2008)	SBR	S	L	3	62		24±1			36	12	Alternanza fasi Aerobiche/Anossiche
Vadivelu (2007)	SBR	S	L	8	1600	7.2-7.4	21±2	0-9	2.75-3.25	24		FA

L: Laboratorio

S: Sintetico

2.5. Full scale e impianti dimostrativi via nitrito a basso carico

Complete nitrogen removal from municipal wastewater via partial nitrification by appropriately alternating anoxic/aerobic conditions in a continuous plug-flow step feed process.

Shijian Ge, Yongzhen Peng, Shuang Qiu, Ao Zhu, Nanqi Ren.

Water Research (2014), 55, 95-105.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2014.01.058>

Abstract

Questo studio valuta la fattibilità tecnica di rimozione dell'azoto da un'acqua reflua urbana tramite nitrificazione parziale (nitritazione) in un processo continuo alimentato in modo sequenziale tramite reattore plug-flow. Il nitrito nell'effluente è stato accumulato oltre l'81.5±9.2% ma è scomparso con il passaggio del processo da anossico/ossico a anaerobico/anossico/ossico. Prove batch hanno mostrato stimolazione degli AOB e inibizione degli NOB durante le condizioni anossiche. Due fattori hanno contribuito principalmente alla nitritazione in questo processo plug-flow in continuo: uno è stato l'alternanza delle condizioni anossiche e aerobiche; la strategia d'alimentazione discontinua ha garantito un'opportuna denitrificazione nelle zone anossiche, permettendo una riduzione di fornitura di energia (nitriti) agli NOB. Test FISH e analisi della reazione a catena della polimerasi in tempo reale hanno indicato che la popolazione degli NOB è gradualmente diminuita all'1.0±0.1% della popolazione batterica totale (*Nitrospira* spp. dominante, 1.55×10^9 unità/L) mentre AOB è aumentato di circa due volte ($7.4 \pm 0.9\%$, 1.25×10^{10} unità/L) durante la transizione da anossico a anaerobico. Più importante, senza aggiunta di fonti di carbonio esterne, il suddetto processo di trattamento delle acque reflue ha raggiunto l'86.0±4.2% della rimozione totale di azoto (TN) con solo 7.23 ± 2.31 mg/L di TN nell'effluente, che soddisfaceva i requisiti di scarico.

1. Introduzione

La nitrificazione parziale via nitrito (nitritazione) riduce il consumo d'ossigeno del 25% e riduce anche la fonte di carbonio richiesto del 40% nella rimozione biologica dei nutrienti (BNR) (Turk e Mavinic, 1989). Recentemente, la rimozione di azoto tramite nitrito anziché nitrato è stata ampiamente considerata come fase preliminare al processo Anammox (Vlaeminck et al., 2009). Inoltre, la nitritazione rimane un passo limitante verso l'ampia applicazione e l'industrializzazione del processo Anammox a causa dell'affidabilità del raggiungimento e mantenimento della nitritazione.

1.1 Nitrificazione parziale in SBR per acqua reflua a basso carico

Numerosi studi si sono concentrati sul raggiungimento della rimozione dell'azoto tramite nitrito in diversi processi come sistema a fanghi attivi (Chuang et al., 2007; Peng et al., 2008; Vlaeminck et al., 2009) e sistemi a biofilm (Bartoli et al., 2010; Brockmann e Morgenroth, 2010; De Pra et al., 2012; Lee et al., 2013). La maggior parte degli studi riguarda acque reflue ad alto carico di ammonio (Erguder et al., 2008; Kim et al., 2006; Lemaire et al., 2008; Peng et al., 2008; Ruiz et al., 2003; Tokutomi et al., 2010), anche se la nitritazione è stata applicata con successo in differenti tipi di acque reflue. Al meglio delle nostre conoscenze, per acqua reflua urbana a basso carico, quasi tutte le sperimentazioni sono state condotte in reattori (SBR) (Blackburne et al., 2008a; Guo et al., 2009; Peng et al., 2004). È stato dimostrato che l'uso di aerazione intermittente è metodo efficace per realizzare la nitritazione in sistemi SBR (Dokianakis, 2006; Katsogiannis et al., 2003; Kornaros et al., 2008; Yoo et al., 1999). Precedenti studi hanno dimostrato che gli NOB possono essere inibiti da "disturbi" anossici che non influenzano gli AOB in SBRs (Bournazou et al., 2013; Kornaros et al., 2010). Li et al. (2011, 2008) sostengono che l'aerazione intermittente ha contribuito in modo significativo alla dominanza di AOB sugli NOB in SBR che trattavano acque reflue del macello. Tuttavia non si trovano studi pubblicati ad oggi sulla rimozione dell'azoto via nitrito ottenuta mediante aerazione intermittente nei processi BNR in continuo.

1.2 Nitrificazione parziale in processi BNR in continuo per acqua reflua a basso carico

L'efficienza di nitritazione nel processo plug-flow in continuo come il processo di pre-denitrificazione (A/O), e il processo anaerobico/anossico/ossico (A/A/O) è ancora limitato. La difficoltà è soprattutto nel mantenere i batteri AOB mentre si inibiscono i batteri NOB utilizzando le strategie di controllo dei processi tipo batch (Blackburne et al., 2008b). Di conseguenza, sforzi intensivi sono stati fatti dal gruppo di ricerca degli autori, sulla realizzazione e la manutenzione della nitritazione nel flusso continuo per il trattamento di acque reflue reali. Sia nei processi A/O che A/A/O (Ma et al., 2009; Zeng et al., 2010), è stato suggerito di mettere fuori competizione gli NOB utilizzando basse concentrazioni di ossigeno disciolto (DO) grazie alla più alta affinità con l'ossigeno degli AOB rispetto a quella degli NOB, con conseguente nitritazione. In alternativa, Peng et al. (2012) hanno ottenuto la nitritazione stabile in un reattore CSTR passando dall'avvio in modalità batch al funzionamento in continuo, e mantenendo un rapporto di DO appropriato alla velocità di carico dell'azoto. La bassa concentrazione di DO (0.4 mg/L) è stata suggerita come fattore chiave per arrivare alla nitritazione

stabile in un processo plug-flow in continuo a causa del washout degli NOB (Blackburne et al., 2008b). Tuttavia, tutti studi sopra citati che hanno applicato basse concentrazioni di DO per facilitare l'accumulo di nitriti, non sono riusciti a raggiungere elevati livelli di rimozione dell'azoto e non riuscendo a soddisfare i severi limiti allo scarico, e tutti i reattori sono stati alimentati a flusso costante. Nei nostri studi precedenti (Ge et al., 2010, 2012; Peng e Ge, 2011), è stato sviluppato un sistema UCT modificato (University of Cape Town) alimentato in discontinuo costituito da una serie di zone anossiche/aerobiche alternate che ha permesso di ottenere una migliore rimozione dell'azoto e del fosforo dalle acque reflue comunali con un basso rapporto carbonio/azoto (COD/N). Rispetto ai tradizionali processi A/O e A/A/O, questo tipo di processo potrebbe fornire una alternanza spaziale anossica/aerobica, che simula quella temporale degli SBR. Questo studio tenta di esaminare la fattibilità di condizioni anossiche/aerobiche alternate per la nitratazione in un processo UCT modificato alimentato in discontinuo, raggiungimento una contemporanea rimozione dell'azoto elevata. Una variazione periodica dell'influente verrà applicata al processo per simulare vari flussi entranti ad un impianto di trattamento (WWTP) in piena scala. Questa conoscenza ottenuta in questo studio sarà fondamentale per lo sviluppo di un nuovo approccio ingegneristico alla nitratazione per WWTP operati con processi BNR in continuo o Anammox con acque reflue a basso carico.

2. Materiali e metodi

2.1 Allestimento del bioreattore

Un bioreattore in scala pilota (Fig. 1) con un volume di lavoro di 340 L è stato fatto lavorare nel WWTP di Gaobeidian (106 m³/d) a Pechino, Cina. Il reattore rettangolare (0.50x0.60x1.25 m) era composto da due corridoi con 40 compartimenti separati da setti rimovibili, e su ciascuno di essi era collocato un tubo di collegando al vano adiacente. L'acqua reflua grezza influente è stata suddivisa in tre sezioni, ed entra nelle rispettive zone anossiche. Gli agitatori meccanici sono stati posti nelle zone anaerobiche e anossiche, e aria compressa è stata fornita nelle zone aerobiche attraverso diffusori a bolle nella parte inferiore del bioreattore. Il sedimentatore secondario di forma cilindrica (diametro 0.5 m) aveva un volume totale di 88 L.

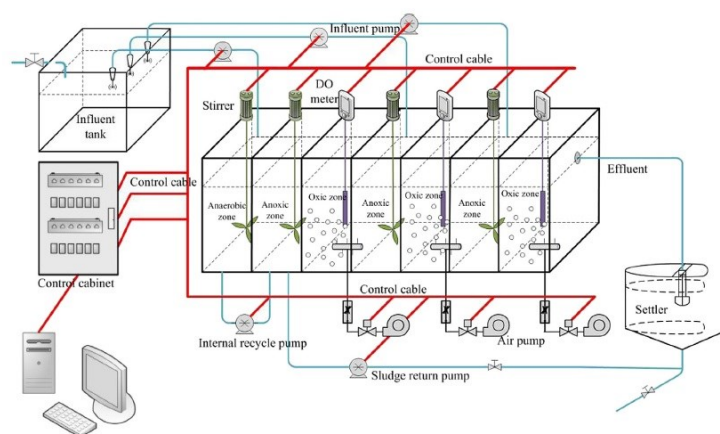


Fig. 1 – Schematic diagram of the modified UCT step feed process.

2.2 Sistema di controllo dell'influente

Per simulare le variazioni giornaliere di influente ai WWTPs, è stata utilizzata una combinazione di controller e PLC per la supervisione il controllo del sistema influente. Il PLC è stato principalmente utilizzato per controllare le portate (compresa la portata entrante, rapporto di ricircolo dei fanghi e rapporti di ricircolo interno) e DO in tutte le zone aerobiche. Il sistema di controllo dell'influente è stato impostato su una modalità di variazione periodica sinusoidale. Tutte le aliquote di afflusso sono state controllate da pompe peristaltiche collegate al sistema di controllo PLC. La sonda DO è stata installata in ogni zona aerobica per controllare i livelli di DO a un set-point preselezionato.

2.3 Condizioni operative

L'influente al bioreattore è stato preso dal sedimentatore primario dell'impianto di Gaobeidian. Le caratteristiche delle acque sono state le seguenti: pH 7.35±0.34, COD 254±116 mg/L, TN 50.3±10.4 mg/L, NH₄⁺-N 48.8±12.4 mg/L, NO₂⁻-N 0.13±0.15 mg/L, NO₃⁻-N 0.45±0.64 mg/L, PO₄³⁻-P 4.73±3.64 mg/L. I fanghi sono stati prelevati dal sedimentatore secondario dell'impianto. Gli esperimenti sono stati divisi in sei fasi con differenti condizioni operative come descritto nella Tabella 1. Fase 1 cercando di avviare la nitratazione a basse temperature. Il bioreattore è stato fatto lavorare con alimentazione discontinua (An/A/O/A/O/A/O) e carico influente costante. Nella fase 2, è stato applicato il sistema di controllo sinusoidale dell'influente all'alimentazione discontinua. Ha lavorato a temperatura elevata (20±1°C). Inoltre,

sono state studiate tre velocità di carico influente al fine di determinare la velocità ottimale di carico per la stabilità della nitrificazione (Tabella 1). Nella fase 3, a causa di problemi di intasamento non c'è stato ricircolo del fango con conseguente distruzione della nitrificazione. Nella fase 4, dopo che i problemi sono stati risolti, abbiamo cercato di ripristinare l'accumulo di nitrito con il processo An/A/O/A/O ad alimentazione discontinua e DO di 1.5-2.0 mg/L. Nella fase 5, la modalità operativa è stata convertita al processo A/A/O per verificare se la nitrificazione poteva essere mantenuta ma non è riuscita. Nell'ultima fase, dunque, la configurazione An/A/O/A/O/A/O è stata nuovamente adottata per riprendere la nitrificazione. Durante lo studio, l'SRT è stato mantenuto a ~10 giorni. L'HRT è stato di ~8 h. Il rapporto di distribuzione dell'influente per i tre stadi è stato fissato a 40%:30%:30%. I TSS e VSS medi nel reattore erano rispettivamente di 5450 ± 750 mg/L e 3985 ± 490 mg/L.

2.4 Esperimenti per studiare i tipi di nitrificazione con differenti condizioni di aerazione

Sono stati condotti test batch per studiare l'influenza delle modalità operative sui tipi di nitrificazione. Due tipi di modalità sono state progettate per ogni prova: una è stata continuamente aerata per 60 minuti mentre l'altro test è stato aerato a intermittenza, secondo il modello: miscelazione anossica (10 min), aerazione (20 min), miscelazione anossica (10 min) e aerazione (20 minuti). Il fango è stato prelevato dal sedimentatore secondario del bioreattore originale durante le diverse fasi sperimentali. Per ciascuna modalità il fango è stato centrifugato (10.000 giri/min) per 15 minuti, lavato tre volte con acqua deionizzata, quindi in modo uniforme suddiviso in sei becker (250 ml). La concentrazione iniziale è stata mantenuta a ~25.0 mg/L senza aggiunta di reagenti esterni. Gli MLSS iniziali sono stati controllati a 3250 ± 130 mg/L. Il pH iniziale è stato regolato a 7.50 ± 0.05 con NaOH 1N e HCl 1N. L'aerazione è stata mantenuta a una concentrazione di DO pari a 1.5-2.5 mg/L. Tutti i test sono realizzati in triplice.

Phase	Days	Reactor configuration	Influent pattern	Loading rate (L/d)	DO (mg/l)	Influent points and mode
1	1–50	An/A/O/A/O/A/O ^a	Constant	1020	0.3–0.7	3, step feed
2	51–135	An/A/O/A/O/A/O	Sinusoidal variation	680–816 (51–66d) 742–908 (67–80d) 816–1020 (80–135d)	0.3–0.7(51–75d) 1.5–2.0(75–135d)	3, step feed;
3	136–146	An/A/O/A/O/A/O	Sinusoidal variation	816–1020	1.5–2.0	3, sludge return pump failure
4	147–237	An/A/O/A/O/A/O	Sinusoidal variation	816–1020	1.5–2.0	3, step feed
5	238–254	An/A/O	Constant	1020	1.5–2.0	1, one feed
6	255–345	An/A/O/A/O/A/O	Sinusoidal variation	816–1020	1.5–2.0	3, step feed

^a The abbreviation of An, A and O denotes anaerobic, anoxic and oxic zone, respectively.

4. Discussione

4.1 Stimolazione degli AOB e inibizione degli NOB sotto condizioni anossiche/ossiche alternate

Il fatto che l'accumulo di $\text{NO}_2\text{-N}$ è stato distrutto nella fase 5 e recuperato con successo in fase 6 ha dimostrato che il tipo di nitrificazione (An/A/O/A/O/A/O o An/A/O) potrebbe essere selezionata come condizione operativa. Altre evidenze tratte dai test batch sono servite a sostenere la nostra ipotesi. Il NAP (nitrite accumulation percentage) superiore è stato osservato con aerazione intermittente rispetto alla condizione di aerazione continua in ciascuna fase. Questo ha suggerito che l'alternanza anossica e aerobica potrebbe essere una forza trainante per le reazioni via nitrito nel processo di nitrificazione. In precedenza, la strategia di aerazione intermittente è stata considerata efficace nel raggiungimento della nitrificazione in un bioreattore a membrana (Yang e Yang, 2011) e SBR (Li et al., 2011, 2008). Ovviamente gli AOB sono aumentati e gli NOB diminuiti durante l'esposizione alle condizioni anossiche; un graduale recupero c'è stato quando sono stati esposti a successive condizioni aerobiche (Fig. 3). A quanto pare, l'attività metabolica degli AOB è stata migliorata nel breve termine in ambiente anossico. Come riportato (Gerards et al., 1998; Tappe et al., 1999), *Nitrosomonas europaea* hanno recuperato prima dei *Nitrobacter* con il passaggio alle condizioni aerobiche, a causa della loro differente domanda di energia per il mantenimento e le dinamiche di recupero da condizioni di mancanza di substrato; inoltre, l'ossidazione dell'ammoniaca e idrossilammina erano più efficaci a causa dell'aumento nelle concentrazioni di mRNA di *amoA* e *hao* sotto la limitazione di DO (Yu e Chandran, 2010). Vale la pena notare che gli NOB sarebbero inibiti a causa della disattivazione di un enzima critico, presentando un ridotto tasso di crescita a seguito di disturbi anossici, e che l'effetto d'inibizione era risultato proporzionale alla durata del disturbo anossico (Bournazou et al., 2013; Kornaros et al., 2010). Inoltre, Yang e Yang (2011) hanno scoperto che, a causa di una mancanza di aumento nel tasso di crescita degli NOB, l'attività degli NOB è stata seriamente inibita quando esposta a condizioni anossiche sotto aerazione intermittente, in contrasto con il tasso di crescita in aerazione continua. Allo stesso modo, i tassi di decadimento degli AOB sono stati inferiori a quelli degli NOB quando esposti a condizioni anossiche (Salem et al., 2006). Nel breve termine il disturbo anossico dalle condizioni aerobiche ha creato la rispettiva stimolazione degli AOB e inibizione degli NOB.

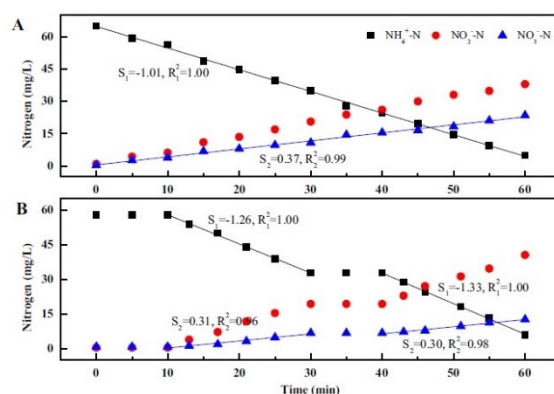


Fig. 3 – Nitrification characteristics under the: (A) continuous aeration (B) intermittent aeration in a typical phase.

4.2 Le tempistiche di denitrificazione e la strategia di alimentazione discontinua è importante per mantenere la nitrificazione stabile

La strategia di alimentazione è stata trovata essere un altro importante fattore per la rimozione dell'azoto via nitrato. L'influenza totale è stato ripartito in tre zone anossiche. Questa strategia ha garantito che la produzione di $\text{NO}_2^-\text{-N}$ e $\text{NO}_3^-\text{-N}$ nella zona aerobica precedente poteva essere tempestivamente denitrificata a N_2 utilizzando le fonti di carbonio influenti. L'avanzata denitrificazione evitava il verificarsi di ulteriori ossidazioni di $\text{NO}_2^-\text{-N}$ a $\text{NO}_3^-\text{-N}$. Analogamente, Peng et al. (2003) hanno rilevato che nel processo A/O, se la denitrificazione non è eseguita bene, con $\text{NO}_2^-\text{-N}$ presente nella parte finale della zona anossica, la nitrificazione sarebbe promossa mentre la nitrificazione tradizionale inibita. Pertanto, la denitrificazione completa o meno potrebbe influenzare il percorso di nitrificazione. Inoltre, la graduale riduzione della fornitura energetica è stata la ragione principale per l'eliminazione degli NOB a causa dell'alimentazione discontinua e del controllo del tempo di aerazione in un reattore SBR (Lemaire et al., 2008). Inoltre, in ogni zona anossica, l'aumento del pH, la generazione di alcalinità e il consumo di COD dopo la denitrificazione ha sostenuto con successo la nitrificazione nel comparto aerobico successivo (dati non mostrati) (Dytczak et al., 2008).

5. Conclusioni

La condizione anossica/aerobica alternata è stata dimostrata essere una soluzione adatta per la nitrificazione parziale in un processo BNR continuo con alimentazione discontinua per il trattamento di acque reflue urbane a basso carico. Utilizzando acque reflue reali e modificando continuamente il flusso influente, questo studio ha dimostrato risultati solidi sull'applicabilità di questa strategia di controllo per la nitrificazione nei WWTPs con processi BNR in continuo e consentito una possibile connessione con il processo Anammox. Le seguenti conclusioni sono state fatte:

- Il sistema pilota è stato fatto funzionare in continuo per 345 giorni. $81.5 \pm 9.2\%$ di accumulo di nitriti è stato raggiunto a temperatura mite ($16\text{-}28^\circ\text{C}$). Contemporaneamente, senza aggiunte chimiche, 7.2 ± 2.3 mg/L di TN nell'effluente ha soddisfatto il requisito del primo livello di standard di scarico per le acque reflue in Cina.
- L'accumulo di nitrito dipende notevolmente dal carico di azoto influente che è stato sottoposto periodicamente a variazione sinusoidale da un ciclo di 24 h. La portata influente ottimale a 816-1020 L/d è stato riconosciuta per il nitrito dominante invece del nitrato in ciascuna zona aerobica e nell'effluente.
- Il completo e stabile washout degli NOB dal sistema stato raggiunto grazie alla stimolazione degli AOB e all'inibizione degli NOB durante i disturbi anossici, sotto l'alternanza di condizioni anossico/aerobiche.
- Un appropriato HRT anossico e aerobico è stato adottato per massimizzare la differenza tra i tassi di crescita di AOB e NOB, con vantaggioso washout degli NOB. Inoltre, la rapida denitrificazione nella zona anossica in ogni fase ha beneficiato in modo significativo al mantenimento della nitrificazione, fornendo disponibilità di ulteriore ossidazione del nitrito a nitrato quando questo era drasticamente diminuito.

2.6. Emissioni gassose

The effect of dissolved oxygen on N₂O production by ammonia-oxidizing bacteria in an enriched nitrifying sludge.

Lai Peng, Bing-Jie Ni, Dirk Erler, Liu Ye, Zhiguo Yuan.

Water Research (2014), 66 12-21.

<https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.08.009>

Abstract

L'ossigeno disciolto (DO) è comunemente riconosciuto come un fattore importante che influenza la produzione di ossido di diazoto (N₂O) da parte dei batteri ossidanti l'ammoniaca (AOB). Tuttavia, è stato difficile separare il vero effetto di DO da quello del nitrito, poiché la variazione di ossigeno disciolto spesso crea un accumulo di nitriti. In questo studio è stato indagato l'effetto di DO sulla produzione di N₂O in un fango arricchito, costituito sia dagli AOB che dai batteri ossidanti i nitriti (NOB). L'accumulo di nitriti è stato minimizzato mediante l'aggiunta di un fango arricchito di NOB. È stato dimostrato che la velocità di produzione specifica del N₂O è aumentata da 0 a 1.9 mgN₂O-N/h/gVSS con l'aumento di DO da 0 a 3.0 mgO₂/L, mentre il fattore di emissione del N₂O (rapporto tra l'azoto del protossido emesso e l'azoto ammoniacale ossidato) è sceso dal 10.6% (a DO=0.2 mgO₂/L) al 2.4% (a DO=3.0 mgO₂/L). In corrispondenza dell'aumento di DO da 0.2 a 3.0 mgO₂/L, il contributo nella produzione di protossido da parte della denitrificazione degli AOB è diminuito dal 92-95% al 66-73%, mentre si è verificato un corrispondente aumento del contributo da parte del percorso d'ossidazione dell'idrossilammina (NH₂OH).

2. Materiali e metodi

2.1 Funzionamento del reattore e arricchimento delle colture

Due reattori batch sequenziali in scala di laboratorio (SBR) sono stati fatti funzionare a temperatura ambiente (22.0-23.0°C) con inoculo di fango proveniente da un impianto di depurazione a Brisbane, in Australia. Uno è stato alimentato con ammoniaca con l'obiettivo di ottenere una coltura arricchita di AOB e di NOB, e l'altro con nitrito per ottenere una coltura arricchita di soli NOB. Entrambi i reattori avevano volume di lavoro di 8 L, e sono stati utilizzati per un tempo di ciclo di 6 ore, suddiviso nelle seguenti fasi: 260 minuti di alimentazione aerobica, 20 minuti di aerazione, 1 minuto di spurgo, 60 minuti di sedimentazione e 19 minuti di decantazione. Durante ogni ciclo, 2 litri di acqua reflua sintetica (la composizione è descritta di seguito) sono stati alimentati ai reattori, ottenendo un tempo di ritenzione idraulica (HRT) di 24 ore. Durante le fasi di alimentazione e di aerazione è stata fornita aria compressa ai reattori. In entrambi i reattori il DO è stato continuamente monitorato online utilizzando una sonda miniCHEM-DO2 e controllato tra 2.5 e 3.0 mgO₂/L grazie ad un controller a logica programmata (PLC). Il pH nei due reattori è stato misurato con sonda miniCHEM-pH; non è stato controllato ma è rimasto stabile nell'intervallo tra 7.0 e 7.3. Il tempo di ritenzione del fango (SRT) è stato mantenuto a 15 giorni per entrambi i reattori spurgando 130 ml di fango in 1 minuto. Le acque reflue sintetiche per la coltura di AOB e di NOB erano così composte (per litro) (adattato da Kuai e Verstraete (1998)): 5.63 g di NH₄HCO₃ (1 gNH₄-N), 5.99 g di NaHCO₃, 0.064 g ciascuno di KH₂PO₄ e K₂HPO₄ e 2 ml di una soluzione nutritiva contenente: 1.25 g/L di EDTA, 0.55 g/L ZnSO₄·7H₂O, 0.40 g/l CoCl₂·6H₂O, 1.275 g/l MnCl₂·4H₂O, 0.40 g/l CuSO₄·5H₂O, 0.05 g/l Na₂MoO₄·2H₂O, 1.375 g/l CaCl₂·2H₂O, 1.25 g/l FeCl₃·6H₂O e 44.4 g/l MgSO₄·7H₂O. Le acque reflue sintetiche per la coltura degli NOB erano così composte (per litro) (adattato da Kuai e Verstraete (1998)): 4.93 g di NaNO₂ (1 gNO₂⁻-N), 0.4 g di NaHCO₃, 1 g ciascuno di KH₂PO₄ e K₂HPO₄ e 2 ml di una soluzione madre contenente oligoelementi, come descritto sopra.

2.2 Prove sperimentali

Otto gruppi di prove batch sono state effettuate; le principali condizioni sperimentali sono riassunte nella Tabella 2. Tutti i test sono stati eseguiti in triplice. Prima di ogni prova 50 ml di campione di mixed liquor sono stati prelevati dal reattore per determinare la concentrazione di solidi sospesi (MLSS) e la sua frazione volatile (MLVSS) (tutti in triplice copia). Tutte le prove batch sono state effettuate a temperatura ambiente (22.0–23.0°C) e il DO e il pH sono stati costantemente monitorati online utilizzando rispettivamente un sensore miniCHEM-DO2 e un miniCHEM-pH. Il pH è stato mantenuto a 7.5 con un PLC dosando NaHCO₃ (1M) o HCl (1M). In tutte le prove, l'ossigeno disciolto è stato regolato manualmente a livello desiderato (Tabella 2) con una miscela di gas di N₂ e aria. I flussi d'aria e di azoto gas sono stati adeguati utilizzando due controllori di flusso di massa (Smart-Trak 50 serie- 1 L/min e 5 L/min, Sierra). La portata complessiva è stata controllata costantemente a 0.5 L/min. Per ogni cambiamento nella concentrazione di DO, la variazione della portata d'aria è stata compensata da una variazione equivalente della portata di N₂.

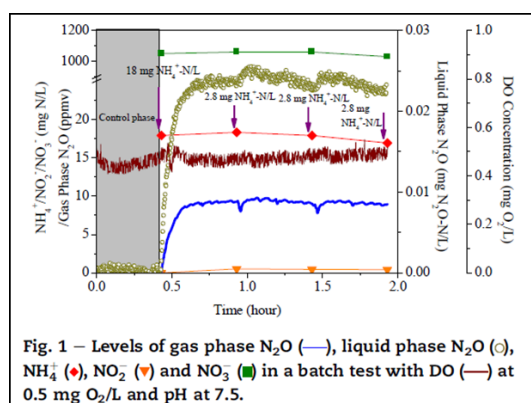
Table 2 – Experimental conditions applied in the batch tests.			
Test series	pH	Ammonium (mg N/L)	DO (mg O ₂ /L)
I	7.5	18 ± 2	3.0
II	7.5	18 ± 2	2.5
III	7.5	18 ± 2	2.0
IV	7.5	18 ± 2	1.5
V	7.5	18 ± 2	1.0
VI	7.5	18 ± 2	0.5
VII	7.5	18 ± 2	0.2
VIII	7.5	18 ± 2	0

Ogni prova consisteva in due fasi, una di controllo e una sperimentale. Nella fase di controllo della durata di 20 minuti, non è stata aggiunta NH_4^+ e quindi la produzione di N_2O può essere attribuita all'attività degli eterotrofi. Nella successiva fase di sperimentazione, della durata di 90 minuti, la concentrazione di ammoniaca in tutte le prove è stata controllata a $18 \pm 2 \text{ mgNH}_4^+ \text{-N/L}$ con l'aggiunta di una soluzione standard composta da 33.8 g/L di NH_4HCO_3 e 36 g/L di NaHCO_3 ad intervalli di 15 e 30 minuti.

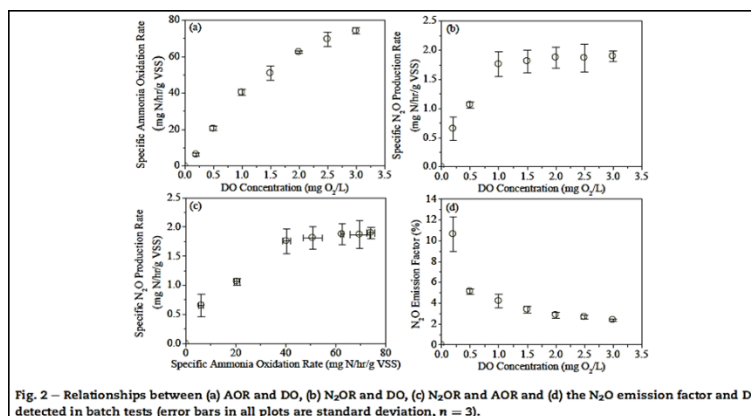
3. Risultati

3.1 Produzione di N_2O nelle prove batch

Come esempio, la Fig. 1 mostra i profili di N_2O disciolto ed in fase gassosa insieme ai profili di DO, NH_4^+ , NO_2^- ed NO_3^- di una prova batch con DO a 0.5 mgO_2/L . Gli andamenti di tutte queste variabili in tutti gli altri test hanno mostrato tendenze molto simili. Durante la fase di controllo di 20 minuti senza aggiunta di NH_4^+ , le concentrazioni di N_2O in entrambe le fasi (liquida e gassosa) sono rimaste costanti a zero, che indica l'inesistente produzione di N_2O da denitrificazione eterotrofica, probabilmente a causa della mancanza di fonti di carbonio facilmente degradabili. Dopo l'aggiunta di NH_4^+ , le concentrazioni di N_2O sia disciolto che gassoso sono nettamente aumentate fino a stabilizzarsi entro 10 minuti. La concentrazione di ammoniaca è stata mantenuta relativamente costante a 18 mgN/L grazie ad aggiunte periodiche. La concentrazione di NO_2^- è stata di circa 0.5 mgN/L durante l'intera prova. La concentrazione di NO_3^- è stata di circa 1000 mgN/L , un livello che è stato osservato anche nei reattori madri.



In questo test l'AOR (19.3 mgN/h/gVSS) è stata determinata dal profilo dell' NH_4^+ e dalla quantità aggiunta, mentre il fattore di emissione dell' N_2O è stato calcolato essere 5.4%. Nelle altre prove batch, con l'aumento della concentrazione di DO da 0 a 3.0 mgO_2/L , l'AOR è aumentata da 0 a 74 mgN/h/gVSS (Fig. 2a), mentre il suo tasso di crescita è diminuito. Il N_2OR è aumentato rapidamente con l'aumentare della concentrazione di DO da 0 a 1.0 mgO_2/L , ma si è stabilizzato a circa 1.9 mgN/h/gVSS tra le concentrazioni di 1.0 e 3.0 mgO_2/L (Fig. 2b). La correlazione tra la velocità di produzione dell' N_2O (N_2OR) e la velocità di ossidazione dell'ammoniaca (AOR) è stata positiva quando l'AOR è stata inferiore a 40 mgN/h/gVSS , oltre la quale l' N_2OR è diventata indipendente da essa (Fig. 2c). Al contrario, è stata rilevata una correlazione negativa tra il fattore di emissione dell' N_2O e la concentrazione di DO (Fig. 2d).



Conclusioni

In questo lavoro, è stato studiato l'effetto del DO sulla produzione di N_2O sotto la condizione di basso accumulo di nitriti ($<1,5 \text{ mgNO}_2^- \text{-N/L}$). Le principali conclusioni sono le seguenti:

- 1) La velocità di produzione di N_2O è cresciuta con l'aumento della concentrazione di DO nel range di studio 0–3.0 mgO_2/l , mentre il fattore di emissione dell' N_2O è sostanzialmente diminuito con l'aumento di DO;
- 2) Le osservazioni sperimentali sono state ben descritte dai due percorsi di produzione del protossido considerati: la denitrificazione da parte degli AOB e l'ossidazione dell' NH_2OH ;
- 3) Entrambi i percorsi di produzione dell' N_2O hanno contribuito alla formazione di protossido d'azoto, in misura differente: tra il 66% e il 95% il primo e tra il 5% e il 34% il secondo.

The effect of pH on N_2O production under aerobic conditions in a partial nitrification system.

Yingyu Law, Paul Lant, Zhiguo Yuan.

Water Research (2011), 45, 5934-5944.

<https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.08.055>

Abstract

I batteri che ossidano l'ammoniaca (AOB) sono una delle principali cause di produzione del protossido (N_2O) durante la trasformazione dell'azoto. La generazione di questo gas è stata monitorata in un sistema SBR a nitrificazione parziale operato alla scala di laboratorio, sia in condizioni anossiche che aerobiche. Il pH ha dimostrato di avere un maggiore impatto sulla velocità di produzione dell' N_2O rispetto ad una coltura arricchita di AOB. Si è investigato in un range di pH compreso tra 6.0 e 8.5: la produzione specifica di N_2O è stata la più bassa tra pH 6.0 e 7.0 ad una velocità di 0.15 $\text{mgN}_2\text{O-N/h/gVSS}$, ma è aumentata con il pH fino ad un massimo di 0.53 $\text{mgN}_2\text{O-N/h/gVSS}$ a pH 8.0. La stessa tendenza è stata osservata anche per la velocità specifica di ossidazione dell'ammoniaca (AOR) con l'AOR massimo raggiunto a pH 8.0. È stata osservata una relazione lineare tra la velocità di produzione del protossido e l'AOR: questo suggerisce che l'aumento dell'attività dell'ossidazione dell'ammoniaca può aver promosso la produzione di N_2O . La velocità di produzione dell' N_2O è stata costante a concentrazioni variabili di ammoniaca libera (FA) e di acido nitroso libero (FNA), rispettivamente tra 5 e 78 $\text{mgNH}_3\text{-N/L}$ e tra 0.15 e 4.6 $\text{mgHNO}_2\text{-N/L}$, indicando che l'effetto del pH considerato non era a causa di cambiamenti nelle concentrazioni di FA o di FNA.

1. Introduzione

L'obiettivo di questo studio è di valutare l'effetto del pH sulla produzione di N_2O in un SBR operato a nitrificazione via nitrito sotto condizioni variabili di pH. L' N_2O e il pH sono stati monitorati durante il normale funzionamento del reattore per stabilire il fattore di emissione e per valutare un'associazione tra le emissioni di N_2O e le variazioni di pH. Sono state effettuate prove batch per rilevare gli effetti di pH, FA e FNA sulla produzione di protossido di azoto.

2. Materiali e metodi

2.1 Funzionamento del reattore SBR

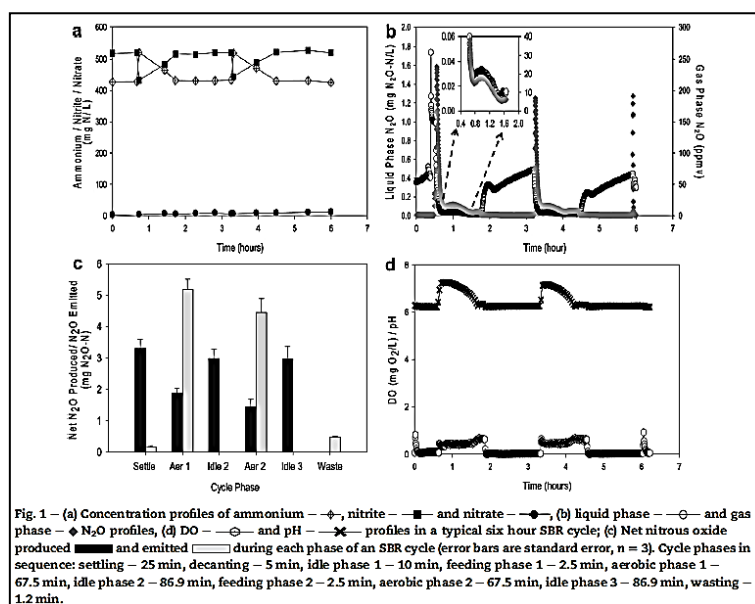
Un SBR è stato utilizzato per selezionare una coltura di AOB per eseguire una nitrificazione parziale. Come inoculo è stato preso il fango di ricircolo da un impianto di depurazione a Brisbane, in Australia. Il reattore aveva un volume di lavoro di 8 L. La temperatura del mixed liquor è stata mantenuta a 32-34°C utilizzando una camicia ad acqua, imitando quella tipica di un digestore anaerobico. L'SBR è stato operato in cicli identici di 6 ore. Il ciclo comprendeva le 10 fasi seguenti: 25 minuti di sedimentazione, 5 minuti decantazione, 10 minuti di inattività (I), 2.5 minuti alimentazione aerobica (I), 67.5

minuti di reazione aerobica (I), 86.9 minuti di inattività (II), 2.5 minuti di alimentazione aerobica (II), 67.5 minuti di reazione aerobica (II), 86.9 minuti di inattività (III) e 1.2 minuti di svuotamento. L'alimentazione è avvenuta con 1 L di acque reflue sintetiche, la cui caratterizzazione è descritta in seguito. Ciò ha determinato un tempo di ritenzione idraulico (HRT) di 1 giorno. In tutte le fasi, escluse la sedimentazione e la decantazione, il reattore è stato mescolato con un agitatore magnetico a 200 giri al minuto (rpm). Durante le fasi di alimentazione e di reazione aerobica, è stata insufflata una portata d'aria costante di 2.5 L/min, fornendo concentrazioni di DO variabili tra 0.5 e 0.8 mgO₂/L. Sono stati spurgati 100 mL di mixed liquor per ciclo dando luogo ad un'età del fango (SRT) di 20 giorni. L'SBR è stato alimentato con acque reflue sintetiche con caratteristiche tipiche di un digestore anaerobico. Il carico di azoto giornaliero è stato di 8 kgN/m³/giorno. La composizione delle acque reflue è stata ottenuta modificando Kuai e Verstraete (1998). L'alimentazione aveva un pH di circa 8 e un rapporto molare ammoniaca/bicarbonato di 1:1. Per questo motivo, il pH è aumentato a 7.4 dopo l'alimentazione per poi scendere a circa 6.4 quando è terminata l'ossidazione dell'ammoniaca. L'ossigeno disciolto e il pH nel reattore sono stati costantemente monitorati online utilizzando un miniCHEM-DO2 e un pH-metro. Inoltre, gli studi dei cicli sono stati effettuati misurando regolarmente le concentrazioni di ammoniaca, nitrati e nitriti durante tutte le 6 ore con un intervallo di campionamento di 15-30 min. La concentrazione degli MLSS e la sua frazione volatile (MLVSS) sono stati analizzati una volta alla settimana.

3. Risultati

3.1 Prestazione del reattore ed emissioni di N₂O

Il funzionamento stabile del reattore SBR è stato raggiunto 3 mesi dopo l'avviamento. Le concentrazioni di ammoniaca e nitriti sono stati mantenute rispettivamente a 400-500 mgNH₄⁺-N/L e 500-600 mgNO₂⁻-N/L, alla fine di ogni ciclo. La concentrazione di nitrati è stata sempre inferiore a 10 mgNO₃⁻-N/L, che indica una minima attività degli NOB. La Fig. 1(a) mostra i tipici profili delle concentrazioni di ammoniaca, nitriti e nitrati durante il ciclo. Caratterizzazione della composizione della biomassa utilizzando il test FISH ha rilevato che l'81% circa della la popolazione batterica era composta da AOB; infatti tutte le sonde applicate per gli NOB non hanno dato alcun segnale.



La Fig. 1(b) mostra che l'N₂O è stato prodotto durante entrambi le fasi, aerate e non. Il DO è stato completamente esaurito all'inizio delle fasi anossiche con un accumulo immediato di protossido in fase liquida. Tuttavia, il trasferimento di N₂O da liquido a gas è stato minimo a causa della mancanza di aerazione. Il protossido disciolto è stato strappato durante la successiva fase aerobica come dimostrano i picchi di N₂O (fino a 250 ppmv) in fase gas all'inizio di ogni fase aerobica. Dal bilancio di massa si è calcolato che l'N₂O accumulato durante le fasi anossiche ha contribuito a circa il 94% del N₂O totale emesso durante i primi 15 minuti delle fasi aerate. Contrariamente alle fasi non aerate, il protossido prodotto durante le fasi aerobiche è stato simultaneamente strappato, comportando un livello continuo di N₂O misurato (4-20 ppmv) in fase gas (Fig. 1b). La Fig. 1(c) mostra la quantità di ossido nitroso emesso durante ciascuna delle sei fasi (le fasi di alimentazione sono state fuse con le corrispondenti fasi aerobiche). Mentre la maggior parte del trasferimento è avvenuto durante le fasi aerobiche, la sedimentazione e le fasi inattive hanno contribuito al 70% dell'emissione netta, mentre il restante 30% è stato ottenuto dalla produzione nelle fasi aerobiche. La Fig. 1(d) mostra i profili di DO e di pH durante il ciclo. Nelle fasi aerobiche l'ossigeno disciolto è variato tra 0.5 e 0.8 mgO₂/L. Mentre il pH ha subito un forte aumento (6.4-7.4) dopo il periodo di alimentazione, ed è diminuito a circa 6.4 a seguito dell'ossidazione dell'ammoniaca a nitrito

(Fig. 1a). Tale tendenza di variazione del pH (Fig. 1d) ha coinciso con un aumento della produzione di N_2O all'inizio della fase aerobica che è poi gradualmente diminuita verso la fine della fase (Fig. 1b).

3.2 Effetto del pH sulla produzione di N_2O

È stato selezionato un range di pH tra 6.0 e 8.5 per investigare, attraverso prove batch, il suo effetto sulla velocità di produzione dell' N_2O da parte della coltura degli AOB. In ciascuna prova batch prima di iniziare il test è stato effettuato un periodo di controllo (pH 7.0) come mostrato in Fig. 2(a). La velocità di produzione del protossido durante i periodi di controllo in tutti i test è stata coerente con una media di $0.16 \text{ mgN}_2\text{O-N/h/gVSS}$. La variazione di pH durante il periodo di prova ha innescato una risposta immediata nella velocità di produzione dell' N_2O , ottenendo una nuova concentrazione costante entro un breve periodo di tempo (3minuti) (Fig. 2a). La velocità di produzione dell' N_2O più alta è stata registrata a pH 8.0 con un aumento di 3.5 volte ($0.53 \text{ mgN}_2\text{O-N/h/gVSS}$). Tuttavia, c'è stata una diminuzione della velocità di produzione quando il pH è stato ulteriormente aumentato a 8.5. Al contrario, una diminuzione di pH a 6.5 o 6.0 non ha modificato la velocità di produzione di N_2O (Fig. 2b). Per studiare la reversibilità dell'effetto del pH, sono state effettuate prove batch in cui il pH è stato regolato a 7.0 dopo l'esposizione al pH testato. Come dimostrato nel caso di pH 8.0, l'emissione di N_2O è aumentata istantaneamente quando il pH è stato aumentato, fino a raggiungere un valore costante. Il ripristino a pH 7.0 ha provocato un immediato calo di N_2O alla linea di base (Fig. 2c). Tendenze simili sono state osservate quando il pH è stato regolato a 8.5, 7.5, 6.5 e 6.0. Inoltre, è stato anche testato l'effetto di un aumento progressivo di pH sulla produzione dell' N_2O . Quando il pH è stato aumentato da 7.0 a 7.5 e poi a 8.0, la concentrazione in fase gas di protossido è aumentata in maniera proporzionale da 1.4 a 4.9 e poi a 7.0 ppmv (Fig. 2d). Tuttavia la concentrazione di N_2O è scesa a 2.3 ppmv quando il pH è stato ulteriormente aumentato a 8.5. Le velocità di produzione dell' N_2O determinate ad ogni pH testato (Fig. 2d) sono state molto simili a quelle nelle prove batch a pH individuale (Fig. 2b).

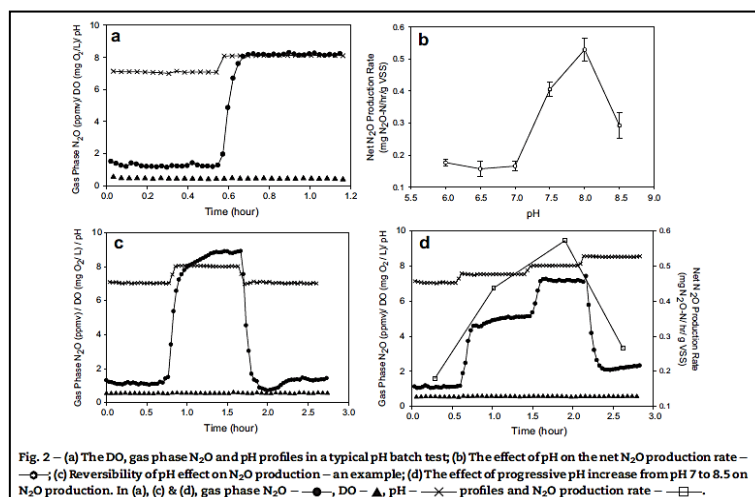


Fig. 2 – (a) The DO, gas phase N_2O and pH profiles in a typical pH batch test; (b) The effect of pH on the net N_2O production rate – $\bullet$; (c) Reversibility of pH effect on N_2O production – an example; (d) The effect of progressive pH increase from pH 7 to 8.5 on N_2O production. In (a), (c) & (d), gas phase N_2O – $\bullet$, DO – $\blacktriangle$, pH – $\times$ – profiles and N_2O production rate – $\square$.

3.3 Effetti di FA e FNA sulla produzione di N_2O

Sebbene il pH era l'unico parametro modificato durante le prove, esso coinvolge direttamente le concentrazioni di FNA e di FA, dato che hanno un rapporto esponenziale con il pH. In aggiunta, le concentrazioni di FA e di FNA nell'SBR variavano rispettivamente tra 1.1 e 13.4 $\text{mgNH}_3\text{-N/L}$ e tra 0.04 e 0.4 $\text{mgHNO}_2\text{-N/L}$. Per distinguere l'effetto del pH dagli effetti potenziali dell'FA e dell'FNA, la coltura di AOB è stata esposta ad una serie di concentrazioni variabili di FA e di FNA con valori di pH controllati. A pH 7.0 e a pH 7.5, la velocità di produzione di protossido è stata relativamente costante (circa $0.17 \text{ mgN}_2\text{O-N/h/gVSS}$ e circa $0.42 \text{ mgN}_2\text{O-N/h/gVSS}$) nonostante la variazione della concentrazione di FA, rispettivamente da 4.5 a 39.5 $\text{mgNH}_3\text{-N/L}$ e tra i 15 e i 77 $\text{mgNH}_3\text{-N/L}$.

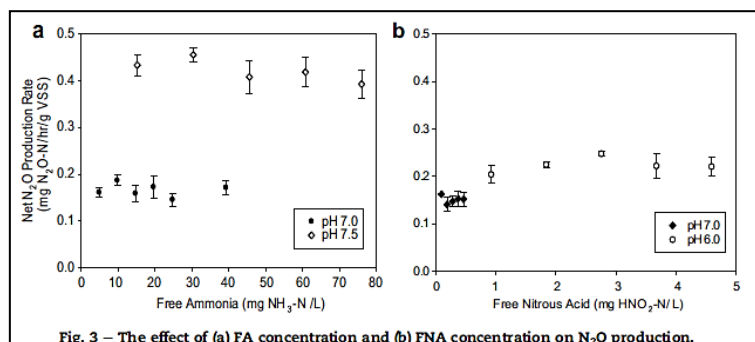


Fig. 3 – The effect of (a) FA concentration and (b) FNA concentration on N_2O production.

La Fig. 3(a), inoltre, mostra che le velocità di produzione dell' N_2O sono costantemente superiori a pH 7.5 rispetto a pH 7.0, a tutte le concentrazioni di FA testate. Questi risultati hanno dimostrato che i cambiamenti nella produzione di N_2O in risposta alle variazioni di pH non sono stati causati da cambiamenti nella concentrazione di FA. Osservazioni simili sono state fatte con diverse concentrazioni di FNA (Fig. 3b). Tuttavia, i risultati presentati in Fig. 3b possono dimostrare che l'FNA ha avuto un improbabile effetto sulla produzione di N_2O da parte degli AOB.

4. Conclusioni

Il pH ha dimostrato di essere un fattore importante per la produzione di N_2O dalla coltura di AOB in condizioni aerobiche. La produzione di protossido è variata in modo significativo, in risposta alla variazione di pH tra 6.0 e 8.5, con una produzione minima tra pH 6.0 e 7.0 e massima a pH 8.0. Tale effetto non è stato legato alle corrispondenti variazioni delle concentrazioni di FA e di FNA. È stata osservata una relazione lineare tra la velocità di produzione del protossido d'azoto e la velocità di ossidazione dell'ammoniaca nel range di pH 6.0-8.5. Questo indica che i pH testati hanno provocato un aumento della produzione di N_2O promuovendo l'ossidazione dell'ammoniaca da parte degli AOB. Nonostante le elevate velocità di conversione dell'ammoniaca a nitrito e la costante esposizione a concentrazioni relativamente elevate di ammoniaca e nitriti, il fattore di emissione del protossido nel sistema SBR sperimentato è risultato essere paragonabile ad un normale impianto di depurazione biologica dell'azoto. Infine, adottare una strategia di lenta alimentazione nel reattore principale per controllare il pH all'interno della finestra di 6.0-7.0 ha dimostrato di ridurre di un fattore 4 la produzione di N_2O durante le fasi aerobiche.

N_2O emission from nitrogen removal via nitrite in oxic-anoxic granular sludge sequencing batch reactor.

Hong Liang, Jiaoling Yang, Dawen Gao.

Journal of Environmental Sciences (2014), 26 (3), 537-541.

[https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(13\)60449-0](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(13)60449-0)

Abstract

La nitrificazione biologica è considerata una potenziale fonte di emissioni di protossido di azoto (N_2O), le quali sono un sottoprodotto durante il processo di rimozione dell'azoto. Per studiare la produzione di N_2O durante il processo di rimozione dell'azoto via nitrito, è stato studiato un fango granulare inserito in un reattore batch sequenziale (SBR) alla scala di laboratorio, controllato in tempo reale. La produzione totale di protossido d'azoto durante i processi di nitrificazione e denitrificazione è stata, rispettivamente, di 1.724 mg/l e 0.125 mg/l; si è così dimostrato che N_2O viene prodotto durante entrambi i processi, con la fase di nitrificazione a generarne una quantità maggiore.

1. Materiali e metodi

1.4 Metodi analitici

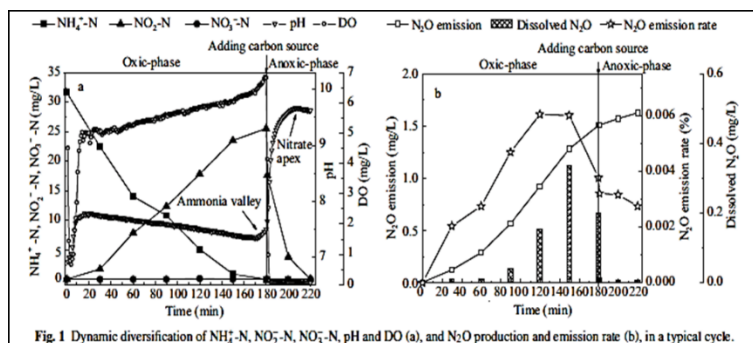
Durante il processo di rimozione dell'azoto, l'ossigeno disciolto (DO) e il pH sono stati monitorati ogni minuto e registrati dalle sonde inserite (WTW 340i, WTW Company, Germania). Le concentrazioni degli ioni contenenti azoto ($\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ e $\text{NO}_3^-\text{-N}$), del COD e degli MLSS sono stati misurati secondo i metodi standard (APHA 2005). La quantità totale di N_2O prodotto consiste nella somma della quantità emessa dal sistema (N_2O emesso) e della quantità di protossido disciolto in soluzione (N_2O disciolto). I campioni di N_2O emessi sono stati raccolti in testa al reattore SBR tramite una siringa da 100 microlitri, ad intervalli di 1 ora durante la fase aerobica e di 20 minuti durante la fase anossica. Questi campioni sono stati poi iniettati in un'unità GC (Shimadzu 2010) per effettuare le analisi. L'unità GC è stata installata con un rivelatore a cattura di elettroni (ECD), una colonna Porapak Q (30 m $\times$ 0,53 millimetri $\times$ 20 micron) e con azoto ad elevata purezza come gas di trasporto. Le temperature dell'iniettore, del rivelatore e della colonna sono rispettivamente 150, 300 e 70°C. Tutti i campioni sono stati analizzati in triplice. I campioni di N_2O disciolti sono stati ottenuti simultaneamente con i campioni emessi durante le fasi aerobiche ed anossiche. Il protossido d'azoto disciolto è stato misurato secondo il metodo *headspace*, descritto da Shiskowski (2007). Le concentrazioni delle emissioni di N_2O (sia dalla fase aerobica che anossica) sono state determinate secondo il metodo Kimochi et al. (1998). Il tasso di emissioni di N_2O è stato calcolato secondo Liu et al. (2008).

2. Risultati e discussione

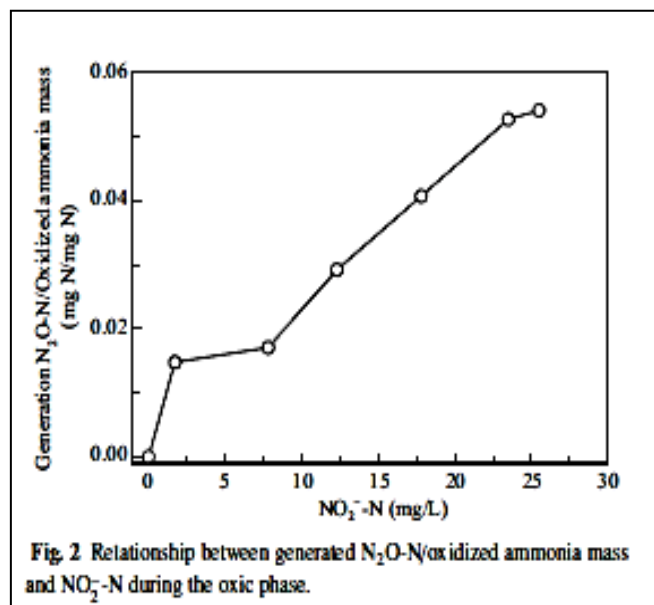
2.1 Produzione di N_2O durante la rimozione dell'azoto via nitrito

L'esperimento è stato condotto utilizzando un reattore SBR in modalità operativa ossico-anossico. In un ciclo tipico, la produzione totale di N_2O è stata di 1.724 mg/L durante la fase ossica di nitrificazione, contro gli 0.125 mg/L di N_2O prodotti durante la fase anossica di denitrificazione; questi risultati differiscono da quelli ottenuti nello studio sui fanghi flocculanti (Liu et al, 2008) in cui si è scoperto che la produzione di N_2O durante la nitrificazione era di 1.85 mg/L, mentre

durante la denitrificazione il protossido d'azoto non è stato prodotto. Invece i risultati di questo lavoro dimostrano che N_2O viene prodotto sia nei processi di nitrificazione che denitrificazione, con la maggiore quantità generata durante il processo di nitrificazione. Come mostrato in Fig. 1a, durante la prima parte della fase ossica (i primi 15 minuti), si osserva che la concentrazione di DO diminuisce rapidamente e poi incrementa bruscamente. Nel frattempo il pH aumenta costantemente. Queste osservazioni sono associate al fatto che l' NH_4^+-N viene utilizzato per sintetizzare il nuovo tessuto cellulare e per la respirazione cellulare dei batteri eterotrofi che durante questa fase si moltiplicano (Liu et al, 2008). Successivamente, il sistema è entrato nella fase di nitrificazione ossica. Durante la nitrificazione, l'azoto ammoniacale si è quasi completamente ossidato a $NO_2^- -N$. È stato rilevato poco $NO_3^- -N$.



Dopo 172 minuti di trattamento aerobico, si verifica il tipico punto di flesso (*ammonia valley*), che indica la fine della nitrificazione, come mostrato sulla curva del pH. Dopo un mantenimento di aerazione per ulteriori 8 minuti, è stato osservato un improvviso aumento del pH. La completa ossidazione dell' NH_4^+-N insieme alla massima concentrazione di nitriti certifica la fine della fase di nitrificazione. Il rapporto di accumulo dei nitriti ($NO_2^- -N/NO_x^- -N$) è superiore al 98% alla fine della nitrificazione. La Figura 1b illustra il continuo aumento delle emissioni di N_2O , mentre la concentrazione di N_2O disciolto è salita rapidamente per poi decrescere durante gli ultimi 30 minuti della fase di nitrificazione. La perdita di N_2O disciolto è dovuta principalmente all'aerazione, la quale ha stimolato il tasso di rilascio dell' N_2O ; nel momento della completa ossidazione dell'ammoniaca, un'elevata concentrazione di N_2O disciolto è stato associato con i fanghi attivi, mentre la continua aerazione del reattore ha poi portato alla liberazione in atmosfera del protossido disciolto nel sistema, come mostra la flessione del valore di concentrazione del N_2O disciolto durante la fase anossica. Durante l'intero processo di nitrificazione, la concentrazione di nitriti è aumentata rapidamente, con emissione di N_2O .



Come illustra la Fig. 2, il rapporto di massa tra N_2O-N generato e ammoniaca ossidata (in ordinata) e gli $NO_2^- -N$ (in ascissa), mostra una tendenza simile durante la fase ossica, riflettendo così una correlazione tra la concentrazione di nitriti del sistema e l' N_2O ; quindi un elevato accumulo di nitriti sembrerebbe portare, in una certa misura, ad un aumento di emissioni di N_2O (Kampschreur et al., 2009; Alinsafi et al., 2008; Shiskowski, 2007; Itokawa et al., 2001). Dopo il blocco dell'aerazione è stato aggiunto sodio acetato per fornire una fonte esterna di carbonio all'interno del sistema. La presenza di una fonte di carbonio è vitale per la rimozione dei nitriti durante il processo anossico di denitrificazione. Durante il primo minuto, nonostante la mancanza di aerazione, la concentrazione di DO si è mantenuta a 3 mg/L. In presenza di una

sufficiente fonte di carbonio, l' N_2O disciolto è stato subito sottoposto ad una rapida riduzione a N_2 dagli organismi eterotrofi, il quale è dimostrato dalla riduzione delle emissioni di N_2O dall'acqua. Come la denitrificazione progrediva, così le emissioni di monossido di diazoto sono aumentate. Alcuni ricercatori pensano che il comportamento delle emissioni di N_2O può essere associato sia alle alte concentrazioni di nitriti accumulati durante la fase ossica, che all'accumulo dello stesso protossido d'azoto durante la fase anossica (Alinsafi et al., 2008; Von Schulthess et al., 1995). Inoltre, la competizione elettronica tra gli enzimi associati alla denitrificazione (nitrato reduttasi, nitrito reduttasi, ossido nitrico reduttasi e ossido nitroso reduttasi), può spiegare l'aumentata produzione di N_2O che si verifica in condizioni anossiche. Se la riduzione e la sintesi di ossido di azoto reduttasi è stata potenziata, questo potrebbe corrispondere ad una riduzione delle emissioni di N_2O (Otte et al., 1996).

2.2 Effetto di un controllo in tempo reale sulle emissioni di N_2O

L'applicazione della teoria del controllo in tempo reale (Wang et al., 2004) può essere utilizzata per i tipici punti di flesso: *ammonia valley* e *nitrate apex* (Fig. 1a); il primo caratterizza la fine della nitrificazione mentre il secondo indica la fine della denitrificazione (entrambi si visualizzano sulla curva del pH). L'applicazione del controllo in tempo reale può essere impiegata arrestando l'aerazione al momento della completa ossidazione dell'ammoniacca a nitrito, impedendo così un'eccessiva aerazione che contribuisce al rilascio in atmosfera del protossido disciolto in acqua. Questa strategia (*real-time control*) consentirebbe una verifica effettiva sulla quantità di N_2O prodotto durante la fase aerobica di nitrificazione. La Fig.3 mostra la diversificazione dinamica dei campioni liquidi e gassosi in risposta ad un periodo prolungato di denitrificazione. Durante questo ciclo, la velocità di accumulo dei nitriti ha raggiunto l'87.10% a fine nitrificazione. Dopo l'aggiunta di una fonte esterna di carbonio, il sistema si è quindi introdotto nella fase anossica di denitrificazione. Durante il processo, i nitriti si sono ridotti continuamente: le concentrazioni di azoto nei campioni di acqua si sono abbassate al minimo nei primi 40 minuti, e sono rimaste costanti per gli ultimi 40 minuti. La fine della denitrificazione, che è stata osservata al minuto 32 (quando è apparso il *nitrate apex* - "vertice dei nitrati"), è stata determinata dai valori di pH e DO, che sono stati misurati dalle sonde.

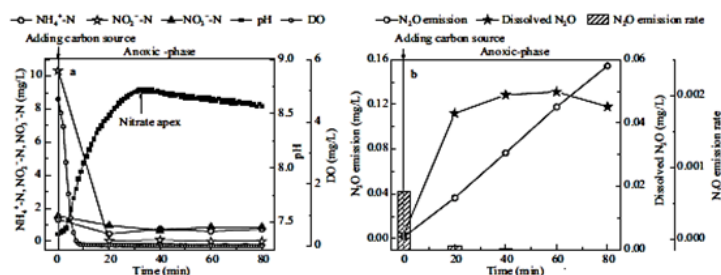


Fig. 3 Dynamic diversification of $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$, pH and DO (a), and N_2O production and emission rates, associated with the extended denitrification time (b).

Poiché le reazioni di denitrificazione sono progredite, le emissioni di N_2O sono gradualmente aumentate. La velocità delle emissioni di protossido d'azoto può essere suddivisa in tre fasi: un periodo di aumento, un periodo regolare e un periodo di declino. Le emissioni di N_2O possono essere limitate grazie all'applicazione della strategia di controllo in tempo reale fermando la denitrificazione a circa 40 minuti (quando le emissioni di N_2O sono al minimo). Per i dati sperimentali relativi al fango granulare aerobico, le emissioni di monossido di diazoto derivanti da un periodo prolungato di denitrificazione sono 2.01 volte superiori rispetto a quando viene applicato il controllo in tempo reale. Pertanto, l'applicazione di una strategia di controllo in tempo reale può ridurre significativamente l'emissione di N_2O associata alla denitrificazione.

3. Conclusioni

I risultati dello studio dimostrano che quando si utilizza un fango granulare, le emissioni di N_2O si verificano sia durante la nitrificazione che durante la denitrificazione; tuttavia la nitrificazione è la principale fonte di emissione di protossido di azoto. L'applicazione di una strategia con controllo in tempo reale può essere impiegata per controllare i punti finali di nitrificazione e denitrificazione, con lo scopo di risparmiare energia e ridurre le emissioni di N_2O durante i processi di rimozione dell'azoto. Durante la fase ossica, è stato osservato che l'accumulo di nitriti può avere un'influenza positiva sulle emissioni di protossido. Le analisi PCR-DGGE (PCR-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) dimostrano che i ceppi batterici *Nitrosomonas* sono in gran parte responsabili delle emissioni di N_2O .

N₂O production rate of an enriched ammonia-oxidizing bacteria culture exponentially correlates to its ammonia oxidation rate.

Yingyu Law, Bing-Jie Ni, Paul Lant, Zhiguo Yuan.

Water Research (2012), 46 (10), 3409-3419.

<https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.03.043>

Abstract

È stato studiato il rapporto tra la velocità di ossidazione dell'ammoniaca (AOR) e la velocità di produzione dell'ossido di azoto (N₂O) di una coltura arricchita di batteri ammoniacali-ossidanti (AOB) in un sistema a nitrificazione alimentato con refluo sintetico da un digestore anaerobico. Durante esperimenti batch l'AOR è stata controllata regolando l'ossigeno disciolto (DO) e il pH e variando la concentrazione iniziale di ammoniaca. I test sono stati eseguiti direttamente anche sul reattore principale in cui è stata applicata una graduale riduzione/aumento del DO per alterare l'AOR. I dati sperimentali hanno indicato una chiara relazione esponenziale tra le due velocità, come sottolineano i modelli metabolici utilizzati.

1. Introduzione

Il protossido di azoto (N₂O) è un potente gas a effetto serra che può essere prodotto ed emesso dai sistemi di trattamento delle acque reflue. Sebbene i fattori di emissione di N₂O segnalati per gli impianti a piena scala sono relativamente bassi (dallo 0.01% al 3.3% dell'azoto totale (TN) rimosso (Ahn et al., 2010)), le emissioni di N₂O possono contribuire in modo significativo all'impronta ecologica degli impianti di trattamento delle acque reflue (WWTP). La comprensione dei meccanismi di produzione dell'N₂O è fondamentale per ridurre al minimo le sue emissioni. Ci sono sempre più prove che dimostrano che i batteri che ossidano l'ammoniaca (AOB) sono i principali responsabili delle emissioni di N₂O dagli impianti di trattamento delle acque reflue (Ahn et al., 2010; Kampschreur et al. 2008a, 2008b; Yu et al., 2010) nonché dagli ecosistemi terrestri e marini (Webster e Hopkins, 1996). Inoltre, il protossido è anche prodotto durante la denitrificazione eterotrofica negli impianti di depurazione (Tallec et al., 2006). Sebbene l'N₂O non è un composto intermedio obbligato durante l'ossidazione aerobica dell'ammoniaca, la sua produzione avviene attraverso diverse vie: 1) dalla decomposizione chimica del nitrosile instabile radicale (NOH) durante l'ossidazione dell'idrossilammina (NH₂OH) (Hooper e Terry, 1979; Poughon et al., 2000), 2) la riduzione dell'NO prodotto dall'ossidazione dell'NH₂OH (Stein, 2011), e 3) come prodotto finale della cosiddetta "nitrifier denitrification" dove gli AOB utilizzano il nitrito (NO₂) (Poughon et al., 2000) e l'ossido nitrico (NO) come alternativi accettori di elettroni (Wrage et al., 2001). In un recente studio si è investigato l'effetto del pH sulla produzione di N₂O: si è osservato che la sua velocità di produzione (N₂O) di una coltura arricchita di AOB era dipendente dal pH, probabilmente a causa dell'effetto del pH sulla velocità di ossidazione dell'ammoniaca (AOR) (Law et al. 2011). Il rapporto dettagliato tra l'N₂O e l'AOR è importante in quanto non solo avrebbe conseguenze significative sul funzionamento di un impianto di depurazione biologica al fine di ridurre l'emissione di N₂O, ma anche per mettere in luce i meccanismi coinvolti nella sua produzione da parte degli AOB. Lo scopo di questo studio è quello di fornire una caratterizzazione completa di tale rapporto anche attraverso modelli basati sull'interpretazione dei dati, per valutare le diverse vie metaboliche proposte fino ad oggi che descrivono la produzione di N₂O degli AOB. L'AOR è stata modificata variando le concentrazioni di NH₄, il pH e la concentrazione di ossigeno disciolto (DO), che sono già stati visti influenzare la velocità di ossidazione dell'ammoniaca. Per discutere i possibili percorsi di produzione di N₂O, i dati sperimentali sono stati confrontati con le previsioni effettuate tramite modelli metabolici basati su: 1) la decomposizione chimica di NOH; 2) la riduzione biologica di NO (Ni et al., 2012); questi composti potrebbero entrambi formarsi durante l'ossidazione dell'NH₂OH, e 3) due modelli basati sul percorso denominato "nitrifier denitrification" (Mampaey et al., 2011; Ni et al., in stampa).

2. Materiali e metodi

2.1 Funzionamento del reattore per l'accumulo di AOB

Un reattore batch sequenziale di 8 L (SBR) che esegue la nitrificazione è stato operato per selezionare gli AOB. L'inoculo per il reattore è stato ottenuto da un impianto di depurazione a Brisbane, in Australia. La temperatura del mixed liquor è stata controllata a circa 33°C utilizzando una camicia d'acqua. L'SBR è stato operato in cicli identici di 6 ore. Il ciclo consisteva in 30 minuti di sedimentazione, 10 minuti di decantazione, 2.5 minuti di alimentazione aerobica (I), 65 minuti di reazione aerobica (I), 92 minuti di inattività (I), 2.5 minuti di alimentazione aerobica (II), 65 minuti di reazione aerobica (II), 92 minuti di inattività (II) e 1.2 minuti di spurgo. È stato aggiunto 1 litro di acqua reflua sintetica (la composizione è descritta di seguito) in ciascun periodo di alimentazione con un tempo di ritenzione idraulica (HRT) di 1 giorno. Il reattore è stato mescolato con un agitatore magnetico a 200 rpm in tutte le fasi tranne durante la decantazione. L'aerazione è stata fornita con una portata d'aria costante di 2.5 L/min durante le fasi di alimentazione e di reazione aerobica, con concentrazioni di DO variabili tra 0.5 e 0.8 mgO₂/l. Il tempo teorico di ritenzione dei fanghi (SRT) di 20 giorni è stato ottenuto spurgando 100 mL di mixed liquor ogni ciclo. La concentrazione di solidi sospesi volatili del mixed liquor

(MLVSS) nell'SBR è stata mantenuta a circa 0.70–0.80 g/L. L'SBR è stato alimentato con acque reflue sintetiche con caratteristiche di un digestato liquido anaerobico. Il carico di azoto giornaliero era 8 kgN/m³/giorno. La composizione delle acque reflue (modificato da Kuai e Verstraete (1998)) è risultata essere: 5.63 g/L di NH₄HCO₃ (1 gNH₄-N/L), 0.064 g/L ciascuno di KH₂PO₄ e K₂HPO₄ e 2 mL di una soluzione nutritiva che conteneva: 1.25 g/L di EDTA, 0.55 g/L ZnSO₄·7H₂O, 0.40 g/L CoCl₂·6H₂O, 1.275 g/L MnCl₂·4H₂O, 0.40 g/L CuSO₄·5H₂O, 0.05 g/L Na₂MoO₄·2H₂O, 1.375 g/L CaCl₂·2H₂O, 1.25 g/L FeCl₃·6H₂O e 44.4 g/L MgSO₄·7H₂O. L'alimentazione aveva un pH di 8 e un rapporto molare ammoniaca su bicarbonato di 1:1. È stato usato NaHCO₃ (1M) al termine di ogni fase aerobica per mantenere il pH sopra a 6.4. La concentrazione di nitrati è stata sempre inferiore a 20 mgNO₃⁻-N/L, che indica una minima attività dei batteri che ossidano i nitriti (NOB). Il fattore di emissione dell'N₂O del sistema è stato l'1% dell'ammoniaca convertita (Law et al., 2011).

2.2 Prove sperimentali

2.2.1 Prove batch

Sono state effettuate tre serie di prove batch per variare l'AOR, come mostrato in Tabella 1. La concentrazione totale di NO₂⁻ in tutte le prove è stata di circa 450-550 mgN/L, approssimativamente pari a quella nell'SBR. Ogni prova è stata effettuata in triplice. Per le serie di test (I) e (II), 0.4 L di mixed liquor è stato preso dall'SBR e diluito con 0.7 L di chiarificato dall'SBR. Gli esperimenti sono stati poi effettuati su 1.1 litri di fango diluito. Per la serie di test (III), 1.1 litri di fango miscelato dall'SBR sono stati lavati due volte con un mezzo sintetico di ammoniaca libera e ri-sospesi in un mezzo sintetico integrato con 45-55 mgNH₄⁺-N/L e 450-550 mgNO₂⁻-N/L prima della prova. In ciascuna prova, una fase di controllo è stata inclusa all'inizio per consentire il confronto dell'attività AOB tra le prove batch. Nella serie di test (II) il pH è stato controllato a circa 7.0 mentre nelle serie di test (I) e (III), il pH è stato successivamente aumentato a 8.0. In tutte le serie la concentrazione di DO è stata mantenuta a circa 0.55 mgO₂/L durante la fase di controllo (livello medio di DO nel reattore principale), per poi essere modificata durante la fase di prova. Questo cambiamento sequenziale di condizione è stato effettuato per monitorare l'effetto indipendente del pH e dell'ossigeno disciolto. Ogni cambiamento di stato durante i periodi di controllo e di test è stata monitorata per 40 minuti.

Table 1 – Experimental conditions applied in batch test to vary the AOR.				
Test series	pH	NH ₄ ⁺ (mg N/L)	NH ₃ (mg N/L)	DO (mg O ₂ /L)
I	8	500 + 50	45.1 + 4.5	0.55
	8	500 + 50	45.1 + 4.5	1.25
	8	500 + 50	45.1 + 4.5	1.80
	8	500 + 50	45.1 + 4.5	2.40
II	7	500 + 50	4.9 + 0.5	0.55
	7	500 + 50	4.9 + 0.5	1.25
	7	500 + 50	4.9 + 0.5	1.80
	7	500 + 50	4.9 + 0.5	2.40
III	8	50 + 5	4.5 + 0.4	0.55
	8	50 + 5	4.5 + 0.4	1.25
	8	50 + 5	4.5 + 0.4	1.80
	8	50 + 5	4.5 + 0.4	2.40

2.2.2 Prove nell'SBR

Sono state effettuate due prove nel reattore SBR. Nella prima prova, è stato studiato l'effetto di transizione graduale dalla concentrazione relativamente elevata di DO (0.8 mgO₂/l) alla carenza di ossigeno per comprendere l'effetto sulla produzione di N₂O. Nella seconda prova, dopo una diminuzione graduale di DO è stato applicato un aumento graduale ed è stata monitorata la produzione di protossido nell'intero periodo. Entrambi i test sono iniziati dopo la seconda alimentazione nel ciclo SBR. In entrambe le prove, la concentrazione di DO è stata controllata manualmente utilizzando una miscela di azoto gas e di aria. I flussi d'aria e di N₂ sono stati adeguati utilizzando due controllori di flusso (Smart-Trak 50 serie 1 L/min e 5 L/min, Sierra). Per ogni gradino nella riduzione/aumento del DO, la diminuzione/aumento della portata d'aria è stata compensata da un aumento/riduzione equivalente della portata di azoto. È stato condotto un controllo per verificare che le piccole variazioni di concentrazione di ammoniaca e nitriti durante ogni prova non hanno avuto un effetto sulla produzione di protossido d'azoto. In tutte le prove effettuate nell'SBR, NaHCO₃ (1 M) e HCl (0.5 M) sono stati dosati automaticamente per controllare il pH a circa 7 utilizzando un sistema PLC.

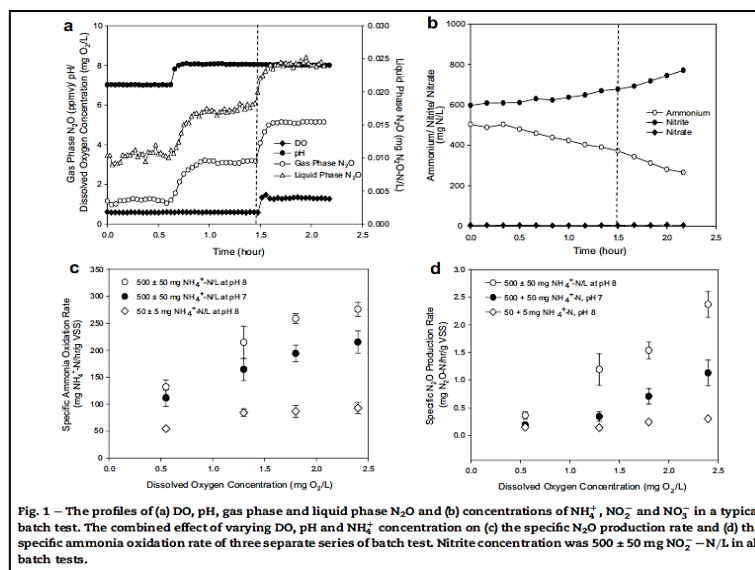


Fig. 1 – The profiles of (a) DO, pH, gas phase and liquid phase N₂O and (b) concentrations of NH₄⁺, NO₂⁻ and NO₃⁻ in a typical batch test. The combined effect of varying DO, pH and NH₄⁺ concentration on (c) the specific N₂O production rate and (d) the specific ammonia oxidation rate of three separate series of batch test. Nitrite concentration was 500 ± 50 mg NO₂⁻-N/L in all batch tests.

3. Risultati

3.1 Risultati delle prove batch

Le figure 1(a) e (b) mostrano un esempio di esperimento batch, con le fasi di controllo che precedono il test vero e proprio. Ogni cambiamento sequenziale nella condizione di pH o di DO ha innescato un brusco cambiamento nel N₂OR. Sia l'AOR che l'N₂OR sono stati determinati dal periodo di stato pseudo-stazionario raggiunto in ogni fase. In tutte e tre le serie di prove batch (Tabella 1), l'AOR è aumentata sia con la maggior concentrazione di DO 0.55-2.4 mgO₂/l, che con la concentrazione di NH₄⁺ (da 50 a 500 mgNH₄⁺-N/L) che con l'aumento del pH 7.0-8.0 (Fig. 1c). Le condizioni di processo che hanno stimolato la velocità di ossidazione dell'ammoniaca hanno anche causato un effetto simile sulla velocità di produzione specifica del protossido d'azoto, come si può vedere in Fig. 1d.

3.2 L'effetto della variazione di DO sull'AOR e sull'N₂OR

Le dipendenze dell'AOR e dell'N₂OR della coltura arricchita di AOB rispetto alla variazione di concentrazione di DO sono state ulteriormente testate, come mostrato in Fig. 2. In condizioni aerobiche (DO > 0 mgO₂/L), l'aumento e la diminuzione graduale dell'ossigeno disciolto hanno innescato un effetto corrispondente sulla N₂OR: infatti la produzione di protossido era minima a basse concentrazioni di DO (0.05 e 0.2 mgO₂/L) ed è aumentata a maggiore ossigeno disciolto (Figg. 2a-2b). Analogamente, l'attività di ossidazione dell'NH₃ è aumentata a più alto DO ed è diminuita quando la fornitura di ossigeno è stata ridotta (Figg. 2c-2d).

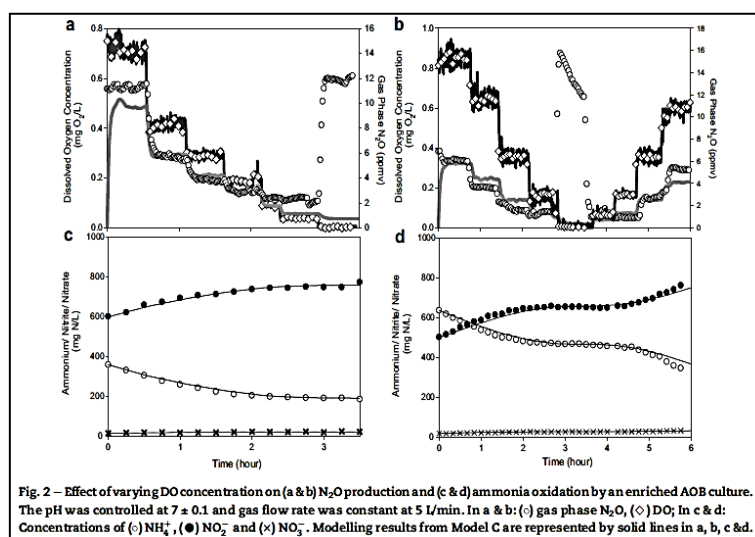


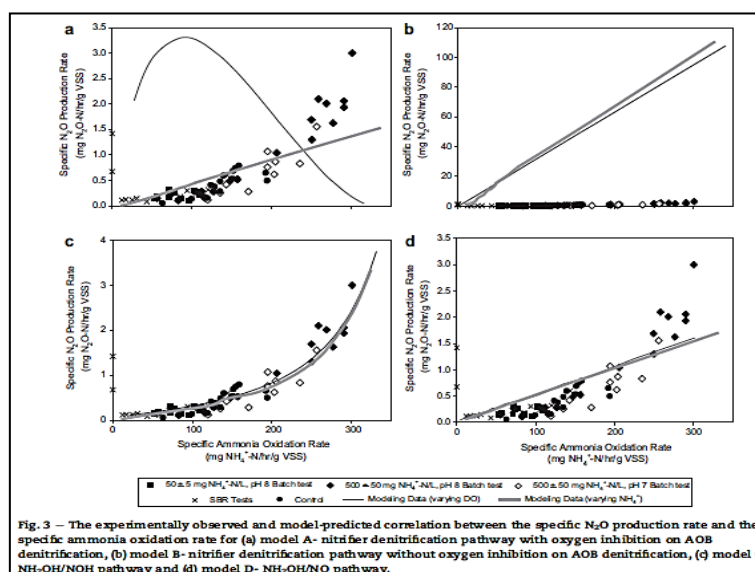
Fig. 2 – Effect of varying DO concentration on (a & b) N₂O production and (c & d) ammonia oxidation by an enriched AOB culture. The pH was controlled at 7 ± 0.1 and gas flow rate was constant at 5 L/min. In a & b: (○) gas phase N₂O, (◇) DO; In c & d: Concentrations of (○) NH₄⁺, (●) NO₂⁻ and (×) NO₃⁻. Modelling results from Model C are represented by solid lines in a, b, c & d.

Contrariamente alla tendenza, la fase di transizione da condizioni aerobiche a condizioni anossiche ha causato un significativo aumento della produzione dell'N₂O (Figg. 2a-2b). Tale cambiamento è stato istantaneo e si è verificato solo quando l'ossigeno è stato completamente esaurito. L'attività ossidativa dell'ammoniaca non è stata rilevata dopo l'esaurimento dell'ossigeno. Quando l'alimentazione del DO è ripresa e la concentrazione si è mantenuta a 0.1 mgO₂/L,

di conseguenza la produzione di N_2O è diminuita e l'attività di ossidazione dell' NH_3 è stata restaurata (Figg. 2b-2d). Nell'esperimento di controllo, sotto condizioni controllate di DO e di pH, sia l' N_2OR che l'AOR sono rimaste costanti nonostante i cambiamenti nella concentrazione di NH_4^+ (tra 250 e 550 $mgNH_4^+-N/l$) e di NO_2^- (tra 450 e 750 $mgNO_2^- - N/L$; dati non mostrati). Ciò ha indicato che i cambiamenti relativamente piccoli di NH_4^+ e di NO_2^- durante le prove SBR (Fig. 2) difficilmente hanno avuto un effetto sull' N_2OR o sull'AOR. L'attività degli NOB è stata minima, come dimostra la concentrazione di NO_3^- che è rimasta inferiore a 10 $mgNO_3^- - N/L$ in tutta la fase aerobica.

3.3 Correlazione tra N_2OR e AOR

In Fig.3, l' N_2OR specifico della biomassa misurato in tutte le prove batch e in ciascun periodo delle prove SBR è stato tracciato in funzione dell'AOR specifico relativo della biomassa. È stata osservata una tendenza esponenziale. Tuttavia, tale correlazione è valida solo per la produzione aerobica di N_2O . Come mostrato in Fig.3, i valori dell' N_2OR ottenuti in condizioni anossiche (quando AOR era zero) hanno deviato dal rapporto esponenziale.



4. Conclusioni

È stato studiato il rapporto tra la velocità di ossidazione dell'ammoniaca e la velocità di produzione del protossido d'azoto in una coltura arricchita di batteri AOB in grado di eseguire la nitrificazione parziale (nitritazione). È stato trovato che la velocità di produzione dell' N_2O cresce in modo esponenziale in funzione della velocità di ossidazione dell' NH_3 . Questa relazione potrebbe essere spiegata dalla produzione di N_2O attraverso la degradazione chimica del nitrosile radicale (NOH), un intermedio nell'ossidazione dell'idrossilammina (NH_2OH) a nitrito (NO_2^-), ma non dalla cosiddetta "nitrifier denitrification" biologica né dalla riduzione dell'NO prodotto durante l'ossidazione dell' NH_2OH . Secondo questi risultati, basse velocità di ossidazione dell'ammoniaca (AOR) porterebbero ad una ridotta produzione di N_2O da parte degli AOB in un reattore che opera la nitritazione.

Anoxic phases are the main N_2O contributor in partial nitritation reactors treating high nitrogen loads with alternate aeration.

J. Gabarró, P. González-Cárcamo, M. Ruscalleda, R. Ganigué, F. Gich, M.D. Balaguer, J. Colprim.

Bioresource Technology (2014), 163, 92-99.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.04.019>

Abstract

I reattori a nitritazione parziale (PN) che trattano acque reflue industriali complesse possono essere azionati alternando fasi anossiche e aerobiche per promuovere la denitrificazione degli eterotrofi via nitriti. Tuttavia, la denitrificazione sotto rigorose condizioni può portare ad un'alta produzione di N_2O . In questo studio, l'idoneità di includere fasi anossiche in un processo PN-SBR per il trattamento delle acque reflue industriali è stata valutata in termini di performance di processo e di produzione di N_2O . Il PN-SBR è stato utilizzato con successo e, quando il rapporto molare HCO_3^-/NH_4^+ è stato rettificato, si è prodotto un effluente adatto per un successivo reattore anammox. Il 10-20% dell'azoto totale influente è stato rimosso. La quantità di protossido d'azoto prodotta ha rappresentato il 3.6% del NLR (carico di azoto specifico) e si è formata principalmente durante le fasi anossiche (60%). Le specifiche prove batch di denitrificazione hanno dimostrato che, nonostante la disponibilità di COD biodegradabile, la denitrificazione dei nitriti avanzava ad una velocità

maggior della denitrificazione del monossido di diazoto, causandone un elevato accumulo. Pertanto, l'inclusione di fasi anossiche dovrebbe essere evitata nei reattori PN-SBR per il trattamento di acque reflue industriali con elevati carichi di azoto.

1. Introduzione

Il trattamento delle acque reflue industriali, come i flussi dell'industria delle patate o di quella conserviera, i percolati di discarica o i reflui zootecnici, pone una sfida a causa delle loro alte concentrazioni di azoto ($>1500 \text{ mgNH}_4^+ \text{-N/L}$), alte concentrazioni di sostanza organica non biodegradabile ed eterogenea (COD), così come elevata salinità (Desloover et al., 2011; Ganigué et al., 2009; Scaglione et al., 2013). L'applicazione di un trattamento di nitrificazione-denitrificazione convenzionale alle acque reflue industriali comporta elevati costi operativi a causa dell'elevato consumo energetico richiesto per l'aerazione, nonché l'aggiunta del COD biodegradabile da fonte esterna (bCOD). In questo senso, le nuove applicazioni per la rimozione dell'azoto, come la parziale nitrificazione (PN) e l'ossidazione dell'ammoniaca in condizioni anaerobiche (anammox) sono state applicate con successo al trattamento di tali flussi (de Graaff et al., 2010; Rusalleda et al., 2008). Nella PN è necessario uno step che ossidi circa il 57% dell'ammoniaca influente a nitriti per ottenere un effluente con un adatto rapporto molare $\text{NO}_2^- \text{-N/NH}_4^+$ (1.32) per alimentare il successivo reattore anammox (de Graaff et al., 2010; Ganigué et al., 2009). I batteri ossidanti l'ammoniaca (AOB) sono il gruppo microbico dominante nei reattori PN (Law et al., 2012). Gli AOB sono i maggiori contribuenti alla produzione di protossido di azoto (N_2O) nel trattamento delle acque di scarico (Ahn et al., 2011; Kampschreur et al., 2009; Yang et al., 2009; Yu et al., 2010). L' N_2O è un potente gas a effetto serra poiché ha un potenziale di riscaldamento globale (GWP) di circa 300 volte maggiore del biossido di carbonio CO_2 (IPCC, 2007). Secondo Ahn et al. (2010), negli impianti di trattamento delle acque reflue urbane, e soprattutto a causa dei processi di nitrificazione, le fasi aerobiche generalmente contribuiscono maggiormente alle emissioni di N_2O di quanto facciano le fasi anossiche. Sono stati ampiamente riportati molteplici fattori che possono influenzare la generazione di N_2O da parte degli AOB (*Ammonia Oxidizing Bacteria*). I principali componenti di controllo della produzione di N_2O da parte degli AOB, oltre ad altri, sono l'ossigeno disciolto (DO), la concentrazione dei nitriti NO_2^- , la concentrazione dello ione ammonio NH_4^+ , le oscillazioni del pH, il basso rapporto bCOD/N (Kampschreur et al., 2009). Recentemente, Wunderlin et al. (2013) hanno descritto i principali meccanismi di produzione di N_2O da parte degli AOB. I reattori PN hanno solitamente elevate concentrazioni di NO_2^- e di NH_4^+ e un basso rapporto bCOD/N nell'influente. Pertanto, i reattori PN per il trattamento di acque reflue industriali quali percolato di discarica, flussi dell'industria alimentare o reflui zootecnici, sono in grado di produrre alti livelli di N_2O durante il processo di nitrificazione. Fasi anossiche possono essere incluse per utilizzare il contenuto di COD biodegradabile per promuovere la denitrificazione eterotrofica (Anfruns et al., 2013; Li et al., 2013). La rimozione eterotrofica dell'azoto nei reattori PN ha il potenziale di diminuire il carico totale di azoto al successivo reattore anammox, riducendo così la possibilità di accumulo di NO_2^- e la grave inibizione della biomassa nell'anammox (Lotti et al., 2012). È stato osservato che la denitrificazione eterotrofica nei reattori PN, che avviene via nitrito, sarebbe un'elevata fonte di produzione di N_2O a causa di un influente con rapporto bCOD/N insufficiente (Scaglione et al., 2013) e una velocità di riduzione degli NO_2^- più elevata rispetto a quella dell' N_2O (Campos et al., 2009). Fino ad ora, la maggior parte degli studi che hanno indagato sulle emissioni di N_2O in condizioni anossiche si sono concentrate sugli impianti di depurazione delle acque reflue urbane o sui sistemi PN che trattano reflui sintetici senza materia organica. Ad esempio, Rodriguez-Caballero e Pijuan (2013) hanno condotto alcuni esperimenti in un impianto a piena scala operante con un sistema PN che utilizzava reflui sintetici e hanno osservato che l'inclusione delle fasi anossiche aumentava la produzione di monossido d'azoto (NO), mentre diminuiva il protossido d'azoto (N_2O). Kong et al. (2013) hanno osservato la produzione ciclica di N_2O attraverso la ripetizione di quattro cicli di funzionamento, tra cui l'alimentazione anossica e la reazione aerobica su acqua reflua sintetica ricca di ammoniaca senza aggiunta di materia organica, in un reattore PN operato come reattore batch sequenziale a biofilm. In quest'ottica, le dinamiche di rimozione dell'azoto e quelle di produzione di N_2O in sistemi PN per il trattamento delle acque reflue reali e complesse contenenti COD (biodegradabile e non) non sono state ancora studiate in modo esaustivo. L'obiettivo principale di questo lavoro è stato quello di quantificare la produzione di N_2O in fase aerobica ed anossica nei reattori PN per il trattamento delle acque reflue industriali contenenti COD complesso. Particolare attenzione è stata prestata all'evoluzione dei cicli per analizzare le dinamiche produttive del protossido d'azoto nelle fasi anossiche.

2. Metodi

2.3 Prove batch per la denitrificazione via nitrito

Due prove batch di denitrificazione sono state condotte in un bioreattore da 5 litri (BIOSTAT B PLUS-SARTORIUS AG, Germania). È stata usata una camicia d'acqua per consentire il controllo della temperatura ed il reattore è stato anche dotato di un agitatore meccanico per garantire l'ideale miscelazione. Il pH, il DO, e la temperatura sono stati monitorati per tutta la durata degli esperimenti. Le prove batch sono state eseguite utilizzando il fango dal PN-SBR. Questo è stato lavato con una miscela di acqua di rubinetto e cloruro di sodio per mantenere la conducibilità a valori di circa 29 mS/cm , cioè la conducibilità sperimentale del mixed liquor per un PN-SBR. Il pH massimo nel reattore è stato controllato a 7.8 (pH tipico durante l'alimentazione anossica in un PN-SBR) aggiungendo HCl (1M). La temperatura di esercizio è stata

mantenuta a 35°C con un bagno termostatico. I reflui minerali erano composti da una soluzione tampone di fosfato e da micronutrienti, come descritto da Coma et al. (2010). Il cloruro di sodio è stato aggiunto per ottenere la conducibilità del PN-SBR desiderata (29 mS/cm). Una volta che sono state raggiunte le condizioni anossiche stabili, è stato aggiunto un impulso di NO_2^- con la concentrazione iniziale pari a 100 mg NO_2^- -N/L. Durante i primi 60 minuti della prova batch, non è stata aggiunta alcuna sostanza organica esterna, garantendo così la condizione limitante in termini di bCOD. Al 60-esimo minuto, è stato aggiunto un impulso di acetato di sodio (0.1 g CH_3COONa /L) al mezzo per fornire il carbonio organico sufficiente (20% in eccesso rispetto alla richiesta stechiometrica) per denitrificare 100 mg NO_2^- -N/L. I campioni sono stati prelevati ogni 15 minuti per le analisi degli NO_2^- e del COD. Durante gli esperimenti è stata anche effettuata la misurazione on-line della concentrazione di N_2O nel liquido ($\text{C}_{\text{N}_2\text{O}}$) utilizzando un microsensore di N_2O ad ampio spettro (0-24 mM) (Unisense, Danimarca). I solidi sospesi totali e volatili (TSS e VSS, rispettivamente) sono stati analizzati all'inizio e alla fine di ogni prova batch.

3. Risultati e discussione

3.1 Prestazione del PN-SBR

La configurazione aerobica/anossica è stata applicata con l'obiettivo di: (i) ossidare parzialmente NH_4^+ a NO_2^- e (ii) rimuovere il bCOD utilizzando NO_2^- come accettore di elettroni, riducendo così il carico di azoto per un successivo reattore anammox. Il PN-SBR è stato operato con successo per 110 giorni alternando fasi anossiche e aerobiche, e ha raggiunto un effluente adatto con cui alimentare un successivo reattore anammox con un rapporto molare $\text{NO}_2^-/\text{NH}_4^+$ prossimo al valore stechiometrico 1.32 (Strous et al., 1999) (Fig. 1). Fin dal primo giorno, il PN-SBR è stato alimentato con percolato grezzo. La concentrazione influente di NH_4^+ variava tra 2000-2300 mg NH_4^+ -N/L che, considerando il flusso giornaliero, ha determinato un carico di azoto specifico (NLR - *Nitrogen Loading Rate*) di circa 1.0 kgN/(m³ d) dal giorno 50 in poi (Fig. 1). Inizialmente, sia NO_2^- che NO_3^- erano presenti nel reattore come prodotti finali del processo di nitrificazione. Dal giorno 10, la concentrazione di NO_3^- è diminuita e per il resto dell'esperimento è rimasta inferiore a 10 mg NO_3^- -N/L a causa dell'inibizione dell'attività degli NOB da parte delle concentrazioni di FA e FNA (rispettivamente, 9 mg NH_3 -N/L e 0.07 mg HNO_2 -N/L) (Anthonisen et al., 1976; Gabarró et al., 2012). In parallelo, si è iniziato ad accumulare NO_2^- fino a che il suo livello di concentrazione è rimasto stabile dal giorno 25 in avanti. Da quel momento in poi, la concentrazione di NH_4^+ allo scarico era compresa tra 600 e 900 mg NH_4^+ -N/L. In origine, l'influente non era condizionato e quindi il rapporto molare $\text{HCO}_3^-/\text{NH}_4^+$ era molto superiore allo stechiometrico (1.40 ± 0.08 vs 1.14).

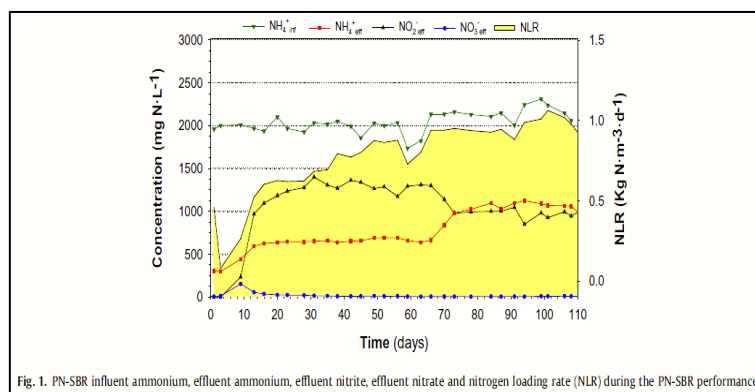


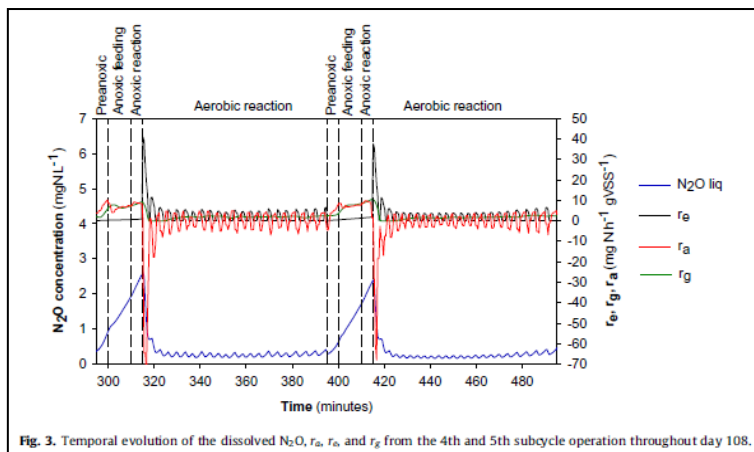
Fig. 1. PN-SBR influent ammonium, effluent ammonium, effluent nitrite, effluent nitrate and nitrogen loading rate (NLR) during the PN-SBR performance.

Di conseguenza, il PN-SBR ha prodotto un effluente con rapporto molare $\text{NO}_2^-/\text{NH}_4^+$ superiore al valore stechiometrico desiderato per alimentare un successivo reattore anammox (1.92 ± 0.12 vs 1.32). Dal giorno 68, HCl è stato aggiunto nel serbatoio di pre-trattamento per regolare il rapporto molare $\text{HCO}_3^-/\text{NH}_4^+$ (1.17 ± 0.15) e così il rapporto molare $\text{NO}_2^-/\text{NH}_4^+$ dell'effluente del PN-SBR è diminuito a 1.01 ± 0.14 . Questi valori erano inferiori a quello stechiometrico di 1.32, e probabilmente questo era dovuto alla rimozione degli NO_2^- tramite il processo di denitrificazione.

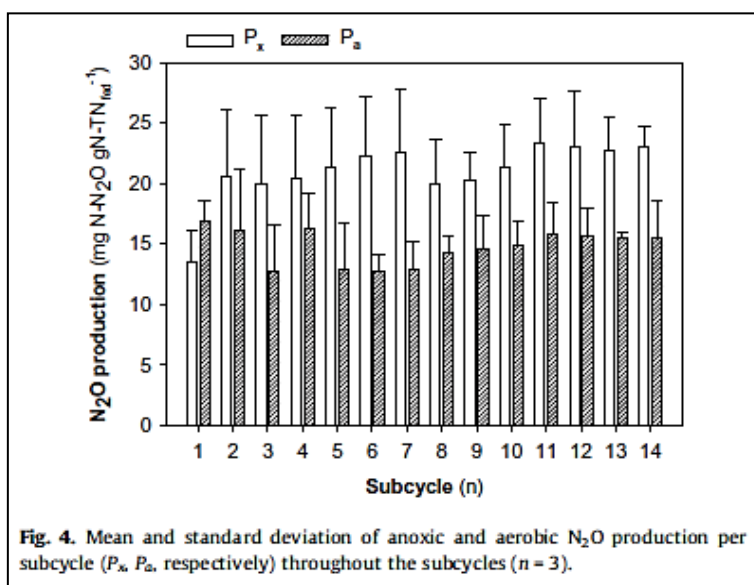
3.3 Dinamiche del protossido d'azoto (N_2O)

Date le condizioni favorevoli per la produzione di N_2O nel PN-SBR, le sue dinamiche in stato stazionario sono state studiate in tre cicli rappresentativi da 24 ore (giorni 94, 98 e 108). Andamenti simili sono stati osservati durante ognuno dei sotto-cicli operativi. Come esempio di un tipico andamento di sotto-ciclo del PN-SBR, la Fig. 3 riproduce l'evoluzione temporale della concentrazione del protossido in fase liquida insieme alla sua velocità di generazione ($r_g = r_a + r_e$), la sua velocità di accumulo (r_a) e la sua velocità di emissione (r_e) durante il 4° e il 5° sotto-ciclo del ciclo di 24 ore del giorno 108. Ogni sotto-ciclo consisteva di 5 minuti di fase pre-anossica, 10 minuti di alimentazione anossica, 5 minuti di reazione anossica e 80 minuti di fase aerobica. Generalmente, l' N_2O si è accumulato durante le fasi anossiche a causa della sua

elevata produzione e del basso trasferimento di massa. Quando la fase di aerazione è iniziata, il protossido di azoto è stato trasferito da liquido a gas e, quindi, emesso.



Guardando la sua generazione in condizioni anossiche, r_g era inizialmente $2 \text{ mgN}_2\text{O-N}/(\text{h gVSS})$ circa (fase pre-anossica) ed è aumentato col tempo ad un massimo di $10 \text{ mgN}_2\text{O-N}/(\text{h gVSS})$ durante le fasi di alimentazione anossica e di reazione anossica. Il valore medio della produzione anossica di N_2O è stato $6.9 \pm 0.4 \text{ mgN}_2\text{O-N}/(\text{h gVSS})$ per i giorni analizzati ($n=3$). Questo indica che la denitrificazione eterotrofica è la principale responsabile della produzione di protossido d'azoto; inoltre la sua generazione è significativamente aumentata quando il bCOD è stato inserito nel reattore. In condizioni ossiche, nei primi minuti r_g è rimasto vicino a 0 e questo probabilmente era dovuto ad una fase di latenza dell'attività dei batteri AOB che dovrebbe aver cambiato il loro metabolismo. Contemporaneamente, il valore più alto di r_e è stato ottenuto a causa dello stripping del N_2O accumulato in precedenza. Più tardi, r_g è aumentato ed è rimasto stabile a circa $2 \text{ mgN}_2\text{O-N}/(\text{h gVSS})$, sebbene questo valore è stato leggermente superiore al termine della fase aerobica. Il bilancio di massa dell' N_2O è stato calcolato per ciascuna fase durante i giorni d'indagine. La Fig. 4 mostra la produzione media totale di protossido nelle condizioni anossiche (P_x) ed aerobiche (P_a) nei giorni 94, 99 e 108. P_x è stato superiore a P_a , circa il 60% della produzione totale di N_2O durante il ciclo PN-SBR. L'assenza di una fase pre-anossica nel primo sotto-ciclo (sotto-ciclo 1) ha determinato una P_x inferiore rispetto al resto dei sotto-cicli.



Infine, è importante sottolineare che la durata delle fasi aerobiche era 4 volte più lunga di quella delle fasi anossiche, a significare che la produzione di N_2O procedeva ad una velocità maggiore in condizioni anossiche. Date le elevate concentrazioni di NO_2^- e di NH_4^+ nel liquido, ci si aspetterebbe una maggiore produzione aerobica di N_2O nel PN-SBR rispetto ad altri sistemi che trattano delle concentrazioni inferiori di azoto nell'influenza, come ad esempio il surnatante del digestato in un impianto di trattamento urbano (Kampschreur et al., 2009). Tuttavia, ciò non è avvenuto e le osservazioni erano in accordo con Law et al. (2013), che hanno riferito di una minor produzione di N_2O a concentrazione di nitriti di $1000 \text{ mgNO}_2\text{-N/L}$ rispetto a $400 \text{ mgNO}_2\text{-N/L}$. Una possibile spiegazione per questo è che l'attività degli AOB nel PN-SBR è parzialmente inibita dall'FA e dall'FNA, così come viene rallentata dalla limitazione di HCO_3^- (Gabarró

et al., 2012). Di conseguenza, le condizioni rigorose di elevate concentrazioni di NO_2^- e NH_4^+ e bassa disponibilità di HCO_3^- hanno portato a una produzione relativamente bassa di N_2O . Queste condizioni hanno restituito una velocità di ossidazione dell'ammoniaca (AOR) di $22.9 \pm 8.5 \text{ mgNH}_4^+-\text{N}/(\text{gVSS h})$ durante tutto l'intero periodo di sperimentazione. Law et al. (2012) hanno descritto la correlazione esponenziale della produzione aerobica di N_2O con l'attività degli AOB. Le velocità sperimentali del PN-SBR sono state nel range più basso riportato da Law et al. (2012) a sostegno dell'ipotesi sopra riportata. Ahn et al. (2010) hanno chiaramente identificato il processo di nitrificazione come la principale fonte di N_2O durante il trattamento delle acque reflue urbane. Anche Kong et al. (2013) hanno riportato una maggiore produzione di N_2O durante le fasi aerobiche nel trattamento delle acque reflue sintetiche ricche di NH_4^+ ($500 \text{ mgNH}_4^+-\text{N/L}$), operando con un PN-SBR a biofilm. Anche Rodriguez-Caballero e Pijuan (2013) hanno documentato questa ipotesi in un SBR a nitrificazione completa con alimentazioni anossiche che trattava acque reflue sintetiche ricche di NH_4^+ ($1000 \text{ mgNH}_4^+-\text{N/L}$). Contrariamente ai precedenti lavori sui sistemi PN che combinano condizioni anossiche ed aerobiche, i risultati di questo studio mostrano che la produzione di N_2O nelle fasi anossiche (prevalentemente dovuta alla denitrificazione eterotrofica) è la fonte principale di protossido nel trattamento di acque reflue industriali ad elevato potenziale di azoto. Le differenze nella composizione dell'influente, le stringenti condizioni del mixed liquor e la selezione microbica potrebbero spiegare il motivo per cui N_2O è stato prodotto principalmente durante le fasi anossiche del PN-SBR.

4. Conclusioni

Il PN-SBR che opera in condizioni alternate di anossia-aerobiosi ha prodotto un effluente adatto per un successivo reattore anammox e ha emesso, in termini di N_2O , il 3.6% dell'NLR. La produzione anossica di N_2O è stata superiore alla produzione aerobica (rispettivamente 60% e 40%), anche se le fasi aerobiche erano 4 volte più lunghe rispetto alle fasi anossiche. È stata rilevata una velocità di denitrificazione di NO_2^- superiore alla velocità di denitrificazione di N_2O in tutte le condizioni; inoltre, la disponibilità sia dei nitriti che del bCOD hanno causato un accumulo di monossido di diazoto nel mixed liquor. Pertanto, le fasi anossiche dovrebbero essere evitate nei reattori PN utilizzati nel trattamento delle acque reflue industriali complesse con elevate concentrazioni di N.

Effect of anoxic/aerobic phase fraction on N_2O emission in a sequencing batch reactor under low temperature.

Zhen Hua, Jian Zhang, Huijun xie, Shanping Li, Jinhe Wang, Tingting Zhang.

Bioresource Technology (2011), 102 (9), 5486-5491.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.037>

Abstract

Un reattore batch sequenziale anossico/aerobico è stato operato intorno a 15°C per valutare l'effetto della frazione anossica/aerobica (PF - *phase fraction*) sulle emissioni di N_2O . La rimozione dell'ammoniaca ha mostrato una tendenza a diminuire con l'aumento di PF, mentre la massima rimozione dell'azoto totale è stata raggiunta a $\text{PF} = 0.5$. Quasi tutto l' N_2O è stato emesso durante la fase aerobica, a prescindere dal valore di PF. Tuttavia, l'emissione netta del protossido d'azoto risente della frazione di fase. Sotto la premessa di nitrificazione completamente aerobica, l'emissione più bassa di N_2O è stata raggiunta a $\text{PF} = 0.5$, con una velocità di conversione dell' N_2O -N del 9.8%. A bassi valori di PF ($\text{PF} = 0.2$), l'emissione di N_2O è stata stimolata dal nitrito residuo, determinato dall'incompleta denitrificazione in fase anossica. D'altra parte, l'esaurimento del carbonio facilmente degradabile è stato la causa principale per l'elevata emissione di N_2O a maggior PF ($\text{PF} = 0.5$). L'emissione è aumentata con la diminuzione della temperatura. La quantità di emissioni di N_2O ponderata nel tempo, a 15°C era 2.9 volte superiore rispetto a quella a 25°C .

1. Introduzione

Il degrado generale della qualità delle acque fluviali e lacustri ha portato a più rigorosi standard di qualità degli effluenti, per ridurre il livello di nutrienti nelle acque reflue scaricate nei corsi d'acqua locali, al fine di evitare l'eutrofizzazione. Molte modifiche e nuovi processi sono stati sviluppati e implementati per la rimozione dell'azoto dalle acque reflue (Tchobanoglous et al., 2003). Negli ultimi anni, il sistema reattore batch a carichi sequenziali (SBR) ha attirato un grande interesse perché esso può effettuare la rimozione dell'azoto biologico in un unico reattore mantenendo le fasi anossiche ed aerobiche in sequenza (Andreottola et al., 2001; Wilderer et al., 2001). Il processo a fanghi attivi anossico/aerobico è uno dei processi biologici più utilizzati per l'azoto. La rimozione simultanea di materia organica ed azoto può essere realizzata attraverso la programmazione delle fasi anossiche ed aerobiche e l'assegnazione di tempi di reazione può essere cambiata variando la lunghezza delle fasi (Hong et al., 2008). La fase di pre-denitrificazione può degradare anaerobicamente l'influente biologico, riducendo la richiesta di ossigeno nella successiva fase aerobica. Ancora più importante, l'alcalinità prodotta durante la fase di denitrificazione fornisce una condizione ottimale per il susseguente processo di nitrificazione aerobica, così da ridurre i costi di funzionamento (Muller et al., 2003). È generalmente accettato che il processo di trattamento biologico delle acque reflue domestiche occupa una posizione estremamente importante tra le numerose fonti di protossido di azoto (N_2O) (Peter et al., 1995; Kong et al., 2002). Esso può aumentare sia l'effetto serra che il buco dell'ozono nella stratosfera. Il suo potenziale di riscaldamento globale (GWP) è 298 volte superiore a

quello dell'anidride carbonica (CO_2) e rimane in atmosfera per una durata di 114 anni (IPCC, 2007). La concentrazione atmosferica di N_2O è stimata essere di circa 314 parti per miliardo, che è circa il 16% superiore a quello durante l'era preindustriale, e continua a crescere ad un tasso del 0.25% all'anno (Kishida et al., 2004). È quindi di grande importanza sviluppare tecnologie in grado di sopprimere le emissioni di N_2O dai processi di trattamento delle acque reflue. È stato dimostrato che la produzione di protossido avviene sia durante la nitrificazione che la denitrificazione in un processo a fanghi attivi e successivamente rilasciato nell'atmosfera (Zheng et al., 1994; Tallec et al., 2008). La nitrificazione è l'ossidazione di NH_4^+ a NO_3^- via NO_2^- , ed il processo avviene in due fasi. L'ammoniaca viene dapprima ossidata a nitrito dai batteri ossidanti l'ammoniaca (AOB) e poi convertita in nitrato dai batteri ossidanti il nitrito (NOB) (Bock et al., 1986). L' N_2O è uno dei sottoprodotti della nitrificazione e ci sono due possibili meccanismi di produzione (Prosser, 1989). Alcuni batteri nitrificanti generano N_2O dalla riduzione di NO_2^- in condizioni di ossigeno limitante. In alternativa, può essere prodotto dalla decomposizione chimica di NO_2^- o da varie reazioni degli intermedi formati durante l'ossidazione dell' NH_4^+ (Ritchie e Nicholas, 1972). D'altra parte, l' N_2O è uno degli intermedi obbligatori nella denitrificazione. Tramite essa, l' NO_3^- è ridotto a NO_2^- dal nitrato reduttasi e viene poi ridotto a N_2O dal nitrito reduttasi. L' N_2O è finalmente ridotto ad azoto gas (N_2) dal protossido reduttasi (Kimochi et al., 1998). Si deve sottolineare che i denitrificatori possono utilizzare gli NO_2^- o gli NO_3^- prodotti durante la nitrificazione. Questa contemporaneità di nitrificazione e denitrificazione può verificarsi quando le condizioni sono favorevoli per entrambi i processi, in particolare nel settore dei fanghi attivi (Zeng et al., 2003). È stato riportato che la bassa concentrazione di ossigeno disciolto DO, il basso rapporto C/N, il pH basso, i brevi SRT o l'alta concentrazione di nitrito possono provocare un accumulo di N_2O durante il processo di rimozione dell'azoto biologico (Zheng et al., 1994; Gejlsbjerg et al., 1998; Kampschreur et al., 2009). Tuttavia, pochi studi sono stati riportati sull'effetto della frazione anossica/aerobica sull'emissione del protossido. Inoltre, la maggior parte degli studi sono stati compiuti alla temperatura ottimale per i nitrificatori e i denitrificatori, circa 25°C, mentre per la maggior parte dell'anno molti impianti di depurazione funzionano sotto questo valore. Lo scopo di questo lavoro è quello di valutare l'effetto della frazione anossica/aerobica sull'emissione di N_2O in un processo biologico di rimozione dell'azoto a bassa temperatura. A questo scopo, un reattore sequenziale batch a scala di laboratorio anossico/aerobico (A/O SBR) è stato operato sotto i $15 \pm 1^\circ\text{C}$. Gli esperimenti sono stati condotti a diversi valori di PF dopo un'adeguata acclimatazione. Inoltre, l'effetto della temperatura sull'emissione di N_2O è stato studiato dopo che la frazione di fase ottimale è stata selezionata.

2. Metodi

2.1 Acqua reflua sintetica

Il refluo sintetico con concentrazione di 300 mg/l di COD e di 60 mg/l di $\text{NH}_4^+\text{-N}$ era composto (per litro) da: 195 mg $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$; 195 mg $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$; 230 mg NH_4Cl ; 200 mg NaHCO_3 ; 11 mg KH_2PO_4 ; 18 mg $\text{K}_2\text{HPO}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O}$; 10 mg $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 10 mg $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 10 mg $\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 1 ml di soluzione nutritiva. Un litro di soluzione nutritiva conteneva: 0.15 g H_3BO_3 ; 0.03 g $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 0.18 g KI; 0.12 g $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 0.06 g $\text{Na}_2\text{MoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0.12 g $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0.15 g $\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$; e 10 g di EDTA (Zeng et al., 2003).

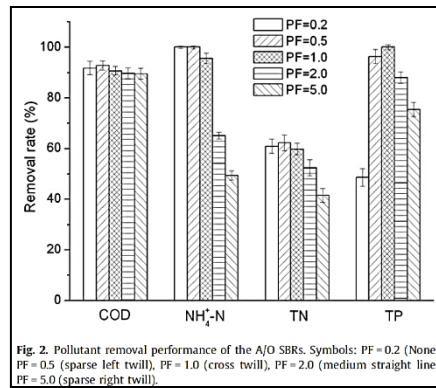
2.3 Metodi analitici

COD, $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$, TN, TP e MLSS sono stati misurati secondo i metodi standard (APHA, 1998). L'ossigeno disciolto è stato misurato con un misuratore DO (HQ30d53LDO™, USA) mentre il pH è stato misurato con un pH-metro (PHS-3C, Cina), entrambi ogni 10 minuti. La concentrazione di N_2O è stata determinata da un gas-cromatografo (SP-3410, Cina) con un rilevatore a cattura di elettroni (ECD) e una colonna Poropak Q, utilizzando 30 mL/min di azoto ad elevata purezza come gas di trasporto. Le temperature del rilevatore e del forno sono state stabilite a 360°C e 50°C, rispettivamente (Wu et al., 2009).

3. Risultati e discussione

3.1 Prestazione nella rimozione degli inquinanti

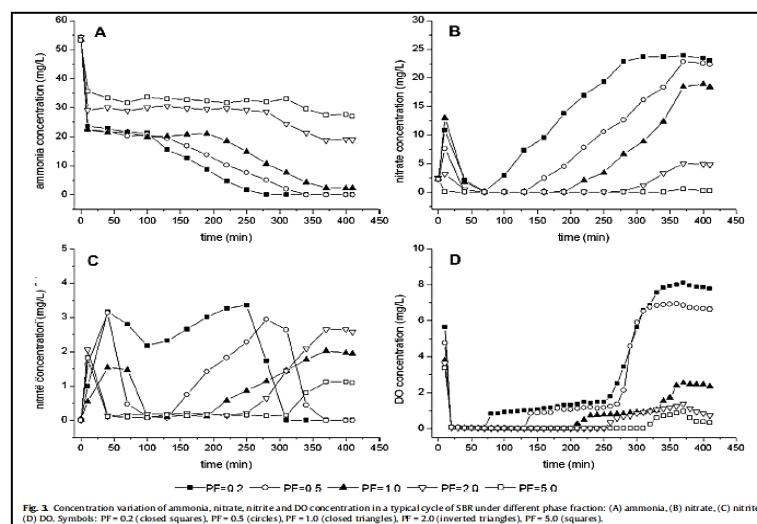
Le velocità di rimozione di COD, $\text{NH}_4^+\text{-N}$, TN e TP al variare della frazione di fase sono mostrate in Fig.2.



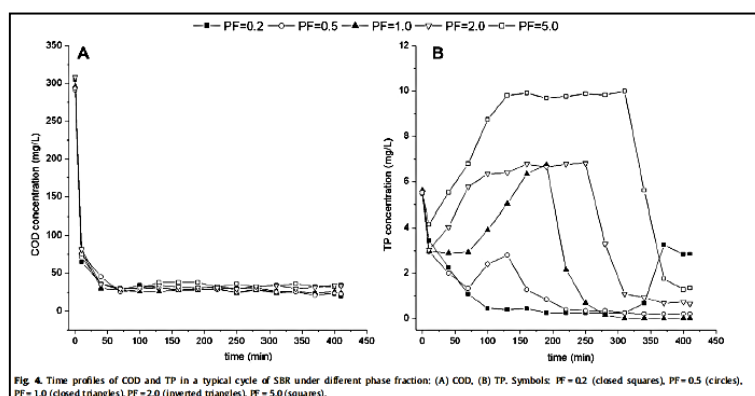
Le velocità di rimozione del COD sono state piuttosto simili, tutte intorno al 90%. Questo perché l'acqua di alimentazione utilizzata era composta da substrati facilmente degradabili, molti dei quali potevano essere consumati durante la prima ora della fase anossica. Quasi tutto l'azoto ammoniacale presente nell'influenza è stato rimosso quando la PF era 0.2 e 0.5. La sua velocità di rimozione è diminuita con l'aumentare della PF, principalmente a causa dell'incompleta nitrificazione. La massima rimozione del TN (il 62.6%) si è ottenuta a PF = 0.5. Durante lo studio con il sistema A/O SBR, l'azoto è stato rimosso principalmente attraverso la denitrificazione. A bassa PF (PF = 0.2), la velocità di rimozione del TN è diminuita a causa dell'incompleta denitrificazione anossica entro la prima ora. Alle alte PF, lo scarso rendimento di rimozione del TN può essere attribuito all'inibizione della denitrificazione dovuta alla mancanza di una fonte di carbonio, che è stato esaurito durante il tempo relativamente lungo della fase anossica. Tutto il TP nell'influenza è stato rimosso quando la PF era 1.0. A bassa PF, la diminuzione della rimozione del TP è stata causata dalla concorrenza tra i denitrificatori che operavano la denitrificazione via nitrato e il rilascio del fosforo da parte degli organismi fosforo accumulatori (PAOs) durante la fase anossica; invece la bassa velocità di rimozione del TP a più alta PF è stata causata dall'incompleto accumulo di fosforo in fase aerobica.

3.2 Caratteristiche della rimozione degli inquinanti

La Fig. 3 illustra l'andamento temporale delle concentrazioni di NH₄⁺-N, NO₃⁻-N, NO₂⁻-N e DO in un tipico ciclo di SBR a diverse PF. La concentrazione di ossigeno disciolto è stata mantenuta intorno a zero durante la fase anossica, fornendo una condizione favorevole per la denitrificazione (Fig.3D). La concentrazione di DO è aumentata rapidamente nel momento che l'aerazione è iniziata. Questo perché la velocità di consumo dell'ossigeno (OUR) del fango attivo era inferiore alla velocità di apporto di ossigeno (OSR). Dopo circa 10 minuti di ossigenazione, il DO ha raggiunto un "tetto". I differenti valori di PF hanno mostrato un simile "tetto di DO", che è stato di circa 0.9-1.2 mg/L. Ciò può essere causato dalla stessa velocità di aerazione utilizzata ai diversi PF. Questo valore limite si è mantenuto durante tutto il periodo di nitrificazione. Il valore di ossigeno disciolto è poi aumentato rapidamente alla concentrazione di saturazione, ad indicare la fine del processo aerobico di ossidazione. C'è stata la possibilità di utilizzare il "turn point" della curva DO per controllare il tempo di aerazione in modo da garantire il completamento della nitrificazione e allo stesso tempo ridurre il consumo di energia. In questo studio, il "turn point" è apparso quando la PF era inferiore a 1.0, indicando che il minimo tempo necessario per la completa nitrificazione in questo studio è stato 3 ore. Si può vedere dalla Fig. 3A che la concentrazione dell'NH₄⁺-N è rimasta invariata durante la fase anossica, mentre è diminuita drasticamente quando l'aerazione si è avviata.



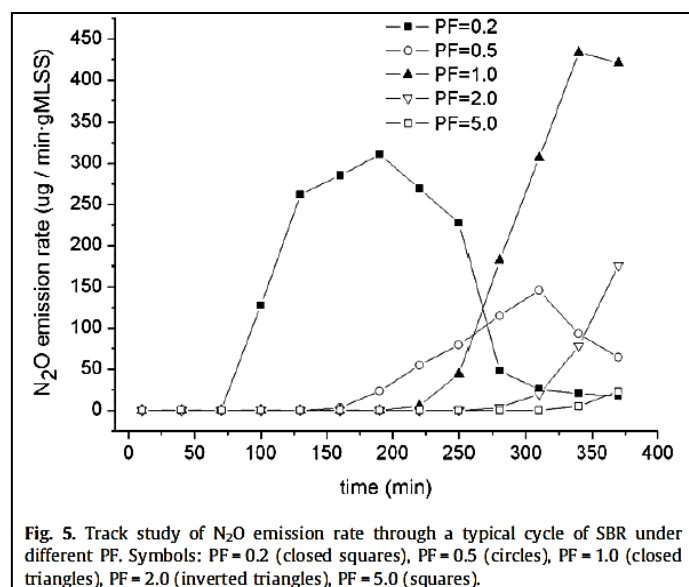
I valori della velocità di ossidazione dell'ammoniaca a diversi PF sono stati ottenuti dalle pendenze delle curve di regressione dell'ammoniaca in Fig. 3A e sono risultati essere 0.026, 0.022, 0.025, 0.022, e 0.022 mgN/(gMLSS min) quando la PF era rispettivamente 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 5.0. Questi valori tanto simili indicano che la differenza nel tempo di fase anossica e la concentrazione iniziale di ammoniaca hanno un leggero effetto sull'attività degli AOB. Questo spiega anche la somiglianza tra i valori limite di DO a diversi PF. Tutto l'azoto ammoniacale è stato rimosso quando la PF era 0.2 e 0.5, e la sua velocità di rimozione è diminuita con l'aumento della PF, poiché per garantire una completa ossidazione dell'ammoniaca era necessario un tempo relativamente lungo della fase aerobica, come già detto di 3 ore. Un accumulo significativo di nitriti è stato osservato durante la fase anossica, come si vede in Fig. 3C. Questo è avvenuto perché c'è stata una differenza nelle velocità di riduzione dei nitrati e dei nitriti, a causa della differenza di flusso di elettroni al nitrato e al nitrito riduttasi durante l'ossidazione delle fonti di carbonio (van Rijn et al., 1996). L'accumulo dei nitriti rilevato durante la fase di ossidazione è stato dovuto all'inibizione della nitrificazione, causata dalla presenza di ammoniaca libera (FA). È stato riportato che gli AOB e gli NOB si inibiscono in questo range di valori: 10-150 mg/L e 0.1-1.0 mg/L di FA (Anthonisen et al., 1976). Secondo l'equazione fornita da Aslan et al. (2009), la concentrazione della FA media calcolata nella fase iniziale della nitrificazione aerobica è stata 0.19, 0.17, 0.16, 0.20 e 0.20 mg/L quando la PF era rispettivamente 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 5.0. Per cui l'FA era superiore alla concentrazione soglia di inibizione degli NOB, ma al di sotto di quella di inibizione degli AOB, e quindi ha portato ad un accumulo di nitriti. I profili di concentrazione di COD e TP nell'SBR alle diverse PF sono rappresentati in Fig. 4. La fig. 4A mostra che quasi tutto il COD solubile fornito all'SBR è stato consumato durante la prima ora della fase anossica. Questo perché le fonti di carbonio utilizzate nel refluo sintetico erano acetato di glucosio e di sodio, che sono facilmente degradabili.



È ben noto che il maggior rilascio di fosforo da parte dei PAO durante la fase anossica significa più energia disponibile durante la successiva fase di ossidazione, portando dunque ad una maggiore velocità di rimozione del TP. Quando la PF è stata di 0.2, non è stato rilevato rilascio di fosforo durante la fase anossica; questo ha spiegato la notevolmente bassa rimozione del TP (Fig. 4B). Ciò è stato causato dalla concorrenza tra i denitrificatori e i PAO durante la fase anossica. Il rilascio del fosforo è stato rilevato anche quando la PF era superiore a 0.5. La concentrazione del fosforo rilasciato è aumentata con l'estensione del tempo di fase anossica. Tuttavia, maggiori frazioni di fase anossica non hanno portato ad una migliore rimozione del fosforo totale, probabilmente a causa della mancanza di tempo per l'accumulo di fosforo aerobico. La rimozione massima del TP (100%) è stata ottenuta quando la PF era 1.0.

3.3 Caratteristiche dell'emissione di N₂O

Per valutare l'effetto di PF sulle emissioni di N₂O, sono stati effettuati studi e i gas d'uscita sono stati raccolti e analizzati ad intervalli di 30 min. Le velocità di emissione dell'N₂O sono calcolate. La Fig. 5 mostra lo studio delle velocità di emissione del protossido attraverso un tipico ciclo dell'SBR a diversi valori di PF. Durante la fase anossica, è stata rilevata un'emissione molto piccola. Questo è avvenuto perché la pre-denitrificazione impiegata in questo studio ha creato un'ottimale condizione per la denitrificazione, e l'N₂O prodotto è stato immediatamente ridotto a N₂ tramite l'ossido nitroso riduttasi (N₂OR). Questo risultato è simile a quello di Shiskowski et al. (2004).



Durante tutta la fase aerobica, la velocità di emissione dell'N₂O è drasticamente aumentata dopo che l'aerazione è iniziata. Dal confronto tra la variazione di concentrazione dell'NO₂-N con la velocità di emissione dell'N₂O durante la fase aerobica (Figg. 3C e 5), si può dedurre che l'aumento dei nitriti ha un ruolo importante nella crescita delle emissioni del protossido d'azoto. Questo risultato è stato ben coerente con la ricerca di Beline et al. (2001). Questo perché la bassa velocità di aerazione utilizzata in questo studio ha portato alla simultanea nitrificazione e denitrificazione (SND) durante la fase aerobica. Alcune ricerche hanno dimostrato che la denitrificazione è il principale processo responsabile delle emissioni di N₂O durante le condizioni di simultaneità (Beline et al., 2001; Tallec et al., 2006). La velocità di emissione dell'N₂O a PF = 0.2 è stata molto superiore a quella di PF = 0.5, perché nel primo caso la concentrazione degli NO₂⁻-N era 2.8 mg/L dopo 1 ora di reazione anossica, indicando l'incompletezza della denitrificazione (Fig. 3C). Tallec et al. (2006) hanno riportato che l'emissione del protossido da SND è stata stimolata dall'aggiunta di nitriti, in particolare quando la concentrazione di DO era di circa 1 mg/L. L'elevata concentrazione di nitriti al termine della fase anossica ha agito come fosse un'aggiunta di nitriti per SND durante la fase aerobica e quindi ha condotto ad un'elevata emissione. La velocità di emissione a PF = 1.0 è stata anche superiore rispetto a quella di PF = 0.5. Questo perché il PHB è servito come donatore di elettroni per l'SND durante la fase aerobica poiché il COD solubile non era disponibile (Fig. 4A) (Terza et al., 2003). Questa ipotesi può essere supportata dall'alto rilascio di fosforo durante la fase anossica quando la PF era superiore a 1.0 (Fig. 3D). Zeng et al. (2003) ha riferito che, in questa condizione, gli organismi di denitrificazione DGAOs erano responsabili per la denitrificazione piuttosto che gli organismi di denitrificazione DPAOs, con N₂O come prodotto finale del processo. Le maggiori PF di 2.0 e 5.0 hanno mostrato una tendenza analoga di elevata velocità di emissioni, ma la quantità N₂O emesso era piccola a causa della incompleta nitrificazione. La Tabella 2 mostra le quantità di emissioni dell'SBR ponderate nel tempo a diverse PF, calcolate secondo l'equazione (3). Quasi tutto il protossido emesso è stato prodotto durante la fase aerobica. L'emissione più alta è stata ottenuta a PF = 0.2 a causa della incompletezza della denitrificazione in fase anossica. La seconda emissione più alta è stata rilevata a PF = 1.0 per l'esaurimento del carbonio facilmente degradabile durante la reazione anossica. La scelta ottimale sarebbe PF = 0.5 considerando le prestazioni di rimozione degli inquinanti insieme alla velocità di conversione dell'N₂O.

Table 2 N ₂ O emission per cycle of SBR acclimated under different PF.				
PF	N ₂ O emission during anoxic phase (μg)	N ₂ O emission during oxide phase (mg)	Total N ₂ O emission (mg)	N ₂ O-N conversion rate (%) ^a
0.2	25.1	203.8	203.8	27.5
0.5	25.7	71.2	71.2	9.8
1.0	32.1	155.1	155.1	20.8
2.0	96.2	24.2	24.3	3.2
5.0	99.6	2.6	2.7	0.4

^a N₂O-N conversion rate = (total N₂O-N emission)/(TN in the influent) × 100.

3.4 Effetto della temperatura sull'emissione di N₂O

Per valutare l'effetto della temperatura sulle emissioni di N₂O, i fanghi acclimatati alla PF ottimale (PF = 0.5) sono stati esposti a sei diverse temperature, esattamente a 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C e 35°C. Le emissioni di N₂O sono state

indagate dopo un'adeguata acclimatazione. Molto poco protossido è stato emesso quando la temperatura era di 10°C. Questo perché la nitrificazione e la denitrificazione sono state inibite quando la temperatura era inferiore a 15°C. Anche le velocità di rimozione dell'ammoniaca e dell'azoto totale (TN) erano molto basse a 10°C (dati non mostrati). Quando la temperatura è salita sopra i 15°C, l'emissione è diminuita con l'aumentare della temperatura. La quantità di emissioni di N₂O ponderata nel tempo è stata 630.4, 260.8, 218.3, 104.7 e 57.5 mg/gMLSS, rispettivamente quando la temperatura era a 15, 20, 25, 30 e 35°C. La quantità di emissioni di N₂O ponderata nel tempo a 15°C era 2.9 volte superiore rispetto a quella a 25°C. La temperatura influenza le emissioni di N₂O condizionando le velocità globali dei processi di nitrificazione e denitrificazione. Holtan-Hartwig et al. (2002) hanno dimostrato che la bassa temperatura influisce sull'N₂O riduttasi in misura maggiore rispetto agli enzimi che producono N₂O (NO₃⁻, NO₂⁻ e NO riduttasi); questo si traduce in elevati flussi di N₂O a basse temperature. Dal momento che molti impianti di depurazione sono gestiti quasi sempre a circa 15°C, sono necessari ulteriori studi per indagare i meccanismi di emissione del monossido di diazoto durante la rimozione dell'azoto biologico a basse temperature, così come servirebbero delle tecnologie in grado di sopprimere le emissioni di N₂O.

4. Conclusioni

Si è riscontrato che la frazione anossica/aerobica ha un impatto importante sulla rimozione degli inquinanti e delle emissioni di N₂O in un A/O SBR a bassa temperatura. Allungare l'aerazione porta ad una migliore rimozione dell'NH₄⁺-N ma la più alta rimozione di TN si è verificata a PF = 0.5 e la più alta rimozione di TP è stata ottenuta a PF = 1.0. Quasi tutto l'N₂O emesso è stato prodotto durante la fase aerobica del processo di nitrificazione e denitrificazione simultanea (SND). Contemporaneamente, tenendo conto del necessario miglioramento dell'efficienza nella rimozione degli inquinanti e nella riduzione delle emissioni di N₂O, nel presente studio la frazione di fase (PF) ottimale risulta essere 0.5. L'emissione è aumentata con la diminuzione della temperatura (15-35°C) e la quantità di emissioni di N₂O ponderata nel tempo, a 15°C era 2.9 volte superiore rispetto a quella a 25°C.

La seguente tabella riassume i principali parametri operativi e le caratteristiche delle prove descritte in questo paragrafo.

Tabella 2.2 Sintesi della letteratura sulle emissioni gassose.

Autore	Tipo di processo	Refluo testato	Scala	Volume	Condizioni operative				Fattore determinante nell'emissione									
					NH ₄ -N (mg/L)	NO ₂ -N (mg/L)	pH	FA (mg/L)	DO	kn (NH ₄)	Basso bCOD/N	Bassa temperatura	Condiz. ottimali	pH	FA	FNA	kn (NO ₂)	Frazione aerobica/anossica
Peng (2014)	SBR	S	L	8	18	0.5	7.5		X (fase aer)	X								
Law (2011)	SBR	S	L	8	1000	600	6-8.5	5		X				X	X			
Liang (2014)	SBR	S	L	3.2	30	25	7.8		X				X	X				
Law (2012)	SBR	S	L	8	500	550	7-8		X (fase aer)	X								
Gabarrò (2014)	PN-SBR	S	L	5	2000	1000	7.8	9			X					X	X	
Hua (2011)	A/O SBR	S	L	24	60	4		0.18	X		X	X					X	X

L: Laboratorio

S: Sintetico

3. Materiali e metodi

L'attività di ricerca è stata condotta principalmente presso la piattaforma sperimentale dell'Università Politecnica delle Marche situata all'interno dell'impianto di depurazione di Vallechiara di proprietà della Multiservizi S.p.a. localizzato presso il comune di Falconara Marittima (AN). La filiera di processo adottata in piattaforma ha lo scopo di riprodurre la sequenza di trattamento realmente applicabile in un impianto convenzionale per acque reflue urbane. Il processo biologico di nitrificazione/denitrificazione in continuo per la rimozione dell'azoto costituisce il *main process* della filiera. La sperimentazione è stata condotta in più fasi, distinte in base alla differente configurazione impiantistica adottata e tipologia di reagenti utilizzati per l'inibizione della biomassa. Il processo biologico è stato monitorato attraverso campionamenti medi e istantanei a cadenza giornaliera e settimanale, per l'analisi dei principali macro-parametri e per la caratterizzazione cinetica del fango. Nello specifico, la caratterizzazione chimico-fisica si è ottenuta analizzando COD (totale e solubile), ammoniaca, TKN (Total Kjeldahl Nitrogen), pH, alcalinità, TSS, fosforo totale, anioni e cationi (cloruri, nitriti, nitrati, ortofosfati, solfati, sodio, potassio, magnesio e calcio), mentre per quanto riguarda i fanghi biologici si sono monitorati MLSS e MLVSS. Inoltre, tali caratterizzazioni sono state affiancate da studi cinetici (per ottenere velocità di nitrificazione e di denitrificazione) e da studi dei cicli (per monitorare la variazione dei principali parametri del processo durante ogni momento del ciclo). Ogni configurazione adottata nell'impianto in scala pilota è sempre stata preceduta da approfondite e specifiche prove in scala di laboratorio per verificarne l'effettiva fattibilità e studiare le diverse migliorie da apportare al processo. L'installazione di un analizzatore di emissioni gassose ha permesso il monitoraggio in continuo di N_2O , NO , NO_2 , NH_3 , CO_2 e CH_4 dalla prima vasca delle due costituenti il reattore biologico.

Nel presente capitolo sono descritti i test preliminari, la struttura dell'impianto pilota, i materiali e i metodi utilizzati per le caratterizzazioni dei reflui, dei fanghi e delle emissioni gassose.

3.1. L'impianto di Vallechiara

L'impianto di depurazione di Vallechiara si trova in prossimità della zona aeroportuale e della raffineria Api (Figura 3.1), ha una capacità di 80.000 AE e tratta le acque del comune di Falconara Marittima, di parte di quello di Ancona e di alcuni comuni limitrofi come Camerata Picena, Chiaravalle, Monte San Vito, Montemarciano e Agugliano. L'impianto è gestito dalla Multiservizi S.p.a. che fornisce il servizio idrico integrato in 43 Comuni ed è gestore unico dell'Ambito 2 Marche-Centro.

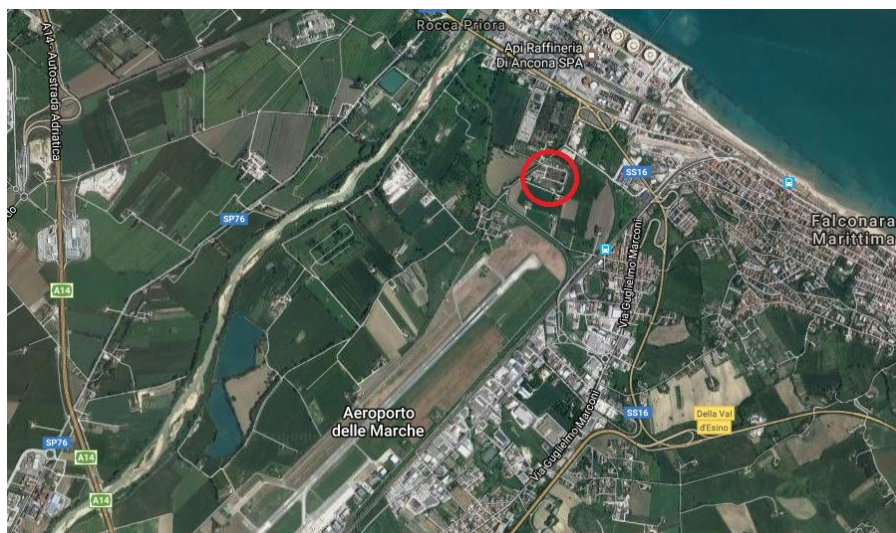


Figura 3.1 Localizzazione impianto di depurazione Vallechiara.

Il depuratore è formato da una linea fanghi e da una linea acque costituita da due linee completamente indipendenti ad eccezione della stazione di sollevamento e del cloratore; lo schema planimetrico dell'impianto è illustrato in Figura 3.2. I comparti che costituiscono la linea acque dell'impianto principale sono:

- Sollevamento;
- Pretrattamenti (grigliatura, dissabbiatura-disoleatura);
- Sedimentazione primaria;
- Sezione biologica (trattamenti a fanghi attivi);
- Sedimentazione secondaria;

- Disinfezione finale (clorazione).

Le acque reflue che arrivano in impianto dalla rete fognaria, prima di arrivare ai pretrattamenti, entrano nella stazione di sollevamento, che ha il compito di sollevare il refluo alla quota necessaria per farlo poi proseguire per gravità in tutti i processi successivi. I pretrattamenti si compongono di due operazioni: grigliatura e dissabbiatura-disoleatura. Queste unità svolgono una rimozione di tipo esclusivamente fisico e il loro compito è quello di preservare l'elettromeccanica del resto dell'impianto rimuovendo le frazioni grossolane in sospensione e le particelle fini della dimensione delle sabbie dal fluido liquido. Tale manufatto è diviso su due linee parallele che permettono l'eventuale chiusura di una di esse per manutenzione.

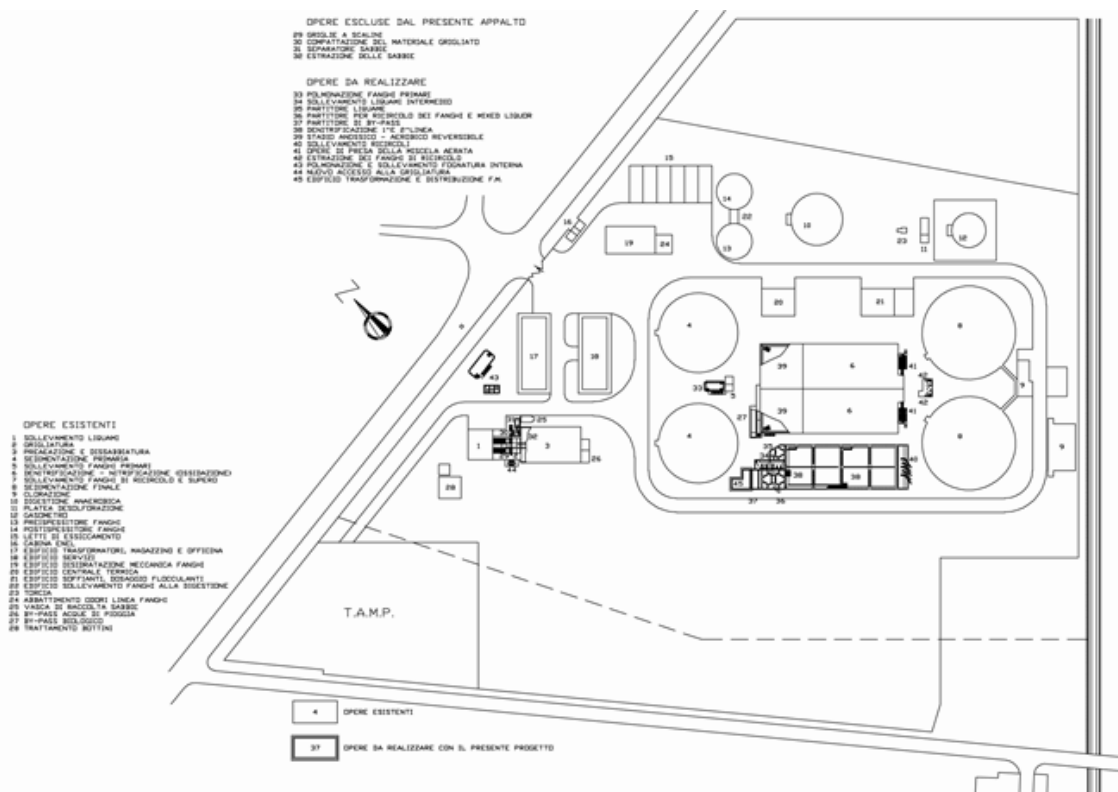


Figura 3.2 Planimetria impianto di depurazione Vallechiara.

Successivamente il refluo viene inviato ai sedimentatori primari i quali consentono di rimuovere i solidi sospesi presenti, con una resa che generalmente è del 50-70%, e una parte del carico organico (25-40% del BOD5). Essi sono formati da due vasche a sezione circolare con flusso radiale provviste di un carroponte a trazione periferica in continua e lenta rotazione che raschiando il fondo convoglia il materiale sedimentato al centro della vasca da dove viene poi pompato alla linea fanghi, e allo stesso tempo raccoglie le schiume che si formano in superficie, le quali vengono scaricate insieme ai fanghi prodotti dall'impianto. L'acqua chiarificata viene scaricata tangenzialmente per troppo pieno attraverso uno stramazzone concentrico rispetto alla circonferenza e trasportato ad un ripartitore che provvede a distribuire i flussi sulle due linee di depurazione biologica a pianta rettangolare (13.700 m3 di volume complessivo). Ciascuna linea del comparto biologico a fanghi attivi è costituita da due reattori in serie, una sezione di predenitrificazione e una zona di ossidazione-nitrificazione. La presenza di elettromiscelatori sommersi permette di mantenere in sospensione la biomassa nel comparto di predenitrificazione, mentre un sistema di fornitura d'aria collocato sul fondo vasca garantisce la corretta concentrazione di ossigeno necessaria alla reazione di ossidazione mediante diffusori tubolari a bolle fini realizzati in materiale ceramico. Un sistema automatico controlla quattro compressori (Robuschi mod. RBS LP120) sulla base della concentrazione di ossigeno disciolto presente nei reattori di nitrificazione. Dopo il processo biologico a fanghi attivi il refluo viene ripartito e inviato a due sedimentatori secondari, i quali rappresentano l'ultimo step del trattamento biologico. La loro struttura e il loro funzionamento sono molto simili a quelli dei sedimentatori primari; entrambi utilizzano lo stesso meccanismo di rimozione. Trattando però fanghi appena sottoposti ai trattamenti precedenti, e quindi più leggeri, necessitano di un carico idraulico superficiale di punta più basso rispetto ai sedimentatori primari per evitare la fuga di parte dei solidi. I sedimentatori secondari sono provvisti di un carroponte avente le stesse funzioni di quello per i primari e di due stazioni di pompaggio per ogni vasca: una per il ricircolo dei fanghi in testa al biologico ed una per i fanghi di supero che alimenta la linea fanghi. All'uscita dei sedimentatori secondari, il refluo ormai depurato, prima di essere scaricato nel corpo ricettore, viene mandato al cloratore per i processi di disinfezione tramite immissione di ipoclorito. Il comparto di disinfezione finale, costituito da un canale con setti che obbligano il flusso ad un percorso a chicane, è dimensionato in modo tale da garantire un tempo di contatto in vasca sufficiente per le reazioni biocide e l'ottenimento di concentrazioni di cloro residuo all'atto dell'uscita inferiori ai limiti normativi. Lo scarico finale delle acque trattate avviene nelle acque

superficiali dell'adiacente fosso Rigatta. La linea acque si completa con la rete di raccolta drenaggi che recapita nel pozzetto di testa dell'impianto.

La linea fanghi viene alimentata principalmente dai fanghi primari e di supero estratti dai sedimentatori. Il suo scopo è quello di stabilizzare il fango e ridurre al minimo il contenuto d'acqua. Il prodotto finale dei trattamenti è costituito dalla torta in uscita dalla disidratazione, la quale viene smaltita in discarica. La parte liquida estratta torna in testa impianto come surnatante attraverso la rete di fognatura interna.

La filiera dei processi in linea fanghi si sviluppa secondo lo schema seguente:

- Preispessitore;
- Digestore anaerobico mesofilo (DAM);
- Gasometro
- Postispessitore;
- Disidratazione meccanica (Dewatering).

Il preispessitore non è altro che una vasca di sedimentazione, in cui, anziché immettere liquame, viene caricato fango con concentrazioni di solidi elevate, ed in cui l'effetto gravitazionale consente un maggior addensamento delle particelle solide (ispessimento a gravità). Il preispessitore è dotato di ponte raschiante mobile ed il fango viene estratto con pompe monolite volumetriche. Dal preispessitore i fanghi vengono sollevati al digestore anaerobico mesofilo monostadio dove rimangono per circa 30 giorni. Qui avviene l'ulteriore abbattimento della frazione organica del fango, che comporta la produzione di biogas. La miscelazione dei fanghi nel digestore è realizzata da 3 compressori, che aspirano il biogas prodotto e, attraverso delle lance, lo insufflano di nuovo all'interno in quantità tale da creare la turbolenza necessaria, sia per favorire lo scambio termico fra i volumi di fango miscelati, sia per evitare l'occlusione della tubazione di evacuazione fanghi dal cono di raccolta in fondo al digestore. Il processo viene mantenuto a temperatura costante (circa 35°C) attraverso un sistema di ricircolo fanghi allo scambiatore di calore. Dopo opportuni trattamenti per la rimozione di condense e di desolforazione il biogas prodotto viene stoccato all'interno di un gasometro a campata flottante. A corredo di tale unità sono installati tutti i dispositivi di sicurezza necessari a limitare l'insorgere di incidenti. Il biogas viene utilizzato come combustibile per alimentare una caldaia che attraverso un gruppo di cogenerazione è in grado di produrre energia elettrica da reimpiegare all'interno dell'impianto stesso e energia termica per il mantenimento della temperatura di esercizio del digestore. I fanghi in uscita dal digestore anaerobico alimentano per caduta il postispessitore nel quale subiscono un ulteriore ispessimento. L'ultima unità di trattamento della linea fanghi è la disidratazione che, attraverso l'impiego di polielettrolita, facilita l'estrazione dell'acqua dal fango nella centrifuga. La parte solida rimanente costituisce la torta che viene raccolta in appositi cassoni prima dello smaltimento in discarica.

Inoltre, all'interno dell'impianto di Vallecchiara è presente una piattaforma di pretrattamento rifiuti liquidi extra fognari (REF). La piattaforma tratta rifiuti liquidi non pericolosi per una portata massima autorizzata di 350 m³/d, quali percolati di discarica, fanghi di fosse settiche, rifiuti prodotti dalla pulizia delle fognature e reflui non autorizzati allo scarico diretto in pubblica fognatura. I rifiuti liquidi sono conferiti in impianto mediante trasporto su gomma e sono distribuiti su due distinte linee di trattamento. La filiera di processo si compone di:

- Stazione di scarico bottini;
- Pretrattamenti (grigliatura e dissabbiatura);
- Trattamento chimico fisico della fase liquida (flash mix, coagulazione, miscelazione lenta);
- Sedimentazione e separazione dei fanghi dal chiarificato;
- Accumulo in equalizzatore del chiarificato;
- Trattamento biologico in reattore ad aereazione intermittente;
- Affinamento con trattamento terziario di ultrafiltrazione su membrana;
- Trattamento terziario di adsorbimento su carbone attivo;
- Invio dell'effluente all'impianto tradizionale.

3.2. La piattaforma sperimentale

L'impianto, collocato all'interno del depuratore Vallecchiara (Figura 3.3) in un'area di pertinenza dell'Università Politecnica delle Marche, nasce da un progetto che ha visto la collaborazione della stessa con l'Università di Verona e l'Università di Padova. La struttura inaugurata il 21 settembre 2012 è stata finanziata dalla Fondazione CariVerona nell'ambito del progetto triennale intitolato "Biomasse di oggi e di domani: dai reflui zootecnici e dalle microalghe, un contributo all'agricoltura sostenibile e all'energia rinnovabile". Una platea in cemento armato che occupa una superficie totale di 120 m² (8x15 m), sormontata da una tettoia con struttura in acciaio, e un container metallico coibentato di 14.4 m² (2.4x6 m) suddiviso in due ambienti, uno adibito ad ufficio e l'altro a locale quadri elettrici e compressori, costituiscono i manufatti utilizzati per la sperimentazione (Figura 3.4).

Il layout di processo applicato, riorganizzato in seguito alla conclusione del sopracitato progetto, consta delle seguenti unità:

- Condotta di captazione del refluo dall'impianto di trattamento principale;
- Serbatoio di accumulo e miscelazione dell'influente;
- Processo biologico;

- Sedimentatore secondario;
- Serbatoio di accumulo dell'effluente e scarico nella fognatura interna dell'impianto principale.



Figura 3.3 Localizzazione piattaforma sperimentale.



Figura 3.4 Piattaforma sperimentale.

Il refluo prelevato a valle dei pretrattamenti dell'impianto principale giunge fino alla piattaforma pilota dove viene stoccato in un serbatoio di accumulo del volume di 5 m³ realizzato in PEAD (Figura 3.5). Il carico dell'influente viene effettuato seguendo la *seasonal* delle portate entranti nell'impianto principale, cioè scaglionando le fasi di carico durante le ore diurne (dalle 07:00 alle 00:00) in cui le concentrazioni influenti risultano più alte, in modo tale da arrivare alla 00:00 con il serbatoio pieno ed evitare di caricare concentrazioni diluite durante la notte. Il serbatoio è corredato di galleggianti per il controllo del livello interno che comandano accensioni e spegnimenti delle utenze in caso di malfunzionamenti. Inoltre, all'interno del serbatoio una pompa trituratrice sommersa garantisce il continuo mescolamento del refluo stoccato. Le accensioni di tale pompa sono state temporizzate in modo da impedire la sedimentazione dei solidi sul fondo del serbatoio e limitare fenomeni di strippaggio dell'ammoniaca presente nel refluo.

Per mezzo di una pompa monovite, che lavora secondo delle tempistiche prestabilite in modo tale da avere una portata influente di 8.6 m³/d (3 minuti ON/5 minuti ciclo), il refluo raggiunge i reattori di trattamento biologico.



Figura 3.5 Serbatoio stoccaggio influente e reattore biologico.

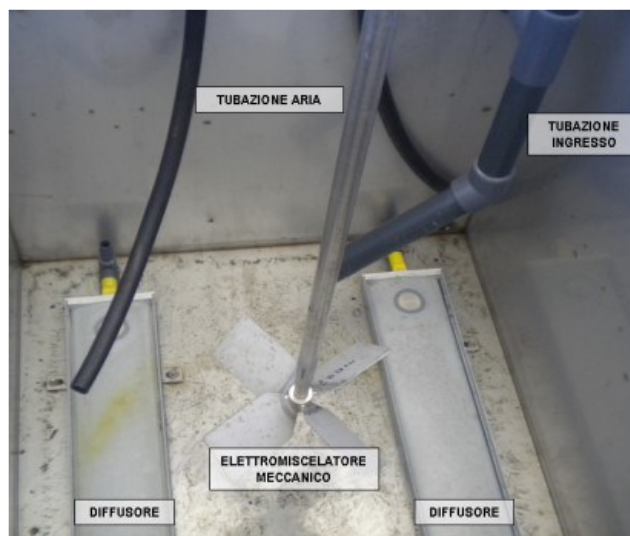


Figura 3.6 Interno reattore biologico: elettromeccanica e diffusori.

Il comparto biologico è costituito da tre vasche in acciaio inox in serie (Figura 3.5), le quali possono essere modellizzate come dei reattori ideali CSTR (*Continuous Stirred Tank Reactor*). Per il seguente lavoro di ricerca solamente le prime due vasche sono state utilizzate, by-passando attraverso apposite valvole il terzo reattore. Il volume utile complessivo dell'unità è di 2.88 m³ (1.50 m³ la prima vasca e 1.38 m³ la seconda). L'influente viene caricato dall'alto mentre l'alimentazione dei successivi due comparti avviene per gravità grazie ad una differenza di battente idraulico di 10 cm tra le aperture di ingresso e uscita delle vasche, che sono collegate da tubazioni esterne di 5 cm di diametro. La struttura che supporta le vasche è stata realizzata in acciaio ed ha la funzione di assicurare una quota piezometrica sufficiente a scaricare per gravità il mixed liquor nel sedimentatore secondario. Questa è inoltre dotata di pedana posta lateralmente ai comparti,

raggiungibile dal personale, che permette il monitoraggio del processo biologico e facilita inoltre gli interventi di manutenzione e pulizia delle sonde e delle dotazioni interne ai comparti. Ogni vasca è equipaggiata con due diffusori a piastra a bolle fini con membrana in materiale sintetico poliuretano assicurati al fondo e di un elettromiscelatore meccanico per mantenere il sistema in agitazione durante la fase anossica (Figura 3.6). Il *piping* per la fornitura d'aria, realizzato in acciaio zincato, è indipendente per ciascuna delle vasche e la potenza necessaria a garantire la corretta fornitura di ossigeno è stata assicurata dai 5 compressori presenti (un sesto compressore con la funzione di riserva) da 0.25 kW e da 0.55 kW. Ogni vasca è inoltre dotata di proprio punto di prelievo al fondo, così come di un sistema di tubazioni per il dosaggio tramite pompe a pistone di reagenti esterni per il mantenimento delle condizioni operative necessarie. È stato predisposto anche un apparato per il riscaldamento dei reattori composto da una serpentina di tubazioni per il ricircolo di acqua calda prodotta da un boiler elettrico. Lo scopo primario è quello di evitare che durante i mesi invernali la temperatura del refluo contenuto nelle vasche scenda al di sotto dei 15°C compromettendo sensibilmente l'attività dei batteri presenti nella biomassa. Adiacenti alla pedana della piattaforma sono collocate le cisterne da 1 m³ in HDPE per lo stoccaggio e distribuzione dei *chemicals* (Figura 3.7).



Figura 3.7 Cisterne stoccaggio reagenti.



Figura 3.8 Sedimentatore secondario e raschiatore.

L'effluente dal processo biologico è convogliato per gravità al sedimentatore secondario (Figura 3.8) di forma circolare, diametro 1,3 m e volume pari a 0,5 m³. L'immissione del liquame avviene dal centro mediante una tubazione che porta ad un deflettore verticale di forma cilindrica, che ha la funzione di distribuire uniformemente il refluo e di agevolare la separazione dei solidi sospesi, mentre l'uscita del chiarificato avviene per sfioro lungo la circonferenza esterna dotata di bordo a profilo Thomson. La raccolta del fango sedimentato viene effettuata attraverso un raschiatore, che strisciando lungo le pareti con movimento rotatorio, convoglia il fango nella zona a tramoggia posta sul fondo. Per non sollevare il fango sedimentato e non inficiare la sedimentazione, la velocità di rotazione è mantenuta tramite motoriduttore nel range di 3-7 cm/s. Il comparto di sedimentazione finale è equipaggiato con due pompe monovite, una per il ricircolo del fango biologico in testa alla prima vasca, e l'altra per l'estrazione del fango di supero, per garantire che il sistema lavori ad un adeguato SRT (Figura 3.11). L'effluente chiarificato viene convogliato in un serbatoio di raccolta realizzato in polietilene ad alta densità da 1 m³ e poi scaricato nella rete fognaria dell'impianto.

La piattaforma si completa di una struttura separata, composta da un locale in cui sono presenti i compressori e le schede di acquisizione cablate al quadro elettrico generale, e da un locale adibito ad ufficio per gestire tutti i segnali dell'elettromeccanica installata.

Si riportano di seguito la disposizione planimetrica e lo schema di flusso delle varie operazioni unitarie.

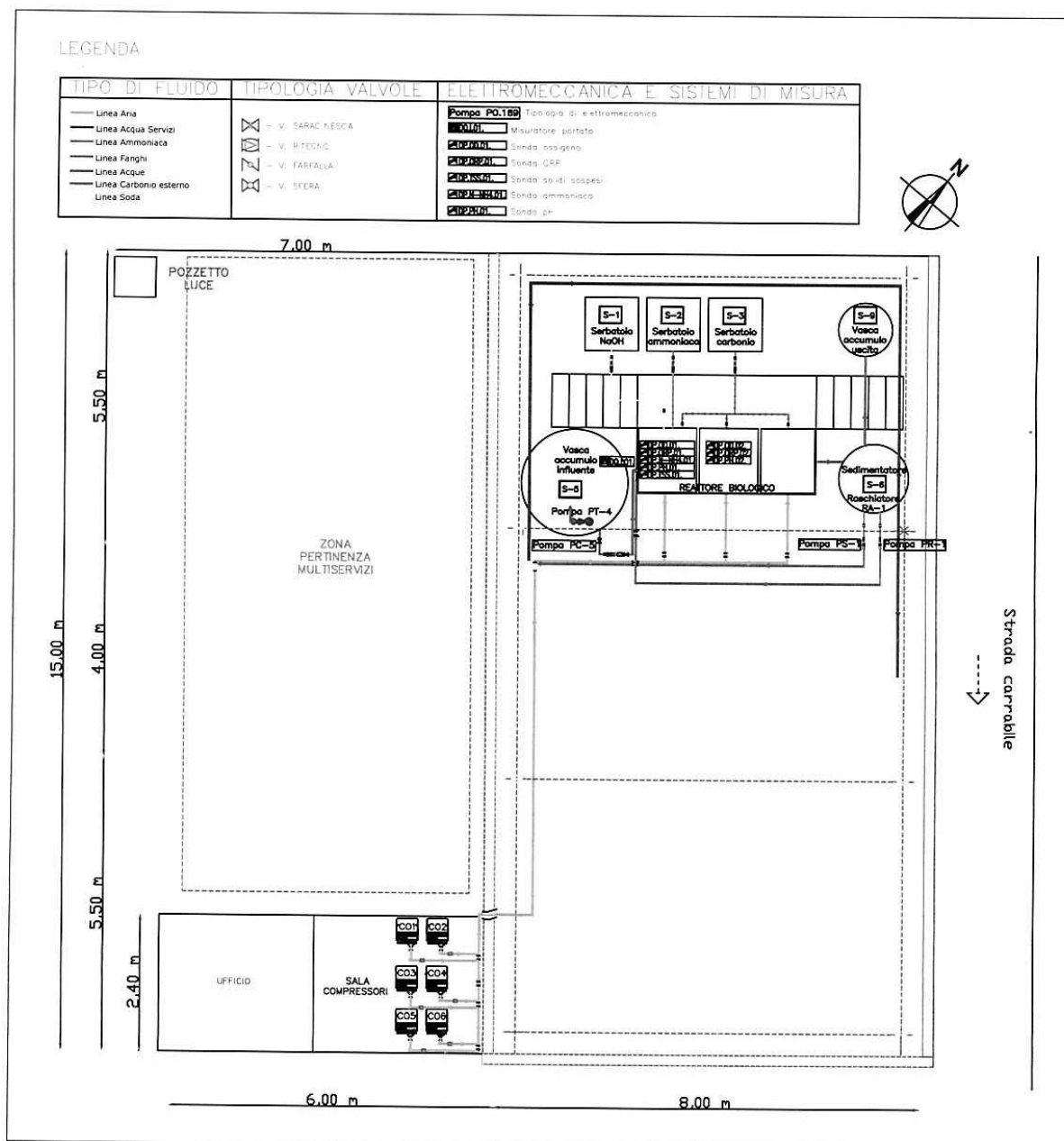


Figura 3.9 Planimetria piattaforma sperimentale.



Figura 3.11 Pompa di supero (sx) e di ricircolo (dx).



Figura 3.12 Centraline e sonde.

Tutte le vasche sono dotate di una coppia di sonde per il monitoraggio in continuo dell'ossigeno disciolto OD e del potenziale di ossidoriduzione ORP, necessarie alla regolazione e al controllo del processo. Inoltre sono state installate in campo anche sonde per l'acquisizione dei segnali di pH, temperatura, MLSS e concentrazione di ammoniaca. Ogni sonda è collegata ad una centralina (Figura 3.12), la quale tramite cavo coassiale trasmette i segnali ad un sistema automatico di gestione e acquisizione dati. I modelli di sonde utilizzati sono stati (marca – modello):

- Ossigeno disciolto (Chemitec – DO Serie 4283);
- Potenziale di ossidoriduzione (Chemitec – ORP Serie 4283);
- Mixed liquor suspended solids (Chemitec – TSS Serie 4283);
- Ammoniaca (Hach Lange – AISE sc);
- pH e temperatura (Hach Lange – PHD sc).

Le sonde prodotte dalla Chemitec sono state collegate a centraline della stessa casa produttrice modello 42Series, mentre per quelle Hach Lange sono state utilizzate centraline modello sc100 per le sonde di pH e modello sc200 per la sonda per il controllo della concentrazione di ammoniaca, sempre prodotte dalla Hach Lange. Di seguito si illustrano nello specifico le modalità di funzionamento e le caratteristiche delle sonde per l'acquisizione dei dati.

Ossigeno disciolto

Le sonde per la misura dell'ossigeno disciolto (DO – Dissolved Oxygen) sono uno strumento necessario in tutti gli impianti di trattamento acque, in quanto permettono di controllarne la concentrazione nelle diverse unità e di valutare se questa è sufficiente per il corretto funzionamento del processo. Sicuramente ricoprono un ruolo chiave nel comparto di trattamento biologico. Il valore di ossigeno disciolto, non solo può fornire indicazioni sulla sussistenza o meno di condizioni ideali per la nitrificazione, ma può evidenziare il momento esatto in cui tutta l'ammoniaca presente nel mixed liquor è stata nitrificata: infatti nel profilo del DO è possibile individuare un punto di flesso in corrispondenza della completa rimozione dell'ammoniaca. Le sonde DO rappresentano pertanto uno strumento attivo di controllo del processo, fondamentale per la gestione dello stesso e per l'ottimizzazione dei consumi energetici. La sonda per la misura dell'ossigeno impiegata nell'impianto pilota (Figura 3.13) sfrutta un sistema di tipo polarografico a due elettrodi. Il sistema è costituito da un corpo sonda in materiale metallico e da una cella di misura tipo Clark composta da un anodo in argento avvolto da un cavo in platino che funge da catodo, il tutto immerso in una soluzione di cloruro di potassio (KCl) contenuta in un cappuccio chiuso sul fondo da una membrana in OPTIFLOW, permeabile ai gas, ed in particolare all'ossigeno presente nel liquido in cui viene immerso l'elettrodo. Questa membrana, realizzata come una lamina intorno ad uno strato di acciaio, è molto stabile meccanicamente e ha un'ottima resistenza agli ambienti aggressivi chimicamente così come alle condizioni di pressione elevate. L'ossigeno dell'acqua diffonde attraverso la membrana nell'elettrolita e dagli elettrodi, a cui viene applicata una tensione di 790mV, viene ridotto a ione idrossile (OH^-) al catodo mentre all'anodo si deposita cloruro d'argento (AgCl). Queste reazioni provocano un flusso di corrente con intensità proporzionale alla pressione parziale di ossigeno, quindi alla concentrazione contenuta nel campione. La corrente viene rilevata dal sensore e convertita in concentrazione di ossigeno disciolto espressa come mg/L.



Figura 3.15 Sonda Chemitec – TSS Serie 4283.



Figura 3.16 Sonda Hach Lange – AISE sc.



Figura 3.17 Sonda Hach Lange – pHD sc.

Ammoniac

Un sistema di controllo del processo basato solamente su parametri idraulici non è sufficiente a garantire una migliore performance ed una riduzione dei costi energetici. Per tali motivi è importante avere un'informazione in continuo e in tempo reale di un parametro chiave come l'andamento della concentrazione di ammoniaca in vasca. La sonda installata in impianto è la sonda AISE sc della Hach Lange (Figura 3.16), dotata di un elettrodo ionoselettivo potenziometrico. L'elettrodo ionoselettivo è costituito da un involucro a forma cilindrica che contiene un conduttore metallico immerso in una soluzione di riferimento a concentrazione nota e costante. Una sottile membrana, disposta nella parte terminale dell'elettrodo, permeabile alla specie da analizzare, fa in modo che all'equilibrio si stabilisca una differenza di potenziale fra la soluzione interna e quella in cui è immerso l'elettrodo dovuta alla differente concentrazione dell'analita. Mediante un potenziometro viene misurata la differenza di potenziale tra l'elettrodo indicatore sensibile allo ione da determinare ed un elettrodo di riferimento a potenziale noto e costante. Una peculiarità della sonda è la presenza di un ulteriore elettrodo che permette di eliminare selettivamente l'interferenza dovuta allo ione potassio, che interferirebbe nella lettura della concentrazione dell'ammoniaca causando un elevato errore di misura.

pH e temperatura

Questi parametri influenzano notevolmente la funzionalità dei processi biologici agendo su diversi meccanismi. Dal punto di vista biochimico pH e temperatura influenzano la velocità delle reazioni enzimatiche sia cataboliche che anaboliche poiché ogni enzima ha un suo optimum di attività ad un determinato pH ed entro un certo range di temperatura, al di fuori dei quali la velocità di reazione diminuisce. Ciò significa in ultima analisi un rallentamento della crescita batterica o dell'utilizzo dei substrati che si ripercuote perciò sull'efficienza di depurazione degli inquinanti in soluzione. La sonda pH sc della ditta Hach Lange (Figura 3.17) consente di monitorare il pH del refluo grazie alla tecnica di misura a elettrodi differenziali e un sensore termometrico a resistenza per la temperatura. Questa tipologia di sensore utilizza tre elettrodi al posto dei due normalmente adoperati nei sensori per pH/ORP tradizionali. Gli elettrodi di processo e di riferimento misurano il pH/ORP in modo differenziale rispetto a un terzo elettrodo di terra. Il risultato finale permette di coniugare un'accuratezza e affidabilità di misurazione maggiori con tempi di fermo e manutenzione ridotti. L'elettrodo è costituito da una sottile membrana di vetro (sensibile agli ioni H^+); il potenziale elettrico che si viene a creare sui due lati, interno ed esterno, della membrana è funzione del pH della soluzione in cui la sonda viene immersa. Il sensore si compone di un tubo di vetro incamiciato da un tubo esterno in cui sono contenuti un filo d'argento, del cloruro d'argento e una soluzione elettrolitica a base di cloruro di potassio che fungono da elettrodo di riferimento. L'elettrodo di misura, contenuto nel tubo interno, è anch'esso costituito da un filo d'argento, del cloruro d'argento e un elettrolita. Il tubo interno è in contatto con la soluzione del campione da misurare attraverso una membrana di vetro sottile posta alla sua estremità; il tubo esterno è in contatto con la soluzione del campione da misurare attraverso un diaframma poroso che funge da ponte salino. Sulla faccia interna della membrana, la soluzione presente è una soluzione tamponata a pH noto e fisicamente isolata dall'ambiente esterno, sulla faccia esterna la soluzione è quella sottoposta a misura, se è acida si avrà un accumulo di ioni H^+ sullo strato superficiale della membrana, se è basica si avrà un impoverimento di ioni H^+ sullo strato superficiale della membrana. Il potenziale elettrico registrato dall'elettrodo è dovuto a questo squilibrio tra gli ioni H^+ presenti sugli strati superficiali interno ed esterno della membrana. Tale potenziale, inviato ad un pH-metro, viene amplificato e visualizzato in unità di pH corrispondenti una volta eseguita la compensazione del valore con la temperatura.

3.3. Il sistema di telecontrollo per il monitoraggio del processo biologico

Il controllo del processo ad aerazione intermittente si basa sulla correlazione tra le forme azotate presenti in fase liquida e i segnali di DO e ORP monitorati dalle sonde in vasca. La gestione delle diverse fasi prevede che, se durante la fase anossica il sistema rileva un flesso nel profilo dell'ORP, viene accesa l'aerazione e inizia la fase aerobica. Viceversa, rilevando un punto di flesso nel profilo dell'DO o dell'ORP durante la fase aerobica, il sistema comanda lo spegnimento delle soffianti. Nel caso in cui il sistema non rilevi i flessi nei profili di DO e ORP, a causa di bassi carichi in ingresso, condizioni di sovraaerazione, sottoaerazione o malfunzionamenti, la logica di controllo garantisce l'alternanza delle fasi

basandosi sul raggiungimento di specifici valori di set-point ma anche su durate di tempo minime e massime. La procedura, mediante il controllo della variazione nel tempo dei segnali permette:

- La regolazione del regime dei compressori volumetrici necessario alla fornitura di aria per l'ossidazione;
- Il cambiamento dei sistemi di elaborazione dei segnali secondo parametri prefissabili e modificabili dall'operatore;
- Di riconoscere la fine delle singole fasi, regolando di conseguenza i compressori e garantendo prestazioni elevate nella rimozione dell'azoto e nella riduzione dei consumi energetici.

Il processo di rimozione dei nutrienti e tutte le unità installate sono gestite in modalità automatica da un sistema informatizzato di monitoraggio SCADA (*Supervisory Control And Data Acquisition*) il quale permette l'invio di segnali codificati su linee di comunicazione dedicate così da poter fornire il controllo di macchinari e processi. Al sistema di controllo è affiancato un sistema di acquisizione dati che permette di ottenere informazioni in tempo reale sullo stato di funzionamento delle diverse utenze installate (stato delle macchine, allarmi, funzionamento automatico/manuale, sonde e misuratori). Il sistema SCADA si compone di:

- Rete di sensori che monitora il funzionamento e lo stato dei macchinari e dei processi. Legati ai sensori troviamo le *remote terminal units* o RTU, il cui compito è raccogliere i dati rilevati dai sensori e trasformarli in segnali digitali da inviare alla postazione di controllo remota;
- Alla rete di sensori e RTU è collegato un *programmable logic controller* o PLC, che ha il compito di supervisionare la raccolta di informazioni, fornendo istruzioni sia alle RTU sia ai sensori. È il PLC (ACP2040HT) a indicare alla rete di sensori quali sono gli intervalli di tempo nei quali effettuare le misurazioni e controllare i valori dei macchinari;
- Al vertice della "catena informatica" del sistema SCADA si trova un server di controllo che, con l'aiuto di un software apposito (EasyGestWWTP prodotto dalla Chemitec Sistemi S.r.l., Figura 3.18), raccoglie periodicamente i dati dal PLC, li elabora per ottenerne informazioni utili e memorizza le informazioni sul disco;
- L'invio dei dati dal PLC al server di controllo del sistema è effettuato tramite linea LAN di comunicazione dedicata;
- Il computer supervisore visualizza a schermo, tramite semplice e intuitiva interfaccia grafica uomo-macchina, i dati elaborati e permette di dialogare col sistema tramite l'uso delle classiche periferiche HMI (mouse, tastiera, display).



Figura 3.18 Interfaccia grafica EasyGestWWTP.



Figura 3.19 Pannelli di controllo del processo biologico.

Nello specifico tramite il software è possibile (i) acquisire lo stato attuale dell'impianto dalle schede collegate; (ii) visualizzare lo stato attuale (stati, allarmi e misure) delle utenze su apposite schermate; (iii) modificare i parametri di funzionamento delle logiche impostate; (iv) impostare i segnali di stato e di allarme per ogni utenza e, per le misure, i valori di set-point, visualizzando ogni parametro tramite grafici e memorizzando il tutto in un archivio storico per una semplice consultazione successiva; (v) rilevare e visualizzare eventuali condizioni di allarme dovute a cambiamento di stato o a superamento di set-point delle misure, memorizzandone lo storico. Entrando nel dettaglio, la situazione dell'impianto può essere desunta acquisendo i segnali disponibili che fondamentalmente possono essere di due tipi: digitali e analogici. Per rendere questi segnali fruibili dal sistema SCADA è stato necessario installare delle specifiche interfacce, ovvero:

- Schede di acquisizione (2040DI) e attuazione (2040DO) digitale per la gestione dello stato delle macchine, allarmi, funzionamento automatico/manuale;
- Schede di acquisizione (2040AI) e attuazione (2040AO) analogica per la gestione dei segnali provenienti da sonde, misuratori di portata e di livello e per il controllo delle regolazioni di alcune macchine.

A seconda della tipologia, ogni scheda è dotata di un certo numero di canali di ingresso e uscita dei segnali. Ogni scheda è stata opportunamente programmata e ad ogni canale è stato assegnato un numero identificativo in modo che il software EasyGestWWTP riesca a comunicare con le diverse utenze tramite porta seriale tipo RS-485 di cui le schede di acquisizione e la scheda nodo ACP2040HT sono dotate. Il software di controllo dispone di un sistema *watch-dog* telematico per controllare lo stato di funzionamento dell'intero impianto; nel caso in cui si verifichi un'anomalia, il

watch-dog modifica il funzionamento dell'elettromeccanica a servizio del processo a cicli, da modalità automatica a semi-automatica. Nel caso di funzionamento in modalità semi-automatica il carico dell'influente viene interrotto e l'alternarsi delle fasi è comandata da un temporizzatore. Oltre a questo, tramite una connessione internet e un apposito programma (TeamViewer), è garantito il controllo da remoto, mediante il quale è possibile visualizzare i dati attuali e storici, i grafici e le statistiche. Di seguito sono mostrate le schermate del software di gestione per le linee del comparto biologico e per le utenze personalizzate. Come si può notare dai pannelli dedicati alle linee del comparto biologico (Figura 3.19), tutti i segnali provenienti dalle sonde installate nelle vasche sono raggruppati sul lato destro in modo da avere una visuale globale delle misure acquisite. Inoltre, andando a cliccare sui valori registrati dalle sonde, è possibile visualizzare il grafico dell'andamento nel tempo del segnale scelto, eventualmente selezionando uno specifico intervallo temporale. Nella parte superiore di ogni pannello di visualizzazione, è presente la denominazione delle unità elettromeccaniche installate nell'impianto. I segnali di stato, di allarme e di comando riportati sotto ad ogni etichetta identificativa ci permettono di conoscere la condizione di lavoro cui ogni macchina è sottoposta.

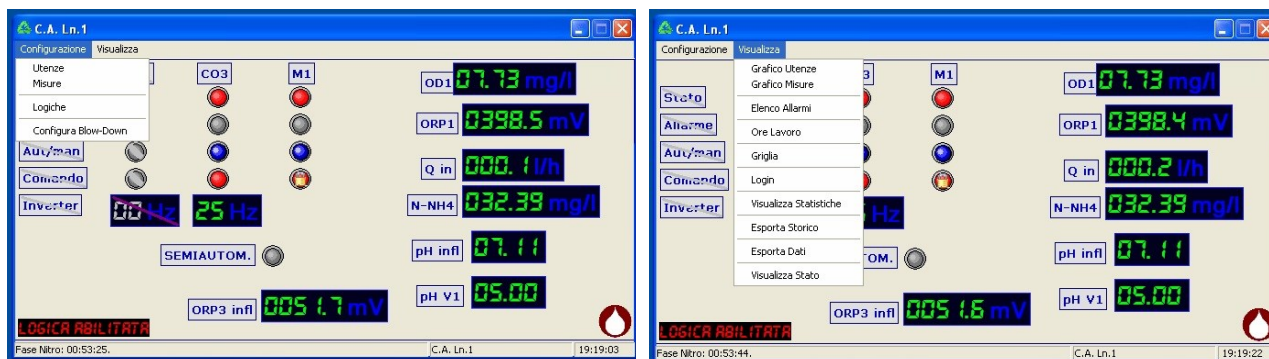


Figura 3.20 Opzioni dei pannelli di controllo.

I pannelli di controllo consentono la gestione, il controllo e la rielaborazione di più dati, come descritto in seguito. Nello specifico, selezionando la funzione “Configurazione” è possibile gestire:

- Utenze e misure: consentono di modificare la schermata di visualizzazione inserendo le dotazioni elettromeccaniche e le sonde di misurazione utilizzate nell'impianto e di rimuovere quelle disabilitate;
- Logiche: permette di impostare le logiche di funzionamento (attivazione, spegnimento) delle diverse utenze.

Mentre l'opzione “Visualizza” permette di utilizzare le seguenti funzioni:

- Grafico utenze: permette di visualizzare il funzionamento delle varie utenze;
- Grafico misure: grafici visualizzabili cliccando direttamente sulle misure;
- Elenco allarmi: consente di visualizzare lo storico di tutti gli allarmi;
- Visualizza statistiche: permette di consultare le statistiche del processo, distinte per fase aerobica e fase anossica. In particolare sono mostrate durata minima, durata massima, durata media e le condizioni generali di fine ciclo (condizione ottimale [%], ODmax [%], ORPmax [%], ORPmin [%] e tempo max [%]);
- Esporta storico ed esporta dati: per scaricare tutti i dati nel lasso di tempo scelto;
- Visualizza stato: schermata riassuntiva della situazione generale del comparto biologico.

Tutto ciò permette il monitoraggio in tempo reale del processo, garantendo un rapido intervento per il ripristino delle condizioni ottimali di lavoro. Per poter analizzare il funzionamento del processo il software crea un archivio delle informazioni relative alle condizioni ed ai motivi che hanno determinato il cambiamento di fase, generando delle statistiche di funzionamento. Si possono quindi conoscere informazioni relative alle durate minime, medie e massime di ogni fase, nonché le condizioni percentuali che hanno determinato la fine del ciclo. Con riferimento alla logica di processo, si è optato per una “logica indipendente” secondo la quale ognuna delle linee è autonoma e regolata dai rispettivi parametri monitorati dalle coppie di sonde DO-ORP installate in vasca: questo implica che ogni fase avrà una durata funzione del carico influente, diversa per ogni linea. Ogni reattore è stato quindi reso indipendente, impostando i parametri di processo ed aggiustandoli ad hoc per le diverse fasi della sperimentazione, se necessario, per adattare il trattamento alle dinamiche condizioni di lavoro. Di seguito si riporta una tabella esemplificativa dei principali valori dei parametri di impostazione dei cicli per le due linee del reattore biologico.

Tabella 3.1 Impostazioni dei parametri EasyGestWWTP.

Linea 1									
Fase AEROBICA						Fase ANOSSICA			
Tmin	Tmax	DOmin	DOmax	ORPmin	ORPmax	Tmin	Tmax	ORPmin	ORPmax
min	min	mg/L	mg/L	mV	mV	min	min	mV	mV
30	60	0	4	-100	500	25	35	-150	100
Linea 2									
Fase AEROBICA						Fase ANOSSICA			
Tmin	Tmax	DOmin	DOmax	ORPmin	ORPmax	Tmin	Tmax	ORPmin	ORPmax
min	min	mg/L	mg/L	mV	mV	min	min	mV	mV
10	60	0	4	-50	500	40	80	-150	100

3.4. Il monitoraggio delle emissioni gassose

Per lo studio delle emissioni gassose generate dal processo biologico di rimozione dei nutrienti, la prima vasca del reattore è stata dotata di copertura e sistema di captazione ed analisi delle emissioni. La scelta di valutare la produzione di gas dalla prima vasca è correlata ai maggiori carichi a cui questa è sottoposta, essendo il primo step del trattamento. L'analizzatore MIR9000CLD (Figura 3.21), prodotto dalla Environnement Italia S.p.a., combina in un unico strumento la misurazione dei gas serra (N_2O , CH_4 , CO_2) e del vapore acqueo mediante spettroscopia a infrarossi, con la misura degli ossidi di azoto (NO , NO_2) tramite chemiluminescenza. L'analizzatore multi-gas è posizionato all'interno di una struttura in legno dedicata provvista di: (i) una pompa di aspirazione, necessaria per il prelievo del campione, (ii) un refrigeratore (GIREF Loccioni), (iii) un compressore (Mgf Sky 30/7 M), (iv) un UPS (3000VA), (v) un condizionatore/pompa di calore con termostato impostato alla temperatura di 20°C e (vi) un PC collegato in rete con lo strumento MIR9000CLD e gestibile da remoto, per lo scarico e archiviazione delle misurazioni mediante il software di acquisizione dati WinLoad, e per la visualizzazione delle condizioni di funzionamento tramite il software Contact. Inoltre, il dispositivo è dotato di display LCD, localizzato sul pannello frontale, per la modifica delle opzioni di funzionamento, la taratura dello strumento e la visualizzazione delle misure (istantanee, medie e storiche) di ogni inquinante monitorato.

**Figura 3.21** Analizzatore MIR9000CLD.**Figura 3.22** Componentistica interna MIR9000CLD.

La Figura 3.22 mostra la struttura interna dell'analizzatore, in essa si possono distinguere una parte fisica ed una parte elettrica. La descrizione dei componenti è riportata in Tabella 3.2.

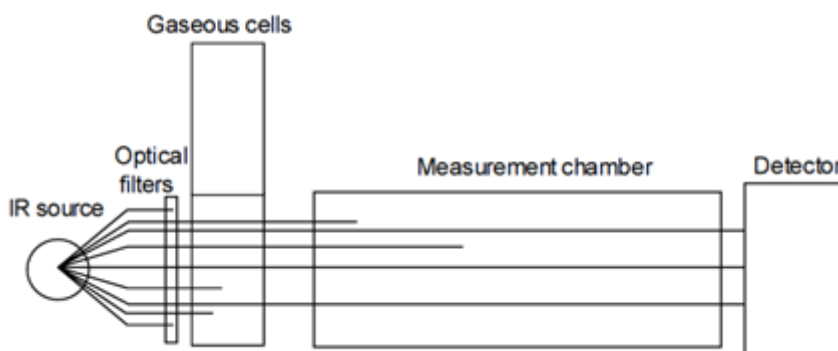
Tabella 3.2 Componentistica interna MIR9000CLD.

1 Supporto per filtro antipolvere.	10 Interruttore generale.
2 Modulo di chemiluminescenza.	11 Scheda ESTEL permette l'uscita analogica dei valori dei parametri misurati.
3 Camera di misura per la chemiluminescenza.	12 Scheda RS4i permette di interfacciare lo strumento con un sistema di acquisizione dati.
4 Display LCD e tastiera di input.	13 Valvola solenoidale.
5 Forno di conversione degli NO _x .	17 Processore di automazione.
6 Generatore di Ozono.	18 Sensore Chemi-pressure.
8 Alimentatore elettrico.	19 Sensore ottico IR.
9 Sensore ossigeno.	

Lo strumento è in genere impiegato per il monitoraggio delle emissioni dai camini industriali, mentre per gli impianti di trattamento acque non esiste una procedura standard che descriva il metodo di campionamento e i pretrattamenti necessari. Il campione di gas viene prelevato da una sonda e trasportato attraverso una linea elettroriscaldata a 120°C fino alla camera di misura dello strumento, in modo che schiume e aerosol che possono formarsi nel comparto biologico non raggiungano l'apparecchiatura. Con lo scopo di abbassare la temperatura del campione e conseguentemente ridurre il contenuto di vapore acqueo, il sistema di pretrattamento è stato completato con un refrigeratore. Mediante il raffreddamento della miscela gassosa, ad un punto di rugiada molto basso e stabile (temperatura di 4°C), si ottiene una normalizzazione del contenuto di umidità a valori costanti e limitati, eliminando errori di misura. Successivamente, dopo aver attraversato il filtro antipolvere, il flusso è fatto passare attraverso un restringimento di 0.31 mm di diametro tale da limitare la portata in ingresso al valore di 30 L/h. Attraverso la valvola solenoidale il flusso viene diviso e incanalato nelle due camere di misura: una in cui si ha la spettroscopia ad infrarossi con correlazione gas filtro/GFC (tecnologia NDIR) e una per la chemiluminescenza. I principi alla base delle due tecnologie di misura vengono di seguito illustrati.

Assorbimento a raggi infrarossi NDIR

Tutti i gas poliatomici sono in grado di assorbire una radiazione elettromagnetica di lunghezza d'onda specifica. L'analisi quali-quantitativa di questo fenomeno è detta spettroscopia ad assorbimento e si basa su principi prettamente fisici. Nell'assorbimento ad infrarossi un raggio ottico IR attraversa una camera di misura e raggiunge un ricevitore IR come mostrato in Figura 3.23.

**Figura 3.23** Principio di misura della spettroscopia ad infrarossi.

Ogni gas presente sulla traiettoria del raggio ottico assorbe quest'ultimo ad una definita lunghezza d'onda. Un filtro di interferenza che definisce un'area a specifica lunghezza d'onda, è posto lungo il percorso, a monte della camera di misura. Detta I_0 l'energia misurata dal ricevitore quando nessun gas è presente nella camera di misura e I l'energia ricevuta in presenza di gas, in accordo con la legge di Beer Lambert si ottiene la seguente Equazione 3.1:

$$\frac{I}{I_0} = e^{-kLC} \rightarrow C = \frac{1}{kL} \ln^{-1} \left(\frac{I}{I_0} \right) \quad \text{Equazione 3.1}$$

Dove:

k : coefficiente che dipende dal gas e dalla lunghezza d'onda;

L : lunghezza del percorso ottico;

C : concentrazione.

Poiché il filtro di interferenza definisce più lunghezze d'onda, la concentrazione del gas può essere dedotta utilizzando la seguente formula (Equazione 3.2):

$$C = f\left(\frac{I}{I_0}\right) \quad \text{Equazione 3.2}$$

dove f è una funzione che dipende dal tipo di filtro di interferenza e dal gas. Questa funzione è simile ad un logaritmo e può essere linearizzata in maniera molto precisa da un polinomio. La misura contemporanea di I ed I_0 risulta difficile in quanto per misurare I_0 non dovrebbe essere presente alcun gas nella camera. Per evitare questo problema è possibile ricorrere ad una correlazione con filtro gassoso. La correlazione con filtro gassoso, consiste nel posizionare in maniera alternata lungo il percorso ottico, una cella riempita con un gas ad alta concentrazione la quale deve essere misurata e una cella riempita con azoto tale da non assorbire nessuna lunghezza d'onda. Il gas altamente concentrato presente nella cella detta cella di riferimento, assorbe tutte le lunghezze d'onda che gli competono. Anche se le molecole gassose sono presenti all'interno della camera di misura o lungo il percorso ottico, tutte le lunghezze d'onda da esse assorbibili, sono già state assorbite. Dunque l'energia in arrivo al ricevitore, può essere considerata costante e servire come riferimento per quel determinato gas (I_R). Dopo pochi millisecondi, la cella contenente azoto viene posta sul percorso ottico. L'assorbimento di energia infrarossa, è dovuta al gas presente nella camera secondo quanto previsto dalla legge di Beer Lambert. A seguito dell'assorbimento, essendo noto il rapporto tra l'energia di assorbimento I_R e l'energia misurata I , è possibile determinare la concentrazione mediante l'Equazione 3.3:

$$C = f\left(\frac{I}{I_R}\right) \quad \text{Equazione 3.3}$$

Per migliorare ulteriormente la misura, ed in particolare per correggere ogni possibile deviazione, l'analizzatore reimposta periodicamente lo zero (*zero reference*) ogni 3 ore, ovvero definisce il rapporto tra l'energia di riferimento e l'energia misurata quando nessun gas è presente lungo il percorso ottico. Nella configurazione applicata per la sperimentazione in piattaforma, durante lo *zero reference*, la camera di misura non è stata riempita di aria sintetica o purificata, ma di aria ambiente, che viene filtrata e deumidificata dal compressore. Per questo motivo i valori misurati sono emissioni relative; tuttavia, per ciascun inquinante, la minima concentrazione rilevabile dall'analizzatore (sensibilità dello strumento $\pm 2\%$ del fondo scala) è inferiore alla concentrazione media del fondo atmosferico.

Chemiluminescenza

Il modulo di chemiluminescenza, permette la misura della concentrazione di ossido NO e biossido di azoto NO₂. Il principio di misura si basa sull'emissione di luce (chemiluminescenza) da parte del monossido di azoto NO in presenza di molecole di azoto altamente ossidanti. La reazione è riportata di seguito (Equazione 3.4):



Il ritorno allo stato elettronico fondamentale delle molecole eccitate di NO₂^{*}, avviene mediante l'emissione di una radiazione luminosa avente spettro compreso tra 600-1200 nm (Equazione 3.5).



Per ottenere una migliore resa di luce chimica, poiché questa energia potrebbe essere persa anche dagli urti con altre molecole presenti nel campione (quenching), viene abbassata la pressione nella camera di reazione riducendo così la probabilità di urti. Tra la camera di reazione e il rilevatore è interposto un filtro ottico, il quale seleziona solo le radiazioni con lunghezza d'onda maggiore di 610 nm, eliminando così le interferenze dovute agli idrocarburi. La misura della radiazione emessa avviene mediante un fotomoltiplicatore il quale trasmette un segnale elettrico ad un amplificatore e successivamente ad un digitalizzatore ed infine ad un microprocessore per l'elaborazione. Affinché la misura della chemiluminescenza possa avvenire, il biossido di azoto NO₂ deve essere trasformato in NO. Questo può avvenire mediante riduzione con l'impiego di molibdeno come descritto dalla reazione seguente (Equazione 3.6):



La misura viene effettuata mediante 3 cicli:

- Ciclo di riferimento, in cui il campione viene portato in una camera di pre-reazione per essere mescolato con l'ozono. Le molecole di NO contenute nel gas sono ossidate a NO₂ prima di entrare nella camera di reazione. Il segnale così misurato senza chemiluminescenza, può essere considerato come misura aria zero ed usata come segnale di riferimento;
- Ciclo NO, in cui il campione viene portato direttamente nella camera di misura dove avviene l'ossidazione con ozono. Il segnale misurato è proporzionale al numero di molecole di NO contenute nel campione;

- Ciclo NO_x , in cui il campione passa attraverso il forno di conversione e successivamente viene mescolato con ozono nella camera di reazione. Il segnale misurato è in questo caso proporzionale al numero di molecole di NO e NO_2 presenti nel campione.

L'analizzatore MIR9000CLD è dotato di tre ingressi: aria zero, gas di calibrazione e ingresso campione. Lo schema seguente riassume le attrezzature collegate ad ogni ingresso (Figura 3.24).

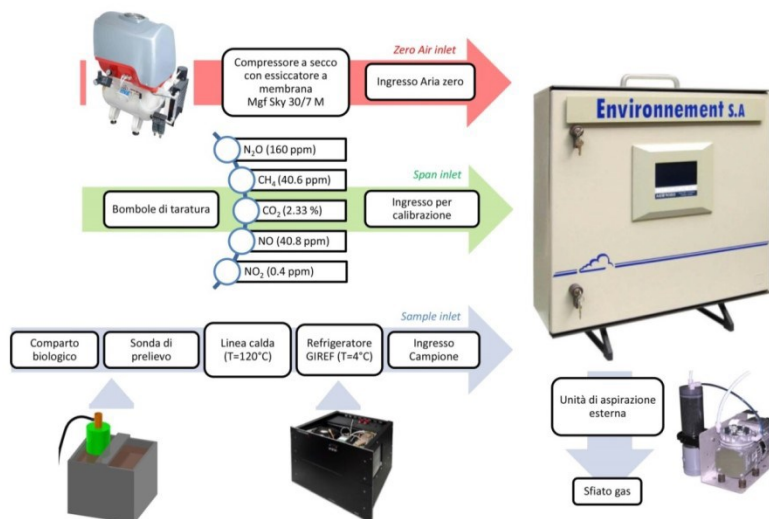


Figura 3.24 Flussi in ingresso all'analizzatore.

Per quanto riguarda il primo, lo *zero air inlet*, il compressore preleva aria per la determinazione dello zero di riferimento dello strumento (il ciclo avviene ogni 3 ore) e per la generazione di ozono, necessario per la misurazione degli ossidi di azoto nel modulo di chemiluminescenza. Il sistema è composto da un dispositivo di raffreddamento a ventilazione forzata, un doppio sistema di filtrazione ($5\ \mu\text{m}$ e $0.01\ \mu\text{m}$) per garantire la massima purezza dell'aria, e un essiccatore a membrana che permette la deumidificazione dell'aria prelevata. L'aria prelevata deve essere deumidificata perché elevate concentrazioni di vapore acqueo possono falsare le misurazioni e inoltre si potrebbero creare danni allo strumento nel caso di formazione di condensa. Il secondo ingresso permette la calibrazione dello strumento, effettuata utilizzando quattro bombole; mentre una quinta, contenente biossido di azoto, è utilizzata per verificare l'attendibilità della calibrazione effettuata con la bombola di monossido di azoto, oltre che constatare il corretto funzionamento dell'intero modulo CLD. L'ultimo ingresso è per la misura del campione. Con riferimento alla sperimentazione, si è scelto un fondo scala dello strumento di 200 ppm per N_2O e 50 ppm per NO (Tabella 3.3).

Tabella 3.3 Fondo scala dello strumento

Inquinante	Max concentrazione rilevabile	Sensibilità dello strumento (2% del fondo scala)
Protossido di azoto (N_2O)	200 ppm	4 ppm
Metano (CH_4)	50 ppm	1 ppm
Anidride carbonica (CO_2)	3 %	600 ppm (0.06%)
Monossido di azoto (NO)	50 ppm	1 ppm
Ossidi di azoto (NO_x)*	50 ppm	1 ppm

* Il biossido di azoto NO_2 è calcolato per differenza dai valori di NO_x e NO: $\text{NO}_2 = \text{NO}_x - \text{NO}$

Con riferimento alla copertura utilizzata (Figura 3.25) si specifica che, non essendo disponibili procedure standardizzate per il monitoraggio delle emissioni dai reattori biologici, si è deciso di realizzare una copertura fissa sul 50% della superficie della linea 1, e una copertura rimovibile sulla restante parte per permettere le operazioni di manutenzione delle utenze e gli eventuali campionamenti. La parte di copertura fissa è stata dotata di una condotta a sezione quadrata (altezza 1 m e lato 10 cm) la quale oltre a consentire il prelievo del campione evita la creazione di sovrappressioni interne al reattore che possano disturbare il meccanismo di rilascio all'interfaccia liquido-atmosfera dei composti gassosi presi in esame. Inoltre la copertura ha la funzione di limitare le interazioni date dalle condizioni atmosferico-ambientali con le misurazioni, evitando problemi di diluizione delle concentrazioni. Una sonda per la determinazione della concentrazione di ammoniac gas (Crowcon mod. Xgard, Figura 3.26) è stata posizionata lungo il camino di scarico degli *off-gases*.



Figura 3.25 Copertura, camino e linea di captazione delle emissioni gassose.



Figura 3.26 Sonda per la determinazione dell'ammoniaca.

Un'immagine del layout del sistema per il monitoraggio delle emissioni, e il suo posizionamento all'interno della piattaforma sperimentale, è riportato in Figura 3.27.

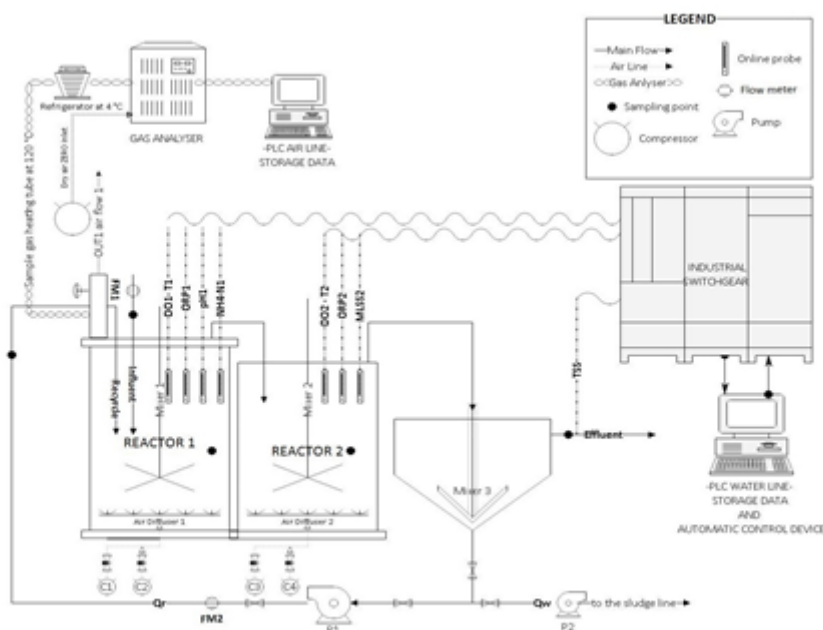


Figura 3.27 Layout della piattaforma e del sistema di campionamento delle emissioni gassose.

3.5. Studi preliminari dei meccanismi di inibizione e condizionamento

Ogni nuova fase sperimentale in piattaforma è sempre stata preceduta da approfondite ricerche attraverso prove preliminari in laboratorio finalizzate alla comprensione della fattibilità d'applicazione del processo via nitrito nel caso di refluo urbano trattato in continuo attraverso l'utilizzo di un reattore biologico a fasi alterne. Data la caratteristica sperimentale del processo in questione, tali prove hanno seguito un'evoluzione temporale e procedurale dovuta alla valutazione dei risultati che si ottenevano. Il lavoro di ricerca descritto nella presente tesi si è inserito in un'attività che ai tempi risultava da poco avviata.

Una volta ottenuta una stabile e avanzata nitrificazione in piattaforma sperimentale (Figura 3.28 – Configurazione 1) attraverso il dosaggio di ammoniaca e idrossido di sodio per il condizionamento della biomassa direttamente all'interno del primo reattore CSTR si è cercato di eliminare e/o ridurre progressivamente il dosaggio di *chemicals* esterni al fine di

rendere applicabile il processo sia dal punto di vista impiantistico sia economicamente sostenibile. In questa fase gli obiettivi principali che erano stati prefissati riguardavano:

- La verifica della capacità inibitoria da parte di diversi reagenti, lavorando alle condizioni operative della piattaforma;
- L'analisi degli effetti secondari del dosaggio dei nuovi reagenti, primo fra tutti il rischio legato all'inertizzazione della biomassa;
- La verifica della possibilità di dosare meno reagente, condizionando aliquote minori di matrici, con conseguente vantaggio economico.

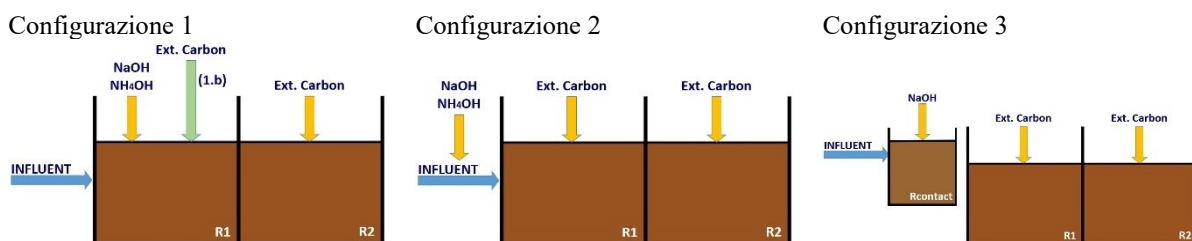


Figura 3.28 Schema riassuntivo delle diverse configurazioni impiantistiche adottate.

I primi due punti sono stati affrontati effettuando prove cinetiche condizionate su campioni di fango biologico prelevato dall'impianto principale. I test consistono nella determinazione della cinetica di nitrificazione (test AUR, Paragrafo 3.8), talvolta anche della velocità di denitrificazione (test NUR, Paragrafo 3.8), e le relative percentuali di accumulo di nitriti, variando alcuni parametri operativi. Nel dettaglio:

- pH: sono state condotte prove in cui il pH veniva soltanto monitorato e prove in cui il pH veniva mantenuto in un certo range, aggiungendo un alcalinizzante e/o acido solforico per acidificare. Inoltre il processo è stato studiato, sulla base delle diverse esperienze descritte dalla letteratura scientifica, con pH che sono variati nel range: 7.5 – 9.0.
- Concentrazione di ammoniaca in soluzione: sono stati dosati differenti quantitativi di substrato ammoniacale per una valutazione ad ampio raggio del processo, per comprendere come si comporta la biomassa sottoposta a diversi carichi di azoto in particolare nei confronti dell'FA. La variazione della concentrazione di partenza di ammoniaca era strettamente legata al valore prescelto di pH e di FA.
- Tipologia di reagente alcalinizzante: sono state valutate le prestazioni di diversi agenti alcalinizzanti, per poter identificare quello più conveniente in termini di potere basificante, economicità e semplicità nel dosaggio, prestando attenzione anche a eventuali effetti collaterali non desiderati, come l'inertizzazione della biomassa attiva. Nello specifico, si è ristretto lo studio a soda (NaOH), calce idrata ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) e carbonato di sodio (Na_2CO_3).
- Tipologia di substrato utilizzato: come substrato ammoniacale per i test AUR e durante le prove di condizionamento sono stati utilizzati ammonio cloruro (NH_4Cl) e idrossido di ammonio (NH_4OH). Durante gli studi cinetici di denitrificazione (NUR) sono state valutate diverse tipologie di substrato carbonioso. In particolare, sono state eseguite prove fissando diversi rapporti C/N ed utilizzando come carbonio esterno, acetato di sodio (CH_3COONa) e metanolo (CH_3OH); mentre come base per gli NO_x di partenza, nitrito e nitrato di sodio (NaNO_2 e NaNO_3). In questo modo si è potuta verificare la variazione di velocità in base ai diversi substrati ed ai diversi valori di rapporto C/N considerati.

Per raggiungere il terzo obiettivo, invece, i basificanti sono stati dosati in maniera controllata su campioni di tre matrici diverse (influyente, mixed liquor e fango di ricircolo), sempre provenienti dal medesimo impianto. Scopo di quest'ultimo test era la quantificazione del consumo di reagenti per il raggiungimento di specifici setpoint di pH, volti a simulare le condizioni operative. Alla luce dei risultati ottenuti da questo studio preliminare si è deciso di ripartire con una nuova configurazione processistica (Figura 3.28 – Configurazione 2) in cui il condizionamento veniva fatto sul flusso influente. Nonostante i buoni risultati che si erano ottenuti in laboratorio questa configurazione non si è poi rivelata così efficace una volta applicata al processo in continuo non permettendo di ottenere un'elevata produzione di nitriti. Ragione per cui si è iniziato ad investigare in modo più approfondito il ruolo rivestito dal FA e in particolare dall'influenza che ogni singolo fattore gioca all'interno del FA stesso. Sempre attraverso test di nitrificazione AUR si è andato a verificare l'effetto del condizionamento applicato variando in ogni prova un singolo fattore alla volta (pH, temperatura, concentrazione di ammoniaca) a parità di concentrazione di FA. In questo caso oltre a pH e concentrazione di ammoniaca già precedentemente presi in considerazione, in questa serie di prove si sono valutati:

- Temperatura: il fango è stato portato alla temperatura di prova voluta e mantenuta tramite uno stirrer magnetico riscaldante in caso di innalzamento della temperatura oppure in un bagno di acqua e ghiaccio per il raffreddamento. Un ampio range di temperature è stato considerato (10 – 30°C).
- Tempo di contatto: le prove di AUR sono state eseguite facendo variare il tempo di condizionamento ad un determinato valore di FA fissato in modo da valutare l'influenza del tempo di contatto tra biomassa e condizioni inibenti sulla produzione di nitriti.

Queste prove hanno permesso di mettere in luce il ruolo del tempo di contatto. Si è visto che, a parità di concentrazione di FA, si è ottenuta una maggiore produzione di nitriti quando la biomassa è stata lasciata in contatto con le condizioni inibenti per un tempo maggiore. Questo risultato si è tradotto nell'istallazione di un reattore a monte del comparto biologico, chiamato reattore di selezione (Figura 3.28 – Configurazione 3), in cui confluivano la portata influente e il fango di ricircolo. Nel reattore è stato dosato idrossido di sodio per il controllo del pH e la biomassa stazionava per un certo tempo prima di entrare nel comparto biologico. Contestualmente alla fase di avvio della Configurazione 3 nella piattaforma sperimentale, ulteriori prove sono state condotte in laboratorio, sempre con le stesse metodiche precedenti, per valutare gli effetti delle condizioni di ORP e concentrazione di MLSS nel condizionamento del reattore di selezione. Una serie di prove a FA costante sono state eseguite variando ORP e tempo di contatto: parallelamente sono stati condotti test senza modifica dell'FA per valutare l'effetto del solo ambiente di esposizione. Per capire se vi sia un dosaggio limite di FA sugli MLSS (che dipende dall'SRT), si è prelevato ricircolo ed effluente dall'impianto di trattamento principale e sono state svolte delle AUR a concentrazioni di solidi diverse, dopo un condizionamento del fango per un certo tempo di contatto. Successivamente non si è effettuato nessun cambiamento alla Configurazione 3, si è provveduto solamente all'istallazione di una sonda ORP all'interno del reattore di selezione e ad una piccola soffiante per evitare che il valore di ORP scendesse eccessivamente.

3.6. Fasi sperimentali up-scale del processo di nitrificazione/denitrificazione in continuo

Alla luce dei risultati ottenuti dalle prove sperimentali condotte in laboratorio diverse modifiche sono state apportate nel corso della sperimentazione al layout di processo della piattaforma sperimentale. Le diverse configurazioni e i principali parametri operativi applicati sono riassunti in Tabella 3.4.

Tabella 3.4 Fasi sperimentali e sintesi dei principali parametri operativi.

Configurazione	Fase	Durata sperimentazione	Concentrazione $\text{NH}_4\text{-N}$ in R1	Setpoint DO	Dosaggio carbonio esterno
		giorni	$\text{mgNH}_4\text{-N/L}$	$\text{mgO}_2\text{/L}$	
1	1.a	72	> 50 *	1.5	R2
1	1.b	47	> 50 *	3.0	R2
1	2	31	30 *	> 2.0	R1+R2
2	3	101	8.5 [†]	> 2.0	R1+R2
3	4	122	7.7	> 2.0	R1+R2

* Dosaggio NH_4Cl in R1; [†] Dosaggio NH_4Cl nell'influente.

La configurazione impiantistica di partenza risulta essere quella descritta nel Paragrafo 3.2, in cui il dosaggio dei reagenti esterni per il condizionamento veniva realizzato direttamente nel primo reattore della filiera di trattamento. Utilizzando questa configurazione, basandosi su differenze operative, si possono distinguere tre fasi. Nella fase 1.a e b è stato dosato ammonio idrossido in fase anossica secondo una logica automatica che accendeva la pompa quando la concentrazione misurata dalla sonda scendeva sotto 40 $\text{mgNH}_4\text{-N/L}$. La posizione della tubazione, fuori dal pelo libero e nell'angolo opposto alla sonda, ha determinato un meccanismo di dosaggio per cui quando la sonda misurava un valore superiore al setpoint e la pompa si spegneva, la quantità di ammoniaca effettivamente aggiunta portava la concentrazione a valori anche superiori a quelli desiderati. Le analisi sull'effluente mostravano concentrazioni troppo elevate di NO_x e i calcoli della costante cinetica di denitrificazione hanno verificato le basse prestazioni del processo anossico, per cui si è deciso di munire di una fonte esterna di carbonio il secondo reattore. La differenza tra la fase 1.a e 1.b riguardava solamente il valore del setpoint per il controllo delle soffianti in fase aerobica. Durante i primi 72 giorni il setpoint è stato impostato a 1.5 $\text{mgO}_2\text{/L}$ per poi aumentarlo successivamente a 3.0 $\text{mgO}_2\text{/L}$. Nella fase 2 è stato diminuito il setpoint per il dosaggio dell'ammoniaca a 30 $\text{mgNH}_4\text{-N/L}$ e condizioni aerobiche certe sono state mantenute nel sistema. Si è inoltre installato un punto di dosaggio per il carbonio anche nel primo reattore al fine di potenziare il processo di denitrificazione. Per mantenere il pH a livelli tali da ottenere una nitrificazione/denitrificazione via nitrito il più possibile stabile si è provveduto all'aggiunta di idrossido di sodio all'interno della prima vasca. Il suo dosaggio è avvenuto tramite pompa peristaltica, in automatico, secondo una logica collegata alla sonda pH.

Successivamente, nel tentativo di ridurre il dosaggio di reagenti e rendere economicamente sostenibile il processo, a seguito di prove preliminari si è passati alla configurazione 2. Il condizionamento è stato effettuato sull'influente, utilizzando un reattore miscelato di 70 L, come mostrato in Figura 3.29.

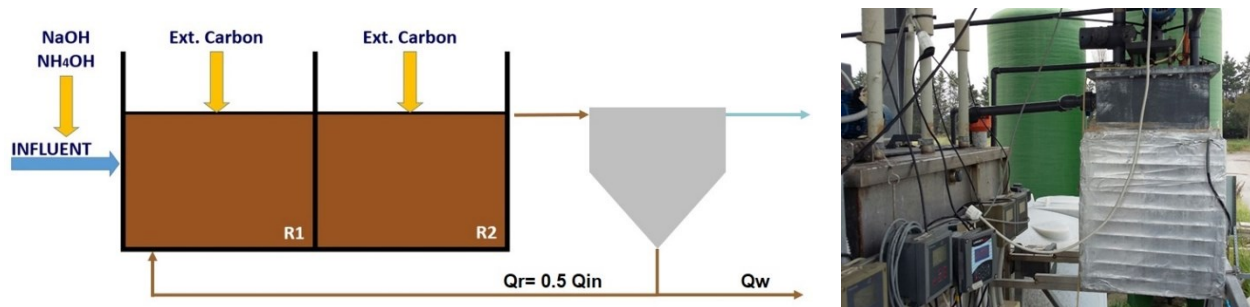


Figura 3.29 Schema di flusso configurazione 2 e reattore per condizionamento dell'influenza.

Attraverso l'uso di una pompa peristaltica il pH dell'influenza è stato mantenuto a valori prestabiliti (pH 8.1), mentre l'ammoniaca è stata dosata con una pompa a pistone per aumentare il carico di azoto ammoniacale a un prefissato valore di concentrazione di 30 mgNH₄-N/L. Il condizionamento del solo flusso influente si è dimostrato non essere molto efficace, facendo registrare valori risultanti di concentrazione di ammoniaca e pH relativamente bassi nel primo reattore. Tali condizioni hanno comportato una velocità di speciazione della biomassa molto lenta e tempistiche per lo startup eccessivamente lunghe.

Alla luce delle prestazioni ottenute dalla configurazione precedente e considerati i risultati dei nuovi test di condizionamento in laboratorio si è intrapresa una nuova fase di sperimentazione in piattaforma, fase 4, adottando la configurazione reattoristica 3 (Figura 3.30). Compreso il ruolo giocato dal tempo di contatto ai fini dell'inibizione dei batteri NOB, si è fatto precedere alla prima vasca del comparto biologico un reattore di selezione, in cui refluo influente e fango di ricircolo sono stati addizionati con idrossido di sodio per il controllo del pH. Si tratta di un serbatoio del volume di 1 m³ in polietilene che è stato posto in sopraelevazione rispetto alle altre fasi del processo in modo da avere una piezometrica sufficiente a garantire il funzionamento per gravità delle successive fasi della filiera. Sul lato del serbatoio è collocata una valvola a cui si è collegata una tubazione mobile: variando l'altezza di quest'ultima, si può regolare, di conseguenza, il volume del suddetto serbatoio in modo tale da avere la possibilità di modificare il tempo di contatto in base alle diverse esigenze. All'interno del volume di contatto sono state poste, oltre a un mixer per mantenere in agitazione il mixed liquor, le sonde per il monitoraggio in continuo del potenziale di ossidoriduzione (ORP), del pH, e dell'ammoniaca. Nel sistema di controllo del processo è stato preventivamente impostato un set-point del pH, in base al quale viene azionata una pompa peristaltica. In questa configurazione non è stato aggiunto ammonio idrossido.

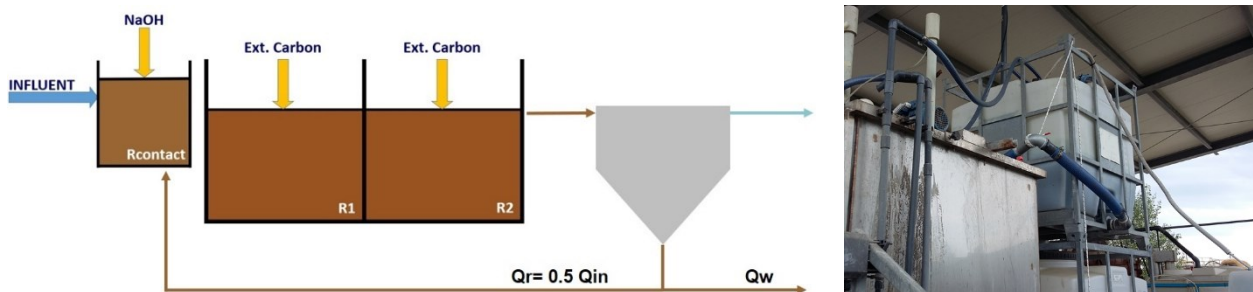


Figura 3.30 Schema di flusso configurazione 3 e reattore di selezione.

3.7. La caratterizzazione chimico-fisica

La caratterizzazione chimico fisica dei reflui è stata eseguita in accordo con le metodiche analitiche standard con riferimento a quanto riportato dallo "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater" (APHA, 2005). Si sono eseguiti campionamenti a cadenza regolare sui flussi influenti ed effluenti il comparto biologico, il mixed liquor interno ai reattori e il fango di ricircolo dal sedimentatore secondario. Il campionamento in ingresso e in uscita è effettuato con l'ausilio di pompe peristaltiche prelevando rispettivamente dal serbatoio di accumulo dell'ingresso e dal serbatoio di accumulo dell'effluente. Esse sono state accese il giorno precedente in modo da avere un campione medio rappresentativo sulle 24h. Per quanto riguarda invece i campioni del comparto biologico, essi sono stati prelevati in fase aerobica, a garanzia di un'ottima miscelazione, riempiendo delle taniche tramite apposito rubinetto posto sul fondo di ogni vasca. Questi campioni sono stati in parte filtrati direttamente in loco con carta filtro in modo da bloccare le reazioni ad opera della biomassa, mentre la restante parte è stata utilizzata per la determinazione di MLSS e MLVSS e per l'esecuzione delle cinetiche (come descritto nel Paragrafo 3.8). In Tabella 3.5 si riporta un quadro riassuntivo delle analisi effettuate per i diversi flussi.

Tabella 3.5 Sintesi dei parametri determinati.

Ingresso	Comparto Biologico	Uscita
pH	pH	pH
Alcalinità	Alcalinità	Alcalinità
TSS	MLSS, MLVSS	TSS
Cl ⁻ , NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ , PO ₄ ³⁻ , SO ₄ ²⁻	Cl ⁻ , NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ , PO ₄ ³⁻ , SO ₄ ²⁻	Cl ⁻ , NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ , PO ₄ ³⁻ , SO ₄ ²⁻
Na ⁺ , K ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺	N-NH ₄ ⁺	Na ⁺ , K ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺
N-NH ₄ ⁺	CODs	N-NH ₄ ⁺
TKN, TKN _s		TKN, TKN _s
P _{tot}		P _{tot}
COD, COD _s		COD, COD _s

Di seguito si riportano le metodiche di analisi utilizzate per la determinazione dei diversi parametri.

pH

Il pH (Potential of Hydrogen) è la scala di misura dell'acidità di una soluzione acquosa ed indica la concentrazione di ioni idrogeno H⁺ presenti. È definito come l'inverso del logaritmo in base 10 della concentrazione di ioni H⁺, in soluzione neutra a 25°C (Equazione 3.7).

$$pH = -\log_{10} [H^+]$$

Equazione 3.7

Convenzionalmente, il pH di soluzioni acquose assume valori compresi fra 0 (massima acidità) e 14 (massima basicità). Valori inferiori a 0 e maggiori di 14 sono possibili, naturalmente, ma sono indicativi di soluzioni fortemente acide o basiche rispettivamente. Al valore intermedio di 7 corrisponde la condizione di neutralità. La concentrazione di ioni H⁺ può influenzare in maniera marcata molte reazioni chimiche, quindi il pH rappresenta uno dei parametri più importanti per il controllo dei processi biologici.

Procedimento

Il pH è stato determinato tramite il piaccametro da banco Hanna edge HI 2002-02 (Figura 3.31) dotato di una sonda combinata con corpo in vetro al cui interno è contenuto un elettrodo di riferimento, immerso in una soluzione di cloruro d'argento e cloruro di potassio, e un elettrodo di misura, immerso in una soluzione di cloruro d'argento e una soluzione tampone. La differenza di potenziale elettrico, misurata in 50 mL di campione costantemente agitato con agitatore magnetico e registrata tra i due elettrodi, è legata alla differenza di concentrazione di ioni H⁺ esistente fra l'interno e l'esterno della membrana. Lo strumento determina in tempo reale il valore del pH compensandolo con la temperatura e restituendo il valore sul display di cui è dotato.



Figura 3.31 Piaccametro Hanna edge HI 2002-02.



Figura 3.32 Titolatore Metrohm mod. 848 con agitatore magnetico Stirrer mod. 801.

Alcalinità

L'alcalinità esprime la concentrazione di sali con proprietà di alcali disciolti nel campione, e rappresenta la sua capacità di "tamponare" i cambiamenti di pH. L'alcalinità di un campione è dovuta alla presenza di basi deboli come ioni idrossidi, carbonati, bicarbonato e di elementi come calcio, magnesio, sodio e potassio. L'unità di misura è espressa in termini di mgCaCO₃/L.

Procedimento

L'analisi è condotta per via pH-metrica utilizzando il titolatore potenziometrico automatico Metrohm mod. 848 con agitatore magnetico Stirrer mod. 801 (Figura 3.32). Si introducono in una beuta 10 mL di reflu, un'ancoretta magnetica e acqua distillata per consentire la buona immersione dell'elettrodo. Lo strumento, sulla base di un programma già preimpostato, esegue automaticamente la titolazione del campione dosando una soluzione standard di acido cloridrico a normalità nota e registrando i valori assunti dal pH nel tempo. Dalla curva di titolazione (grafico tempo-pH) è possibile definire un punto di flesso nell'intorno corrispondente ad un pH di 4.3 e risalire alla concentrazione delle basi titolabili presenti nel campione. Al termine della titolazione il display restituisce il volume di HCl dosato e da questo, applicando l'Equazione 3.8, si risale all'alcalinità totale del campione.

$$Alk = \frac{(N_{HCl} \cdot V_{HCl} \cdot 1000 \cdot 50)}{V} \quad \text{Equazione 3.8}$$

Dove:

N_{HCl} = normalità dell'acido cloridrico (0.1 N);

V_{HCl} = volume acido cloridrico dosato dallo strumento (mL);

V = volume del campione (10 mL).

TSS

I solidi sospesi totali (Total Suspended Solids) rappresentano la frazione solida contenuta nel reflu, recuperabile tramite filtrazione a 0.45 µm.

Procedimento

Preliminarmente una membrana realizzata in nitrato di cellulosa avente dimensione dei pori 0.45 µm viene sottoposta a processo di taratura: ovvero viene determinato il suo peso effettivo ponendola in stufa ventilata a 105°C per almeno 2 ore (Figura 3.33), raffreddandola all'interno di un essiccatore in vetro contenente sali igroscopici (Figura 3.34) e poi pesandola con bilancia analitica con precisione al millesimo di grammo (Figura 3.35). Successivamente, un volume noto di campione viene sottoposto a processo di filtrazione. Il sistema utilizzato (Figura 3.36) è costituito da: colonna e bicchiere in acciaio inox AISI 316, disco in rete in acciaio inox per il supporto della membrana, guarnizione in PTFE, beuta da vuoto in vetro borosilicato e pompa a ricircolo d'acqua per aspirazione Velp Scientifica mod. JP.



Figura 3.33 Stufa ventilata.



Figura 3.34 Essiccatore in vetro.



Figura 3.35 Bilancia analitica ORMA mod. BCA.



Figura 3.36 Sistema di filtrazione.

Ultimata la filtrazione, la membrana viene rimossa dall'apparato, appoggiata su di un vetrino ed introdotta in stufa ventilata a 105 °C per almeno 2 ore. La membrana una volta estratta dalla stufa viene spostata nell'essiccatore e lasciata raffreddare per raggiungere gradualmente la temperatura ambiente in assenza di umidità. Infine si pesa il filtro utilizzato e dal suo peso, conoscendo la tara, è possibile risalire alla concentrazione dei solidi sospesi presenti nel campione (Equazione 3.9).

$$TSS = \frac{(P_{105} - T_{105})}{V} \cdot 1000 \cdot 1000$$

Equazione 3.9

Dove:

P_{105} = peso del filtro post filtrazione essiccato a 105°C (g);

T_{105} = peso del filtro vergine essiccato a 105°C (g);

V = volume di campione filtrato (mL).

Anioni e cationi

La determinazione dei principali anioni (cloruri, nitriti, nitrati, fosfati e solfati) e cationi (sodio, potassio, magnesio e calcio) inorganici presenti nelle matrici acquose è stata effettuata tramite una tecnica di cromatografia liquida a scambio ionico con rilevazione a conducibilità soppressa chimicamente (HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*). La cromatografia ionica si basa sul principio di attrazione tra ioni di carica opposta, essa permette la separazione selettiva degli ioni e la determinazione qualitativa e quantitativa degli stessi. Un cromatografo ionico è costituito essenzialmente da una pompa di erogazione, una colonna di separazione a scambio ionico e un rivelatore di conduttività, preceduto in genere da un dispositivo di soppressione della conducibilità di fondo dell'eluente.

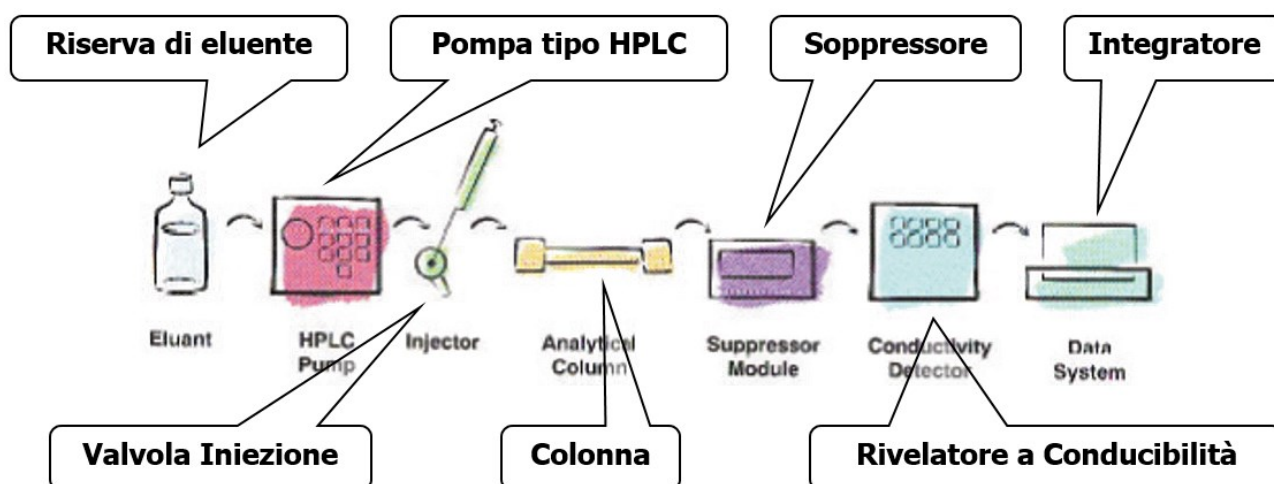


Figura 3.37 Schema di funzionamento cromatografia liquida a scambio ionico.

In Figura 3.37 sono riportate schematicamente le principali unità costituenti un apparato cromatografico.

L'analisi dei campioni è stata condotta attraverso due distinti cromatografi ionici Dionex prodotti dalla Thermo Fisher Scientific: DX-120 per la determinazione delle specie anioniche e ICS-1000 per le cationiche. I due macchinari applicano il medesimo principio per la determinazione dei diversi ioni, le uniche differenze sono rappresentate dal materiale costituente le resine contenute nelle colonne cromatografiche, il tipo di soppressore di conducibilità, la tipologia di eluente e alcuni parametri propri delle strumentazioni come pressione di esercizio e l'intensità di corrente a cui i soppressori di conducibilità lavorano. Le pre-colonne e le colonne impiegate sono di tipo impaccato con resine pellicolari a bassa capacità, funzionalizzate con gruppi ammonici quaternari, supportate su polimero a base aromatica, nello specifico sono state utilizzate:

- Dionex IonPac AG12A Guard Column (4 x 50 mm) e Dionex IonPac AS12A Analytical Column (4 x 200 mm) per gli anioni;
- Dionex IonPac CG12A Guard Columns (4 x 50 mm) e Dionex IonPac CS12A Analytical Columns (4 x 200 mm) per i cationi.

La tipologia dei soppressori di conducibilità è funzione del tipo di specie ioniche che si devono determinare. Nella pratica la soppressione sfrutta apposite membrane autorigeneranti costituite da un sandwich di diversi strati di elettrodi, membrane scambiatrici ioniche e fibre intrecciate di scambiatore ionico anch'esso. La struttura del soppressore a membrana si può fondamentalmente suddividere in due zone: la zona di soppressione, interna alle membrane, dove passa l'eluente ed avviene la reazione di soppressione e la zona di rigenerazione, esterna alle membrane, in cui sono presenti gli elettrodi, dove avviene l'elettrolisi dell'acqua contenuta nell'eluente soppresso che esce dal rivelatore e che fornisce gli equivalenti necessari per la rigenerazione. Nello specifico le strumentazioni sono equipaggiate con:

- Anion Self-Regenerating Suppressor (ASRS 300) per gli anioni;
- Cation Self-Regenerating Suppressor (CSRS 300) per i cationi.

Anche la tipologia di eluente è funzione del tipo di colonna utilizzata e delle specie ioniche che si vogliono determinare. L'eluente deve contenere elettroliti forti, composti ionici completamente dissociati, in grado di competere con gli analiti nello scambio con la resina. Gli analiti vengono eluiti più velocemente quanto più è alta la concentrazione di competitori. L'eluente è preparato in accordo con le specifiche dettate dal produttore della strumentazione, viene utilizzata una soluzione a base di carbonato di calcio anidro per gli anioni e una soluzione a base di acido metansolfonico per i cationi. Il sistema è completato da un sistema di distribuzione di gas inerte (azoto nel caso specifico) che ha la funzione di mettere in pressione il contenitore dell'eluente e favorirne il pompaggio nel circuito.

Procedura

L'analisi si esegue sul permeato ottenuto dalla filtrazione dei campioni a 0.45 µm, in modo da privarli delle parti grossolane che potrebbero intasare la colonna cromatografica. Il campione viene inserito in un'apposita provetta chiamata *vial* del volume di 5 mL e chiusa con un tappo dotato di filtro (*filter cap*), la provetta viene posizionata all'interno di un supporto (*cassette*) dal quale tramite auto campionatore Dionex AS40 viene iniettato all'interno del sistema cromatografico. Una volta aspirato il campione attraverso l'auto campionatore, quest'ultimo viene messo in contatto con il flusso di eluente (fase mobile) e fatto passare prima attraverso una pre-colonna per rimuovere le eventuali impurezze ancora presenti e successivamente nella colonna di resina polimerica scambiatrice (fase stazionaria) nella quale i diversi ioni vengono separati in funzione della loro affinità relativa con la resina che dipende principalmente dalle dimensioni degli ioni, dalla loro valenza e dalla loro concentrazione. Dopo un certo tempo, caratteristico per ogni specie chimica, gli ioni vengono rilasciati dalla resina, tornano nell'eluente e insieme lasciano la colonna e fluiscono attraverso il soppressore di conducibilità il quale abbassa la conducibilità di fondo legata all'eluente e permettendo l'esaltazione della conducibilità dell'analita. Un rivelatore di conducibilità determina nel tempo la conducibilità elettrica degli ioni del campione a mano a mano che emergono dal soppressore. I dati vengono visualizzati come un cromatogramma (grafico tempo-conducibilità elettrica, Figura 3.41).



Figura 3.38 Auto campionatore Dionex AS40.



Figura 3.39 Supporti, vials e filter caps.



Figura 3.40 DX-120 e ICS-1000.

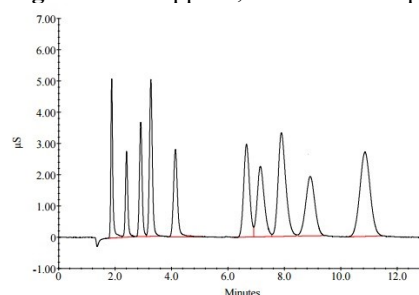


Figura 3.41 Esempi di cromatogramma.

Le concentrazioni degli ioni sono determinate in automatico dal software Chromeleon (Thermo Scientific) confrontando l'area di ciascun picco con la curva di calibrazione dello standard corrispondente. Per il calcolo delle concentrazioni è applicata la seguente formula (Equazione 3.10):

$$C = H \cdot F \cdot D$$

Equazione 3.10

Dove:

C = concentrazione dello ione (mg/L);

H = area del picco in esame;

F = fattore di risposta (prende in considerazione l'area dello standard corrispondente allo ione in esame);

D = fattore di diluizione.

Azoto ammoniacale

L'ammoniaca è una base debole facilmente volatile e può esser separata quantitativamente da una soluzione acquosa mediante distillazione in corrente di vapore in ambiente alcalino (intorno a pH 9.5) raccogliendo il distillato in una soluzione di acido borico (H_3BO_3) al 4% w/v. Poiché le acque reflue hanno in genere differenti valori di pH e diverse proprietà tamponanti, al fine di assicurare il pH necessario durante il processo di distillazione, viene aggiunta al campione in esame una soluzione di idrossido di sodio (NaOH) al 30% w/v. L'ammoniaca raccolta nel distillato viene determinata per titolazione potenziometrica con una soluzione di riferimento di un acido minerale forte (HCl 0.1 N) a normalità nota.

Procedura

La distillazione è stata effettuata con il distillatore automatico in corrente di vapore della Velp Scientifica mod. UDK 127 (Figura 3.43), mentre la titolazione tramite strumento Metrohm Titrino plus mod. 848 dotato di agitatore magnetico Stirrer mod. 801 (Figura 3.32). Dopo aver eseguito tutte le procedure per l'eliminazione di eventuali contaminanti presenti nel distillatore, un volume noto di campione da analizzare tal quale viene raccolto all'interno di un provettone in vetro borosilicato con fondo tondo e distillato per 7 minuti. All'inizio del processo di distillazione il macchinario dosa 30 mL di NaOH in modo da garantire l'ambiente alcalino in grado di favorire lo strippaggio dell'ammoniaca, successivamente una caldaia genera a partire da acqua distillata un flusso di vapore che viene convogliato attraverso un tubo attraverso la soluzione da distillare. I vapori che si generano, contenenti ammoniaca, vengono aspirati e convogliati attraverso un condensatore a serpentina raffreddato ad acqua. Sotto il collettore di uscita del condensatore viene posizionato una beuta, contenete 50 mL di soluzione di acido borico, che raccoglie il distillato e trattiene l'ammoniaca. Al termine del processo di distillazione la soluzione contenuta nella beuta viene titolata dosando una soluzione standard di acido cloridrico. Il titolatore analizza la curva della variazione del pH nel tempo in funzione dell'acido aggiunto. Si registra un punto di flesso nell'intorno del valore di pH 4.5, corrispondente alla neutralizzazione dell'ammoniaca. In base al volume di HCl dosato è possibile ricavare la concentrazione di ammoniaca presente utilizzando una formula matematica standard (Equazione 3.11).

$$NH_4^+ = \frac{(a - b) \cdot N \cdot 18 \cdot 1000}{V} \quad \text{Equazione 3.11}$$

Dove:

a = volume di HCl impiegato per titolare il campione (mL);

b = volume di HCl impiegato per titolare il bianco (mL);

N = normalità HCl titolante (eq/L);

18 = peso equivalente di NH_4^+ ;

V = volume del campione di reflu testato (mL).

L'azoto ammoniacale $\text{NH}_4^+\text{-N}$ si ricava con la seguente formula:

$$N - NH_4^+ = NH_4^+ \cdot 0.78 \quad \text{Equazione 3.12}$$

Nonostante la determinazione venga eseguita per via potenziometrica con titolatore automatico, per un maggiore controllo sui risultati, l'acido borico viene additivato con indicatore Tashiro, composto da una miscela di rosso metile e blu di metilene in etanolo. Essendo un indicatore redox, quest'ultimo assume colorazioni differenti in base al pH, viola in ambiente acido e verde in ambiente basico. Quindi a riprova della corretta titolazione si controlla che la soluzione finale post titolazione abbia assunto la corretta sfumatura di viola caratteristica per quel range di pH.

Azoto Kjeldahl totale e solubile

L'azoto totale (N_{tot}) è presente nelle acque di scarico sotto diverse forme: azoto organico (N_{org}), azoto ammoniacale ($\text{NH}_4\text{-N}$), azoto nitroso ($\text{NO}_2\text{-N}$) ed azoto nitrico ($\text{NO}_3\text{-N}$). Il metodo Kjeldahl consente di determinare il contenuto di azoto organico ed ammoniacale presente nel campione non considerando le forme nitrica e nitrosa, secondo la seguente equazione:

$$TKN = NH_4^+ - N + N_{org} \quad \text{Equazione 3.13}$$

Le determinazioni dell'azoto organico N_{org} e dell'azoto totale N_{tot} si basano quindi sul metodo Kjeldahl:

$$N_{org} = TKN - NH_4^+ - N \quad \text{Equazione 3.14}$$

$$N_{tot} = TKN + NO_x - N \quad \text{Equazione 3.15}$$

Il processo di determinazione avviene miscelando il campione con acido solforico concentrato, portato a temperature elevate, insieme all'aggiunta di un catalizzatore. Si procede fino alla completa dissoluzione e alla ossidazione di tutto il

materiale organico. Tutto l'azoto contenuto nel campione diventa solfato d'ammonio. Aggiungendo un eccesso di una soluzione di idrossido di sodio, lo ione ammonio passa ad ammoniaca libera che mediante distillazione si separa per evaporazione e la si raccoglie condensata in una soluzione di acido borico. L'ammoniaca viene determinata mediante titolazione con acido minerale forte a concentrazione nota. L'analisi del TKN può esser effettuata su campioni tali quali o su campioni precedentemente filtrati per determinarne la frazione in soluzione (TKNs).

Procedura

In entrambi i casi si inserisce un volume noto di campione all'interno di un provettone in vetro borosilicato con fondo tondo, si aggiungono 0.350 g di mercurio (II) ossido (HgO) con funzione di catalizzatore, 25 mL di acido solforico (H_2SO_4) puro al 98% necessario per l'idrolisi acida e 7 g di potassio solfato (K_2SO_4) puro al 99% come coadiuvante per innalzare il punto di ebollizione dell'acido solforico. Il provettone viene inserito in un digestore a 6 posizioni mod. DK 6 della Velp Scientifica e si collega ad un sistema (Figura 3.42) per la condensazione e il recupero dei vapori acidi generati dalla digestione composto da Scrubber mod. SMS più pompa per il vuoto per l'aspirazione mod. JP tutto prodotto dalla Velp Scientifica.



Figura 3.42 Pompa JP per il vuoto, scrubber SMS e digestore DK6.



Figura 3.43 Distillatore in corrente di vapore mod. UDK 127.

Si avvia il programma di digestione che prevede l'innalzamento progressivo della temperatura per 2 h a 150°C , 1 h a 200°C e 2 h a 350°C , così da trasformare l'azoto organico in solfato di ammonio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Una volta raffreddato, il campione viene distillato come visto per l'analisi dell'azoto ammoniacale, aggiungendo 60 mL di NaOH nel distillatore (Figura 3.43) in modo che l'acido solforico in eccesso venga neutralizzato dall'idrossido di sodio e lo stesso idrossido di sodio crei l'ambiente alcalino per lo strippaggio dell'ammoniaca. Successivamente, si procede come già descritto in precedenza per l'ammoniaca utilizzando la stessa metodica di titolazione ed equazioni per la determinazione della concentrazione (Equazioni 3.11-3.12). Il risultato viene espresso in mgN/L .

Fosforo totale

Il fosforo, nelle acque di scarico, è presente quasi esclusivamente come fosfato, in particolare ortofosfato, fosfato condensato (piro-, meta-, polifosfato) e fosfato legato a composti organici. Queste specie possono trovarsi in forma solubile ed in forma particolata. Al fine della determinazione del fosforo totale, qualunque sia la specie in cui si viene a trovare, il fosforo deve essere preliminarmente trasformato in ortofosfato. Tale trasformazione viene realizzata con un processo di digestione acida. Successivamente la concentrazione di ortofosfato viene determinata attraverso il metodo spettrofotometrico al blu di molibdeno la cui assorbanza viene misurata alla lunghezza d'onda di 690 nm.

Procedura

Si introduce all'interno di una beuta in vetro Duran un volume di campione e si aggiunge una miscela solfonitrica (2 mL di H_2SO_4 e 4 mL di HNO_3). Si posiziona la beuta su una piastra riscaldante sottoponendola a un trattamento di digestione ossidativa in modo da trasformare tutto il fosforo presente nel campione in ortofosfato (P-PO_4). Si lascia ridurre il campione fino a un volume di 1 mL. Una volta raffreddato si travasa il contenuto in un matraccio tarato da 25 mL e lo si porta a volume utilizzando acqua distillata. Si preleva 1 mL di questa soluzione e lo si versa in un matraccio tarato da 50 mL. A questo punto si aggiungono 3 gocce di indicatore di pH a base di fenoltaleina in soluzione alcoolica al 1% w/v, a pH inferiori a 8.2 è incolore, a pH superiori a 9.8 la molecola imparte un intenso color porpora alla soluzione. Quindi si procede alla neutralizzazione con soluzione di NaOH 6N fino a colorazione rosa. Successivamente si aggiunge H_2SO_4 puro al 98% fino a decolorazione e si porta a volume con acqua distillata. Infine si aggiungono 2 mL di soluzione a base di molibdato ammonico e acido solforico e 3 gocce di cloruro stannoso in glicerina. Si attendono 6 minuti per lo sviluppo completo del colore e si misura attraverso lo spettrofotometro (Figura 3.44) l'assorbanza del campione a 690 nm utilizzando una cella da 10 mm. Lo strumento viene tarato di volta in volta per mezzo di un bianco (acqua distillata) sottoposto allo stesso trattamento dei campioni. Il metodo prevede, inoltre, che preliminarmente vengano determinati i parametri di una retta di taratura ottenuta tramite calcolo della regressione lineare, con le concentrazioni in ascissa e le

assorbanze corrispondenti in ordinata. La regressione viene considerata accettabile se la deviazione standard della retta stimata è inferiore al 10%. Si calcola dunque la concentrazione dei ortofosfato nel campione espressa in mg P-PO₄/L utilizzando l'equazione ottenuta, tenendo conto dell'eventuale diluizione (Equazione 3.16).

$$P_{tot} = \frac{(ABS - I)}{S} \cdot F \quad \text{Equazione 3.16}$$

Dove:

ABS = assorbanza del campione;

I = Intercetta ricavata dalla retta di taratura;

S = Pendenza ricavata dalla retta di taratura (L/mg);

F = Fattore di diluizione.

Richiesta Chimica di Ossigeno totale e solubile

Il COD (Chemical Oxygen Demand) rappresenta la misura dell'ossigeno necessario ad ossidare chimicamente le sostanze presenti in un campione, per mezzo di un ossidante forte in ambiente acido a caldo. È un indice che individua non solo le sostanze organiche ossidabili biologicamente, ma anche le sostanze organiche non biodegradabili, ossidabili solo chimicamente. Il metodo prevede l'ossidazione delle sostanze organiche e inorganiche presenti mediante una soluzione di dicromato di potassio in presenza di acido solforico concentrato e di solfato di argento, come catalizzatore dell'ossidazione. L'eccesso di dicromato viene titolato con una soluzione di solfato di ammonio e ferro (II). La concentrazione delle sostanze organiche e inorganiche ossidabili è proporzionale alla quantità di dicromato di potassio consumato. Lo ione cloruro è considerato un interferente, poiché la sua ossidazione può avvenire solo nelle condizioni del metodo utilizzato per il COD e non in quelle presenti nelle acque naturali. Il risultato si esprime in mgO₂/L che equivalgono alla quantità di ossidante necessaria per la reazione.



Figura 3.44 Spettrofotometro.



Figura 3.45 Termoreattore Velp Scientifica mod. ECO 6.

Procedimento

Un volume noto, tal quale o filtrato a 0.45 μm per l'analisi sul solubile, viene introdotto in apposito provettone in vetro e addizionato con argento solfato (Ag₂SO₄) come catalizzatore, mercurio solfato (HgSO₄) per bloccare l'ossidazione dei cloruri, 10 mL di bicromato di potassio (K₂Cr₂O₇) con concentrazione 0.1 N per ossidare la sostanza organica presente e 25 mL di acido solforico (H₂SO₄). Al provettone viene aggiunto un refrigerante ad aria in vetro per evitare la perdita di prodotti volatili. Si posiziona il provettone nel termoreattore Velp Scientifica mod. ECO 6 (Figura 3.45) e si avvia il programma di riscaldamento (2 ore a 150°C). Al termine della digestione, una volta raffreddato, si titola il campione con soluzione standard di solfato ferroso ammonico Fe(NH₂)₂(SO₄)₂ 0.125 N, usando 2-3 gocce di soluzione indicatrice di fenantrolina. Si titola l'eccesso di dicromato con la soluzione di solfato di ammonio e ferro (II) fino a viraggio del colore da blu-verde a bruno-rosso. In parallelo viene eseguire una prova in bianco sostituendo il campione con acqua distillata. Il valore di COD del campione è ricavato grazie alla seguente formula (Equazione 3.17):

$$COD = \frac{(A - B) \cdot N \cdot 8000}{V} \quad \text{Equazione 3.17}$$

Dove:

A = volume di soluzione di solfato ferroso ammonico usati per la titolazione del bianco (mL);

B = volume di soluzione di solfato ferroso ammonico usati per la titolazione del campione (mL);

N = normalità della soluzione di solfato ferroso ammonico (0.125 N);

8000 = peso equivalente dell'ossigeno moltiplicato per 1000, per riferire il dato al volume di un litro;

V = volume di campione usato per l'analisi (mL).

MLSS e MLVSS

Il termine MLSS è l'acronimo di *Mixed Liquor Suspended Solids* e rappresenta la quantità di solidi sospesi totali presenti nel fango del reattore biologico e nel fango di ricircolo. Sono rappresentati da tutte quelle sostanze trattenute da un filtro quando il campione di fango viene sottoposto a filtrazione. Gli MLVSS (*Mixed Liquor Volatile Suspended Solids*) rappresentano invece la parte volatile e sono legati alla componente organica del fango e rappresentano una stima della biomassa presente nel fango.

Procedimento

Una membrana realizzata in carta da filtro con porosità 20 µm, precedentemente sottoposta a processo di taratura, viene inumidita con acqua distillata e fatta aderire all'apparato filtrante (Figura 3.46). Un volume noto di fango viene versato all'interno dell'imbuto filtrante tipo Buchner in porcellana e fatto filtrare tramite pompa a ricircolo d'acqua Velp Scientifica mod. JP. Al termine della filtrazione si rimuove il filtro dall'imbuto e lo si inserisce in stufa ventilata a 105°C finché non sarà avvenuta la totale evaporazione dell'acqua dal filtro e dal fango trattenuto. Dopo di che si estrae il filtro dalla stufa e lo si lascia raffreddare nell'essiccatore fino al raggiungimento della temperatura ambiente. Tramite bilancia analitica si esegue la misura del peso lordo a cui andrà sottratto il peso del filtro stesso, ed in base al volume di campione utilizzato, si ricavano gli MLSS espressi in mg/L (Equazione 3.18).



Figura 3.46 Apparato filtrante con imbuto Buchner.



Figura 3.47 Forno a muffola.

$$MLSS = \frac{(P_{105} - T_{105}) \cdot 1000}{V}$$

Equazione 3.18

Dove:

P_{105} = peso del filtro post filtrazione essiccato a 105°C (g);

T_{105} = peso del filtro vergine essiccato a 105°C (g);

V = volume di campione filtrato (mL).

Per l'analisi degli MLVSS si pesa la tara di un crogiolo in porcellana, dove viene piegato il filtro dopo procedura per la determinazione degli MLSS. Il tutto viene posto in forno a muffola (Figura 3.47) a 550°C. Dopo 24 h e dopo raffreddamento in essiccatore, si pesa il crogiolo registrando il peso lordo. La differenza fra le pesate ottenute a 105°C e 550°C permette di ottenere il peso dei solidi sospesi volatili (Equazione 3.19).

$$MLVSS = \frac{(P_{105} - T_{105}) - (P_{550} - T_{550}) \cdot 1000}{V}$$

Equazione 3.19

Dove:

P_{550} = peso lordo del crogiolo e campione mineralizzato a 550°C (g);

T_{550} = peso del crogiolo (g).

Prove di sedimentabilità

La sedimentazione è l'operazione unitaria che permette la separazione di particelle solide dal liquido per effetto della gravità; negli impianti di trattamento acque la sedimentazione trova applicazione in numerosi trattamenti sia della linea acque che della linea fanghi. Esistono quattro tipi di sedimentazione (Figura 3.48):

- Discreta o libera: le particelle sedimentano individualmente senza che vi sia interazione fra esse. È possibile trovarla in una sospensione di solidi a bassa concentrazione.
- Per flocculazione: in una sospensione diluita, le particelle si coagulano, flocculano, aumentano di massa e sedimentano più velocemente.

- A zone: Si verifica in sospensioni con concentrazioni medie di solidi, in cui le particelle esercitano fra loro delle interazioni che impediscono la sedimentazione individuale, e l'insieme delle particelle sedimentano come un'unica unità.
- Per compressione: Si riferisce alla sedimentazione, in una sospensione con concentrazioni elevate, in cui viene a crearsi una struttura e le particelle che si aggiungono alla struttura portano alla compressione della struttura stessa.

Le prove sono state svolte sul fango di ricircolo prelevato dall'impianto principale di Vallechiara. Il fango è stato diluito, per ogni prova, con l'effluente in uscita dai sedimentatori secondari, prima della clorazione. Ogni prova ha previsto il condizionamento del fango e dell'effluente alle seguenti condizioni operative: contenuto di ammoniaca nel fango di 20 mgNH₄-N/L, pH 7, 8, 9 e 10 e temperatura di 25, 20, 15 e 12°C.

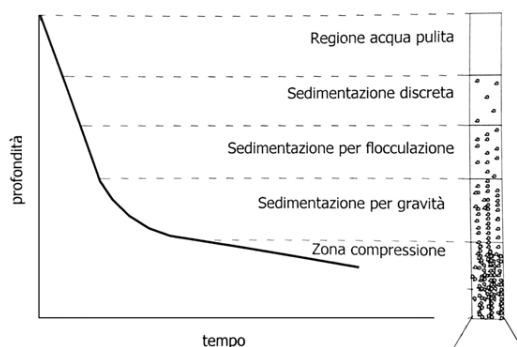


Figura 3.48 Schema delle zone di sedimentazione di un fango attivo

Procedimento

Prima di iniziare la prova, su un'aliquota di fango filtrato, viene eseguito un test per la determinazione del contenuto di azoto ammoniacale secondo la procedura illustrata in precedenza; nota la concentrazione di NH₄-N presente è possibile calcolare il volume di NH₄Cl da aggiungere per ottenere la concentrazione voluta per il condizionamento. Inoltre viene eseguito il test per la misura degli MLSS. Dopo aver stabilizzato il fango di ricircolo e l'effluente alla temperatura e al pH desiderati ha inizio la prima parte della prova: mantenimento del fango alle condizioni volute per un'ora, monitoraggio del pH, della temperatura e dell'ORP a intervalli di 10 minuti. Se la misura del pH differisce da quella prevista si provvede a modificarlo attraverso l'aggiunta di NaOH o HCl. Per il controllo sulla temperatura si è operato attraverso piastre riscaldanti per aumentarne il valore oppure con contenitori refrigeranti per diminuirlo. Terminata la fase di condizionamento, su un'aliquota di fango viene eseguito un test per la determinazione della velocità di sedimentazione (V'₃₀). All'interno di un becher 500 mL di fango vengono diluiti con 500 mL di effluente, il fluido viene agitato con una bacchetta e versato prontamente all'interno di un cono Imhoff, della capacità di 1000 mL. Il campione viene lasciato sedimentare senza interferenze. Trascorso un tempo di 30 minuti si procede alla lettura del volume corrispondente al livello raggiunto dall'interfaccia di separazione tra chiarificato e fango sedimentato. Il risultato viene espresso in mL/L. Con l'aliquota di fango rimanente dal condizionamento preliminare si esegue una prova per la determinazione della sedimentabilità dei fanghi dovuta al solo effetto gravitazionale. Viene determinata misurando nel tempo il volume di fango sedimentato in condizioni statiche a varie diluizioni del campione di partenza. Il procedimento consiste nell'introdurre 1000 mL di campione di fango all'interno di un cilindro graduato in vetro, si agita con una bacchetta di vetro per garantire una buona omogeneizzazione e successivamente si segue l'andamento del volume di fango sedimentato (C0) in funzione del tempo, leggendo il volume corrispondente all'interfaccia di separazione tra chiarificato e fango sedimentato (Figura 3.49), interrompendo le letture quando il fango inizia a sedimentare per compressione (Figura 3.50).



Figura 3.49 Interfaccia fango-acqua durante la prova di sedimentabilità.

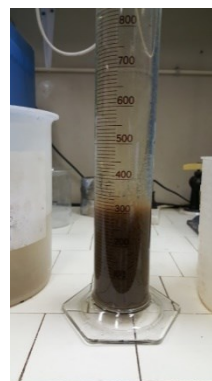


Figura 3.50 Lettura finale del volume di fango che sedimenta per compressione.

A questo punto il fango contenuto nel cilindro viene versato in un becher, si sottraggono 333 mL di fango e si rimpiazzano con altrettanto effluente condizionato, in modo da avere una concentrazione pari a 1/3 di quella iniziale, e si segue la stessa procedura eseguita per il fango con concentrazione C0. Con le stesse modalità si eseguono le prove successive diluendo ogni volta il campione di un fattore 1/3, fino a quando non si giunge a una concentrazione di MLSS pari circa a 200-400 mg/L. I dati ottenuti dalle diverse diluizioni in funzione del tempo vengono riportati in una tabella tempo/volume (Tabella 3.6).

Tabella 3.6 Esempio di dati ottenuti da una prova di sedimentabilità.

		1/3C0	1/3C1	1/3C2	1/3C3	1/3C4	1/3C5	1/3C6
Tempo	C0	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7
minuti	ml	ml	ml	ml	ml	ml	ml	ml
0	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1	990	980	940	850	920	860	850	820
2	989	970	860	780	720	670	600	620
3	985	950	790	630	540	430	320	170
4	980	940	690	520	410	295	210	150
5	980	920	630	460	350	260	190	130
6	979							
7	975							
8	973							
9	973							
10	970							

Per ogni singola prova si calcolano, mediante interpolazione lineare, le velocità di sedimentazione V_g del fango (m/h). Il prodotto fra i valori di V_g in m/h e le corrispondenti concentrazioni di solidi del fango in mg/L fornisce le quantità orarie di fango sedimentato per unità di superficie, F_g (flusso gravitazionale), espresse in kgMLSS/m²·h (Figura 3.51).

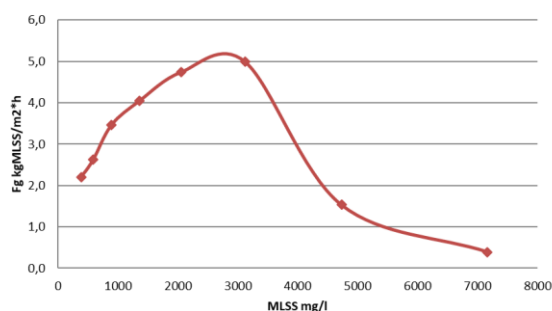


Figura 3.51 Esempio di curva per la determinazione del flusso gravitazionale.

Inoltre, per ogni prova, noto il V'_{30} e l'MLSS, è stato possibile calcolare l'indice di volume del fango (SVI - *Sludge Volume Index*), definito come il volume in millilitri occupato da 1 g di fango (come residuo a 105°C) dopo 30 minuti di

sedimentazione di 1 litro di campione in cono Imhoff; viene espresso in mL/g. Ogni prova descritta è stata eseguita anche su campioni di fango non condizionato, in modo da poter valutare gli effetti dei reagenti sul processo di sedimentazione.

3.8. Studi cinetici e studi del ciclo

In un processo biologico a fanghi attivi per la rimozione dell'azoto il metodo più diretto per valutare le capacità prestazionali della biomassa e gli eventuali processi inibitori che sta subendo è effettuare dei test di attività biologica. Le misure cinetiche effettuate sui fanghi attivi si basano sulle variazioni della concentrazione di composti azotati nel reattore e sul calcolo della velocità con cui tale consumo avviene. L'applicazione di tali metodiche agli impianti di depurazione può consentire differenti applicazioni, tra le quali le più tipiche sono:

- la quantificazione delle costanti cinetiche su cui si basa il dimensionamento del volume del reattore biologico;
- la caratterizzazione dei reflui in ingresso all'impianto dal punto di vista della loro biodegradabilità;
- la determinazione dell'eventuale effetto inibente sui batteri da parte di un liquame contenente sostanze potenzialmente tossiche.

Nel corso della sperimentazione su tutte le linee del comparto biologico dell'impianto pilota sono stati eseguiti con frequenza regolare degli studi cinetici per conoscere le velocità massime di nitrificazione e di denitrificazione del sistema, attraverso test specifici di AUR (*Ammonia Utilization Rate*) e NUR (*Nitrate Utilization Rate*). Inoltre, tutte le prove di condizionamento eseguite preliminarmente e parallelamente al funzionamento della piattaforma si sono basate sull'esecuzione di test cinetici per la valutazione degli effetti delle condizioni imposte sull'attività della biomassa.

La descrizione delle singole procedure sperimentali è di seguito riportata.

Sono stati eseguiti anche degli studi dei cicli per monitorare la variazione dei principali parametri del processo in ciascuna fase del ciclo (aerobica e anossica).

Test di AUR (*Ammonia Uptake Rate*)

Permette di effettuare in maniera semplice la misura dell'attività dei batteri nitrificanti presenti nella biomassa degli impianti a fanghi attivi. Il risultato del test è una velocità di nitrificazione (k_n) che esprime la quantità di NO_x formati in rapporto ai solidi sospesi volatili nell'unità di tempo ($\text{kg N-NO}_x/\text{kg VSS d}$).

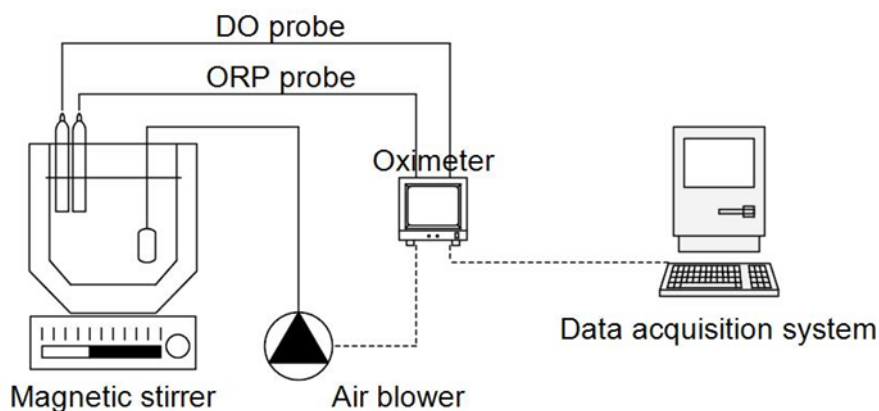


Figura 3.52 Configurazione schematica dell'apparato respirometrico.

Procedimento

Dalle linee del reattore biologico sono stati prelevati 2000 ml di fango attivo, un'aliquota viene utilizzata per determinare la concentrazione degli MLVSS mentre la restante parte viene posta in un respirometro (Figura 3.52), apparato di misura costituito da: un reattore in cui è immerso il campione da testare, un agitatore, una sonda di misurazione dell'ossigeno disciolto collegata a una centralina, un compressore d'aria e un sistema di acquisizione dati interfacciato ad un computer. La centralina permette l'impostazione di set points per l'ossigeno disciolto, i quali comandano l'accensione automatica dell'aerazione ogni qual volta la concentrazione scende sotto il valore minimo impostato e lo spegnimento quando il valore massimo viene raggiunto. Inoltre vengono continuamente registrati dati di pH e temperatura. Il campione, prima di iniziare la prova, viene preaerato fino al raggiungimento di condizioni stabili e di DO non limitante. Il sistema è continuamente mantenuto in miscelazione e, ad inizio prova, viene dosata una soluzione di cloruro di ammonio (NH_4Cl) a concentrazione nota in modo tale da ottenere una concentrazione di partenza di circa $40 \text{ mgNH}_4\text{-N/L}$. Viene eseguito immediatamente il primo prelievo di fango, filtrato a $0.45 \mu\text{m}$ per bloccare le reazioni di nitrificazione e analizzato con le metodiche viste in precedenza (Paragrafo 3.7) per la determinazione dell'azoto nitroso e nitrico tramite cromatografia ionica. L'azoto ammoniacale viene determinato solamente nel primo prelievo, per confermare la concentrazione di partenza, e nell'ultimo, per avere un *double check* sui valori degli NO_x formati, e comunque al fine del calcolo della velocità

di nitrificazione non vengono considerate poiché durante la prova potrebbero innescarsi processi di strippaggio dovuti all'aria fornita con il rischio di sovrastimare la concentrazione di ammoniaca ossidata e quindi la velocità di nitrificazione. La velocità di nitrificazione è ottenuta riportando su un grafico cartesiano (Figura 3.53) le concentrazioni di $\text{NO}_x\text{-N}$ prodotti (mg/L) rispetto al tempo di osservazione (minuti). Linearizzando si ottiene una retta la cui pendenza rappresenta la velocità di nitrificazione della biomassa espressa in $\text{mgNO}_x\text{-N/L min}$ (Equazione 3.20).

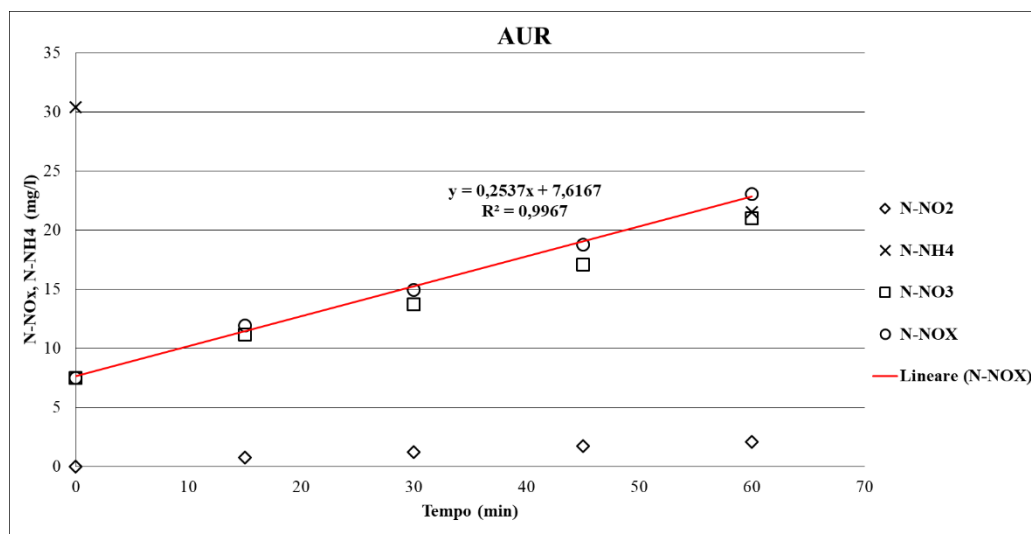


Figura 3.53 Esempio di andamento delle concentrazioni durante un test AUR.

$$V_{\text{nitrificazione}} = \frac{\Delta \text{NO}_x - N_{\text{prodotti}}}{\Delta \text{tempo}} \quad \text{Equazione 3.20}$$

Una volta determinata la velocità di nitrificazione è possibile calcolare la velocità di nitrificazione specifica o costante di nitrificazione del fango k_n riferita alla concentrazione della biomassa presente nel campione espressa in $\text{kgNO}_x\text{-N/kgVSS d}$ (Equazione 3.21).

$$k_n = \frac{V_{\text{nitrificazione}} \cdot 1400}{MLVSS \cdot \frac{V_f}{V_f + V_{\text{NH}_4\text{Cl}}}} \quad \text{Equazione 3.21}$$

Dove:

$V_{\text{nitrificazione}}$ = velocità di nitrificazione ($\text{mgNO}_x\text{-N/L min}$);

1400 = fattore di conversione da minuti a giorno;

$MLVSS$ = concentrazione della biomassa (mg/L);

V_f = volume di fango utilizzato per la prova (mL);

$V_{\text{NH}_4\text{Cl}}$ = volume della soluzione di NH_4Cl aggiunta (mL).

Il valore di k_n ricavato sperimentalmente è riferito alla temperatura media di prova. È possibile normalizzare il valore di k_n riferendolo alla temperatura standard di 20°C utilizzando l'equazione di Arrhenius (Equazione 3.22).

$$k_n = k_{n20^\circ\text{C}} \cdot \theta^{T-20^\circ\text{C}} \quad \text{Equazione 3.22}$$

Dove:

k_n = velocità di nitrificazione specifica ($\text{kgNO}_x\text{-N/kgVSS d}$);

$k_{n20^\circ\text{C}}$ = velocità di nitrificazione specifica standardizzata a 20°C ($\text{kgNO}_x\text{-N/kgVSS d}$);

θ = coefficiente di temperatura impostato pari a 1.023;

T = temperatura media di prova ($^\circ\text{C}$).

Test di NUR (Nitrate Uptake Rate)

Consente di stimare l'attività dei batteri denitrificanti presenti nella biomassa di un fango attivo, responsabili della riduzione dell'azoto nitroso e nitrico ad azoto gas. I presupposti affinché si abbia denitrificazione sono la presenza di condizioni anossiche che favoriscano l'utilizzo dell'ossigeno combinato per la dissimilazione delle sostanze organiche e la presenza di carbonio organico prontamente biodegradabile (RBCOD). I valori della k_d dipendono fortemente dal tipo di substrato carbonioso impiegato che può essere interno o esterno. Nel primo caso si fa riferimento a quello presente nel

refluo stesso o nella biomassa (carbonio endogeno) mentre per fonte esterna si intende l'aggiunta di un substrato carbonioso (metanolo, acido acetico, ecc.). In questo caso la velocità specifica di denitrificazione che si misura corrisponde alla costante di denitrificazione massima. L'esecuzione del test NUR serve per valutare se le condizioni di prova imposte, che ricalcano le condizioni reali del reattore biologico, permettono di ottenere una denitrificazione totale o parziale del reflujo nell'impianto pilota.

Procedimento

Analogamente a quanto visto per il test AUR, vengono prelevati dalle vasche 2000 mL di fango biologico. Un'aliquota viene utilizzata per determinare la concentrazione degli MLVSS mentre la restante parte viene posta in un respirometro (Figura 3.52) e mantenuta in miscelazione meccanica non turbolenta per tenere in sospensione le biomasse evitando l'ingresso di ossigeno. In questo caso non è previsto l'utilizzo del sistema di aerazione e in sostituzione della sonda per la determinazione della concentrazione di DO, viene utilizzata una sonda per il controllo dell'ORP per verificare la sussistenza delle condizioni ideali per la denitrificazione. Durante la prova vengono inoltre monitorati temperatura e pH. Il campione, prima di iniziare la prova, viene miscelato fino al raggiungimento di condizioni stabili. Prima di iniziare il test si aggiunge una soluzione di nitrito di sodio (NaNO_2) a concentrazione nota, in modo tale da ottenere una concentrazione di partenza di circa 40 $\text{mgNO}_2\text{-N/L}$, e si aggiunge una soluzione a concentrazione nota di metanolo (CH_3OH) in modo da ottenere un rapporto COD/N non limitante (~ 10). Come per il test AUR, si eseguono prelievi a intervalli regolari e si analizzano i nitriti e nitrati in soluzione sul fango filtrato a $0.45 \mu\text{m}$. La velocità di denitrificazione è ottenuta riportando su un grafico cartesiano (Figura 3.54) le concentrazioni di $\text{NO}_x\text{-N}$ ridotti (mg/L) rispetto al tempo di osservazione (minuti). Linearizzando si ottiene una retta la cui pendenza rappresenta la velocità di denitrificazione della biomassa espressa in $\text{mgNO}_x\text{-N/L min}$ (Equazione 3.23).

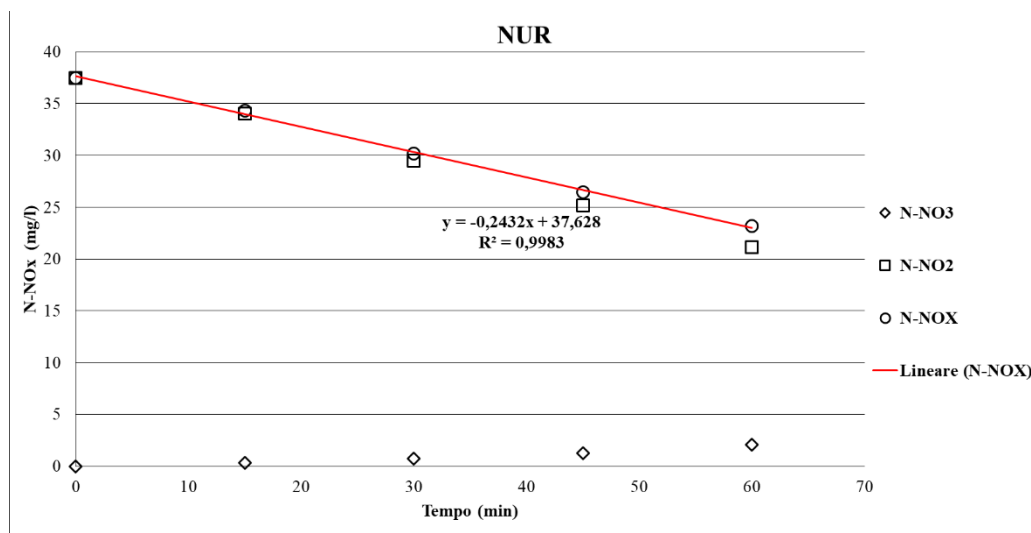


Figura 3.54 Esempio di andamento delle concentrazioni durante un test NUR.

$$V_{\text{denitrificazione}} = \frac{\Delta \text{NO}_x - N \text{ ridotti}}{\Delta \text{tempo}} \quad \text{Equazione 3.23}$$

Una volta determinata la velocità di denitrificazione è possibile calcolare la velocità di denitrificazione specifica o costante di denitrificazione del fango k_d riferita alla concentrazione della biomassa presente nel campione espressa in $\text{kgNO}_x\text{-N/kgVSS d}$ (Equazione 3.24).

$$k_d = \frac{V_{\text{denitrificazione}} \cdot 1400}{\text{MLVSS} \cdot \frac{V_f}{V_f + V_{\text{NaNO}_2} + V_{\text{CH}_3\text{OH}}}} \quad \text{Equazione 3.24}$$

Dove:

$V_{\text{denitrificazione}}$ = velocità di denitrificazione ($\text{mgNO}_x\text{-N/L min}$);

1400 = fattore di conversione da minuti a giorno;

MLVSS = concentrazione della biomassa (mg/L);

V_f = volume di fango utilizzato per la prova (mL);

V_{NaNO_2} = volume della soluzione di NaNO_2 aggiunta (mL);

$V_{\text{CH}_3\text{OH}}$ = volume della soluzione di CH_3OH aggiunta (mL).

Il valore di k_d ricavato sperimentalmente è riferito alla temperatura media di prova. È possibile normalizzare il valore di k_d riferendolo alla temperatura standard di 20 °C utilizzando l'equazione di Arrhenius (Equazione 3.25).

$$k_d = k_{d20^\circ C} \cdot \theta^{T-20^\circ C} \quad \text{Equazione 3.25}$$

Dove:

k_d = velocità di denitrificazione specifica (kgNO_x-N/kgVSS d);

$k_{d20^\circ C}$ = velocità di denitrificazione specifica standardizzata a 20°C (kgNO_x-N/kgVSS d);

θ = coefficiente di temperatura impostato pari a 1.023;

T = temperatura media di prova (°C).

Studio del ciclo

Durante la sperimentazione sono stati effettuati studi del ciclo nelle linee del comparto biologico, al fine di valutare la capacità di nitrificazione e denitrificazione del sistema, ma anche per correlare la concentrazione delle forme azotate in vasca alle emissioni gassose, monitorate in continuo. Lo studio del ciclo consiste nel prelevare campioni dalla vasca biologica al fine di monitorare la variazione di ammoniaca, nitriti e nitrati, con una frequenza regolare per l'intera durata delle fasi aerobiche ed anossiche. Queste prove sono state eseguite ponendo le vasche in batch, ovvero:

- spegnendo tutti i flussi in ingresso al sistema: portata in ingresso, portata di ricircolo e dosaggio dell'ammoniaca;
- chiudendo l'uscita dal primo reattore, ovvero il collegamento con la seconda vasca.

Il dosaggio della soda non è stato interrotto in modo tale da garantire il condizionamento del fango. I campioni prelevati sono stati immediatamente filtrati a 0.45 µm per bloccare le reazioni di trasformazione ad opera della biomassa e successivamente sono state determinate le diverse specie azotate in soluzione (azoto ammoniacale, nitroso e nitrico). Il ciclo inoltre è stato monitorato tramite le sonde presenti nelle vasche (ossigeno disciolto, potenziale di ossidoriduzione e pH). A livello operativo le prove sono state così svolte: dopo aver atteso l'inizio della fase di aerazione secondo le logiche del sistema, si è proceduto mettendo il sistema in batch. A questo punto, tramite campionatore ad asta, si sono prelevati e filtrati i campioni. Si sono raccolti anche campioni di mixed liquor per la determinazione della concentrazione di MLSS e MLVSS.

3.9. Il bilancio dell'azoto

Il bilancio di massa dell'azoto è uno strumento importante nella valutazione delle prestazioni del processo di rimozione dell'azoto ed è anche utile ai fini di una verifica dei parametri di progetto, così da valutare eventuali sovraccarichi o fenomeni diluitivi dell'impianto. Il bilancio è stato effettuato facendo riferimento al solo processo biologico e, sulla base dei carichi di massa, si sono potute valutare le prestazioni di rimozione.

L'azoto totale denitrificato è esprimibile come:

$$LTN_{den} = LTN_{in} - LTN_{qw} - LTN_{out} \quad \text{Equazione 3.26}$$

Dove:

LTN_{den} = carico di massa dell'azoto totale denitrificato (kg/d);

LTN_{in} = carico di massa dell'azoto totale nell'influente (kg/d);

LTN_{qw} = carico di massa dell'azoto totale nei fanghi attivi di supero biologico (kg/d);

LTN_{out} = carico di massa dell'azoto totale nell'effluente (kg/d).

Mentre l'azoto totale nitrificato risulta pari a:

$$LTN_{nit} = LTN_{den} + (LN - NO_{x_{out}}) - (LN - NO_{x_{in}}) \quad \text{Equazione 3.27}$$

Dove:

LTN_{nit} = carico di massa dell'azoto totale nitrificato (kg/d);

$LN - NO_{x_{out}}$ = carico di massa degli ossidi di azoto nell'effluente (kg/d);

$LN - NO_{x_{in}}$ = carico di massa degli ossidi di azoto nell'influente (kg/d).

L'azoto totale denitrificabile e il nitrificabile si ottengono dalle seguenti formule:

$$LTN_{denitrificabile} = LTN_{den} + (LN - NO_{x_{out}}) \quad \text{Equazione 3.28}$$

$$LTN_{nitrificabile} = LTKN_{in} + LTKN_{ras} - LTN_{qw} - LN_{nborhout} \quad \text{Equazione 3.29}$$

Dove:

$LTKN_{in}$ = carico di massa del TKN influente (kg/d);

$LTKN_{ras}$ = carico di massa del TKN nei fanghi di ricircolo (kg/d);

$LN_{nborhout}$ è il carico di massa dell'azoto non biodegradabile effluente (kg/d).

Noti questi termini, è possibile calcolare le efficienze di nitrificazione e denitrificazione come segue.

- Efficienza di nitrificazione rispetto all'azoto totale influente, E_n (%):

$$E_n(\%) = \frac{LTN_{nit}}{LTN_{in}} \cdot 100 \quad \text{Equazione 3.30}$$

- Efficienza di nitrificazione rispetto all'azoto nitrificabile, E_{nn} (%):

$$E_{nn}(\%) = \frac{LTN_{nit}}{LTN_{nitrificabile}} \cdot 100 \quad \text{Equazione 3.31}$$

- Efficienza di denitrificazione rispetto all'azoto totale influente, E_d (%):

$$E_d(\%) = \frac{LTN_{den}}{LTN_{in}} \cdot 100 \quad \text{Equazione 3.32}$$

- Efficienza di denitrificazione rispetto all'azoto totale denitrificabile, E_{dd} (%):

$$E_{dd}(\%) = \frac{LTN_{den}}{LTN_{denitrificabile}} \cdot 100 \quad \text{Equazione 3.33}$$

4. Risultati

Nel presente capitolo verranno esposti i risultati ottenuti nel corso del triennio di dottorato. La sperimentazione ha avuto come obiettivo quello di ricercare le condizioni ottimali per lo sviluppo e la stabilità di un processo di rimozione dell'azoto via nitrito per acque reflue urbane. Il lavoro è stato suddiviso in tre parti, ognuna delle quali ha portato all'applicazione di una differente configurazione impiantistica presso la piattaforma sperimentale dell'Università Politecnica delle Marche. Ogni fase è stata preceduta da un approfondito studio della letteratura e da prove preliminari di laboratorio per la comprensione dei diversi fattori in gioco e della possibile applicabilità dei processi in scala pilota. In Figura 3.28 si riporta uno schema riassuntivo delle diverse configurazioni impiantistiche adottate, mentre nella Tabella 3.4 sono riportate le fasi sperimentali e una sintesi dei principali parametri operativi.

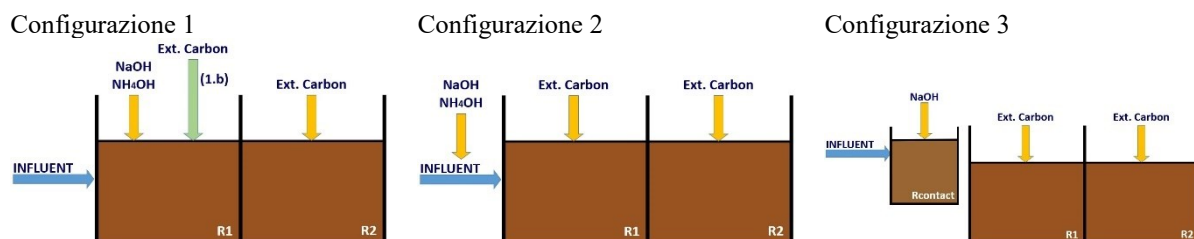


Figura 4.1 Configurazione impiantistiche adottate nel corso della sperimentazione.

Tabella 4.1 Fasi sperimentali e sintesi dei principali parametri operativi.

Config.	Fase	Periodo	Durata	Conc. $\text{NH}_4\text{-N}$ in R1	Setpoint DO	Dosaggio carbonio esterno
			giorni	$\text{mgNH}_4\text{-N/L}$	$\text{mgO}_2\text{/L}$	
1	1.a	01/09/14-14/11/14	72	$> 50^*$	1.5	R2
1	1.b	15/11/14-28/12/14	47	$> 50^*$	3.0	R2
1	2	13/04/15-28/05/15	46	30^*	> 2.0	R1+R2
2	3	14/09/15-10/01/16	101	$8.5^\dagger$	> 2.0	R1+R2
3	4	18/04/16-18/08/16	196	7.7	> 2.0	R1+R2

* Dosaggio NH_4Cl in R1; † Dosaggio NH_4Cl nell'influento.

4.1. Configurazione 1 – Condizionamento in vasca

4.1.1. Prove preliminari

Dopo un'iniziale fase di ricerca bibliografica e studio della letteratura scientifica riguardante il processo via nitrito, si sono eseguite una serie di prove propedeutiche alla comprensione dei diversi aspetti coinvolti. Attraverso test in laboratorio eseguiti sul fango attivo del comparto biologico tradizionale dell'impianto di Vallecchia si è monitorato lo stato della biomassa e la relativa velocità di nitrificazione, valutando successivamente l'effetto di condizioni di ossigeno limitante e non limitante al processo di nitrificazione. Lo studio cinetico è proseguito condizionando il pH e variando la concentrazione iniziale di azoto ammoniacale, valutando inoltre tempi di prova più lunghi (da 2 a 4 ore). In ultimo sono stati implementati dei cicli alternati AUR-NUR, con un tempo di prova di 10 ore.

Nella prima fase sono stati condotti 7 test AUR della durata di 1 ora (dosando NH_4Cl di modo da ottenere una concentrazione iniziale pari a $40\text{-}50 \text{ mgNH}_4\text{-N/L}$). La velocità di nitrificazione media è stata pari a $0.069 \text{ kgNO}_x\text{-N/kgVSS/d}$, con un picco massimo pari a $0.145 \text{ kgNO}_x\text{-N/kgVSS/d}$. L'andamento delle k_n normalizzate a 20°C è riportato in Figura 4.2; si constatano le basse percentuali di nitriti prodotti.

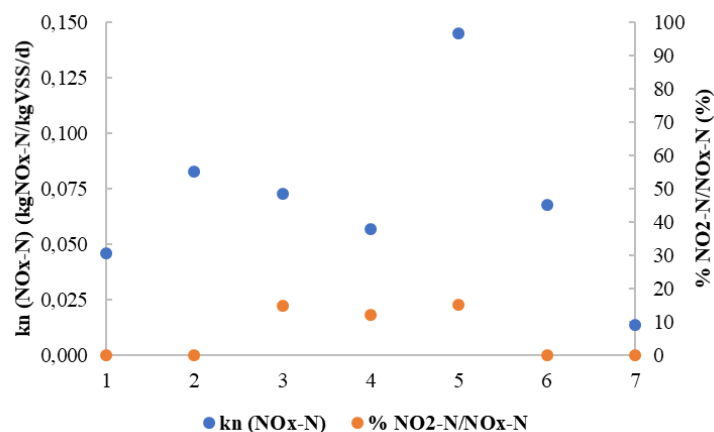


Figura 4.2 Andamento k_n e % nitriti prodotti biomassa di Vallechiara.

Attraverso test condotti in parallelo si è andati a valutare l'influenza dell'ossigeno disciolto sulle cinetiche di nitrificazione e produzione dei nitriti. L'andamento delle velocità di nitrificazione normalizzate a 20°C, determinate in condizioni di ossigeno limitante e non limitante, è riportato in Figura 4.3. La k_n assume mediamente il valore di 0.131 kgNO_x-N/kgVSS/d in condizioni non limitanti, mantenendo durante ciascuna prova una concentrazione di DO tra 3.5-4.5 mgO₂/L, mentre nel caso in cui l'ossigeno è stato mantenuto a 0.3-0.8 mgO₂/L, il valore medio delle k_n è pari a 0.050 kgNO_x-N/kgVSS/d.

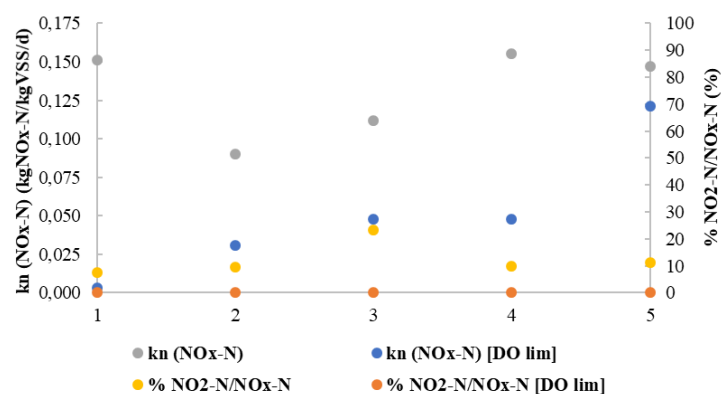


Figura 4.3 Andamento k_n e % nitriti prodotti in condizioni di DO limitante e non.

Perseguire un accumulo di nitrito e favorire la proliferazione dei microrganismi AOB effettuando un controllo soltanto della concentrazione di ossigeno disciolto non è risultata una strategia sufficiente; come noto dalla letteratura, l'implementazione di un processo di nitrificazione/denitrificazione si deve alla combinazione di diversi fattori, principalmente pH, DO, temperatura, substrato ammoniacale e SRT. Per tale motivo le modalità di analisi e determinazione delle costanti cinetiche, finalizzate alla conversione in un processo di nitrificazione via nitrito, hanno subito un'evoluzione: i test AUR sono stati condotti, variando il tempo di osservazione (da 2 a 4 ore), condizionando il pH e il carico ammoniacale iniziale. I risultati con relativa descrizione dei parametri di prova variati, sono descritti in Tabella 4.2.

Tabella 4.2 Riepilogo prove condizionate.

descrizione prova	MLSS	MLVSS	MLVSS/MLSS	OD NON limitante				
				K_n 20 °	K_n via nitrito	% nitriti	$\Delta N-NH_4$	$\Delta N-NOX$
AUR - 2 ore; pH=7,2; NH ₄ Cl 50	5880	2330	0,40	0,078	0,006	7,69	10,33	11,71
AUR - 2 ore; pH=8; NH ₄ Cl 50				0,062	0,006	9,68	12,73	9,79
AUR - 2 ore; pH=8,5; NH ₄ Cl 50	5880	2330	0,40	0,077	0,018	23,38	14,61	13,69
AUR - 2 ore; pH=7,2; NH ₄ Cl 200				0,068	0	0	12,93	12,43
AUR - 2 ore; pH=7,2; NH ₄ Cl 400	5688	2128	0,37	0,059	0	0	5,02	8,77
AUR - 2 ore; pH=8; NH ₄ Cl 50	7588	2659	0,35	0,063	0,007	11,11	17,17	15,36
AUR - 2 ore; pH=8; NH ₄ Cl 200				0,044	0,014	31,82	23,15	10,54
AUR - 3 ore; pH=7,2; NH ₄ pura 200	7458	2518	0,34	0,071	0,006	8,45	12,71	22,99
AUR - 4 ore; pH=8,5; NH ₄ pura 200	8844	2928	0,33	0,055	0,025	45,45	27,58	22,74

Si evidenzia come le percentuali di accumulo di nitrito maggiori, ossia oltre il 45%, corrispondano alle prove con condizionamento del pH a 8.5. Infatti le rispettive velocità di nitrificazione risultano superiori di un ordine di grandezza (0.018-0.025 kgNO₂-N/KgVSS/d) rispetto alle prove con pH 8 o inferiore. Per quest'ultime la velocità di nitrificazione è pari mediamente a 0.006-0.007 kgNO₂-N/kgVSS/d. Le velocità di nitrificazione normalizzate a 20°C sono comprese in media nel range 0.044-0.078 kgNO_x-N/kgVSS/d. Nel grafico di Figura 4.4 si riporta l'andamento delle velocità di nitrificazione e nitrificazione, si denota l'effetto positivo del pH sulla stessa kn (NO₂-N) e sull'accumulo di nitriti.

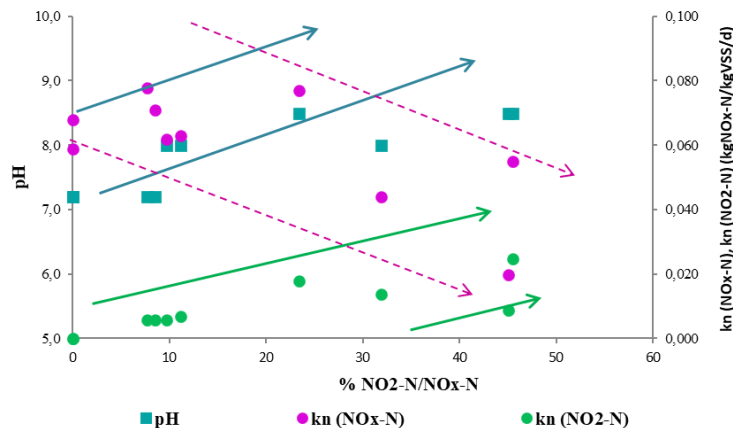


Figura 4.4 Effetto del pH sulla velocità di nitrificazione/nitrificazione e %NO₂-N/NO_x-N.

Un ruolo chiave è ricoperto anche dal carico iniziale di azoto ammoniacale, infatti il 45% di nitriti prodotti corrispondono a prove eseguite con concentrazione di partenza pari a 200 mgNH₄-N/L e pH 8.5 (Figura 4.5). L'ossigeno è stato sempre mantenuto non limitante (DO>3 mgO₂/L). Dal momento in cui si è avviato il condizionamento del pH nei test AUR di laboratorio, le percentuali di accumulo del nitrito sono aumentate da valori inferiori al 10% nella prima e seconda fase a oltre il 45% in questa fase. Si nota come il mantenimento di un pH 8.5 crea le condizioni per mettere in pratica un processo di nitrificazione.

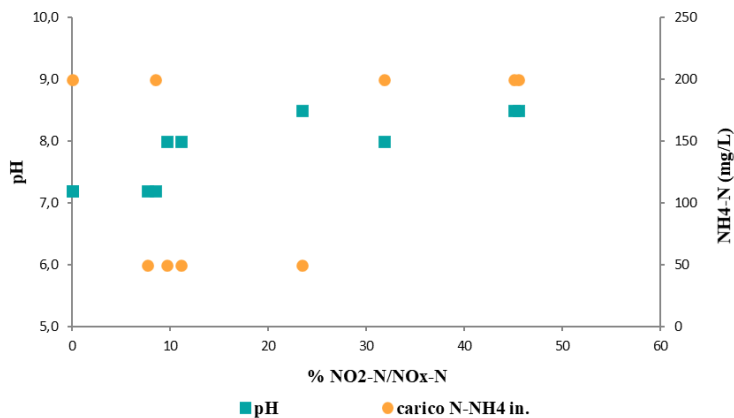


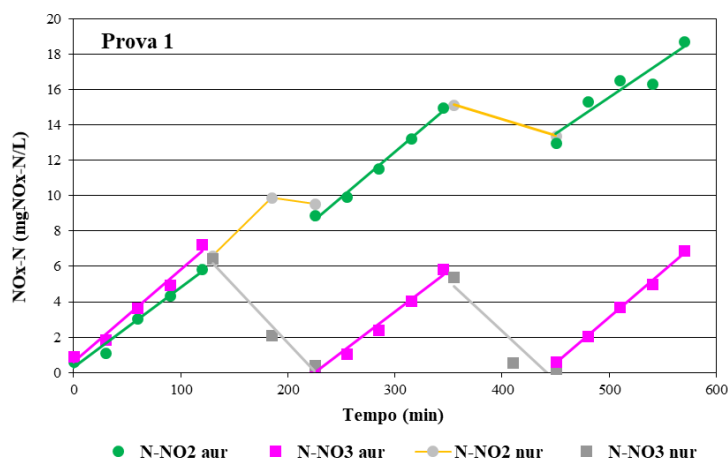
Figura 4.5 Effetto del carico di NH₄-N iniziale e del pH sulla %NO₂-N/NO_x-N.

Sulla base dei precedenti risultati, con l'intenzione di valutare gli effetti di un trattamento per la rimozione biologica dell'azoto attraverso l'applicazione di un processo via nitrito ad aerazione intermittente, la strategia di studio si è focalizzata sulla simulazione in laboratorio di fasi di nitrificazione e denitrificazione, sottoponendo 40 litri di fango per 10 ore consecutive a 120 minuti di aerazione intervallati da 90 minuti di denitrificazione. È stato mantenuto costante per l'intera durata della prova il pH a 8.5 attraverso il dosaggio di idrossido di sodio e nella fase iniziale di ogni AUR la concentrazione di substrato ammoniacale è stata riportata a 50 mgNH₄-N/L. Particolare attenzione è stata riposta nel ricreare nel corso della sperimentazione le condizioni favorevoli alla speciazione dei batteri AOB a discapito della frazione dei batteri responsabile dell'ossidazione dei nitriti a nitrati (NOB). In questo caso la concentrazione di ossigeno disciolto è stata mantenuta al di sotto dei 3 mgO₂/L. La fase di denitrificazione viene condotta con aggiunta di carbonio esterno applicando un rapporto COD/NO_x-N pari a 1.5, quindi limitante, in modo da simulare i bassi rapporti dell'influente reale dell'impianto di Vallechiara. I risultati delle prove hanno mostrato un aumento della % di produzione di nitrito rispetto ai risultati precedenti, raggiungendo in media valori pari al 50-65%. Di seguito si riportano i risultati ottenuti (Tabella 4.3).

Tabella 4.3 Riepilogo prove AUR-NUR condizionate.

Prova	Durata	pH	NH ₄ -N iniziale	MLSS	MLVSS/ MLSS	kn (NO _x -N)	kn (NO ₂ -N)	%NO ₂ -N/ NO _x -N	kd
			mg/L	mg/L		kgNO _x -N/ kgVSS/d	kgNO ₂ -N/ kgVSS/d	%	kgNO _x -N/ kgVSS/d
1	10 ore:	8.5	50	5650	0.42	0.056	0.026	46.4	0.018
	-3 AUR 120'					0.051	0.027	52.9	0.045
	-2 NUR 90'					0.043	0.019	47.6	
2	10 ore:	8.5	50	4528	0.37	0.166	0.082	49.4	0.025
	-3 AUR 120'					0.139	0.084	60.4	0.039
	-2 NUR 90'					0.095	0.090	94.7	
3	10 ore:	8.0	50	9322	0.40	0.058	0.030	50.9	0.004
	-3 AUR 120'					0.018	0.011	66.3	0.020
	-2 NUR 90'					0.010	0.004	49.7	

Nella prova batch numero 1 le velocità di nitrificazione hanno seguito un andamento lievemente decrescente tra i cicli, passando da 0.056 a 0.043 kgNO_x-N/kgVSS/d, per quanto riguarda invece le velocità di denitrificazione da 0.018 si è passati a 0.045 kgNO_x-N/kgVSS/d. La velocità di nitrificazione invece è risultata costante tra 0.026 e 0.027 kgNO₂-N/kgVSS/d durante le prime due AUR, diminuendo solo nel terzo ciclo a 0.019 kgNO₂-N/kgVSS/d. Da tutto ciò, visualizzando il grafico di Figura 4.6 si evince una parziale conversione del sistema da convenzionale a processo avanzato via nitrito, infatti in fase nitro nonostante si osservi uno sviluppo di nitrito crescente, la produzione di nitrati rimane stabile e uguale durante i tre cicli di aerazione. In questa prova l'accumulo di nitriti non si spinge in media oltre il 50%, in quanto la conversione dell'azoto ammoniacale non avviene attraverso la via preferenziale della nitrificazione parziale ma una buona parte passa ancora a nitrato.

**Figura 4.6** Andamento di nitriti e nitrati nel corso della prova 1.

Analizzando la prova 2, le velocità di nitrificazione e nitrificazione hanno raggiunto rispettivamente i seguenti valori: 0.166-0.139-0.095 kgNO_x-N/kgVSS/d e 0.082-0.084-0.090 kgNO₂-N/kgVSS/d. Rispetto alla precedente prova le velocità di nitrificazione hanno seguito un costante aumento tra i cicli evidenziando in modo chiaro la conversione del processo da nitrificazione a nitrificazione, infatti le percentuali di nitrito aumentano nel tempo fino al raggiungimento del 95% di accumulo finale. Le velocità di denitrificazione sono state 0.025-0.039 kgNO_x-N/kgVSS/d. Dal grafico in Figura 4.7 si evidenzia come in fase aerobica, la trasformazione a nitrati diminuisce specularmente all'aumento dell'equilibrio a nitrito, e in fase anossica la denitrificazione parziale genera un accumulo di nitriti crescente per le successive fasi aerobiche. Nel test numero 3, condotto controllando il pH a 8.0, l'andamento della prova in termini di nitriti e nitrati prodotti, risulta simile a quella precedente, l'aumento dei nitriti viaggia di pari passo con una minore produzione di nitrato. Le velocità mostrano però valori più bassi, di un ordine di grandezza inferiore rispetto a quelle ottenute nella prova 2, sia in termini di NO_x che di NO₂. La massima percentuale di produzione di nitrito raggiunta è del 66%. Questo decremento può essere dovuto all'ingresso di materiale inerte nell'impianto, infatti la concentrazione degli MLSS risulta notevolmente maggiore rispetto alle prove precedenti (9322 mg/L), determinando una minore partizione di biomassa attiva utile al processo di nitrificazione/nitrificazione (Figura 4.7).

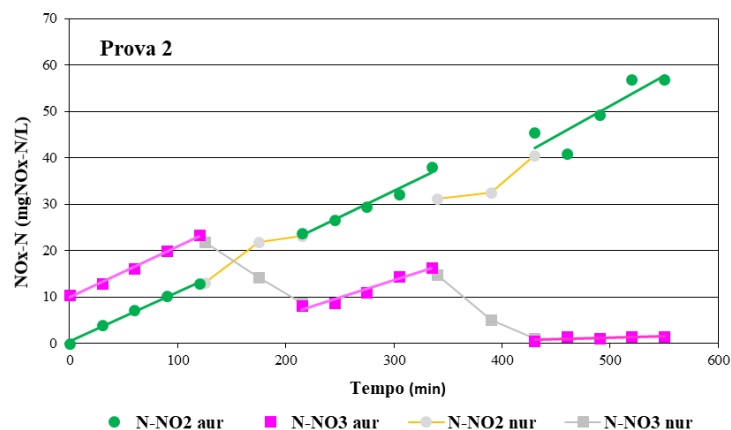


Figura 4.7 Andamento di nitriti e nitrati nel corso della prova 2.

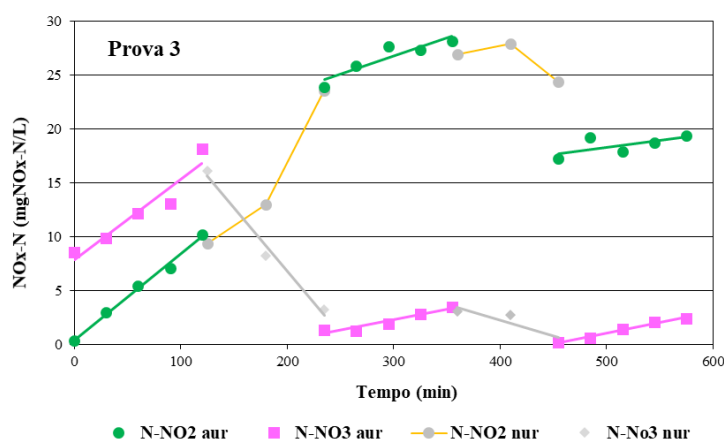


Figura 4.8 Andamento di nitriti e nitrati nel corso della prova 3.

Le prove eseguite sul mixed liquor di un impianto D-N tradizionale hanno mostrato come, dopo tre cicli di aerazione e applicando il seguente condizionamento:

- pH 8.3-8.5;
- concentrazione iniziale $\text{NH}_4\text{-N} = 50 \text{ mgNH}_4\text{-N/L}$;
- $\text{DO} = 2\text{-}3 \text{ mgO}_2\text{/L}$;

si possa ottenere sin da subito una produzione di NO_2 e con velocità costante nel tempo, raggiungendo l'inibizione continua degli NOB tanto che al terzo ciclo, dopo 7 ore circa, la nitrificazione si annulla, ottenendo una produzione di soli nitriti. L'inibizione è stata raggiunta applicando valori di FA molto elevati, compresi tra 3 e 7 $\text{mgNH}_4\text{-N/L}$ calcolati considerando la concentrazione ammoniacale di partenza e la temperatura di prova. I risultati delle fasi anossiche mostrano velocità di denitrificazione costante dei soli NO_3 , mentre le concentrazioni degli NO_2 tendono ad aumentare. Sulla base dei risultati ottenuti, si è dato inizio alla sperimentazione in scala pilota all'interno della piattaforma sperimentale cercando di riportare nella fase di start up in campo la prassi procedurale sperimentata in laboratorio.

Prima dell'avvio della fase 2, al fine di stimare l'attività dei batteri denitrificanti presenti nella biomassa del fango attivo sono stati effettuati test di laboratorio per la valutazione della velocità di denitrificazione e la propensione della biomassa ad utilizzare un substrato carbonioso rispetto ad un altro (velocità di presa dell'azoto).

Le prove sono state effettuate in presenza di carbonio prontamente disponibile introducendo come substrato carbonioso, acetato di sodio (CH_3COONa) e metanolo (CH_3OH). Contemporaneamente, al fine di raggiungere rapporti carbonio/azoto prefissati, sono state aggiunte soluzioni di nitrito e nitrato di sodio (NaNO_2 e NaNO_3) all'interno della biomassa in esame. Di seguito, in Tabella 4.4, viene riportata una sintesi delle prove effettuate indicando le velocità di denitrificazione e denitrificazione raggiunte, al variare dei substrati e dei rapporti C/N utilizzati.

Tabella 4.4 Tabella riassuntiva delle prove di NUR preliminari alla fase2.

DATA	SUBSTRATO	20°C			%N-NO ₂ /N-NO _x	C/N	N-NO ₂ INIZIO	N-NO ₃ INIZIO	DURATA
		KD	KD VIA NITRITO	KD VIA NITRATO					
03-feb	METANOLO	0,024	0,009	0,015	38	2,3	20	14	60
03-feb	METANOLO	0,052	0,004	0,048	8	9,4	10	30	60
16-feb	METANOLO	0,053	0	0,053	0	7,9	15	15	360
12-feb	METANOLO	0,023	0	0,023	0	1,1	27	5	60
12-feb	METANOLO	0,037	0	0,037	0	6,3	28	4	60
20-feb	METANOLO	0,017	0,004	0,013	24	1,2	31	3	180
20-feb	METANOLO	0,01	0,007	0,003	70	7,5	31	1	180
03-feb	ACETATO	0,041	0	0,041	0	2,1	20	16	60
03-feb	ACETATO	0,063	0	0,063	0	11,9	20	14	60
11-feb	ACETATO	0,047	0	0,047	0	8,7	14	14	180
12-feb	ACETATO	0,033	0,015	0,018	45	6,9	27	2	60
12-feb	ACETATO	0,035	0,025	0,010	71	1,3	28	1	60

Diagrammando i risultati ottenuti, si è definito il seguente grafico (Figura 4.9):

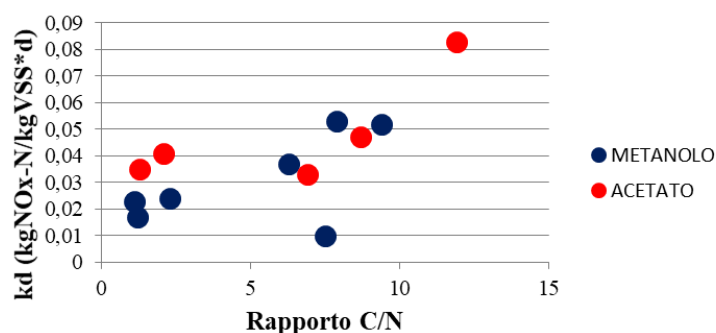


Figura 4.9 Variazione della kd al variare del rapporto C/N.

Come è ben visibile dalla Figura 4.9, per rapporti di C/N compresi in un range tra 1 e 5, la biomassa dimostra un'affinità più evidente per l'acetato. Aumentando tale rapporto la differenza diventa sempre più sottile, fino ad ottenere all'incirca le stesse velocità, indistintamente nel caso del metanolo o dell'acetato, per range compreso tra 5 e 10.

Alla luce di tali risultati si è deciso che continuare con l'utilizzo di metanolo anche nella fase 2, introducendo il dosaggio anche nel primo reattore CSTR del processo biologico.

4.1.2. Up-scale del condizionamento

Come riassunto in Tabella 3.4, applicando la Configurazione 1, sulla base dei principali parametri operativi sono state individuate 3 differenti fasi di lavoro. Nei giorni precedenti allo startup del processo di fase 1.a si è provveduto all'installazione e manutenzione delle varie utenze elettromeccaniche e al settaggio dei parametri delle logiche di funzionamento previste per il corretto esercizio della piattaforma. Si sono predisposte le apparecchiature necessarie al dosaggio dei reagenti esterni: idrossido di sodio e ammonio cloruro in vasca 1 e metanolo in vasca 2; la portata effettiva delle pompe è stata misurata in modo da conoscere, alla luce delle concentrazioni dei reagenti, gli effettivi carichi di massa aggiunti al sistema e regolarne il funzionamento. Il dosaggio della soda, per il condizionamento del pH, è avvenuto solamente in fase aerobica, impostando 7.7 come valore di setpoint; mentre l'idrossido di ammonio è stato fatto dosare in fase anossica in modo tale da avere una concentrazione elevata di ammoniaca all'inizio della successiva fase di nitrificazione. In questo caso l'ammoniaca aveva un setpoint impostato pari a 50 mgNH₄-N/L. L'aggiunta di carbonio esterno nel secondo reattore è avvenuto basandosi sulla portata della pompa dosatrice e regolando i tempi di accensione durante le fasi anossiche, in modo da non avere concentrazioni limitanti per la denitrificazione. Inoltre, si è effettuata l'installazione e la taratura tramite soluzioni standard di tutte le sonde. I parametri impostati sono riportati in Tabella 4.5.

Tabella 4.5 Impostazioni dei parametri EasyGestWWTP – Configurazione 1.

Linea 1									
Fase AEROBICA					Fase ANOSSICA				
Tmin	Tmax	DOmin	DOmax	ORPmin	ORPmax	Tmin	Tmax	ORPmin	ORPmax
min	min	mg/L	mg/L	mV	mV	min	min	mV	mV
30	60	0	4	-100	500	25	35	-150	100
Linea 2									
Fase AEROBICA					Fase ANOSSICA				
Tmin	Tmax	DOmin	DOmax	ORPmin	ORPmax	Tmin	Tmax	ORPmin	ORPmax
min	min	mg/L	mg/L	mV	mV	min	min	mV	mV
10	60	0	4	-50	500	40	80	-150	100

Successivamente sono stati pompati nella piattaforma sperimentale 500 L di biomassa prelevata dal fango di ricircolo dell'impianto principale di Vallechiara, portando poi il sistema a volume con effluente impianto. A questo punto si è verificato il corretto funzionamento di tutte le utenze e delle logiche di comando. Per ciascuna linea i due compressori hanno lavorato contemporaneamente, ma a frequenze differenti. Durante una fase aerobica uno dei due compressori lavorava alla frequenza minima mentre l'altro modulava la propria frequenza a seconda dell'effettiva richiesta di ossigeno in vasca. Grazie ad un inverter la modalità di funzionamento delle soffianti nel ciclo di aerazione successivo si alternava. Le frequenze impostate sono state 25 Hz per la minima e 50 Hz per la massima, con uno step di modulazione di 5 Hz. Questi valori sono stati più volte modificati nel corso del tempo per adattarsi a condizioni di aerazione troppo elevate o insufficienti. Per quanto riguarda la durata delle fasi, possiamo notare come i tempi minimi e massimi impostati per la linea 2 promuovano una fase di denitrificazione prolungata; ciò è stato fatto per cercare di abbassare il più possibile i valori dell'azoto totale in uscita. Anche in questo caso, durante lo studio del processo, la durata delle fasi è stata aggiustata in modo da cercare il raggiungimento delle condizioni ottimali di fine ciclo. La distinzione tra la fase 1.a e 1.b, a parità di tutti i parametri operativi e dei setpoint per il dosaggio dei reagenti visti sopra, è basata solamente sulla concentrazione di DO registrata nel primo reattore del comparto biologico. La concentrazione media dell'ossigeno disciolto durante le fasi aerobiche della fase 1.a è risultato essere pari a circa 1.5 mgO₂/L, mentre per la fase 1.b il valore di DO si è aggirato intorno a 3.0 mgO₂/L.

Per quanto riguarda la fase 2, oltre alla prassi di pulizia e taratura delle sonde prima del nuovo startup, in questo caso è stata installata una nuova pompa per il dosaggio della soluzione carboniosa nel primo reattore al fine di migliorare le performance di denitrificazione del sistema e limitare la presenza di NO_x nell'effluente. In aggiunta sono stati modificati anche i valori di setpoint per il dosaggio dei *chemicals* nel primo reattore, lasciando però invariate le modalità di aggiunta. Il pH è stato aumentato a 8.1 per compensare l'abbassamento d'ammoniaca a 30 mgNH₄-N/L e in modo tale che si raggiungessero valori di ammoniaca libera (FA) in vasca maggiori di 1 mgNH₄-N/L. per quanto riguarda la fornitura d'aria condizioni aerobiche certe sono state mantenute nel sistema durante le fasi aerobiche.

La fase 1.a è stata avviata al principio di settembre e si è conclusa dopo 72 giorni a metà del mese di novembre quando si è passati alla fase 1.b durata 47 giorni. Dopo alcuni mesi di stop per eseguire indagini preliminari in laboratorio e installare le utenze necessarie a metà aprile si è dato il via alla fase 2, la quale ha avuto una durata simile alla fase 1.b (46 giorni).

Influente

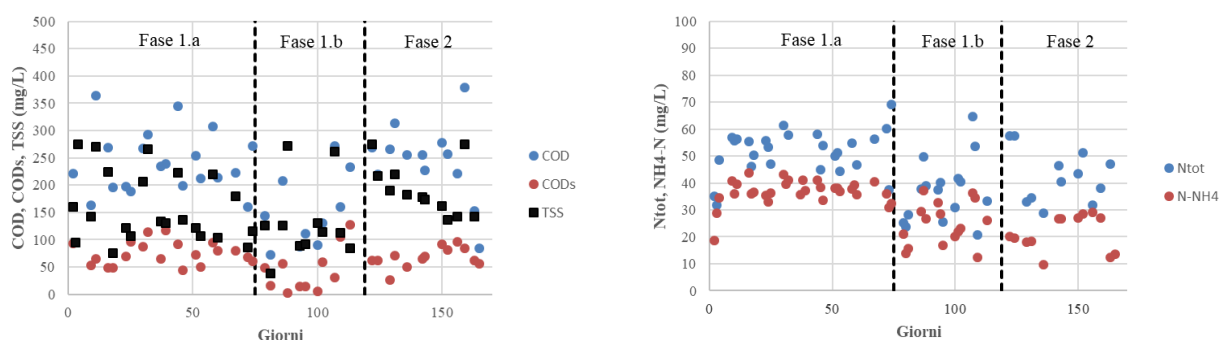
Le caratteristiche chimico-fisiche del refluo entrante sono state soggette a variazione in quanto la rete di fognatura è di tipo misto, quindi dipendente dalle condizioni meteorologiche di periodo. Ricordiamo che l'influente arriva alla piattaforma dall'impianto principale dopo aver subito i pretrattamenti fisici di grigliatura e dissabbiatura. Di seguito i valori che hanno caratterizzato il refluo urbano in ingresso durante questo periodo di sperimentazione (Tabella 4.6), in accordo con le metodiche riportate nel Capitolo 3.

I valori di pH rimangono pressoché costanti e vicini alla neutralità in tutte le fasi; anche l'alcalinità, salvo leggere fluttuazioni, rimane stabile attorno ai 400 mgCaCO₃/L. Assieme alla temperatura, diminuiscono nella fase 1.b (mesi invernali) gran parte degli altri parametri come alcalinità, TSS, COD, NH₄-N e Ntot. Si registra nella fase 2 una generale tendenza al rialzo delle concentrazioni. In accordo con le caratteristiche tipiche per le acque reflue urbane, in tutte le fasi si nota come il COD influente sia principalmente formato da solidi mentre l'azoto totale sia costituito per buona parte da azoto ammoniacale.

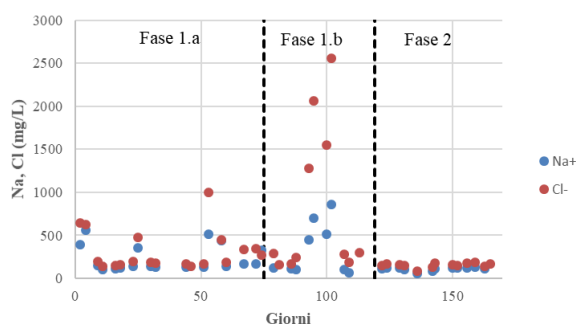
Tabella 4.6 Caratterizzazione refluo influente – Configurazione 1.

Fase	Q _{in} m ³ /d	Temp °C	pH	Alk mg/L	TSS mg/L	COD mg/L	COD _s mg/L	NH ₄ -N mg/L	TKN mg/L	NO ₂ -N mg/L
1.a	8.6±0.3	21±2	7.3±0.1	434±59	159±63	241±56	75±22	37±5	50±7	1.2±3.2
1.b	8.5±0.4	16±1	7.4±0.3	379±110	131±72	162±74	43±41	25±8	36±12	0.2±0.4
2	8.8±0.1	18±2	7.3±0.2	393±77	191±47	244±71	68±19	21±7	42±10	0.1±0.3
Fase	NO ₃ -N mg/L	N _{tot} mg/L	PO ₄ -P mg/L	P _{tot} mg/L	Na ⁺ mg/L	K ⁺ mg/L	Mg ²⁺ mg/L	Ca ²⁺ mg/L	Cl ⁻ mg/L	SO ₄ ²⁻ mg/L
1.a	0.6±1.0	52±8	1.6±0.6	2.7±1.4	235±151	23±6	33±15	121±26	317±231	50±26
1.b	1.1±0.8	37±12	1.7±1.1	2.3±0.5	336±301	24±11	35±18	158±29	825±879	99±55
2	1.1±1.4	40±14	0.9±0.7	3.4±0.7	111±22	14±2	19±3	121±16	154±27	124±21

Dalla caratterizzazione si possono sottolineare delle costanti, come valori piuttosto bassi di solidi, COD solubile e quindi di COD totale. Figura 4.10 evidenzia la stretta correlazione tra l'andamento del COD totale e i TSS, quindi la sua forte componente particolata. Molto simile è anche l'andamento dell'N_{tot}, il quale risulta essere in gran parte formato da ammoniaca con la normale assenza di nitriti e nitrati che permangono a valori compresi tra 0.3 e 1.1 mg/L

**Figura 4.10** Andamento delle concentrazioni di COD, COD_s, TSS e N_{tot}, NH₄-N.

Come evidenziato dalla media delle concentrazioni di cloruri e sodio (Tabella 4.6), ma soprattutto dalla deviazione standard, la rete è soggetta a ingresso di acqua di mare a causa di condizioni di vento forte da Nord-Est che caratterizzano quest'area costiera. Infatti, nei mesi successivi all'estate (fasi 1.a e b), gli ioni raggiungono valori massimi fino a 857 mgNa/L e 2556 mgCl/L, come riportato anche dal grafico in Figura 4.11.

**Figura 4.11** Andamento delle concentrazioni di cloruri e sodio.

La bassa concentrazione di COD influente determina un rapporto COD/N_{tot} limitante, il quale in seguito all'ulteriore aggiunta di ammoniaca esterna per il condizionamento della biomassa si abbassa ulteriormente influenzando in modo negativo il processo di denitrificazione, soprattutto nel primo reattore. Proprio per ovviare a tale problema si è deciso in un secondo momento di dotare anche la prima vasca di aggiunta di metanolo. L'estensione e la dimensione della rete (85000 AE serviti) determinano un rapporto TKN su NH₄-N variabile tra 1.39 e 2.06 inoltre la percentuale di carbonio solubile è molto bassa (27-32%).

Tabella 4.7 Rapporti caratteristici e carichi di massa influenti – Configurazione 1.

Fase	Rapporti Caratteristici			Carichi di massa						
	TKN/NH ₄ -N	COD/N _{tot}	CODs/COD	L _{TSS}	L _{COD}	L _{N_{tot}}	L _{NH₄-N}	L _{TKN}	L _{NO_x-N}	L _{P_{tot}}
			%	kg/d						
1.a	1.39±0.17	5.18±1.86	32	1.31±0.64	1.88±0.69	0.39±0.10	0.25±0.09	0.37±0.11	0.01±0.03	0.02±0.01
1.b	1.43±0.20	4.77±1.92	27	1.13±0.62	1.40±0.64	0.31±0.10	0.21±0.06	0.30±0.10	0.01±0.01	0.02±0.00
2	2.06±0.75	6.43±2.17	31	1.67±0.41	2.13±0.61	0.37±0.09	0.19±0.06	0.36±0.09	0.01±0.01	0.02±0.02

I carichi di massa (Tabella 4.7), calcolati dal prodotto tra concentrazioni e portate influenti al sistema, rimangono pressoché stabili durante le diverse fasi di lavoro ad eccezione di un abbassamento del carico di COD entrante nella fase 1.b, probabilmente legato a un periodo di maltempo prolungato per diversi giorni. Per quanto concerne i carichi di ammoniaca, azoto totale e COD si devono considerare anche le aggiunte di reagenti esterni, come riassunto in Tabella 4.8. Dai dati si può notare il progressivo aumento del metanolo dosato per migliorare la denitrificazione e la riduzione del carico di ammoniaca in accordo con l'obiettivo nel corso delle differenti fasi di ridurre l'uso di reagenti per il processo di inibizione della biomassa.

Tabella 4.8 Carichi di massa comprensivi del dosaggio di reagenti – Configurazione 1.

Fase	Carichi di massa		
	L _{COD}	L _{N_{tot}}	L _{NH₄-N}
	kg/d		
1.a	3.35±1.38	1.19±0.34	1.05±0.34
1.b	3.44±2.12	1.02±0.10	0.92±0.08
2	3.92±1.15	0.92±0.27	0.75±0.27

Processo biologico

Il processo utilizza due reattori biologici in serie, ciascuno costituito da un CSTR, del volume complessivo di 2.88 m³. Viene alimentato con una portata costante di 8.5-8.8 m³/d, ciò determina un tempo di ritenzione idraulica (HRT) nominale del sistema di circa 8 ore. L'SRT del sistema, regolato attraverso la portata di supero, varia tra 23, 43 e 12 giorni rispettivamente per la fase 1.a, 1.b e 2; nel valore dell'SRT incidono sensibilmente le fughe di biomassa con l'effluente dovute all'insorgere di fenomeni di *rising* e *wash out* della biomassa. In Tabella 4.9 sono riassunti i principali parametri operativi monitorati tramite sonde e analisi di laboratorio nel corso delle diverse fasi della sperimentazione.

Gli MLSS nel primo reattore rimangono stabili attorno al valore di 5500 mg/L con un calo durante la fase 2, con picchi fino a 2200 mg/L causati da un malfunzionamento temporaneo del raschiatore del sedimentatore. Il rapporto MLVSS/MLSS rimane sempre compreso tra 0.54 e 0.61%, con il valore minore registrato nella fase 1.b probabilmente legato al lungo periodo di robusto condizionamento (> 100 d) che ha comportato un impoverimento di biomassa attiva all'interno del reattore e conseguente aumento della frazione inerte. In vasca 2 si sono registrati valori di solidi nel *mixed liquor* costantemente più bassi, non legati a problemi di non omogenea miscelazione del sistema ma bensì alla portata di ricircolo entrante nel primo reattore. In questo caso, al contrario di quanti visto per gli MLSS, la componente volatile dei solidi sospesi è stata più elevata probabilmente per il minor impatto delle condizioni inibenti applicate nel primo CSTR. Infatti, dai dati registrati dalle sonde pH durante la fase 2 si nota come il pH passi da 8.1 nel primo reattore a 7.0 nel secondo.

Tabella 4.9 Parametri operativi e velocità cinetiche del processo biologico – Configurazione 1.

Vasca 1								
Fase	MLSS	MLVSS/MLSS	pH	Temp	NH ₄ -N	FA	kn	kd
	mg/L	%		°C	mg/L	mg/L	kgNO _x -N/kgVSS d	
1.a	5486±1303	0.61±0.04	8.1±0.4	21±2	38±9	2.0±0.9	0.155±0.058	0.029±0.019
1.b	6037±1424	0.54±0.17	8.1±0.2	16±2	45±3	1.7±0.6	0.311±0.125	0.049±0.004
2	4722±2779	0.61±0.08	8.1±0.4	18±2	27±6	1.5±0.9	0.108±0.026	0.075±0.022
Vasca 2								
Fase	MLSS	MLVSS/MLSS	pH	Temp	NH ₄ -N	FA	kn	kd
	mg/L	%		°C	mg/L	mg/L	kgNO _x -N/kgVSS d	
1.a	3228±1507	0.69±0.05						
1.b	4819±1006	0.62±0.05						
2	3694±1662	0.62±0.09	7.0±0.4	20±2	17±9	0.2±0.2	0.128±0.061	0.093±0.055

Nelle fasi 1.a e 1.b nonostante il setpoint per il dosaggio dell'idrossido di sodio sia stato impostato a 7.7, la massiccia aggiunta di ammonio idrossido (pH 11) durante le fasi anossiche, ha comportato un significativo aumento del pH medio nel primo reattore come riportato in Tabella 4.9; durante la fase 2, invece, grazie anche alla riduzione del condizionamento con NH₄Cl si è riusciti ad avere un più accurato controllo del pH in vasca. I valori di azoto ammoniacale in tabella si

riferiscono al valore medio calcolato considerando sia le fasi anossiche che quelle aerobiche. Si ricorda che durante le fasi 1.a e b il setpoint per il condizionamento era stato fissato a 50 mgNH₄-N/L, mentre nella fase 2 a 30 mgNH₄-N/L. Le condizioni applicate per l'inibizione dei batteri nitrificanti hanno comportato una concentrazione media di *Free Ammonia* nella prima vasca, in accordo con l'obiettivo di ridurre l'uso di reagenti esterni, pari a 2.0±0.9 mgNH₄-N/L durante la fase 1.a, 1.7±0.6 mgNH₄-N/L durante la fase 1.b e 1.5±0.9 mgNH₄-N/L durante la fase 2. L'elevata deviazione standard è legata alla difficoltà pratica incontrata nell'effettuare il dosaggio dei reagenti, cercando nel corso della sperimentazione di correggere e migliorare il meccanismo d'aggiunta.

Per quanto riguarda lo studio delle velocità cinetiche, l'intera durata delle fasi è stata seguita attraverso test di laboratorio e studi del ciclo in campo per la determinazione delle velocità di nitrificazione e denitrificazione. Eseguendo prove di AUR (*Ammonia Utilization Rate*), di NUR (*Nitrate Utilization Rate*) e studi del ciclo secondo le metodiche riportate nel Paragrafo 3.5, è stato in oltre possibile valutare la produzione di nitriti e nitrati e l'effettiva evoluzione dei meccanismi inibitori sulle comunità microbiche. In Tabella 4.9 sono riportate le velocità cinetiche ottenute nelle diverse fasi per la configurazione 1. Durante le fasi 1.a e 1.b sono stati eseguiti test solamente per il primo reattore, mentre a partire dalla fase 2 e per tutte le configurazioni successive tali prove sono state realizzate anche nel secondo comparto.

Nel corso della fase 1.a la velocità di nitrificazione media è stata 0.155±0.058 kgNO_x-N/kgMLVSS/d, successivamente aumentata a 0.311±0.125 kgNO_x-N/kgMLVSS/d nella fase 1.b in seguito all'incremento della fornitura d'aria. Nella fase 2, dove condizioni aerobiche certe sono state mantenute nei reattori, le kn medie sono state 0.108±0.026 e 0.128±0.061 kgNO_x-N/kgMLVSS/d, rispettivamente per la vasca 1 e 2. Il meccanismo di nitrificazione è stato sempre via nitrito con percentuali maggiori del 94% durante le fasi 1.a e 1.b e del 77% durante la fase 2.

Inoltre, le velocità di denitrificazione ottenute durante la fase 1.a sono state limitate (0.029±0.019 kgNO_x-N/kgMLVSS/d) e incrementate a 0.049±0.004 kgNO_x-N/kgMLVSS/d durante la fase 1.b probabilmente in seguito ad un acclimatamento della biomassa all'utilizzo del metanolo per il processo di denitrificazione. Nella fase 2, a seguito dell'istallazione di un punto di dosaggio del carbonio anche nel primo reattore, si sono registrate le velocità maggiori con un valore medio di 0.075±0.022 kgNO_x-N/kgMLVSS/d; valori più elevati si sono riscontrati nella vasca 2 (0.093±0.055 kgNO_x-N/kgMLVSS/d).

Ai fini dello studio delle capacità depurative della biomassa, è importante conoscere anche la durata delle fasi aerobiche e anossiche che si alternano nei reattori, valutando l'effettiva durata delle diverse fasi, in minuti, sulla base dei tempi di accensione dei compressori per ciascuna linea. La statistica delle frazioni aerobiche e anossiche per entrambe le linee è riportata in Tabella 4.10. In un processo ad aerazione intermittente, le statistiche sulle condizioni di passaggio alla fase di lavoro successiva, consentono di comprendere le dinamiche di lavoro dei singoli reattori e conseguentemente agire sui parametri di controllo del processo. In generale le durate delle fasi di aerazione riportano condizioni non limitanti per l'ossidazione dell'ammoniacale. La linea 2, probabilmente a causa del più basso carico di azoto entrante, è stata caratterizzata da problematiche di sovraerazione, le quali nonostante aggiustamenti alle frequenze di lavoro delle soffianti sono rimaste in tutte le fasi, aumentando nell'ultima in concomitanza con la riduzione del setpoint di dosaggio dell'idrossido di ammonio. Inoltre, si è cercato di ridurre le cause di passaggio al ciclo successivo per tempo massimo e incrementare le condizioni ottimali di lavoro.

L'estesa durata della fase anossica evidenzia il ruolo di comparto preposto alla denitrificazione del reattore 2. Inoltre i dati statistici in fase anossica disponibili solamente per la fase 2, testimoniano un ottimo setup del processo di denitrificazione, ma come più volte detto, limitato nelle performances di rimozione dal basso rapporto carbonio/azoto di lavoro.

Tabella 4.10 Durata delle fasi e statistica cicli – Configurazione 1.

Fase	Fase Aerobica							
	Durata		DO max		Tempo max		Condizione ottimale	
	min/d		%		%		%	
	Linea 1	Linea 2	Linea 1	Linea 2	Linea 1	Linea 2	Linea 1	Linea 2
1.a	816±136	556±176	15±28	52±27	54±27	16±15	31±20	32±20
1.b	843±56	511±179	25±29	59±39	43±25	22±29	32±17	19±21
2	877±78	563±191	19±26	63±28	38±28	10±12	46±26	26±21

Fase	Fase Anossica							
	Durata		ORP min		Tempo max		Condizione ottimale	
	min/d		%		%		%	
	Linea 1	Linea 2	Linea 1	Linea 2	Linea 1	Linea 2	Linea 1	Linea 2
1.a	624±136	884±176						
1.b	597±56	929±179						
2	478±83	782±213	18±28	8±18	3±10	19±34	79±28	72±36

Effluente

L'effluente impianto presenta le caratteristiche chimico-fisiche riportate in Tabella 4.11.

Tabella 4.11 Caratterizzazione refluo effluente – Configurazione 1.

Fase	pH	Alk	TSS	COD	CODs	NH ₄ -N	TKN	NO ₂ -N	NO ₃ -N
		mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
1.a	7.4±0.2	446±71	66±56	168±58	101±37	23±13	28±13	45±26	1.4±1.1
1.b	7.4±0.3	393±77	36±21	96±51	61±42	29±8	31±6	46±37	1.3±1.2
2	7.7±0.3	559±100	45±11	95±40	59±21	17±10	27±21	10±9	3.7±5.2
Fase	Ntot	PO ₄ -P	Ptot	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻
	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
1.a	75±22	1.3±0.4	1.7±0.2	306±157	21±7	31±18	117±23	320±333	54±23
1.b	78±36	1.5±0.1	1.7±0.1	1254±2795	20±9	34±16	158±27	674±725	88±41
2	39±24	0.8±0.6	2.8±1.0	215±58	15±2	20±3	113±21	154±24	124±15

Nonostante nella prima parte della sperimentazione (fasi 1.a e b) il primo reattore venga controllato a un pH elevato e aggiunta una consistente quantità di azoto, la sostanziale ossidazione dell'ammoniaca e la limitata denitrificazione degli NO_x, determinano un abbassamento del pH in uscita (7.4). Un effetto simile, ma di minore entità, si riscontra anche nella seconda fase in cui il pH effluente è risultato essere pari a 7.7. Elevate percentuali di rimozione dell'ammoniaca, indipendentemente dal livello di ossigeno disciolto applicato, sono state raggiunte in tutte le fasi, rispettivamente dell'84±13% (fase 1.a), 74±7% (fase 1.b) and 79±14% (fase 2). L'ingente quantità di azoto totale nell'effluente (Figura 4.12) è fortemente influenzata dalla massiccia concentrazione di nitriti. La loro elevata presenza nelle fasi 1.a e 1.b, attesta l'effettivo raggiungimento dell'inibizione dei batteri NOB, infatti il processo produce principalmente se non esclusivamente nitriti, evidenziando problemi nella denitrificazione completa di quest'ultimi. Infatti le performances ottenute per la rimozione dell'Ntot sono state pari al 53±14% durante la fase 1.a e 43±24% durante la fase 1.b. Nella fase 2, l'abbassamento delle condizioni inibenti e il dosaggio di metanolo anche nel primo reattore ha portato a concentrazioni di NO₂ effluenti notevolmente minori rispetto ai precedenti periodi, raggiungendo in questa fase rimozioni dell'azoto totale pari al 65±16%.

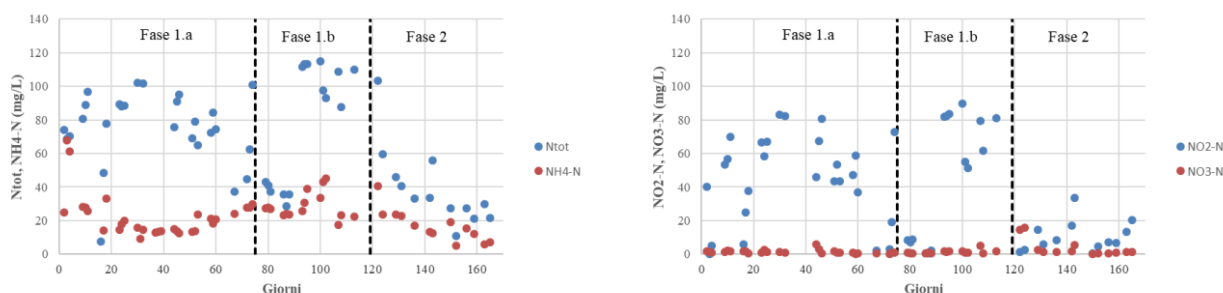


Figura 4.12 Andamento delle concentrazioni effluenti delle forme azotate.

Il COD uscente dal sistema risulta elevato e strettamente correlato con i TSS in fuga del sedimentatore, inoltre l'elevata concentrazione di CODs in uscita, soprattutto nel primo periodo di lavoro, può essere dovuta a un non acclimatamento della biomassa alla fonte di carbonio dosata in vasca 2. La combinazione di CODs residuo e nitriti nel sedimentatore secondario sono la causa della fuoriuscita di solidi legata a fenomeni di *rising*. Infatti tali condizioni possono portare allo sviluppo di un processo di denitrificazione all'interno del sedimentatore, il quale generando azoto gassoso favorisce l'alleggerimento e la risalita del fango sedimentato e la conseguente fuga di solidi. In accordo con quanto appena detto e con il progressivo miglioramento delle velocità di denitrificazione, la rimozione di sostanza organica è stata contenuta e pari al 51±18% per la fase 1.a, 61±33% per la fase 1.b e 72±13% nell'ultima fase, considerando l'effettivo carico complessivo del sistema comprensivo dei dosaggi di metanolo. Inoltre, la progressiva fuga di solidi dal sedimentatore secondario, e quindi anche la perdita di biomassa dal sistema, ha influenzato l'SRT del sistema e conseguentemente ha condizionato le cinetiche di nitrificazione del processo.

L'aumento della concentrazione di sodio in uscita, rispetto all'influente, è imputabile alla soda (NaOH) dosata nel primo reattore per il controllo del pH. La concentrazione di fosforo è sostanzialmente identica a quella dell'influente dal momento in cui non si usano reagenti per la precipitazione del fosforo.

4.1.3. Monitoraggio delle emissioni gassose

Il monitoraggio in continuo della fase aria è stato effettuato nel primo reattore utilizzando l'analizzatore MIR 9000 CLD e registrando i diversi parametri della fase liquida che giocano un ruolo di primaria importanza nella produzione ed emissione di composti gassosi. Si sono infatti messi in relazioni alcuni parametri della linea acque (pH, temperatura, portata influente, DO, $\text{NH}_4\text{-N}$, ORP, MLSS e MLVSS/MLSS) mediati nelle 24 ore e filtrati per le sole fasi aerobiche con i valori di emissione (N_2O , NO, NO_2 , NH_3 , CH_4 e CO_2) misurati in queste fasi. A titolo di esempio in Figura 4.13 si riportano i tracciati di emissione di una giornata tipo.

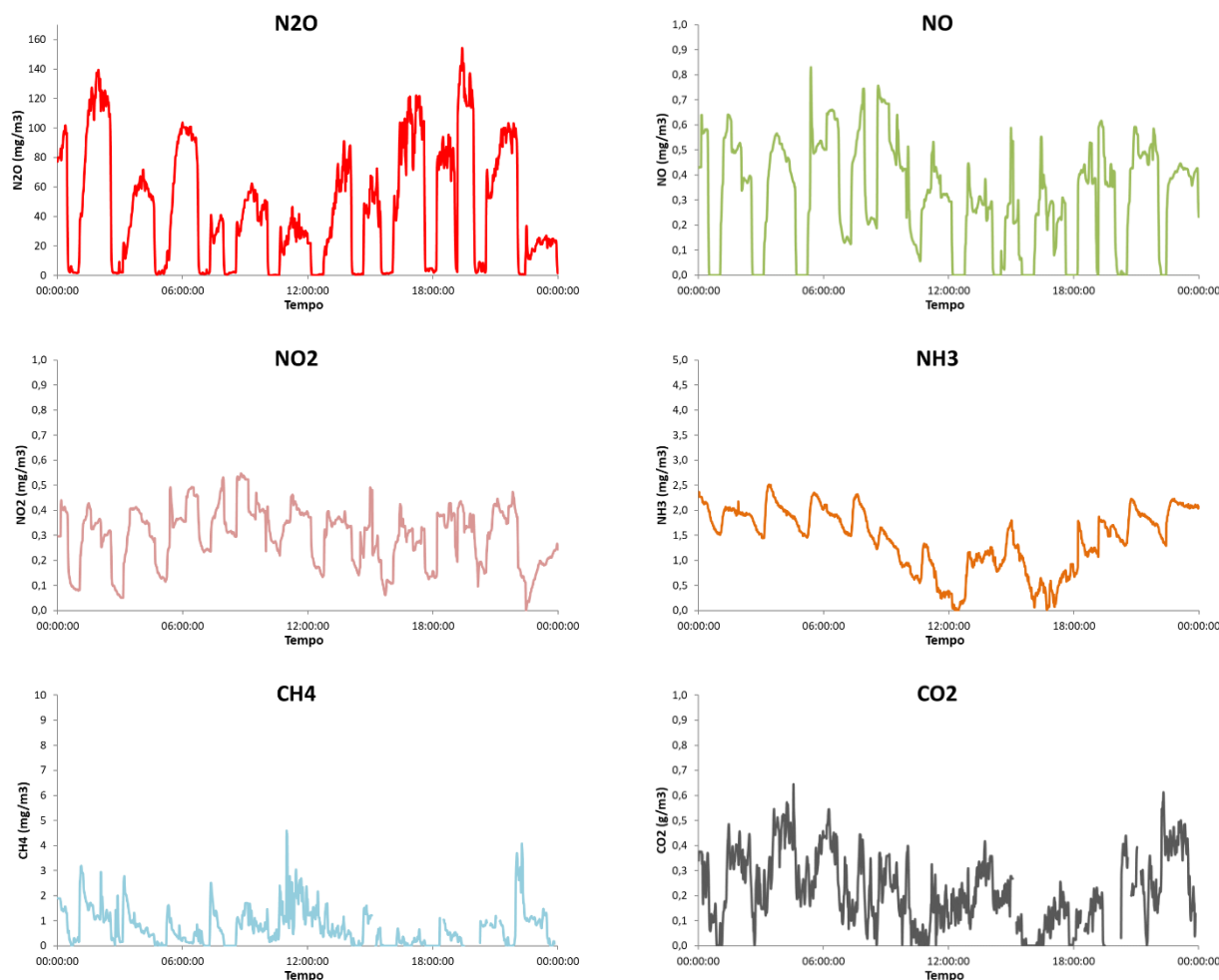


Figura 4.13 Tracciati delle diverse emissioni gassose per una giornata tipo.

Nel complesso si riscontra una ciclicità dell'emissione di tutti i composti investigati, legata all'alternanza delle fasi ossiche/anossiche. Per evidenziare il fatto che il contributo maggiore all'emissione sia quello della fase aerobica, si sovrappongono il tracciato della concentrazione di protossido di azoto con il tracciato della concentrazione di ossigeno disciolto. Si può vedere infatti dal grafico in Figura 4.14 come i picchi di emissione di N_2O corrispondano effettivamente all'inizio della fase di aerazione e si protragano per tutta la sua durata, azzerandosi durante le fasi anossiche di denitrificazione. Stessa dipendenza si riscontra per tutte le varie forme emesse.

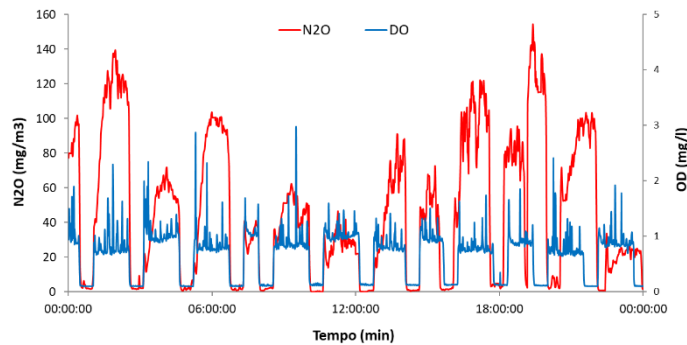


Figura 4.14 Correlazione tra concentrazione di N₂O emesso e DO in vasca.

L'insieme dei dati analizzati nel corso della sperimentazione, espressi come carico di massa (Tabella 4.12), sono mostrati in Figura 4.15 (CH₄ e CO₂) e Figura 4.16 (N₂O). È stata effettuata la scrematura dei dati nelle sole fasi di aerazione perché l'emissione risulta avere valori più elevati nella fase aerobica, in particolare nei primi minuti di aerazione, ovviamente anche i periodi anossici possono contribuire al meccanismo di produzione.

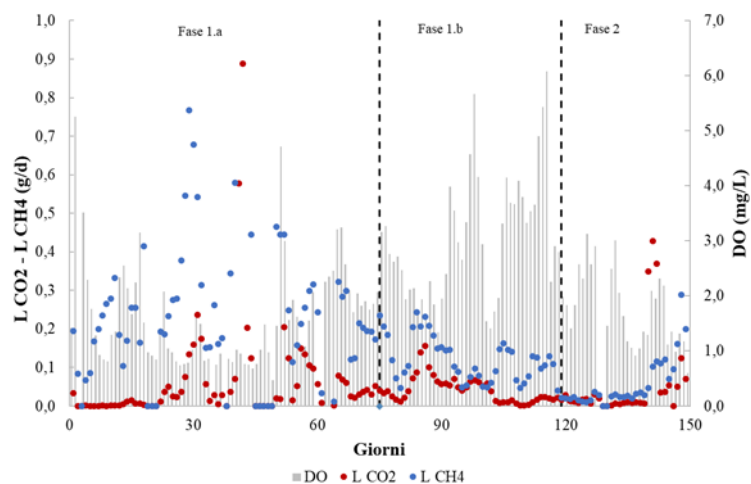


Figura 4.15 Carichi di massa emessi di CO₂ e CH₄ e concentrazione DO.

Nello specifico, il quantitativo di anidride carbonica emessa passa da 0.07 gCO₂/d durante la fase 1.a a 0.04 gCO₂/d durante la fase 1.b, valori medi leggermente maggiori di 0.03 gCO₂/d sono stati registrati durante la fase 2. I risultati determinano fattori di emissione specifici per m³ di influente trattato di 0.009 gCO₂/d, 0.005 gCO₂/d e 0.003 gCO₂/d rispettivamente per le diverse fasi, i quali risultano minori di quelli riportati in letteratura (Das, 2011). Considerando il solo contributo del processo biologico, non includendo la fase di corruzione del refluo nella condotta fognaria (responsabile di una consistente aliquota di emissione di CH₄), elevate emissioni di metano sono state registrate. Nello specifico, nel corso delle differenti fasi sono stati misurati 0.31 gCH₄/d (1.a), 0.11 gCH₄/d (1.b) e 0.06 gCH₄/d (2). I carichi di metano emesso sono risultati strettamente correlati con la concentrazione di DO nella fase liquida. Valori maggiori di 0.8 gCH₄/d sono stati registrati durante la fase 1.a (setpoint DO 1.5 mgO₂/L) in concomitanza con concentrazioni di ossigeno disciolto inferiori a 0.8 mgO₂/L. Nonostante il miglioramento del processo di denitrificazione e condizioni aerobiche durante la fase 2, le emissioni di CO₂ e CH₄ iniziano ad incrementare alla fine del periodo (Figura 4.15) passando da 0.02 gCO₂/d e 0.04 gCH₄/d a 0.13 gCO₂/d e 0.29 gCH₄/d. In questo caso un diretto trend con il carico di COD entrante nel reattore è stato riscontrato.

Tabella 4.12 Carichi di massa emessi – Configurazione 1.

Fase	CO ₂	CH ₄	N ₂ O
	gCO ₂ /d	gCH ₄ /d	gN ₂ O/d
1.a	0.07	0.31	9.57±10.20
1.b	0.04	0.11	2.53±2.07
2	0.03	0.06	0.63±0.76

Per quanto concerne le emissioni di protossido di azoto, i carichi di massa risultanti sono stati di 9.57±10.20 gN₂O/d (fase 1.a), 2.53±2.07 gN₂O/d (fase 1.b) e 0.63±0.76 gN₂O/d (fase 2); l'elevata deviazione standard è legata alle nette fluttuazioni

dei valori di N₂O durante le fasi. Differenti aspetti influenzano la *seasonal* dei carichi di protossido emessi. Il lungo mantenimento delle condizioni di inibizione della biomassa durante le fasi 1.a e 1.b ha permesso di ottenere una notevole crescita delle velocità di nitrificazione via nitrito passando da 0.045 a 0.458 kgNH₄-N/kgMLVSS/d (Figura 4.16). Tuttavia, Fase 1a e 1b sono caratterizzate anche dalle più alte concentrazioni di nitriti nell’effluente. Come riportato spesso in letteratura, anche alte concentrazioni di nitriti promuovono la produzione di N₂O.

A parità di caratteristiche dell’influente e condizioni operative del sistema, l’incremento delle cinetiche di nitrificazione hanno permesso di raggiungere un notevole decremento in termini di protossido rilasciato. Nonostante nella fase 2 il cambio di condizionamento abbia dato luogo a valori di kn simili a quelli ottenuti nel corso della fase 1.a (0.155 e 0.108 kgNH₄-N/kgMLVSS/d rispettivamente fase 1.a e 2), emissioni di N₂O inferiori sono state registrate. Il dosaggio di carbonio esterno nel primo reattore del sistema nel corso della fase 2 potrebbe aver determinato una minimizzazione delle emissioni comparate al periodo 1.a, facendo supporre un ruolo importante del processo di denitrificazione legato alle concentrazioni di N₂O emesso durante il processo di trattamento in continuo.

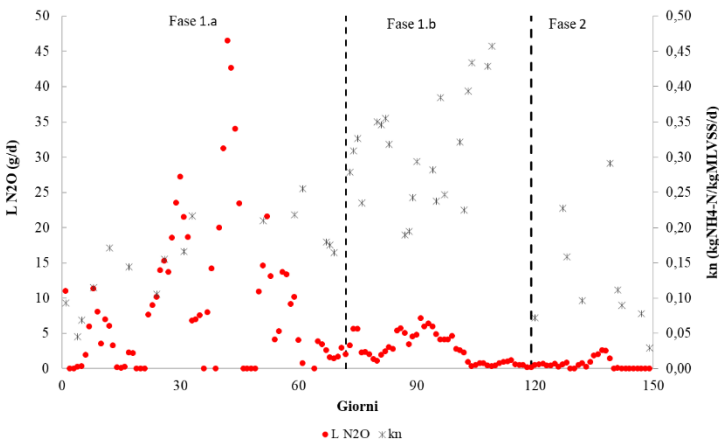


Figura 4.16 Carichi di massa emessi di N₂O e velocità di nitrificazione.

Inoltre, attraverso il bilancio di massa dell’azoto è stato quantificato l’impatto delle emissioni di protossido di azoto (Tabella 4.13). Gli impatti percentuali per ogni fase sono stati calcolati comparandoli con il carico totale di azoto denitrificato. In tutte le fasi la percentuale di impatto è stata minore dell’1.282% (fase 1.a) diminuendo allo 0.238% per la fase 1.b e allo 0.059% nell’ultima fase. I risultati mostrano una stretta correlazione tra le percentuali di N₂O e le velocità di denitrificazione. Nella fase 1.a la percentuale di azoto denitrificato rispetto all’azoto totale influente è stato pari al 53%, nelle successive fasi è aumentata al 75% per entrambe le fasi. Durante la fase 1.a, dove la velocità di denitrificazione media è stata la minore, l’impatto dell’N₂O rilasciato è stato il più alto; invece durante la fase 1.b miglioramenti minori del doppio in termini di kd hanno permesso di ottenere percentuali di emissione cinque volte più basse. Nell’ultimo periodo, velocità di denitrificazione 2.6 e 1.5 volte maggiori delle precedenti fasi, hanno consentito di ottenere emissioni 22 e 4 volte migliori rispettivamente per le fasi 1.a e 1.b, confermando ulteriormente il ruolo della fase anossica nella mitigazione delle emissioni.

Tabella 4.13 Percentuali di impatto N₂O nel bilancio dell’azoto – Configurazione 1.

Fase	N ₂ O-N/Ndenitrificato	Ndenitrificato/Ntot influente	kd
	%	%	kgNOx-N/kgMLVSS/d
1.a	1.28	53.0	0.029±0.019
1.b	0.24	75.6	0.049±0.004
2	0.06	75.6	0.075±0.022

Riportando tutte le forme gassose misurate come moli equivalenti di CO₂, lo scenario emissivo mostra il seguente contributo di impatto: N₂O> CH₄> CO₂. Nello specifico, il protossido di azoto rappresenta il 91%, 87% e 76% dell’emissione totale durante le fasi. Differentemente il contributo apportato dal metano ha rappresentato l’8.1%, 10.9% e 20.6% dell’emissione complessiva; trascurabili percentuali di anidride carbonica sono state riscontrate nel corso delle diverse fasi.

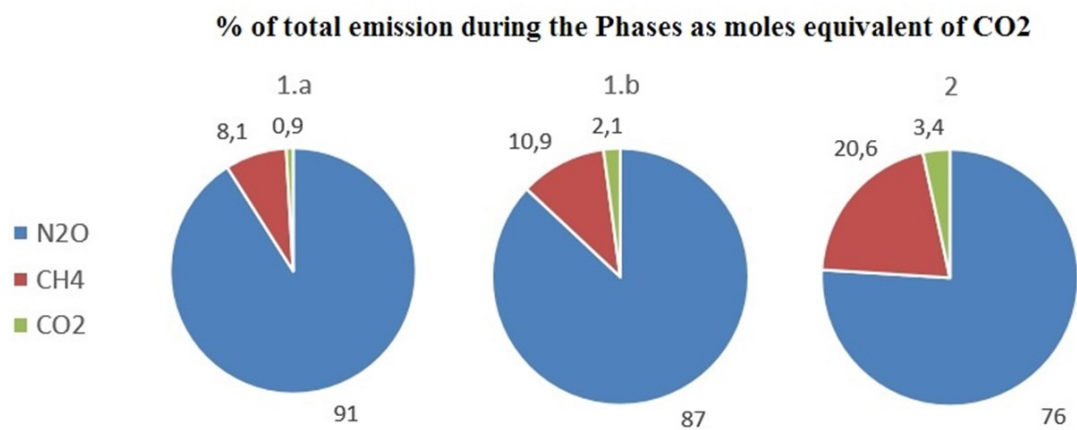


Figura 4.17 Percentuali di impatto N₂O – Configurazione 1.

4.2. Configurazione 2 – Condizionamento sull'influente

4.2.1. Prove preliminari

Con l'obiettivo di raggiungere un processo di nitrificazione completo e stabile cercando di limitare il consumo di reagenti esterni per il condizionamento della biomassa e migliorare l'economicità del processo si sono eseguite, prima di ripartire in campo con una nuova configurazione operativa della piattaforma, una serie di indagini preliminari volte all'individuazione, e alla comprensione della relativa fattibilità, di migliorie processistiche e di controllo.

Nell'inquadramento generale della problematica, oltre al costo diretto legato all'approvvigionamento, la scelta degli opportuni *chemicals* andrebbe legata anche ad altri costi indiretti, come per esempio la maggior produzione di fanghi, aspetto che in questa tesi non è stato esaminato.

Dopo la fase sperimentale 2 su scala pilota, nella quale si è cercato di limitare le concentrazioni di azoto effluenti lavorando a setpoint più sostenibili rispetto alle precedenti configurazioni testate (pH e ammoniaca in vasca più bassi), si è individuata la necessità di trovare matrici alcalinizzanti più competitive rispetto alla soda e configurazioni di processo che permettano l'ottimizzazione del dosaggio dei reagenti.

Si sono stabilite quindi una serie di prove adeguate per il raggiungimento dei seguenti obiettivi:

- Verificare la capacità inibitoria dei reagenti rispetto alla soda alle condizioni testate nella piattaforma;
- Verificare gli effetti secondari del dosaggio e eventuale riduzione del rapporto tra MLVSS/MLSS dovuto ad un incremento dei fanghi prodotti;
- Verificare se è possibile il dosaggio di una minore quantità di reagente, condizionando aliquote minori di matrici più concentrate, con la finalità di configurare un apposito reattore *side-stream* meno dispendioso in termini di *chemicals*.

Tra le matrici alcalinizzanti, la più comune ed economica (100 €/ton) risulta essere l'idrossido di calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), meglio noto come calce idrata. Prodotto per idratazione a secco dell'ossido di calcio si presenta sotto forma di solido cristallino incolore o polvere bianca, con una solubilità pari a 1.7 g/L a 20°C. L'altro reagente utilizzato è stato il carbonato di sodio anidro (Na_2CO_3), anch'esso si presenta come una polvere cristallina bianca ed è caratterizzato da una notevole solubilità in acqua (220 g/L a 20°C) e da un valore di mercato considerevolmente più elevato (900-1200 €/ton).

Lo studio dei primi due obiettivi si è affrontato effettuando prove cinetiche AUR e NUR utilizzando differenti basificanti per il condizionamento della biomassa. Questo ha permesso di verificare l'effetto dei diversi condizionamenti sulla cinetica di processo e l'insorgere di un eventuale effetto inertizzante. Il terzo obiettivo è stato esaminato invece su tre diverse matrici (influyente, mixed liquor e ricircolo), quantificando il consumo dei reagenti per il raggiungimento di specifici setpoint di pH.

Oltre a valutare un possibile effetto tampone esercitato dalla presenza dei solidi in sospensione, si è voluto valutare il consumo di chemicals per:

- Il raggiungimento di un gap pari ad almeno 0.7 punti pH (scarto tipico tra il valore del pH influente con i condizionamenti di processo);
- Il raggiungimento di un pH pari a 8.1-8.3, indistintamente dal pH di partenza.

Si è iniziato effettuando prove su un volume di fango attivo di 40 L, alternando tre fasi di aerazione della durata di 2 ore ciascuna a 2 fasi anossiche da 1.5 ore e applicando un condizionamento quanto più prossimo a quello applicato in vasca durante l'ultima fase della configurazione precedente:

- pH: 8.1-8.3
- DO: 2.0 mg/L
- $\text{NH}_4\text{-N}$: 30 mg/L
- Substrato carbonioso esterno: Metanolo

Si è scelto inizialmente di confrontare le prestazioni di soda e calce. Di seguito vengono riportate le tabelle e i grafici riassuntivi delle prove effettuate: i grafici illustrano l'andamento, nelle varie fasi di prova, della concentrazione di nitriti e nitrati; le tabelle riassumono i condizionamenti adottati, riportano i valori delle velocità di nitrificazione e denitrificazione standardizzate alla temperatura di 20°C e la concentrazione dei solidi (MLSS, MLVSS) nel campione a inizio e fine prova.

Condizionamento con soda (NaOH 30%)

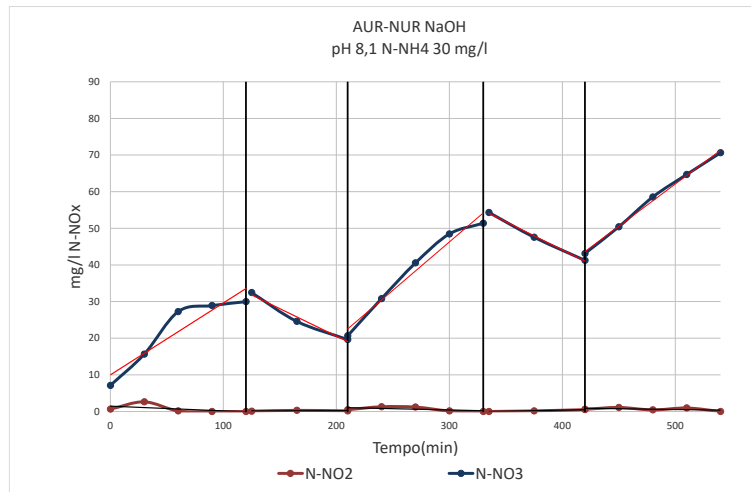


Figura 4.18 Andamento degli NO_x-N durante la prova.

Tabella 4.14 Velocità cinetiche e concentrazione dei solidi.

AUR-NUR 15.06.2015				
	Kn 20° (N-NOx)	Kn 20° (N-NO2)	Kn 20° (N-NO3)	Condizionamenti
AUR	0,053	0,000	0,057	pH=8,1 N-NH4in = 30mg/l NaOH (30%)
	Kd 20° (N-NOx)	Kd 20° (N-NO2)	Kd 20° (N-NO3)	
NUR	0,040	0,000	0,041	C/N=3 Metanolo
	Kn 20° (N-NOx)	Kn 20° (N-NO2)	Kn 20° (N-NO3)	
AUR	0,065	0,000	0,067	pH=8,1 N-NH4in = 30mg/l NaOH (30%)
	Kd 20° (N-NOx)	Kd 20° (N-NO2)	Kd 20° (N-NO3)	
NUR	0,036	0,000	0,037	C/N=3 Metanolo
	Kn 20° (N-NOx)	Kn 20° (N-NO2)	Kn 20° (N-NO3)	
AUR	0,054	0,000	0,055	pH=8,1 N-NH4in = 30mg/l NaOH (30%)
	MLSS	MLVSS	MLVSS/MLSS	
	mg/l	mg/l	-	
start	4440	3083	0,69	
stop	4957	3438	0,69	

Condizionamento con calce idrata (dosata in fase solida)

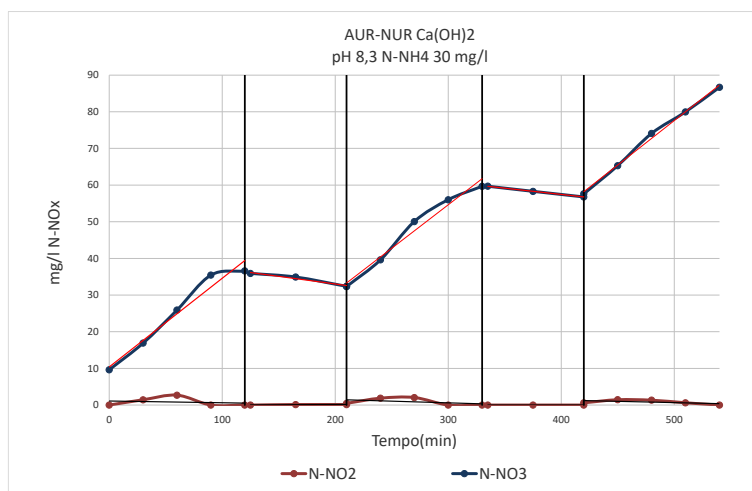


Figura 4.19 Andamento degli NO_x-N durante la prova.

Tabella 4.15 Velocità cinetiche e concentrazione dei solidi.

AUR-NUR 16.06.2015				
	Kn 20° (N-NO _x)	Kn 20° (N-NO ₂)	Kn 20° (N-NO ₃)	Condizionamenti
AUR	0,079	0,000	0,080	pH=8,3 N-NH ₄ in = 30mg/l Ca(OH) ₂
	Kd 20° (N-NO _x)	Kd 20° (N-NO ₂)	Kd 20° (N-NO ₃)	
NUR	0,013	0,000	0,013	C/N=3 Metanolo
	Kn 20° (N-NO _x)	Kn 20° (N-NO ₂)	Kn 20° (N-NO ₃)	
AUR	0,070	0,000	0,073	pH=8,3 N-NH ₄ in = 30mg/l Ca(OH) ₂
	Kd 20° (N-NO _x)	Kd 20° (N-NO ₂)	Kd 20° (N-NO ₃)	
NUR	0,010	0,000	0,010	C/N=3 Metanolo
	Kn 20° (N-NO _x)	Kn 20° (N-NO ₂)	Kn 20° (N-NO ₃)	
AUR	0,066	0,000	0,068	pH=8,3 N-NH ₄ in = 30mg/l Ca(OH) ₂
	MLSS	MLVSS	MLVSS/MLSS	
	mg/l	mg/l	-	
start	4314	3034	0,70	
stop	4661	2931	0,63	

Si nota immediatamente come, a parità di condizionamento, non si sia mai avviato un processo di nitrificazione; dato che nelle prove in campo effettuate nel periodo antecedente si erano raggiunti valori di kn via nitrito molto prossimi al 100%, la causa della mancata nitrificazione è probabilmente da imputarsi alla necessità del sistema di un tempo di acclimatamento e ai bassi valori di FA con cui si è operato (Tabella 4.16):

Tabella 4.16 Concentrazione di FA nelle varie fasi di prova.

TEMPO (min)		15.06.15	16.06.15
		FA	FA
0	AUR 1	2,19	2,99
30		1,76	1,46
60		0,46	0,93
90		0,32	0,45
120		0,36	0,76
125	NUR 1	0,30	0,69
165		0,32	0,56
210		0,40	1,01
210	AUR 2	2,07	2,04
240		1,22	1,88
270		0,83	0,95
300		0,61	0,77
330		0,62	0,90
335	NUR 2	0,46	0,66
375		0,51	0,64
420		0,59	1,20
420	AUR 3	2,43	2,56
450		1,68	2,97
480		1,18	1,54
510		0,81	1,21
540		0,75	0,62

Si è deciso quindi di ripetere le prove variando le condizioni di esercizio per far fronte a tale eventualità: il pH è stato aumentato a 8.5 e nella terza AUR si è incrementata l'ammoniaca a una concentrazione di 50 mg/L. Per ridurre i tempi di acclimatamento, inoltre, si è sostituito il metanolo con acetato, un substrato carbonioso a più rapido assorbimento. Durante questa fase si è scelto di testare, con le stesse modalità, anche il terzo reagente alcalinizzante, Na_2CO_3 . I risultati sono riassunti nei grafici e nelle tabelle seguenti.

Condizionamento con calce idrata (dosata in fase solida):

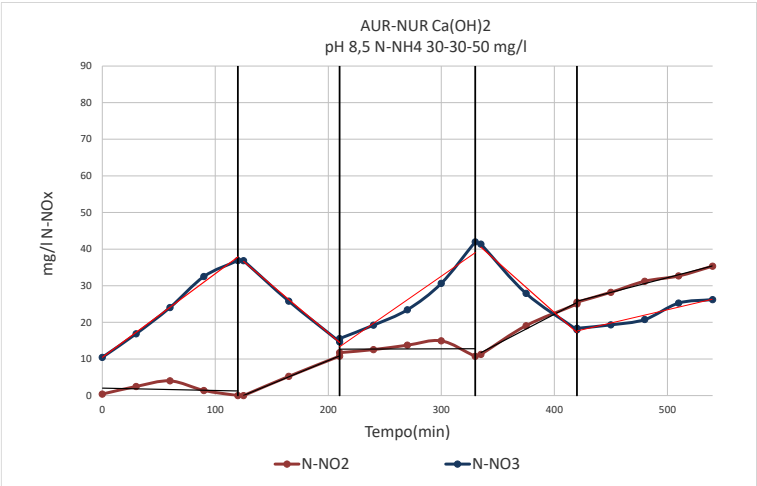


Figura 4.20 Andamento degli NO_x-N durante la prova.

Tabella 4.17 Velocità cinetiche e concentrazione dei solidi.

AUR-NUR 18.06.2015				
AUR	Kn 20° (N-NOx)	Kn 20° (N-NO2)	Kn 20° (N-NO3)	Condizionamenti
	0,095	0,000	0,097	pH=8,5 N-NH4in = 30mg/l Ca(OH)2
NUR	Kd 20° (N-NOx)	Kd 20° (N-NO2)	Kd 20° (N-NO3)	Condizionamenti
	0,059	0,000	0,114	C/N=3 Acetato
AUR	Kn 20° (N-NOx)	Kn 20° (N-NO2)	Kn 20° (N-NO3)	Condizionamenti
	0,093	0,000	0,092	pH=8,5 N-NH4in = 30mg/l Ca(OH)2
NUR	Kd 20° (N-NOx)	Kd 20° (N-NO2)	Kd 20° (N-NO3)	Condizionamenti
	0,047	0,000	0,114	C/N=3 Acetato
AUR	Kn 20° (N-NOx)	Kn 20° (N-NO2)	Kn 20° (N-NO3)	Condizionamenti
	0,062	0,032	0,029	pH=8,5 N-NH4in = 50mg/l Ca(OH)2
		MLSS	MLVSS	MLVSS/MLSS
		mg/l	mg/l	-
start		3979	2799	0,70
stop		4349	2837	0,65

Condizionamento con soda (NaOH 30%)

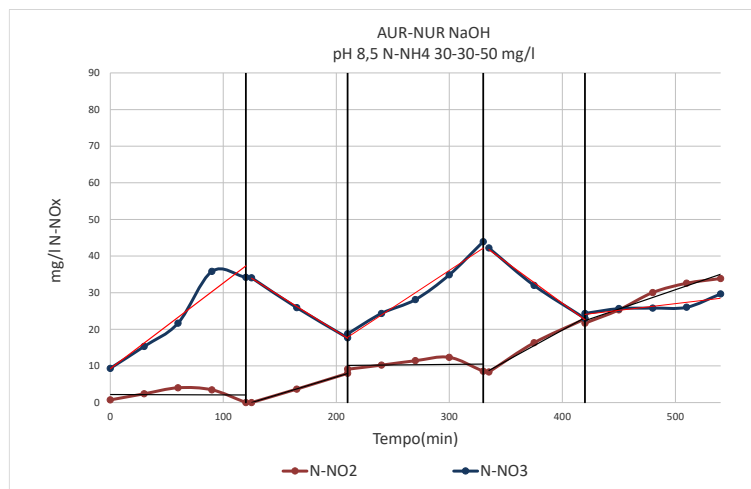


Figura 4.21 Andamento degli NO_x-N durante la prova.

Tabella 4.18 Velocità cinetiche e concentrazione dei solidi.

AUR-NUR 22.06.2015				
	Kn 20° (N-NOx)	Kn 20° (N-NO2)	Kn 20° (N-NO3)	Condizionamenti
AUR	0,109	0,000	0,109	pH=8,5
				N-NH4in = 30mg/l
				NaOH (30%)
	Kd 20° (N-NOx)	Kd 20° (N-NO2)	Kd 20° (N-NO3)	Condizionamenti
NUR	0,044	0,000	0,085	C/N=3
				Acetato
	Kn 20° (N-NOx)	Kn 20° (N-NO2)	Kn 20° (N-NO3)	Condizionamenti
AUR	0,084	0,001	0,082	pH=8,5
				N-NH4in = 30mg/l
				NaOH (30%)
	Kd 20° (N-NOx)	Kd 20° (N-NO2)	Kd 20° (N-NO3)	Condizionamenti
NUR	0,032	0,000	0,086	C/N=3
				Acetato
	Kn 20° (N-NOx)	Kn 20° (N-NO2)	Kn 20° (N-NO3)	Condizionamenti
AUR	0,051	0,038	0,013	pH=8,5
				N-NH4in = 30mg/l
				NaOH (30%)
	MLSS	MLVSS	MLVSS/MLSS	
	mg/l	mg/l	-	
start	3511	2378	0,68	
stop	3758	2656	0,71	

Condizionamento con carbonato di sodio (Na₂CO₃, dosato in fase solida)

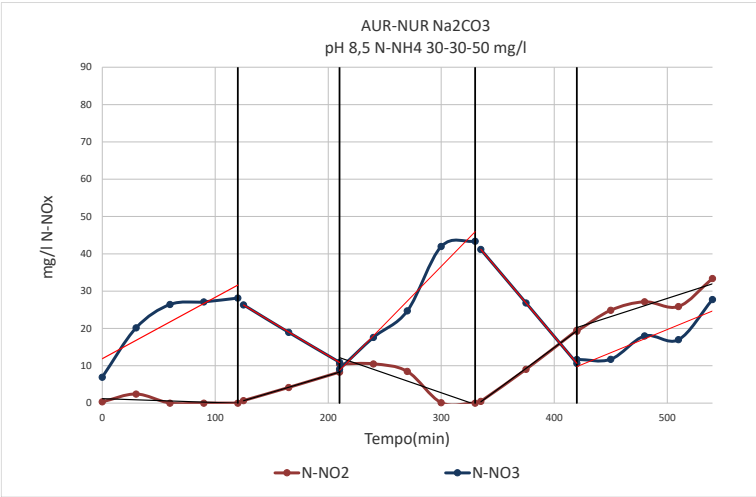


Figura 4.22 Andamento degli NO_x-N durante la prova.

Tabella 4.19 Velocità cinetiche e concentrazione dei solidi.

AUR-NUR 04.08.2015				
	Kn 20° (N-NO _x)	Kn 20° (N-NO ₂)	Kn 20° (N-NO ₃)	Condizionamenti
AUR	0,039	0,000	0,042	pH=8,5
				N-NH ₄ in = 30mg/l
				Na ₂ CO ₃
	Kd 20° (N-NO _x)	Kd 20° (N-NO ₂)	Kd 20° (N-NO ₃)	
NUR	0,029	0,000	0,042	C/N=3
				Acetato
	Kn 20° (N-NO _x)	Kn 20° (N-NO ₂)	Kn 20° (N-NO ₃)	
AUR	0,045	0,000	0,068	pH=8,5
				N-NH ₄ in = 30mg/l
				Na ₂ CO ₃
	Kd 20° (N-NO _x)	Kd 20° (N-NO ₂)	Kd 20° (N-NO ₃)	
NUR	0,055	0,000	0,074	C/N=3
				Acetato
	Kn 20° (N-NO _x)	Kn 20° (N-NO ₂)	Kn 20° (N-NO ₃)	
AUR	0,044	0,019	0,025	pH=8,5
				N-NH ₄ in = 30mg/l
				Na ₂ CO ₃
	MLSS	MLVSS	MLVSS/MLSS	
	mg/l	mg/l	-	
start	4247	3306	0,78	
stop	4493	3482	0,77	

In Figura 4.23 è ben visibile, nella terza AUR, l'inizio di un'inversione di tendenza verso la formazione di nitriti:

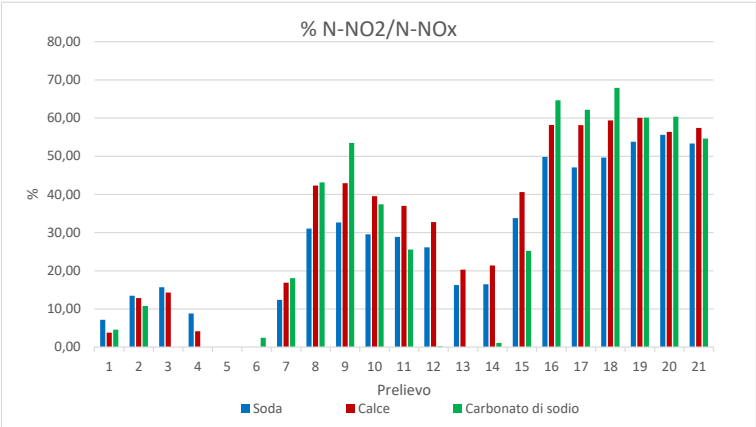


Figura 4.23 Percentuale di nitriti prodotti nelle varie fasi di prova con i diversi basificanti.

La percentuale di nitriti prodotti, espressa come $\text{NO}_2\text{-N}/\text{NO}_x\text{-N}$, raggiunge valori compresi tra il 50% e il 70% in tutte e tre le prove, e questa attività è confermata dai valori crescenti della velocità di nitrificazione:

- 0.019 $\text{kgNO}_2\text{-N}/\text{kgVSS}\cdot\text{d}$ in caso di condizionamento con Na_2CO_3 ;
- 0.032 $\text{kgNO}_2\text{-N}/\text{kgVSS}\cdot\text{d}$ in caso di condizionamento con $\text{Ca}(\text{OH})_2$;
- 0.038 $\text{kgNO}_2\text{-N}/\text{kgVSS}\cdot\text{d}$ in caso di condizionamento con NaOH .

Sembra quindi confermata la necessità di un breve periodo di acclimatamento della biomassa, passato il quale il processo si avvia. Le velocità raggiunte con i condizionamenti a soda e calce sono confrontabili, quella indotta dal carbonato di sodio è di circa la metà: si può presupporre che quest'ultimo reagente necessiti di un tempo di acclimatamento più lungo. Vale la pena evidenziare che in entrambe le prove con condizionamento a calce si è riscontrato un abbassamento del rapporto MLVSS/MLSS : da 0.7 a 0.65/0.63. Il fenomeno potrebbe essere indice di una leggera inertizzazione della biomassa attiva, che potrebbe portare, nel tempo, a una progressiva riduzione delle velocità di reazione.

A completamento dello studio dei nuovi reagenti si è proceduto con la verifica diretta delle quantità di *chemicals* necessari per raggiungere i valori di pH previsti. Dall'impianto principale sono stati prelevati campioni delle tre diverse matrici da testare (influyente, mixed liquor e ricircolo), ai quali sono stati addizionati i reagenti. La prova prevedeva il raggiungimento di tre valori specifici di pH:

- 8.1 e 8.3 – a simulare le condizioni operative mantenute fino a quel momento in vasca;
- copertura, dal pH di partenza, di un gap pari a 0.7 – situazione prossima a quella di esercizio.

Di seguito si riportano le tabelle riassuntive delle prove effettuate.

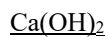
NaOH (soluzione al 15%)

Tabella 4.20 Dosaggi NaOH con pH raggiunti.

Campione	Volume (L)	SOLIDI(mg/l)	pH Start NaOH 15%
INFLUENTE	5	150	7,979
MIXED LIQUOR	5	4314	7,224
RICIRCOLO	5	5044	6,920

Campione	Dosaggio Chimico pH=8,1		Dosaggio Chimico pH=8,3		$\Delta=0,7$	
	ml NaOH 15%	pH Raggiunto	ml NaOH 15%	pH Raggiunto	ml NaOH 15%	pH Raggiunto
INFLUENTE	0,25	8,105	0,65	8,379	1,25	8,686
MIXED LIQUOR	1,45	8,154	1,70	8,312	1,15	7,946
RICIRCOLO	1,60	8,137	1,85	8,356	1,05	7,657

Campione	Δ a pH=8.1	Δ a pH=8.3	$\Delta=0.7$ reale
INFLUENTE	0,126	0,400	0,707
MIXED LIQUOR	0,930	1,088	0,722
RICIRCOLO	1,217	1,436	0,737



Dosaggio del reagente allo stato solido

Tabella 4.21 Dosaggi Ca(OH)_2 (g) con pH raggiunti.

Campione	Volume (L)	SOLIDI(mg/l)	pH Start Ca(OH)_2
INFLUENTE	5	150	7,958
MIXED LIQUOR	5	4314	7,157
RICIRCOLO	5	5044	7,307

Campione	Dosaggio Chimico pH=8,1		Dosaggio Chimico pH=8,3		$\Delta=0,7$	
	g Ca(OH)_2	pH Raggiunto	g Ca(OH)_2	pH Raggiunto	g Ca(OH)_2	pH Raggiunto
INFLUENTE	0,06	8,121	0,14	8,314	0,37	8,654
MIXED LIQUOR	0,41	8,124	0,46	8,324	0,38	8,024
RICIRCOLO	0,32	8,112	0,44	8,314	0,25	8,010

Campione	Δ a pH=8.1	Δ a pH=8.3	$\Delta= 0.7$ reale
INFLUENTE	0,163	0,356	0,696
MIXED LIQUOR	0,967	1,167	0,867
RICIRCOLO	0,805	1,007	0,703

Dosaggio in soluzione – Concentrazione 0,17%

Tabella 4.22 Dosaggi Ca(OH)_2 (ml) con pH raggiunti.

calce 0,17 % (w/w)			
Campione	Volume (L)	SOLIDI(mg/l)	pH Start Ca(OH)_2
INFLUENTE	5	144	7,7
MIXED LIQUOR	5	3871	7,24
RICIRCOLO	5	3414	7,1

Campione	Dosaggio Chimico pH=8,1		Dosaggio Chimico pH=8,3		$\Delta=0,7$	
	ml Ca(OH)_2	pH Raggiunto	ml Ca(OH)_2	pH Raggiunto	ml Ca(OH)_2	pH Raggiunto
INFLUENTE	160,00	8,115	225,50	8,310	243,50	8,405
MIXED LIQUOR	243,00	8,107	318,00	8,308	200,00	7,943
RICIRCOLO	358,00	8,106	468,00	8,310	223,00	7,805

Campione	Δ a pH=8.1	Δ a pH=8.3	$\Delta=0.7$ reale
INFLUENTE	0,415	0,610	0,705
MIXED LIQUOR	0,867	1,068	0,703
RICIRCOLO	1,006	1,210	0,705

Dosaggio in soluzione – Concentrazione 0,5%

Tabella 4.23 Dosaggi Ca(OH)_2 (ml) con pH raggiunti.

calce 0,5 % (w/w)			
Campione	Volume (L)	SOLIDI(mg/l)	pH Start Ca(OH)_2
INFLUENTE	5	144	7,70
MIXED LIQUOR	5	3871	7,31
RICIRCOLO	5	3414	7,36

Campione	Dosaggio Chimico pH=8,1		Dosaggio Chimico pH=8,3		$\Delta=0,7$	
	ml Ca(OH)_2	pH Raggiunto	ml Ca(OH)_2	pH Raggiunto	ml Ca(OH)_2	pH Raggiunto
INFLUENTE	48,00	8,108	76,00	8,312	90,50	8,403
MIXED LIQUOR	116,00	8,111	138,50	8,315	104,00	8,011
RICIRCOLO	127,00	8,164	139,00	8,365	112,00	8,066

Campione	Δ a pH=8.1	Δ a pH=8.3	$\Delta=0.7$ reale
INFLUENTE	0,408	0,612	0,703
MIXED LIQUOR	0,801	1,005	0,701
RICIRCOLO	0,804	1,005	0,706

Na₂CO₃

Dosaggio del reagente allo stato solido

Prova 1

Tabella 4.24 Dosaggi Na₂CO₃ (g) con pH raggiunti – Prova 1.

Campione	Volume (L)	SOLIDI(mg/l)	pH Start
INFLUENTE	5	176	7,850
MIXED LIQUOR	5	3571	7,288
RICIRCOLO	5	5359	7,285

Campione	Dosaggio Chimico pH=8,1		Dosaggio Chimico pH=8,3		Δ=0,7	
	g Na ₂ CO ₃	pH Raggiunto	g Na ₂ CO ₃	pH Raggiunto	g Na ₂ CO ₃	pH Raggiunto
INFLUENTE	0,14	8,11	0,28	8,31	0,51	8,553
MIXED LIQUOR	0,62	8,113	0,77	8,312	0,55	7,998
RICIRCOLO	0,69	8,115	0,88	8,31	0,58	7,99

Campione	Δ a pH=8.1	Δ a pH=8.3	Δ= 0.7 reale
INFLUENTE	0,260	0,460	0,703
MIXED LIQUOR	0,825	1,024	0,710
RICIRCOLO	0,830	1,025	0,705

Prova 2

Tabella 4.25 Dosaggi Na₂CO₃ (g) con pH raggiunti – Prova 2.

Campione	Volume (L)	SOLIDI(mg/l)	pH Start
INFLUENTE	5	120	7,480
MIXED LIQUOR	5	4292	6,900
RICIRCOLO	5	6238	6,800

Campione	Dosaggio Chimico pH=8,1		Dosaggio Chimico pH=8,3		Δ=0,7	
	g Na ₂ CO ₃	pH Raggiunto	g Na ₂ CO ₃	pH Raggiunto	g Na ₂ CO ₃	pH Raggiunto
INFLUENTE	0,35	8,13	0,52	8,32	0,40	8,19
MIXED LIQUOR	0,87	8,12	1,06	8,31	0,51	7,63
RICIRCOLO	1,16	8,130	1,36	8,32	0,65	7,53

Campione	Δ a pH=8.1	Δ a pH=8.3	Δ= 0.7 reale
INFLUENTE	0,650	0,840	0,710
MIXED LIQUOR	1,220	1,410	0,730
RICIRCOLO	1,330	1,520	0,730

I diversi metodi di dosaggio e le diverse concentrazioni alle quali sono stati testati i reagenti non permettono l'immediato confronto tra degli stessi. I dati raccolti sono quindi stati elaborati per poter confrontare direttamente le prestazioni effettive delle varie matrici. Per prima cosa si è uniformata l'unità di misura del reagente dosato: i millilitri di soluzione e i grammi di sostanza tal quale sono stati convertiti in grammi effettivi di matrice alcalinizzante, tenendo conto della concentrazione delle soluzioni, delle densità dei composti e della purezza media di quelli disponibili sul mercato. Il dosaggio netto di reagente è stato poi normalizzato sulla variazione di pH effettivamente raggiunta durante i singoli step analizzati: [g dosati/unità pH]. Le quantità così ottenute erano tuttavia relative a prove di dosaggio effettuate su un volume di 5 L di matrice liquida: si è proceduto quindi a ricondurre i dosaggi a un volume unitario e alla conversione del risultato

nelle unità di misura più convenzionali: [kg dosati/unità pH/m³]. A questo punto, i tre reagenti risultano direttamente confrontabili: di seguito sono riportate le condizioni di prova, i parametri fisico-chimici rilevanti e la sintesi dei risultati.

Tabella 4.26 Calcolo di NaOH effettivamente dosata, a partire da una soluzione al 15%.

			INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO
NAOH 15%	Vol	l	5	5	5
	PM NaOH	40			
	numero eq	1			
	Concentrazione %	15			
	densità kg/l	1,16			
	Solidi	mg/l	150	4314	5044
	pH start		7,979	7,224	6,920
	pH 8,1 effettivo		8,105	8,154	8,137
	pH 8,3 effettivo		8,379	8,312	8,356
	pH $\Delta=0,7$ effettivo		8,686	7,946	7,657
	pH 8,1	ml dosati	0,25	1,45	1,6
	pH 8,3	ml dosati	0,65	1,7	1,85
	pH $\Delta=0,7$	ml dosati	1,25	1,15	1,05

	INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO
	g	g	g
pH 8,1	0,044	0,252	0,278
pH 8,3	0,113	0,296	0,322
pH $\Delta=0,7$	0,218	0,200	0,183

	INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO
	g/unità pH	g/unità pH	g/unità pH
pH 8,1	0,345	0,271	0,229
pH 8,3	0,283	0,272	0,224
pH $\Delta=0,7$	0,308	0,277	0,248

	INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO
	Kg/unitàpH/m3	Kg/unitàpH/m3	Kg/unitàpH/m3
pH 8,1	0,069	0,054	0,046
pH 8,3	0,057	0,054	0,045
pH $\Delta=0,7$	0,062	0,055	0,050

Tabella 4.27 Calcolo di Ca(OH)_2 effettivamente dosata, a partire da reagente solido.

Ca(OH) ₂			INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO
	Vol	l	5	5	5
	Solidi	mg/l	150	4314	5044
	PM Ca(OH) ₂	74			
	numero eq	2			
	densità kg/l	2,24			
	pH start		7,958	7,157	7,307
	pH 8,1 effettivo		8,121	8,124	8,112
	pH 8,3 effettivo		8,314	8,324	8,314
	pH Δ=0,7 effettivo		8,654	8,024	8,01
	pH 8,1	g dosati	0,06	0,41	0,32
	pH 8,3	g dosati	0,14	0,46	0,44
	pH Δ=0,7	g dosati	0,37	0,38	0,25

	INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO
	g	g	g
pH 8,1	0,060	0,410	0,320
pH 8,3	0,140	0,460	0,440
pH Δ=0,7	0,370	0,380	0,250

	INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO
	g/unità pH	g/unità pH	g/unità pH
pH 8,1	0,368	0,424	0,398
pH 8,3	0,393	0,394	0,437
pH Δ=0,7	0,532	0,438	0,356

	INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO
	Kg/unitàpH/m3	Kg/unitàpH/m3	Kg/unitàpH/m3
pH 8,1	0,074	0,085	0,080
pH 8,3	0,079	0,079	0,087
pH Δ=0,7	0,106	0,088	0,071

Tabella 4.28 Calcolo di Ca(OH)_2 effettivamente dosata, a partire da una soluzione 0.17%.

		INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO
Ca(OH) ₂ - sol. 0,17%	Vol	l	5	5
	Solidi	mg/l	144	3871
	PM Ca(OH) ₂	74		3414
	numero eq	2		
	conc %	0,17		
	densità	1,002108		
	pH start	7,7	7,24	7,100
	pH 8,1 effettivo	8,115	8,107	8,106
	pH 8,3 effettivo	8,31	8,308	8,31
	pH Δ=0,7 effettivo	8,405	7,943	7,805
	pH 8,1	ml	243	358
	pH 8,3	ml	318	468
	pH Δ=0,7	ml	200	223

	INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO
	g	g	g
pH 8,1	0,273	0,414	0,610
pH 8,3	0,384	0,542	0,797
pH Δ=0,7	0,415	0,341	0,380

	INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO
	g/unità pH	g/unità pH	g/unità pH
pH 8,1	0,657	0,477	0,606
pH 8,3	0,630	0,507	0,659
pH Δ=0,7	0,588	0,485	0,539

	INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO
	Kg/unitàpH/m3	Kg/unitàpH/m3	Kg/unitàpH/m3
pH 8,1	0,131	0,095	0,121
pH 8,3	0,126	0,101	0,132
pH Δ=0,7	0,118	0,097	0,108

Tabella 4.29 Calcolo di Ca(OH)_2 effettivamente dosata, a partire da una soluzione 0.5%.

Ca(OH) ₂ - sol. 0,5%			INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO
	Vol	l	5	5	5
	Solidi	mg/l	144	3871	3414
	PM Ca(OH) ₂	66,8			
	numero eq	2			
	conc %	0,5			
	densità	1,0062			
	pH start		7,7	7,31	7,360
	pH 8,1 effettivo		8,108	8,111	8,164
	pH 8,3 effettivo		8,312	8,315	8,365
	pH Δ=0,7 effettivo		8,403	8,011	8,066
	pH 8,1	ml	48	116	127
	pH 8,3	ml	76	138,5	139
	pH Δ=0,7	ml	90,5	104	112

	INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO
	g	g	g
pH 8,1	0,241	0,584	0,639
pH 8,3	0,382	0,697	0,699
pH Δ=0,7	0,455	0,523	0,563

	INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO
	g/unità pH	g/unità pH	g/unità pH
pH 8,1	0,592	0,729	0,795
pH 8,3	0,625	0,693	0,696
pH Δ=0,7	0,648	0,746	0,798

	INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO
	Kg/unitàpH/m3	Kg/unitàpH/m3	Kg/unitàpH/m3
pH 8,1	0,118	0,146	0,159
pH 8,3	0,125	0,139	0,139
pH Δ=0,7	0,130	0,149	0,160

Tabella 4.30 Calcolo di Na_2CO_3 effettivamente dosato, a partire da reagente solido.

Na ₂ CO ₃ prova 1			INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO
	Vol	l	5	5	5
	Solidi	mg/l	176	3571	5359
	PM Na ₂ CO ₃	106			
	numero eq	2			
	conc %	100			
	PUREZZA %	99			
	pH start		7,85	7,288	7,285
	pH 8,1 effettivo		8,11	8,113	8,115
	pH 8,3 effettivo		8,31	8,312	8,31
	pH Δ=0,7 effettivo		8,553	7,998	7,99
	pH 8,1	g	0,14	0,62	0,69
	pH 8,3	g	0,28	0,77	0,88
	pH Δ=0,7	g	0,51	0,55	0,58

	INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO
	g	g	g
pH 8,1	0,140	0,620	0,690
pH 8,3	0,280	0,770	0,880
pH Δ=0,7	0,510	0,550	0,580

	INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO
	g/unità pH	g/unità pH	g/unità pH
pH 8,1	0,538	0,752	0,831
pH 8,3	0,609	0,752	0,859
pH Δ=0,7	0,725	0,775	0,823

	INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO
	Kg/unitàpH/m3	Kg/unitàpH/m3	Kg/unitàpH/m3
pH 8,1	0,108	0,150	0,166
pH 8,3	0,122	0,150	0,172
pH Δ=0,7	0,145	0,155	0,165

Tabella 4.31 Calcolo di Na₂CO₃ effettivamente dosato, a partire da reagente solido.

			INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO
Na ₂ CO ₃ prova 2	Vol	l	5	5	5
	Solidi	mg/l	120	4292	6238
	PM Na ₂ CO ₃	106			
	numero eq	2			
	conc %	100			
	PUREZZA %	99			
	pH start		7,48	6,9	6,800
	pH 8,1 effettivo		8,13	8,12	8,13
	pH 8,3 effettivo		8,32	8,31	8,32
	pH Δ=0,7 effettivo		8,19	7,63	7,53
	pH 8,1	g	0,347	0,87	1,16
	pH 8,3	g	0,52	1,06	1,36
	pH Δ=0,7	g	0,4	0,511	0,646

	INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO
	g	g	g
pH 8,1	0,347	0,870	1,160
pH 8,3	0,520	1,060	1,360
pH Δ=0,7	0,400	0,511	0,646

	INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO
	g/unità pH	g/unità pH	g/unità pH
pH 8,1	0,534	0,713	0,872
pH 8,3	0,619	0,752	0,895
pH Δ=0,7	0,563	0,700	0,885

	INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO
	Kg/unitàpH/m3	Kg/unitàpH/m3	Kg/unitàpH/m3
pH 8,1	0,107	0,143	0,174
pH 8,3	0,124	0,150	0,179
pH Δ=0,7	0,113	0,140	0,177

Per il confronto finale si sono utilizzate, per ogni matrice, le medie dei kg/unità pH/m³ risultanti da ogni singola prova:

Tabella 4.32 Schema riassuntivo degli alcalinizzanti utilizzati per le diverse matrici.

	INFLUENTE	MIXED LIQUOR	RICIRCOLO	solubilità a 20 °C
	Kg/unitàpH/m ³	Kg/unitàpH/m ³	Kg/unitàpH/m ³	g/l
NaOH	0,062	0,055	0,035	1000
Ca(OH) ₂	0,112	0,109	0,117	1,7
Na ₂ CO ₃	0,120	0,148	0,172	220

A loro volta elaborate in un grafico conclusivo:

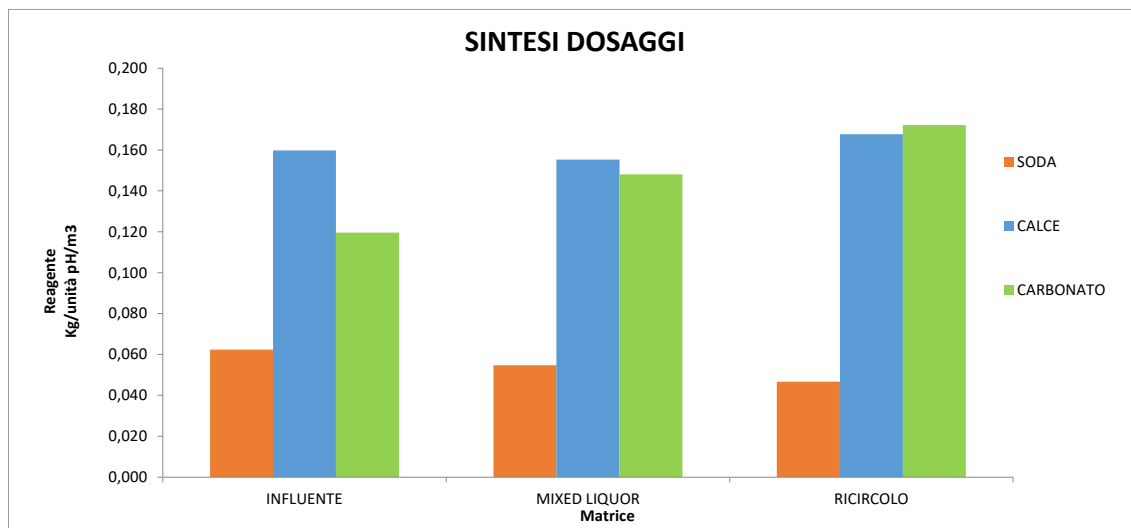


Figura 4.24 Reagente effettivamente dosato (kg reagente/unità pH/m³).

È immediato osservare come l'idrossido di sodio risulti il reagente più competitivo: non solo il suo potere alcalinizzante è nettamente maggiore rispetto a quello delle altre matrici, ma l'alta solubilità ne rende semplice e pratico anche il dosaggio e lo stoccaggio.

Aspetto molto interessante da analizzare è l'andamento del pH durante le prove:

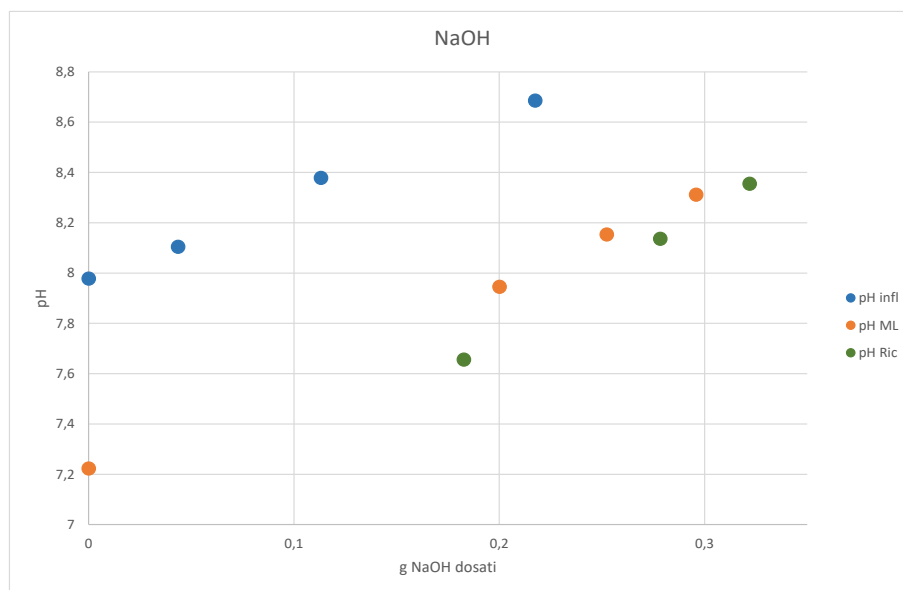


Figura 4.25 Andamento del pH durante la prova di dosaggio con NaOH.

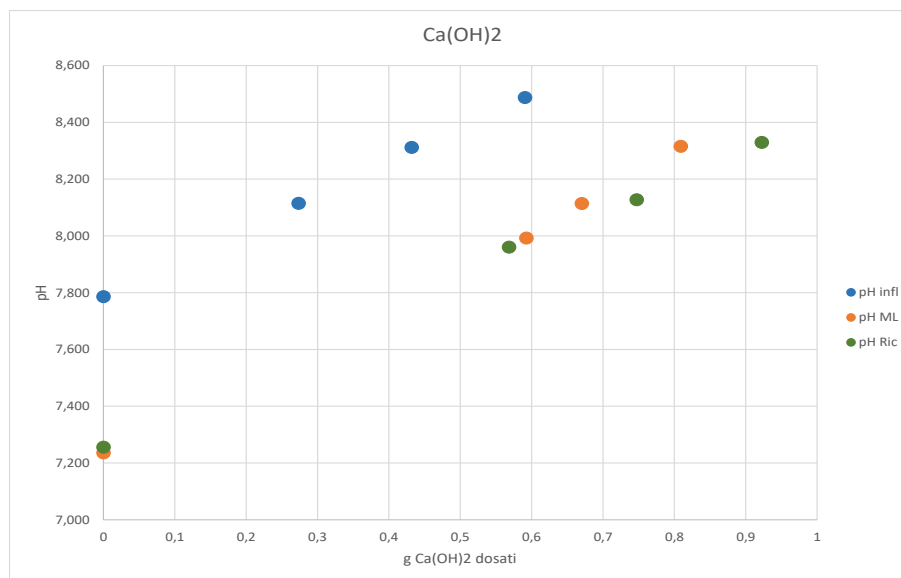


Figura 4.26 Andamento del pH durante la prova di dosaggio con Ca(OH)_2 .

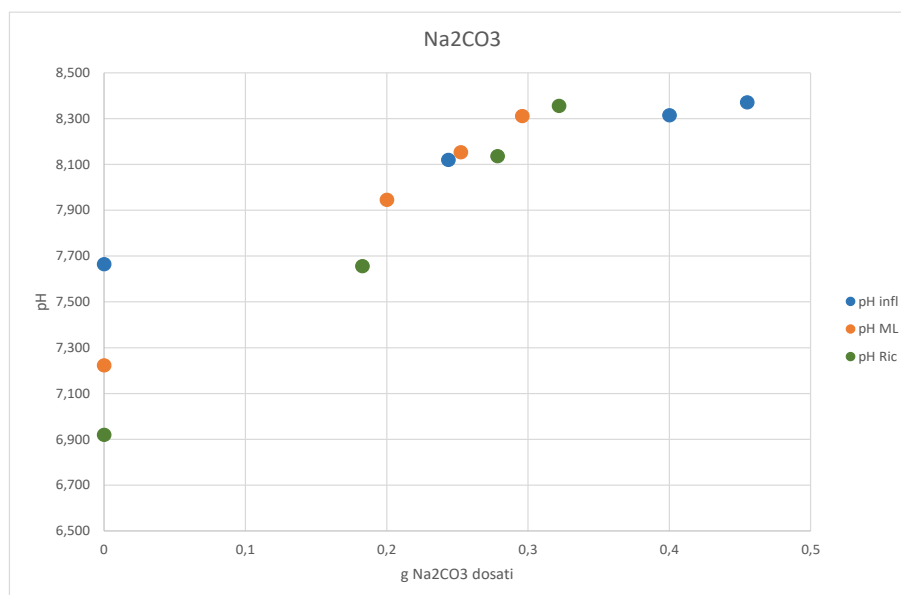


Figura 4.27 Andamento del pH durante la prova di dosaggio con Na_2CO_3 .

Si nota subito, dai grafici di soda e calce, come dosando nell'influente una minore quantità di reagente rispetto a quanto fatto nelle altre matrici sia comunque possibile raggiungere gli stessi valori di pH. È possibile che la biomassa presente nel mixed liquor e nel ricircolo abbia un effetto tampone sul basificante, effetto che si traduce nella necessità di un dosaggio di *chemicals* superiore.

In virtù di tali risultati si è deciso di spostare il punto di condizionamento in piattaforma sperimentale e di testare sul campo quanto emerso dallo studio di laboratorio.

Si è proceduto quindi all'installazione di un ulteriore reattore (volume 70 L) in monte del comparto biologico, dotato di miscelatore e sonde per il controllo del pH e dell' $\text{NH}_4\text{-N}$, all'interno del quale si attua il condizionamento dell'influente tramite soda in soluzione e idrossido di ammonio. In questo modo, il reflu entrante nella prima vasca biologica si trova già alle condizioni ideali per la reazione.

4.2.2. Up-scale del condizionamento

Come precedentemente accennato nella discussione dei risultati emergenti dall'insieme delle diverse prove preliminari condotte, la configurazione 2 ha previsto una leggera ma sostanziale modifica alla precedente filiera di processo della configurazione 1. È stato di fatto aggiunto un piccolo reattore (Figura 4.28), del volume di 70 litri, pensato appositamente per il dosaggio dei reagenti non più in modo diretto sulla biomassa del primo reattore ma sul reflu influente al sistema. Il reattore, equipaggiato con un elettromiscelatore a pale, è stato ubicato a valle del serbatoio di accumulo dell'influente; il reflu è stato caricato per mezzo di una pompa monovite e successivamente convogliato per gravità al primo CSTR del

comparto biologico. Il percorso delle tubazioni per il dosaggio dei reagenti è stato modificato in modo che l'aggiunta di idrossido di sodio e idrossido di ammonio fosse effettuata nel reattore di condizionamento. La logica di aggiunta dei *chemicals* è stata la medesima della configurazione precedente, attraverso sonde per la misura del pH e della concentrazione di ammoniaca in soluzione e valori di setpoint impostati nel programma di gestione Easygest.

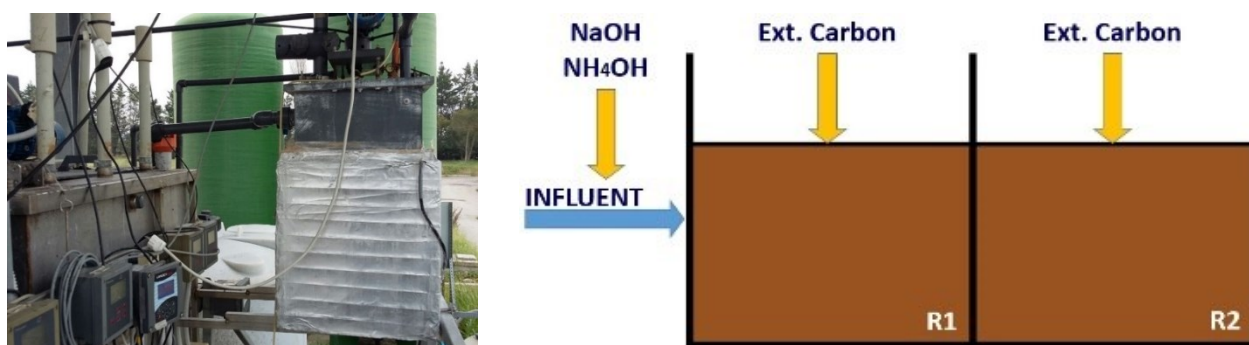


Figura 4.28 Reattore per il condizionamento dell'influente e schema della configurazione 2.

Anche in questo caso, prima della fase di startup, si è provveduto alla verifica del corretto funzionamento di tutte le utenze elettromeccaniche, taratura delle sonde e determinazione delle portate delle pompe per il dosaggio dei reagenti.

Per quanto riguarda la durata delle fasi, rispetto al periodo di sperimentazione precedente, i tempi di nitrificazione sono stati allungati di 10 minuti in linea 1, per far fronte al carico di ammoniaca entrante, e mantenuti costanti in linea 2; i tempi di denitrificazione, che promuovevano una fase anossica prolungata in linea 2, dopo la decisione di dosare carbonio esterno in entrambe le linee sono stati allungati in linea 1 e ridotti in linea 2.

Analogamente alle frequenze dei compressori, durante lo studio del processo le durate delle fasi sono state variate in modo da cercare il raggiungimento delle condizioni ottimali di fine ciclo per entrambi gli stadi. I parametri impostati sono riportati in Tabella 4.33.

Tabella 4.33 Impostazioni dei parametri EasyGestWWTP – Configurazione 2.

Linea 1										
Fase AEROBICA						Fase ANOSSICA				
Tmin	Tmax	DOmin	DOmax	ORPmin	ORPmax	Tmin	Tmax	ORPmin	ORPmax	
min	min	mg/L	mg/L	mV	mV	min	min	mV	mV	
20	60	0	4	-100	500	20	40	-150	100	
Linea 2										
Fase AEROBICA						Fase ANOSSICA				
Tmin	Tmax	DOmin	DOmax	ORPmin	ORPmax	Tmin	Tmax	ORPmin	ORPmax	
min	min	mg/L	mg/L	mV	mV	min	min	mV	mV	
10	60	0	4	-50	500	30	60	-150	100	

I setpoint fissati per il mantenimento del pH e della concentrazione di azoto ammoniacale nell'influente sono il frutto del precedente periodo di sperimentazione, durante il quale si è individuato che il raggiungimento di tali condizioni permette, durante il processo, di ottenere in vasca valori di *Free Ammonia* maggiori di 1 mgNH₄-N/L. Come descritto in precedenza, in concentrazioni superiori allo 0.1 mg/L, l'FA è responsabile della parziale inibizione dei batteri ossidanti del nitrito (NOB) spostando quindi la reazione verso la nitrificazione. Nella fase di startup si è scelto un SRT pari a circa 15 d.

Influente

Di seguito i valori che hanno caratterizzato il refluo urbano in ingresso durante questo periodo di sperimentazione (Tabella 4.34), in accordo con le metodiche riportate nel Capitolo 3; i valori riportati si riferiscono all'influente pre-condizionamento. Anche in questa fase, in accordo con le caratteristiche tipiche per le acque reflue urbane, si nota come il COD influente sia principalmente formato da solidi mentre l'azoto totale sia costituito per buona parte da azoto ammoniacale. I valori di pH in questo caso sono leggermente più alti rispetto a quanto registrato nella configurazione 1.

Tabella 4.34 Caratterizzazione refluo influente – Configurazione 2.

Fase	Qin	Temp	pH	Alk	TSS	COD	CODs	NH ₄ -N	TKN	NO ₂ -N
	m ³ /d	°C		mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
3	8.4±0.3	19±3	7.7±0.2	350±85	105±42	184±56	50±23	24±6	36±9	0.0±0.0
Fase	NO ₃ -N	Ntot	PO ₄ -P	Ptot	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻
	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
3	0.9±1.0	36±8	1.1±0.5	2.8±1.0	205±191	16±4	24±11	114±13	220±166	132±93

Dalla caratterizzazione si possono sottolineare delle costanti, come valori piuttosto bassi di solidi, COD solubile e quindi di COD totale. Figura 4.29 evidenzia la stretta correlazione tra l'andamento del COD totale e i TSS, quindi la sua forte componente particolata. Molto simile è anche l'andamento dell'Ntot, il quale risulta essere in gran parte formato da ammoniaca con la normale assenza di nitriti e nitrati che permangono a valori compresi tra 0.0 e 4.0 mg/L

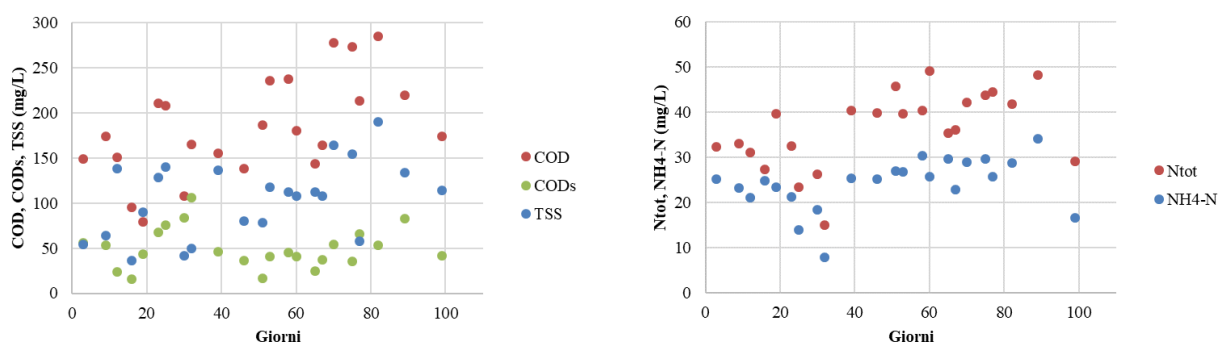


Figura 4.29 Andamento delle concentrazioni di COD, CODs, TSS e Ntot, NH₄-N.

I TSS hanno andamento un po' altalenante e una media di circa 100 mg/L, un valore non molto elevato specialmente se messo a confronto con i dati dei periodi precedenti. Di modesta entità è anche il carico di COD entrante, che risente della scarsa componente particolata e presenta un valore medio di concentrazione di 184 mg/L. La carenza della parte solida è probabilmente dovuta in parte alla scarsità di eventi piovosi e in parte alla discontinuità della pompa tritratrice presente all'interno del serbatoio di accumulo. Per ovviare a quest'ultimo problema ed evitare ulteriori fenomeni di sedimentazione all'interno del serbatoio è stato aumentato il numero di cicli della pompa stessa. L'azoto entrante si è mantenuto pressoché stabile e in linea con i valori di riferimento del precedente startup: gli NO_x appaiono in concentrazioni piuttosto basse, con una netta prevalenza dei nitrati sui nitriti (praticamente assenti); l'azoto ammoniacale ha una concentrazione media di circa 25 mg/L e subisce piccole fluttuazioni in seguito a fenomeni piovosi. Anche in questo caso si è assistiti a fenomeni di rientro di acqua di mare, anche se in misura minore rispetto agli eventi della configurazione 1, come riportato nel grafico in Figura 4.30. Infatti, nei primi giorni successivi allo startup, gli ioni raggiungono valori massimi fino a 847 mgNa/L e 667 mgCl/L, mantenendosi poi generalmente al di sotto dei 200 mg/L per il resto della sperimentazione.

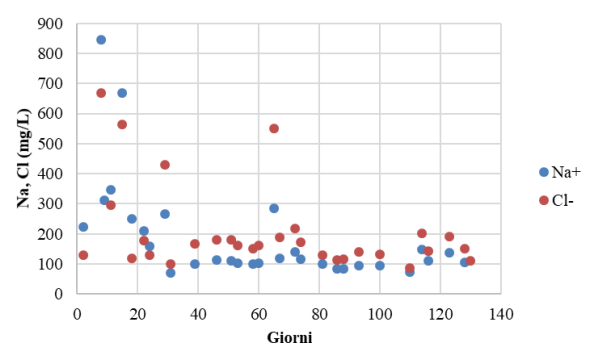


Figura 4.30 Andamento delle concentrazioni di cloruri e sodio.

I rapporti caratteristici e i carichi di massa influenti nel sistema sono riassunti in Tabella 4.35.

Tabella 4.35 Rapporti caratteristici e carichi di massa influenti – Configurazione 2.

Fase	Rapporti Caratteristici			Carichi di massa						
	TKN/NH ₄ -N	COD/Ntot	CODs/COD	L _{TSS}	L _{COD}	L _{Ntot}	L _{NH4-N}	L _{TKN}	L _{NOx-N}	L _{Ptot}
			%				kg/d			
3	1.49±0.18	5.27±1.92	29	0.88±0.36	1.54±0.49	0.42±0.16	0.20±0.05	0.30±0.08	0.01±0.01	0.02±0.01

Per quanto concerne i carichi di ammoniaca, azoto totale e COD si devono considerare anche le aggiunte di reagenti esterni, come riportato in Tabella 4.36. Il rapporto carbonio/azoto complessivo del sistema è risultato essere pari a 6.4, mentre quello delle singole linee è stato 5.6 e 5.0 rispettivamente per il primo e secondo reattore. Dai dati registrati dalla sonda la concentrazione media di ammoniaca influente, comprensiva delle aggiunte, è risultata essere pari a 24±4 mgNH₄-N/L. Il valore di pH dell'influente, una volta condizionato con idrossido di sodio, è stato pari 8.5±0.6.

Tabella 4.36 Carichi di massa comprensivi del dosaggio di reagenti – Configurazione 2.

Fase	Carichi di massa		
	L _{COD}	L _{Ntot}	L _{NH4-N}
	kg/d		
3	2.71±0.89	0.55±0.35	0.43±0.16

Quest'ultimo valore è stato influenzato dal potere basicificante dell'idrossido di ammonio e da problemi di dosaggio all'interno della piccola volumetria del reattore di condizionamento, motivo per cui nel corso della sperimentazione si sono fatti vari tentativi per mitigare il problema, inizialmente variando il valore dei setpoint poi successivamente predisponendo una differente modalità per il dosaggio della soluzione.

Ne è risultato un valore di FA nell'influente pari a 3.4±2.7 mgNH₄-N/L molto variabile nel tempo, come dimostrato dall'elevata deviazione standard e dall'andamento del grafico in Figura 4.31.

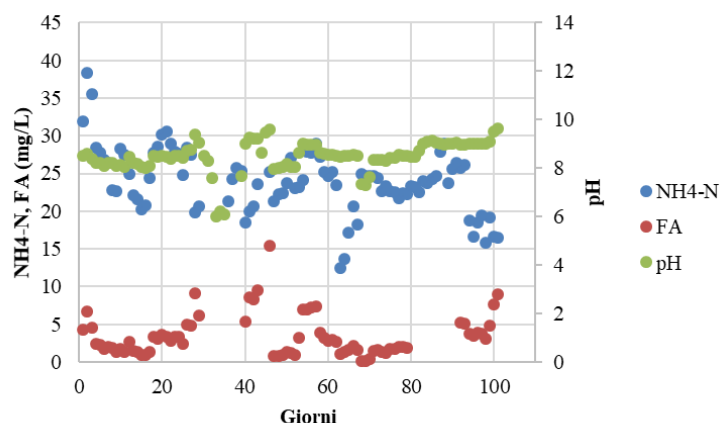


Figura 4.31 Andamento dei parametri di condizionamento (pH, NH₄-N, FA).

Il confronto fra il consumo di reagenti durante il precedente startup (Configurazione 1 – fase 2) e l'attuale configurazione ha dato i risultati riassunti in Tabella 4.37, espressi come volume di reagente dosato per metro cubo di refluo trattato.

Tabella 4.37 Confronto consumo reagenti per m³ di refluo trattato.

	NaOH	NH ₄ OH
	L/m ³	L/m ³
Configurazione 1 – fase 2	3.7	54.1
Configurazione 2	0.8	34.7

Il risparmio in termini di soda è quasi totale (~80%) e quello di ammoniaca considerevole, quasi il 40% in meno. Risulterebbero quindi confermati i test di dosaggio svolti in laboratorio, ma vanno comunque considerati il ruolo giocato dal valore del pH proprio dell'influente (mediamente più alto in questa fase) e soprattutto la forte azione alcalinizzante dell'ossido di ammonio.

Processo biologico

In Tabella 4.38 sono riassunti i principali parametri operativi monitorati tramite sonde e analisi di laboratorio nel corso della sperimentazione.

La biomassa in entrambe le vasche mostra una decrescita rapida nelle prime tre settimane di startup, trend che ha portato la concentrazione dei solidi nei reattori, dai 5500 mg/L di partenza, al di sotto dei 3000 mg/L (Figura 4.32). A seguito della temporanea sospensione del supero biologico gli MLSS sono rientrati all'interno dell'intervallo ottimale. La media dell'intero periodo è stata pari a 5006±1018 mg/L per la vasca 1 e 4690±797 mg/L per la vasca 2; il rapporto MLVSS/MLSS è risultato stabile e uguale per entrambe le linee (0.62±0.04). Una volta riusciti a ripristinare concentrazioni di solidi idonee per un corretto processo biologico, si è aumentata rispetto al periodo precedente la portata di supero in modo da ristabilire un SRT di lavoro di circa 15 giorni. Intorno al giorno 70 dallo startup, il blocco simultaneo del miscelatore del reattore di condizionamento e della sonda pH a causa del maltempo ha determinato una nuova condizione di dilavamento e perdita della biomassa; una volta intervenuti per risolvere il problema la situazione si è poi stabilizzata tornando su valori medi sopra riportati.

Nonostante il condizionamento dell'influente, all'interno delle vasche si è registrato un valore medio più o meno stabile di 7.6, il che ha determinato valori di FA estremamente bassi, specie se confrontati con quelli dei periodi antecedenti. Il range di variazione è stato infatti compreso tra 0 e 2.2 mgNH₄-N/L, con una media di 0.4 mgNH₄-N/L; concentrazioni decisamente troppo basse per poter esercitare un'efficace inibizione e spingere il processo verso la produzione di nitriti.

Tabella 4.38 Parametri operativi e velocità cinetiche del processo biologico – Configurazione 2.

Vasca 1								
Fase	MLSS	MLVSS/MLSS	pH	Temp	NH ₄ -N	FA	kn	kd
	mg/L	%		°C	mg/L	mg/L	kgNO _x -N/kgVSS d	
3	5006±1018	0.62±0.04	7.6±0.6	20±4	10±13	0.4±0.7	0.153±0.076	0.132±0.033
Vasca 2								
Fase	MLSS	MLVSS/MLSS	pH	Temp	NH ₄ -N	FA	kn	kd
	mg/L	%		°C	mg/L	mg/L	kgNO _x -N/kgVSS d	
3	4690±797	0.62±0.04	7.6±0.5		8±12		0.131±0.058	0.134±0.035

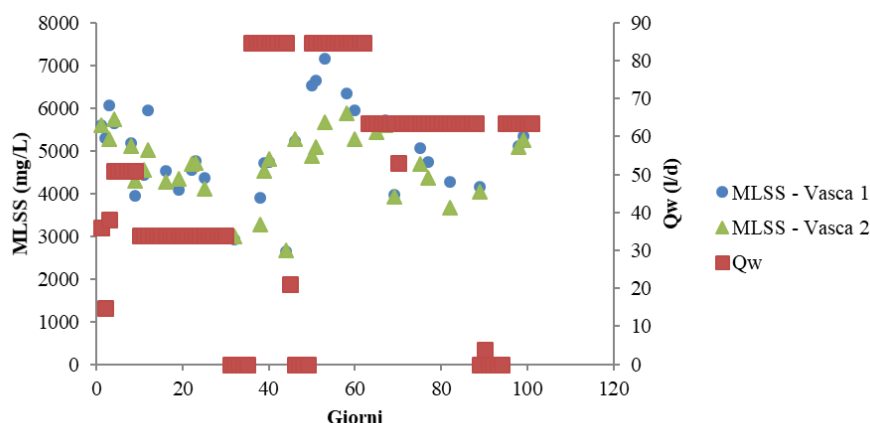


Figura 4.32 Andamento della concentrazione dei MLSS e portata di supero biologico.

Nella Figura 4.33 sono riportati i dati ricavati dalle prove di AUR realizzate per entrambe le linee durante l'intera durata temporale della sperimentazione e le relative percentuali di produzione dei nitriti. Si può osservare immediatamente come le percentuali di NO₂ prodotto siano sempre state modeste e mai stabili. In entrambi i reattori si assiste ad un iniziale aumento delle cinetiche di nitrificazione accompagnato da un incremento delle percentuali di nitrito che passa dal 10 al 20%. Successivamente, mentre le velocità continuano ad aumentare, arrivando a valori superiori a 0.200 kgNO_x-N/kgMLVSS/d, le percentuali di nitrito in controtendenza iniziano a diminuire fino ad arrivare ad annullarsi dopo 30 giorni dello startup. In seguito, le kn diminuiscono leggermente per poi mantenersi costanti fino alla fine della sperimentazione, mentre le percentuali di nitrito, inizialmente tornate a valori simili ai precedenti (~20%), decrescono, salvo leggere fluttuazioni, fino ad annullarsi nuovamente. Nonostante le velocità medie di nitrificazione ottenute siano state simili a quelle della configurazione 1, 0.153±0.076 e 0.131±0.058 kgNO_x-N/kgMLVSS/d rispettivamente per la linea 1 e 2, le percentuali di nitrito prodotto sono state solamente del 9.4±7.8 % per il primo reattore e 10.3±6.9 % per il secondo.

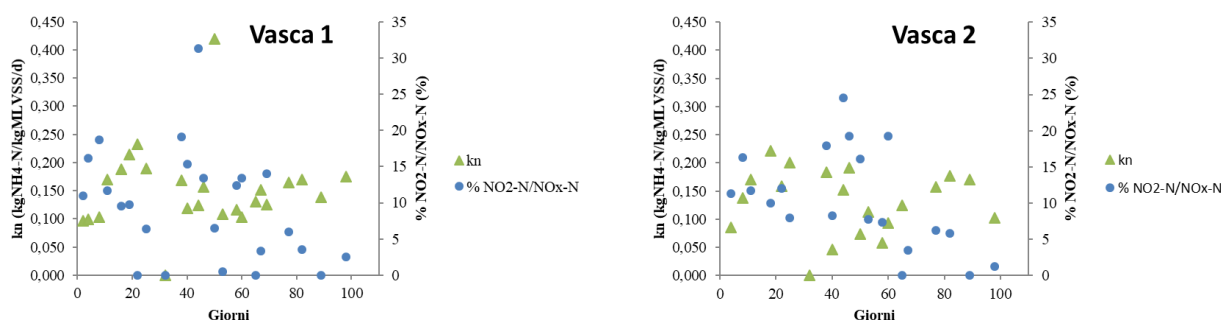


Figura 4.33 Andamento della velocità di nitrificazione e della percentuale di nitrito prodotto nelle diverse vasche.

Una spiegazione a tale inversione di tendenza è da ricercarsi nell'effetto intossicante esercitato da alte concentrazioni di cloruri che ciclicamente sono presenti in soluzione nel reattore. Infatti sovrapponendo in un grafico (Figura 4.34) l'andamento delle concentrazioni di cloruri nell'influente e le % NO₂-N/NO_x-N possiamo osservare la relazione tra loro. Va inoltre considerato che tali dati sono riferiti al refluo influente e che le specie in soluzione una volta entrate nel sistema vi permangono per diversi giorni prima di tornare a concentrazioni normali, nel frattempo esercitano un potere inibente che compromette l'attività della biomassa presente, la quale avrà necessità di un certo tempo dopo l'espulsione della sostanza tossica prima di recuperare le caratteristiche precedenti. Infatti possiamo notare come i ripetuti picchi di cloruri

avvenuti nella prima parte dello startup sia coinciso con l’inizio della decrescita e successivamente con l’annullamento delle percentuali dei nitriti prodotti, i quali sono tornati a crescere solamente dopo il quarantesimo giorno.

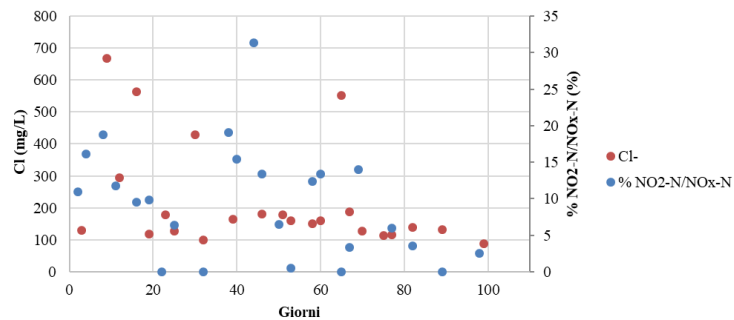


Figura 4.34 Andamento della concentrazione di cloruri influenti e percentuali di nitrito prodotto nella linea 1.

Le velocità di denitrificazione ottenute in entrambe le linee sono risultate essere elevate e particolarmente costanti, soprattutto se paragonate a quelle della sperimentazione precedente. Nello specifico si è raggiunta una velocità media di 0.132±0.033 kgNO_x-N/kgMLVSS/d nel primo reattore e 0.134±0.035 kgNO_x-N/kgMLVSS/d nel secondo. La statistica delle frazioni aerobiche e anossiche per entrambe le linee è riportata in Tabella 4.39. In generale si può osservare una diminuzione della durata delle fasi di aerazione concomitante con consistenti percentuali di fine ciclo per raggiungimento delle condizioni di ossigeno massimo, sintomo di problematiche di sovraerazione legate al basso carico di azoto nelle vasche. Tale aspetto influenza soprattutto la linea 2, con percentuali che hanno superato l’80%, nonostante gli aggiustamenti applicati alle frequenze di lavoro delle soffianti. Una buona percentuale di uscita per condizioni di lavoro ottimali durante le fasi aerobiche è stata raggiunta nella vasca 1. L’estesa durata delle fasi anossiche e le elevate percentuali di fine ciclo per condizioni ottimali dimostra il buon funzionamento del processo di denitrificazione in entrambe le linee.

Tabella 4.39 Durata delle fasi e statistica cicli – Configurazione 2.

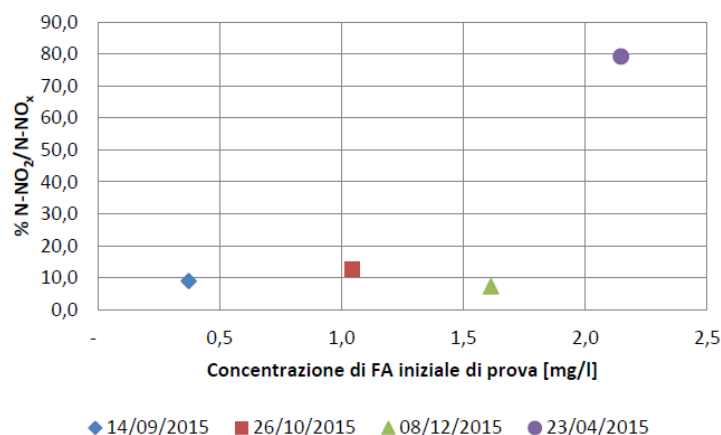
Fase Aerobica								
Fase	Durata		DO max		Tempo max		Condizione ottimale	
	min/d		%		%		%	
	Linea 1	Linea 2	Linea 1	Linea 2	Linea 1	Linea 2	Linea 1	Linea 2
3	630±181	359±138	38±35	82±24	4±9	4±14	64±69	13±16

Fase Anossica								
Fase	Durata		ORP min		Tempo max		Condizione ottimale	
	min/d		%		%		%	
	Linea 1	Linea 2	Linea 1	Linea 2	Linea 1	Linea 2	Linea 1	Linea 2
3	833±1043	978±126	0±0	0±0	3±9	12±24	97±28	88±24

Poiché soggetti ad una diversa modalità di condizionamento in impianto e pertanto non direttamente confrontabili, si è cercato di studiare i risultati delle prove in funzione della concentrazione di Free Ammonia, paragonando quelli ottenuti in questa sperimentazione con quelli dalla fase 2 – Configurazione 1. Per valori di kn molto simili, nel caso precedente si sono ottenute velocità di nitrificazione molto maggiori, indice di una diversa efficacia di condizionamento. Nonostante le concentrazioni di FA applicate fossero superiori al livello di inibizione teorico, i risultati ottenuti nel corso delle prove AUR hanno mostrato un comportamento decisamente più tendente al processo di nitrificazione classico. Assumendo un grado di condizionamento non significativo per il periodo con condizionamento sull’influente, è dunque presumibile la diretta correlazione tra FA di lavoro e % di nitrificazione ottenuta, in relazione alle condizioni di prova stessa e allo stadio di speciazione della biomassa raggiunto in impianto. Allo scopo di comprendere la correlazione tra FA e cinetica di nitrificazione, si è scelto quindi di procedere considerando per ogni AUR le velocità di consumo di FA e NH₄⁺, in quanto le variazioni di pH e temperatura per ogni prova sono da considerarsi minime e pertanto non significative. Al fine di effettuare il confronto si sono scelte delle prove rappresentative di diverse condizioni all’interno dei due periodi considerati, in Tabella 4.40 sono riportati i principali parametri:

Tabella 4.40 Condizioni iniziali delle prove considerate per il confronto.

Configurazione	Data prova	Condizioni iniziali di prova				Risultati			
		FA	pH	Temp	NH ₄ -N	kn (NO _x -N)	kn (NO ₂ -N)	kn (NO ₃ -N)	%NO ₂ /NO _x
		mg/L		°C	mg/L	mgN/mgVSS d			%
3	14/09/2015	0.4	7.4	23.3	27.9	0.200	0.019	0.130	8.9
3	26/10/2015	1.0	7.8	18.9	28.5	0.150	0.016	0.120	12.8
3	08/12/2015	1.6	7.9	18.7	32.1	0.130	0.010	0.140	7.3
1 – fase 2	23/04/2015	2.1	8.2	22.0	26.6	0.150	0.120	0.030	79.2

**Figura 4.35** Variazione della % di nitrificazione raggiunta in funzione dell'FA iniziale di prova.

Osservando la formula di FA e tenendo conto della quasi stazionarietà degli altri fattori, la velocità di presa di FA può considerarsi proporzionale a quella di ossidazione dell'ammoniaca a nitrito e nitrato. Si introduce allora il parametro $kn(FA)$, definito come:

$$k_n(FA) = \frac{FA_{start} - FA_{stop}}{MLVSS \cdot tempo\ prova} \quad \text{Equazione 4.1}$$

Dove:

$$FA_{start} - FA_{stop} = (NH_{4start} - NH_{4stop}) \cdot \frac{10^{pH_{start=stop}}}{10^{pH_{start=stop}} + k(T_{start=stop})} \quad \text{Equazione 4.2}$$

Si ottiene per le prove considerate:

Tabella 4.41 Valori delle velocità di consumo di FA in prova.

Configurazione	Data prova	kn(FA)
		mgFA/mgVSS d
3	14/09/2015	0.0012
3	26/10/2015	0.0031
3	08/12/2015	0.0051
1 – fase 2	23/04/2015	0.0067

Si osserva come, a parità di $kn(NO_x)$, la velocità di consumo di FA sia molto maggiore nello startup a condizionamento in vasca. Ciò può essere giustificato osservando le velocità di produzione di NO₂, che risultano molto maggiori e quindi indice, come già detto, di un maggior grado di speciazione della biomassa già in fase di startup. Inoltre, graficando i valori di velocità di consumo dell'FA in funzione del pH per ogni serie di prove, si ha:

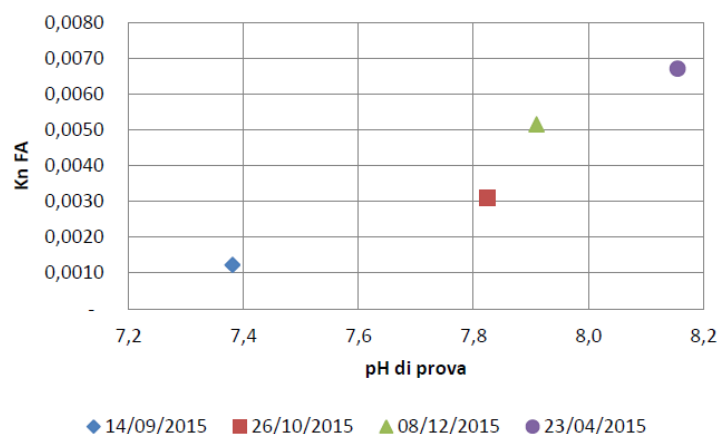


Figura 4.36 Variazione della velocità di consumo di FA in funzione del pH di prova.

È evidente come il consumo di FA tenda ad un comportamento diverso in funzione del grado di condizionamento raggiunto e della “composizione” dell’FA stesso. Il problema nella determinazione dei fattori di influenza nel consumo di FA è però la difficoltà nel dissociare la velocità di trasformazione dell’ NH_4^+ con la variazione di concentrazione di FA, essendo l’ammoniaca numericamente determinante nel calcolo (in quanto come già detto, temperatura e pH sono sostanzialmente costanti). Calcolando allora la % di trasformazione dell’ammoniaca definita come:

$$\text{NH}_4\% = \frac{\text{NH}_{4\text{start}} - \text{NH}_{4\text{stop}}}{\text{NH}_{4\text{start}}} \cdot 100 \quad \text{Equazione 4.3}$$

e calcolando la % di consumo di FA come:

$$\text{FA}\% = \frac{\text{FA}_{\text{start}} - \text{FA}_{\text{stop}}}{\text{FA}_{\text{start}}} \cdot 100 \quad \text{Equazione 4.4}$$

e considerando i valori cinetici, si ottiene:

Tabella 4.42 Valori di consumo % di FA e NH_4 in prova.

Configurazione	Data prova	kn(FA)	$\text{NO}_2\%$	FA%	$\text{NH}_4\%$	FA%/NH ₄ %
		mgFA/mgVSS d	%			
3	14/09/2015	0.0012	8.9	62	63	0.98
3	26/10/2015	0.0031	12.8	56	53	1.06
3	08/12/2015	0.0051	7.3	17	44	0.38
1 – fase 2	23/04/2015	0.0067	79.2	39	22	1.77

Alla luce delle ipotesi appena proposte e considerando che:

- La velocità di nitrificazione raggiunta è risultata essere sostanzialmente la stessa per ogni startup;
- La velocità di nitrificazione è massima nel periodo di condizionamento in vasca, il quale mostra % di formazione di nitrito tali da poterlo considerare efficacemente condizionato;
- La concentrazione di FA iniziale di prova è massima per lo stesso periodo (fase 2 – Configurazione 1);
- La concentrazione di NH_4 iniziale è costante per tutti i periodi;

si può osservare come la % di Free Ammonia presa tenda a discostarsi dalla percentuale di consumo di NH_4 per le diverse prove considerate: è evidente come per le prime due il consumo di FA sia indotto principalmente dalla trasformazione di NH_4 a nitrito, come evidenziato dai rapporti NO_2/NO_x . Tale tendenza viene meno per le altre due, per le quali si ha inversione di tendenza ($\text{NH}_4\% > \text{FA}\%$) relativamente al test 08/12, ed un raddoppio nel consumo di FA% in relazione a quella ammoniacale relativamente al periodo di condizionamento in vasca (23/04). Osservando come la decrescita di kn($\text{NO}_x\text{-N}$) comporti anche una minor % di NH_4 trasformata e come, al contrario, la crescita di kn($\text{NO}_2\text{-N}$) sembri corrispondere a una tendenza decrescente di % NH_4 , è possibile ipotizzare che tale inversione corrisponda a una minore velocità globale di ossidazione dell’ammoniaca, a favore del condizionamento di processo per via nitrito (Figura 4.37).

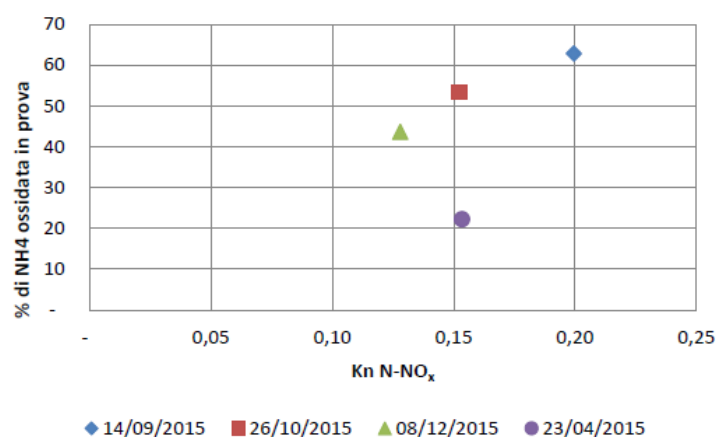


Figura 4.37 Ossidazione % dell'ammoniaca raggiunta in funzione della kn.

Quanto detto può trovare giustificazione anche nel grafico riportato sopra, osservando come la % di NH₄⁺ ossidata vari sensibilmente a parità di kn(NO_x-N). Considerando quanto ottenuto finora, si può pertanto ipotizzare che un diverso utilizzo del substrato ammoniacale sia funzione del grado di condizionamento ottenuto. Come indicato in Tabella 4.42 è stato calcolato un rapporto tra le %FA ed %NH₄, in modo da definire un indice che ne descriva i differenti utilizzi.

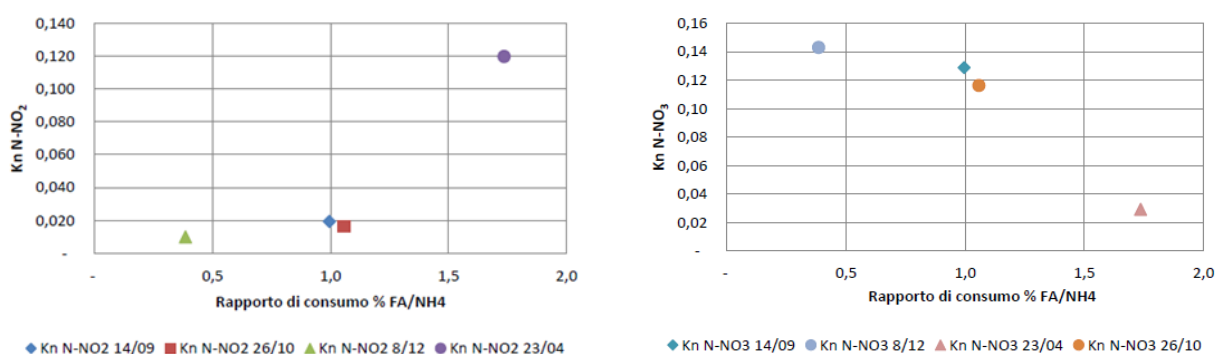


Figura 4.38 Valori delle cinetiche in funzione del rapporto %FA/NH₄ delle AUR.

Osservando i grafici riportati in Figura 4.38 ed il comportamento globale delle kn(NO_x-N) in funzione della percentuale di ammoniaca ossidata, sembra possibile ipotizzare come il rapporto tra *Free Ammonia* e NH₄⁺ trasformata sia funzione del grado di condizionamento della biomassa stessa. Si procede quindi ricercando una correlazione tra il comportamento cinetico della kn(NO₂-N) in relazione alla presenza di “substrato” FA disponibile: per velocità di nitrificazione maggiori e a parità di kn(NO_x-N) infatti, la velocità e dunque la quantità globale di NH₄ trasformata decresce, a favore di una maggiore velocità di presa percentuale di FA. Tale comportamento risulta inoltre concorde alla cinetica di Monod della kn(NO_x-N), funzione anch'essa della concentrazione di NH₄ in vasca. Si può ipotizzare allora che una maggiore disponibilità di ammoniaca non solo incrementi la velocità kn(NO₃-N), ma favorisca allo stesso tempo la velocità dei ceppi batterici deputati alla formazione di nitrato, sottraendo (tramite ossidazione dell'NH₄⁺) inibizione al processo indesiderato. Una forma della cinetica di formazione degli NO₂ potrebbe allora esprimersi nella forma:

$$\mu_{NO_2-N} = \mu_{max} \cdot f\left(\frac{NH_4}{NH_4 + k_{NH_4}}; \frac{DO}{DO + k_{DO}}; \frac{FA}{FA + k_{FA}}; f(Temp); f(pH)\right) \quad \text{Equazione 4.5}$$

L'ipotesi per un buon controllo del condizionamento è dunque quella di garantire un rapporto NH₄/FA non limitante durante lo svolgimento del processo, garantendo un substrato ammoniacale sufficiente ad avere una efficace nitrificazione ma non eccedente in rapporto all'ammoniaca “costituente” il valore di FA. Al fine di utilizzare tali ipotesi anche ai dati di processo in continuo, il termine %FA/%NH₄ viene semplificato in modo da poter calcolare un rapporto caratteristico tra i due anche in assenza dei valori finali di ammoniaca e FA, non misurabili direttamente in impianto se non tramite prove batch dedicate. Sviluppando allora il termine FA_{consumata}/NH₄ trasformata e tenendo conto del significato fisico che si intende dare al rapporto, si avrà:

$$\frac{\%FA}{\%NH_4} \sim \frac{NH_{4start}}{FA_{start}} = \frac{NH_{4start}}{NH_{4start} \cdot f(Temp, pH)} = \frac{1}{f(Temp, pH)} \quad [\text{mgNH}_4/\text{mgFA}] \quad \text{Equazione 4.6}$$

Considerando l'Equazione 4.2 e che nelle condizioni reali di processo le variazioni di pH e temperatura all'interno della fase di nitrificazione possono considerarsi costanti, si ha:

$$FA_{start} - FA_{stop} = (NH_{4start} - NH_{4stop}) \cdot \frac{10^{pH(t_{in})}}{k + 10^{pH(t_{in})}}$$

Equazione 4.7

Definito dunque il rapporto NH₄/FA, il quale può essere considerato come un rapporto caratteristico da mantenere per un costante condizionamento della biomassa, si riportano di seguito i valori calcolati per ogni prova AUR considerata, i quali sembrano evidenziare una correlazione con le caratteristiche di processo, e quindi teoricamente utilizzabile in luogo del parametro di partenza %FA/%NH₄.

Tabella 4.43 Valore del rapporto NH₄/FA iniziale delle prove AUR.

Configurazione	Data prova	NH _{4start} /FA _{start} mgNH ₄ /mgFA
3	14/09/2015	90
3	26/10/2015	60
3	08/12/2015	141
1 – fase 2	23/04/2015	13

Si può osservare come il minimo rapporto sia relativo allo startup in cui si è ottenuto condizionamento certo. Considerando poi il comportamento globale di produzione di nitrito (Figura 4.39) è possibile vedere come vi sia la tendenza a migliori prestazioni di nitrificazione per bassi rapporti NH₄/FA di processo, ed una efficace modalità di condizionamento in vasca.

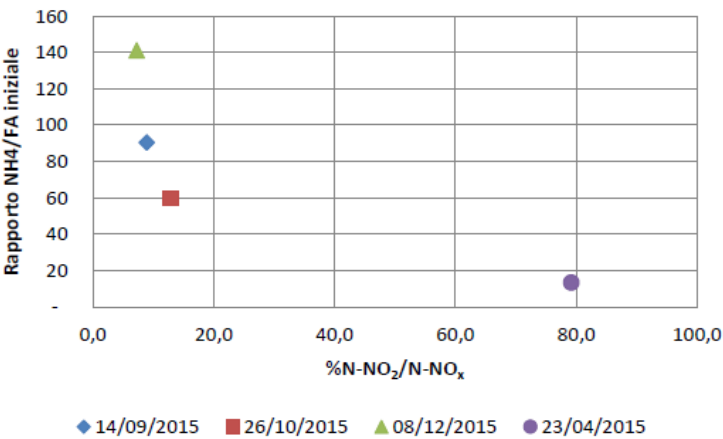


Figura 4.39 Percentuali di nitrito raggiunte in funzione delle condizioni iniziali di prova.

La speranza è quella di riuscire a definire l'esistenza di un valore per il quale il processo tenda a mantenersi sul processo di nitrificazione. Ricordando inoltre che tale rapporto è numericamente pari al termine di dipendenza di FA da pH e temperatura, e dunque facilmente acquisibile e calcolabile in ogni istante con le sonde presenti in impianto durante il processo, si può ipotizzare un controllo di monitoraggio in continuo e la potenziale automatizzazione del processo. Una prima conferma di tale potenzialità è data dall'andamento del rapporto di consumo percentuale tra NH₄ e FA, in relazione alle condizioni di pH imposte in prova e relative allo stesso periodo 23/04: è possibile osservare come al minimo aumento nel valore di pH iniziale corrisponda una significativa variazione del consumo percentuale ottenuto.

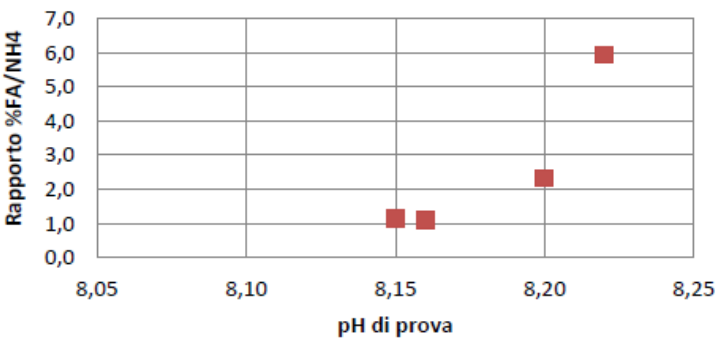


Figura 4.40 Variazione del rapporto %FA/NH₄ al variare del pH di prova.

La Figura 4.40 suggerisce infatti come una variazione significativa nelle dinamiche di processo possa ottenersi variando efficacemente il pH entro un range molto ristretto. L'incremento infatti mostra un andamento esponenziale, in accordo con la formula teorica di calcolo dell'FA.

Contrariamente a questo, la variazione con l'aumento della temperatura sembra risultare sfavorevole per il processo di nitrificazione, ma i dati raccolti presentano ΔT troppo ridotti perché si possa affermare con certezza. Inoltre, diversi studi hanno dimostrato che per temperature al di sopra dei 25°C la velocità di crescita specifica dei batteri AOB prevale su quella dei batteri NOB, mentre si verifica il contrario per temperature al di sotto dei 15°C (Van Dongen, 2001; Brouwer, 1998), rendendo pertanto necessario considerare anche l'influenza della temperatura sulla cinetica di processo.

Alla luce di quanto osservato relativamente al periodo di sperimentazione e in funzione dei risultati ottenuti durante le fasi di esercizio della piattaforma sperimentale, si possono trarre le seguenti conclusioni:

- La modalità di condizionamento sull'influente non ha condotto a significativa speciazione della biomassa. Il rapporto tra il volume della vasca di condizionamento posta a monte del processo biologico e la vasca biologica stessa ha infatti mostrato un forte effetto di diluizione della concentrazione di *Free Ammonia* reale in vasca, garantendo solo parzialmente il livello di inibizione richiesto. Inoltre tale impostazione rende più difficoltoso il mantenimento di un valore di setpoint fisso in vasca a causa di effetti di ritardo relativi al dosaggio stesso.
- Lo studio del consumo di *Free Ammonia* nel tempo di ciclo aerobico ha mostrato una dipendenza con la cinetica di nitrificazione ed una correlazione col rapporto NH_4/FA di vasca. A ciò è probabilmente associabile quindi una cinetica di tipo Monod, per la quale la velocità di processo tende ad un valore massimo in condizioni di substrato ammoniacale non limitante per la nitrificazione né per il mantenimento di un valore di FA inibente in vasca, ricordando che nelle condizioni di processo applicate l'ossidazione di ammoniaca era sostanzialmente l'unico parametro di consumo dell'FA stessa (temperatura e pH quasi costanti).
- L'esistenza di un rapporto NH_4/FA di vasca ottimale suggerisce la possibilità di un controllo di processo automatizzato, in quanto tale rapporto è numericamente uguale al fattore di dipendenza da pH e temperatura dell'FA stesso e pertanto monitorabile in continuo.
- I dati raccolti durante il periodo di sperimentazione indicano un più efficace processo di nitrificazione per valori di NH_4/FA di vasca inferiori a 15. Lo studio di tale parametro è stato però preso in esame solamente durante l'elaborazione dei dati di prova.

Effluente

L'effluente impianto ha presentato le seguenti caratteristiche chimico-fisiche riportate in Tabella 4.44.

Tabella 4.44 Caratterizzazione refluo effluente – Configurazione 2.

Fase	pH	Alk	TSS	COD	CODs	$\text{NH}_4\text{-N}$	TKN	$\text{NO}_2\text{-N}$	$\text{NO}_3\text{-N}$
		mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
3	7.8±0.4	340±116	42±37	77±64	41±48	8±11	12±12	0.0±0.1	8.7±6.1
Fase	Ntot	$\text{PO}_4\text{-P}$	Ptot	Na^+	K^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Cl ⁻	SO_4^{2-}
	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
3	21±12	1.2±0.7	2.1±0.7	234±159	16±4	24±12	108±14	230±197	117±24

Nonostante il pH nelle vasche si aggiri attorno a valori di 7.6 e a dispetto del fatto che l'ossidazione dell'ammoniaca durante il processo di nitrificazione determini un consumo di alcalinità, il valore in uscita è risultato mediamente aumentato e pari a 7.8±0.4.

La discreta velocità di denitrificazione ha permesso di ottenere concentrazioni di $\text{NO}_x\text{-N}$ uscenti confrontabili con quelle della precedente fase 2 della configurazione 1, ma va evidenziato il fatto che in questo caso la produzione di nitriti è stata completamente assente e gli NO_x risultano costituiti esclusivamente da nitrati contrariamente a quanti visto nella configurazione 1.

Elevate percentuali di rimozione dell'ammoniaca, sono state raggiunte in questa fase con un valore medio complessivo dell'85±16%. La rimozione dell'azoto totale dal sistema è stata pari al 64±15%, performance legata alle concentrazioni di nitrati effluenti.

Il COD risulta mediamente elevato e correlato ai TSS, legato a un non completo utilizzo da parte delle biomasse denitrificanti. La rimozione di sostanza organica è stata pari al 77±12%.

Tutte le performances di rimozione ottenute in questa fase risultano essere molto simili a quelle ottenute durante la fase 2 della precedente sperimentazione (E% $\text{NH}_4\text{-N}$ =84±13%, E% TN=65±16%, E% COD=72±13%), la quale risultava aver raggiunto le migliori prestazioni della configurazione 1.

4.2.3. Monitoraggio delle emissioni gassose

Anche in questa fase è stato effettuato il monitoraggio in continuo delle emissioni in atmosfera dal primo reattore del comparto biologico utilizzando l'analizzatore MIR 9000 CLD. A titolo di esempio in Figura 4.41 si riportano i tracciati di emissione di una giornata tipo. Per questa fase, a causa di problemi con la sonda, non si sono potuti registrare i dati della concentrazione di ammoniaca emessa.

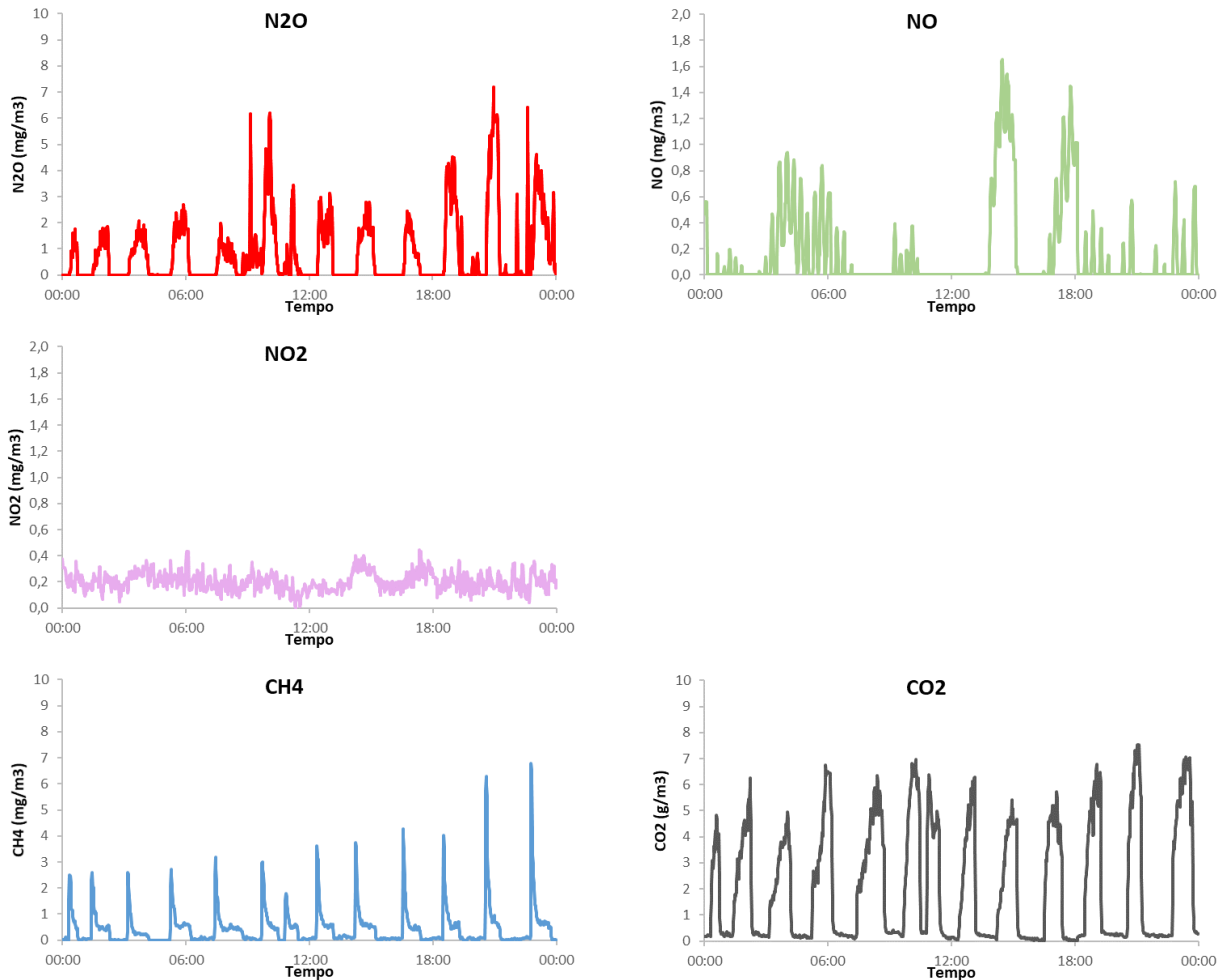


Figura 4.41 Tracciati delle diverse emissioni gassose per una giornata tipo.

Come già visto nel Paragrafo 4.1.3, anche in questo caso, è stata effettuata la scrematura dei dati nelle sole fasi di aerazione. L'insieme dei dati analizzati nel corso della sperimentazione, espressi come carico di massa (Tabella 4.45), sono mostrati in Figura 4.42 (CH_4 e CO_2) e Figura 4.43 (N_2O).

Tabella 4.45 Carichi di massa emessi – Configurazione 2.

Fase	CO_2	CH_4	N_2O
	gCO_2/d	gCH_4/d	$\text{gN}_2\text{O}/\text{d}$
3	0.106 ± 0.121	0.029 ± 0.027	0.086 ± 0.131

Il quantitativo di anidride carbonica emessa risulta essere maggiore rispetto a quello riscontrato durante la fase 1.a ($0.07 \text{ gCO}_2/\text{d}$) della configurazione 1, che era risultata essere quella caratterizzata dai maggiori carichi emessi. Nello specifico si è ottenuto un valore medio di periodo pari a $0.106 \text{ gCO}_2/\text{d}$, caratterizzato da una notevole variabilità nel corso del monitoraggio. L'andamento dell'emissione risulta fortemente condizionato dalla concentrazione di DO nella fase liquida; i valori maggiori sono stati registrati durante i primi 30 giorni dall'avvio, quando la concentrazione media di ossigeno in vasca è stata di $1.58 \text{ mgO}_2/\text{L}$, registrando un valore massimo di $0.473 \text{ gCO}_2/\text{d}$. I risultati determinano un fattore di emissione specifico per m^3 di influente trattato di $0.012 \text{ gCO}_2/\text{d}$.

Considerando il solo contributo del processo biologico, minori emissioni di metano sono state registrate rispetto alla prima configurazione. Nel corso del monitoraggio mediamente sono stati rilasciati $0.029 \text{ gCH}_4/\text{d}$. Anche in questo caso i risultati sono strettamente correlati con la concentrazione di DO, arrivando ad un massimo di $0.129 \text{ gCH}_4/\text{d}$.

A partire dal giorno 50, sia per il metano che per l'anidride carbonica, si assiste sempre per motivi legati alle condizioni di aerazione nel reattore a un prolungato riaumento delle concentrazioni rilasciate, le quali una volta ristabilite concentrazioni di ossigeno superiori a 2 mgO₂/L tornano a diminuire.

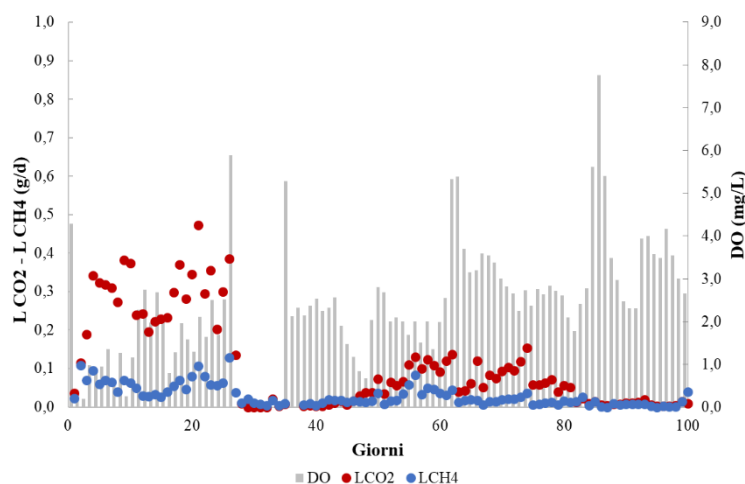


Figura 4.42 Carichi di massa emessi di CO₂ e CH₄ e concentrazione DO.

Per quanto concerne le emissioni di protossido di azoto, sono state misurate concentrazioni notevolmente più basse rispetto a quelle della configurazione 1. I carichi di massa risultanti sono stati di 0.086 ± 0.131 gN₂O/d; l'elevata deviazione standard è legata alle nette fluttuazioni dei valori di N₂O durante i primi 30 giorni dallo startup. Insieme all'iniziale crescita delle velocità di nitrificazione si è assistiti a un aumento delle emissioni di protossido, arrivando a un valore massimo di 0.754 gN₂O/d quando la kn ha raggiunto i 0.232 kgNH₄-N/kgMLVSS/d. Successivamente, in concomitanza con la stabilizzazione delle velocità cinetiche intorno a 0.150 kgNH₄-N/kgMLVSS/d, si ha una notevole diminuzione dei carichi emessi. In questo caso, al contrario di quanto avvenuto nella configurazione 1, l'incremento delle velocità cinetiche non si è convertito in un decremento in termini di protossido rilasciato, probabilmente per motivi legati alle basse concentrazioni di ammoniaca in vasca e al non condizionamento della biomassa.

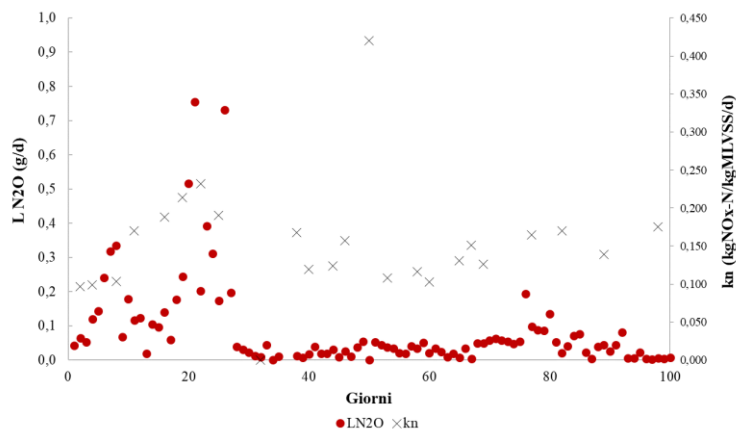


Figura 4.43 Carichi di massa emessi di N₂O e velocità di nitrificazione.

Si sono calcolati inoltre, per il protossido di azoto, i fattori emissivi (EF – *Emission Factor*). Durante i primi trenta giorni dallo startup l'emissione si è dimostrata essere più incidente ed in particolare pari allo 0.027% del carico di azoto totale influente. Successivamente, in accordo con quanto detto sopra, si è scesi allo 0.011%. Il EF specifico per quantità di biomassa presente è stato pari a 16 mgN₂O/kgMLVSS/d.

4.3. Configurazione 3 – Reattore di selezione

4.3.1. Prove preliminari

4.3.1.1. Prove per la comprensione del ruolo dei fattori costituenti l'FA e del tempo di contatto

Dato per assodato dai risultati precedenti che l'inibizione della frazione NOB è associata a livelli di FA tra 0.1 e 1 mgNH₄-N/L si è cercato di capire, investigando ogni singolo fattore costituente la *Free Ammonia*:

1. Se esiste una temperatura critica per cui, a prescindere dai valori di pH e ammoniaca e quindi del valore di FA, l'ossidazione dell'ammoniaca passa completamente per via nitrito o via nitrato.
2. Se esiste un livello di ammoniaca in soluzione critico per cui al di sotto, per qualsiasi valore di FA, l'ossidazione non passa via nitrito.
3. Se esiste un'influenza del tempo di contatto del fango a un fissato livello di FA nei confronti della nitrificazione, cioè l'idea è che il tempo in cui la biomassa è esposta a un generico valore di FA possa influire sulla nitrificazione al pari del FA stesso.

Studio dell'effetto della temperatura

Le prime prove sono state effettuate su un volume di 10 litri di fango biologico prelevato dall'impianto principale di Falconara Marittima-Vallechiara; il campione è stato suddiviso in 5 aliquote da 2 L ciascuna. I campioni sono stati portati a diverse temperature utilizzando un agitatore magnetico e un bagno di acqua e ghiaccio, e tenuti in miscelazione nelle seguenti condizioni:

- pH = 8.5;
- NH₄-N iniziale = 50 mg/L;
- Temperatura = 10, 15, 20, 25 e 30°C;
- Tempo di contatto = 30'.

Come si osserva l'FA non è stato tenuto costante in questa prima fase e ovviamente per la sua natura risulta crescente con la temperatura, l'obiettivo della prova era quello di valutare l'eventuale effetto inibente della temperatura a parità di tutti gli altri parametri. Susseguentemente al condizionamento di 30', sono state fatte delle prove AUR della durata di 50' con prelievi ogni 10'mantenendo una concentrazione di DO di 4 mgO₂/L, di seguito si riportano i risultati ottenuti (Tabella 4.46):

Tabella 4.46 Risultati prove eseguite al variare delle diverse temperature.

Temperatura di prova °C	kn (NO _x -N) kgNO _x -N/kgMLVSS·d	kn (NO ₂ -N)	kn (NO ₃ -N)
10	0.218	0.000	0.218
15	0.150	0.000	0.150
20	0.171	0.023	0.149
25	0.090	0.014	0.082
30	0.082	0.004	0.078

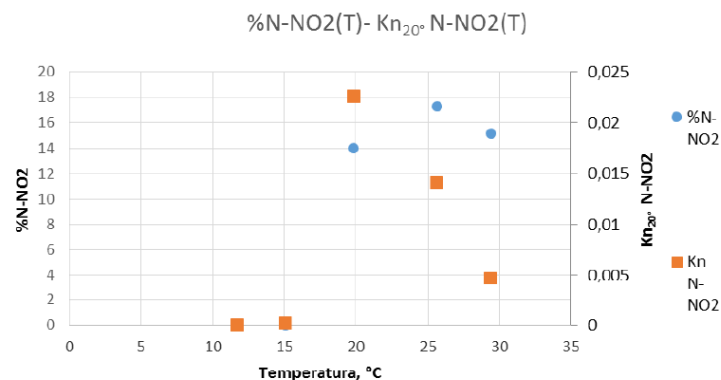


Figura 4.44 Andamento delle kn e % di nitriti prodotti alle diverse temperature di prova.

Come si evince dalla Figura 4.44, il valore della percentuale di nitriti prodotti sembrerebbe rimanere nulla fino a 15°C mentre dopo i 20°C, l'ossidazione dell'ammoniaca passa per circa il 15% via nitrito. Osservando la cinetica e quindi la kn(NO₂-N) normalizzata a 20°C, alle basse temperature segue il discorso della %NO₂/NO_x, quindi presenta valori circa nulli anche essa, mentre sembrerebbe seguire un andamento decrescente dopo i 20°C. Bisogna osservare che la

normalizzazione delle cinetiche è stata effettuata con la relazione di Arrhenius utilizzando un θ estrapolato dalle ossidazioni tradizionali dell'ammoniaca a nitrato pari a 1.123. In questo caso la riduzione della costante con la temperatura potrebbe essere più severa del valore di normalizzazione reale in quanto la frazione inibita degli NOB non concorre interamente nella reazione.

Studio dell'effetto del tempo di contatto

Successivamente, per valutare una possibile influenza del tempo di condizionamento, sono stati effettuati test cinetici su due campioni di fango mantenuti alla stessa temperatura applicando condizioni di prova simili alle precedenti:

- pH = 8.5;
- $\text{NH}_4\text{-N}$ iniziale = 50mg/L;
- Temperatura = 20°C;
- Tempo di contatto = 60'e 120'.

In questa serie di prove, per tutto il tempo di condizionamento, si è tenuto costante il valore dell'FA intorno al valore 5.5 mg/L per entrambi i fanghi, diversamente dal primo esperimento in cui questo non veniva osservato. La prova è stata ripetuta in duplice per ogni tempo di condizionamento.

Tabella 4.47 Confronto tra le prove effettuate a diverso tempo di contatto.

Data	Tempo di contatto	k_n ($\text{NO}_x\text{-N}$)	k_n ($\text{NO}_2\text{-N}$)	k_n ($\text{NO}_3\text{-N}$)	% NO_2/NO_x
	minuti	$\text{kgNO}_x\text{-N/kgMLVSS}\cdot\text{d}$			%
04/02/16	60	0.105	0.002	0.103	1.8
	120	0.098	0.002	0.095	2.3
09/02/16	60	0.123	0.014	0.123	10.6
	120	0.154	0.009	0.144	3.8

Si osserva che nella prima giornata di sperimentazione il maggior tempo di condizionamento ha aiutato la nitrificazione in maniera quasi insignificante, nella seconda giornata è successo il contrario sia in termini di % di nitrito formato sia di velocità ottenute. La differenza di comportamento può essere imputabile a motivazioni riguardanti l'impianto al momento del prelievo del fango, magari associate a diverse condizioni della biomassa o ad una diversa frazione di biomassa attiva autotrofica presente. Di seguito si riportano i risultati comparati delle due giornate (Figura 4.45). Se si osserva l'andamento degli NO_x e degli NO_2 durante le prove con 60 minuti di tempo di contatto, il giorno 09/02/16 la biomassa ha lavorato meglio sia via nitrito sia via nitrato.

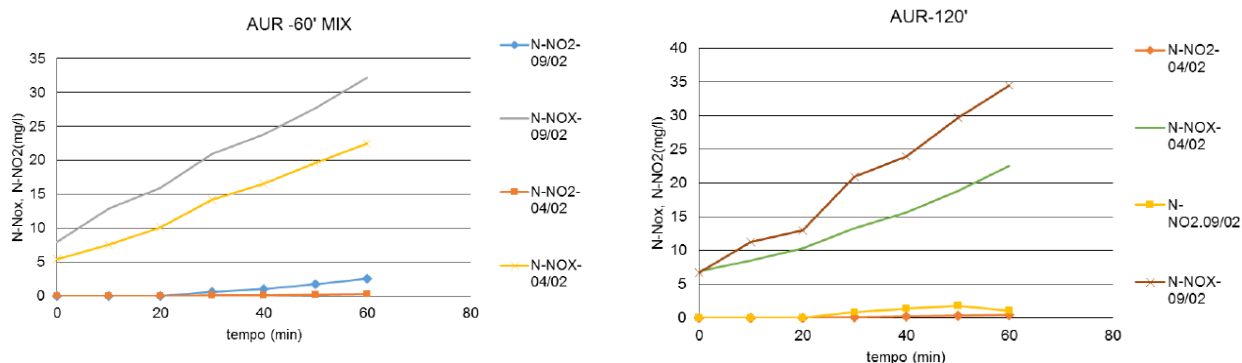


Figura 4.45 Confronto tra le prove effettuate a diverso tempo di contatto.

In questa prima parte della sperimentazione si è cercato di quantificare gli effetti sul fenomeno della nitrificazione della temperatura e del tempo di condizionamento, ottenendo dei risultati non interpretabili in maniera univoca. L'aumento della temperatura sembra favorire la nitrificazione anche se in range e con massimali differenti nelle diverse prove effettuate mentre il tempo di condizionamento, in due prove diverse, ha avuto ruoli opposti nei confronti della nitrificazione. Inoltre non si è osservato l'effetto del *Free Ammonia* in maniera diretta.

Prove cinetiche isoterme

Per studiare l'effetto combinato di temperatura e tempo di contatto si sono eseguite una serie di prove cinetiche isoterme. La prima serie è stata condotta a 20°C applicando le seguenti condizioni operative:

- pH = 8.3;
- $\text{NH}_4\text{-N}$ iniziale = 40 mg/L;
- Temperatura = 20
- Tempo di contatto= 30', 60', 120'.

Il valore di FA all'inizio della prova di ossidazione (FAo) risultante è stato di circa 2.5 mgNH₄-N/L per tutte le prove. In Tabella 4.48 si riportano i risultati ottenuti:

Tabella 4.48 Risultati prove isoterme a 20°C e FA = 2.5 mgNH₄-N/L.

		11/02/2016		
Tempo di contatto	minuti	30	60	120
FAo	mgNH ₄ -N/L	2.540	2.413	2.373
kn (NO _x -N)	kgNO _x -N/kgVSS/d	0.038	0.061	0.013
kn (NO ₂ -N)	kgNO ₂ -N/kgVSS/d	0.000	0.005	0.001
%NO ₂ -N/NO _x -N	%	0.7	7.6	4.2

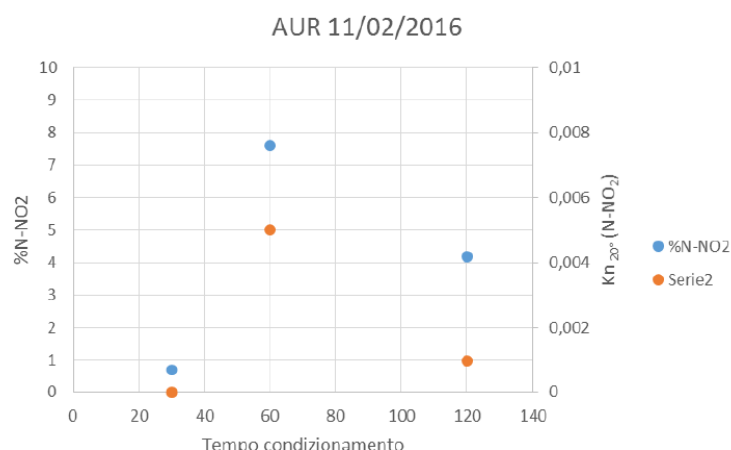


Figura 4.46 Andamento delle kn e % di nitriti prodotti ai diversi tempi di contatto.

Si osserva una risposta analoga tra il nitrito formato e la sua velocità di formazione in funzione del tempo precedente alla fase di aerazione. Sembrerebbe che con questo livello di *Free Ammonia*, il tempo in cui la biomassa è condizionata abbia un effetto critico, cioè fino ad un certo tempo (tempo critico) il suo incremento porta al miglioramento della nitrificazione in termini di nitrito formato e di cinetica, dopo il suo superamento l'effetto è opposto.

Il confronto tra questo risultato e quello che si era ottenuto dai test precedenti, eseguiti a 20°C e variando il tempo di contatto, sembra confermare entrambi i risultati delle due prove, infatti in questo caso osserviamo sia una fase crescente sia quella decrescente, anche se le due esperienze sono riferite a fanghi biologici sottoposti a condizionamenti che portavano a FA differenti (5.5 contro 2.5 mgNH₄-N/L). Questo fatto ha portato a riprodurre le prove con un valore di FA intermedio (4.5 mgNH₄-N/L) per i tempi di 30' e 60', in modo tale da vedere se i risultati fossero confrontabili. Di seguito vengono riportati i valori assunti dai fattori d'interesse durante il condizionamento:

- pH = 8.5;
- NH₄-N iniziale = 40 mg/L;
- Temperatura = 20°C;
- Tempo di contatto = 30', 60'.

Tabella 4.49 Risultati prove isoterme a 20°C e FA = 4.5 mgNH₄-N/L.

		16/02/2016	
Tempo di contatto	minuti	30	60
FAo	mgNH ₄ -N/L	4.762	4.044
kn (NO _x -N)	kgNO _x -N/kgVSS/d	0.166	0.152
kn (NO ₂ -N)	kgNO ₂ -N/kgVSS/d	0.012	0.006
%NO ₂ -N/NO _x -N	%	6.9	6.3

Si osserva subito che per problemi relativi alle tecniche di laboratorio non si è riusciti ad aggiungere l'ammonio cloruro in maniera corretta e quindi l'FAo di condizionamento per la prova con 30' di tempo di contatto è stato di 4.1mgNH₄-N/L. Questa volta si è ottenuto che la frazione del nitrito non varia col tempo di condizionamento ma la cinetica dimezza quando il condizionamento passa da 30'a 60'.

Si è voluto verificare che quello che succedeva a 20°C accade anche ad altre temperature. Sono state effettuate prove cinetiche alla temperatura di 30°C, applicando i seguenti condizionamenti:

- pH = 8.0, 8.2, 8.4;
- NH₄-N iniziale = 50 mg/L;
- Temperatura = 30°C;

- Tempo di contatto= 30', 60', 120'.

Tabella 4.50 Risultati prove isoterme a 30°C.

		18/02/2016		
Tempo di contatto	minuti	30	60	120
pH		8.0	8.4	8.2
FAo	mgNH ₄ -N/L	4.371	9.257	6.674
kn (NO _x -N)	kgNO _x -N/kgVSS/d	0.084	0.083	0.080
kn (NO ₂ -N)	kgNO ₂ -N/kgVSS/d	0.006	0.011	0.009
%NO ₂ -N/NO _x -N	%	12.0	17.4	15.0

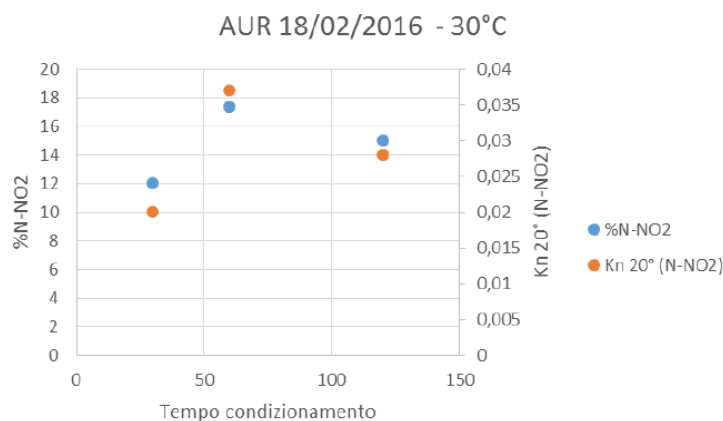


Figura 4.47 Andamento delle kn e % di nitriti prodotti.

Si osserva che l'andamento ancora una volta presenta un massimo al tempo di contatto di 60', l'altra constatazione importante è che le variabili dipendenti osservate cioè la frazione del nitrito e la cinetica del nitrito si sono determinate da una legge simile in quanto l'andamento è sovrapponibile. È da notare che mentre a 20°C ciò succedeva per un livello di FA costante di circa 2.5 mgNH₄-N/L, nell'ultima esperienza fatta a 30°C, il massimo del nitrito prodotto corrisponde alla prova che oltre ad avere un condizionamento di 60', aveva un livello di FA maggiore delle altre prove batch, come si evince dalla Tabella 4.50.

Ancora una volta si è voluto verificare che quello che succedeva a 20°C e a 30°C accade anche ad altre temperature. Sono state effettuate prove cinetiche alla temperatura di 10°C, applicando i seguenti condizionamenti:

- pH = 8.5, 8.65;
- NH₄-N iniziale = 60 e 70 mg/L;
- Temperatura = 10°C
- Tempo di contatto= 30', 90', 130'.

Il pH delle prove e la concentrazione dell'azoto ammoniacale ad inizio prova sono stati calcolati per avere valori di FA simili a quelli delle prove precedenti e quindi confrontabili.

Tabella 4.51 Risultati prove isoterme a 10°C.

		19/02/2016		
Tempo di contatto	minuti	30	90	130
pH		8.5	8.65	8.65
NH ₄ -N iniziale	mgNH ₄ -N/L	60	70	70
FAo	mgNH ₄ -N/L	3.018	4.990	4.944
kn (NO _x -N)	kgNO _x -N/kgVSS/d	0.173	0.173	0.163
kn (NO ₂ -N)	kgNO ₂ -N/kgVSS/d	0.010	0.012	0.011
%NO ₂ -N/NO _x -N	%	18.6	20.6	16.3

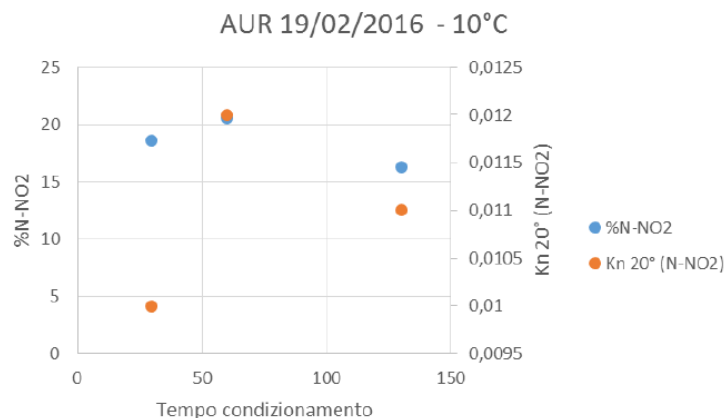


Figura 4.48 Andamento delle kn e % di nitriti prodotti.

Ancora una volta l'andamento delle variabili dipendenti osservate presenta il massimo per la durata intermedia di condizionamento che questa volta risulta essere di 90'. Diversamente dalle due precedenti prove isoterme questa volta la frazione del nitrito risulta essere molto appiattita e quindi meno sensibile al tempo di condizionamento di quanto non lo sia la cinetica.

Molti autori ipotizzano che la nitritazione possa essere raggiunta applicando alte concentrazioni di ammoniaca prescindendo dal valore dell'FA ma le esperienze fino a questo punto non hanno dato una risposta univoca alla comprensione dei meccanismi di condizionamento dei vari attori interessati.

Dalle esperienze effettuate alle temperature di 10°C, 20°C, 30°C si è notato che non esiste un effetto inibente della temperatura (almeno nel campo delle temperature delle acque reflue, quindi tra 10 e 30°C) nei confronti della nitritazione, almeno nella realtà batch, in quanto la rimozione dell'ammoniaca via nitrito avviene per tutte le temperature testate.

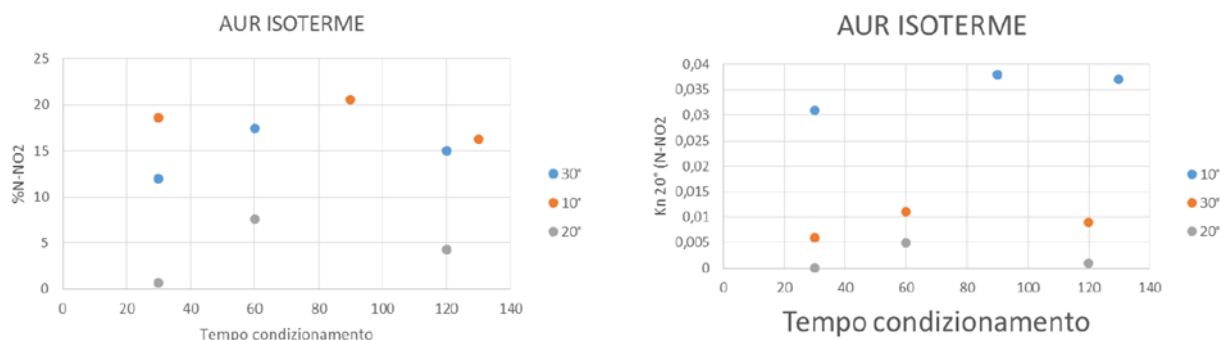


Figura 4.49 Confronto tra le prove cinetiche isoterme effettuate.

Le prove svolte a 10°C riportano la frazione di nitrito maggiore per tutti i tempi di condizionamento contrariamente a quello riportato nella letteratura e a quello ipotizzato nel corso degli startup precedenti della piattaforma.

Il tempo di condizionamento sembra avere una certa influenza sul fenomeno di tipo non strettamente monotono ossia, l'impressione è che fino a una certa quantità incrementi la selezione della specie AOB, successivamente il suo incremento sembra non portare miglioramenti aggiuntivi o addirittura generare un effetto negativo. La dipendenza dal fattore FA è mostrata nella Figura 4.50 sottostante in cui si può riconoscere un andamento crescente della produzione di nitriti con un asintoto orizzontale intorno a un valore compreso tra il 15 e il 20%. Se si sposta l'attenzione sul parametro cinetico è interessante notare che quando si considera la costante normalizzata a 20°C, la risposta della stessa nei confronti della concentrazione dell'FA è confusa e difficile da interpretare, la difficoltà è imputabile principalmente ai tre valori riscontrati nelle prove svolte a 10°C in cui la normalizzazione ha restituito valori circa tre volte superiori agli altri.

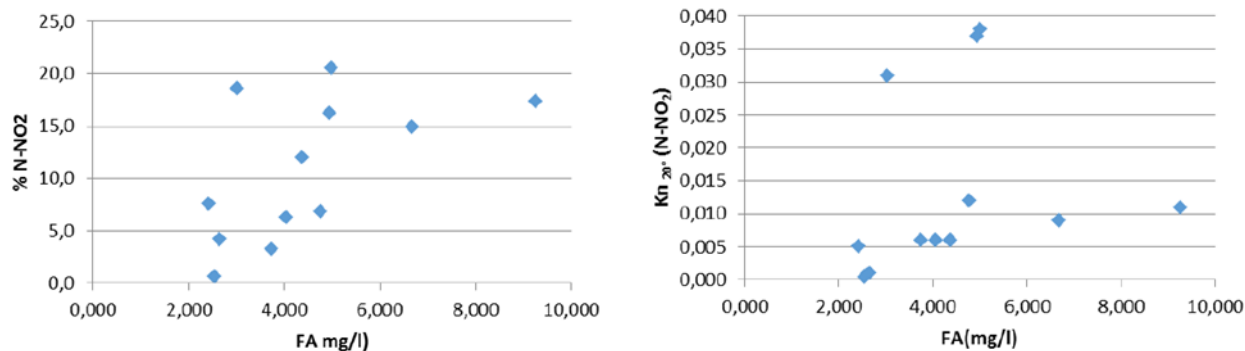


Figura 4.50 Confronto tra le prove cinetiche isoterme effettuate.

Quando, invece, si registrano le costanti riferite alle temperature di prova, l'andamento è di più facile lettura come mostrato in Figura 4.51. Infatti sembra che la costante di nitrificazione vari in maniera proporzionale con l'FA, si osserva dal grafico come a valori di FA circa 2 mgNH₄-N/L la costante è circa nulla, per valori maggiori l'incremento sembra essere di tipo rettilineo. Una motivazione risiede nella risposta crescente dell'FA con la temperatura per cui analizzando le costanti cinetiche non normalizzate è inevitabile che esse crescano con la temperatura e quindi con l'FA (a 30°C infatti l'FA presenta valore doppio che a 20°C fissate le altre condizioni). Si riporta nuovamente il grafico sopra distinguendo le temperature di prova:

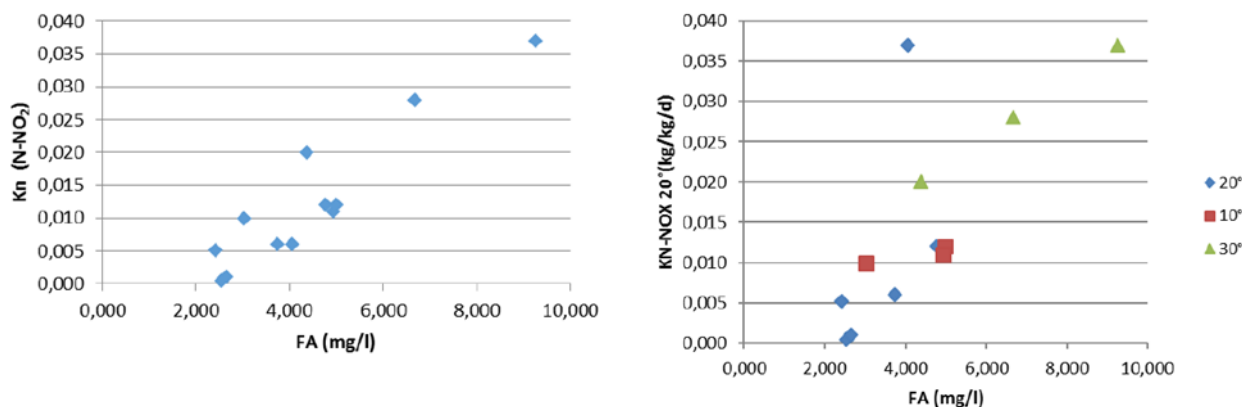


Figura 4.51 Confronto tra le prove cinetiche isoterme effettuate.

Un interessante aspetto del fenomeno è stato riscontrato nel riportare la % del nitrito prodotta in funzione di un parametro finora mai menzionato dato dal prodotto della concentrazione dell'FA iniziale per il tempo in cui la biomassa è stata esposta a quel livello di FA, il parametro viene indicato come FA*tmix ed ha come unità di misura (min·mgNH₄-N/L). L'idea è nata dalle costatazioni fatte sopra, in quanto i due fattori di questa grandezza erano i maggiori responsabili dell'efficacia del processo di nitrificazione. L'impressione è stata quella per cui il prodotto delle grandezze generasse uno stesso effetto prescindendo dal valore assunto dai due fattori, quindi un basso livello di FA non inibisce la frazione NOB, ma se la biomassa trascorre un elevato tempo esposta a questa concentrazione, l'elevata esposizione compensa il basso livello di FA, o anche, se l'FA è elevato allora basterà poco tempo di contatto a questo livello inibente per inibire la frazione NOB. In Figura 4.52 si riporta un grafico con in ascissa questo nuovo parametro FA*tmix e in ordinata la %NO₂-N.

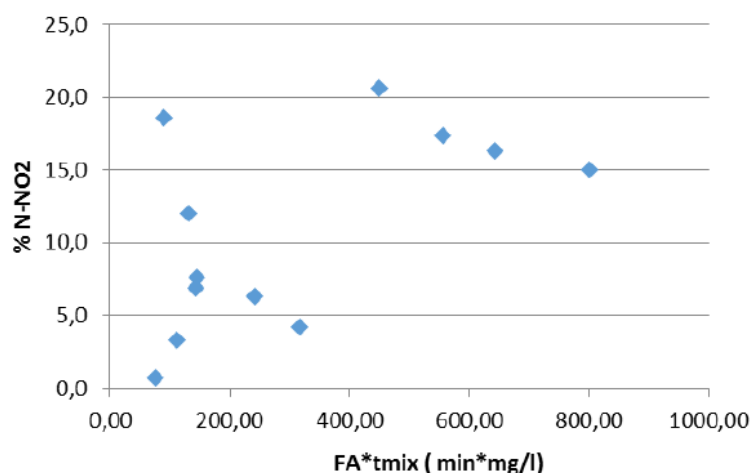


Figura 4.52 Andamento della %NO₂-N in funzione del parametro FA*tmix.

Si osserva un andamento crescente per valori di FA*tmix compresi tra lo zero e un valore tra i 200 e i 400 min·mgNH₄-N/L, successivamente si assiste ad un assestamento delle percentuali intorno al 20%. La sperimentazione è proseguita cercando di verificare attraverso altre prove batch la correttezza dell'ipotesi sopra riportata. In particolare si è deciso di indagare per comprendere se l'andamento osservato in Figura 4.52 si adatti bene anche ad elevati valori di FA*tmix e se la successione di due prove AUR con un certo livello di inibizione a temperatura fissata possa incrementare la selezione della specie AOB.

Prove per la comprensione del fattore FA*tmix

Si è proceduto attraverso una serie di test di ossidazione preceduti da una fase di condizionamento senza ossigeno ad un livello di FA costante di circa 3 mgNH₄-N/L; le diverse prove sono state realizzate variando il tempo di condizionamento a parità di tutti gli altri fattori. Si riportano le condizioni operative delle prove:

- pH = 8.2;
- NH₄-N iniziale = 50 mg/L;
- Temperatura = 20°C;
- Tempo di contatto= 90', 260', 400', 500'.

Si osserva dalla Tabella 4.52 che sia la cinetica sia la percentuale del nitrito riscontrati nelle quattro prove non presentano grosse variazioni col nuovo parametro indagato. Una possibile spiegazione coerente con quanto sopra potrebbe risiedere nella possibilità che i quattro risultati ottenuti siano punti dell'asintoto della curva (Figura 4.52).

Tabella 4.52 Risultati prove a elevato FA*tmix.

Tempo di contatto	minuti	90	260	400	500
FAo	mgNH ₄ -N/L	3.004	3.020	2.961	3.175
FA*tmix	min·mgNH ₄ -N/L	270	786	1189	1587
kn (NO _x -N)	kgNO _x -N/kgVSS/d	0.175	0.181	0.180	0.176
kn (NO ₂ -N)	kgNO ₂ -N/kgVSS/d	0.034	0.035	0.033	0.029
%NO ₂ -N/NO _x -N	%	19.6	19.6	19.1	17.4

Per completezza si riporta la curva aggiornata con gli ultimi risultati evidenziando come si conferma l'andamento di crescita con asintoto orizzontale ipotizzato in precedenza.

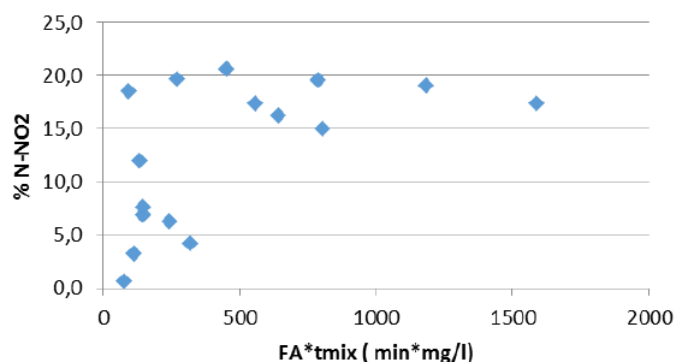


Figura 4.53 Andamento aggiornato della %NO₂-N in funzione del parametro FA*tmix.

Si è voluto accertare che l'influenza della temperatura sia davvero già contemplata dal parametro FA e che non abbia effetti diversi a quelli che descrive il parametro FA*tmix, quindi si è deciso di effettuare a diversa temperatura (10, 20 e 30°C) delle prove a diversi tempi di condizionamento per verificare che l'andamento sopra descritto sia rispettato. A tale scopo si sono svolte le seguenti prove di cui si riportano le condizioni operative in Tabella 4.53.

Tabella 4.53 Condizioni testate e risultati prove a elevato FA*tmix.

Tempo di contatto	minuti	330	500	380	400
Temperatura	°C	30	10	10	20
NH4-N iniziale	mgNH ₄ -N/L	50	70	70	40
pH		8.1	8.35	8.5	7.8
FAo	mgNH ₄ -N/L	4.989	2.431	3.751	1.138
FA*tmix	min·mgNH ₄ -N/L	1646	1215	1425	455
kn (NO_x-N)	kgNO _x -N/kgVSS/d	0.074	0.179	0.182	0.193
kn (NO₂-N)	kgNO ₂ -N/kgVSS/d	0.020	0.012	0.030	0.020
%NO₂-N/NO_x-N	%	15.6	10.4	14.9	13.0

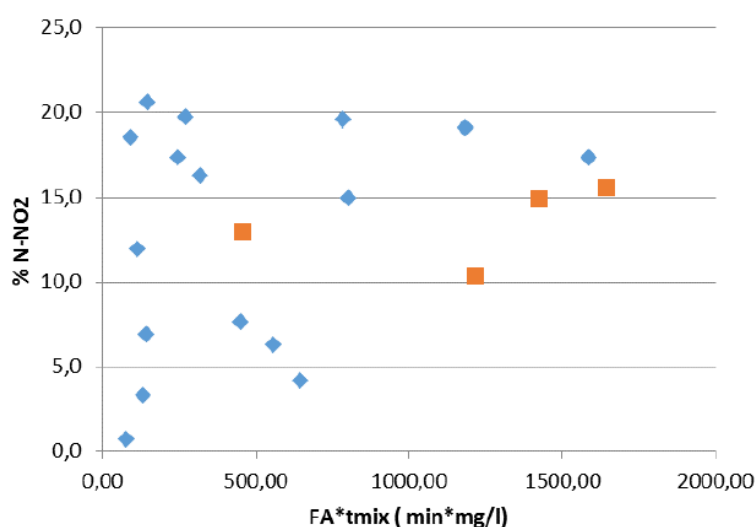


Figura 4.54 Andamento aggiornato della %NO₂-N in funzione del parametro FA*tmix.

In Figura 4.54 sono diagrammati gli andamenti di tutte le prove fin d'ora esposte, evidenziando gli ultimi quattro risultati. I tre valori fuori trend sono riferiti alla stessa giornata di prove e quindi associati a uno stesso prelievo di fango che poteva essere interessato da particolari condizioni sfavorevoli di impianto, il che potrebbe giustificare il loro posizionamento anomalo nel diagramma. Si denota che, seppur con una certa dispersione, per valori di FA*tmix maggiori di 400 min*mgNH₄-N/L i valori di nitriti prodotti si assestano intorno al 15-20%.

Il proseguimento del lavoro in laboratorio è stato dedicato alla verifica che diverse combinazioni di FA e di tempo di mescolamento il cui prodotto sia di 400 min*mgNH₄-N/L siano responsabili di uno stesso condizionamento della biomassa. Sono state svolte prove isoterme a 20°C, con le seguenti condizioni operative:

Tabella 4.54 Condizioni testate e risultati prove a 20°C e FA*tmix = 400 min*mgNH₄-N/L.

Tempo di contatto	minuti	55	98	190
NH4-N iniziale	mgNH ₄ -N/L	65	40	40
pH		8.5	8.4	8.2
FAo	mgNH ₄ -N/L	7.550	3.993	2.374
FA*tmix	min·mgNH ₄ -N/L	415	391	451
kn (NO_x-N)	kgNO _x -N/kgVSS/d	0.182	0.195	0.188
kn (NO₂-N)	kgNO ₂ -N/kgVSS/d	0.049	0.039	0.034
%NO₂-N/NO_x-N	%	25.3	18.8	18.1

Si riportano in Figura 4.55 i risultati in termini di percentuali di nitrito prodotto di tutte le prove cinetiche svolte fino a questo punto evidenziando come si assista alla stabilizzazione della % di nitrito intorno al 20% al valore dell'ascissa di circa 400 min*mgNH₄-N/L.

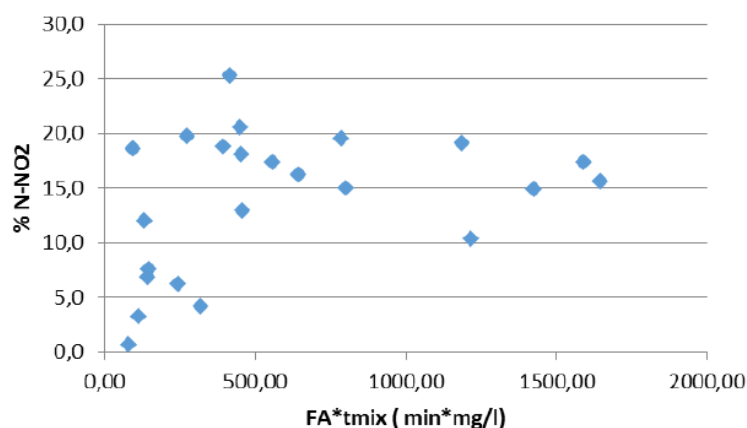


Figura 4.55 Andamento aggiornato della %NO₂-N in funzione del parametro FA*tmix.

Prove con FA costante

Nell'ipotesi che l'effetto sulla nitrificazione, quantificato come frazione del nitrito prodotto sulla totalità degli NO_x, sia correlato al fattore FA*tmix, indipendentemente dal valore assunto dai due fattori che concorrono a determinarlo, si è deciso di terminare questa parentesi sperimentazione verificando che anche l'FA generi un livello di inibizione indipendentemente da come esso venga raggiunto. Si è scelto di effettuare dei test fissando il tempo di condizionamento a 90' e la temperatura di esecuzione controllata a 20°C. Si sono effettuate prove ai diversi valori di FA (1, 2.1 e 4 mgNH₄-N/L) applicando per ogni livello di FA dei valori di concentrazione di azoto ammoniacale costanti per ogni prova (15, 40 e 80 mgNH₄-N/L); avendo fissato la temperatura di conseguenza i valori di pH sono stati determinati in modo da operare alla concentrazione di FA desiderata. In Tabella 4.55 sono riassunte le condizioni operative imposte durante le diverse condizioni testate e i relativi risultati ottenuti sia in termini di velocità cinetiche di nitrificazione e nitrificazione sia in termini di percentuali di nitriti prodotti durante lo svolgimento delle prove.

Tabella 4.55 Condizioni testate e risultati prove a FA costante.

Concizioni testate e risultati prove di FA ossidate.

FA = 1 mgNH ₄ -N/L				
NH ₄ -N iniziale	mgNH ₄ -N/L	15	40	80
pH		8.3	7.8	7.5
FAo	mgNH ₄ -N/L	1.278	1.238	1.195
FA*tmix	min-mgNH ₄ -N/L	144	111	107
kn (NO _x -N)	kgNO _x -N/kgVSS/d	0.148	0.186	0.144
kn (NO ₂ -N)	kgNO ₂ -N/kgVSS/d	0.000	0.029	0.024
%NO ₂ -N/NO _x -N	%	0.0	16.2	17.2
FA = 2.1 mgNH ₄ -N/L				
NH ₄ -N iniziale	mgNH ₄ -N/L	15	40	80
pH		8.6	8.2	7.5
FAo	mgNH ₄ -N/L	2.017	2.650	1.851
FA*tmix	min-mgNH ₄ -N/L	181	238	166
kn (NO _x -N)	kgNO _x -N/kgVSS/d	0.102	0.166	0.212
kn (NO ₂ -N)	kgNO ₂ -N/kgVSS/d	0.000	0.038	0.040
%NO ₂ -N/NO _x -N	%	0.0	21.3	18.1
FA = 4 mgNH ₄ -N/L				
NH ₄ -N iniziale	mgNH ₄ -N/L	15		80
pH		8.95		8.12
FAo	mgNH ₄ -N/L	3.454		3.796
FA*tmix	min-mgNH ₄ -N/L	310		341
kn (NO _x -N)	kgNO _x -N/kgVSS/d	0.147		0.166
kn (NO ₂ -N)	kgNO ₂ -N/kgVSS/d	0.000		0.033
%NO ₂ -N/NO _x -N	%	0.0		19.0

L'insieme delle prove eseguite in quest'ultima parte danno risultati concordanti. Per ogni valore di FA testato, si riscontra un effetto preferenziale da parte della nitrificazione nei confronti dell'ammoniaca, in quanto, in tutti i condizionamenti di inibizione applicati, le prove eseguite con la minore concentrazione ammoniacale (15 mgNH₄-N/L) restituiscono una frazione di nitrito prodotta nulla.

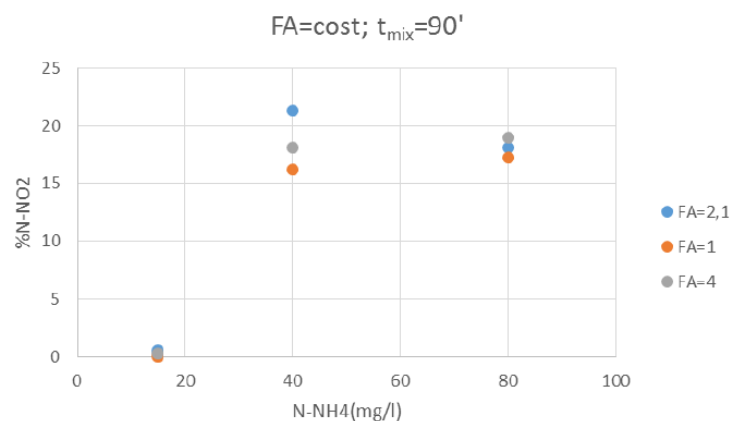


Figura 4.56 Andamento della %NO₂-N nelle prove a FA costante.

Se ne deduce che una volta fissata la concentrazione dell'FA alla quale si decide di lavorare, nonché il valore dell'FA*tmix, l'inibizione degli NOB non dipende da altri fattori contemplati nella sperimentazione, ad eccezione della concentrazione del substrato ammoniacale che, come mostrato in Figura 4.56 mostra un effetto importante nell'efficienza della nitrificazione; per il valore di 15 mgNH₄-N/L le prove allestite con i tre valori testati di FA non riescono a inibire la frazione degli NOB.

Inoltre bisogna notare come il risultato a cui si è pervenuti non è in contraddizione con ciò che si era osservato in precedenza, tant'è che le tre prove che in Figura 4.56 mostrano nitrificazione nulla, sono associate a valori di FA*tmix minori di 400 min·mgNH₄-N/L e quindi ad una condizione inibente minore della soglia critica per cui la nitrificazione risultava favorita.

Sintesi dei risultati sullo studio dell'effetto dell'FA

La sperimentazione è stata rivolta alla ricerca di condizioni ottimali di inibizione della frazione autotrofica degli NOB tramite una serie di prove batch composte da una fase di condizionamento anossico del fango e da una seconda fase di aerazione dove la biomassa autotrofica ossidava il substrato ammoniacale presente. I fattori indagati sono stati:

- La concentrazione dell'FA in tutte le sue componenti all'interno del fango attivo durante la fase di condizionamento;
- Il tempo in cui questo livello di FA si applica alla biomassa e quindi il tempo di condizionamento.

Successivamente l'evolversi della sperimentazione ha suggerito l'introduzione di un parametro che considerasse entrambi i fattori indagati tramite un semplice prodotto, il parametro FA*tmix(min·mgNH₄-N/L). Nel grafico di Figura 4.57 si riporta la totalità delle prove eseguite, mostrando per ognuna la frazione di nitrito prodotta alla fine della fase di ossidazione.

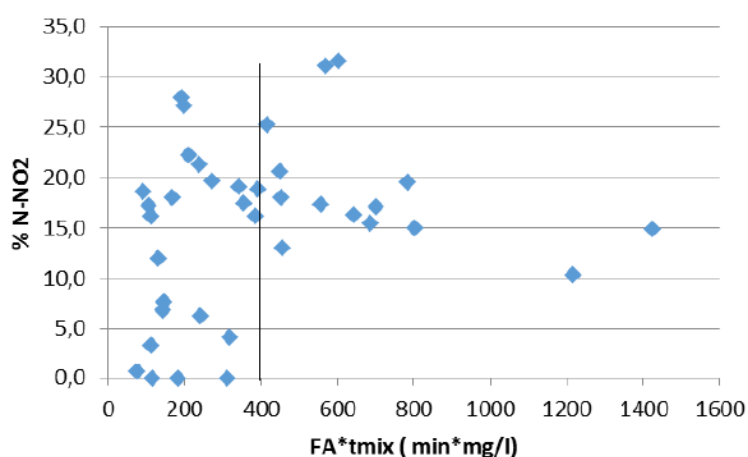


Figura 4.57 Riassunto della %NO₂-N prodotti nelle prove preliminari alla Configurazione 3.

La soglia individuata dei 400 min·mgNH₄-N/L si conferma essere un discriminante valido nei confronti dell'entità della nitrificazione indipendentemente dal valore assunto dalle variabili che concorrono a definire l'FA. Più precisamente si è osservato come l'ammoniacca sviluppa cineticamente alcune biomasse, in particolare una frazione degli AOB, maggiormente di altre.

In accordo con la letteratura lo studio ha confermato il ruolo decisivo dell'FA sul successo del processo. È emerso come la temperatura non abbia un effetto inibente che non sia già incluso nella definizione dell'FA, quindi uno stesso livello di

inibizione (compreso tra il 20 e il 30 %) della biomassa autotrofa NOB può essere raggiunto a tutte le temperature testate nella sperimentazione (10÷30°C). L'effetto del pH sul processo assume la stessa connotazione della temperatura, quindi, almeno nel range in cui si è eseguita la sperimentazione ossia: 7.53 ÷ 8.96, è possibile riprodurre lo stesso effetto inibente. L'ammoniaca, invece, ha mostrato un effetto diversificato dalle altre due variabili costituenti la *Free Ammonia*, infatti per basse concentrazioni di azoto ammoniacale (<15mgNH₄-N/L) il processo di inibizione degli NOB, quindi l'ossidazione dell'ammoniaca via nitrito, non sembra essere incentivata in maniera apprezzabile.

L'osservazione della totalità dei risultati delle prove cinetiche ha condotto all'individuazione di una soglia per cui: per valori di FA*tmix minori di tale soglia la nitrificazione migliora in maniera proporzionale al parametro stesso, per valori maggiori l'efficacia del processo sembra non dipendere più da esso e quindi assestarsi attorno ad un valore asintotico del 20% circa. La soglia individuata dalla sperimentazione è di 400 min·mgNH₄-N/L.

4.3.1.2. Prove per la comprensione dell'effetto dell'ORP, del pH e degli MLSS

La fase di avviamento della nuova configurazione impiantistica è stata accompagnata dall'esecuzione in laboratorio di ulteriori prove batch, con la finalità di individuare di parametri strategici che potessero velocizzare la fase di startup del processo via nitrito. In questo caso l'attenzione è stata focalizzata su aspetti prettamente più gestionali legati all'introduzione del reattore di selezione a seguito degli studi preliminari precedentemente esposti. Di seguito verranno esposti e commentati i risultati ottenuti.

Studio dell'influenza dell'ORP

Essendo l'HRT nominale del reattore di selezione (considerando portata in ingresso e di ricircolo) compreso tra 45' e 90' si sono investigati gli effetti del potenziale di ossido riduzione sulle dinamiche di produzione dei nitriti. Si sono realizzate prove batch, condotte in modo simile alle precedenti, valutando diverse combinazioni di ORP e tempi di contatto.

Le prove sono state effettuate su un volume di 2 litri di fango biologico prelevato dall'impianto principale di Falconara Marittima-Vallechiara. I campioni di fango sono stati inseriti in un apparato di misura costituito da: un reattore in cui è immerso il campione da testare, un agitatore, una sonda di misurazione dell'ORP collegata a una centralina, un compressore d'aria e un sistema di acquisizione dati interfacciato ad un computer. La centralina permette l'impostazione di set points per l'ORP, i quali comandano l'accensione automatica dell'aerazione ogni qual volta l'ORP scende sotto il valore minimo impostato e lo spegnimento quando il valore viene raggiunto. Raggiunta la condizione di ORP da testare si sono aggiunti i diversi reagenti per avere il condizionamento voluto e si sono mantenute tali condizioni costanti per tutto il tempo di contatto, al termine del quale si sono realizzate delle prove AUR della durata di 60' con prelievi ogni 10' mantenendo una concentrazione di DO di 4 mgO₂/L. Si riportano delle tabelle di sintesi delle condizioni investigate e dei risultati ottenuti.

Tabella 4.56 Condizioni applicate durante le prove a ORP condizionato.

n°	Descrizione	Tempo di contatto	Temperatura media prova	ORP medio contatto	NH ₄ -N start AUR	pH medio	FA iniziale	FA finale	ΔFA	DO medio
		min	°C	mV	mg/L		mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
0	condizione ZERO	0	21.6		40	7.26	0.233	0.164	0.069	4.0
1	condizione ZERO 1	0	20.9		28	7.49	0.389	0.173	0.216	4.0
2	ORP +50 mV	60	20.2	50	23	8.62	3.314	1.657	1.657	4.2
3	ORP +50 mV	180	19.9	52	17	8.65	2.445	0.000	2.445	3.9
4	ORP +50 mV	480	20.1	51		8.63				4.0
5	ORP -150 mV	60	20.0	-148	20	8.67	3.308	1.485	1.823	3.9
6	ORP -150 mV	180	20.0	-148	22	8.64	3.411	0.772	2.639	4.1
7	ORP -150 mV	480	19.9	-149	22	8.65	3.449	0.863	2.586	3.9
8	ORP -300 mV	60	20.0	-192	20	8.65	3.220	0.825	2.395	3.5
9	ORP -300 mV	180	20.0	-226	20	8.66	3.180	1.228	1.953	3.7
10	ORP -300 mV	480	20.0	-237	23	8.65	3.395	1.876	1.519	4.0
11	ORP -300 mV non condizionata	60	20.0	-203	26	7.58	0.348	0.141	0.207	3.8
12	ORP -300 mV non condizionata	180	20.1	-135	26	7.59	0.456	0.138	0.318	3.9
13	ORP -300 mV non condizionata	480	20.0	-165	26	7.49	0.292	0.028	0.264	3.7

Da come si può notare in Tabella 4.56 il condizionamento a -300mV sono state operativamente difficili da raggiungere in quanto richiedevano uno stazionamento del fango oltre le 12 ore, ottenendo dei valori reali medi intorno ai -180÷-200 mV, mentre nel caso delle prove a potenziali redox maggiori tale inconveniente non si è verificato.

Tabella 4.57 Prestazioni ottenute dalle prove a ORP condizionato.

n°	Descrizione	kn NO _x -N	kn NO ₂ -N	%NO ₂ -N/NO _x -N	Δ N-NO _x	FA*tmix
		kg/kg/d	kg/kg/d	%	mg/L	min*mg/l
0	condizione ZERO	0.208	0.006	2.7	18.3	0
1	condizione ZERO 1	0.140	0.011	8.2	18.8	0
2	ORP +50 mV	0.174	0.006	3.0	14.8	199
3	ORP +50 mV	0.165	0.009	5.5	15.0	440
4	ORP +50 mV	0.172	0.003	1.3	18.2	1440
5	ORP -150 mV	0.101	0.002	5.6	10.0	198
6	ORP -150 mV	0.134	0.013	9.3	14.8	614
7	ORP -150 mV	0.120	0.005	4.1	13.5	1656
8	ORP -300 mV	0.131	0.018	14.7	13.5	193
9	ORP -300 mV	0.124	0.024	21.3	12.9	572
10	ORP -300 mV	0.126	0.004	3.6	13.0	1629
11	ORP -300 mV non condizionata	0.137	0.006	4.2	17.9	21
12	ORP -300 mV non condizionata	0.136	0.006	4.9	17.8	82
13	ORP -300 mV non condizionata	0.146	0.008	5.1	19.2	140

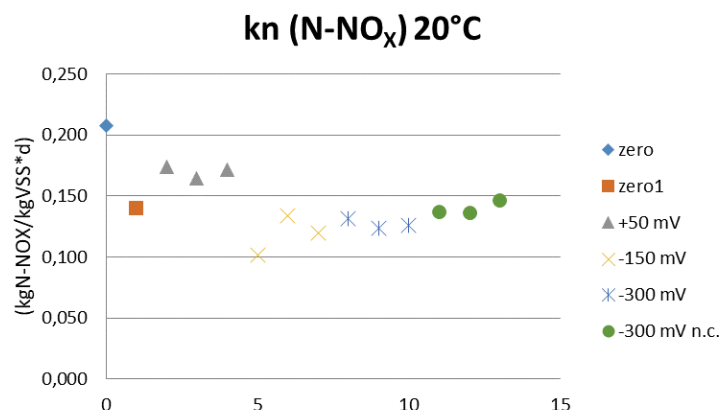


Figura 4.58 Velocità specifiche di produzione di NO_x a 20°C per prove a ORP condizionato.

Dalla Figura 4.58 si nota che, in generale le velocità specifiche di produzione degli NO_x riportate ad una temperatura standard di 20°C sono le stesse per le varie prove (~0.145 kgNO_x-N/kgVSS*d), tranne nel caso della prova zero. Il suo valore infatti (0.208 kgNO_x-N/kgVSS*d) si discosta dal resto delle prove, ma ciò è facilmente spiegabile in quanto, come si nota dalla Tabella 4.56, il valore della concentrazione di ammoniaca all'inizio della AUR risulta, per problemi legati ad una aggiunta di *chemicals* eccessiva, più alta che nelle altre prove. A dimostrazione di ciò si è deciso di ripetere la prova (zero1), riscontrando appunto un valore (0.140 kgNO_x-N/kgVSS*d) in linea con i valori medi riscontrati nelle altre prove. Molto più interessante è il grafico delle velocità specifiche di produzione dei nitriti (Figura 4.59), da cui si vede come, per ogni set di prova, un tempo di contatto di 3 ore risulti ottimale per aumentare le velocità specifiche di produzione dei nitriti. In particolare, nel caso di condizionamento del fango in condizioni anossiche/anoerbiche (-300 mV) per un tempo di contatto di 1 o 3 ore e una concentrazione di FA = 3 mg/L, si registrano delle velocità di molto superiori rispetto al resto delle prove. Inoltre, si identifica come condizione ottimale quella per un tempo di contatto di 3 ore, a -300 mV e FA = 3 mg/L, ottenendo una velocità doppia rispetto alla prova zero1 (rispettivamente 0.024 e 0.011 kgNO₂-N/kgVSS*d). Inoltre, osservando i valori delle velocità della prova -300 mV con quelli della prova -300 mV non condizionata (n.c.) si può capire come l'effetto benefico del condizionamento sia dovuto, non tanto all'ambiente a basso potenziale di ossido-riduzione, ma piuttosto al mantenimento di una FA pari a 3 mgNH₄-N/L.

Il risultato anomalo è rappresentato da ciò che succede ad un tempo di condizionamento di 8 ore: confrontando le kn (NO₂-N) con le kn (NO_x-N), sembra che l'effetto di inibizione sugli NOB scompaia e compaia invece sugli AOB, in quanto la kn (NO_x-N) rimane la stessa mentre la kn (NO₂-N) diminuisce sensibilmente.

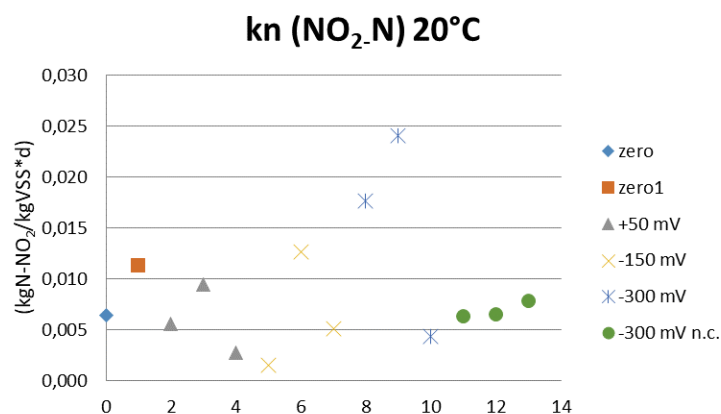


Figura 4.59 Velocità specifiche di produzione di NO₂ a 20°C per prove a ORP condizionato.

La Figura 4.60, raffigurante la proporzione tra nitriti e nitrati prodotti, rispecchia a pieno quanto già detto per le velocità specifiche di produzione dei nitriti: per ogni set di prova, un tempo di contatto di 3 ore risulta ottimale per la produzione dei nitriti e quindi per l'inibizione degli NOB, a favore quindi di un trattamento dell'azoto via nitrito. Tale condizionamento della durata di 3 ore, diventa ideale se si mantiene il fango ad una concentrazione di ammoniaca libera di 3 mgNH₄-N/L. In questo caso si ottengono delle percentuali di NO₂-N/NO_x-N pari a ~21%.

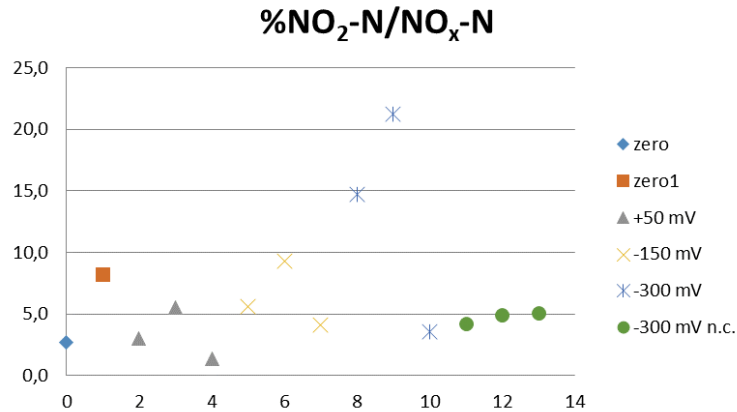


Figura 4.60 Andamento delle %NO₂-N/NO_x-N per prove a ORP condizionato.

In conclusione, se il mixed liquor viene sottoposto ad un pre-condizionamento con tempo di contatto di 3 ore, FA= 3 mgNH₄-N/L in ambiente anossico/anaerobico (-300 mV), si attuerà un'inibizione significativa degli NOB e un aumento della velocità degli AOB. Da come si può verificare dalla Figura 4.61, tempi superiori risultano invece controproducenti, si può riconoscere un valore ottimale di FA*tmix di ~600 min*mg/L per avere delle % di NO₂-N/NO_x-N ≥ 20 %.

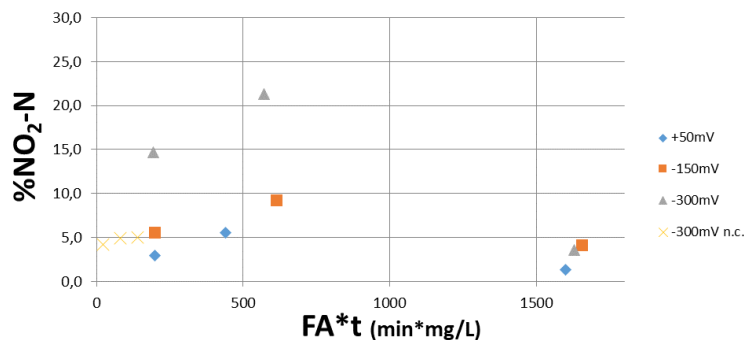


Figura 4.61 Andamento delle %NO₂-N/NO_x-N in funzione del parametro FA*tmix per prove a ORP condizionato.

Studio dell'influenza del pH

Le prove sono condotte con tempo di contatto pari a 3 ore poiché valutato come ottimale in seguito ai risultati riportati in precedenza. In questo caso si è voluto valutare se vi fosse un effetto di inibizione sulle specie batteriche per valori limite di pH. Sulla base delle condizioni di prova imposte in Tabella 4.58, si riportano i risultati ottenuti dall'esecuzione delle stesse.

Tabella 4.58 Condizioni applicate durante le prove a pH condizionato.

n°	Descrizione	Tempo di contatto	Temperatura media prova	NH ₄ -N start AUR	pH medio	FA iniziale	FA finale	ΔFA	DO medio
		min	°C	mg/L		mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
0	condizione ZERO	0	12.9	14	7.4	0.046	0.051	-0.005	4.5
1	pH 8.1	180	16.9	30	8.1	1.422	0.717	0.706	4.2
2	pH 8.4	180	16.9	27	8.5	1.711	1.456	0.255	4.3
3	pH 8.8	180	17.1	29	8.8	4.598	2.897	1.700	4.2

Tabella 4.59 Prestazioni ottenute dalle prove di condizionamento del pH.

n°	Descrizione	kn (NO _x -N)	kn (NO ₂ -N)	%NO ₂ -N/NO _x -N	ΔNO _x -N	FA*tmix
		kg/kg/d	kg/kg/d	%	mg/L	min*mg/L
0	condizione ZERO	0.122	0.005	3.8	11.2	0
1	pH 8.1	0.152	0.024	15.9	15.3	256
2	pH 8.4	0.148	0.026	17.7	14.8	308
3	pH 8.8	0.141	0.031	22.0	14.2	828

Come si può notare in Tabella 4.59, la cinetica non condizionata (zero) presenta un valore della concentrazione ammoniacale basso rispetto alle altre e pari a circa 14 mgNH₄-N/L, questo poiché non si è provveduto ad aggiungere NH₄Cl. Tale valore risulta limitante in termini di substrato disponibile per la biomassa e ha comportato un valore più basso della velocità di nitrificazione.

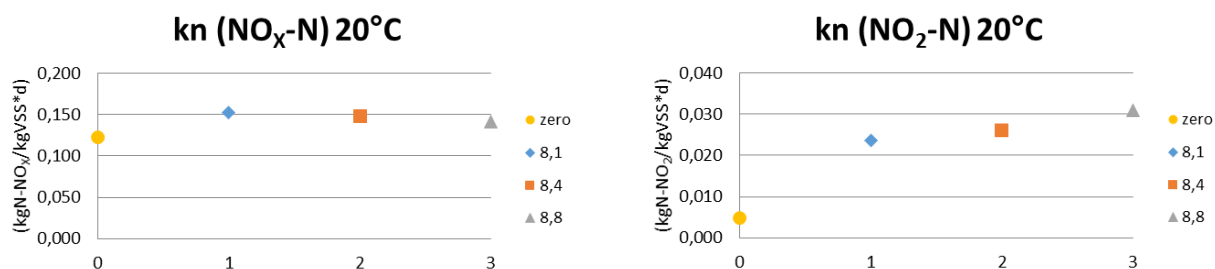


Figura 4.62 Velocità specifiche di produzione di NO_x e NO₂ a 20°C per prove a pH condizionato.

Le kn(NO_x-N), mostrate in Figura 4.62, sono le medesime per tutte le prove (~0.150 kgNO_x-N/kgVSS*d) tranne nel caso della prova zero che presenta un valore di poco inferiore (0.122 kgNO₂-N/kgVSS*d), per il motivo spiegato in precedenza. Al contrario, il trend generale delle velocità di nitrificazione è direttamente proporzionale al valore di pH. Per la prova condizionata a pH 8.8 si ottiene un valore di velocità 6-volte maggiore rispetto a quello della prova non condizionata (rispettivamente 0.031 e 0.005 kgNO₂-N/kgVSS*d).

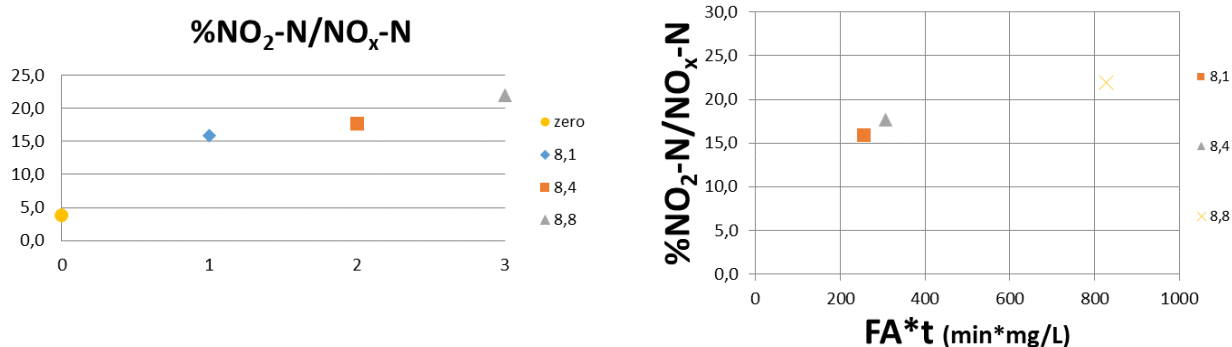


Figura 4.63 Andamento delle %NO₂-N/NO_x-N in funzione delle prove e del parametro FA*tmix.

Il grafico delle % di nitriti prodotti rispecchia l'andamento delle velocità di produzione di nitriti (Figura 4.63); entrambi gli andamenti indicano che, operando ad alti valori di pH, le velocità di nitrificazione aumentano e che quindi l'attività della popolazione batterica degli NOB inizia ad essere inibita. L'effetto del tempo di condizionamento ad un certo valore di FA individua un intervallo di lavoro FA*tmix simile a quanto già visto per le prove batch sull'ORP: ~800 min*mg/L per % di NO₂-N/NO_x-N ≥ 20%.

Effetto della concentrazione dei Mixed Liquor Suspended Solids

Le prove qui descritte sono state mirate alla valutazione di quale fossero gli effetti della combinazione tra concentrazione del mixed liquor, FA e concentrazione ammoniacale sulla determinazione della speciazione della popolazione batterica

Tabella 4.60 Condizioni applicate durante le prove a diversi MLSS.

n°	Descrizione	Tempo di contatto min	Temperatura media prova °C	N-NH ₄ start AUR mg/L	pH medio	FA iniziale mg/L	FA finale mg/L	ΔFA mg/L	DO medio mg/L	MLSS mg/L
0	Fango tq, FA 3	180	21	26	8.4	2.093	0.497	1.596	3.8	3982
1	Fango diluito, FA 3	180	21	29	8.4	3.431	1.700	1.731	4.3	1321
2	Fango tq, FA 3	180	20	15	8.8	2.823	0.924	1.898	3.8	3982
3	Fango diluito, FA 3	180	20	16	8.8	3.230	3.074	0.156	4.0	1321
4	Fango tq, FA 1	180	20	11	8.2	0.753	0.324	0.430	3.9	3982

5	Fango diluito, FA 1	180	21	11	8.2	0.695	0.558	0.137	4.3	1321
---	------------------------	-----	----	----	-----	-------	-------	-------	-----	------

Tabella 4.61 Prestazioni ottenute dalle prove a diversi MLSS.

n°	Descrizione	kn (NO _x -N) kg N-NO _x / kg VSS d	kn (NO ₂ -N) kg N-NO ₂ / kg VSS d	%NO ₂ -N/NO _x -N %	ΔNO _x -N mg/L	FA*tmix min*mg/L
0	Fango tq, FA 3	0.198	0.036	16.6	27.4	377
1	Fango diluito, FA 3	0.252	0.065	27.7	11.8	618
2	Fango tq, FA 3	0.102	0.014	12.3	14.4	508
3	Fango diluito, FA 3	0.122	0.029	22.6	5.7	581
4	Fango tq, FA 1	0.097	0.006	5.9	13.2	136
5	Fango diluito, FA 1	0.094	0.014	15.4	4.7	125

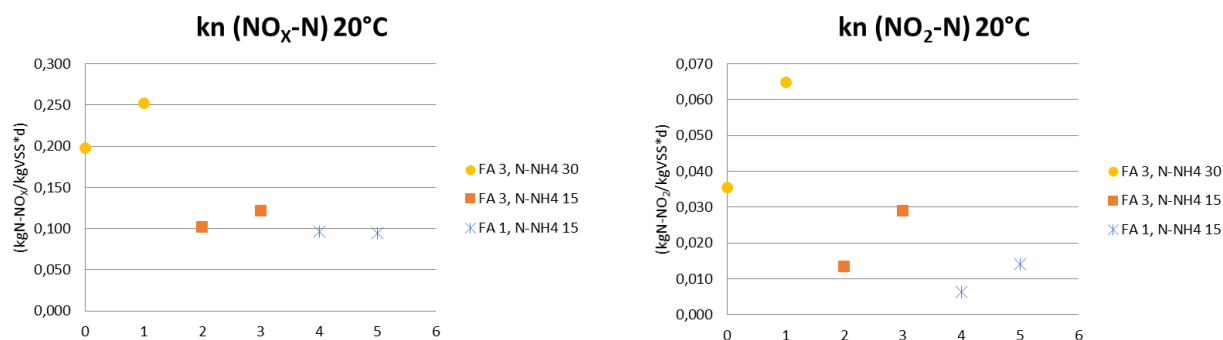


Figura 4.64 Velocità specifiche di produzione di NO_x e NO₂ a 20°C per prove a diversi MLSS.

La Figura 4.64 evidenzia una netta differenza di velocità di nitrificazione tra le prove condotte con una concentrazione ammoniacale di 15 mg/L e quelle condotte a 30 mg/L. Se si paragonano le due coppie a FA= 3 mg/L e condizioni analoghe di concentrazione degli MLSS, si hanno delle velocità doppie nel caso del fango con maggior contenuto di ammoniaca: per la prova a concentrazione diluita si ha 0.252 e 0.122 kgNO_x-N/kgVSS*d, mentre per la prova a concentrazione tale quale si ha 0.198 e 0.102 kgNO_x-N/kgVSS*d. Le velocità doppie sono imputabili esclusivamente alla maggiore abbondanza di substrato fornito, che è infatti doppio.

Per quanto riguarda le velocità di produzione dei nitriti si ha un andamento simile a quanto già visto per le kn (NO_x-N). Si nota come tutti e tre i parametri di condizionamento (FA, MLSS e NH₄) contribuiscono nella determinazione della velocità. In particolare, le condizioni ideali si hanno per un fango diluito sottoposto ad un tempo di condizionamento di 3 ore a concentrazione di FA= 3 mgNH₄-N/L, dove il valore della FA deve essere principalmente dovuto alla concentrazione di ammoniaca e non al pH.

Il trend del rapporto tra nitriti e nitrati totali prodotti risulta, per ognuna delle 3 combinazioni, doppio nel caso di un fango tal quale rispetto al suo corrispettivo diluito, come rappresentato in Figura 4.64.

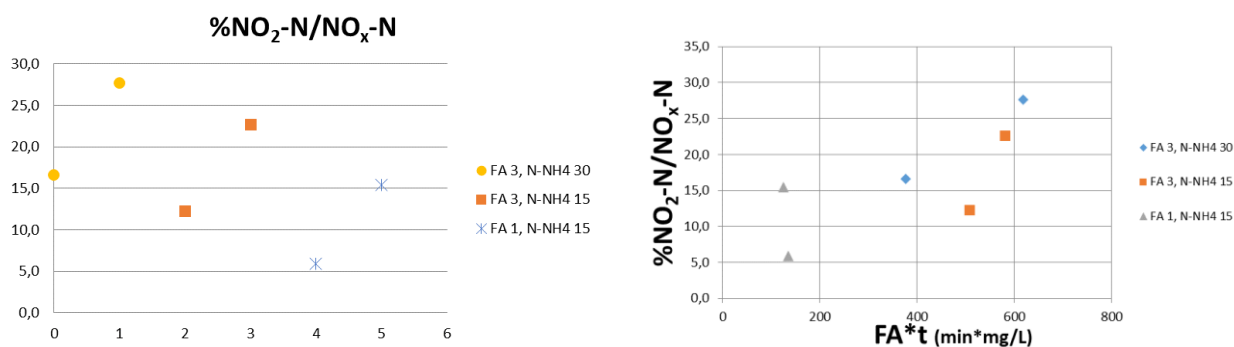


Figura 4.64 Andamento delle %NO₂-N/NO_x-N in funzione delle prove e del parametro FA*tmix.

La figura sottolinea, per ogni set di prova, la presenza di una maggior quantità di nitriti prodotti nei casi di fango diluito. Inoltre, si può notare che, ad un valore maggiore di FA, corrisponde una maggiore inibizione dei batteri nitriti-ossidanti (NOB), specie se questo valore di FA è dovuto in gran parte alla concentrazione ammoniacale. I risultati riscontrati denotano che un condizionamento di un fango a bassa concentrazione di MLSS, con una $FA=3 \text{ mgNH}_4\text{-N/L}$ (dovuta principalmente al contenuto di ammoniaca e non al pH), per un tempo di contatto di 3 ore favorisca l'inibizione degli NOB e contribuisca alla maggiore presenza ed efficacia di batteri AOB. Si individua inoltre un valore di $FA \cdot t_{mix}$ ideale di $\sim 600 \text{ min} \cdot \text{mg/L}$ per il conseguimento di un rapporto $\%NO_2\text{-N}/NO_x\text{-N} \geq 20\%$.

Sintesi dei risultati prove batch

Per una maggior facilità di comprensione su quanto emerso dai risultati di tutte le prove AUR sottoposte a diverse combinazioni di condizionamento, si raccolgono i valori dei grafici delle $\%NO_2\text{-N}/NO_x\text{-N}$ e delle $kn (NO_2\text{-N})$ riferiti entrambi al prodotto $FA \cdot t_{mix}$. Si analizzano dunque quali siano i parametri ideali per la velocizzazione dell'avviamento di un processo di rimozione dell'azoto via nitrito.

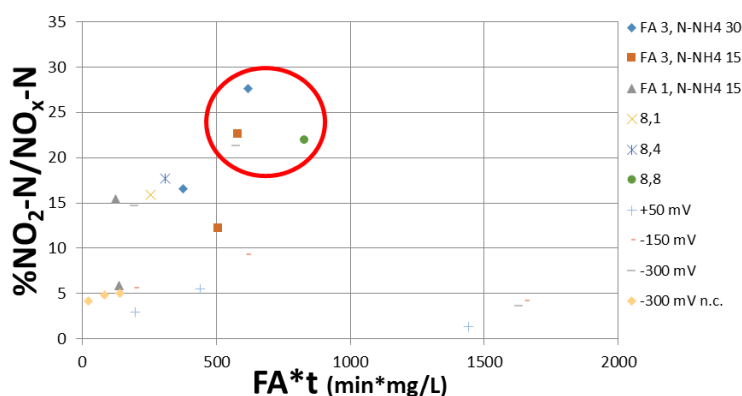


Figura 4.65 Andamento $FA \cdot t_{mix}$ - $\%NO_2\text{-N}/NO_x\text{-N}$ riassuntivo di tutte le prove svolte.

Nell'area cerchiata in rosso della Figura 4.65 sono individuate le migliori prestazioni ottenute durante le prove batch eseguite. Si nota che per ottenere un rapporto $NO_2\text{-N}/NO_x\text{-N} \geq 20\%$ circa, bisogna condizionare il fango ad un valore di $FA \cdot t$ pari a $600 \div 800 \text{ min} \cdot \text{mg/L}$ e in particolare, le prestazioni più alte (pari al 23 e al 28%) sono raggiunte con un fango a bassa concentrazione di solidi sospesi ($MLSS = 1300 \text{ mg/L}$). Il basso valore della concentrazione di MLSS si traduce praticamente in un breve tempo di ritenzione solidi nel processo (bassi valori di SRT).

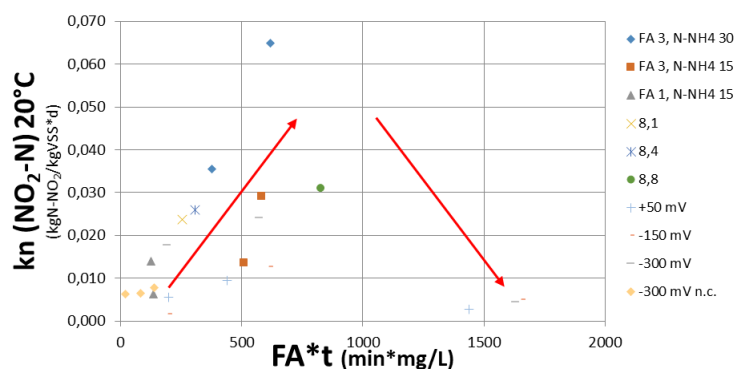


Figura 4.66 Andamento $FA \cdot t_{mix}$ - $kn (NO_2\text{-N})$ riassuntivo di tutte le prove svolte.

Analizzando l'andamento riportato in Figura 4.66 si evidenzia come vi sia un aumento delle velocità di nitrificazione all'aumentare del prodotto $FA \cdot t$, raggiungendo dei valori massimi in corrispondenza dell'intervallo - già individuato - di $600 \div 800 \text{ min} \cdot \text{mg/L}$, per poi diminuire nuovamente. In altre parole, sotto a tale intervallo il fango non risente molto del condizionamento e sopra a tale intervallo vi è un comportamento anomalo con inibizione degli AOB e riattivazione degli NOB. Quanto appena detto rispecchia quanto già visto per le percentuali di nitriti sul totale nitriti più nitrati di Figura 4.65. Si noti inoltre come una bassa concentrazione del mixed liquor faccia incrementare enormemente le velocità di nitrificazione ($0.065 \text{ kgNO}_2\text{-N/kgVSS} \cdot \text{d}$), ma ciò è senza dubbio attribuibile all'alta concentrazione ammoniacale presente che si traduce in abbondanza di substrato per la biomassa (alto rapporto F/M), poiché stessa cosa non accade per la prova diluita a pari FA ma con una concentrazione di ammoniaca di $15 \text{ mgNH}_4\text{-N/L}$.

4.3.2. Up-scale del condizionamento

Le considerazioni venute alla luce dai risultati della fase di sperimentazione preliminare condotta attraverso prove di tipo batch in laboratorio, ha suggerito un cambio di configurazione rispetto ai precedenti layout della piattaforma. La ricaduta dei risultati è stata la progettazione e installazione di un reattore biologico di selezione a volume variabile che riuscisse a simulare le condizioni di lavoro ottimali individuate dagli studi preliminari applicando il condizionamento ad un processo in continuo e non batch. Si tratta di un serbatoio del volume di 1 m³ in polietilene che è stato posto in sopraelevazione rispetto alle altre fasi del processo in modo da avere una piezometrica sufficiente a garantire il funzionamento per gravità delle successive fasi della filiera. Il reattore è stato progettato in modo tale da avere un HRT nominale (rapporto tra il volume della vasca e la somma della portata in ingresso e di ricircolo) compreso tra 45' e 90'. Attraverso una tubazione mobile è stato possibile regolare, variandone l'altezza, il volume di lavoro del serbatoio in base alle diverse esigenze e di conseguenza modificare il tempo di contatto. All'interno del volume di contatto sono state poste, oltre a un mixer per mantenere in agitazione il mixed liquor, le sonde per il monitoraggio in continuo del potenziale di ossidoriduzione (ORP), del pH, e dell'ammoniaca. In questa configurazione non è stato aggiunto ammonio idrossido ma solamente idrossido di sodio. Si è cercato di lavorare ad un valore di FA all'interno del reattore tale per cui si realizzasse la condizione $FA \cdot t_{mix} = FA \cdot HRT_{nominale} \sim 400 \text{ min} \cdot \text{mgNH}_4\text{-N/L}$. A distanza di 120 giorni dalla fase di avviamento della Configurazione 3, sulla base degli ulteriori approfondimenti, si è provveduto all'installazione di una soffiante in vasca di contatto in modo da scongiurare picchi di anerbiosi e mantenere l'ORP a valori stabili nell'intorno di -300 mV. In questa fase il lavoro si è concentrato più sulla parte delle condizioni adatte allo sviluppo e mantenimento di un processo via nitrito e quindi alle cinetiche batteriche specifiche, piuttosto che al raggiungimento di alti valori prestazionali di efficienza di abbattimento e rimozione.

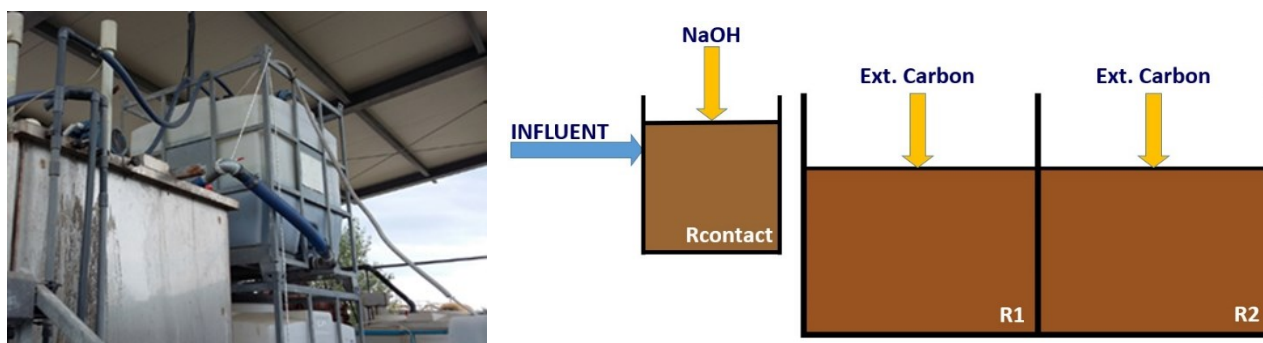


Figura 4.66 Reattore di selezione e schema della configurazione 3.

Anche in questo caso, prima della fase di startup, si è provveduto alla verifica del corretto funzionamento di tutte le utenze elettromeccaniche, taratura delle sonde e determinazione delle portate delle pompe per il dosaggio dei reagenti.

Per quanto riguarda le impostazioni dei parametri EasyGestWWTP di controllo del processo si sono utilizzate le medesime configurazioni del periodo di sperimentazione precedente (Tabella 4.33), aggiustandole all'occorrenza in modo da cercare il raggiungimento delle condizioni ottimali di fine ciclo per entrambi gli stadi.

La sperimentazione avviata il 18/04/2016 e conclusasi il 31/10/2016 ha avuto una durata temporale di 196 giorni.

Influente

Di seguito i valori che hanno caratterizzato il refluo urbano in ingresso durante questo periodo di sperimentazione (Tabella 4.62), in accordo con le metodiche riportate nel Capitolo 3.

Per tutto il periodo di monitoraggio il pH è risultato stabile su valori vicini alla neutralità ma tendenti al basico (7.7), come già registrato nella configurazione 2. L'alcalinità ha un valore medio di 402 mgCaCO₃/L, concentrazione sufficiente per il processo di nitrificazione. Anche in questa fase, in accordo con le caratteristiche tipiche per le acque reflue urbane, si nota come il COD influente sia principalmente formato da solidi mentre l'azoto totale sia costituito per buona parte da azoto ammoniacale.

Tabella 4.62 Caratterizzazione refluo influente – Configurazione 3.

Fase	Q _{in} m ³ /d	Temp °C	pH	Alk mg/L	TSS mg/L	COD mg/L	COD _s mg/L	NH ₄ -N mg/L	TKN mg/L	NO ₂ -N mg/L
4	8.3±1.2	23±4	7.7±0.1	402±66	133±112	204±132	52±20	25±6	29±13	0.0±0.1
Fase	NO ₃ -N mg/L	N _{tot} mg/L	PO ₄ -P mg/L	P _{tot} mg/L	Na ⁺ mg/L	K ⁺ mg/L	Mg ²⁺ mg/L	Ca ²⁺ mg/L	Cl ⁻ mg/L	SO ₄ ²⁻ mg/L
4	0.6±0.7	29±14	1.4±0.8	3.2±1.3	133±153	17±6	24±18	114±16	201±289	126±46

La Figura 4.67 evidenzia la stretta correlazione tra l'andamento del COD totale e i TSS, quindi la sua forte componente particolata, con alcuni simultanei picchi legati a eventi piovosi. I TSS, soprattutto nei primi 100 giorni, hanno andamento

piuttosto altalenante con una concentrazione media di 133 mg/L. Di modesta entità è anche il carico di COD entrante, che risente della scarsa componente particolata e presenta un valore medio di concentrazione di 204 mg/L. Molto simile è anche l'andamento dell' N_{tot} , il quale risulta essere in gran parte formato da ammoniaca con la normale assenza di nitriti e nitrati che permangono a valori compresi tra 0.0 e 3.2 mg/L. Nella fase iniziale si sono registrate una serie di concentrazioni di azoto totale influente elevate (>50 mgN/L) associate a valori di ammoniaca di 30 mgN/L, il che può essere legato a consistenti frazioni di azoto organico provenienti dalla rete.

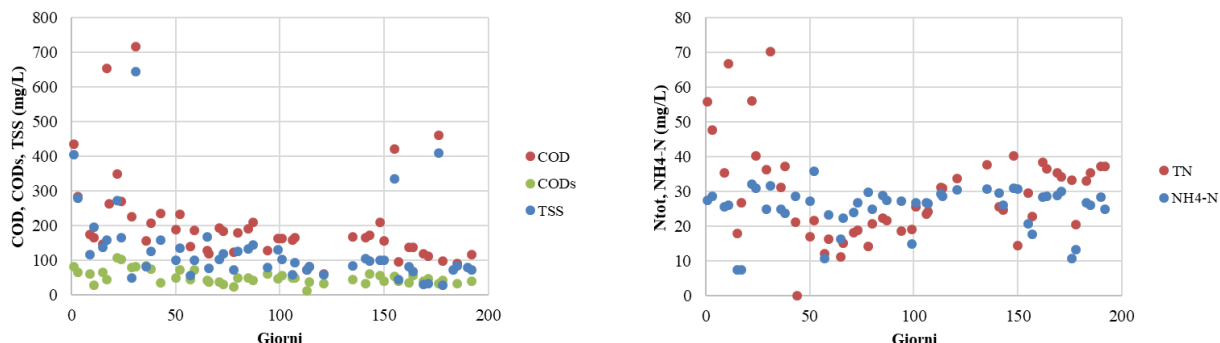


Figura 4.67 Andamento delle concentrazioni di COD, CODs, TSS e N_{tot} , NH_4-N .

L'azoto ammoniacale si è mantenuto in linea con la caratterizzazione delle passate configurazione mentre l'azoto totale entrante è risultato essere più basso dei valori di riferimento dei precedenti startup: gli NO_x appaiono in concentrazioni piuttosto basse, con una netta prevalenza dei nitrati sui nitriti (praticamente assenti); l'azoto ammoniacale ha una concentrazione media di circa 25 mg/L e subisce fluttuazioni in seguito a fenomeni piovosi. Ne risulta un valore di FA medio nell'influente pari a 0.6 ± 0.3 mg NH_4-N/L .

Come riportato nel grafico in Figura 4.68, le concentrazioni di ioni cloruro e sodio si sono mantenute costantemente al di sotto dei 200 mg/L per l'intera durata della sperimentazione, eccezion fatta per un consistente fenomeno di rientro di acqua di mare dopo 143 giorni dalla partenza, durante il quale si sono raggiunte concentrazioni massime di 1181 mgNa/L e 2183 mgCl/L.

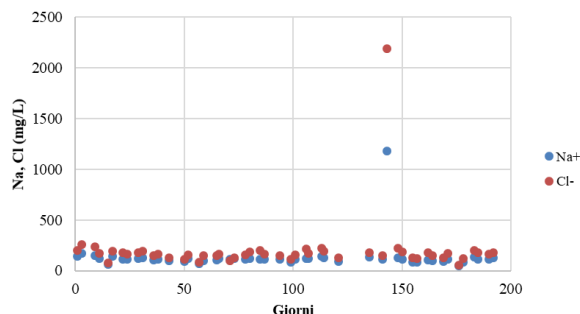


Figura 4.68 Andamento delle concentrazioni di cloruri e sodio.

I rapporti caratteristici e i carichi di massa influenti nel sistema sono riassunti in Tabella 4.63.

Tabella 4.63 Rapporti caratteristici e carichi di massa influenti – Configurazione 3.

Fase	Rapporti Caratteristici			Carichi di massa						
	TKN/ NH_4-N	COD/ N_{tot}	CODs/COD	L_{TSS}	L_{COD}	$L_{N_{tot}}$	L_{NH_4-N}	L_{TKN}	L_{NO_x-N}	$L_{P_{tot}}$
			%	kg/d						
4	1.22 ± 0.58	6.85 ± 3.45	30	1.10 ± 0.92	1.61 ± 1.11	0.25 ± 0.11	0.21 ± 0.06	0.25 ± 0.11	0.01 ± 0.01	0.03 ± 0.01

Per quanto concerne il carico di COD si devono considerare anche le aggiunte di reagente esterno. Il rapporto carbonio/azoto complessivo del sistema è risultato essere pari a 8.8, mentre quello delle singole linee è stato 6.8 e 4.3 rispettivamente per il primo e secondo reattore.

Processo biologico

In Tabella 4.64 sono riassunti i principali parametri operativi monitorati tramite sonde e analisi di laboratorio nel corso della sperimentazione. In questo caso la portata di supero giornaliero è stata determinata tenendo in considerazione la volumetria aggiuntiva data dal reattore di selezione; nella fase di startup si è scelto un SRT di lavoro pari a circa 15 d, ma nella gestione pratica dell'impianto si è arrivati fino a 21 d.

Al fine di avere una condizione di lavoro pari a $FA \cdot t_{mix} = 400 \text{ min} \cdot \text{mgNH}_4\text{-N/L}$ all'interno del reattore di selezione si sono imposte le seguenti condizioni di lavoro:

- pH= 8.7;
- Concentrazione $\text{NH}_4\text{-N}$ di rete
- Volumetria utile reattore di selezione = 800 L;
- Tempo di contatto ~ 85 minuti.

Il progressivo innalzamento delle temperature e il conseguente aumento del valore di FA, ha reso necessaria un'operazione di riduzione della volumetria del reattore di contatto, in modo da ridurre il tempo di permanenza del refluo nel reattore stesso, al fine di operare a un valore di $FA \cdot t_{mix}$ costante. Dopo 34 giorni dall'avvio della sperimentazione si è deciso di dimezzare il volume del reattore, passando da 800 a 400 L anche in previsione degli ulteriori aumenti delle temperature.

La concentrazione media dei solidi sospesi è stata pari a $5089 \pm 1259 \text{ mg/L}$ per il reattore di selezione, $4380 \pm 1148 \text{ mg/L}$ per la vasca 1 e $4268 \pm 1092 \text{ mg/L}$ per la vasca 2; il rapporto MLVSS/MLSS è risultato stabile e pari a 0.59 ± 0.06 per il reattore di contatto mentre per entrambe le altre vasche uguale a 0.64 ± 0.04 . All'interno del reattore di selezione, dosando idrossido di sodio, si è mantenuto un valore di pH medio di 8.5 ± 0.2 mentre all'interno delle vasche, non essendoci condizionamento, e si è registrato un valore medio più o meno stabile di 7.7-7.5. Non essendoci in questa configurazione aggiunta di substrato ammoniacale le concentrazioni di ammoniaca in soluzione sono state di $21.4 \pm 4.7 \text{ mgNH}_4\text{-N/L}$ nel reattore di selezione e inferiore a $8 \text{ mgNH}_4\text{-N/L}$ per le altre due vasche.

Queste condizioni hanno determinato un valore di FA nella vasca di contatto pari a $3.2 \pm 1.4 \text{ mgNH}_4\text{-N/L}$ mentre concentrazioni estremamente basse si sono verificate nelle altre linee ($0.4 \pm 1.3 \text{ mgNH}_4\text{-N/L}$).

Tabella 4.64 Parametri operativi e velocità cinetiche del processo biologico – Configurazione 3.

Reattore di selezione								
Fase	MLSS	MLVSS/MLSS	pH	Temp	ORP	NH ₄ -N	FA	kn
	mg/L	%		°C	mV	mg/L	mg/L	kgNO _x -N/kgVSS d
3	5089±1259	0.59±0.06	8.5±0.2	23±4	-174±151	21.4±4.7	3.2±1.4	0.101±0.054
Vasca 1								
Fase	MLSS	MLVSS/MLSS	pH	Temp	NH ₄ -N	FA	kn	
	mg/L	%		°C	mg/L	mg/L	kgNO _x -N/kgVSS d	
3	4380±1148	0.64±0.04	7.7±0.4	23±4	7.7±4.0	0.4±1.3	0.139±0.067	
Vasca 2								
Fase	MLSS	MLVSS/MLSS	pH	Temp	NH ₄ -N	FA	kn	
	mg/L	%		°C	mg/L	mg/L	kgNO _x -N/kgVSS d	
3	4268±1092	0.64±0.04	7.5±0.3		5.3±3.5		0.137±0.066	

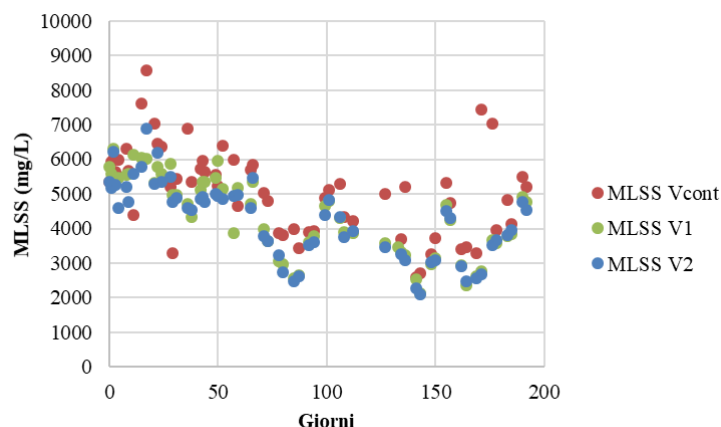


Figura 4.69 Andamento della concentrazione dei MLSS.

In Figura 4.70 – Figura 4.71 – Figura 4.72 sono riportati i dati ricavati dalle prove di AUR realizzate nel corso dell'intera durata temporale della sperimentazione e le relative percentuali di produzione dei nitriti. Dalle figure sottostanti, si nota un andamento pressoché identico delle kn ($\text{NO}_x\text{-N}$) e delle $\% \text{NO}_2\text{-N}/\text{NO}_x\text{-N}$ per tutte le vasche. Nei primi dieci giorni si assiste a una progressiva diminuzione delle cinetiche e delle % di nitrito, le quali una volta annullatesi rimangono costanti a zero fino al giorno 36. Se osserviamo l'andamento della kn ($\text{NO}_x\text{-N}$) nel tempo possiamo notare un trend coerente con le variazioni di concentrazioni della biomassa: a una fuga della flora batterica corrisponde infatti un rallentamento della cinetica. Successivamente, in seguito alla diminuzione di volumetria del reattore di selezione, si registrano valori in

aumento, raggiungendo velocità cinetiche e percentuali di nitrito massime intorno al 150-esimo giorno ($k_n \sim 0.350 \text{ mgNH}_4\text{-N/kgMLVSS/d}$ e $\% \text{NO}_2\text{-N/NO}_x\text{-N} \sim 25\%$) per poi subire un calo. Analizzando i dati contenuti nella tabella di marcia si rileva che in quei giorni si è verificato un sovradosaggio di NaOH con conseguente aumento anomalo e improvviso del pH nel reattore di selezione con valori superiori a 9 (e un massimo di ~ 10) dovuto a un non corretto funzionamento della sonda posta in vasca di contatto. Purtroppo un brusco aumento di pH in un così breve lasso temporale, compromette la sedimentabilità del fango e genera una fuga generale della biomassa. In seguito a questo evento le velocità di nitrificazione ritornano a valori medi di circa $0.140 \text{ kgN-NO}_x\text{/kgMLVSS/d}$, cosa che invece non accade per le velocità di produzione di nitriti e per il rapporto percentuale di nitriti. Ciò può essere dovuto ad una morte o fuga di biomassa autotrofa – sia AOB che NOB - e un successivo ripristino della sola biomassa K-AOB (a crescita lenta) e NOB, ma non della r-AOB (a crescita veloce).

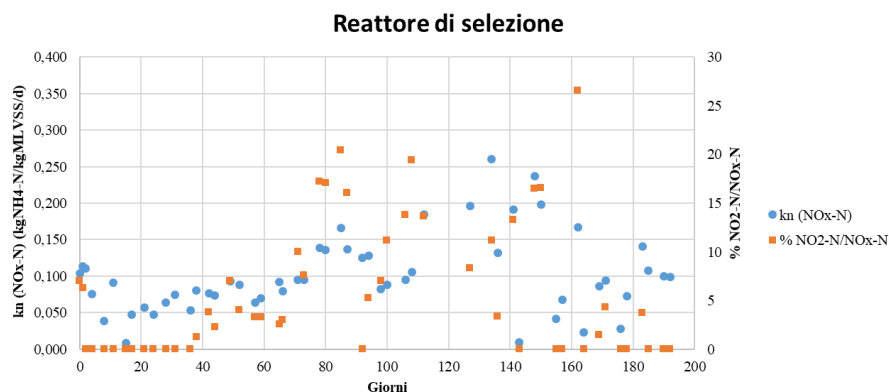


Figura 4.70 Andamento della velocità di nitrificazione e della percentuale di nitrito prodotto nel reattore di selezione.

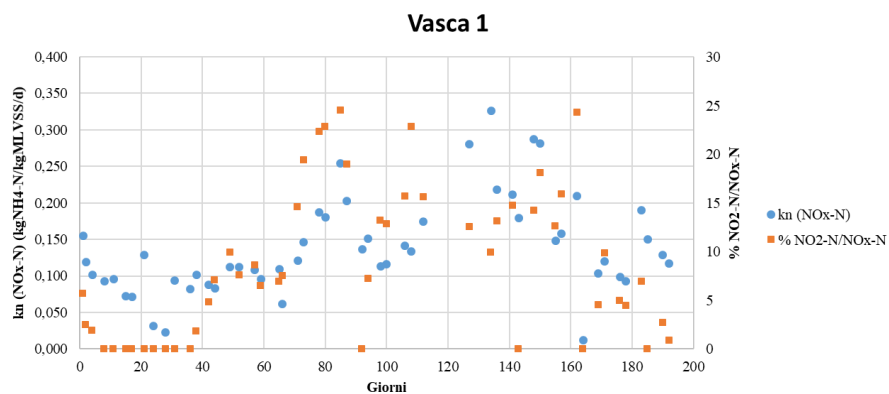


Figura 4.71 Andamento della velocità di nitrificazione e della percentuale di nitrito prodotto in vasca 1.

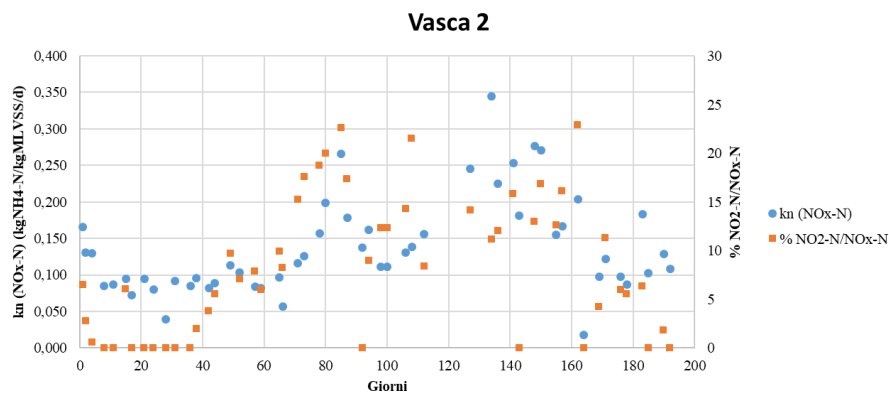


Figura 4.72 Andamento della velocità di nitrificazione e della percentuale di nitrito prodotto in vasca 2.

Come si evidenzia dall'andamento di $FA \cdot t_{mix}$ rappresentato nella Figura 4.73, in seguito all'evento di sovradosaggio vi è un improvviso calo del valore di $FA \cdot t_{mix}$, dovuto al blocco forzato della pompa di dosaggio del NaOH a seguito dei problemi riscontrati con la sonda del pH posizionata in vasca di contatto. Solo in un secondo momento si è provveduto

alla riattivazione della stessa con dosaggio graduale, come si può anche verificare dai grafici. Inoltre si nota che le prestazioni del processo di nitrificazione sono strettamente correlate in maniera direttamente proporzionale al prodotto FA*tmix. Si è però ancora lontani dalle condizioni individuate come ottimali a seguito delle prove batch svolte, dove si è individuato un intervallo operativo di FA*tmix compreso tra 400 e 800 min*mg/L. Tuttavia, è bene sottolineare come valori di kn e % di nitriti abbastanza simili (rispettivamente ~0,050 kgNO₂-N/kgMLVSS/d e 25%) alle prove batch condotte in laboratorio, siano state raggiunte nel caso della piattaforma in corrispondenza di un prodotto FA*tmix pari a circa 170 min*mgNH₄-N/L.

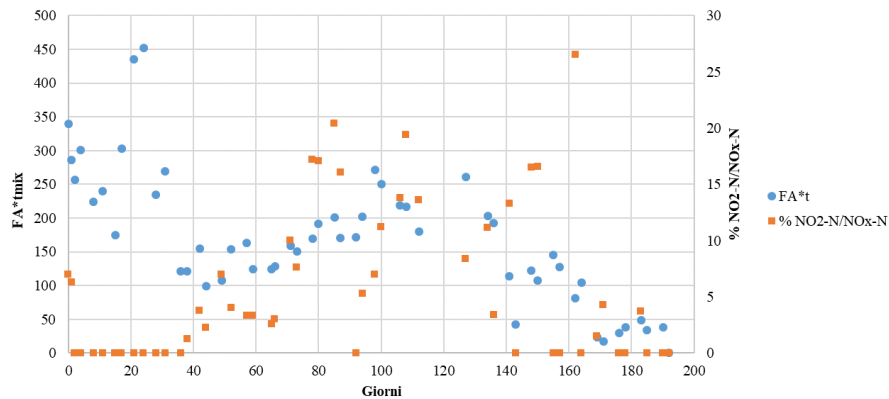


Figura 4.73 Andamento delle percentuali di nitriti prodotte in funzione del fattore FA*tmix.

La statistica delle frazioni aerobiche e anossiche per entrambe le linee è riportata in Tabella 4.65. In generale si può osservare una diminuzione della durata delle fasi di aerazione concomitante con consistenti percentuali di fine ciclo per raggiungimento delle condizioni di ossigeno massimo, sintomo di problematiche di sovraerazione legate al basso carico di azoto nelle vasche. Tale aspetto influenza soprattutto la linea 2, con percentuali che hanno superato l’80%, nonostante gli aggiustamenti applicati alle frequenze di lavoro delle soffianti. Una causa forse fondamentale nel mancato arricchimento della specie r-AOB nel processo studiato è imputabile alle alte concentrazioni di ossigeno disciolto che ha subito la biomassa durante le fasi di aerazione. Infatti, come è noto da molteplici studi di letteratura, una condizione fondamentale per favorire l’arricchimento della specie r-AOB nel mixed liquor è il mantenimento di un basso contenuto di DO.

Tabella 4.65 Durata delle fasi e statistica cicli – Configurazione 3.

Fase Aerobica								
Fase	Durata		DO max		Tempo max		Condizione ottimale	
	min/d		%		%		%	
	Linea 1	Linea 2	Linea 1	Linea 2	Linea 1	Linea 2	Linea 1	Linea 2
4	436±97	429±98	51±34	81±22	20±23	10±17	28±23	8±10

Fase Anossica								
Fase	Durata		ORP min		Tempo max		Condizione ottimale	
	min/d		%		%		%	
	Linea 1	Linea 2	Linea 1	Linea 2	Linea 1	Linea 2	Linea 1	Linea 2
4	884±109	916±105	26±33	15±27	63±36	78±29	10±34	7±19

Effluente

L’effluente impianto ha presentato le seguenti caratteristiche chimico-fisiche riportate in Tabella 4.66.

Tabella 4.66 Caratterizzazione refluo effluente – Configurazione 3.

Fase	pH	Alk	TSS	COD	CODs	NH ₄ -N	TKN	NO ₂ -N	NO ₃ -N
		mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
4	7.9±0.3	438±86	26±15	59±26	35±15	4±3	6±4	0.0±0.0	4.3±3.8
Fase	Ntot	PO ₄ -P	Ptot	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻
	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
4	11±6	1.6±0.8	2.2±1.2	182±112	16±5	23±13	110±17	198±204	125±35

Nonostante il pH nelle vasche si aggiri attorno a valori di 7.6 e a dispetto del fatto che l’ossidazione dell’ammoniaca durante il processo di nitrificazione determini un consumo di alcalinità, il valore in uscita è risultato mediamente aumentato e pari a 7.9±0.3.

Il processo di denitrificazione ha permesso di ottenere concentrazioni di $\text{NO}_x\text{-N}$ uscenti limitate e composte in esclusiva da nitrati.

Elevate percentuali di rimozione dell'ammoniaca, sono state raggiunte in questa fase con un valore medio complessivo dell' $80\pm 14\%$. La rimozione dell'azoto totale dal sistema è stata pari al $62\pm 15\%$, performance legata alle concentrazioni di nitrati effluenti.

Il COD risulta mediamente elevato e correlato ai TSS, legato a un non completo utilizzo da parte delle biomasse denitrificanti. La rimozione di sostanza organica è stata pari al $64\pm 18\%$.

Tutte le performances di rimozione ottenute in questa fase risultano essere molto simili a quelle ottenute durante la precedente sperimentazione e la fase 2 della configurazione 1, la quale risultava aver raggiunto le migliori prestazioni della configurazione 1.

4.3.3. Monitoraggio delle emissioni gassose

Al fine di poter eseguire un'analisi comparativa tra i carichi emessi dal processo di rimozione dell'azoto tramite *shortcut nitrification* con quelli rilasciati da un processo D-N tradizionale parte della sperimentazione nella piattaforma sperimentale condotta applicando la configurazione 3 non si è potuta seguire sotto il profilo emissivo per consentire una campagna di monitoraggio sul comparto biologico dell'impianto principale di Vallechiara. Al fine di permettere il confronto in termini di emissioni, i risultati ottenuti nei 26 giorni di monitoraggio saranno esposti direttamente nel Paragrafo 4.4.3.

4.4. Applicabilità predittiva in scala reale

4.4.1. Studio della variazione della velocità gravitazionale

Uno dei parametri operativi per il controllo della stabilità e il condizionamento del processo di nitrificazione è rappresentato dall'età del fango (SRT). Nel corso delle diverse fasi sperimentali si sono registrati periodi in cui le prestazioni del processo sono state negativamente influenzate da eccessivo dilavamento della biomassa presente nel sistema; spesso tali problematiche si sono verificate in seguito a una concomitanza di eventi. Alcuni dei fattori che accelerano il processo via nitrito (diminuzione dell'SRT, alti pH di condizionamento) possono risultare sfavorevoli sotto il profilo della capacità gravitazionale del sistema, i quali se si sommano a basse temperature di lavoro e/o problematiche di *rising* nel sedimentatore secondario possono condurre alla perdita del processo. Attraverso specifiche prove di laboratorio (Paragrafo 3.4) sono state analizzate le prestazioni e gli effetti del condizionamento sulla capacità gravitazionale della biomassa, e di come questa possa variare al variare del pH dettato dal dosaggio dei reagenti (Figura 4.74) e della temperatura (Figura 4.75).

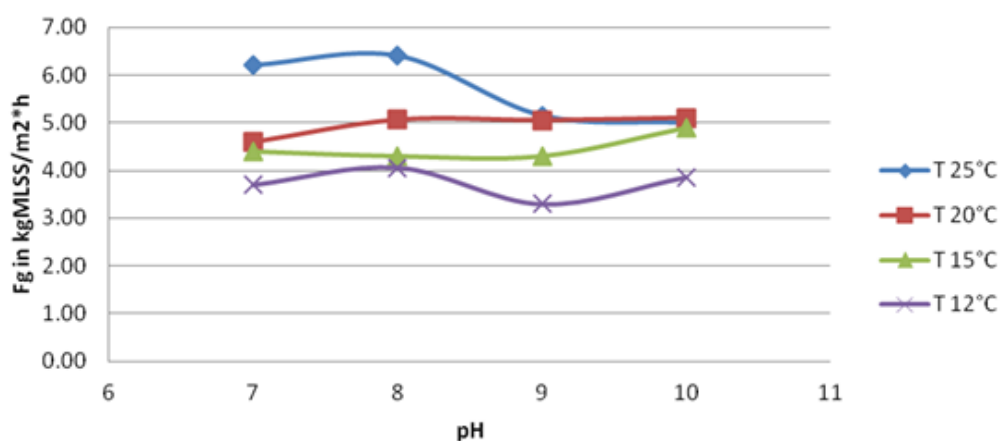


Figura 4.74 Flusso gravitazione a temperature fisse e pH variabili.

Il flusso gravitazionale massimo è stato ottenuto dalla prova a temperatura di 25°C e pH condizionato a 8, registrando un valore di 6.4 kgMLSS/m²·h con una concentrazione di MLSS pari a 1985 mg/L, mentre il flusso minimo fra i vari picchi si è registrato alla temperatura di 12°C e pH 9 (3.30 kgMLSS/m²·h). È evidente un effetto, seppur lieve, dell'aumento di Fg all'aumentare della temperatura di prova; il valore medio di Fg a 12°C è di 3.73 kgMLSS/m²·h, a 15°C di 4.48 kgMLSS/m²·h, a 20°C di 4.95 kgMLSS/m²·h e a 25°C di 5.69 kgMLSS/m²·h.

Non si evidenzia, invece, alcun contributo dovuto all'incremento del pH al variare della temperatura di 12°C, 15°C e 20°C. Si può notare un fenomeno di riduzione del valore di flusso massimo, durante il passaggio dal range del pH 7-8 a pH 9-10, che, a 25°C, fa variare Fg da 6.40 a 5.15 kgMLSS/m²·h, con un decremento medio del 20%, mentre a 12°C si passa da 4.06 a 3.30 kgMLSS/m²·h, con un decremento medio del 19%.

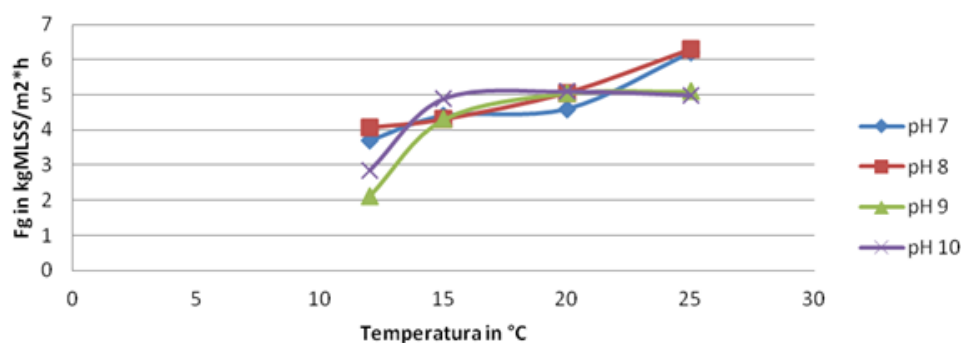


Figura 4.75 Flusso gravitazione a pH fissi e temperatura variabile.

I trend a pH 7 e 8 confermano quanto sopracitato, ossia individuano un legame del valore del flusso massimo gravitazionale con la temperatura. Differentemente per pH 9 e 10 all'aumentare della temperatura da 20°C a 25°C non si individua un pari effetto di aumento del flusso gravitazionale, evidenziando che l'effetto destrutturizzante delle strutture fiocose legato al dosaggio esterno più massivo dei reagenti è un fattore determinante (rispetto alla temperatura) di influenza sulla capacità gravitazionale. I risultati evidenziano come la combinazione di alti valori di pH e basse temperature di processo influenzino negativamente la capacità di sedimentazione dei fanghi, con il conseguente rischio di problematiche legate alla fuga di biomassa dal sistema. Tale aspetto risulterebbe non secondario nella gestione di un processo avanzato per la rimozione dell'azoto via nitrito nel caso di applicazione in un impianto reale in piena scala.

4.4.2. Valutazione preliminare per l'ipotesi di inserimento del processo via nitrito in un impianto reale

Nell'ipotesi di inserimento del processo via nitrito in un impianto reale si è eseguito uno studio basato sullo stato di fatto dell'impianto di depurazione di Carbonera (TV). Analizzando la tabella di marcia dell'impianto, sia per la linea acque che per la linea fanghi, si è arrivati alla definizione di un bilancio di massa globale dell'impianto (Figura 4.77) arrivando alla costruzione di un diagramma di flusso dell'impianto, in cui sono riportate le caratterizzazioni dei flussi (in termini di concentrazioni e carichi di massa medi) per le principali unità operative: ingresso impianto, ingresso biologico, uscita impianto, ricircolo, supero, ingresso al digestore e fango finale. La valutazione è stata finalizzata all'inserimento del processo SCENA (*Short Cut Enhanced Nutrient Abatement*) il quale prevede l'inserimento del trattamento avanzato via nitrito dell'azoto in linea acque.

L'impianto, gestito dalla società Alto Trevigiano Servizi S.r.l., ha una potenzialità di progetto di 40000 AE, tratta acque reflue urbane provenienti da fognatura nera e scarica l'effluente nel fiume Melma. La filiera di processo dell'impianto con la successione delle operazioni unitarie viene riportata in un diagramma di flusso globale utile alla comprensione dei flussi in gioco e della successione delle unità esistenti (Figura 4.76). La potenzialità effettiva dell'impianto determinata su base COD evidenzia un consistente sovradimensionamento dell'impianto, infatti la potenzialità reale risulta essere pari a 19229 AE. La linea acque è costituita da una grigliatura grossolana, stazione di sollevamento, ulteriori pretrattamenti (grigliatura fine, dissabbiatura e disoleatura), sedimentazione primaria, comparto biologico, sedimentazione secondaria, disinfezione e filtrazione finale. I fanghi allontanati dai sedimentatori vengono inviati ai trattamenti della linea fanghi, costituiti da pre e post ispessitore, digestore anaerobico, gasometro per lo stoccaggio del biogas e disidratazione tramite centrifugazione. Il reattore biologico a pianta circolare con configurazione tipo "Schreiber", all'interno del quale vengono dosati reagenti per la defosfatazione, ha una volumetria di 4571 m³, determinando un volume specifico per abitante di circa 240 L/AE.

L'idea alla base della valutazione di fattibilità prevedeva la conversione del processo biologico tradizionale presente con uno via nitrito, sfruttando le volumetrie preesistenti e andando a inserire un reattore di contatto al quale si applicherebbero le condizioni operative testate nella piattaforma sperimentale durante la configurazione 3 (Paragrafo 4.3). In Tabella 4.67 sono riassunti i parametri progettuali e operativi presi in considerazione per l'upgrading del processo.

Tabella 4.67 Parametri progettuali e operativi per l'upgrading del processo.

FA	mgNH ₄ /L	3
Tempo di contatto minimo	min	40
Tempo di contatto massimo	min	60
FA*t minimo	min·mg/L	120
FA*t massimo	min·mg/L	180
Q _{mn}	m ³ /d	16200
Q _p	m ³ /h	1013
Q _r	m ³ /d	14400

Volume utile reattore di contatto	m ³	1275	
Verifica tempo di contatto alla Q _p	min	47	> Tempo di contatto minimo
Densità di potenza richiesta per la miscelazione	W/m ³	10	
Potenza da installare per la miscelazione	kW	12.75	
Consumo specifico di reagente	kgNaOH/m ³	0.09	
Consumo giornaliero di reagente	kgNaOH/d	1458	
Portata pompe per il dosaggio del reagente	m ³ /h	45	

Analizzando il consumo di energia elettrica per la fornitura di aria al comparto biologico, lo stato di fatto dell'impianto richiede 0.144 kWh per ogni m³ di refluo trattato, il cui importo complessivo annuo, considerando un costo di 0.15 €/kWh per le utenze industriali, ammonta a 127750 €. Considerando un risparmio in termini di aria da fornire al processo via nitrato integrato nella filiera di trattamento SCENA pari a circa il 22%, il consumo specifico di energia scende a 0.111 kWh/m³. L'aggiunta di idrossido di sodio per il condizionamento del processo all'interno del reattore di selezione comporta un costo di 0.019 €/kgNaOH. Al netto tra consumi d'energia elettrica per il sistema di aerazione e costi per il reagente alcalinizzante la gestione del processo via nitrato richiede una cifra annua di 109437 €, consentendo un risparmio di circa il 15% rispetto allo stato di fatto, ovvero oltre 18000 €.

Inoltre l'aumento delle velocità cinetiche ottenibili permetterebbero di abbassare, a parità di prestazioni, il tempo di ritenzione idraulico del reattore biologico, ovvero una diminuzione delle volumetrie richieste nonché la possibilità di trattare maggiori portate in ingresso.

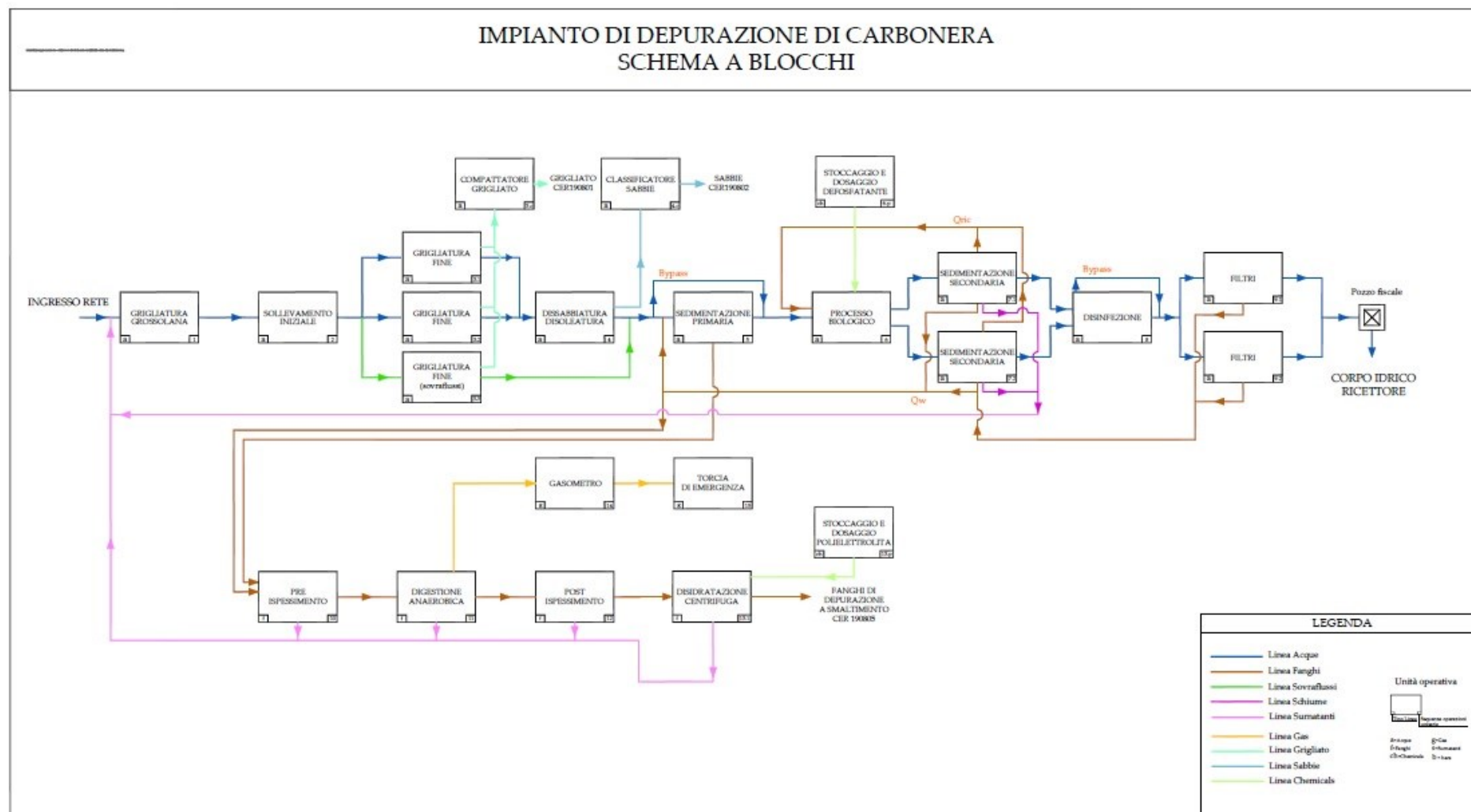


Figura 4.76 Schema a blocchi della filiera di processo dell'impianto di Carbonera.

IMPIANTO DI CARBONERA (DIAGRAMMA DI FLUSSO STATO DI FATTO, 40.000 AE)

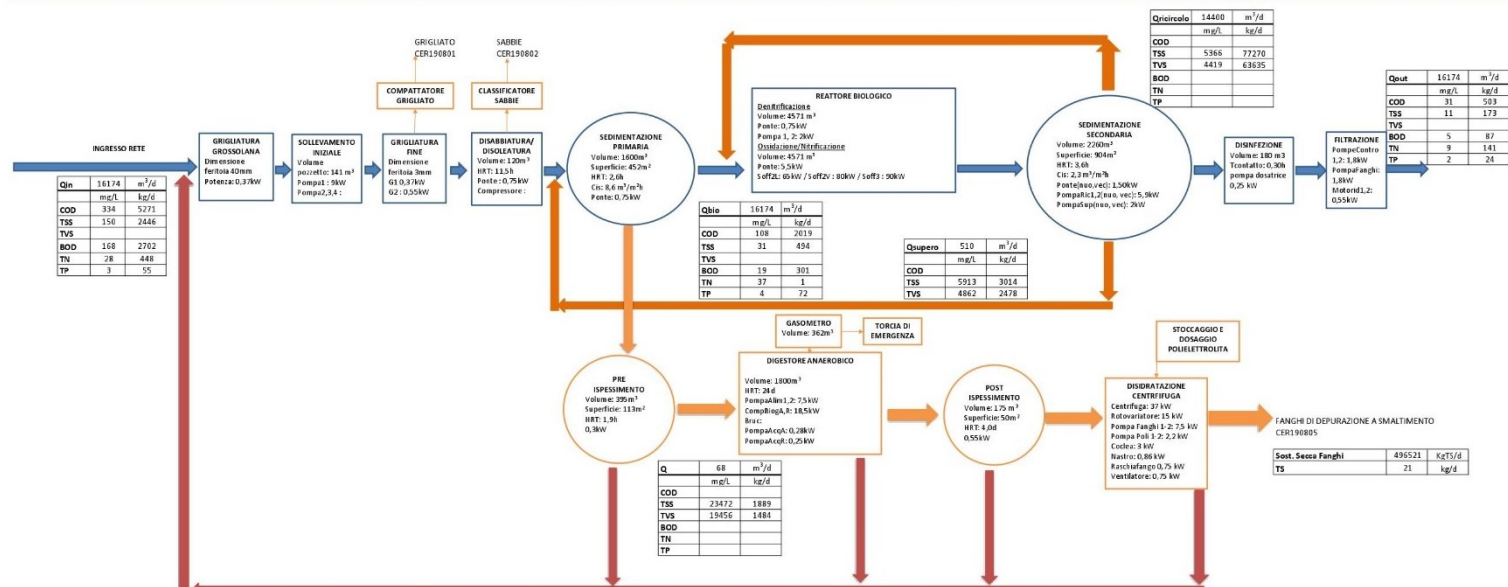


Figura 4.77 Bilancio di massa dell'impianto di Carbonera.

4.4.3. Confronto emissioni di gas serra tra processi biologici a fanghi attivi

Questa fase del lavoro di ricerca ha avuto come obiettivo quello di valutare l'emissione di gas serra dai processi biologici a fanghi attivi, andando inoltre ad approfondire gli aspetti metodologici legati alle modalità di esecuzione dei campionamenti. Allo scopo è stata progettata una campagna di indagine presso il comparto biologico dell'impianto di depurazione di Vallecchiara (Paragrafo 3.2.2) costituito da un processo tradizionale del tipo predenitro-nitro.

Essendo uno tra gli scopi della campagna di monitoraggio quello di mostrare l'influenza della metodologia di campionamento sulle concentrazioni misurate, si è scelto di testare due differenti tipologie di campionatori, così definite:

- Campionatori fissi;
- Campionatori galleggianti.

I primi sono stati ottenuti mediante l'impiego di fusti a bocca larga in polietilene ad alta densità (HDPE), opportunamente modificati allo scopo; sul fondo di ciascun elemento è stato ricavato un foro del diametro di 2" e installato un raccordo filettato tale da permettere un semplice e rapido collegamento del tubo di aspirazione collegato all'analizzatore. Per questa tipologia sono state testate 3 diverse volumetrie:

- Campionatore piccolo (volume 80 L);
- Campionatore medio (volume 141 L);
- Campionatore grande (volume 226 L).

Il posizionamento mediante staffe metalliche è stato realizzato in modo da garantirne la corretta immersione dei serbatoi. I campionatori galleggianti invece, sono stati realizzati mediante l'impiego di contenitori in PVC. Anche per questi sono stati praticati fori del diametro di 2" con relativi raccordi filettati per consentire il deflusso dei gas e il posizionamento dell'ago di campionamento. La galleggiabilità è stata garantita grazie all'utilizzo di pannelli in materiale poliespanso. Anche in questo caso sono state testate tre diverse volumetrie:

- Campionatore piccolo (volume 64 L);
- Campionatore medio (volume 166 L);
- Campionatore grande (volume 233 L).

Per far fronte alla turbolenza creata dal sistema di aerazione e controllare la posizione dei campionatori sono state utilizzate delle cime legate su entrambi i lati della vasca.

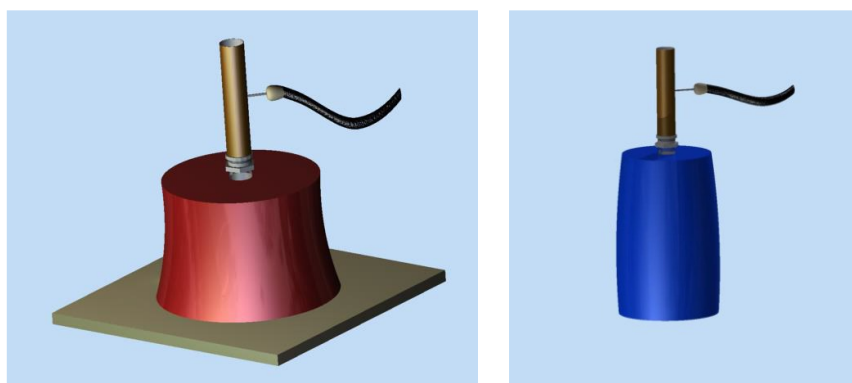


Figura 4.78 Tipologie di campionatori utilizzati: a sinistra, campionatore flottante, a destra, campionatore fisso.

In Tabella 4.68 si riportano le principali caratteristiche dei campionatori utilizzati:

Tabella 4.68 Caratteristiche dei diversi sistemi di campionamento.

Tipo	Dimensione	Volume	Superficie	Tempo di ritenzione (h)			
		L	m ²	min	Max	Media	Dev. Std.
Fisso	Piccolo	80	0.157	0.086	0.100	0.095	0.005
	Medio	141	0.174	0.130	0.238	0.184	0.045
	Grande	226	0.246	0.210	0.289	0.251	0.035
Galleggiante	Piccolo	64	0.125	0.101	0.185	0.139	0.032
	Medio	166	0.325	0.090	0.130	0.106	0.011
	Grande	233	0.457	0.097	0.105	0.102	0.003

Il tempo di ritenzione, espresso come rapporto tra il volume del campionatore e la portata d'aria fornita dal sistema di aerazione che transita attraverso lo stesso, rappresenta il tempo di permanenza degli *off-gas* emessi dal sistema all'interno del campionatore.

Inizialmente sono state effettuate delle prove di calibrazione, necessarie a valutare l'influenza delle diverse caratteristiche dei campionatori. Nella parte iniziale del reattore di nitrificazione si sono realizzati, per ciascun campionario di diversa volumetria, brevi test di misura delle concentrazioni gassose (1 ora di durata) prelevando campioni di fango a metà di ciascun periodo di misura per la determinazione dei principali parametri analitici. L'osservazione dei tracciati delle emissioni non permette di trarre conclusioni sull'influenza della metodologia di acquisizione dei dati. Si è reso allora necessario elaborare i dati ottenuti, alla ricerca di possibili parametri discriminanti. La tabella seguente (Tabella 4.69) aggrega i dati relativi a ciascuna prova.

Tabella 4.69 Sintesi prove di calibrazione.

Campionatore				Tempo di ritenzione	Velocità uscita	Rapporto di campionamento	Gas					
Tipologia	Dimensione	Spazio testa	Superficie				N ₂ O	CH ₄	CO ₂	NO	NO ₂	
		L	m ²	s	m/s	L/(m ³ /h)			mg/m ³			
1	Fisso	grande	226	0.246	0.24	120	0.07	0.438	0.158	7.065	0.034	0.072
2		medio	141	0.174	0.16	110	0.05	0.149	0.432	5.390	0.029	0.073
3		piccolo	80	0.157	0.11	92	0.03	0.848	1.056	12.650	0.067	0.066
4		grande	226	0.246	0.27	108	0.07	0.273	0.564	7.997	0.007	0.056
5		medio	141	0.174	0.26	70	0.07	0.041	1.706	7.063	0.017	0.064
6		piccolo	80	0.157	0.07	142	0.02	0.815	2.080	11.025	0.068	0.066
7		grande	226	0.246	0.33	88	0.09	0.132	1.768	8.441	0.034	0.063
8		medio	141	0.174	0.11	160	0.03	0.283	0.811	3.548	0.003	0.063
9		piccolo	80	0.157	0.06	163	0.02	1.312	2.381	8.298	0.000	0.059
10		grande	226	0.246	0.42	68	0.12	0.176	2.794	9.575	0.016	0.060
11		medio	141	0.174	0.26	68	0.07	0.064	0.761	6.138	0.002	0.054
12		piccolo	80	0.157	0.19	54	0.05	0.439	1.490	13.229	0.014	0.047
13		grande	226	0.246	0.45	64	0.13	0.013	0.471	10.002	0.021	0.058
14		medio	141	0.174	0.24	76	0.07	0.090	0.061	5.854	0.003	0.055
15		piccolo	80	0.157	0.17	60	0.05	0.240	1.109	16.225	0.034	0.044
16		grande	226	0.246	0.53	54	0.15	0.120	1.195	12.002	0.065	0.058
17		medio	141	0.174	0.24	76	0.07	0.240	0.770	6.526	0.034	0.061
18		piccolo	80	0.157	0.08	125	0.02	0.610	3.228	15.856	0.043	0.050
19		grande	233	0.246	0.39	76	0.11	0.165	1.498	9.683	0.018	0.058
20		medio	166	0.174	0.27	79	0.07	0.200	1.291	7.406	0.033	0.061
21		piccolo	64	0.157	0.11	76	0.03	0.419	3.739	19.228	0.136	0.057
22	Galleggiante	grande	233	0.457	0.30	98	0.08	0.119	1.204	20.843	0.165	0.055
23		medio	166	0.325	0.22	95	0.06	0.178	0.621	15.924	0.024	0.061
24		piccolo	64	0.125	0.06	132	0.02	0.427	0.680	14.436	0.052	0.059
25		grande	233	0.457	0.34	88	0.09	0.296	5.684	20.215	0.067	0.042
26		medio	166	0.325	0.29	73	0.08	0.197	15.577	16.612	0.072	0.049
27		piccolo	64	0.125	0.09	90	0.03	0.222	11.504	17.316	0.082	0.043
28		grande	233	0.457	0.30	98	0.08	0.129	0.538	13.899	0.026	0.051
29		medio	166	0.325	0.14	150	0.04	0.559	0.677	11.922	0.035	0.055
30		piccolo	64	0.125	0.13	61	0.04	0.193	0.743	15.201	0.009	0.045
31		grande	233	0.457	0.32	93	0.09	0.409	3.125	16.962	0.058	0.051
32		medio	166	0.325	0.25	85	0.07	0.206	2.298	16.349	0.088	0.052
33		piccolo	64	0.125	0.08	103	0.02	0.313	2.880	15.651	0.061	0.055
34		grande	233	0.457	0.18	166	0.05	0.511	6.221	22.162	0.050	0.047
35		medio	166	0.325	0.13	160	0.04	0.421	4.688	19.429	0.044	0.051
36		piccolo	64	0.125	0.12	66	0.03	0.264	3.030	17.671	0.063	0.050

In particolare i nuovi parametri introdotti sono:

- Velocità del gas in uscita dal campionatore, ottenuta dividendo la portata d'aria in ingresso al campionatore per l'area del condotto di uscita;
- Rapporto di campionamento, ottenuto dividendo il volume dello spazio di testa del campionatore per la portata d'aria all'intera vasca.

Gli andamenti delle concentrazioni medie al variare della tipologia di campionatore sono riportati in Figura 4.79. Appare chiaro come il protossido di azoto risenta maggiormente della diversa volumetria nonché tipologia di campionatore. Gli altri gas infatti presentano trend ben definiti con pochi punti isolati. Per questo motivo si prosegue l'analisi andando a investigare il solo N₂O.

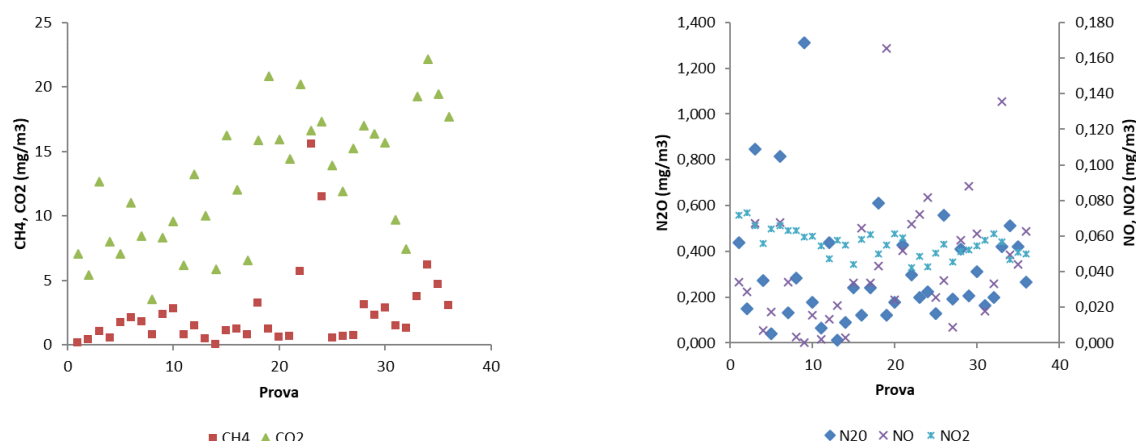


Figura 4.79 Concentrazioni medie durante le prove di calibrazione.

Volendo confrontare le misure ottenute con le due diverse tipologie di campionatore, è utile riportare graficamente le concentrazioni in funzione del tempo di permanenza del gas all'interno del volume di campionamento, definito tempo di ritenzione nello spazio di testa (Figura 4.80).

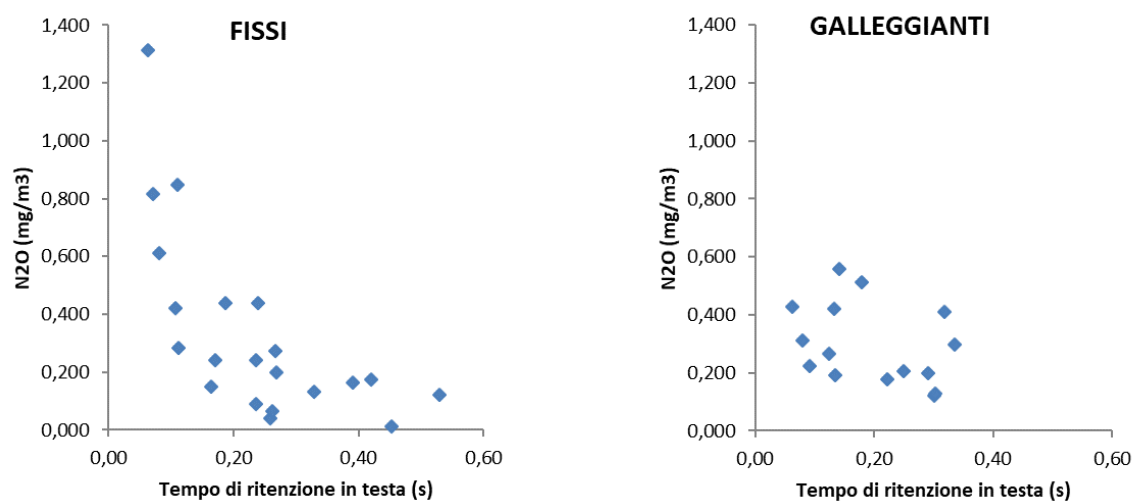


Figura 4.80 Andamento delle concentrazioni di N_2O al variare del tempo di ritenzione.

Il tempo di ritenzione sembra avere influenza sulle concentrazioni misurate, in maniera molto più marcata nel caso di impiego dei campionatori fissi dove per piccoli valori del tempo di ritenzione, le misure presentano maggiore variabilità. La variabilità delle concentrazioni misurate risulta inoltre dipendente della velocità del gas in uscita dal campionatore (Figura 4.81). Essa appare evidente nel caso di impiego dei campionatori fissi, ed è caratterizzata da maggiore casualità e più ampia distanza tra i punti di misura. Nei campionatori galleggianti si riconosce però un netto trend di crescita all'aumentare della velocità. Poiché velocità di uscita maggiori corrispondono a portate d'aria più elevate, questo effetto è imputabile all'azione di stripping attuata dalla corrente d'aria sulle molecole di gas presenti in soluzione (Figura 4.82). Confrontando i diversi grafici proposti, è possibile riconoscere per i campionatori fissi la dipendenza delle misure dal tempo di ritenzione in testa, mentre per i campionatori galleggianti la dipendenza dalla velocità di uscita del gas. Nel primo caso, osservando le dinamiche della vasca di nitrificazione su cui i campionatori sono stati installati, appare chiaro come l'aumento di concentrazione misurato possa essere influenzato da variazioni del livello liquido all'interno del singolo campionatore. La fornitura di diverse portate d'aria infatti, determina fluttuazioni della quota del pelo libero di vasca. L'aumentare di quest'ultimo, determina la riduzione dello spazio di testa del campionatore e un incremento della pressione interna. L'effetto di tale fenomeno può essere però contenuto mediante l'individuazione di un parametro discriminante, utile a mettere in luce quei valori di concentrazione interessati. Tale parametro è rappresentato dal Rapporto di campionamento. I grafici in Figura 4.83 mostrano come le concentrazioni più elevate vengano misurate per valori del rapporto inferiori a $0,05 \text{ L}/(\text{m}^3/\text{h})$ e pertanto si riconosce quest'ultimo come valore discriminante. Il grafico di destra inoltre, conferma la non influenza del fenomeno per i campionatori galleggianti. In sintesi è possibile affermare che la misura delle emissioni di GHGs da processi biologici a fanghi attivi, dovrebbe avvenire mediante l'impiego di campionatori galleggianti mentre qualora avvenisse con l'impiego di campionatori fissi dovrebbe essere soggetta a post-

elaborazione utile ad eliminare la dipendenza dal fenomeno di compressione interna al volume di testa. Questo appare chiaro considerando la capacità dei campionatori galleggianti nel seguire le fluttuazioni del pelo libero di vasca.

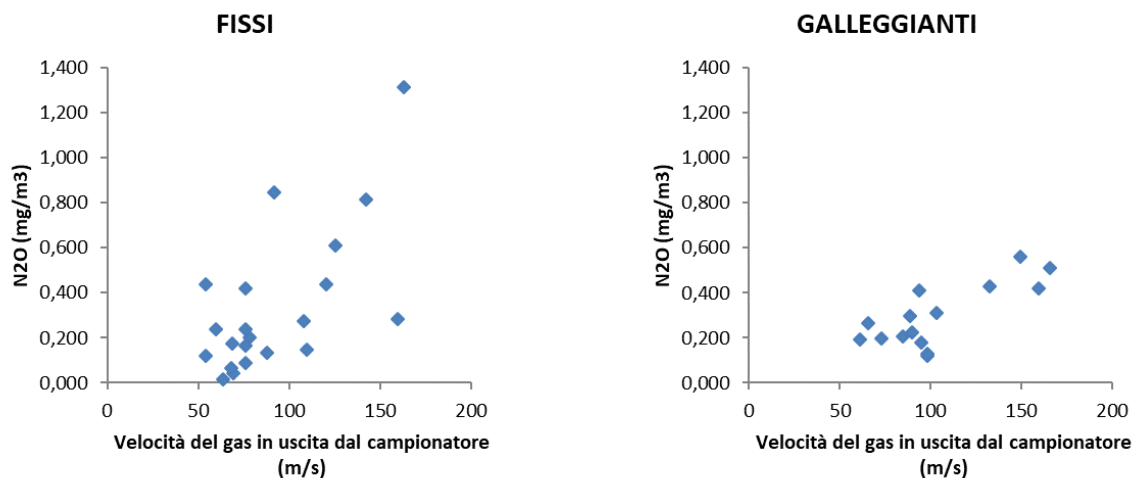


Figura 4.81 Andamento delle concentrazioni di N_2O al variare della velocità di uscita.

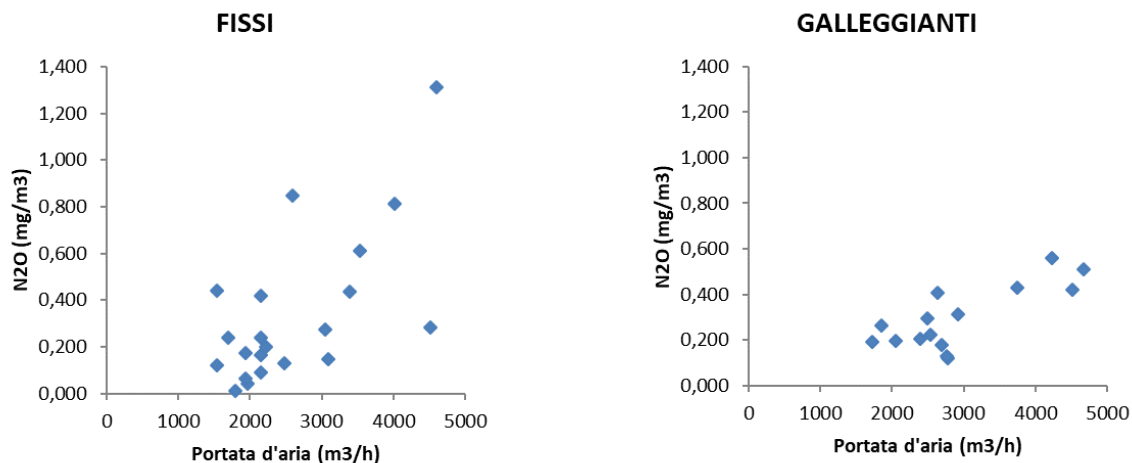


Figura 4.82 Andamento delle concentrazioni N_2O al variare della portata d'aria fornita alla vasca.

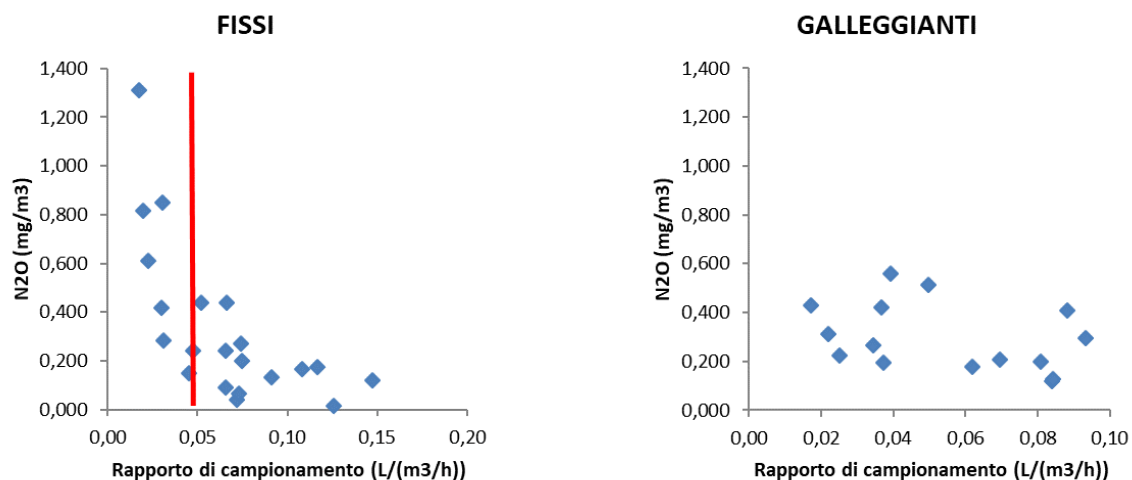


Figura 4.83 Influenza del rapporto di campionamento sulle concentrazioni di N_2O .

In realtà non tutti i gas rispondono a tale fenomeno; la spiccata influenza sul protossido d'azoto potrebbe essere dovuta alle sue caratteristiche fisiche. Calcolando il rapporto di campionamento mediante l'utilizzo dei dati medi giornalieri, si

osserva come questo sia inferiore a 0.05 L/(m³/h) per tutti i giorni di prova in cui il campionamento è avvenuto con il campionatore piccolo e per alcuni giorni in cui il campionamento è avvenuto con il campionatore medio. Questo permette di affermare che qualora il campionamento avvenisse con i campionatori fissi, il volume minimo di campionamento dovrebbe essere determinato sulla base della portata d'aria fornita alla vasca per evitare che le misure risultino influenzate dai fenomeni precedentemente descritti.

Successivamente si è passati ad una fase di monitoraggio del sistema in continuo (Figura 4.84), posizionando i campionatori nella zona iniziale della vasca di nitrificazione per 47 giorni, utilizzando i diversi campionatori per un minimo di 7 giorni. Nell'ultima settimana si è scelto di spostarsi a fine vasca e utilizzare il solo campionatore medio fisso, in modo da avere informazioni sulle emissioni lungo lo sviluppo longitudinale del reattore.

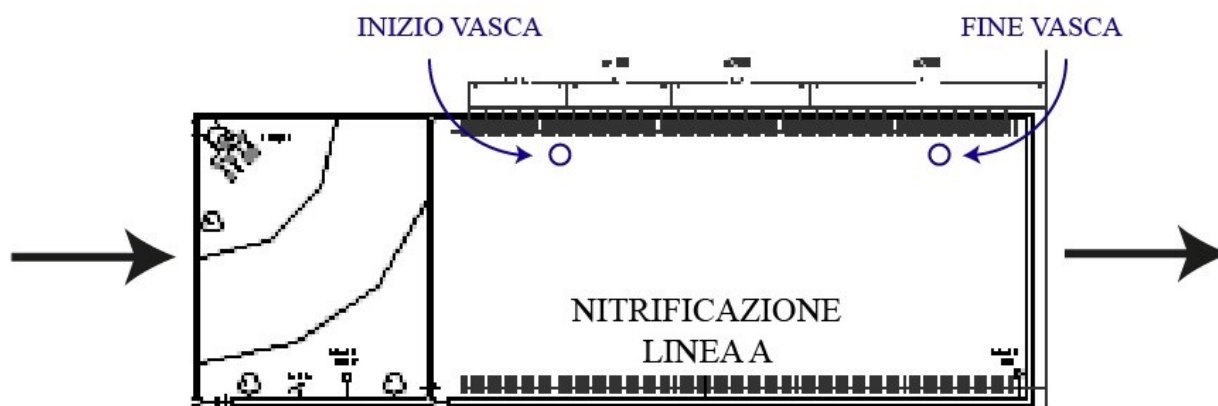


Figura 4.84 Posizionamento dei campionatori a inizio e fine vasca durante il monitoraggio in continuo.

Al fine di correlare le emissioni alle caratteristiche chimico-fisiche del refluo trattato, nonché all'attività microbiologica dei fanghi attivi, si è proceduto al prelievo di diversi campioni. Con cadenza bisettimanale sono stati prelevati campioni istantanei del mixed liquor dalla vasca di predenitrificazione e di nitrificazione; sempre con la stessa frequenza si sono collezionati campioni medi giornalieri dell'influente al processo post sedimentazione primaria. Con cadenza settimanale è stato prelevato un campione medio giornaliero dell'effluente dal processo post sedimentazione secondaria. In Tabella 4.70 sono riportati i valori medi e le deviazioni standard dei parametri chimico-fisici analizzati, delle efficienze di rimozione ottenute dal processo e delle costanti cinetiche.

Tabella 4.70 Caratterizzazione chimico-fisica dell'influente ed effluente, efficienze di rimozione e parametri cinetici.

	pH	TSS	COD	CODs	TKN	NH ₄ -N	NO ₂ -N	NO ₃ -N	kn	kd _{max}	kd _{reale}
		mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	kgN/kgMLVSS/d		
Influente	8.1 (±0.2)	36.8 (±15.0)	88.7 (±33.5)	41.6 (±20.5)	28.6 (±10.5)	25.1 (±3.2)	0.3 (±0.2)	0.9 (±0.8)	0.111 (±0.024)	0.057 (±0.028)	0.017 (±0.005)
Effluente	7.9 (±0.1)	5.1 (±2.4)	35.1 (±5.5)	-	14.5 (±5.3)	0.2 (±0.2)	0.0 (±0.0)	12.0 (±4.6)	-	-	-
E%	-	-	59 (±13)	-	40 (±20)	99 (±1)	-	-	-	-	-

Nel corso del monitoraggio, a causa di eventi meteorici piovosi, il carico di COD entrante al comparto biologico ha subito forti variazioni (Figura 4.85). Il rapporto C/N è passato da un massimo di 5.2 a un minimo di 1.3. Possiamo distinguere due diversi periodi, durante i primi 20 giorni il rapporto medio è stato pari a circa 3.2, mentre nel periodo successivo è sceso a circa 1.9.

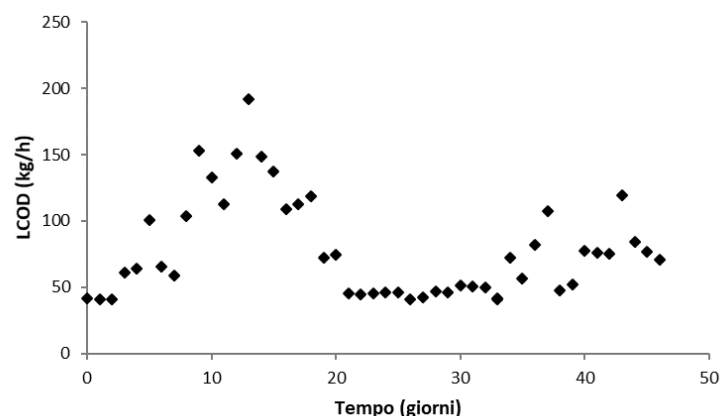
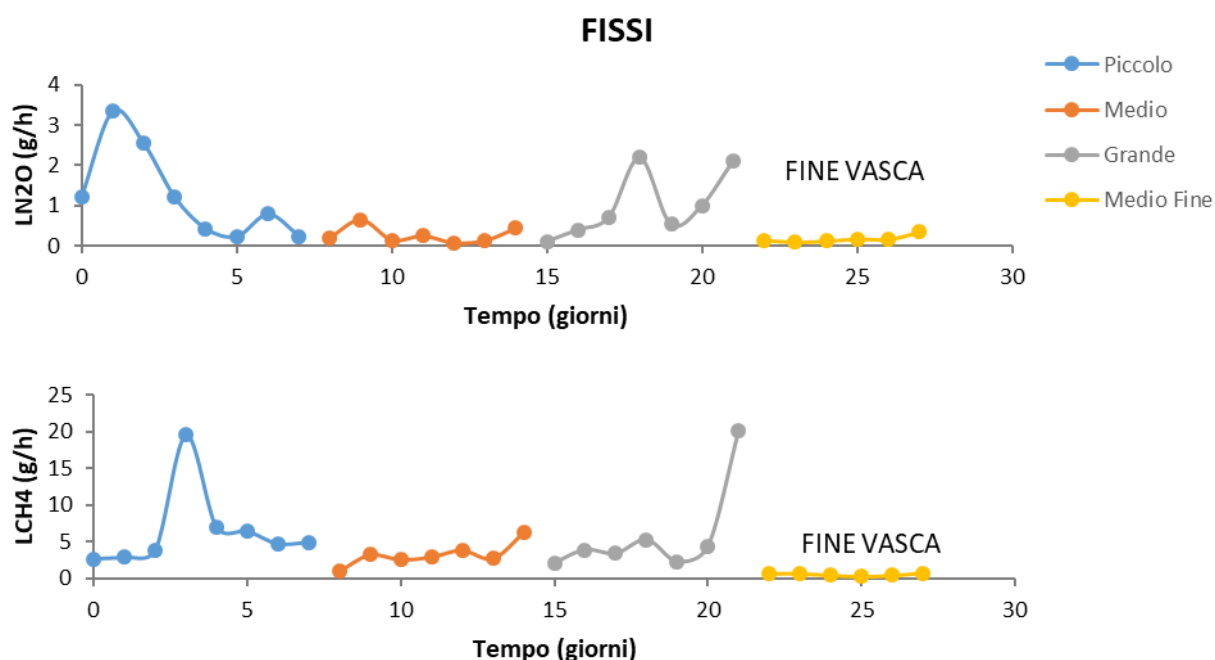


Figura 4.85 Andamento del carico di COD in ingresso durante il monitoraggio in continuo.

Si riportano in maniera distinta gli andamenti dei carichi di massa di N_2O , CH_4 e CO_2 misurati mediante l'utilizzo di campionatori fissi (Figura 4.86) e quelli misurati mediante i campionatori galleggianti (Figura 4.87). Poiché l'ultimo periodo di misura a fondo vasca è stato effettuato unicamente con il campionatore medio fisso, i risultati di tale periodo vengono presentati unitamente ai precedenti.

Appare chiaro che le concentrazioni misurate a fondo vasca risultano molto basse e con andamento costante. Questo è da imputare ai meccanismi di produzione dei gas serra già precedentemente descritti ed alla reattoristica della vasca. Con particolare riferimento ai composti azotati, questi vengono prodotti nella vasca di denitrificazione dove rimangono per lo più in soluzione. Quando il refluo passa nella vasca di nitrificazione, la portata d'aria fornita per garantire adeguate concentrazioni di ossigeno disciolto, effettua un'azione di strippaggio del gas in soluzione facendo misurare concentrazioni più elevate. Poiché la vasca si sviluppa in direzione longitudinale, nonostante la miscelazione garantita dalla portata d'aria stessa, essa assume una configurazione reattoristica di tipo *plug-flow* il che determina da un lato la diminuzione delle concentrazioni di substrato lungo il percorso in quanto questo è già stato ossidato a monte, e dunque i relativi meccanismi di produzione dei gas risultano ridotti, e dall'altro fa sì che il refluo arrivato a fine vasca, non contenga più grandi quantità di gas disciolto avendo già subito l'effetto di *stripping* (Daelman, 2015).



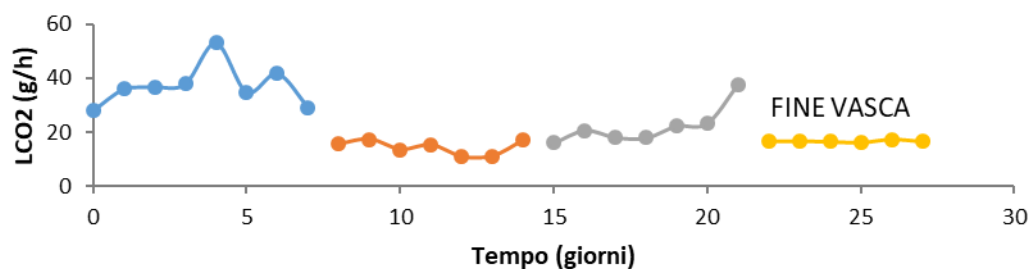


Figura 4.86 Carichi di massa ottenuti dal monitoraggio con campionatori fissi.

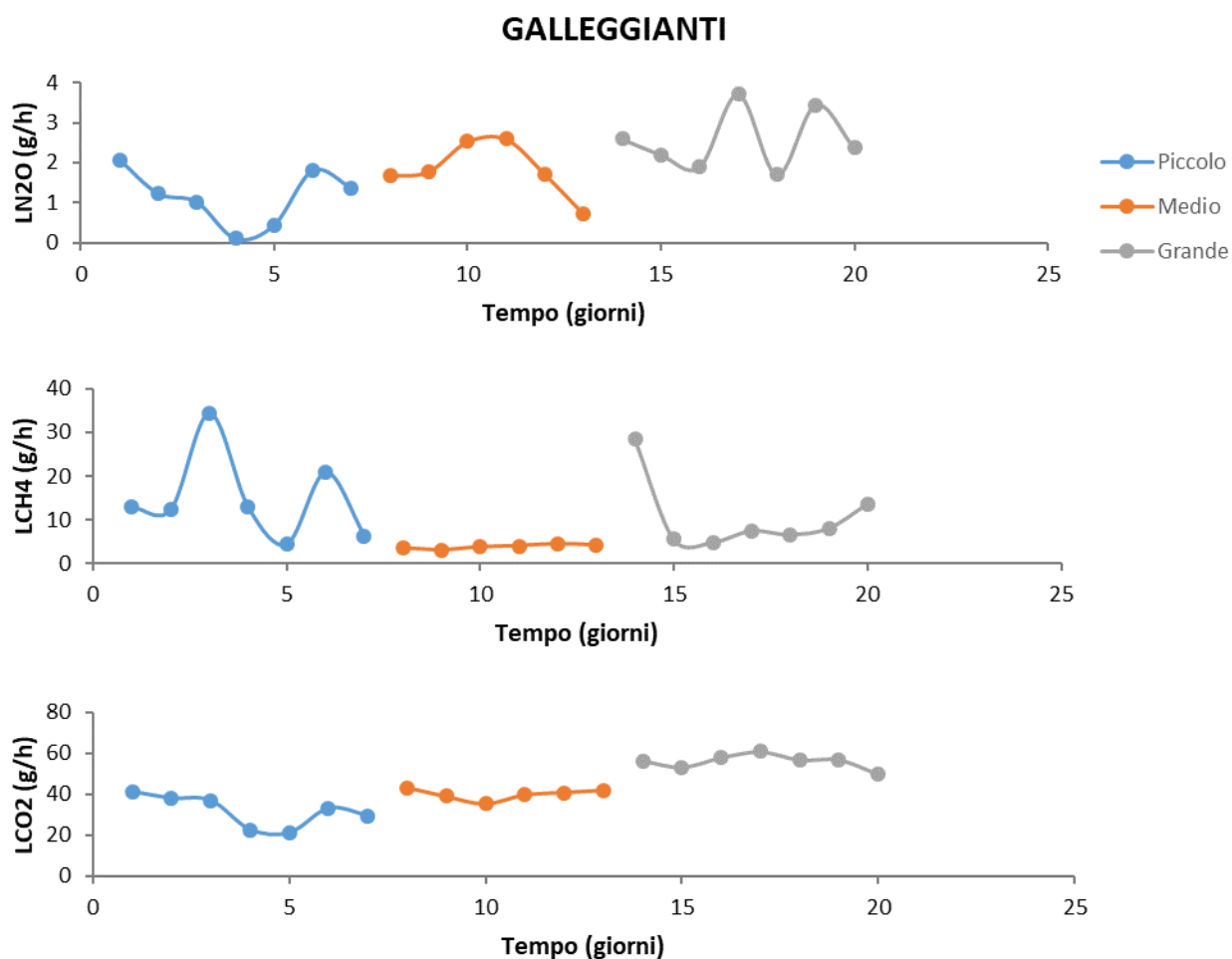


Figura 4.87 Carichi di massa ottenuti dal monitoraggio con campionatori galleggianti.

Tabella 4.71 Sintesi dei carichi di massa ottenuti dal monitoraggio in continuo.

Tipo	Dimensione	Posizione	LN2O	LCH4	LCO2
			g/h	g/h	g/h
Fisso	Piccolo	Inizio	1.246	6.463	37.180
	Medio	Inizio	0.266	3.244	14.388
		Fine	0.174	0.517	16.611
	Grande	Inizio	1.001	5.939	22.301
Galleggiante	Piccolo	Inizio	1.151	14.859	31.652
	Medio	Inizio	1.831	3.824	39.978
	Grande	Inizio	2.557	10.597	55.992

I dati riportati nei grafici e in Tabella 4.71 sono stati elaborati tenendo in conto quanto emerso dalle prove di calibrazione preliminari, ovvero non prendendo in considerazione tutti quei valori di concentrazioni provenienti da situazioni in cui i valori del rapporto di campionamento risultavano inferiori al valore di 0.05 L/(m³/h). In Figura 4.88 si riportano i carichi di massa di protossido di azoto emessi, non distinguendo tra i diversi campionatori utilizzati. La velocità di emissione in testa al reattore varia significativamente durante il periodo di monitoraggio, da 66.82 a 4174.37 mg/h, con un valore medio pari a 31.99±24.33 gN₂O/d. Anche se le emissioni di N₂O sono state basse durante lo studio, il profilo e la gamma delle emissioni variano tra i diversi giorni. Nessun effetto della temperatura è stato osservato, considerando le lievi variazioni sia nell'acqua di scarico (18.2±0.8°C) sia nella temperatura atmosferica (16.1±0.5°C). I risultati suggeriscono che il tasso di emissioni osservato è stato parzialmente influenzato dai diversi campionatori. D'altra parte, l'elevata variabilità giornaliera di emissioni di N₂O può essere attribuita al rapporto carbonio/azoto. Infatti, i carichi emessi sono stati pari a 0.856±0.905 gN₂O/h durante i primi 20 giorni, quando il rapporto era in generale superiore a 4. Tuttavia, le quantità emesse sono più che raddoppiate (1.850±0.972 gN₂O/h) durante il secondo periodo quando il refluo diluito entrante ha determinato un rapporto C/N inferiore (1.9), confermando i risultati della letteratura su scala pilota (Quan, 2012; Zheng, 2015). Infine, nella parte terminale del reattore sono state osservate emissioni quasi nulle (0.174±0.90 gN₂O/h).

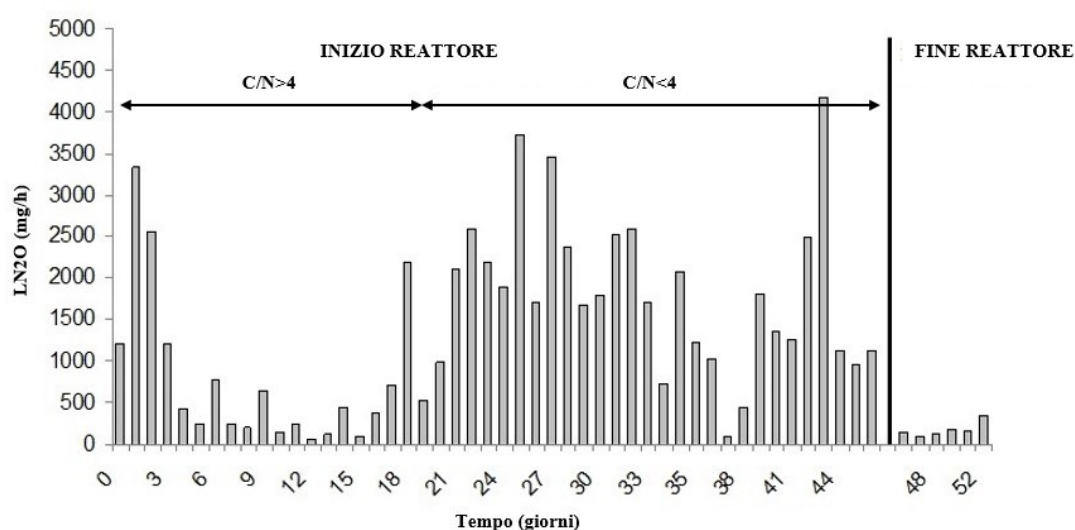


Figura 4.88 Carico di massa di N₂O emesso nel reattore di nitrificazione.

Le emissioni orarie di N₂O e la loro variazione giornaliera sono state analizzate (Figura 4.89). La dinamica delle emissioni è caratterizzata da una significativa variabilità diurna, come confermato anche da diversi studi (Aboobakar, 2013; Daelman, 2013; Rodriguez-Caballero, 2014). I flussi minimi giornalieri sono stati osservati tra le 03:00 e le 10:00, mentre un picco successivo si verifica tra le 18:00 e le 20:00. Ulteriori analisi sono state effettuate studiando le concentrazioni influenti di ammoniaca e COD, osservando valori maggiori di C/N durante le ore centrali della giornata (12:00-16:00) in corrispondenza di emissioni di N₂O minime. Ciò conduce alla conclusione che il rapporto influenza le emissioni di protossido di azoto durante il giorno.

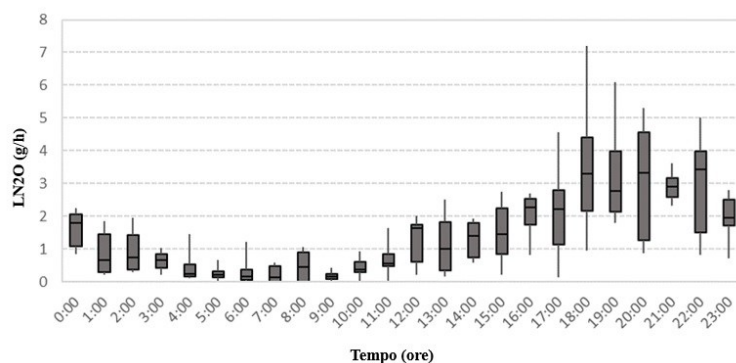


Figura 4.89 Variabilità diurna delle emissioni di N₂O.

Sono stati calcolati i diversi fattori di emissione (EF – *Emissions Factors*) per il protossido di azoto, distinguendo tra il periodo con C/N inferiore a 4, il periodo con C/N superiore a 4 e quando il campionamento è stato effettuato alla fine del reattore. Il fattore di emissione medio di N₂O è risultato compreso tra lo 0.001 e lo 0.005% dell'azoto totale presente

nell'influente, rispettivamente per il primo e per il secondo periodo. I fattori di emissione trovati sono risultati più bassi rispetto a quelli di altri studi che hanno monitorato le emissioni gassose in pieno scala. Ad esempio per un sistema Anaerobico-Anossico-Ossico, Yan (2014), hanno trovato fattori di emissione che vanno dallo 0.04 allo 0.1% dell'azoto totale influente. Allo stesso modo, Rodriguez-Caballero (2014), hanno riportato emissioni di N_2O pari allo 0.116% dell' N_{tot} influente in un reattore *plug-flow*. I carichi cumulativi di protossido di azoto emessi (LN_2O) e azoto totale influente (LTN) sono mostrati in Figura 4.90. Le emissioni minori sono osservate quando il rapporto influente C/N è superiore a 4. La diminuzione del rapporto porta a un aumento del protossido di azoto emesso (~5 volte) rispetto ai periodi con più alto rapporto C/N ($0.0505 \text{ gN}_2O/\text{kgTN}$). L'EF specifico per quantità di biomassa presente è risultato pari a 2.11 ± 0.98 e $5.01 \pm 2.09 \text{ mgN}_2O/\text{kgMLVSS/d}$, per il primo e il secondo periodo rispettivamente.

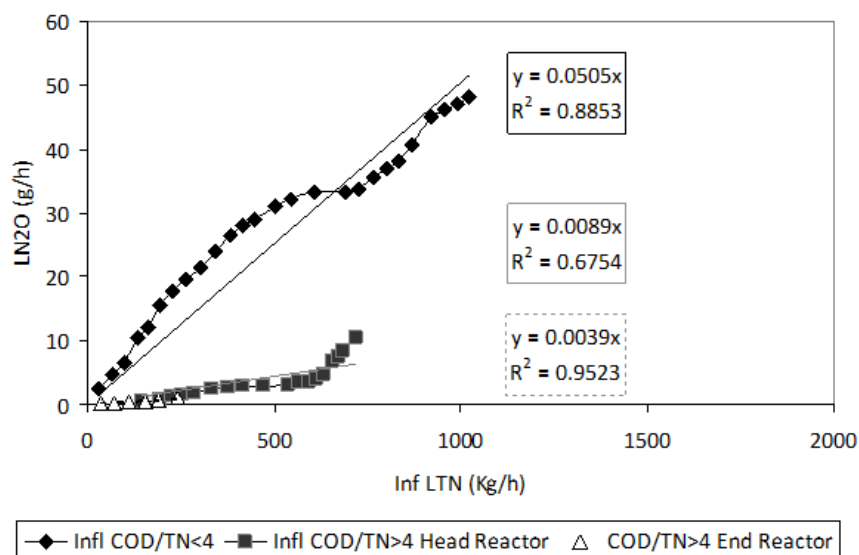
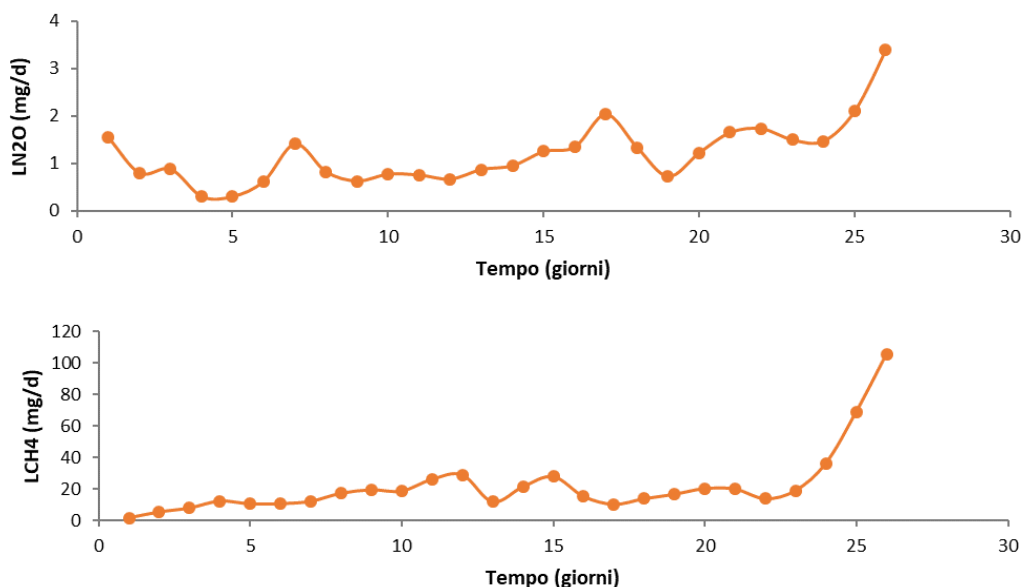


Figura 4.90 Carichi di massa cumulativi specifici per quantità di azoto totale influente al sistema.

Analogamente a quanto visto per l'impianto di Vallechiara si riportano i risultati delle misure in continuo effettuate sull'impianto pilota via nitrito. Al fine di permettere il confronto in termini di emissioni, ed essendo il processo via nitrito condotto in vasca unica a fasi alterne, sono stati elaborati i dati misurati nelle sole fasi aerobiche.



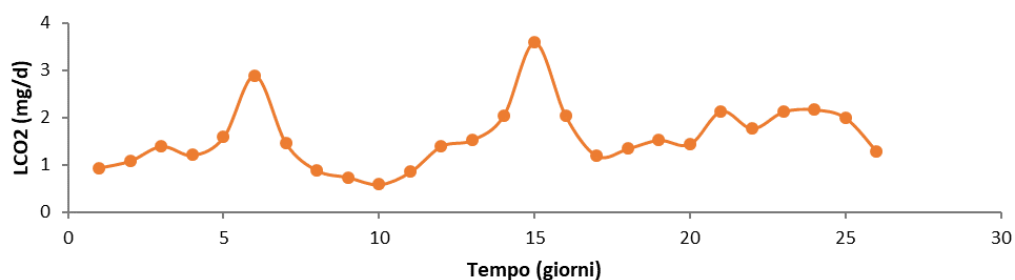


Figura 4.91 Carichi di massa ottenuti dal monitoraggio del processo via nitrito.

In Figura 4.91 troviamo gli andamenti dei carichi di massa nei 26 giorni di monitoraggio della piattaforma sperimentale. Date le piccole portate di aria fornita al sistema tali valori non sono direttamente confrontabili con quelli ottenuti dal processo tradizionale. Infatti come riportato in Tabella 4.72, i carichi di massa risultano notevolmente inferiori paragonati a quelli esposti in precedenza (Tabella 4.71).

Tabella 4.72 Sintesi dei carichi di massa ottenuti dal monitoraggio del processo via nitrito.

Fase	CO ₂	CH ₄	N ₂ O
	gCO ₂ /d	gCH ₄ /d	gN ₂ O/d
4	0.001±0.001	0.022±0.021	0.002±0.001

Il confronto può essere effettuato esprimendo tali valori mediante fattori di emissione specifici per substrato inquinante entrante e per quantità di biomassa presente nel sistema. L'emissione di protossido di azoto espressa come percentuale rispetto al carico di azoto totale entrante rappresenta in questo caso lo 0.0003%, impatto di un ordine di grandezza inferiore rispetto al sistema convenzionale analizzato. Il fattore di emissione cumulativo ottenuto, rappresentato dal coefficiente angolare della retta in Figura 4.92, è stato pari a 2.863 mgN₂O per ogni chilo di azoto totale entrante, mentre l'EF specifico per la biomassa è stato pari a 0.29 mgN₂O/kgMLVSS/d.

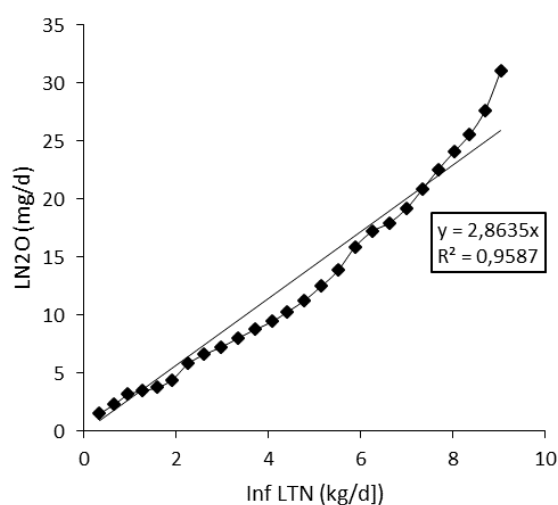


Figura 4.92 Carico di massa cumulativo specifico per quantità di azoto totale influente al sistema.

Confrontando i valori delle concentrazioni gas misurate, anch'esse ottenute mediando i dati dell'intero periodo di misura, si osserva come queste presentino lo stesso ordine di grandezza tranne nel caso della CO₂. Il refluo in ingresso all'impianto pilota risulta più carico di quello in ingresso al processo biologico tradizionale, soprattutto in termini di concentrazione di sostanza organica. Il motivo di tale differenza è da ricercare nel layout di processo dell'impianto di Valledara, infatti prima di raggiungere la vasca biologica il refluo è sottoposto a sedimentazione primaria dove gran parte della sostanza organica e una percentuale delle altre specie chimiche vengono rimosse con i solidi sedimentati, mentre l'influente dell'impianto pilota, come già detto, viene captato a valle dei soli pretrattamenti. In Tabella 4.73 vengono riportate le concentrazioni medie per i due processi.

Tabella 4.73 Confronto tra le concentrazioni medie misurate nei due processi considerati.

Processo	CO ₂	CH ₄	N ₂ O
	mg/m ³	mg/m ³	mg/m ³
predenitro-nitro	12.541	3.029	0.538
via nitrito	0.177	2.294	0.132

Considerando a questo punto i fattori di emissione cumulativi, l'influenza dovuta alle maggiori concentrazioni in fase liquida può essere descritta dal grafico in Figura 4.93. A parità di concentrazioni gassose, l'aumento delle concentrazioni liquide determina una minore inclinazione della retta a cui competerà un valore minore del coefficiente angolare.

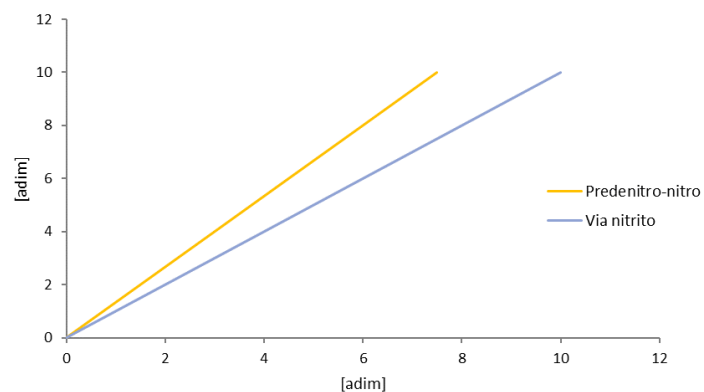


Figura 4.93 Influenza della concentrazione delle specie chimiche in ingresso sui fattori di emissione cumulativi.

5. Conclusioni

Il principale obiettivo del lavoro di tesi è stato quello di valutare i meccanismi che favoriscono l'avvio e la stabilità del processo via nitrito per il trattamento di reflui urbani a basso contenuto di azoto. Per valutare il potenziale di trasferibilità e l'applicabilità in piena scala di questa tecnologia processistica innovativa le attività sperimentali sono state condotte, in ogni fase, utilizzando substrati reali al fine di riprodurre così le reali condizioni ambientali e operative. Studiando selettivamente la combinazione dei diversi parametri in gioco si è cercato di comprendere quelli che maggiormente incidono sulle prestazioni del processo, cercando di velocizzare la fase di startup e ridurre progressivamente il dosaggio dei reagenti esterni necessari per il condizionamento della biomassa.

Il processo di rimozione dell'azoto tramite *short-cut nitrification* ha riscosso un elevato interesse negli ultimi anni, dovuto principalmente ai vantaggi rispetto ai consolidati trattamenti biologici; questo tipo di processo consente di risparmiare il 25% di fornitura di ossigeno in fase di aerazione e utilizza il 40% in meno di fonte di carbonio rispetto ai processi convenzionali, permettendo un minor consumo energetico e un risparmio economico.

La sperimentazione è stata suddivisa in tre parti, ognuna corrispondente a una configurazione di lavoro diversa. Ogni configurazione è stata preceduta da studi preliminari in laboratorio per poi passare alla validazione dei risultati ottenuti in scala dimostrativa all'interno della piattaforma sperimentale dell'Università Politecnica delle Marche. Inoltre, durante le fasi in scala pilota, attraverso il monitoraggio in continuo delle emissioni gassose si è cercato di comprendere i meccanismi di formazione e rilascio in atmosfera dei gas, incentrando l'attenzione soprattutto sul protossido di azoto (N_2O).

Il condizionamento delle comunità batteriche attraverso il controllo del pH e della concentrazione di ammoniaca direttamente nel primo reattore (Configurazione 1) ha permesso di ottenere un meccanismo di nitrificazione completamente via nitrito con elevate percentuali di NO_2 prodotte ($> 94\%$). Le condizioni applicate per l'inibizione dei batteri nitrificanti hanno comportato una concentrazione media di *Free Ammonia* nella prima vasca del comparto biologico pari a 2.0 $mgNH_4-N/L$ durante la fase 1.a, 1.7 $mgNH_4-N/L$ durante la fase 1.b e 1.5 $mgNH_4-N/L$ durante la fase 2. Il lungo mantenimento delle condizioni di inibizione della biomassa (fasi 1.a e 1.b) ha permesso di ottenere una notevole crescita delle velocità di nitrificazione passando da 0.045 a 0.458 $kgNH_4-N/kgMLVSS/d$, permettendo di raggiungere un notevole decremento in termini di protossido rilasciato (9.57 gN_2O/d – fase 1.a, 2.53 gN_2O/d – fase 1.b). Sempre nell'ambito della Configurazione 1, durante la fase 2, il tentativo di riduzione delle aggiunte di *chemicals* esterni per l'inibizione dei *Nitrite Oxidizing Bacteria*, ha comportato una parziale riduzione delle percentuali di nitrito prodotte ($> 77\%$) associata, dall'altro canto, ad una ulteriore sensibile riduzione delle emissioni di N_2O (0.63 gN_2O/d).

Dai risultati emergenti dall'insieme delle diverse prove preliminari che hanno portato all'adozione della Configurazione 2, eseguite analizzando il possibile uso di diverse sostanze basificanti e il dosaggio delle stesse sui diversi flussi del processo, è emerso che il condizionamento effettuato sul refluo influente permetteva un considerevole risparmio in termini di volumi di reagente da usare. All'interno della filiera di processo è stato aggiunto un piccolo reattore pensato appositamente per il dosaggio dei reagenti non più in modo diretto sulla biomassa del primo reattore ma sul refluo influente al sistema. La sperimentazione in piattaforma ha confermato i test di dosaggio svolti in laboratorio, consentendo un risparmio di soda quasi dell'80% e di ammoniaca considerevole, circa il 40% in meno rispetto alla precedente configurazione. Nonostante il condizionamento dell'influente (FA ~ 3.4 $mgNH_4-N/L$), all'interno delle vasche si è registrato un valore medio di 0.4 $mgNH_4-N/L$, decisamente troppo basso per poter esercitare un'efficace inibizione e spingere il processo verso la produzione di nitriti. Infatti in questa fase si sono raggiunte percentuali medie prossime al 10%, con grosse problematiche legate alla stabilità del processo. In questa fase per motivi legati alle basse concentrazioni di ammoniaca in vasca e al non condizionamento della biomassa sono stati misurati carichi di massa notevolmente più bassi (0.09 gN_2O/d) rispetto a quelli della Configurazione 1.

A questo punto, dato per assodato dalle esperienze precedenti che l'inibizione della frazione NOB è associata ai livelli di FA si è cercato di capire il peso inibente di ogni singolo fattore costituente la *Free Ammonia*. Ne è emerso che il pH e la temperatura non hanno un effetto inibente ulteriore rispetto a quello già incluso nella definizione dell'FA, quindi uno stesso livello di inibizione (compreso tra il 20 e il 30 %) della biomassa autotrofa NOB può essere raggiunto nei ranges di pH e temperature testati nella sperimentazione (7.53÷8.96, 10÷30°C). L'ammoniaca, invece, ha mostrato un effetto diversificato dalle altre due variabili, infatti a parità di FA, per basse concentrazioni di azoto ammoniacale ($< 15mgNH_4-N/L$) il processo di inibizione degli NOB non sembra essere incentivato in maniera apprezzabile mentre per concentrazioni maggiori gioca un ruolo chiave nella velocizzazione della nitrificazione. Successivamente si è passati ad analizzare l'influenza del tempo di contatto del fango a un fissato livello di FA. L'osservazione dei risultati delle prove cinetiche ha suggerito l'introduzione di un parametro definito tramite un semplice prodotto, il parametro $FA \cdot t_{mix}$ (min· $mgNH_4-N/L$). Si è osservato che per valori di $FA \cdot t_{mix}$ minori di un valore di soglia (~ 400 min· $mgNH_4-N/L$) la nitrificazione migliora in maniera proporzionale al parametro stesso, mentre per valori maggiori l'efficacia del processo sembra non dipendere più da esso e quindi assestarsi attorno ad un valore asintotico. La ricaduta di tali risultati preliminari è stata la progettazione e installazione di un reattore biologico di selezione a volume variabile che riuscisse a simulare le condizioni di lavoro ottimali individuate dagli studi in laboratorio applicando il condizionamento ad un processo in continuo e non di tipo batch (Configurazione 3). All'interno del reattore di selezione non è stato aggiunto ammonio idrossido ma solamente

idrossido di sodio per il controllo del pH. Si è cercato di lavorare ad un valore di FA all'interno del reattore tale per cui si realizzasse la condizione $FA \cdot t_{mix} \sim 400 \text{ min} \cdot \text{mgNH}_4\text{-N/L}$. La sperimentazione ha avuto una durata di molto estesa (196 d) durante i quali, superata una fase iniziale con velocità cinetiche di nitrificazione in diminuzione, una volta modificato il volume del selettore si sono registrate performances in aumento, raggiungendo $k_n \sim 0.350 \text{ mgNH}_4\text{-N/kgMLVSS/d}$ e $\% \text{NO}_2\text{-N/NO}_x\text{-N} \sim 25\%$. Una causa forse fondamentale per il mancato arricchimento della specie r-AOB nel processo studiato è imputabile alle alte concentrazioni di ossigeno disciolto che ha subito la biomassa durante le fasi di aerazione. È bene sottolineare come valori di k_n e % di nitriti simili ai risultati delle prove batch condotte in laboratorio, siano state raggiunte nel caso della piattaforma in corrispondenza di un prodotto $FA \cdot t_{mix}$ pari a circa $170 \text{ min} \cdot \text{mgNH}_4\text{-N/L}$. In ultima analisi, da quanto emerso dall'insieme delle prove di laboratorio e dalle esperienze di scale-up nella piattaforma sperimentale, si può riconoscere il ruolo centrale nell'inibizione dei batteri NOB della concentrazione di substrato ammoniacale, favorendo la selezione degli r-AOB a discapito dei K-AOB meno affini all'ammoniaca. Gli altri parametri considerati nella *Free Ammonia*, a parità di condizione inibente, non comportano un significativo miglioramento delle prestazioni. Il tempo di contatto è risultato decisivo nella gestione del processo, permettendo un considerevole risparmio economico dovuto ad una minore richiesta di reagenti, passando dagli iniziali 4.81 kgNaOH e $0.05 \text{ kgNH}_4\text{OH}$ per ogni m^3 di refluo trattato durante la Configurazione 1 ai 0.10 kgNaOH della Configurazione 3. Con riferimento alle emissioni gassose dal comparto biologico, il monitoraggio in continuo ha permesso di rilevare percentuali di emissione inferiori rispetto ai dati di letteratura. Una forte correlazione è stata trovata tra le emissioni di metano e anidride carbonica con il carico di massa entrante di COD e la concentrazione di DO in vasca, sottolineando il principale ruolo della frazione anossica al processo di emissione. Le emissioni di N_2O sono legate principalmente al maggior carico di ammoniaca in ingresso e all'accumulo di nitriti in fase liquida. Il lungo mantenimento delle condizioni di inibizione della biomassa ha permesso di ottenere una notevole crescita delle velocità di nitrificazione via nitrito le consentendo un notevole decremento in termini di protossido rilasciato.

Bibliografia

Abeling, U.; Seyfried, C.F.; 1992; Anaerobic-aerobic treatment of high strength ammonium wastewater nitrogen removal via nitrite. *Water Science and Technology*, 26, 107-1015.

Aboobakar, A.; Cartmell, E.; Stephenson, T.; Jones, M.; Vale, P.; Dotro, G.; 2013; Nitrous oxide emissions and dissolved oxygen profiling in a full-scale nitrifying activated sludge treatment plant. *Water Research*, 47, 524–534.

Anthonisen, A.C.; 1976; Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, 48(5), 835-852.

APAT, Italian greenhouse gas inventory 1990-2004 - National inventory report 2006, Romano, D.; Rocío Córdor, G., Contaldi, M.; De Lauretis, R.; Di Cristofaro, E.; Gaudioso, D.; Gonella, B.; Vitullo, M.; Italia.

APHA, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. (2005) 21st ed, AWWA and WEF, Washington DC, USA.

Bani Shahabadi, M.; Yerushalmi, L.; Haghighat, F.; 2009; Impact of process design on greenhouse gas (GHG) generation by wastewater treatment plants. *Water Research*, 43, 2679-2687.

Baumann, B.; Snozzi, M.; van der Meer, J.R.; Zender, A.J.B.; 1997; Development of Stable Denitrifying Cultures during Repeated Aerobic-Anaerobic Transient Period. *Water Research*, 31 (8), 1947-1954.

Beccari, M.; Marani, E.; Ramadori, R.; Tandoi, V.; 1983; Kinetic of dissimilatory nitrate and nitrite reduction in suspended growth culture. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, 55, 58-64.

Beck, J. L.; 2007; Optimization of biological nitrogen removal from fermented dairy manure using low levels of dissolved oxygen. Virginia Polytechnic Institute and State University.

Beline, F.; Martinez, J.; Chadwick, D.; Guizieu, F.; Coste, C.M.; 1999; Factors affecting nitrogen transformations and related nitrous oxide emissions from aerobically treated piggery slurry. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 73, 235-243.

Brouwer, H.; Klapwijk, A.; Keesman, J.; 1998; Identification of activated sludge and wastewater characteristics using respirometric batch-experiments. *Water Research*, 32, 1240-1254.

Cakira, F.Y.; Stenstrom, M.K.; 2005; Greenhouse gas production: a comparison between aerobic and anaerobic treatment technology. *Water Research*, 39 (17), 4197-4203.

Camilla, G.; Gunnell, D.; 2001; Development of nitrification inhibition assays using pure cultures of *Nitrosomonas* and *Nitrobacter*. *Water Research*, 35(2), 433-440.

Ciudad, G.; Rubilar, O.; Munoz, P.; Ruiz, G.; Chamy, R.; Vergara, C.; Jeison, D; 2005; Partial nitrification of high ammonia concentration wastewater as part of a shortcut biological nitrogen removal process. *Process Biochemistry*, 40, 1715-1719.

Colliver, B.B.; Stephenson, T.; 2000; Production of nitrogen oxide and dinitrogen oxide by autotrophic nitrifiers. *Biotechnology Advances*, 18 (3), 219-232.

Daelman, M.R.; van Voorthuizen, E.M.; van Dongen, U.G.; Volcke, E.I.; van Loosdrecht, M.C.; 2015; Seasonal and diurnal variability of N₂O emissions from a full-scale municipal wastewater treatment plant. *Science of the Total Environment*, 536, 1-11.

Daelman, M.R.J.; van Voorthuizen, E.M.; Van Dongen, L.; Volcke, E.I.P.; van Loosdrecht, M.C.M.; Methane and nitrous oxide emissions from municipal wastewater treatment—results from a long-term study. *Water Science and Technology*, 67, 2350-2355.

Das, 2011, Estimation of Greenhouse Gases Emissions from Biological Wastewater Treatment Plants at Windsor. Electronic Thesis and dissertation.

- Dytczaka, M.A.; Londryb, K.L.; Oleszkiewicz, J.A.; 2008; Activated sludge operational regime has significant impact on the type of nitrifying community and its nitrification rates. *Water Research*, 42 (8-9), 2320-2328.
- Foley, J.; de Haas, D.; Yuan, Z.; Lant, P.; 2010; Nitrous oxide generation in full-scale biological nutrient removal wastewater treatment plants. *Water Research*, 44, 831-844.
- Ford, P.C.; Fernandez, B.O.; Lim, M.D.; 2005; Mechanisms of reductive nitrosylation in iron and copper models relevant to biological systems. *Chemical Reviews*, 105, 2439-2455.
- Frijters, C.T.M.J.; Silvius, M.; Fischer, J.; Haarhuis, R.; Mulder, R.; 2007; Full-scale applications for both COD and nutrient removal in a CIRCOXs airlift reactor. *Water Science and Technology*, 55 (8-9), 107-114.
- Gabarró, J.; González-Cárcamo, P.; Rusalleda, M.; Ganigué, R.; Gich, F.; Balaguer, M.D.; Colprim, J.; 2014; Anoxic phases are the main N₂O contributor in partial nitrification reactors treating high nitrogen loads with alternate aeration. *Bioresource Technology*, 163, 92-99.
- Ge, S.; Peng, Y.; Qiu, S.; Zhu, A.; Ren, N.; 2014; Complete nitrogen removal from municipal wastewater via partial nitrification by appropriately alternating anoxic/aerobic conditions in a continuous plug-flow step feed process. *Water Research*, 55, 95-105.
- General Assembly of United Nations, Transforming our world: the 2030 Agenda for Sustainable Development. 2015.
- Hanaki, K.; Hong, Z.; Matsuo, T.; 1992; Production of nitrous oxide gas during denitrification of wastewater. *Water Science and Technology*, 26, 1027-1036.
- Hellinga, C.; Schellen, A.; Mulder, J.; van Loosdrecht, M.; Heijnen, J.; 1998; The SHARON Process: an Innovative Method for Nitrogen Removal from Ammonium-rich Waste Water. *Water Science and Technology*, 37(9), 135-142.
- Hidaka, T.; Yamada, H.; Kawamura, M.; Tsuno, H.; 2002; Effect of dissolved oxygen conditions on nitrogen removal in continuously fed intermittent aeration process with two tanks. *Water Science and Technology*, 45, 181-188.
- Hu, S.S.; 1990; Acute substrate-intermediate-product related inhibition of nitrifiers. M.S. Thesis. School of Civil Engineering, Purdue University, West Lafayette, Indiana, USA.
- Hu, Z.; Zhang, J.; Li, S.; Xie, H.; Wang, J.; Zhang, T.; Li, Y.; Zhang, H.; 2010; Effect of aeration rate on the emission of N₂O in anoxic-aerobic sequencing batch reactors (A/O SBRs). *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 109 (5) 487-491.
- Hua, Z.; Zhang, J.; Xie, H.; Li, S.; Wang, J.; Zhang, T.; 2011; Effect of anoxic/aerobic phase fraction on N₂O emission in a sequencing batch reactor under low temperature. *Bioresource Technology*, 102 (9), 5486-5491.
- Hwang, S.; Jang, K.; Jang, H.; Song, J.; Bae, W.; 2006; Factors affecting nitrous oxide production: a comparison of biological nitrogen removal processes with partial and complete nitrification. *Biodegradation*, 17, 19-29.
- IPCC, Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. Egglestone, S.; Buendia, L.; Miwa, K.; Ngara, T.; Tanabe, K.; 2006.
- IPCC, The physical science basis. Contribution of working group I to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change, USA: Cambridge University Press, 2013.
- ISPRA, Italian greenhouse gas inventory 1990-2015 – National inventory report 2017, Italia.
- Itokawa, H.; Hanaki, K.; Matsuo, T., 2001. Nitrous oxide production in high-loading biological nitrogen removal process under low COD/N ratio condition. *Water Research* 35 (3), 657-664.
- Jingrong, Z.; Shuying, W.; 2009; Effect of COD/N ratio on nitrous oxide production during denitrification using different electron acceptors. *Energy and Environment Technology*, 2, 511-514.

- Jubany, J.; Carrera, J.; Lafuente, J.; Baeza, J.A.; 2009; Expert control for a stable operation of a partial nitrification system to treat highly concentrated ammonium wastewater. Department of Chemical Engineering. Escola Tècnica Superior d'Enginyeria (ETSE). Universitat Autònoma de Barcelona (Spain).
- Kampschreur, M.J.; Picoreanu, C.; Tan, N.; Kleerebezem, R.; Jetten, M.S.M.; van Loosdrecht, M.C.M.; 2007; Unrevealing the source of nitric oxide emission during nitrification. *Water Environment Research*, 79 (13), 2499-2509.
- Kampschreur, M.J.; Temmink, H.; Kleerebezem, R.; Jetten, M.S.M.; van Loosdrecht, M.C.M.; 2009; Nitrous oxide emission during wastewater treatment. *Water Research* 43, 4093-4103.
- Khan, H.; Bae, W.; 2016 Optimized operational strategies based on maximum nitritation, stability, and nitrite accumulation potential in a continuous partial nitritation reactor. *Process Biochemistry*, 51 (8), 1058-1068.
- Kuai, L.; Verstraete, W.; 1998; Ammonium removal by the oxygenlimited autotrophic nitrification–denitrification system. *Applied and Environmental Microbiology*, 64 (11), 4500-4506.
- Laanbroek, H.J.; Gerards, S.; 1993; Competition for limiting amounts of oxygen between *Nitrosomonas europaea* and *Nitrobacter winogradskyi* grown in mixed continuous cultures. *Archives of Microbiology*, 159, 453-459.
- Law, Y.; Lant, P.; Yuan, Z.; 2011; The effect of pH on N₂O production under aerobic conditions in a partial nitritation system. *Water Research*, 45, 5934-5944.
- Law, Y.; Ni, B.-J.; Lant, P.; Yuan, Z.; 2012; N₂O production rate of an enriched ammonia-oxidizing bacteria culture exponentially correlates to its ammonia oxidation rate. *Water Research*, 46 (10), 3409-3419.
- Lee, Y.; Oleszkiewicz, J.A.; 2003; Effects of predation and ORP conditions on the performance of nitrifiers in activated sludge systems. *Water Research*, 37 (17), 4202-4210.
- Liang, H.; Yang, J.; Gao, D.; 2014; N₂O emission from nitrogen removal via nitrite in oxic-anoxic granular sludge sequencing batch reactor. *Journal of Environmental Sciences*, 26 (3), 537-541.
- Lu, H.; Chandran, K.; 2010; Factors promoting emissions of nitrous oxide and nitric oxide from denitrifying sequencing batch reactors operated with methanol and ethanol as electron donors. *Biotechnology and Bioengineering*, 106, 390-398.
- Metcalf & Eddy/Aecom (2014), *Wastewater Engineering – Treatment and Resource Recovery*, 5th ed. McGraw-Hill International Edition, New York, USA.
- Monteith, H.D.; Sahely, H.R.; MacLean, H.L.; Bagley, D.M.; 2005; A rational procedure for estimation of greenhouse-gas emissions from municipal wastewater treatment plants. *Water Environment Research*, 390-403.
- Munz, G.; Lubello, C.; Oleszkiewicz, J.A.; 2011; Factors affecting the growth rates of ammonium and nitrite oxidizing bacteria. *Chemosphere*, 83 (5), 720-725.
- Nowak, O.; Svardai, K.; Schweighofer, P.; 1995; The dynamic behaviour of nitrifying sludge systems influenced by inhibiting wastewater compounds. *Water Science and Technology*, 31 (2), 115-124.
- Okabe, S.; Satoh, H.; Watanabe, Y.; 1999; In situ analysis of nitrifying biofilms as determined by in situ hybridization and the use of microelectrodes. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(7), 3182-3191.
- Park, S.; Bae, W.; Rittmann, B.E.; 2010; Operational boundaries for nitrite accumulation in nitrification based on minimum/maximum substrate concentrations that include effects of oxygen limitation, pH, and free ammonia and free nitrous acid inhibition. *Environmental Science and Technology*, 44, 335-342.
- Peng, L.; Ni, B.-J.; Erler, D.; Ye, L.; Yuan, Z.; 2014; The effect of dissolved oxygen on N₂O production by ammonia-oxidizing bacteria in an enriched nitrifying sludge. *Water Research*, 66 12-21.
- Peng, Y.; Zhu, G.; 2006; Biological nitrogen removal with nitrification and denitrification via nitrite pathway. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 73, 15-26.
- Picoreanu, C.; van Loosdrecht, M.C.M.; Heijnen, J.J.; 1997; Modelling of the effect of oxygen concentration on nitrite accumulation in a biofilm airlift suspension reactor. *Water Science and Technology*, 36, 147-156.

- Pollice, A., Tandoi, V., Lestingi, C. 2002. Influence of aeration and sludge retention time on ammonium oxidation to nitrite and nitrate. *Water Res* 36(10):2541-2546.
- Quan, X.; Zhang, M.; Lawlor, P.G.; Yang, Z.; Zhan, X.; 2012; Nitrous oxide emission and nutrient removal in aerobic granular sludge sequencing batch reactors, *Water Research*, 46, 4981-4990.
- Rodriguez-Caballero, A.; Aymerich, I.; Poch, M.; Pijuan, M.; 2014; Evaluation of process conditions triggering emissions of green-house gases from a biological wastewater treatment system. *Science of the Total Environment*, 493, 384-391.
- Surmacz-Górska, J.; Cichon, A.; Miksch, K.; 1997; Nitrogen removal from wastewater with high ammonia nitrogen concentration via shorter nitrification and denitrification. *Water Science and Technology*, 36 (10), 73-78.
- Surmacz-Górska, J.; Cichon, A.; Miksch, K.; 1997; Nitrogen removal from wastewater with high ammonia nitrogen concentration via shorter nitrification and denitrification. *Water Science and Technology*, 36 (10), 73-78.
- Tonkovic, Z.; 1998; Energetics of enhanced biological phosphorus and nitrogen removal processes. *Water Science and Technology*, 38 (1), 177-184.
- Turk, O.; Mavinic, D.S.; 1987; Benefits of using selective inhibition to remove nitrogen from highly nitrogenous wastes. *Environmental Technology Letters*, 8, 419-426.
- Vadivelu, V.M.; Keller, J.; Yuan, Z.; 2007; Effect of free ammonia on the respiration and growth processes of an enriched *Nitrobacter* culture. *Water Research*, 41 (4), 826-834.
- van Kempen, R.; Mulder, J.W.; Uijterlinde, C.A.; van Loosdrecht, M.C.M.; 2001; Overview: full scale experience of the SHARON process for treatment of rejection water of digested sludge dewatering. *Water Science and Technology*, 44, 145-152.
- van Dongen, U.; Jetten, M.S.M.; van Loosdrecht, M.C.M.; 2001; The SHARON-Anammox process for treatment of ammonium rich wastewater. *Water Science and Technology*, 44 (1), 153-160.
- Wong-Chong, G.M.; Loehr, R.C.; 1978; Kinetics of microbial nitrification: nitrite-nitrogen oxidation. *Water Research*, 12, 605-609.
- Wu, J.; He, C.; van Loosdrecht, M.C.M.; Pérez, J.; 2016; Selection of ammonium oxidizing bacteria (AOB) over nitrite oxidizing bacteria (NOB) based on conversion rates. *Chemical Engineering Journal*, 304, 953-961.
- Wyffels, S.; van Hulle, S.W.H.; Boeckx, P.; Voleke, E.I.P.; van Cleemput, O.; van Rollenghem, P.A.; Verstraete, W.; 2004; Modelling and simulation of oxygen-limited partial nitrification in a membrane assisted bioreactor (MBR). *Biotechnology and Bioengineering*, 86, 531-542.
- Yan, X.; Li, L.; Liu, J.; 2014; Characteristics of greenhouse gas emission in three full-scale wastewater treatment processes. *Journal of Environmental Sciences*, 26, 256-263.
- Yang, Q.; Wang, S.; Yang, A.; Guo, J.; Bo, F.; 2007; Advanced nitrogen removal using pilot-scale SBR with intelligent control system built on three layer network. *Frontiers of Environmental Science and Engineering in China*, 1 (1), 33-38.
- Zheng, M.; Tian, Y.; Liu, T.; Ma, T.; Li, L.; Li, C.; Ahmad, M.; Chen, Q.; Ni, J.; 2015; Minimization of nitrous oxide emission in a pilot-scale oxidation ditch: Generation, spatial variation and microbial interpretation. *Bioresource Technology*, 179, 510-517.