

POLITECNICO DI MILANO

Facoltà di Ingegneria Civile, Ambientale e Territoriale

**Corso di Laurea Specialistica in Ingegneria per l'Ambiente e il
Territorio**

Indirizzo Tecnologie di Risanamento Ambientale



**TRATTAMENTI BIOLOGICI PER LA
POTABILIZZAZIONE DI ACQUE
CONTAMINATE DA NITRATO**

Relatore:

Prof. Manuela ANTONELLI

Correlatore:

Prof. Elena FICARA

Tesi di Laurea di:

Fabio Locatelli *Mat. 735496*

Anno Accademico 2009 – 2010

CAPITOLO 1

1. INTRODUZIONI E CONCLUSIONI	3
--	----------

CAPITOLO 2

2. LA DENITRIFICAZIONE BIOLOGICA.....	12
--	-----------

2.1 GENERALITÀ.....	12
---------------------	----

2.2 DENITRIFICAZIONE ETEROTROFA	15
---------------------------------------	----

2.2.1 Microbiologia	15
---------------------------	----

2.2.2 Metabolismo e stechiometria	15
---	----

2.2.3 Cinetiche.....	27
----------------------	----

2.2.4 Fattori ambientali che influenzano il processo	34
--	----

2.3 DENITRIFICAZIONE AUTOTROFA	35
--------------------------------------	----

2.3.1 Composti zolfo ridotti.....	36
-----------------------------------	----

2.3.1.1 Microbiologia.....	36
----------------------------	----

2.3.1.2 Metabolismo e stechiometria	37
---	----

2.3.1.3 Cinetiche	38
-------------------------	----

2.3.1.4 Fattori ambientali che controllano il processo.....	41
---	----

2.3.2 Denitrificazione autotrofa con ferro.....	42
---	----

2.3.3 Denitrificazione autotrofa con idrogeno.....	43
--	----

2.3.3.1 Microbiologia.....	43
----------------------------	----

2.3.3.2 Metabolismo e stechiometria	44
---	----

2.3.3.3 Cinetiche	45
-------------------------	----

2.3.3.4 Fattori ambientali che controllano il processo.....	53
---	----

CAPITOLO 3**3. CONFIGURAZIONI IMPIANTISTICHE PER I PROCESSI DI****BIODENITRIFICAZIONE57**

3.1 REATTORI A BIOMASSA ADESA57

3.1.1 Biofiltri sommersi.....59

3.1.2 Letti fluidizzanti (FBBR)62

3.2 REATTORI BIOLOGICI A MEMBRANA64

3.2.1 Reattori biologici a membrane a pressione imposta (pressure driven Membrane Bio-Reactor)66

3.2.2 Reattori biologici a membrana estrattiva (extractive membrane Bio - Reactor - EMBR) 69

3.2.3 Reattori biologica membrana a scambio ionico (Ion - Exchange Bio - Reactor)76

3.2.4 Reattori biologica membrana per il trasferimento di gas (gas transfer membrane Bioreactor)78

3.2.5 Conclusioni83

3.3 REATTORI BIOELETTROCHIMICI (BIOELETTROCHEMICAL REACTOR – BER).....85

3.3.1 Configurazioni dei BER87

3.3.2 Prestazioni dei reattori BER90

3.3.3 Conclusioni94

BIBLIOGRAFIA.....99

1 INTRODUZIONE E CONCLUSIONI

L'accumulo di nitrato nelle acque naturali destinate al consumo umano, rappresenta un problema da non sottovalutare e in costante crescita. L'attività agricola è un fattore fondamentale che influenza questo fenomeno di inquinamento. La contaminazione da fertilizzanti sintetici, usati in agricoltura, che percolano in falda o nei corpi idrici superficiali tramite lisciviazione, è molto diffusa ed è la fonte maggiore di problematiche relative alla presenza di nitrato nelle acque. Tuttavia, il nitrato, oltre l'utilizzo di fertilizzanti sintetici ed organici, derivanti dallo spargimento di letame e liquami di origine zootecnica, può contaminare, per altre vie, le acque, tramite sorgenti diffuse e puntuali, come: sversamenti di materia organica dovuti a rotture nel servizio di collettamento fognario o a pozzi perdenti, percolati di discarica non trattenuti.

Per quanto riguarda le acque potabili nell'allegato I parte B del Decreto Legislativo 31/2001, vengono riportati i valori limite di concentrazione di nitrato e nitrito che sono rispettivamente 50 mg NO₃⁻/l e 0,5 mg NO₂⁻ /l.

Inoltre deve essere soddisfatta la seguente condizione riportata nella nota 5 alla tabella di legge:

$$\frac{\left[\frac{NO_3}{30} + NO_2\right]}{3} \leq 1$$

Dove NO₃ e NO₂ rappresentano, rispettivamente, la concentrazione di nitrato e nitrito espressi in mg/l. Oltre a questo, come indicato nella nota 5, per acque provenienti da impianti di trattamento il limite massimo accettabile di nitrito nell'acqua potabile è di 0,10 mg NO₂⁻/l, anziché 0,50 mg NO₂⁻/l.

A titolo d'esempio, in figura 1.1 viene riportato lo stato della risorsa idrica sotterranea in Lombardia (dati ARPA) in riferimento allo standard di qualità individuato a livello comunitario: il pozzo risulta contaminato quando il valore medio annuo del contenuto di nitrato supera il valore limite di 50 mg/l mentre raggiunge la soglia di attenzione quando la concentrazione di nitrato supera il 75% del limite, anche se viene rispettato. Come si può

notare dal 2003 al 2008 la situazione dei corpi idrici sotterranei lombardi rispetto all'arricchimento in nitrato è complessivamente peggiorata.

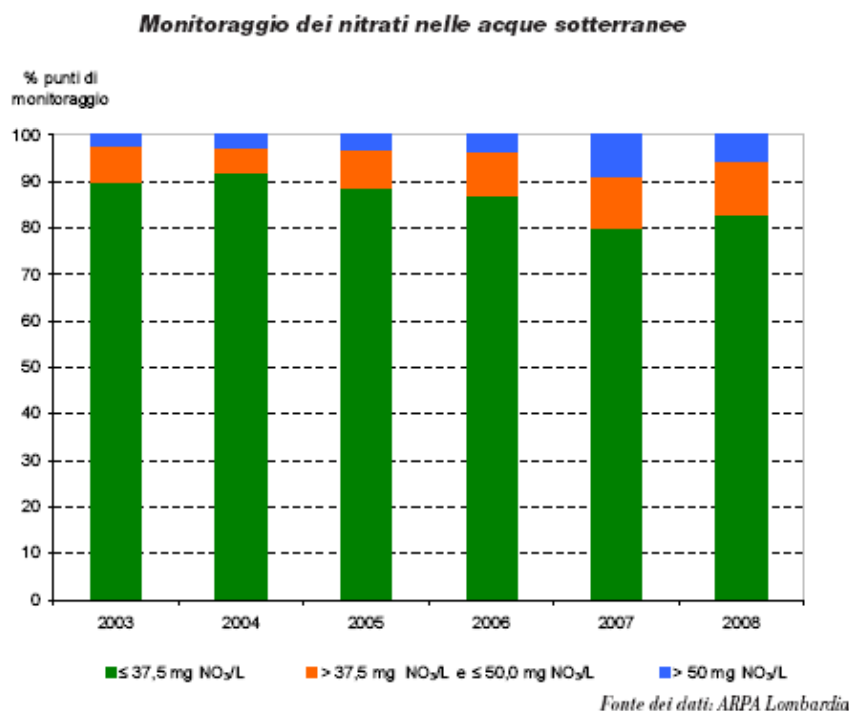


Figura 1.1 Situazione dello stato della risorsa idrica sotterranea della Lombardia dal 2003 al 2008 per quanto riguarda la contaminazione da nitrato; (*Fonte ARPA Lombardia, "rapporto sullo stato dell'ambiente 2008 - 2009"*).

La tossicità dello ione nitrato è legata alla possibilità concreta che, se ingerito, si possa ridurre a nitrito, che comporta numerosi effetti tossici per l' uomo e, specialmente, per i bambini. La pericolosità di questi inquinanti, è amplificata dal fatto che, una volta assunti, se entrano in contatto in un ambiente acido (come l'interno dello stomaco), possono formare composti, come le nitrosammine, che sono la causa dell'insorgenza di patologie cancerogene soprattutto nell'apparato digerente. Altri effetti imputabili a questi composti, sono fenomeni osservati sul lungo periodo, frutto di un'assunzione cronica, come: effetti nocivi alla tiroide, effetti sul comportamento, effetti mutageni, vasomotori e l'induzione di false allergie alimentari.

E' necessario, quindi, operare con specifici trattamenti per la rimozione di questi composti dalle acque per uso potabile.

Le principali possibilità di trattamento del nitrato ad oggi in uso sfruttano processi chimico – fisici di separazione dello ione disciolto nell'acqua da trattare, concentrandolo in salamoie. Tra i principali processi si annoverano:

- metodi a membrana, come osmosi inversa od elettrodialisi,
- tecnologie che utilizzano apposite resine a scambio ionico operanti in ciclo Cl⁻.

Queste tecnologie utilizzate su ampia scala sono tecnologie che comportano il problema non indifferente che l'inquinante non viene trasformato in un composto innocuo, ma viene separato dal flusso principale d'acqua e concentrato in una soluzione, denominata salamoia, che ha bisogno di essere appositamente smaltita implicando nella gestione del processo anche i costi legati allo smaltimento.

Interessanti, poiché non presentano tale problema, sono i trattamenti biologici che sfruttano processi naturali di riduzione biochimica del nitrato ad azoto gassoso.

In questo elaborato si sono di analizzati i diversi processi biologici di denitrificazione, presenti in natura, studiati per essere applicati a trattamenti di bio - denitrificazione delle acque potabili. Poi si sono trattate le principali configurazioni impiantistiche, già in uso a piena scala e quelle ancora in fase sperimentale.

I principali processi di denitrificazione biologica si possono suddividere in due principali categorie in funzione della fonte di carbonio utilizzata dai batteri:

- Processi eterotrofi, in cui i batteri sfruttano come fonte di carbonio per il loro metabolismo, carbonio organico,
- Processi autotrofi, in cui i batteri sfruttano come fonte di carbonio per il loro metabolismo, carbonio inorganico.

Nella tabella 1.1 vengono riportati i principali vantaggi e svantaggi che caratterizzano ciascuno dei due processi.

Tabella 1.1 Principali vantaggi e svantaggi dei processi di denitrificazione biologica eterotrofa ed autotrofa.

PROCESSO	VANTAGGI	SVANTAGGI
ETEROTROFO	<p>Processo già utilizzato in piena scala, ben noto.</p> <p>Permette alte velocità di rimozione del nitrato e alti rendimenti di rimozione.</p> <p>Fra i vari substrati quelli che consentono le prestazioni migliori sono i substrati liquidi: etanolo e metanolo perché permettono di raggiungere ottime prestazioni denitrificanti con bassi rapporti C/N.</p> <p>Possibilità di utilizzare substrati organici solidi, nei biofiltri, con la doppia funzione di supporto di crescita per la biomassa e fonte di carbonio organico per il metabolismo.</p> <p>Tempi di acclimatazione e quindi di avviamento del reattore più veloci che non per colture autotrofe.</p>	<p>Rilascio di carbonio organico nell'effluente trattato che può reagire nella fase di disinfezione con le sostanze utilizzate e produrre composti nocivi per l'uomo come i DBPs.</p> <p>Alta produzione della biomassa che può indurre al rilascio di quest'ultima nell'effluente trattato con conseguente contaminazione.</p> <p>Necessità di post trattamenti per eliminare la biomassa e il carbonio organico non trattenuto dal reattore.</p>
AUTOTROFO	<p>Bassa produzione di biomassa con conseguente minore fuga di batteri nell'effluente trattato.</p> <p>Processo che non necessita la somministrazione di carbonio organico, ma sfrutta come fonte di carbonio, carbonio inorganico che nel caso di acque di falda è solitamente presente in quantità adeguate.</p> <p>Zolfo e idrogeno, principali donatori di elettroni nei processi di bio – denitrificazione autotrofa, sono elementi caratterizzati da un basso costo</p> <p>Se si sfrutta un processo autotrofo che utilizza idrogeno come donatore di elettroni, esiste la possibilità di produrlo tramite il processo di idrolisi.</p> <p>.</p>	<p>Si raggiungono velocità di denitrificazione minori rispetto a quella eterotrofa.</p> <p>Processo ancora in fase sperimentale. Non si conoscono concretamente le conseguenze in un impianto in piena scala.</p> <p>Se si usa zolfo, il rilascio di solfiti nell'effluente trattato può alterare la qualità organolettica dell'acqua</p> <p>L'idrogeno è un elemento altamente esplosivo che comporta un alto rischio di incidenti.</p> <p>I processi autotrofi alterano le condizioni di pH dell'ambiente in cui il processo si sviluppa perciò si necessita dell'aggiunta di una sostanza tampone che riequilibri il pH.</p> <p>Lunghi tempi di adattamento e acclimatazione della biomassa e conseguenti tempistiche elevate per l'avviamento del reattore</p>

Le principali configurazioni impiantistiche che sfruttano i processi di denitrificazione biologica si articolano in quattro tipologie:

- Biofiltri sommersi,
- Reattori biologici a letto fluidizzato (FBBR, Fluidized Bed Biological Reactor),
- Trattamenti biologici che utilizzano membrane (MBR, Membrane Biological Reactor),
- Reattori bioelettrochimici (BER Bio Elettrochemical Reactor).

I trattamenti biologici uniti all'utilizzo di membrane possono ulteriormente suddividersi in configurazioni distinte caratterizzate dalla tipologia di membrana utilizzata:

- Pressure driven MBR, ovvero reattori biologici uniti ad una membrana che sfrutta una pressione imposta come forza motrice del processo filtrante,
- Ion – exchange MBR (I – E MBR), ovvero processo biologico che sfrutta l'utilizzo di una particolare membrana perm – selettiva (a scambio ionico) che permette il passaggio solo di anioni o cationi,
- Gas – transfer MBR, ovvero un processo biologico unito ad una particolare membrana che permette il passaggio dei substrati gassosi, all'interno del reattore,
- Extractive MBR, ovvero un reattore biologico unito ad una membrana che permette il passaggio nel reattore biologico del nitrato sfruttando il gradiente di concentrazione tra acqua del reattore e acqua trattata.

Le configurazioni impiantistiche MBR che sfruttano pressioni imposte e i biofiltri sommersi, sono le uniche configurazioni che ad oggi vengono adottate per trattamenti a piena scala, in quanto sono tecnologie consolidate, soprattutto i bio - filtri, e di cui si hanno riscontri concreti del loro corretto funzionamento. Le altre tipologie di configurazione invece sono tecnologie applicate solo su scala di laboratorio e che presentano ancora molte incertezze e punti deboli da risolvere.

In tabella 1.2 sono riportati i principali vantaggi e svantaggi per ciascuna tipologia impiantistica. Vengono trattati come primi i vantaggi e gli svantaggi dei bio – filtri sommersi e delle membrane funzionanti a pressione imposta per evidenziare il vantaggio comune di essere le configurazioni che già sono applicate a piena scala.

Tabella 1.2 Svantaggi e Vantaggi delle principali configurazioni impiantistiche che sfruttano il processo di denitrificazione biologica.

CONFIGURAZIONE		VANTAGGI	SVANTAGGI
BIOFILTRI SOMMERSI		<p>Tecnologia molto studiata con configurazioni già operanti a piena scala (BIOSTYR e BIOFOR).</p> <p>Presenza minima di biomassa nell'effluente trattato, maggiori concentrazioni di biomassa nel reattore e non necessita di una fase di sedimentazione secondaria, a differenza di trattamenti a biomassa sospesa.</p> <p>Risparmio volumetrico per la compattezza delle dimensioni.</p> <p>Bassi tempi di residenza idraulica.</p> <p>Processo che unisce la funzione di reattore biologico con la funzione di filtrazione.</p> <p>Costi contenuti del materiale di riempimento.</p> <p>Possibilità di utilizzare substrato solido come materiale di riempimento che ha la doppia funzione di supporto alla crescita dei batteri e di fonte di substrato.</p>	<p>Concentrazioni di biomassa (e carbonio organico se si sfrutta il processo eterotrofo) nell'effluente basse, rispetto ai trattamenti con biomassa sospesa, ma non trascurabili, da non richiedere la necessità di post trattamenti per migliorare la qualità dell'acqua.</p> <p>Configurazione che necessita di una fase periodica di controlavaggio per il controllo delle perdite di carbonio associate alla crescita di biomassa.</p>
MBR	A PRESSI ONE IMPOST A	<p>Tecnologia più studiata rispetto alle altre tecnologie che sfruttano membrane con applicazioni e riscontri anche su impianti a piena scala.</p> <p>La membrana consente di trattenere la biomassa nel reattore senza che scappi nell'effluente.</p> <p>Mantenimento all'interno del reattore di una concentrazione di biomassa elevata.</p> <p>Alleggerimento consistente dei trattamenti a valle (affinamento e disinfezione finale) grazie alle capacità filtranti e disinfettanti della membrana, con conseguente minor ingombro planimetrico</p>	<p>Può svilupparsi un problema potenziale di breakthrough per quanto riguarda la fonte di carbonio.</p> <p>Costi considerevoli di pompaggio, soprattutto per la configurazione side – stream.</p> <p>Necessità di periodici lavaggi per evitare l'insorgere di fenomeni di imbrattamento e sporcanti che potrebbero compromettere il funzionamento ottimale dell'impianto.</p> <p>Costi aggiuntivi di aereazione per il controllo del fouling di membrana.</p> <p>Costo della membrana.</p> <p>Elevati consumi energetici.</p>

	<p>dell'impianto.</p> <p>Indipendenza dalle caratteristiche di sedimentabilità del fango, filamentosi e bulking.</p> <p>Alte [C] di SST trattenute nel reattore.</p> <p>A parità di volume, allungamento dell'età del fango.</p>	
EXTRA CTIVE (estrattiva)	<p>Ritenzione della biomassa.</p> <p>Capacità di diffondere nel reattore il nitrato restituendo un effluente denitrificato senza che l'acqua trattata entri in contatto con le colture batteriche.</p>	<p>Richiesta di ulteriori processi di affinamento a valle per migliorarne la qualità (disinfezione, colore, torbidità).</p> <p>Elevata possibilità di brekthrough per quanto riguarda la fonte di carbonio.</p> <p>Rischio di possibile imbrattamento (fouling).</p> <p>Costi di pompaggio e della membrana, nonché materiale delicato e soggetto a facili rotture e malfunzionamenti.</p> <p>Processo ancora in fase molto sperimentale.</p>
ION – EXCHANGE (a scambio ionico)	<p>Le membrane perm – selettive riducono significativamente i rischi di breakthrough per quanto riguarda la fonte di carbonio.</p> <p>Capacità di ritenzione della biomassa</p>	<p>Necessità di post trattamenti a valle per aumentare la qualità dell'acqua trattata (disinfezione ed affinamento).</p> <p>Processo complesso di non facile gestione per la possibilità del rilascio nell'acqua trattata di anioni che possono alterarne le qualità organolettiche (solfati) e per la delicatezza della membrana.</p> <p>Poca chiarezza sulla problematica del fouling .</p> <p>Costi più elevati rispetto ad altre tipologie di membrana e delicatezza del materiale (bassa prospettiva di vita).</p> <p>Costi di pompaggio da considerare.</p> <p>Processo ancora in fase molto sperimentale</p>

	<p>GAS – TRANSFER (membrane che consentono il passaggio di gas)</p>	<p>Possibilità di utilizzo di donatori di elettroni e a basso costo (come H₂).</p> <p>Basso produzione di biomassa, in quanto la configurazione impiantistica è utilizzata per processi di bio – denitrificazione autotrofa.</p> <p>Alta efficienza (99 – 100%) nel trasferimento del substrato gassoso nel reattore che porta a buone rese di rimozione del nitrato rispetto ad altre configurazioni impiantistiche che utilizzano processi di denitrificazione biologica con idrogeno.</p>	<p>Richiesta di processi aggiuntivi a valle per migliorare la qualità dell’effluente (disinfezione ed affinamento).</p> <p>Possibilità dell’instaurarsi del fenomeno di breakthrough per la biomassa.</p> <p>Possibilità dell’instaurarsi di fenomeni di imbrattamento (fouling) che potrebbero limitare ed impedire il trasferimento di massa attraverso la membrana.</p> <p>Rischi di incidenti (esplosioni) causati dal processo di dissoluzione dell’idrogeno nell’acqua.</p> <p>Lunghi tempi di avviamento del reattore dovuti all’utilizzo di colture autotrofe.</p> <p>Elevati costi della membrana, delicatezza del materiale e bassa aspettativa di vita.</p> <p>Processo ancora in fase molto sperimentale</p>
<p>FBBR</p>		<p>Volumetrie di spazio occupato minori che non i reattori a biomassa sospesa e concentrazioni di biomassa, maggiori che portano a prestazioni migliori.</p> <p>Materiale di riempimento poco costoso e facilmente reperibile.</p> <p>Fasi limitate di contro lavaggio del materiale di supporto grazie alle alte velocità di acqua.</p>	<p>Possibilità di rilascio di biomassa e carbonio organico nell’effluente trattato, conseguente necessità di post – trattamenti.</p> <p>Costi di pompaggio dovuti alla necessità di imporre elevate velocità dell’acqua per permettere la fluidificazione del letto.</p>
<p>BER</p>		<p>Non c’è la necessità di fornire il substrato esternamente, perché viene prodotto direttamente dai catodi del reattore.</p> <p>Per configurazioni multi – catodo si possono raggiungere efficienze elevate e bassi HRT.</p> <p>Non si producono eluati di processo da dover smaltire.</p> <p>Facilità di gestione operativa.</p> <p>Possibilità di combinare il processo BER con un processo di</p>	<p>Incidenza sui costi di esercizio dovuti al consumo di energia.</p> <p>Mancanza di modelli matematici di previsione e di dimensionamento adeguati.</p> <p>Tecnologia ancora in una fase molto sperimentale.</p> <p>Non si conoscono ancora con certezza quali tipologie di materiali e quali tipologie di configurazioni è meglio utilizzare (per il reattore, gli elettrodi ecc.)</p>

	<p>filtrazione a membrana per poter trattenere nel reattore la biomassa ed ottenere un effluente migliore.</p> <p>Possibilità di riempire gabbie di elettrodi con materiale di supporto (GAC) per aumentare la superficie specifica di contatto per la crescita della biomassa.</p>	<p>Processo non idoneo per acque contaminate da metalli pesanti.</p> <p>Necessità di somministrare sostanze tampone per riequilibrare il pH che altrimenti andrebbe ad influenzare negativamente il processo denitrificante.</p>
--	---	--

2 LA DENITRIFICAZIONE BIOLOGICA

2.1 Generalità

Oltre alle tecniche chimico – fisiche, che solitamente vengono utilizzate per la rimozione del nitrato dalle acque di falda o superficiali, esistono altre tipologie di trattamenti che utilizzano metodi biologici. Questi trattamenti sfruttano la capacità delle popolazioni batteriche di trasformare in azoto gassoso il nitrato.

In natura l'azoto passa dai vari comparti ambientali seguendo un ciclo biogeochimico, denominato ciclo dell' azoto (figura 2.1, per ammonificazione si intende il processo assimilativo). Il ciclo descrive, in funzione dei diversi stati di ossidazione in cui si trova l'atomo d'azoto, la via e le tipologie di reazioni biochimiche che subisce per passare da determinati comparti ad altri (Hiscoc et al., 1991).

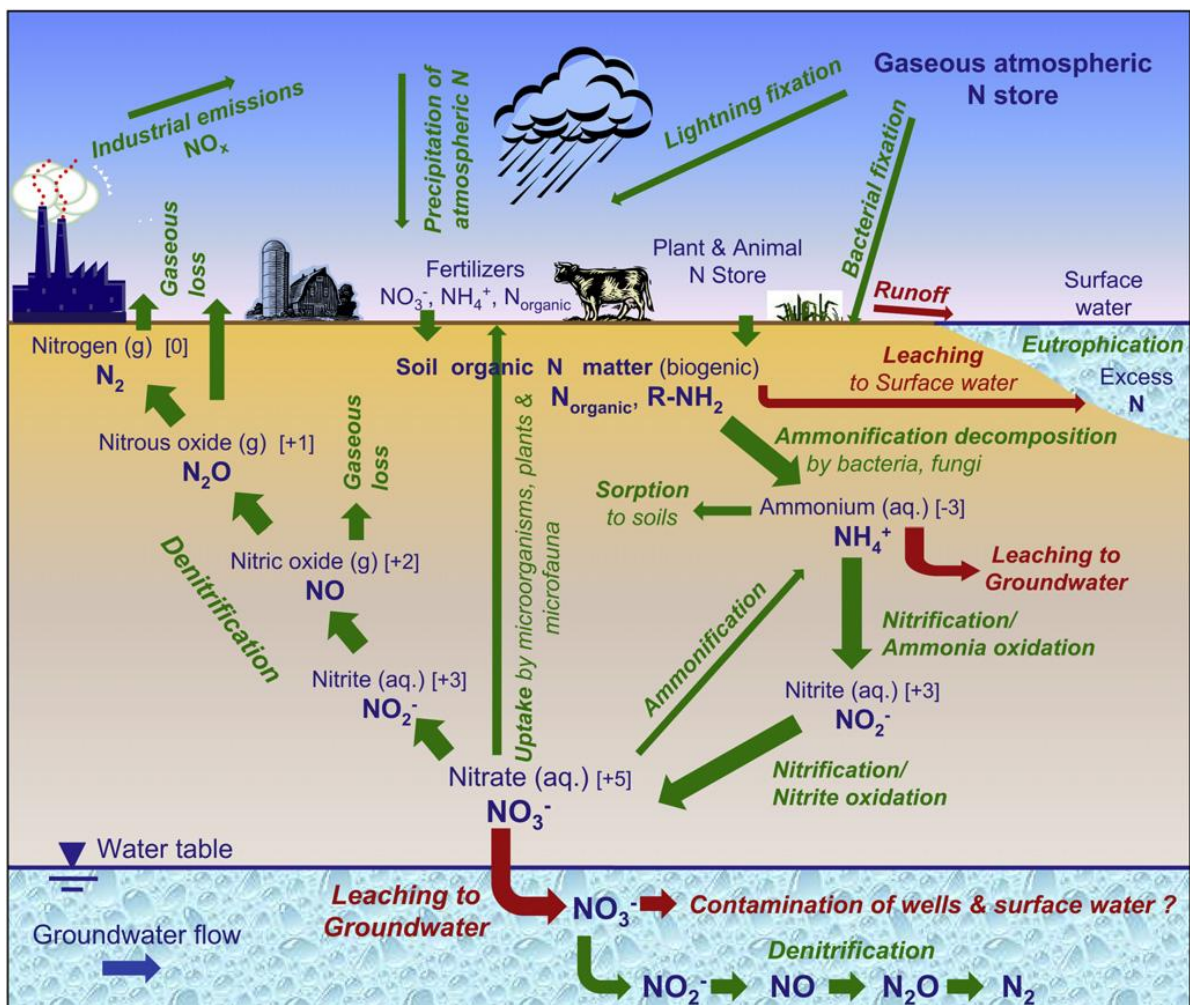


Figura 2.1 Ciclo biogeochimico dell' azoto

I trattamenti biologici di denitrificazione sfruttano una fase di questo (denitrificazione) ciclo per rimuovere il nitrato disciolto nelle acque e trasformarli in azoto molecolare rilasciandolo nell'atmosfera. Durante questi trattamenti, le condizioni ambientali del processo sono mantenute dall'uomo in modo tale da ottenere un'efficienza di riduzione elevata in tempi accettabili.

Gli attori di questi processi sono tipologie di batteri classificati come denitrificanti. Tali batteri, in condizioni di mancanza di ossigeno libero nell'ambiente (condizioni di anossia), sono in grado di utilizzare l'ossigeno del nitrato come accettore di elettroni. Questo processo di respirazione genera ATP (adenosina trifosfato) e quando gli elettroni vengono trasferiti dal donatore all'accettore viene liberata energia, utilizzata dai batteri per produrre nuova biomassa, oltre che alla sussistenza di quella già presente (*Gómez et al., 2000*).

Le condizioni di anossia sono differenti dalle condizioni di anaerobiosi, in quanto le vie biochimiche del trasporto di elettroni nei batteri denitrificanti sembrano essere le stesse che per l'O₂ tranne per un solo enzima; quindi questi batteri possono usare indistintamente O₂ o NO₃⁻ come accettore di elettroni a seconda dell'ambiente in cui si trovano senza difficoltà critiche di acclimatazione (*Vit Mateju et al., 1992*). La preferenza fra le due molecole ricade sempre sull'ossigeno perché garantisce una maggiore resa energetica. Infatti, ad esempio, per ogni mole di substrato carbonioso (glucosio) si producono 570 kcal durante la denitrificazione (accettore di elettroni NO₃⁻), mentre si producono 686 kcal se si è in fase aerobica.

Perciò i batteri trasformano le molecole di NO₃⁻ sia per ricavarne energia tramite un processo di riduzione disassimilativa che rilascia N gassoso, sia tramite un processo di riduzione assimilativa che utilizza l'azoto del Nitrato come elemento costituente della biomassa all'interno di proteine e acidi nucleici (*Gómez et al., 2000*).

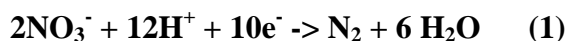
Queste tipologie di batteri, che ricavano l'energia necessaria al proprio metabolismo sfruttando reazioni di ossido – riduzione, sono batteri di tipo chemiotrofo.

La denitrificazione biologica (riduzione del nitrato ad azoto gassoso) è un processo che avviene in quattro distinte fasi:



Ciascuna di queste fasi è catalizzata da uno specifico sistema di enzimi che permette la reazione e fa sì che gli elettroni fluiscano dal donatore all'accettore (*Vit Mateju et al., 1992*).

La reazione globale di riduzione del nitrato può essere sintetizzata come segue (che non tiene conto del donatore di elettroni):



Le tipologie di batteri che sono in grado di operare il processo di denitrificazione possono essere classificate in due principali categorie in funzione della tipologia di substrato carbonioso che utilizzano.

I batteri denitrificanti che utilizzano, per il metabolismo, carbonio di origine organica si definiscono eterotrofi, o *chemiorganotrofi*, mentre quelli che sfruttano carbonio di origine inorganica (solitamente CO₂ o bicarbonato) come fonte carboniosa sono definiti autotrofi, o *chemiolitotrofi*.

In tabella 2.1 sono riportati i generi di batteri conosciuti, che contengono al loro interno delle specie denitrificanti

Tabella 2.1 Generi di batteri che contengono al loro interno specie denitrificanti; (Vit Mateju et al., 1992).

<i>Achromobacter</i>	<i>Halomonas</i>
<i>Acinetobacter</i>	<i>Hyphomicrobium</i>
<i>Aeromonas</i>	<i>Janthinobacterium</i>
<i>Alcaligenes</i>	<i>Neisseria</i>
<i>Aquaspirillum</i>	<i>Paracoccus (Micrococcus)</i>
<i>Azospirillum</i>	<i>Propionibacterium</i>
<i>Bacillus</i>	<i>Pseudomonas</i>
<i>Beggiatoa</i>	<i>Rhizobium</i>
<i>Chromobacterium</i>	<i>Rhodobacter (Rhodopseudomonas)</i>
<i>Clostridium</i>	<i>Thiobacillus</i>
<i>Desulfovibrio</i>	<i>Thiosphaera</i>
<i>Erythrobacter</i>	<i>Vibrio</i>
<i>Gallionella</i>	<i>Xanthomonas</i>
<i>Halobacterium</i>	

Nei paragrafi seguenti vengono presentate in dettaglio le due diverse tipologie di processi di denitrificazione, analizzandone la microbiologia, la stechiometria, la cinetica che le caratterizza e i vari fattori ambientali che governano e influenzano il processo.

2.2 Denitrificazione eterotrofa

La denitrificazione eterotrofa richiede, per la respirazione e la crescita dei batteri, una fonte di carbonio organico come donatore di elettroni.

2.2.1 Microbiologia

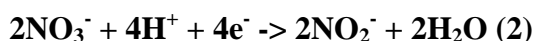
Il genere di batteri che comprende specie eterotrofe (chemiorganotrofe) denitrificanti più diffuso è *Pseudomonas*, che comprende in particolare la specie *Pseudomonas Denitrificans*. Altre specie che facilmente si possono trovare in colture batteriche cresciute in condizioni di anossia e in presenza di carbonio organico sono: *Paracoccus Denitrificans* e *Hyphomicrobium sp.*

2.2.2 Metabolismo e stechiometria

Per quanto concerne il metabolismo, i batteri sfruttano determinate tipologie di enzimi da loro sintetizzati per poter ridurre il nitrato fino ad azoto gassoso.

La sintesi degli enzimi è un processo altamente regolato.

All'interno del citoplasma dei batteri, viene prodotto l'enzima nitrato riduttasi (NAR), che permette la riduzione del NO_3^- (stato di ossidazione: +5) a NO_2^- (stato di ossidazione: +3). NO_3^- viene trasportato all'interno della membrana cellulare, dove avviene la reazione di riduzione e, per ogni NO_3^- trasportato nel citoplasma, viene rilasciata una molecola di NO_2^- prodotta, che verrà poi ulteriormente ridotta nella zona esterna alla membrana cellulare. La formula stechiometrica della reazione di riduzione del nitrato a nitrito è:



Nello spazio periplasmatico (Figura 3.2), parte esterna alla membrana cellulare, avvengono le altre tre fasi di riduzione ad N_2 per evitare che gli intermedi gassosi (NO e N_2O) interferiscano con l'attività cellulare. Con l'utilizzo dell'enzima nitrito riduttasi (NIR), NO_2^- viene ridotto a

NO (stato di ossidazione: +2). L'attività del NIR viene decisamente inibita dalla presenza di ossigeno. La stechiometria della reazione di riduzione è:

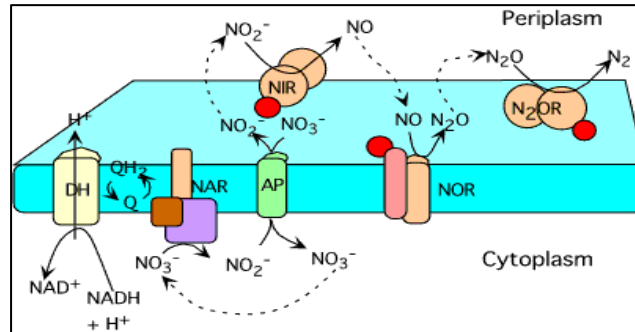
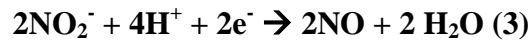
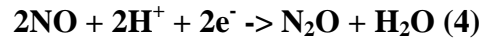
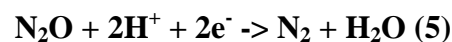


Figura 2.2 Figura illustrativa che schematizza la presenza degli enzimi nella membrana cellulare; (Vit Mateju et al., 1992).

Successivamente con l'ausilio dell'enzima ossido nitrico riduttasi (NOR), che risiede nella membrana citoplasmatica, avviene la trasformazione di NO a N₂O (protossido di azoto, stato di ossidazione: +1). La formula stechiometrica che descrive la reazione di riduzione da monossido di azoto a protossido è:



Infine, l'enzima ossido nitroso riduttasi (N₂OR) converte N₂O ad N₂ (stato di ossidazione: 0), completando la reazione di denitrificazione. L'equazione stechiometrica di quest'ultima reazione è:



Nelle fasi di trattamento di acque che non presentano adeguati quantitativi di carbonio organico, per poter garantire che il processo di crescita e respirazione eterotrofa avvenga nelle condizioni di massima efficienza, è necessario fornire, alla popolazione batterica, una fonte di carbonio facilmente assimilabile.

Nella rimozione del nitrato dalle acque vengono utilizzati sia composti semplici che complessi del carbonio, ma è risaputo che le fonti di carbonio che favoriscono maggiormente la rimozione dell'azoto sono quelle che derivano da composti semplici (Vit Mateju et al., 1992). Quindi la denitrificazione è influenzata non solo dalla quantità di carbonio presente, ma anche dalla

qualità del donatore di elettroni. La tipologia e la quantità somministrata della fonte di carbonio influenza anche la completezza della reazione e quindi la formazione di intermedi.

Esiste una ampia varietà di composti organici che vengono usati, quali: metanolo, etanolo, glucosio, acetato, acido aspartico o acido formico, e anche diversi scarti di processi industriali quali: melasse, siero o scarti di distilleria (*Vit Mateju et al., 1992*).

Ovviamente la scelta del substrato adeguato deve essere effettuata considerando vari aspetti:

- l'incidenza del costo della fonte di carbonio sulla gestione dell'impianto,
- la presenza di industrie vicine che possano fornire del substrato (prodotto come scarto di processo),
- la quantità necessaria,
- l'eventuale presenza di residui tossici nell'acqua trattata,
- il grado di completezza delle reazioni e la stabilità,
- l'efficienza sul processo di denitrificazione,
- il grado di consumo durante il processo di denitrificazione,
- la sicurezza e la maneggevolezza nelle fasi di stoccaggio e utilizzo.

Nella tabella 2.2 vengono riportate le reazioni stechiometriche di denitrificazione eterotrofa in funzione di alcuni substrati carboniosi.

Tabella 2.2 Reazioni stechiometriche di denitrificazione eterotrofa in funzione della fonte di carbonio organico considerato.

substrato	stechiometria catabolismo	stechiometria	fonte
etanolo	$\text{NO}_3^- + 0,42 \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} \rightarrow 0,83 \text{HCO}_3^- + 0,17 \text{OH}^- + 0,75 \text{H}_2\text{O} + 0,5 \text{N}_2$	$\text{NO}_3^- + 0,613 \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} \rightarrow 0,102 \text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2 + 0,714 \text{CO}_2 + 0,286 \text{OH}^- + 0,980 \text{H}_2\text{O} + 0,449 \text{N}_2$	<i>Lewandowski et al., 1985;</i> <i>Hamsch et al., 1989</i>
metanolo	$\text{NO}_3^- + 0,83 \text{CH}_3\text{OH} \rightarrow 0,5 \text{N}_2 + 0,83 \text{CO}_2 + 1,2 \text{H}_2\text{O} + \text{OH}^-$	$\text{NO}_3^- + 1,1 \text{CH}_3\text{OH} + \text{H}^+ + 0,24 \text{H}_2\text{CO}_3 \rightarrow 0,078 \text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N} + 0,46 \text{N}_2 + 0,1 \text{CO}_2 + 2,427 \text{H}_2\text{O}$	<i>Gómez et al., 2000</i>
acido acetico	$\text{NO}_3^- + 0,625 \text{CH}_3\text{COOH} \rightarrow 1 \text{HCO}_3^- + 0,25 \text{CO}_2 + 0,75 \text{H}_2\text{O} + 0,125 \text{N}_2$	$\text{NO}_3^- + 0,819 \text{CH}_3\text{COOH} \rightarrow 0,068 \text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2 + \text{HCO}_3^- + 0,301 \text{CO}_2 + 0,902 \text{H}_2\text{O} + 0,466 \text{N}_2$	<i>Hamsch et al., 1989; Lemoine et al., 1988</i>
glucosio	$\text{NO}_3^- + 0,36 \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 0,18 \text{NH}_4^+ + 0,82 \text{H}^+ \rightarrow 0,18 \text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2 + 0,5 \text{N}_2 + 1,25 \text{CO}_2 + 2,28 \text{H}_2\text{O}$	ND	<i>Henze et al., 1991</i>
propanolo	$\text{NO}_3^- + 0,278 \text{C}_3\text{H}_7\text{OH} \rightarrow 0,5 \text{N}_2 + 0,833 \text{CO}_2 + 0,611 \text{H}_2\text{O} + \text{N}_2$	ND	<i>Lewandowski et al., 1985</i>
cellulosa	$n \text{NO}_3^- + 0,21 (\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n \rightarrow 0,25n \text{CO}_2 + 0,54n \text{H}_2\text{O} + 0,5n \text{N}_2 + n \text{HCO}_3^-$	ND	<i>Boussaid et al., 1989.</i>
butanolo	$\text{NO}_3^- + 0,206 \text{C}_4\text{H}_9\text{OH} \rightarrow 0,5 \text{N}_2 + 0,833 \text{CO}_2 + 0,542 \text{H}_2\text{O} + \text{OH}^-$	ND	<i>Lewandowski et al., 1985</i>
pentanolo	$\text{NO}_3^- + 0,167 \text{C}_5\text{H}_{11}\text{OH} \rightarrow 0,5 \text{N}_2 + 0,833 \text{CO}_2 + 0,5 \text{H}_2\text{O} + \text{OH}^-$	ND	<i>Lewandowski et al., 1985</i>
glicole	$\text{NO}_3^- + 0,5 (\text{CH}_2\text{OH})_2 \rightarrow 0,5 \text{N}_2 + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{OH}^-$	ND	<i>Montheith et al., 1980</i>
idrocarburi aromatici	$\text{NO}_3^- + 0,016 \text{C}_{61}\text{H}_{67} + \text{H}^+ \rightarrow 0,5 \text{N}_2 + 0,98 \text{CO}_2 + 1,04 \text{H}_2\text{O}$	ND	<i>Major et al., 1988</i>
metano	$\text{NO}_3^- + 0,625 \text{CH}_4 + \text{H}^+ \rightarrow 0,5 \text{N}_2 + 0,625 \text{CO}_2 + 1,75 \text{H}_2\text{O}$	ND	<i>Barrenstein et al., 1986</i>
monossido di carbonio	$\text{NO}_3^- + 2,5 \text{CO} + 0,5 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 0,5 \text{N}_2 + \text{OH}^- + 2,5 \text{CO}_2$	ND	<i>Gayle et al., 1990</i>

E' possibile notare come la sintesi di biomassa per ogni grammo di NO_3^- - N degradato varia in funzione del carbonio organico utilizzato. Per l'etanolo questo valore è 0,82 g cellule/g NO_3^- - N, per il metanolo è 0,63 g cellule/g NO_3^- - N mentre per l'acido acetico vale 0,55 g cellule/g NO_3^- - N.

Le tipologie di substrati possono essere classificate in funzione della fase in cui si trovano e in cui vengono somministrate. La maggior parte delle fonti carboniose vengono somministrate in forma liquida (metanolo, etanolo, acido acetico ecc.), ma possono presentarsi anche in forma gassosa (metano e monossido di carbonio) e solida.

Substrati carboniosi solidi

I substrati carboniosi solidi hanno la particolarità di fungere, oltre che da fonte di carbonio, anche da materiale di supporto per la crescita del biofilm all'interno del reattore. Serve far notare che l'uso di substrato solido limita la fuga e il rilascio nell'acqua trattata di sostanza organica, diminuendo la possibilità che durante la fase di disinfezione si formino, dalla reazione con i disinfettanti utilizzati, sottoprodotti tossici e pericolosi per la salute umana (DBPs, disinfection by-products) come i HAAs (Total Haloacetic acids) e i TTHMs (Total Trihalomethanes), che comprendono: cloroformio, bromoformio, bromodiclorometano e dibromoclorometano.

Queste tipologie di materiali possono essere formate da polimeri biodegradabili come illustrato in tabella 2.3 o da poli 3 – idrossibutirrato – co – 3 – idrossivalerato (*Mergaert et al. 2001*).

Tabella 2.3 Caratteristiche di alcuni polimeri organici che fungono da substrato solido artificiale e fonte di carbonio al processo di denitrificazione eterotrofa, (*Boley et al., 2003*).

nome abbreviato	PHB	PCL	BIONOLLE
nome commerciale	BIOPOL D400 GN	TONE P 787	BIONOLLE #6010
nome	poliidrossibutirrato	poli[ε - caprolactone]	poli(butilensuccinato)
formula chimica	$[\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_2]_n$	$[\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_2]_n$	$[\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_4]_n$
massa (g) per unità	265	264	295
superficie (m ²)	0,52	0,39	0,46
produttore	MONSANTO	UNION CARBIDE	SHOWA DENKO

Esistono anche substrati solidi a base di cellulosa. Sono stati presi in considerazione substrati solidi naturali quali: *Glycyrrhiza glabra* (radice di liquirizia) e l' *Arundo donax* (canna comune) (Ovez *et al.* 2006).

Altre tipologie di substrati solidi studiati dai ricercatori in questi ultimi anni sono la carta di giornale, la segatura, l' amido e l'olio vegetale (Volokita *et al.* 1996; Soares *et al.*2000 ; Hunter 2001; Kim *et al.*2002) .

Caso particolare di substrato solido, naturale e non artificiale, sono i semi di oliva macinati in dimensioni appropriate (0,63 mm – 1,6 mm). Questa tipologia di substrato ha il pregio di riutilizzare lo scarto di un processo dell'industria alimentare, scarto ottenibile in abbondante quantità e a costi limitati (Salem *et al.* 2007).

Altra tipologia di substrato solido naturale utilizzata da ricercatori (Volokita *te al.* 1996, Della rocca *et al.* 2005), per le sue caratteristiche di supporto e di fonte carboniosa, è la fibra grezza di cotone ($C_6H_{10}O_2$) (*gossypium hirsutum*). Questo substrato, che ha anche il vantaggio di costi ridotti, è considerato il migliore fra i substrati solidi a base di cellulosa perché facilmente assimilabile dai batteri.

Ines e al. (1998) hanno sperimentato l'utilizzo della paglia derivante dal frumento come substrato solido carbonioso, constatando come la massima velocità di denitrificazione sia stata raggiunta durante la prima settimana di funzionamento, osservando poi un successivo declino dell'efficienza di processo.

Substrati carboniosi liquidi

I substrati in fase liquida e gassosa hanno la peculiarità di essere più facilmente assimilabili, con lo svantaggio di comportare complicazioni impiantistiche dovute al fatto che serve prevedere l'installazione di un sistema adeguato di dosaggio a monte del reattore.

Le tipologie di fonti di carbonio esterne, in fase liquida, più utilizzate per la denitrificazione biologica sono metanolo, etanolo e acido acetico (Vit Mateju *te al* 1992).

Il rendimento di rimozione biologica dei nitrati può avvicinarsi di molto al 100% utilizzando l'etanolo come substrato carbonioso (Dalmacija *et al.* 1991), l'efficacia del suo utilizzo è stata confermata non solo su impianti a scala pilota o da test di laboratorio, ma anche in impianti di potabilizzazione a scala reale (Hallin *et al.* 1996, Hasselbeald e Halin 1996). Constantin e Fick (1997) sostengono che la crescita dei batteri denitrificanti, e quindi il rendimento di rimozione dei nitrati, è maggiore per l'etanolo in quanto il catabolismo di questo substrato carbonioso

favorisce largamente la formazione della molecola di NADH₂, che è una fonte di energia per i microorganismi. Tuttavia, la presenza nell'effluente trattato di etanolo o di metanolo può comportare problemi di intossicazione acuta o cronica per l'uomo influenzando sul sistema cardiocircolatorio e nervoso

La figura 2.3 mostra la quantità di carbonio rilasciato nell'effluente trattato in funzione della tipologia di substrato organico adoperato e del rapporto C/N utilizzato. Si può notare come, utilizzando metanolo, a livelli ottimali di C/N, che comportano un'efficienza massima di rimozione, la concentrazione di carbonio organico nell'effluente si porta a livelli elevati. Stessa situazione la si può notare sia per l'etanolo che per il saccarosio.

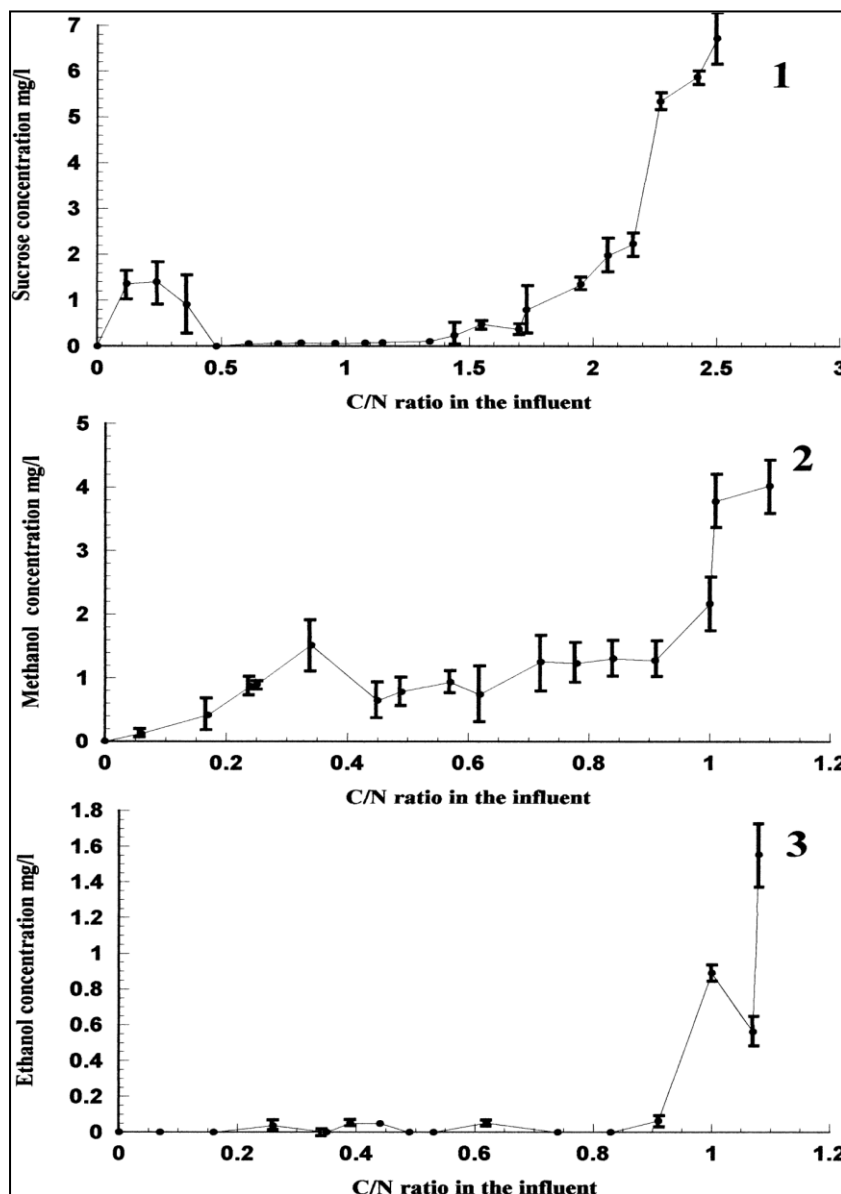


Figura 2.3 Quantità di substrato rilasciata nell'effluente trattato in funzione del rapporto C/N nell'acqua da trattare: 1) saccarosio, 2) metanolo, 3) etanolo; (Gomez et al., 2000).

Serve sottolineare che per raggiungere efficienze adeguate, e senza eccedere in sprechi di substrato è necessario determinare il rapporto ottimo di C/N [$g_{COD}/g_{NITRATI}$] (rapporto tra carbonio e azoto disponibili per il metabolismo batterico), cioè quanto substrato carbonioso serve dosare in funzione dell'azoto da rimuovere.

Un'ulteriore complicazione impiantistica dovuta all'utilizzo di substrati organici liquidi sta nel fatto che è necessario prevedere delle fasi ad hoc di post trattamento per eliminare il possibile residuo organico.

Eseguendo esperimenti in laboratorio con impianti pilota costituiti da bio - filtri sommersi che consentono la crescita del biofilm sul supporto del filtro, Gomez et al. (2000), hanno cercato di comparare l'efficienza di denitrificazione utilizzando tre diversi substrati (etanolo, metanolo e saccarosio) determinando il rapporto C/N ottimo per ciascuno delle tre fonti di carbonio. Dai risultati si nota come il saccarosio, dei tre substrati, è quello che necessita di un rapporto maggiore (2,5) in quanto la pendenza della retta in figura 2.4 (quantità di azoto rimosso – concentrazione di substrato immessa) è di 0,13, mentre etanolo (C/N=1,08) e metanolo (C/N=1,1) presentano rapporti molto più bassi e molto simili fra di loro, infatti le pendenze valgono, rispettivamente, 0,42 per l'etanolo e 0,38 per il metanolo. Di conseguenza se si esprime il rapporto g substrato/g azoto, si ricava che per il metanolo questo rapporto vale 2,93, per l'etanolo vale 2,07 e per il saccarosio è 5,93. Ciò significa che a parità di azoto da rimuovere, serve somministrare una quantità minore di etanolo e metanolo rispetto al saccarosio, cioè che a parità di stesso livello di rimozione dei nitrati il consumo di etanolo e metanolo è assai più basso che non quello di saccarosio.

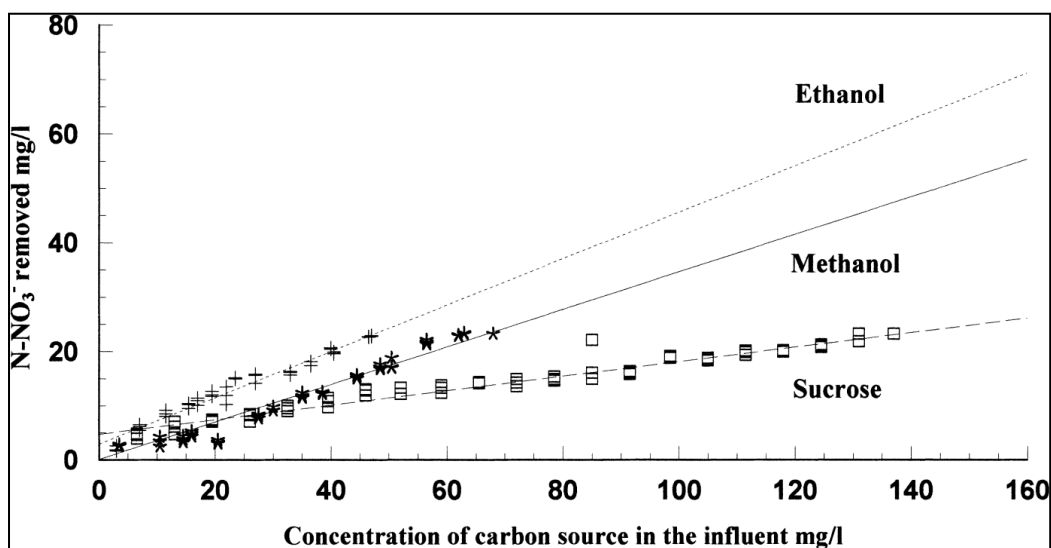
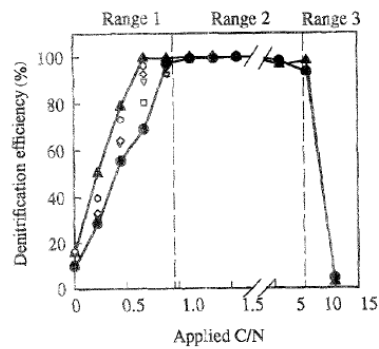
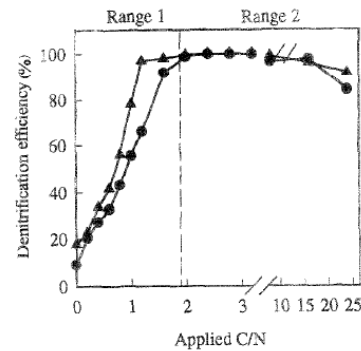


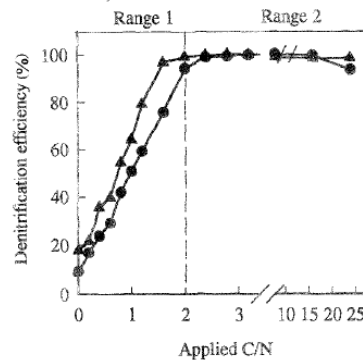
Figura 2.4 Concentrazioni di tre diverse tipologie di carbonio organico somministrato (mg metanolo, etanolo e saccarosio/l) rapportate alla quantità di nitrati rimossi durante il processo; (Gómez et al., 2000).



The effect of C/N ratio on denitrification efficiency using methanol as the carbon source. Nitrogen source: (●) nitrate; (▲) nitrite; the others (□), (○), (▽), (◇) were 20, 40, 60, 80% of $[\text{NO}_2^- - \text{N}]/[\text{NO}_3^- - \text{N}]$, respectively (pH=7.0, temp.=30°C, elapsed time=12 h)



The effect of C/N ratio on denitrification efficiency using acetic acid as the carbon source. Nitrogen source: (●) nitrate; (▲) nitrite (pH=7.0, temp.=30°C, elapsed time=12 h)



The effect of C/N ratio on denitrification efficiency using glucose as the carbon source. Nitrogen source: (●) nitrate; (▲) nitrite (pH=7.0, temp.=30°C, elapsed time=12 h)

Figura 2.5 Valori di efficienza di rimozione dei nitrati in funzione del rapporto C/N per substrati organici quali: acido acetico, metanolo e glucosio; (Her et al., 1995).

In figura 2.5 sono riportati i valori dell'efficienza di denitrificazione in funzione del rapporto C/N, acido acetico, metanolo e glucosio. I dati sono stati ricavati da prove condotte in batch effettuate da Her et al., (1995). Si può notare come i rapporti C/N siano vicini a quelli trovati da Gomez et al (2000).

Mateju et al. (1992), come riportato precedentemente, hanno descritto l'equazione teorica e stechiometrica della denitrificazione per l'etanolo come fonte di carbonio organico necessaria a compiere il processo eterotrofo di denitrificazione. Dall'equazione si può stimare che, teoricamente, occorre un rapporto C/N di 0,71 per completare la riduzione dei nitrati ad azoto molecolare. Stesse equazioni teoriche e stechiometriche sono state descritte da Dirlil et al. (1995) e da Cheng e Lin (1993) per la denitrificazione, rispettivamente, con saccarosio e metanolo. Il rapporto C/N, teorico, per saccarosio e metanolo è stato valutato pari a 1,07 per il primo e 0,71 per il secondo. I risultati sperimentali ottenuti da Gomez et al. (2000) hanno portato a una stima del rapporto di C/N maggiore, questo ulteriore consumo di carbonio mostra che il processo di denitrificazione eterotrofa non è il solo processo che si svolge nel biofilm, e

che quindi il carbonio organico deve essere dosato in eccesso stechiometrico per poter garantire il completo svolgersi del processo denitrificante.

Se paragonati fra di loro si può notare che l'uso di etanolo e metanolo permette la formazione di un biofilm che presenta una maggiore densità rispetto alla densità del biofilm alimentato con Saccarosio. Questo fattore è una causa della diversità di rendimenti di rimozione che sono maggiori per substrati che portano a biofilm più densi (*Gómez et al., 2000*).

Un elevato rilascio di nitriti (concentrazione massima riscontrata 5,5 mg/l) è stato osservato durante l'utilizzo di Saccarosio come substrato organico, e i rendimenti massimi ottenuti sono stati del 85%. L'utilizzo di etanolo e metanolo ha portato a un rilascio assai più contenuto di nitriti, confermando che sono la fonte di carbonio organico che più si addice ai trattamenti eterotrofi di denitrificazione. In figura 2.6 vengono riportate le concentrazioni di nitrati e nitriti in funzione della quantità di substrato organico somministrato.

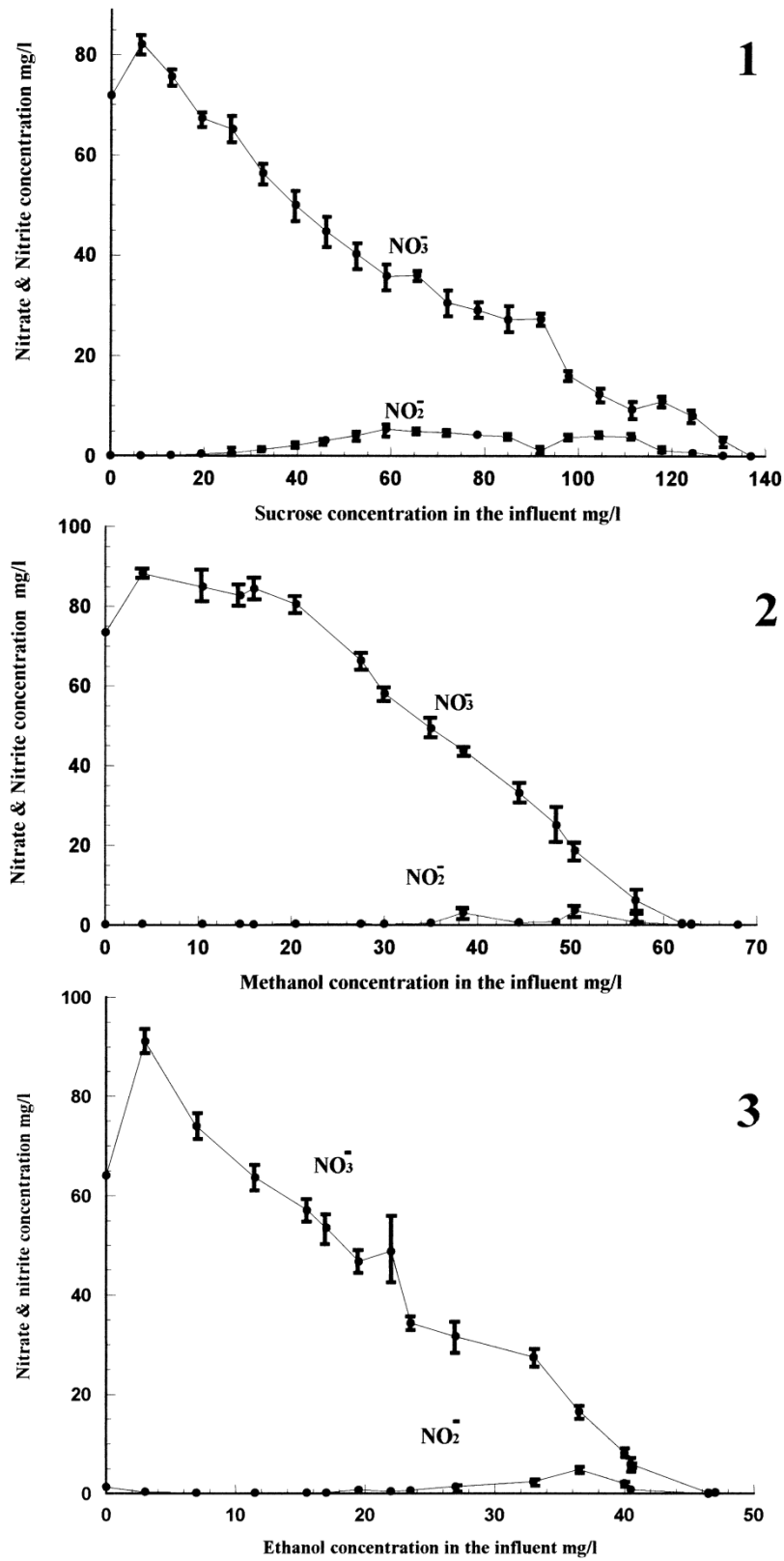


Figura 2.7 Concentrazioni di nitrati e nitriti all'effluente in funzione della quantità di substrato organico somministrato: 1) saccarosio, 2) metanolo, 3) etanolo (Gómez et al., 2000).

In tabella 2.4 vengono riportati i dati delle caratteristiche dei substrati organici più comuni per il processo eterotrofo.

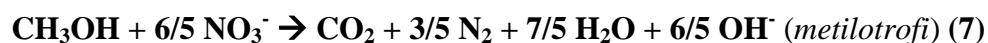
Tabella 2.4 Tabella comparativa dei più comuni substrati organici liquidi.

	etanolo	metanolo	acido acetico	saccarosio	glucosio
C/N	1,08	1,1	1,9	2,5	2,0
g					
substrato/g	2,07	2,93	2,7	5,93	4,6
N					
costo [€/Kg					
NO₃⁻ rimosso	0,54	0,45 – 0,90	1,8	ND	ND
efficienza					
(%)	98 - 100	98 - 100	97 – 99	85%	98 - 100

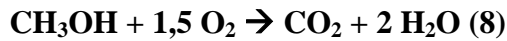
Substrati carboniosi gassosi

Il metano potrebbe essere una facile ed economica fonte esterna di carbonio, visto che è un prodotto della digestione anaerobica. Quindi è possibile ricavarlo da impianti di digestione anaerobica dei fanghi, o da impianti di digestione dei liquami zootecnici o di scarti organici (*Rajapakse e Scutt, 1999*). I primi studi su questa tipologia di processi denitrificanti sono stati condotti da Herremoes e Henze Christensen (1971), Davies (1973), Sollo e al. (1976), ma hanno portato alla valutazione di ratei di rimozione relativamente bassi. Davies ha evidenziato che non ci sono specie particolari di batteri che hanno bisogno del solo metano come fonte di carbonio per la denitrificazione. Egli ha isolato specie da colture cresciute con metanolo che sono state in grado di adeguare la loro crescita anche ad un processo denitrificante alimentato a metano. Queste specie batteriche sono: *Alcaligenes* spp, *Achromobacter* spp, *Pseudomonas* spp e *Bacillus* spp.

L'interesse per l'uso del metano è stato ripreso con la scoperta che due gruppi di batteri sono coinvolti nel processo: un ceppo "metanotrofo" che ossida la molecola di metano e la trasforma in metanolo e un ceppo di "metilotrofi" denitrificanti che utilizza per il processo di denitrificazione il metanolo prodotto dai primi (*Werner e Kayser, 2001*).



Dalle reazioni riportate sopra si può osservare che per la produzione di metanolo dal metano è necessaria la presenza dell'ossigeno, quindi un ambiente strettamente anossico non consente l'attuarsi del processo. Tuttavia la presenza di troppo ossigeno inibisce il processo denitrificante, in quanto il metanolo verrebbe mineralizzato ad anidride carbonica ed acqua secondo la reazione (8), non consentendo l'attuazione del processo denitrificante.



2.2.3 cinetiche

Per facilitare la progettazione e la realizzazione degli impianti di trattamento, negli anni sono state individuati e sviluppati diversi modelli con vari gradi di complessità che cercano di caratterizzare le cinetiche del processo di denitrificazione. Tuttavia, la maggior parte di questi modelli sono stati calibrati su popolazioni batteriche miste senza che siano state definite in modo preciso le specie batteriche che le componevano. A causa delle interazioni tra le varie specie microbiche e i diversi substrati, la ricerca di modelli adeguati ha incontrato svariate difficoltà (*Marazioti et al. 2003*).

La relazione che descrive la velocità di crescita batterica μ_T per una determinata temperatura T, descritta in quantità (massa) di biomassa formata per unità di tempo e unità di biomassa presente nel sistema considerato, è espressa dalla formulazione di Monod (formula (9)).

L'azione limitante degli N substrati che partecipano al processo è espressa dal rapporto $\frac{S_i}{K_{S_i} + S_i}$, l'influenza della temperatura è determinata dal fattore esponenziale θ^{T-20} e l'azione limitante del pH dalla generica funzione f(pH).

$$\mu_T = \mu_{\max 20} \cdot \frac{S_1}{K_{S_1} + S_1} \cdot \dots \cdot \frac{S_N}{K_{S_N} + S_N} \cdot \theta^{T-20} \cdot f(\text{pH}) \quad (9)$$

Con:

- $\mu_{\max 20}$, massima velocità di crescita batterica alla temperatura di 20° C, in assenza di limitazioni dovute a insufficienze di substrati o per valori di pH non ottimali.
- S_i , concentrazione del substrato i – esimo

- K_{Si} , la costante di semisaturazione degli N substrati necessari al metabolismo batterico, ovvero la concentrazione di substrato per cui la velocità di crescita batterica a 20°C risulti pari alla metà di $\mu_{\max 20}$
- θ , coefficiente di correzione relativo alla temperatura
- T , temperatura espressa in °C

Un tentativo di sviluppare un adeguato e funzionale modello cinetico è stato proposto da Marazioti et al. (2003) considerando la denitrificazione come un processo a due fasi derivante dalla successiva riduzione dei Nitrati a Nitriti e dei Nitriti ad Azoto molecolare. Questo modello è in grado di predire la crescita della biomassa, il rateo di consumo del substrato carbonioso organico nonché il rateo di riduzione dei nitrati e nitriti. Il modello è stato ricavato mediante esperimenti in batch utilizzando una popolazione di batteri ben definita e caratterizzata composta dalle specie *Pseudomonas denitrificans* e *Bacillus subtilis*.

Gli esperimenti in batch sono stati condotti in condizioni di crescita limitanti sia nei confronti dell'accettore di elettroni (Nitrati e Nitriti) che di substrato organico (glucosio e acido glutammico) per capire e definire il comportamento dei batteri.

La velocità con la quale i Nitrati vengono convertiti in nitriti (Foglar e Briski, 2003) è stata ricavata utilizzando una cinetica globale di primo ordine, considerando la conversione dei nitrati di ordine zero, e la crescita di biomassa di ordine 1, secondo la:

$$\frac{d[\text{NO}_3^- - \text{N}]}{dt} = -k_1[\text{NO}_3^- - \text{N}]^0[\text{X}]^1 \quad (10)$$

dove:

- $[\text{NO}_3^- - \text{N}]$ rappresenta la concentrazione di nitrati espressi in termini di azoto [mg $\text{NO}_3^- - \text{N}/\text{l}$],
- $[\text{X}]$ la concentrazione di biomassa [g SSV/l],
- t il tempo [h] e
- k_1 la costante di velocità della reazione, cioè il rateo specifico di denitrificazione [mg $\text{NO}_3^- - \text{N}/\text{g SSV h}$]

Il rateo di crescita della biomassa vale:

$$\frac{d[\text{X}]}{dt} = \mu[\text{X}] \quad (11)$$

dove:

- μ [1/h] è la costante specifica della velocità di crescita.

L'efficienza di crescita, cioè la relazione fra la velocità di consumo del substrato, e la produzione di biomassa, con Y [mg SSV/mg $\text{NO}_3^- - \text{N}$], l'efficienza di crescita, vale:

$$\frac{d[X]}{dt} = -Y \frac{d[\text{NO}_3^- - \text{N}]}{dt} \quad (12)$$

La cinetica globale è stata definita utilizzando l'equazione della cinetica di Monod, dalla quale si possono ricavare le costanti cinetiche sfruttando i dati ricavati da prove di laboratorio.

L'equazione risulta essere:

$$r_D = \frac{d[\text{NO}_3^- - \text{N}]}{dt} = \frac{\mu_{\max} [\text{NO}_3^- - \text{N}]}{(K_N + [\text{NO}_3^- - \text{N}])} \frac{[X]}{Y} = \frac{k_D [\text{NO}_3^- - \text{N}]}{(K_N + [\text{NO}_3^- - \text{N}])} \quad (13)$$

dove:

- r_D [mg $\text{NO}_3^- - \text{N}$ /l h] è la velocità di utilizzo dei nitrati,
- k_D [mg $\text{NO}_3^- - \text{N}$ /l h] è la velocità massima di utilizzo dei nitrati,
- μ_{\max} [1/h] è la massima velocità di crescita specifica,
- K_N [mg/l] è la costante di semisaturazione.

Se K_N è trascurabile rispetto a $[\text{NO}_3^- - \text{N}]$ ($K_N \ll [\text{NO}_3^- - \text{N}]$) allora la cinetica di Monod ritorna ad essere un modello cinetico di ordine 0.

Studi effettuati da Foglar e Biski (2003) hanno portato alla conclusione che la cinetica di Monod è un buon modello per descrivere il processo di denitrificazione eterotrofa. Essi hanno utilizzato una coltura batterica eterogenea composta prevalentemente (80%) da specie *Paracoccus sp.* e *Pseudomonas Stutzeri*. I ricercatori hanno correlato la cinetica di Monod ai dati sperimentali ricavati da diverse prove in batch in cui hanno fatto variare la quantità di biomassa iniziale, mantenendo costanti gli altri parametri (temperatura 35°C, concentrazione iniziale di nitrati pari a 500 mg $\text{NO}_3^- - \text{N}$ /l e pH 6,8). La denitrificazione completa è stata raggiunta dalle 2 alle 6 h in funzione della quantità iniziale di batteri presente. I risultati delle indagini effettuate dai ricercatori sono riportati in tabella 2.5 e in figura 2.8. Il coefficiente di determinazione R^2 ricavato dalla correlazione con la cinetica di Monod è stato sempre superiore a 0,99.

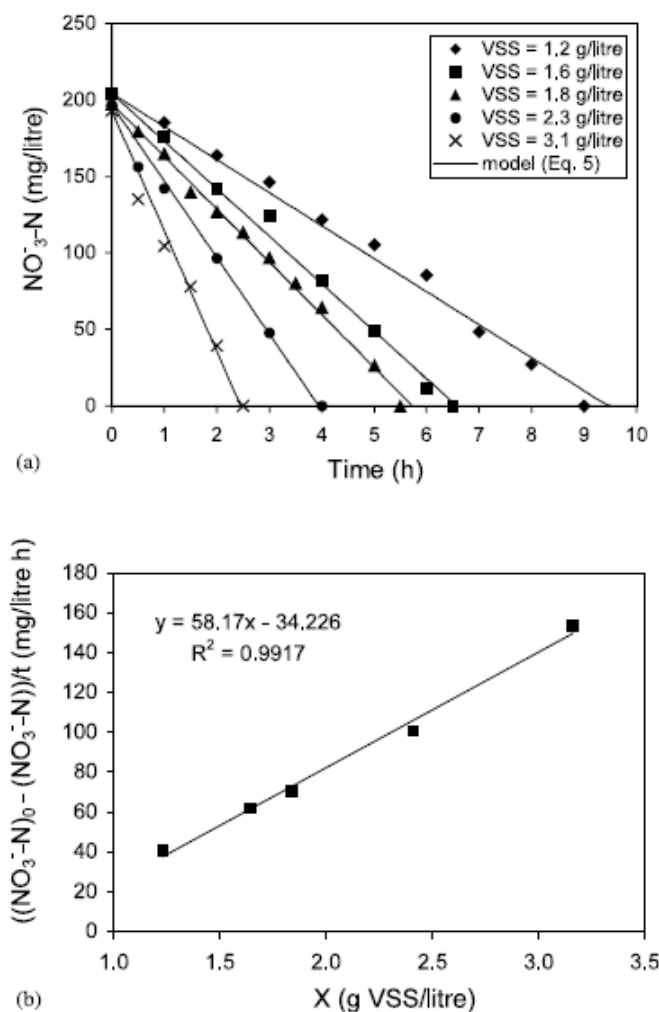


Figura 2.8 a) nitrato rimosso in funzione del tempo rapportati alla previsione del modello cinetico di Monod; b) correlazione tra nitrato rimosso e la biomassa di partenza presente nel reattore; (Foglar e Biski, 2003).

Tabella 2.5 Parametri cinetici di denitrificazione, (Foglar e Biski, 2003).

X_0 (mg SSV/l)	$[\text{NO}_3^- - \text{N}]_0$ (mg $\text{NO}_3^- - \text{N/l}$)	μ_{\max} (1/h)	K_N (mg $\text{NO}_3^- - \text{N/l}$)	R^2
1,2	204,12	$0,01095 \pm 9 \times 10^{-5}$	0,001	0,9974
1,6	204,11	$0,01095 \pm 9 \times 10^{-5}$	0,001	0,9980
1,8	197,47	$0,01095 \pm 9 \times 10^{-5}$	0,001	0,9990
2,3	196,81	$0,01095 \pm 9 \times 10^{-5}$	0,001	0,9971
3,1	192,82	$0,01095 \pm 9 \times 10^{-5}$	0,001	0,9936

Un'altra ricerca condotta da Marazioti et al. (2003), ha portato alla descrizione di un modello cinetico che descrive il comportamento di una coltura batterica eterogenea composta da *Pseudomonas denitrificans* e *Bacillus subtilis*. Questo modello descrive adeguatamente la crescita in condizioni limitanti sia nei confronti dell'accettore terminale di elettroni (nitrato o nitrito) che della fonte di carbonio organico (glucosio e acido L – glutammico). In tabella 2.6

viene riportato il significato della simbologia usata per descrivere le cinetiche espresse nella matrice IWA riportata in tabella 2.7.

Tabella 2.6 Nomenclatura dei parametri utilizzati nella matrice IWA che descrive il modello di denitrificazione per una coltura batterica mista; (Marazioti *et al.*, 2003).

K	costante di inibizione per <i>P.d.</i> ($\text{mgNO}_3^- - \text{N/l}$)	t	tempo di reazione (h)
K_a	costante di inibizione per <i>B.s.</i> ($\text{mgNO}_3^- - \text{N/l}$)	v_{n2}	velocità massima specifica di non-crescita associata all'utilizzo dei nitriti per la riduzione di questi ad azoto gassoso (h^{-1})
K_{n1}	costante di semisaturazione dei nitrati per <i>P.d.</i> ($\text{mgNO}_3^- - \text{N/l}$)	X_{Bc}	concentrazione massica delle cellule di <i>B.s.</i> (mg cellule su peso secco/l)
K_{n2}	costante di semisaturazione dei nitriti per <i>P.d.</i> ($\text{mgNO}_2^- - \text{N/l}$)	X_{ps}	concentrazione massica delle cellule di <i>P.d.</i> (mg cellule su peso secco/l)
K_{sn1}	costante di semisaturazione del glutammato per la riduzione dei nitrati per <i>P.d.</i> (mg acido glut/l)	Y_{n1}	coeff. di resa per la crescita dei <i>P.d.</i> dovuto alla riduzione dei nitrati a nitriti (mg cellule su peso secco/ $\text{mgNO}_3^- - \text{N}$)
K_{sn2}	costante di semisaturazione del glutammato per la riduzione dei nitriti per <i>P.d.</i> (mg acido glut/l)	Y_{n2}	coeff. di resa per la crescita dei <i>P.d.</i> dovuto alla riduzione dei nitriti ad azoto gassoso (mg cellule su peso secco/ $\text{mgNO}_2^- - \text{N}$)
K_{na}	costante di semisaturazione dei nitrati per <i>B.s.</i> ($\text{mgNO}_3^- - \text{N/l}$)	Y_{na}	coeff. di resa per la crescita dei <i>B.s.</i> dovuto alla riduzione dei nitrati a nitriti (mg cellule su peso secco/ $\text{mgNO}_3^- - \text{N}$)
K_{nb}	costante di semisaturazione dei nitriti per <i>B.s.</i> ($\text{mgNO}_2^- - \text{N/l}$)	Y_{nb}	coeff. di resa per la crescita dei <i>B.s.</i> dovuto alla riduzione dei nitriti ad azoto gassoso (mg cellule su peso secco/ $\text{mgNO}_2^- - \text{N}$)
K_{sna}	costante di semisaturazione del glucosio per la riduzione dei nitrati per <i>B.s.</i> (mg glucosio/l)	Y_{sn1}	coeff. di resa per l'utilizzo del glutammato sotto condizione di riduzione dei nitrati (mg acido glut/ $\text{mgNO}_3^- - \text{N}$)
K_{snb}	costante di semisaturazione del glucosio per la riduzione dei nitriti per <i>B.s.</i> (mg glucosio/l)	Y_{sn2}	coeff. di resa per l'utilizzo del glutammato sotto condizione di riduzione dei nitriti (mg acido glut/ $\text{mgNO}_2^- - \text{N}$)
m_{ps1}	velocità specifica di mantenimento per <i>P.d.</i> ($\text{mgNO}_3^- - \text{N/h}$ mg cellule su peso secco)	Y_{sna}	coeff. di resa per l'utilizzo del glucosio sotto condizione di riduzione dei nitrati (mg gluc/ $\text{mgNO}_3^- - \text{N}$)
m_{bc1}	velocità specifica di mantenimento per <i>B.s.</i> ($\text{mgNO}_3^- - \text{N/h}$ mg cellule su peso secco)	Y_{snb}	coeff. di resa per l'utilizzo del glucosio sotto condizione di riduzione dei nitriti (mg gluc/ $\text{mgNO}_2^- - \text{N}$)
S_{glut}	concentrazione (acido glut) di carbonio organico (mg acido glut/l)	μ_{m1}	massima velocità specifica di crescita dei <i>P.d.</i> per la riduzione dei nitrati a nitriti (h^{-1})
S_{glu}	concentrazione (glucosio) di carbonio organico (mg glucosio/l)	μ_{m2}	massima velocità specifica di crescita dei <i>P.d.</i> per la riduzione dei nitriti ad azoto gas (h^{-1})
S_{NO3}	concentrazione di nitrati ($\text{mgNO}_3^- - \text{N/l}$)	μ_{ma}	massima velocità specifica di crescita dei <i>B.s.</i> per la riduzione dei nitrati a nitriti (h^{-1})
S_{NO2}	concentrazione di nitriti ($\text{mgNO}_2^- - \text{N/l}$)	μ_{mb}	massima velocità specifica di crescita dei <i>B.s.</i> per la riduzione dei nitriti ad azoto gas (h^{-1})

Tabella 2.7 Modello cinetico per il processo di denitrificazione di una coltura batterica mista formata in prevalenza da *Paracoccus denitrificans* e *Bacillus subtilis*.
(Marazioti et al., 2003)

processo, j	Componente, i						equazione della velocità di processo, $\rho_j, \rho_j \geq 0$ [M _i L ⁻³ T ⁻¹]
	S _{glut}	S _{glu}	X _{PS}	X _{BC}	S _{NO₂}	S _{NO₃}	
1. Crescita anossica di X _{PS} con S _{NO₃}			1		$\frac{1}{Y_{n1}}$	$-\frac{1}{Y_{n1}}$	$\mu_{m1} \cdot \frac{S_{NO_3}}{S_{NO_3} + K_{n1}} \cdot \frac{S_{glut}}{S_{glut} + K_{sn1}} \cdot X_{PS}$
2. Crescita anossica di X _{PS} con S _{NO₂}			1		$-\frac{1}{Y_{n2}}$		$\mu_{m2} \cdot \frac{S_{NO_2}}{S_{NO_2} + K_{n2}} \cdot \frac{K}{S_{NO_3} + K} \cdot \frac{S_{glut}}{S_{glut} + K_{sn2}} \cdot X_{PS}$
3. Crescita anossica di X _{BC} con S _{NO₃}		$-\frac{Y_{sna}}{Y_{na}}$		1	$\frac{1}{Y_{na}}$	$-\frac{1}{Y_{na}}$	$\mu_{ma} \cdot \frac{S_{NO_3}}{S_{NO_3} + K_{na}} \cdot \frac{S_{glu}}{S_{glu} + K_{sna}} \cdot X_{BC}$
4. Crescita anossica di X _{BC} con S _{NO₂}		$-\frac{Y_{snb}}{Y_{nb}}$		1	$-\frac{1}{Y_{nb}}$		$\mu_{mb} \cdot \frac{S_{NO_2}}{S_{NO_2} + K_{nb}} \cdot \frac{K_a}{S_{NO_3} + K_a} \cdot \frac{S_{glu}}{S_{glu} + K_{snb}} \cdot X_{BC}$
5. riduzione di S _{NO₃} da parte di X _{PS} associata alla non-crescita						-1	$v_{n2} \cdot \frac{S_{NO_2}}{S_{NO_2} + K_{n2}} \cdot \frac{S_{glut}}{S_{glut} + K_{sn2}} \cdot X_{PS}$
6. utilizzo di S _{NO₃} da parte di X _{PS} per la richiesta di mantenimento delle cellule							$m_{ps1} \cdot \frac{S_{NO_3}}{S_{NO_3} + K_{n1}} \cdot \frac{S_{glut}}{S_{glut} + K_{sn1}} \cdot X_{PS}$
7. utilizzo di S _{NO₃} da parte di X _{BC} per la richiesta di mantenimento delle cellule							$m_{bc1} \cdot \frac{S_{NO_3}}{S_{NO_3} + K_{na}} \cdot \frac{S_{glu}}{S_{glu} + K_{sna}} \cdot X_{BC}$

rateo di conversione osservato, [M_iL⁻³T⁻¹]: $r_j = \sum_j v_{ij} \cdot \rho_j$

Nel modello sono inclusi anche il consumo dei nitrati per il sostentamento delle cellule (processi 6 e 7). Sono definiti ratei di mantenimento e riportati sia per il genere *Pseudomonas denitrificans* che per il genere *Bacillus subtilis*.

Nella tabella seguente (tabella 2.8) vengono riportati i parametri ricavati dagli esperimenti condotti in laboratorio, sia per il genere *Pseudomonas*, che per il genere *Bacillus*:

Tabella 2.8 Valori dei parametri del modello anossico espresso in tabella 3.6 (Marazioti et al., 2003).

<i>Ps. Denitificans</i>		<i>B. Subtilis</i>	
parametro	valore	parametro	valore
μ_{m1}	0,10 1/h	μ_{m1}	0,052 1/h
K_{n1}	0,77 mg NO_3^- - N/l	K_{na}	0,676 mg NO_3^- - N/l
Y_{n1}	1,02 mg cell peso secco/ mg NO_3^- - N	Y_{na}	1,647 mg cell peso secco/ mg NO_3^- - N
K_{sn1}	7,36 mg acido glt/l	K_{sna}	21,825 mg gluc/l
Y_{sn1}	2,207 mg acido glt/ mg NO_3^- - N	Y_{sna}	6,10 mg gluc/ mg NO_3^- - N
m_{ps1}	0,085 mg NO_3^- - N/(h mg cell peso secco)	m_{bcl}	0,092 mg NO_3^- - N/(h mg cell peso secco)
K	8,75 mg NO_3^- - N/l	K_a	0,877 mg NO_3^- - N/l
v_{n2}	0,019 1/h		
μ_{m2}	0,10 1/h	μ_{mb}	0,0442 1/h
K_{n2}	0,28 mg NO_2^- - N/l	K_{nb}	0,0015 mg NO_2^- - N/l
Y_{n2}	1,41 mg cell peso secco/ mg NO_2^- - N	Y_{nb}	2,699 mg cell peso secco/ mg NO_2^- - N
K_{sn2}	5,44 mg acido glt/l	K_{snb}	158,068 mg gluc/l
Y_{sn2}	2,501 mg acido glt/ mg NO_2^- - N	Y_{snb}	14,668 mg gluc/ mg NO_2^- - N

2.2.4 fattori ambientali che influenzano il processo

La denitrificazione biologica eterotrofa è condizionata da fattori ambientali che possono inibire o favorire il processo.

Presenza di ossigeno disciolto

La presenza di ossigeno disciolto in acqua è un fattore che influenza il processo, perché la maggior parte dei batteri denitrificanti sono aerobi facoltativi, e quindi si adattano alle condizioni di respirazione in funzione del tipo di accettore di elettroni presente nell'ambiente che li circonda. Il metabolismo che sfrutta ossigeno, è, energeticamente parlando, il più favorevole per i batteri. Quindi se l'ambiente presenta ossigeno il processo di respirazione che si instaura è quello aerobico. Skerman e MacRae (1957) hanno concluso che per concentrazioni di ossigeno superiori a 0,2 mg/l non si è osservato nessun processo di riduzione dei nitrati.

Disponibilità di nutrienti

La disponibilità di nutrienti è un fattore che permette il sostentamento e la crescita delle cellule batteriche (*Hiscock et al.*). Champ e al. sostengono che i nutrienti necessari per la biosintesi consistono in elementi quali: C, H, N, P e S che devono essere presenti nelle necessarie quantità. In minor quantità sono necessari anche minerali quali: K, Na, Mg, Ca e Fe e servono anche, in tracce, alcuni metalli come: Mn, Zn, Cu, Co e Mo. Tuttavia, Champ et al. sottolineano che, nella quasi totalità dei casi, questi elementi (minerali e metalli) sono presenti nelle acque da trattare, e quindi, raramente, serve che siano somministrati dall'esterno durante il processo biologico condotto artificialmente. Basandosi sulla media della composizione cellulare, Spector riporta che la proporzione dei nutrienti C:N:P:S deve essere all'incirca pari a 100:20:4:1, però serve tenere in considerazione che occorre una quantità maggiore di C, in quanto la sostanza organica nella denitrificazione eterotrofa è utilizzata anche come donatore di elettroni.

pH

Un altro fattore che influenza e condiziona il processo denitrificante è il valore del pH dell'ambiente in cui i batteri si trovano. Il valore ottimale è compreso fra 7,0 e 8,0 (*Hiscock et al.*). Valori troppo bassi o troppo alti possono condizionare il processo rallentandolo o addirittura inibendolo. Nella formula (13) è riportata la relazione che descrive la velocità di crescita batterica, e si può notare come sia composta anche da un fattore, $f(\text{pH})$, che ne determina il rallentamento in funzione del valore del pH caratteristico dell'ambiente in cui i batteri si trovano.

Temperatura

La temperatura è un parametro che regola la denitrificazione biologica. A basse temperature la velocità di riduzione dei nitrati decresce in modo marcato, tuttavia fra 0°C e 5°C è comunque misurabile. Si deve fare anche notare che l'aumento di temperatura diminuisce la presenza dell'ossigeno disciolto e questo comporta un ulteriore incremento delle prestazioni denitrificanti. Si può affermare che per ogni aumento della temperatura di 10°C il rateo di denitrificazione, circa, raddoppia (*Gauntlett e Craft*).

Quindi la temperatura influenza la velocità di rimozione del substrato e le cinetiche relative alla crescita batterica.

A titolo d'esempio di come la temperatura sia un parametro fondamentale che influisce sul processo denitrificante, si riportano i risultati di uno studio condotto da Volokita et al (1996) che ha sfruttato come fonte di carbonio organico fibre grezze di cotone in un reattore a biomassa adesiva. Facendo variare la temperatura si è potuto osservare come un aumento di temperatura contribuisca all'aumento di azoto giornaliero rimosso, tanto che per un incremento di temperatura da 19 a 24°C si è potuto riscontrare un aumento del 60% di azoto rimosso (figura 2.9). Si osservi anche che da 14 a 30°C l'azoto rimosso è quasi raddoppiato.

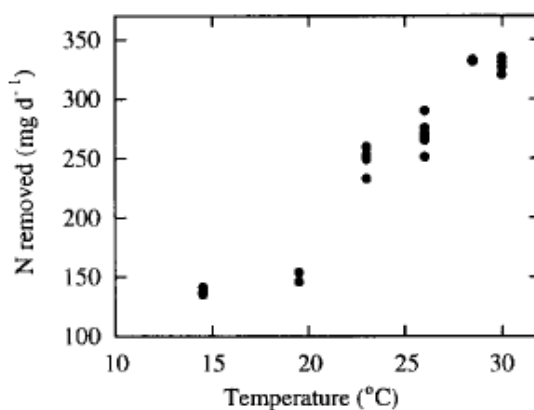


Figura 2.9 Effetto della temperatura sulla velocità di rimozione dell'azoto in un reattore a letto fisso riempito con 400g di cotone; (*Volokita e al., 1996*).

2.3 Denitrificazione autotrofa

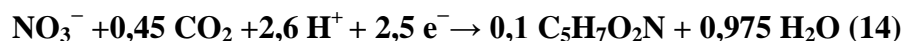
In alternativa alle specie batteriche chemiorganotrofe che utilizzano come substrato carbonioso composti organici è possibile utilizzare biomasse autotrofe che sfruttano carbonio inorganico come fonte per la sintesi del materiale cellulare. Le più comuni biomasse autotrofe sono: *Thiobacillus denitrificans* e *Thiomicrospira denitrificans*.

Nella denitrificazione autotrofa i batteri utilizzano, in funzione delle loro caratteristiche, come fonte di energia Ferro, Idrogeno o composti dello Zolfo, mentre CO₂ o bicarbonato come fonte di carbonio (Karanasios e al. 2010). CO₂ e Bicarbonato sono presenti, solitamente, in abbondanza nelle acque di falda e quindi non vi è la necessità di un'aggiunta di substrato dall'esterno.

La denitrificazione autotrofa, dunque, ha l'importante vantaggio di non necessitare di una fonte organica di carbonio, riducendo fino a quasi annullare il rischio di un rilascio di inquinante organico nell'effluente trattato.

Le popolazioni batteriche autotrofe denitrificanti si possono suddividere in tre categorie: batteri zolfo - ridotto ossidanti, batteri idrogeno ossidanti e batteri ferro ossidanti.

Di seguito viene riportata l'equazione stechiometrica per la sintesi di cellule batteriche con il nitrato come fonte d'azoto e carbonio inorganico (CO₂) come substrato carbonioso, gli elettroni sono forniti dal substrato donatore, che cambia a seconda della tipologia di processo considerata (Ghafari et al., 2009; Metcalf e Eddy, 2004):



2.3.1 Composti zolfo ridotti

Nella denitrificazione autotrofa che sfrutta lo zolfo i donatori di elettroni sono i composti dello zolfo inorganico ridotto quali: lo ione solfito (SO₃⁻), lo ione solfuro (S²⁻), lo ione tiosolfato (S₂O₃²⁻) e lo zolfo elementare (S⁰) (Jang e al., 2005).

2.3.1.1 microbiologia

Le specie batteriche che attuano il processo di denitrificazione autotrofa sfruttando lo zolfo e i suoi composti ridotti come donatori di elettroni sono: *Thiobacillus denitrificans* e/o *Thiomicrospira denitrificans* (Zang e lamppe 1999). Tuttavia da analisi di laboratorio (16SrDNA) sul biofilm sviluppato sulla superficie dello zolfo sono state trovate comunità di batteri eterotrofi che probabilmente prendono parte alla denitrificazione (Koenig e al., 2005). *Thiobacillus versutus*, *Thiobacillus thyasiris*, *Paracoccus denitrificans*, and *Paracoccus pantotrophus* (nome formale *Thiosphaera pantotrohpa*) possono svilupparsi sia in condizioni autotrofe che eterotrofe (Oh e al., 2001).

2.3.1.2 metabolismo e stechiometria

In tabella 2.9, vengono riportate le reazioni che descrivono il processo:

Tabella 2.9 Reazioni stechiometriche che descrivono il processo di denitrificazione autotrofa che sfrutta zolfo come donatore di elettroni.

composto	Stechiometria	stechiometria	fonte
TIOSOLFATO	$0,84 \text{ S}_2\text{O}_3^{2-} + \text{NO}_3^- + 0,43 \text{ H}_2\text{O} + 0,35 \text{ CO}_2 +$ $0,87 \text{ HCO}_3 + 0,087 \text{ NH}_4^+ \rightarrow$ $\rightarrow 0,087 \text{ C}_5\text{H}_7\text{NO}_2 + 0,5 \text{ N}_2 + 1,69 \text{ SO}_4^{2-} + 0,7$ H^+	$\text{NO}_3^- + 0,625 \text{ S}_2\text{O}_3^{2-} + 0,125$ $\text{H}_2\text{O} \rightarrow 0,625 \text{ SO}_4^{2-} + 0,375 \text{ N}_2$ $+ 0,5 \text{ H}^+$	<i>(Park e Yoo, 2008;</i> <i>Sierra – Alvarez e al.,</i> <i>2007)</i>
ZOLFO ELEMENTARE	$\text{NO}_3^- + 1,10 \text{ S}^0 + 0,76 \text{ H}_2\text{O} + 0,4 \text{ CO}_2 + 0,086$ $\text{NH}_4^+ \rightarrow 0,04 \text{ C}_5\text{H}_7\text{NO}_2 + 0,48 \text{ N}_2 + 0,98 \text{ SO}_4^{2-} +$ $0,96 \text{ H}^+$	$\text{NO}_3 + 0,83 \text{ S}^0 + 0,33 \text{ H}_2\text{O} \rightarrow 0,83$ $\text{SO}_4^{2-} + 0,5 \text{ N}_2 + 0,67 \text{ H}^+$	<i>(Park e Yoo, 2008;</i> <i>Sierra – Alvarez e al.,</i> <i>2007)</i>

In termini di costo, lo zolfo è molto più economico delle fonti di carbonio organico come metanolo o acetato, di conseguenza il costo del processo tende ad abbassarsi (*Jang et al., 2005*).

Il metabolismo batterico che sfrutta i composti ridotti dello zolfo come donatore di elettroni è noto da quasi 60 anni (*Baalsrud e Baalsrud 1954; Batchelor e Lawrence 1978*). A causa del suo basso costo, dell'ampia disponibilità e della sua facilità di utilizzo, le ricerche si sono concentrate soprattutto sulla denitrificazione che sfrutta come donatore di elettroni lo zolfo elementare (*Hashimoto et al. 1987 e Batchelor e Lawrence 1978*). In più, l'utilizzo di zolfo elementare nel processo porta alla minor formazione di solfati (*Kimura et al., 2002*).

Uno svantaggio che presenta l'utilizzo di zolfo elementare è il fatto che è caratterizzato da una bassa solubilità in acqua che ne limita di molto la disponibilità nei confronti dei batteri. I rendimenti energetici che si misurano durante il processo di denitrificazione con l'utilizzo di zolfo elementare e tiosolfati sono circa i medesimi, e valgono rispettivamente: 91,15 e 92,97 [KJ/e⁻ - eq] e sono di poco inferiori al valore riscontrato nel processo denitrificante che sfrutta metanolo (109,18 [KJ/e⁻ - eq]) (*Koeng e Liu 2001*).

Il monitoraggio della presenza di nitriti, soprattutto quando cambia la concentrazione di nitrati, all'ingresso del reattore, rivela che il processo richiede un tempo di acclimatazione che una volta superato, permette di mantenere alti rendimenti di rimozione (*Zeng e Zhang 2005*). Una modalità per facilitare e accelerare il tempo di adattamento è cercare di incentivare una rapida formazione del biofilm microbico sulla superficie dello zolfo elementare. Recentemente dei

biofilm granulari a forma di pellet, creati attraverso l'acclimatazione dei batteri su tiosolfati, sono stati utilizzati come inoculo per poter accelerare le fasi di avviamento e raggiungere velocemente lo stato stazionario di rimozione, fino ad ottenere efficienze del 95%. Tali rendimenti sono stati mantenuti costantemente fino a quando la concentrazione dei nitrati ha raggiunto il massimo valore (Sierra – Alvarez *et al.*, 2007).

2.3.1.3 Cinetiche

La cinetica del processo autotrofo di consumo del substrato all'interno del biofilm è ben descritta da una cinetica di Monod (A. Koeing e L. H. Liu, 2000). In molti casi questa tipologia di cinetica può essere approssimata a una cinetica di ordine 0 o di primo ordine, a seconda del valore che assume, nell'espressione, la costante di semisaturazione (K_S). Per la denitrificazione autotrofa, il valore della costante di semisaturazione è molto basso. Infatti Claus e Kutzner (1985) hanno ricavato dai loro esperimenti un valore di K_S pari a 0,2 mg/l come NO_3^- , mentre Batchelor e Lawrence (1978) ne hanno misurato una del valore di 0,03 mg/l in termini di NO_3^- - N. Quindi la reazione intrinseca all'interno del biofilm può essere approssimabile ad una cinetica di ordine 0. Basandosi sulle assunzioni di evoluzione del processo in stato stazionario e che il trasporto di substrato nel biofilm segue la legge di diffusione di massa di Fick, di seguito vengono riportate le equazioni di un modello semplificato di rimozione del substrato utilizzato sia da Harremoes (1976) e da Jasen e Harremoes (1985).

Cinetica di ordine 0: $r_a = K_{0a}$

valida per una costante $\beta = \sqrt{\frac{2DC}{K_{0a}\delta}} \geq 1$ (15)

Cinetica di ordine $\frac{1}{2}$: $r_a = K_{\frac{1}{2}a} C^{\frac{1}{2}}$

valida per un costante $\beta \leq 1$ (16)

Con:

- C [mg/l] la concentrazione di substrato all' interfaccia del biofilm,
- D[dm²/h] il coefficiente di diffusione del substrato,
- K_{0a} [mg/dm²h] la costante della velocità della reazione di ordine 0 espressa per unità di area del biofilm,

- $K_{\frac{1}{2}a}$ [$\text{mg}^{1/2}/\text{dm}^{1/2}\text{h}$] la costante della velocità di reazione di ordine $\frac{1}{2}$ per unità di area del biofilm,
- r_a velocità di rimozione [$\text{mg}/\text{dm}^2\text{h}$],
- β il rapporto di penetrazione e
- δ [dm] lo spessore del biofilm.

Harremoes (1976) ha proposto un modello cinetico applicato alla tipologia di reattori a letto fisso (packed bed reactors). Il modello può essere formulato partendo da quest'equazione differenziale:

$$\frac{dC}{dy} = -R_v \frac{A}{Q} \quad (17)$$

Dove R_v [$\text{mg}/\text{l h}$] è la velocità di rimozione intrinseca per unità di volume del reattore:

$$R_v = \omega R_a \quad (18)$$

Con:

- ω [dm^2/dm^3] la superficie specifica dei supporti per unità di volume del reattore e
- R_a [$\text{mg}/\text{dm}^2 \text{ h}$] il rateo di rimozione intrinseco per unità di area del biofilm.

L'equazione, integrata, restituisce come risultato il profilo della concentrazione di nitrati lungo l'altezza del reattore (C_y), fino ad ottenere la concentrazione all'effluente (C_e), se si integra per l'altezza H [dm] del reattore. Si possono ottenere due risultati in funzione del valore del rapporto di penetrazione β , a seconda che la cinetica di Monod venga approssimata ad una cinetica di ordine 0 o di ordine $\frac{1}{2}$.

Di seguito viene riportata l'integrazione del modello a seconda della tipologia di cinetica considerata:

REAZIONE DI ORDINE 0:

$$C_y = C_{in} - K_{0v} \frac{A}{Q} y = C_{in} - K_{0v} t \quad (19)$$

$$C_e = C_{in} - K_{0v} \frac{A}{Q} H = C_{in} - K_{0v} t_H \quad (20)$$

REAZIONE DI ORDINE $\frac{1}{2}$:

$$\sqrt{C_y} = \sqrt{C_{in}} - \frac{1}{2} K_{\frac{1}{2}v} \frac{A}{Q} y = \sqrt{C_{in}} - \frac{1}{2} K_{\frac{1}{2}v} t \quad (21)$$

$$\sqrt{C_e} = \sqrt{C_{in}} - \frac{1}{2} K_{\frac{1}{2}v} \frac{A}{Q} H = \sqrt{C_{in}} - \frac{1}{2} K_{\frac{1}{2}v} t_H \quad (22)$$

Con:

$$t = \frac{A}{Q} y \quad (23)$$

$$t_H = \frac{A}{Q} H \quad (24)$$

$$K_{0v} = \omega K_{0a} \quad (25)$$

$$K_{\frac{1}{2}v} = \omega K_{\frac{1}{2}a} \quad (26)$$

Dove:

- A [dm²] è l'area della sezione trasversale del reattore,
- C_e e C_{in} [mg/l] sono le concentrazioni di substrato rispettivamente nell'effluente trattato e all'ingresso del reattore,
- C_y [mg/l] la concentrazione di substrato ad un' altezza y dal fondo del reattore,
- H [dm] l' altezza del reattore,
- K_{0v} [mg/l h] la costante di velocità della reazione di ordine 0 per unità di volume del reattore,
- $K_{\frac{1}{2}v}$ [mg^{1/2}/l^{1/2} h] la costante di velocità della reazione di ordine $\frac{1}{2}$ per unità di volume del reattore,
- t [h] il tempo di ritenzione idraulico a letto vuoto ad una distanza y dal fondo del reattore,
- t_H [h] il tempo di ritenzione idraulica a letto vuoto del reattore e
- y [dm] la distanza da fondo del reattore.

C'è da sottolineare come la concentrazione di nitrati nell'acqua da trattare possa influenzare la scelta dell'ordine della reazione, e quindi il modello cinetico da sviluppare.

Infatti Koenig e Liu (2000) sostengono che se la concentrazione di nitrati all'ingresso è abbastanza alta da consentire la totale penetrazione del substrato all'interno di tutto lo spessore del biofilm, allora la distribuzione della concentrazione degli NO₃⁻ - N lungo l'altezza del reattore segue una cinetica di ordine 0, come espresso dalle equazioni (15) e (19), altrimenti se il carico non è sufficientemente elevato, il modello segue una cinetica di ordine $\frac{1}{2}$.

Koenig e Liu (2000) sono, infine giunti alla conclusione che, il profilo della concentrazione dei nitrati lungo l'altezza del reattore può essere determinato utilizzando una cinetica di ordine $\frac{1}{2}$ secondo l'equazione (20) in cui $K_{\frac{1}{2}v}$ (Tabella 2.10) è stato determinato in un intervallo che va da 2,94 – 3,60 [mg^{1/2}/l^{1/2} h] per una dimensione dei supporti di zolfo pari a 2,8 – 5,6 mm, mentre

per dimensioni dei supporti che vanno da 5,6 mm a 11,2 mm, $K_{\frac{1}{2}v}$ è compreso fra 1,47 $[\text{mg}^{1/2}/\text{l}^{1/2} \text{ h}]$ e 2,04 $[\text{mg}^{1/2}/\text{l}^{1/2} \text{ h}]$, infine per dimensioni dei supporti compresi fra 11,2 e 16 mm, $K_{\frac{1}{2}v}$ è stato valutato compreso in un range di 1,12 – 1,29 $[\text{mg}^{1/2}/\text{l}^{1/2} \text{ h}]$.

Tabella 2.10 Valori di $K_{1/2v}$ in relazione alla dimensione dei granuli di zolfo utilizzati; (Koeing e Liu, 2000).

dimensione supporti zolfo (mm)	$K_{\frac{1}{2}v} [\text{mg}^{1/2}/\text{l}^{1/2} \text{ h}]$
2,8 – 5,6	2,94 – 3,6
5,6 – 11,2	1,47 – 2,04
11,2 - 16	1,12 – 1,29

Hanno poi concluso che la costante di velocità della reazione di ordine $\frac{1}{2}$ dipende dalla superficie specifica dei supporti secondo la seguente reazione:

$$K_{\frac{1}{2}v} = 0,0491 \omega \quad (23)$$

In cui 0,0491 $[\text{mg}^{1/2}/\text{dm}^{1/2}\text{h}]$ corrisponde alla costante $K_{\frac{1}{2}a}$.

2.3.1.4 Fattori ambientali che controllano il processo

Affinché il processo avvenga in modo corretto, è necessaria che sia presente una quantità adeguata di nutrienti.

Durante il processo autotrofo che sfrutta lo zolfo si riscontra anche una diminuzione del valore del pH, dovuto al rilascio di ioni H^+ . Ciò provoca l'accumulo di nitrito e una diminuzione del rateo di denitrificazione, in quanto il processo viene inibito (Furumai et al., 1996). Siccome il rateo di rimozione del nitrato è più alto di quello dei nitrito, alte concentrazione di nitrato possono indurre un accumulo di nitrito. L'accumulo di nitrito è indotto pure da molti altri fattori: un rapporto errato fra zolfo e azoto (S/N), la scarsa presenza di nutrienti ecc. (Hunter 2003, Campos et al., 2008).

Per ovviare alla variazione di pH, e compensare l'alcalinità teorica consumata, pari a 4,8 mg CaCO_3 per ogni mg di N-NO_3^- rimosso, viene aggiunta nel reattore una quantità sufficiente di calcare (carbonato di calcio). L'immissione di calcare (CaCO_3), oltre che contribuire a compensare l'alcalinità consumata, funge pure da fonte di substrato carbonioso inorganico necessaria al metabolismo batterico (Zhang et Lampe 1999). Altra metodologia studiata per controllare il valore del pH è l'utilizzo di un processo combinato di denitrificazione autotrofa

ed eterotrofa che produce CO₂ (Lee et al., 2001). Quando il solfuro viene alimentato nel reattore con una fonte di carbonio organico, come metanolo o acetato, la velocità di reazione aumenta di dieci volte che non facendo avvenire il solo processo autotrofo in quanto il processo eterotrofo comporta velocità di rimozione più elevate (Gommers et al., 1988; Lee et al., 2001; Kim et al., 2002).

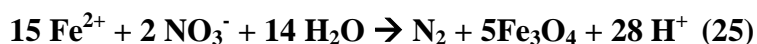
Oltre all'azoto inerte, altro prodotto del processo autotrofo di denitrificazione che sfrutta lo zolfo come donatore di elettroni, è il solfato (SO₄²⁻). Normalmente, per lo ione solfato, il limite previsto dalla legge per le acque potabili è 200 mg/l, perché alti valori di questo composto possono portare a fenomeni corrosivi e ad avere effetti lassativi. Quindi è necessario prevedere una fase di post trattamento dell'effluente per portare la concentrazione entro i limiti normativi (Soares et al., 2000; Kimura et al., 2002).

2.3.2 Denitrificazione autotrofa con ferro

Negli acquiferi che contengono Fe²⁺ disciolto, normalmente si nota una bassa o nulla presenza di nitrato (Korom 1992). La riduzione del nitrato sfruttando il Fe²⁺ può avvenire mediante un processo sia biotico, che abiotico o entrambi.

Il processo biotico è dovuto alla specie batterica *Gallionella ferruginea* (Korom 1992).

Le equazioni stechiometriche di riduzione del nitrato che sfruttano il ferro come donatore di elettroni sono (Rivett et al., 2008):



Fra gli svantaggi il processo richiede, per la crescita dei microorganismi, una piccola quantità di ossigeno che porta a complicazioni gestionali del reattore, oltretutto l'acclimatazione delle colture batteriche e quindi il periodo di avviamento, comportano tempistiche piuttosto lunghe e sono necessari post trattamenti per la rimozione dell'ammonio che può formarsi durante il metabolismo batterico.

2.3.3 Denitrificazione autotrofa con idrogeno

La denitrificazione autotrofa con idrogeno sembrerebbe non rilasciare sottoprodotti nocivi nell'effluente trattato in quanto, l'idrogeno, non è un elemento persistente (*Chang et al., 1999*). L'idrogeno potrebbe essere una soluzione efficace nell'uso di processi biologici di denitrificazione anche perché comporta una bassa crescita di biomassa (*Lee et al., 2002*).

Quindi i vantaggi di una denitrificazione autotrofa che utilizza idrogeno sono:

- una crescita modesta della biomassa
- l'assenza di contaminanti organici nell'acqua trattata
- la sua solubilità relativamente bassa che lo rende facilmente eliminabile dall'acqua trattata per stripping
- la non necessità di post trattamenti intensi.

Il principale svantaggio è che si potrebbe creare un ambiente fortemente esplosivo causato dall'accumulo dell'idrogeno (*Terada et al., 2006; Lee et Rittmann 2002*), quindi anche la sua bassa solubilità rappresenta uno svantaggio nelle fasi di alimentazione del composto ai microorganismi.

2.3.3.1 Microbiologia

La maggior parte degli organismi denitrificanti classificati come idrogeno – ossidanti appartengono al genere *Protobacteria*. Una delle specie maggiormente studiate è quella del *Paracoccus denitrificans*, che appartiene alla sottoclasse α dei *Protobacteria* (*Liessen e al., 1992*). Oltre a specie appartenenti alla sottoclasse α , sono state isolate specie di batteri denitrificanti appartenenti alla sottoclasse β dei *Protobacteria* come: *Thaurea sp.*, *Hydrogenophaga sp.* (*Park e al., 2005*) appartenenti alle classi dei *Flavobacteria* (*Park e al., 2005*) e *Sphingobacteria* (*Shau e al., 2009*).

In molti impianti a scala di laboratorio utilizzati per simulare una denitrificazione con idrogeno sono stati isolati anche batteri del genere *Pseudomonas* (*Pseudomonas stutzeri*) (*Szekeres e al., 2002*). Altre specie batteriche isolate e catalogate come specie che attuano una denitrificazione che sfrutta l'idrogeno come donatore di elettroni sono: batteri del gruppo *Acinetobacter* (*Arquiaga et al., 1993*), *Anemonas sp.*, *Shewanella putrefaciens* (*Liessens et al., 1992*), *Ochrobactrum anthropi*, *Paracoccus panthotrophus* (*Szekeres et al., 2002*) e *Acidovorax sp.* (del ceppo Ic3) e *Paracoccus sp.* (del ceppo Ic1) (*Vasiliadou et al., 2006*).

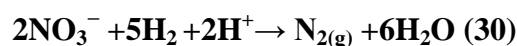
Chang et al, Ho e al., Lee et al., Rittmann e Tiemeyer e al. hanno utilizzato una coltura pura di *Alcaligenes eutrophus*, detta anche *Ralstonia eutropha*.

2.3.3.2 metabolismo e stechiometria

La stechiometria delle reazioni di denitrificazione utilizzando idrogeno come donatore di elettroni è data da (Zumfit, 1992; Lee e Rittmann 2002):



In sintesi la reazione complessiva è:



Ogni mole di nitrato, ridotta ad azoto gassoso, consuma un equivalente acido (H^+). Dall'equazione si può notare come il pH tenda ad aumentare a causa della reazione quindi viene prodotta alcalinità secondo il rapporto massico di 3,57 mg $\text{CaCO}_3/\text{mg N}$ (1 base equivalente per ogni N equivalente consumato) (Grommen et al., 2006). Inoltre, 1 mg di $\text{NO}_3^- - \text{N}$, per essere ridotto, porta al consumo teorico di 0,357 mg di idrogeno gassoso. Il rapporto massico (mg) di idrogeno consumato per ogni mg nitrito ridotto vale: 0,21 mg $\text{H}_2/\text{mg NO}_2^- - \text{N}$. L'aumento di alcalinità avviene durante il processo di riduzione del nitrito ad ossido nitrico, questo aumento porta a cambiare le condizioni del sistema (ambiente basico) che potrebbero compromettere l'attività batterica, in quanto potrebbe portare alla precipitazione di depositi minerali (Karanasios et al., 2010).

Poiché si tratta di un processo autotrofo, i microorganismi sfruttano come fonte carboniosa, per il metabolismo, carbonio inorganico derivante principalmente da CO_2 o CaCO_3 . Nella tabella 2.11 vengono riportate le equazioni stechiometriche per la denitrificazione autotrofa che utilizza idrogeno.

Tabella 2.11 Equazioni stechiometriche caratteristiche del processo di denitrificazione autotrofo che sfrutta idrogeno come donatore di elettroni.

equazione	stechiometria	Resa cellulare (g cellule/g NO ₃ ⁻ - N)	Domanda teorica H ₂ (mg H ₂ /mg NO ₃ ⁻ - N)	Domanda teorica CO ₂ (mg CO ₂ /mg NO ₃ ⁻ - N)	fonte
1	NO ₃ ⁻ + 3 H ₂ + 0,22 CO ₂ + H ⁺ → 0,48 N ₂ + 3,35 H ₂ O + 0,04 C ₅ H ₇ O ₂ N	0,32	0,43	0,69	(McCarty; 1972)
2	NO ₃ ⁻ + 2,82 H ₂ + 0,139 CO ₂ + H ⁺ → 0,406 N ₂ + 3,223 H ₂ O + 0,0278 C ₅ H ₇ O ₂ N	0,22	0,40	0,44	(Ghafari e al., 2009)
3	NO ₃ ⁻ + 3,03 H ₂ + H ⁺ + 0,229 CO ₂ → 0,477 N ₂ + 3,37 H ₂ O + 0,0458 C ₅ H ₇ O ₂ N	0,37	0,43	0,72	(Lee e Rittmann, 2002)

La sintesi di biomassa può valere: 0,32 g cellule/g NO₃⁻ - N (equazione 1), 0,22 g cellule/g NO₃⁻ - N (equazione 2) e 0,37 g cellule/g NO₃⁻ - N (equazione (3)), che sono valori assai più bassi rispetto a quelli che si possono riscontrare per la denitrificazione eterotrofa (riportati nel paragrafo corrispondente, tabella 2.7). Come riscontrabile anche nelle equazioni stechiometriche in tabella 2.9, la domanda teorica di idrogeno vale da 0,43 mg H₂/mg NO₃⁻ - N (Ghafari et al., 2009) a 0,40 mg H₂/mg NO₃⁻ - N (Lee et Rittmann, 2002). Inoltre il processo richiede da 0,44 mg CO₂/mg NO₃⁻ - N (C/N = 0,12) (Ghafari et al., 2009) a 0,71 mg CO₂/mg NO₃⁻ - N (C/N = 0,21) (Lee e Rittmann, 2002). Sebbene si osservi che sono necessari bassi quantitativi di substrato per mantenere il processo, è comunque necessario garantire un eccesso di carbonio e idrogeno per prevenire possibili carenze e poter garantire lo svolgersi ottimale della denitrificazione (Karanasios e al., 2010).

2.3.3.3 Cinetiche

Per ottenere una descrizione soddisfacente del processo denitrificante autotrofo, le velocità di riduzione del nitrato e del nitrito dovrebbero dipendere tanto dalle concentrazione dei due

substrati quanto dalle concentrazioni della biomassa presente dell'idrogeno disciolto e del substrato carbonioso inorganico (solitamente CO_2) (*Karanasios et al., 2010*).

I modelli cinetici di denitrificazione applicati al metabolismo batterico autotrofo che utilizza idrogeno come accettore di elettroni considerano, generalmente, il processo, come un processo in due fasi: riduzione di nitrato a nitrito e poi ulteriore riduzione ad azoto gassoso. L'approccio più frequente è quello di descrivere il comportamento dei batteri utilizzando la cinetica di Monod. Nella tabella 2.12 sono riportati i modelli matematici usati in letteratura. Secondo questi modelli, le velocità di riduzione del nitrito e del nitrato dipendono dalle loro concentrazioni, dalla concentrazione della biomassa e dalla concentrazione dell' idrogeno disciolto.

Tabella 2.12 Modelli cinetici di denitrificazione con idrogeno per nitrati e nitriti; (Karanasios et al., 2010)

tipo di modello	modello matematico		tipologia di reattore
1) ordine 0	riduzione nitrati	riduzione nitriti	crescita sospesa
2) Monod	$\frac{dC_{NO_3}}{dt} = -k_{NO_3} \cdot X$ $\frac{dC_{NO_3}}{dt} = -\frac{u_{mI} \cdot C_{NO_3}}{C_{NO_3} + K_{NO_3}}$	$\frac{dC_{NO_2}}{dt} = (k_{NO_3} - k_{NO_2}) \cdot X$	BER
3) Monod	$\frac{dX}{dt} = \left(\frac{\mu_{maxNO_3} \cdot C_{NO_3}}{C_{NO_3} + K_{NO_3}} \right) \cdot X - K_d \cdot X - \frac{1}{\theta} X$		membrana
4) doppia Monod	$r_I = \frac{u_{mI} \cdot C_{NO_3} \cdot C_{H_2}}{(C_{NO_3} + K_{NO_3}) \cdot (C_{H_2} + K_{H_2I})}$	$r_{II} = \frac{u_{mI} \cdot C_{NO_3} \cdot C_{H_2}}{(C_{NO_3} + K_{NO_3}) \cdot (C_{H_2} + K_{H_2I})} - \frac{u_{mII} \cdot C_{NO_2} \cdot C_{H_2}}{(C_{NO_2} + K_{NO_2}) \cdot (C_{H_2} + K_{H_2II})}$	letto fluidizzato crescita sospesa con supporti cilindrici cavi BER
5) doppia Monod	$\frac{Z_{NO_3} - FD_{NO_3}}{RT} \frac{d}{dz} \left(C_{NO_3} \frac{dp}{dz} \right) + D_{NO_3} \cdot \frac{d^2 C_{NO_3}}{dz^2} + D_{HNO_3} \cdot \frac{d^2 C_{HNO_3}}{dz^2} - R_{NO_3} = 0$ <p>con</p> $R_{NO_3} = \frac{1}{n} \cdot R_{H_2} = \frac{k \cdot X \cdot C_{NO_3} \cdot C_{H_2}}{(C_{NO_3} + K_{NO_3}) \cdot (C_{H_2} + K_{H_2I})}$		
6) Monod con funzione di switching per la crescita dei nitrati	$\frac{dC_{NO_3}}{dt} = -\frac{1}{y_{NO_3}} \cdot \frac{\mu_{maxNO_3} \cdot C_{NO_3} \cdot X}{C_{NO_3} + K_{NO_3}}$	$\frac{dC_{NO_2}}{dt} = -\frac{1}{y} \cdot \frac{\mu_{maxNO_3} \cdot C_{NO_3} \cdot X}{C_{NO_3} + K_{NO_3}} - \frac{1}{y_{NO_2}} \cdot \frac{F_{NO_3}}{\mu_{maxNO_2} \cdot C_{NO_2} \cdot X \cdot \frac{C_{NO_2} + K_{NO_2}}{F_{NO_3} + C_{NO_3}}}$	crescita sospesa
7) substrati sostituibili con inibizione dei nitrati	$\frac{dC_{NO_3}}{dt} = -\frac{1}{y_{NO_3}} \cdot \frac{\mu_{maxNO_3} \cdot C_{NO_3} \cdot X}{C_{NO_3} + K_{NO_3} + k_{d2} \cdot C_{NO_2} + \frac{C_{NO_3}^2}{K_i}}$	$\frac{dC_{NO_2}}{dt} = \frac{1}{y_{NO_3}} \cdot \frac{\mu_{maxNO_3} \cdot C_{NO_3} \cdot X}{C_{NO_3} + K_{NO_3} + k_{d2} \cdot C_{NO_2} + \frac{C_{NO_3}^2}{K_i}} - \frac{1}{y_{NO_2}} \cdot \frac{\mu_{maxNO_2} \cdot C_{NO_2} \cdot X}{C_{NO_2} + K_{NO_2} + k_{d1} \cdot C_{NO_3}}$	crescita sospesa
8) substrati sostituibili con inibizione dei nitrati	$-D_{NO_3} \phi \frac{\partial^2 C_{NO_3}}{\partial x^2} + \phi \frac{\partial C_{NO_3}}{\partial t} + \frac{1}{y_{NO_3}} \mu(C_{NO_3}) \cdot X = 0$ <p>con $\mu(C_{NO_3}) = \frac{\mu_{maxNO_3} \cdot C_{NO_3}}{C_{NO_3} + K_{NO_3} + k_{d2} \cdot C_{NO_2} + \frac{C_{NO_3}^2}{K_i}}$</p>	$-D_{NO_2} \phi \frac{\partial^2 C_{NO_2}}{\partial x^2} + \phi \frac{\partial C_{NO_2}}{\partial t} + \frac{1}{y_{NO_2}} \mu(C_{NO_2}) \cdot X - \frac{1}{y_{NO_3}} \cdot \mu(C_{NO_3}) \cdot X = 0$ <p>con $\mu(C_{NO_2}) = \frac{\mu_{maxNO_2} \cdot C_{NO_2}}{C_{NO_2} + K_{NO_2} + k_{d1} \cdot C_{NO_3}}$</p>	letto fisso
9) substrati sostituibili con inibizione dei nitrati e doppia Monod	$-D_{NO_3} \phi \frac{\partial^2 C_{NO_3}}{\partial x^2} + \phi \frac{\partial C_{NO_3}}{\partial t} + \frac{1}{y_{NO_3}} \mu(C_{NO_3}) \cdot X = 0$ <p>con $\mu(C_{NO_3}) = \frac{\mu_{maxNO_3} \cdot C_{NO_3}}{C_{NO_3} + K_{NO_3} + k_{d2} \cdot C_{NO_2} + \frac{C_{NO_3}^2}{K_i}} \cdot \frac{C_{H_2}}{K_{SH_2} + C_{H_2}} \cdot \frac{C_{CO_2}}{K_{SCO_2} + C_{CO_2}}$</p>	$-D_{NO_2} \phi \frac{\partial^2 C_{NO_2}}{\partial x^2} + \phi \frac{\partial C_{NO_2}}{\partial t} + \frac{1}{y_{NO_2}} \mu(C_{NO_2}) \cdot X - \frac{1}{y_{NO_3}} \cdot \mu(C_{NO_3}) \cdot X = 0$ <p>con $\mu(C_{NO_2}) = \frac{\mu_{maxNO_2} \cdot C_{NO_2}}{C_{NO_2} + K_{NO_2} + k_{d1} \cdot C_{NO_3}} \cdot \frac{C_{H_2}}{K_{NH_2} + C_{H_2}} \cdot \frac{C_{CO_2}}{K_{NCO_2} + C_{CO_2}}$</p>	letto fisso

10) substrati sostituibili con inibizione dei nitrati e dei nitriti	$\frac{dC_{NO_3}}{dt} = -\frac{1}{y_{NO_3}} \cdot \frac{\mu_{\max NO_3} \cdot C_{NO_3} \cdot X}{C_{NO_3} + K_{NO_3} + k_{d_2} \cdot C_{NO_2} + \frac{C_{NO_3}^2}{K_i}}$ $- \frac{m_{NO_3} \cdot C_{NO_3} \cdot X}{C_{NO_3} + K_{NO_3} + k_{d_2} \cdot C_{NO_2} + \frac{C_{NO_3}^2}{K_i}}$	$\frac{dC_{NO_2}}{dt} = \frac{1}{y_{NO_3}} \cdot \frac{\mu_{\max NO_3} \cdot C_{NO_3} \cdot X}{C_{NO_3} + K_{NO_3} + k_{d_2} \cdot C_{NO_2} + \frac{C_{NO_3}^2}{K_i}} - \frac{1}{y_{NO_3}}$ $\cdot \frac{\mu_{\max NO_2} \cdot C_{NO_2} \cdot X}{C_{NO_2} + K_{NO_2} + k_{d_1} \cdot C_{NO_3} + \frac{C_{NO_2}^2}{K_m}}$ $- \frac{m_{NO_2} \cdot C_{NO_2} \cdot X}{C_{NO_2} + K_{NO_2} + k_{d_1} \cdot C_{NO_3} + \frac{C_{NO_2}^2}{K_m}}$	crescita sospesa
11) modello per reattori completamente miscelati	$\frac{C_{NO_3-f} - C_{NO_3}}{\theta} - a_c \cdot J_{NO_3^-} = 0$	$\frac{C_{NO_2-f} - C_{NO_2}}{\theta} + a_c \cdot J_{NO_2P} - a_c \cdot J_{NO_2R} = 0$	BER

Andando più nello specifico Kurt et al. (1987) hanno considerato questa tipologia di denitrificazione come un processo a due fasi, esprimendo le cinetiche con una doppia formula di Monod (formula 4 nella tabella 2.12) in cui sono stati assunti come substrati limitanti nitrato, nitrito e idrogeno. La cinetica numero 5 della tabella 2.12, basata su una formulazione di una doppia cinetica di Monod che descrive il rateo di utilizzazione dell'idrogeno e del nitrato e che si basa su parametri riportati in letteratura, riporta un modello a stato stazionario studiato da Sakakibara et al (1994). Anche Park et al. (2005) (formula 2) hanno utilizzato una cinetica di Monod per modellizzare il processo autotrofo. Questo modello prevede la dipendenza della velocità di riduzione del nitrato dalla concentrazione degli stessi presenti nell'acqua da trattare. La formula 6 della tabella, sviluppata da Tiemeyer et al. (2007), si basa su una cinetica di Monod con inibizione del nitrito e una funzione di commutazione per la crescita dei batteri sul nitrato ridotto. La velocità specifica di crescita è stata assunta essere la somma delle velocità specifiche di crescita rispettivamente con nitrato e nitrito come substrati limitanti. Nei loro studi, Tiemeyer et al. (2007), hanno ipotizzato che un aumento della concentrazione di nitrito inibisca la velocità globale di crescita. Anche Visvanathan et al. (2008) e Lu et al. (2009) hanno utilizzato la cinetica di Monod, rispettivamente, il primo ha utilizzato una cinetica semplice (formula 3), mentre l'altro ha sfruttato una cinetica doppia (formula 4) per descrivere le due fasi di processo valutando tutti i parametri e le costanti con prove sperimentali in batch.

Anche Vasiliadou et al. (2006), effettuando vari esperimenti in batch, hanno studiato la cinetica dei processi di denitrificazione autotrofa con idrogeno come donatore di elettroni. Dalle prove effettuate sono giunti alla conclusione che la cinetica di crescita potrebbe essere ben descritta dall'utilizzo di espressioni con una doppia limitazione dei nutrienti (nitriti e nitrati) (formula 7). L'inibizione da parte del nitrato è stata modellata utilizzando l'espressione di Andrews. Poi in un altro studio (formula 10) hanno costruito un modello per descrivere la cinetica del processo utilizzando un'espressione che descrive l'inibizione del processo provocata dal nitrito e ipotizzando un consumo di nitrato e nitrito, sottoforma di ratei di assimilazione, per le richieste di mantenimento delle cellule. Infine in uno studio condotto nel 2010 hanno effettuato studi basandosi sulle equazioni riportate in tabella nella formula 8. Hanno analizzato le cinetiche dei batteri operanti in reattori a letto fisso, e hanno usato modelli caratterizzati dalla presenza di substrati sostituibili e inibiti da un'elevata presenza di nitrato. La tipologia di modello utilizzata nella formula 9 si basa sull'assunzione che il processo è regolato da una doppia cinetica di Monod che prevede l'utilizzo di substrati sostituibili e un'eventuale inibizione da parte di concentrazioni troppo elevate di nitrato. Questo tipo di modello è stato utilizzato da Karanasios e al. (2010), per studiare la cinetica di denitrificazione in reattori a letto fisso.

Infine, Rezania et al. (2005) e Ghafari e al. (2010) hanno utilizzato per modellizzare il processo di denitrificazione una cinetica di ordine 0, riportata in tabella 2.12 nella formula 1. Hanno trovato valori di costanti di semisaturazione del nitrato, nitrito e idrogeno talmente piccoli da poter considerare i tre substrati come non limitanti e quindi approssimare il modello ad una cinetica di ordine 0, senza incorrere in valutazioni troppo errate.

In tabella 2.13 sono invece riportati i valori dei parametri cinetici ricavati da vari studi presenti in letteratura.

Tabella 2.13 Valori e unità di misura delle costanti di semisaturazione, massima velocità specifica di crescita, coefficiente di resa cellulare, costanti cinetiche di ordine zero per i modelli usati nella denitrificazione con idrogeno e riportati in tabella 2.10; (Karanasios *et al.*, 2010)

K_{NO_3} [mg N/l]	K_{NO_2} [mg N/l]	K_{H_2I} [mg H_2I/l]	u_{mI} [mg N/lh]	u_{mII} [mg N/lh]	μ_{maxNO_3} [1/h]	μ_{maxNO_2} [1/h]	Y_{NO_3} $\frac{mg\ biomassa}{mg\ NO_3^- - N}$	Y_{NO_2} $\frac{mg\ biomassa}{mg\ NO_2^- - N}$	k_{NO_3} $\frac{g\ N}{g\ ssv \cdot d}$	k_{NO_2} $\frac{g\ N}{g\ ssv \cdot d}$	fonte
									0,21÷0,74	0,25÷1,7	<i>Rezania e al. (2005)</i>
									0,037÷0,051*	0,013*	<i>Haugen e al. (2002)</i>
									0,33÷0,60	0,37÷0,45	<i>Lu e al. (2008)</i>
		0.0009÷0.0066							0,623÷0,710	0,707÷0,836	<i>Ghafari e al. (2010)</i>
28,63	4,79				0,0485	0,55	0,4207	0,084			<i>Smith e al (1994)</i>
0,5÷8,82	0,78÷28,45				0,0876÷0,155	0,455÷0,868	0,719÷1,077	0,0047÷1,467			<i>Vasiliadou e al. (2006)</i>
37,8	42,98				0,0212	0,00813	2,055	1,496			<i>Tiemeyer e al. (2007)</i>
2,09	1,55	0,059	11,06e14,12	3,07e4,86							<i>Lu e al. (2009)</i>
0,18	0,16	<0,002									<i>Kurt e al. (1987)</i>
317,39			434,78								<i>Park e al. (2005)</i>
0,0001					0,0023		0,345				<i>Visvanathan e al. (2008)</i>
9,1	39,1				0,0115	0,917	0,132	0,00806			<i>Vasiliadou e al. (2006)</i>
8,3	38,4	25,3			0,152	0,834	0,128	$1,06 \cdot 10^{-3}$			<i>Karanasios e al. (2010)</i>

Si può notare che i ratei specifici di crescita per nitrato ($\mu_{\max \text{NO}_3}$) e nitrito ($\mu_{\max \text{NO}_2}$), variano rispettivamente, fra 0,0023 e 0,155 [1/h] e 0,00813 e 0,917 [1/h]. Questo divario di valori è dovuto principalmente al fatto che ciascuno studio è stato condotto in condizioni differenti ed ha utilizzato colture batteriche diverse. Così anche le costanti di semisaturazione (K_{NO_3} e K_{NO_2}) di nitrato e nitrito presentano valori molto eterogenei, che vanno da un minimo (*Kurt et al., 1987*) di 0,18 per nitrati e 0,16 per nitriti [mg N/l] a un massimo (*Tiemeyer et al., 2007*) di 37,8 mg N/l (K_{NO_3}) e 42,98 mg N/l (K_{NO_2}). Serve sottolineare che *Visvanathan et al. (2008)* hanno ricavato, dagli studi condotti, una costante di semisaturazione per i nitrati del valore di 0,0001 mg N/l, misurata utilizzando come modello una cinetica di Monod applicata alla sola rimozione del nitrato, senza prevedere un modello per descrivere il passaggio intermedio di riduzione a nitrito. *Lu et al. (2009)* applicando una doppia cinetica di Monod hanno misurato un valore di K_{NO_3} pari a 2,09 mg N/l.

La costante di semisaturazione dell'idrogeno assume valori diversi in funzione dello studio che l'ha ricavata. *Ghafari et al. (2010)* l'hanno valutata in un intervallo che va da 0,0009 a 0,0066 mg H_2 /l concludendo che, per valori così bassi, l'idrogeno non diviene un substrato limitante, e gli unici substrati da considerarsi tali sono nitrato e nitrito.

Serve sottolineare che i modelli possono riportare insite delle debolezze o imprecisioni. Va anche detto che in molti modelli non viene presa in considerazione la concentrazione di biomassa, perché si assume che questa resti costante durante il processo. L'approssimazione di non considerare, nei modelli, la crescita di biomassa (formule 2 e 4 della tabella 2.12) potrebbe portare alla conseguenza di predizioni errate (*Karanasios et al., 2010*). D'altro canto (formula 1) sono state formulate anche cinetiche che considerano espressioni dipendenti solo dalla costante di concentrazione della biomassa senza che siano influenzate dalla concentrazione dei nutrienti. Un'altra limitazione che presenta la maggior parte dei modelli cinetici sviluppati per colture batteriche su supporto fisso, sta nel fatto che le equazioni per la concentrazione dei nutrienti non includono la diffusione nel biofilm di nitrato e nitrito presenti nel liquido da trattare. Lo si nota nella formula 4, dove *Kurt et al. (1987)* hanno assunto che gli effetti della diffusione nel biofilm non influisce sulle cinetiche di ciascun substrato. *Sakakibara et al. (1994)*, invece, nel loro modello matematico allo stato stazionario applicato a reattori BER (formula 5), hanno cercato di inserire e prevedere anche il flusso dei substrati all'interno del biofilm utilizzando appositi coefficienti di diffusione. I valori dei coefficienti di diffusione per i nitrati, idrogeno e anidride carbonica valgono rispettivamente: 0,0683, 0,2104 e 0,00691 [cm^2/h]. *Pure Lee e Rittmann (2002)* hanno sviluppato un modello basato sul bilancio di massa per il consumo di nitrato e

nitrito nel biofilm, e utilizzato un'espressione che descrive la velocità di trasferimento dell'idrogeno dalla membrana a fibre cave. Vasiliadou et al. in studi pubblicati nel 2009, usando specifiche funzioni di crescita che riprendevano conclusioni di studi pubblicati da loro nel 2006, hanno utilizzato coefficienti appositi di diffusione, nelle equazioni del bilancio di massa, per descrivere il trasferimento del nitrato e del nitrito, dal liquido da trattare, fin dentro il biofilm. Hanno assunto che il consumo dei nitrati e dei nitriti avveniva solo all'interno del biofilm batterico. Hanno anche dimostrato, come si può vedere dalla tabella 2.13, che i parametri cinetici calcolati per il processo denitrificante su letto fisso, sono diversi da quelli calcolati per processi a biomassa sospesa, perché nei sistemi a letto fisso si evidenziano cambiamenti nell'attività batterica dovuti al periodo di fissazione delle colture sui supporti.

2.3.3.3 Fattori ambientali che controllano il processo

pH

Una causa correlata con lo svolgersi ottimale del processo è il mantenimento del valore di pH, nell'ambiente in cui la denitrificazione avviene, entro un range di 7,6 – 8,6 (*Ghafari et al., 2010; Lee e Rittmann 2003; Lu e Gu, 2008 Rezanian et al., 2005*). Tuttavia, molti ricercatori hanno indicato un valore adeguato del pH nell'intorno di 7,5 – 7,6 (*Zhou et al., 2007; Kurt et al., 1987; Shin et al., 2005*). Infatti, un aumento del pH sopra 8,6 può comportare un accumulo di nitrito e un abbassamento del rateo di rimozione del nitrato (*Rezanian et al., 2005; Lee e Rittmann, 2007; Kurt et al., 1987*), valori attorno al 7 (*Rezanian et al., 2005*) o più bassi (*Lu et al., 2007*) possono inibire il processo. Sotto il valore 7 la decomposizione degli ioni di carbonato e lo strappaggio della CO₂ possono influenzare in modo marcato il processo in quanto verrebbe a mancare parte del substrato carbonioso. È stato osservato che a pH 5,4 la denitrificazione con idrogeno può avvenire, ma è necessaria un'aggiunta di CO₂ e la velocità di denitrificazione subisce un notevole rallentamento (*Gros et al., 1988*).

Per limitare e controllare il naturale incremento del pH, molti ricercatori hanno utilizzato tamponi a base di fosfati (*Mo et al., 2005; Vasiliadou et al., 2009; Shin et al., 2005; Hwang et al., 2009*). Serve sottolineare che lo svantaggio dovuto all'utilizzo di un tampone a base di fosfati sta nel fatto che esso può favorire la precipitazione di sali minerali che potrebbero rallentare il rateo di denitrificazione e modificare la densità del biofilm. Invece, se si immette CO₂ come sostanza che controlla il pH non si incorre in rischi particolari oltre a garantire un'adeguata quantità di substrato carbonioso inorganico (*Celmer et al., 2006; Ghafari et al., 2009; Schnobrich et al., 2005*).

Oltretutto, la produzione di alcalinità, potrebbe avere un impatto negativo sia sulla crescita dei batteri nel biofilm che in reattori a biomassa sospesa, in quanto la formazione di precipitati durante il processo di denitrificazione potrebbe limitare il trasferimento di massa e quindi diminuire l'attività batterica (*Lee e Rittmann, 2003; Arvin et al., 1982; Flora et al., 1993*).

Temperatura

I risultati sperimentali hanno evidenziato che la temperatura influenza il processo denitrificante autotrofo, perché incide sul comportamento dei batteri.

La temperatura ottimale per la denitrificazione è tra i 25 e i 35 °C, però alcune specie di batteri autotrofi che sfruttano l'idrogeno possono vivere anche in condizioni più estreme in un range che va dai 2 ai 50 °C (*Brady e Weil, 2002*). Nella maggior parte degli studi effettuati su batteri denitrificanti autotrofi, che sfruttano l'idrogeno, la temperatura varia fra i 10 e i 30 °C. Il valore minimo di 10° C è la tipica temperatura delle acque sotterranee (*Gros et al., 1988; Rezanian et al., 2005*), e quindi le prove effettuate in quella determinata condizione servono a capire il comportamento dei batteri a temperature di interesse operativo. La temperatura di 30°C è la temperatura ideale che comporta una velocità di denitrificazione maggiore (*Vasiliadou et al., 2009; Mansell e Schroeder, 2002; Komori e Sakakibara; 2008*).

In accordo con la legge della velocità teorizzata da Arrhenius, Kurt et al. hanno dimostrato che il rateo del processo in un letto fluidizzato, raddoppia per ogni incremento di 10°C della temperatura. Un massimo del rateo di denitrificazione è stato rilevato a 42°C. Rezanian et al. hanno osservato che la velocità di denitrificazione è aumentata innalzando la temperatura da 12 a 25°C. Esperimenti condotti da Zhou et al. hanno portato alla conclusione che il range adatto di temperatura per ottenere un processo di denitrificazione ottimale è fra i 30 e i 35°C. A 25°C è stato osservato un accumulo di nitrito, lo studio ha portato ad osservare che un ulteriore incremento della temperatura sopra i 35°C ha diminuito la velocità di rimozione.

Concentrazione di idrogeno disciolto

Dai loro studi Chang et al. hanno concluso che il limite critico nei confronti della concentrazione di idrogeno disciolto sembra essere 0,2 mg/l, infatti sotto questo valore si è osservata un'incompleta denitrificazione e la concentrazione di nitrito nell'effluente trattato è aumentata. Sotto questa concentrazione l'enzima nitrito riduttasi viene inibito, mentre per una

concentrazione ancora più bassa (0,1 mg H₂/l) anche l'enzima nitrato riduttasi viene inibito. Serve dire che l'enzima nitrito riduttasi è molto più sensibile che non l'enzima nitrato riduttasi. Molti ricercatori hanno lavorato con concentrazioni di idrogeno disciolto elevate comprese tra 1,1 e 1,4 mg H₂/l (*Dries te al., 1988; Vasiliadou et al., 2009; Kurt et al., 1987*). Dagli studi effettuati da Karanasios et al. si evince che la completa denitrificazione è stata raggiunta con concentrazioni di idrogeno disciolto che variano tra 0,4 e 0,8 mg H₂/l.

Lee e Rittmann (2002), dai loro studi, hanno concluso che il più importante fattore di controllo dell'efficienza del processo denitrificante autotrofo è la concentrazione di idrogeno disciolto (misurata in termini di pressione parziale) in quanto il substrato viene fornito in fase gassosa, e poi disciolto tramite un gorgogliatore nell'acqua da trattare. Hanno osservato che aumentando la pressione dell'idrogeno da 0,45 a 0,55 atm, è stata raggiunta un'efficienza di rimozione che sfiorava il 100%, utilizzando un reattore composto da una membrana a fibre cave (permeabile all'idrogeno) che fungeva da supporto al biofilm.

Considerando le conclusioni delle ricerche effettuate da Rezanian et al. (2006) si può notare come la completa rimozione dei nitrati e una bassa presenza di idrogeno (0,001 mg/l) nell'effluente trattato è stata raggiunta con concentrazioni di idrogeno disciolto che andavano da 0,2 e 0,55 mg/l.

Da questi studi si può evincere che per ottenere una denitrificazione completa, serve fornire quantità di idrogeno disciolto che variano in un range di 0,4 – 0,55 mg/l.

Fonti di carbonio

Teoricamente, come detto in precedenza, la domanda stechiometrica di carbonio inorganico per effettuare una completa denitrificazione con idrogeno valgono 0,12 – 0,21 mg C/mg NO₃⁻ - N. Mansell e Schroeder (2002) e Visvanathan et al. (2008) hanno utilizzato un rapporto C/N pari a 2:1 .

Serve far notare che un rapporto C/N troppo elevato potrebbe portare ad un accumulo di nitrito ed una produzione indesiderata dell'intermedio N₂O in aggiunta a N₂ (*Chiu et al., 2003*). Per contro, un rapporto C/N troppo basso porta a un'incompletezza del processo (*Kim et al., 2002; Nair et al., 2007*).

Dagli studi di Ghafari et al. si evince che l'utilizzo di CaCO_3 come unica fonte di carbonio ha il vantaggio di comportare tempi brevi di acclimatazione (e quindi di avvio) delle colture batteriche, mentre l'uso di CO_2 ha portato a tempistiche più lunghe.

Come detto in precedenza, il bicarbonato è un substrato più appropriato per una crescita rapida e una migliore acclimatazione dei batteri (Ghafari et al., 2010), però una combinazione di CO_2 e CaCO_3 ha il pregio di sviluppare nei batteri una migliore capacità di denitrificazione. Infatti, Ghafari et al. (2010) hanno concluso che in un range che va da 20 a 2000 mg /l la concentrazione ottima di bicarbonato da mantenere in acqua si colloca attorno al valore di 1100 mg NaHCO_3 /l, per ridurre completamente una concentrazione iniziale di 20 mg NO_3^- - N/l, fornendo perciò un rapporto massico C/N pari a 7,85 mg C/mg NO_3^- - N. Esperimenti condotti da Karanasios et al. (2010) hanno portato ad osservare che una completa rimozione di nitrato ed eventuale nitrito è stata raggiunta con un rapporto C/N pari a soli 0,504mg C/mg NO_3^- - N, con una concentrazione di anidride carbonica disciolta che variava dai 0,6 a 1,1 mg/l.

Serve sottolineare come sia risaputo che un'elevata durezza e alcalinità dell'acqua trattata comportano conseguenze negative sui processi denitrificanti. Gli effetti di questa condizione ambientale su tali processi sono stati studiati da Dries et al. (1988), utilizzando un reattore a letto fisso e trattando diverse tipologie di acqua catalogate in funzione della loro durezza: acqua dura, che presentava una concentrazione di 317,5 – 375 mg CaCO_3 /l, e acqua dolce, caratterizzata da una concentrazione di 145 – 165 mg CaCO_3 /l. Dopo alcune settimane il processo denitrificante su acque dure si è arrestato a causa della precipitazione di CaCO_3 , che ha creato problemi operativi di occlusione dei pori. Non sono stati, invece, riscontrati problemi particolari con l' utilizzo di acque dolci.

3. CONFIGURAZIONI IMPIANTISTICHE PER I PROCESSI DI BIODENITRIFICAZIONE

Nel presente capitolo vengono trattate le differenti tipologie di configurazioni impiantistiche che sfruttano il processo di denitrificazione biologica per la rimozione dei nitrati dalle acque potabili.

Serve sottolineare come le uniche tecnologie impiantistiche adottate in piena scala, perché tecnologie già consolidate, sono: i biofiltri sommersi e i trattamenti MBR utilizzando membrane a pressione imposta. Tutte le altre tecnologie trattate in questo capitolo sono ancora in fase di ricerca e sviluppo e non sono mai state applicate in piena scala, ma solo in scala di laboratorio o su impianti pilota.

3.1 Reattori a biomassa adesa

I sistemi a biomassa adesa sfruttano il biofilm, un'aggregazione complessa di microorganismi che si sviluppano adesi ad un supporto con elevata superficie specifica.

Il biofilm, solitamente, viene coltivato su supporti fissi che possono essere formati da materiali e forme diverse. Esistono reattori riempiti con: materiale polimerico, sabbia o ghiaia, sotto forma di elementi di dimensione di qualche mm disposti alla rinfusa nel letto (filtri biologici sommersi), o corpi rigidi alveolari strutturati, costituiti da fogli ondulati fra di loro saldati e sagomati (percolatori a riempimento sintetico).

E' possibile utilizzare come materiale di riempimento, in alternativa a quello sintetico, un substrato solido, funzionale al processo biologico:

- Supporto organico (per denitrificazione eterotrofa):
 - Materiale naturale: cotone, semi di olive, paglia, liquirizia ecc.
 - Materiale artificiale: BHP, BYONELLE ecc.
- Supporto inorganico (per denitrificazione autotrofa), esempio Zolfo.

Sul substrato, nella fase di inoculo che precede la fase di trattamento vera e propria, iniziano ad ancorarsi i primi batteri, che aderiscono alla superficie mediante deboli forze intermolecolari. La presenza sul supporto di questi primi batteri favorisce l'adesione di altre cellule batteriche che porta alla formazione del film di base che è la matrice di fondo che

garantisce l'integrità e la compattezza del biofilm. Una volta avvenuta la formazione del film di base, il biofilm cresce tramite processi di riproduzione cellulare e adsorbimento di batteri esterni che porta ad una stratificazione del biofilm stesso.

Le principali soluzioni impiantistiche esistenti per reattori a biomassa adesa sono:

- Biofiltri sommersi: letti filtranti riempiti con granuli di piccola pezzatura attraversati dall'acqua, con moto ascendente (upflow) o discendente (downflow).
- Reattori a letto mobile (MBBR): reattori in cui la biomassa si sviluppa sottoforma di biofilm su supporti lasciati liberi di muoversi in un reattore a forma di vasca come quelle a fanghi attivi.
- Letti fluidizzati: le particelle di supporto possono liberamente muoversi nel reattore essendo mantenute in sospensione dall'elevata velocità ascensionale dell'acqua da trattare.

I vantaggi che si possono ottenere dall'utilizzo di questa configurazione impiantistica, comparati a reattori a crescita sospesa, sono (Cohen et al., 2001):

- Una maggiore concentrazione di biomassa.
- Una più alta attività metabolica; nella biomassa adesa si possono riscontrare maggiori ratei di rimozione ad HRT inferiori.
- Una più forte resistenza alla tossicità.
- Permettere lo sviluppo di un fango con caratteristiche migliori, in quanto la biomassa è più densa e grazie a ciò si può ridurre fenomeni quali il Bulking e la formazione di schiume.

Punto debole di questa tipologia di trattamento può essere che il trasferimento dal liquido alla pellicola, dei vari substrati, risulti difficoltosa e quindi un fattore limitante per la velocità di crescita batterica e per le prestazioni del reattore. Questa criticità si manifesta soprattutto utilizzando supporti di grandi dimensioni (decine di mm), a causa della conseguente bassa superficie specifica disponibile per la crescita. Per ovviare a questo problema e minimizzarlo si utilizzano supporti con dimensioni dell'ordine di grandezza dei decimi di mm (0,5 mm) e alte superfici specifiche (più di 1000 m²/m³). (Cattaneo et al., 2003).

3.1.1 Biofiltri sommersi

Questa configurazione impiantistica è una configurazione utilizzata a piena scala per i processi di denitrificazione. Sono già sul mercato brevetti di biofiltri sommersi di proprietà di Veolia Water (BIOSTYR[®]) (figura 3.1) e Degrémont (BIOFOR DN[®]).

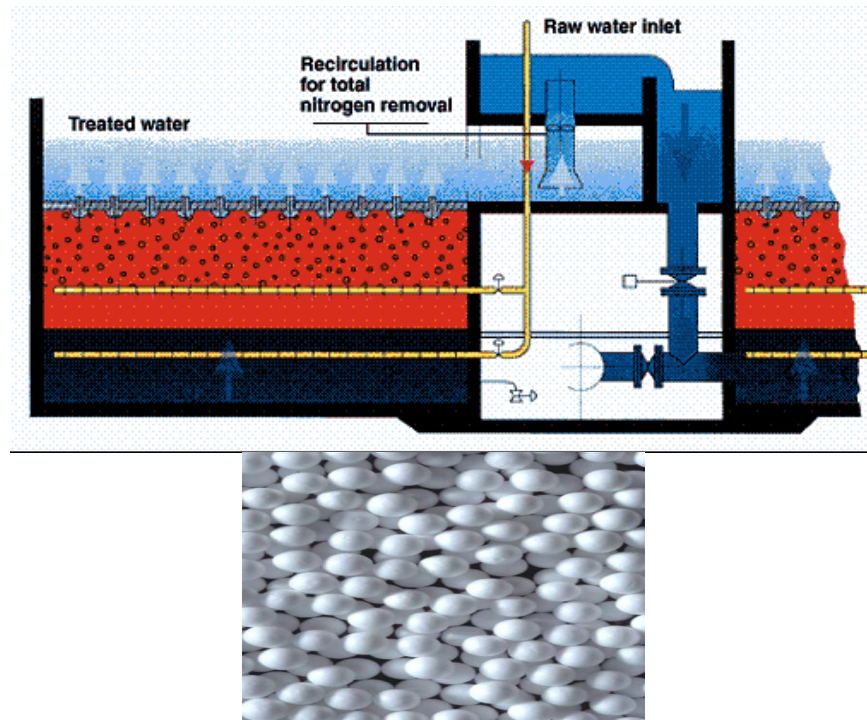


Figura 3.1 Esempio di configurazione Biostyr[®], e del materiale di supporto (Biostyrene) che riempie il biofiltro.

Il filtro solitamente ha la forma di un parallelepipedo e raggiunge altezze di 3 – 4 m.

Il reattore viene riempito completamente da **materiale di riempimento** di piccola pezzatura (qualche mm), solitamente caratterizzato da alte superfici specifiche ($1000 - 2000 \text{ m}^2/\text{m}^3$). Il flusso d'acqua da trattare lo sommerge completamente scorrendo dal basso verso l'alto (flusso ascendente) o in senso contrario (flusso discendente). La biomassa cresce sulla superficie del materiale di riempimento, che può essere il substrato donatore di elettroni stesso, se si sceglie di somministrarlo in fase solida, oppure sabbia, argilla espansa o materiale polimerico (polistirene, biostyrene) se si utilizzano substrati liquidi o gassosi.

Un parametro essenziale per il dimensionamento dell'impianto è il **carico volumetrico** applicabile al reattore, che aumenta in funzione della superficie disponibile per la crescita batterica, perciò aumenta all'aumentare della superficie specifica del supporto e quindi anche al diminuire delle sue dimensioni. Per la configurazione BIOFOR[®] il valore del carico

volumetrico applicabile vale $1 - 1,5 \text{ Kg NO}_3^- - \text{N/m}^3 \text{ d}$, per la configurazione BIOSTYR® vale $0,6 - 1 \text{ Kg NO}_3^- - \text{N/m}^3 \text{ d}$.

Altro parametro da considerare per il dimensionamento dei biofiltri sommersi è il **carico idraulico**. Per le configurazioni BIOFOR® il carico idraulico applicabile vale $10 - 30 \text{ m/h}$, carichi simili sono applicabili anche ai sistemi BIOSTYR®.

Questi sistemi devono prevedere operazioni adeguate di **controlavaggio** per rimuovere periodicamente la biomassa e le eventuali particelle solide accumulate nel reattore. La fase di controlavaggio del filtro è una fase importante e deve essere dimensionata correttamente per garantire un funzionamento corretto del processo. Il lavaggio si avvia automaticamente al raggiungimento di perdite di carico stabilite che variano, in funzione del modello di filtro in commercio, entro un range di $0,5 - 2,5 \text{ m}$. La velocità dell'acqua varia fra i 10 e i 30 m/h e la quantità d'acqua utilizzata varia fra il 10 e il 20% della portata trattata. Solitamente la durata di un ciclo filtrante varia dalle 24 alle 48 h (figura 3.2).

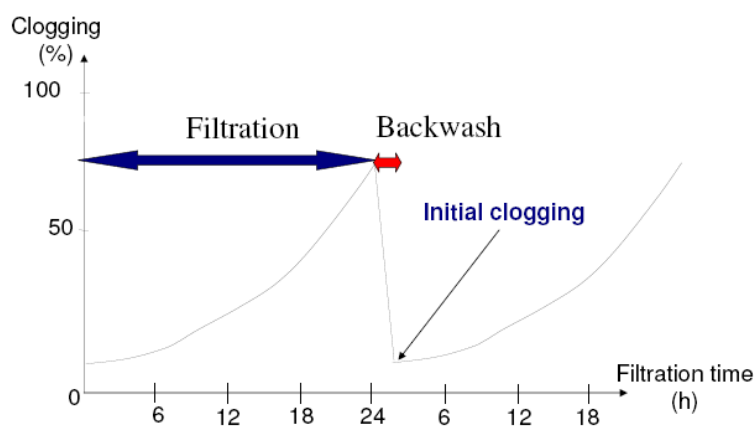


Figura 3.2 Durata di un ciclo di filtrazione e di contro lavaggio per un biofiltro BIOSTYR®; (fonte: Veolia Water)

Il processo denitrificante che può essere condotto all'interno del filtro può essere sia di tipo eterotrofo che di tipo autotrofo. In tabella 3.1 sono riportati i principali parametri che caratterizzano i biofiltri sommersi, oggetto di alcuni studi e di ricerche, e quantificano le loro prestazioni.

Tabella 3.1 Principali parametri che caratterizzano i biofiltri e le loro prestazioni.

fonte	processo substrato	C/N	supporto dimensione (mm)	HRT (h)	[C] _{in} (mg NO ₃ ⁻ - N/l)	carico volumetrico (kg NO ₃ ⁻ - N/m ³ d)	efficie nza (%)	velocità denitrificaz ione (kg NO ₃ ⁻ - N/m ³ d)
<i>Aesoy et al., 1998</i>	eterotrofo (BIOFOR®) etanolo	COD/N: 4,5	biolite 2 - 4	0,3	nd	2,5 - 3	-	2,25 - 2,5
<i>Phillips et al., 2000</i>	deiezioni e cibo per pesci	3 - 4,6	biostyrene	3	85	2,52	99	2,21
<i>Volokita et al., 1996</i>	eterotrofo fibre cotone	3,6	fibre corte	-	200	-	95	-
<i>Soares et al., 2002</i>	autotrofa zolfo	massa S = 777g	zolfo -	2	100	0,11	92	0,24
<i>Koenig et al.; 2002</i>	autotrofa zolfo	S/calcar e = 4:1-1:1	zolfo 2,8 - 5,6	5,47 - 8,8	71 - 250	0,18 - 0,6 0,31 - 1,1	98	-
<i>Vasiliadou et al; 2009</i>	autotrofa idrogeno	-	ghiaia (1,75 - 4,03)	0,52 - 1,2	10 - 340	0,02 - 0,7 0,08 - 2,7	70 - 100	2,3 - 4,4

Dalla tabella si può notare come il processo eterotrofo garantisce velocità denitrificanti e carichi applicabili maggiori. Una problematica relativa ai biofiltri, soprattutto per quelli operanti con substrato come materiale di riempimento, sta nel fatto che col passare del tempo si formano corsie preferenziali di passaggio dell'acqua e un conseguente malfunzionamento del reattore. E' necessario, perciò, prevedere un adeguata fase di controlavaggio.

In tabella 3.2 vengono riportati i principali vantaggi e svantaggi relativi ai biofiltri sommersi.

Tabella 3.2 Tabella riassuntiva dei principali vantaggi e svantaggi dei biofiltri sommersi.

VANTAGGI	SVANTAGGI
<p>Tecnologia molto studiata con configurazioni già operanti a piena scala (BIOSTYR® e BIOFOR®).</p> <p>Presenza minima di biomassa nell'effluente trattato, maggiori concentrazioni di biomassa nel reattore e non necessita di una fase di sedimentazione secondaria, a differenza di trattamenti a biomassa sospesa.</p> <p>Risparmio volumetrico per la compattezza delle dimensioni.</p> <p>Bassi tempi di residenza idraulica.</p> <p>Processo che unisce la funzione di reattore biologico con la funzione di filtrazione.</p> <p>Costi contenuti del materiale di riempimento.</p> <p>Possibilità di utilizzare substrato solido come materiale di riempimento che ha la doppia funzione di supporto alla crescita dei batteri e di fonte di substrato.</p>	<p>Concentrazioni di biomassa (e carbonio organico se si sfrutta il processo eterotrofo) nell'effluente basse, rispetto ai trattamenti con biomassa sospesa, ma non trascurabili, da non richiedere la necessità di post trattamenti per migliorare la qualità dell'acqua (trattamenti di affinamento e disinfezione).</p> <p>Configurazione che necessita di una fase periodica di controlavaggio per il controllo delle perdite di carbonio associate alla crescita di biomassa.</p> <p>costi aggiuntivi per il contro lavaggio.</p>

3.1.2 Letti fluidizzati (FBBR)

In queste tipologie di reattori (FBBR; Fluidized Bed Biofilm Reactor) le particelle di supporto possono spostarsi liberamente nel reattore perché sono mantenute in sospensione dall'elevata velocità ascensionale dell'acqua immessa e un'opportuna percentuale di acqua di ricircolo. Le dimensioni delle particelle di supporto, comunemente sabbia, vanno dagli 0,2 ai 0,7 mm. Le velocità elevate garantiscono collisioni continue ed intensi sforzi di taglio che contengono lo spessore del biofilm e limitano le resistenze diffusive. Le velocità sono funzione delle dimensioni del materiale di supporto, e possono essere comprese nell'intervallo di 10 – 40 m/h. L'alta concentrazione di biomassa (10 – 20 g SS/l) che può essere contenuta in un FBBR permette un notevole risparmio di spazio se paragonato a processi in reattori a crescita sospesa (fino al 90% i spazio in meno), (*Rabah et al., 2003*). I filtri si sviluppano soprattutto in altezza a causa dell'espansione elevata del letto, che può aumentare il volume di 1,5 – 3 volte il volume del letto a riposo. Si raggiungono altezze di 8 – 10 m. I carichi volumetrici che si possono imporre al reattore FBBR possono raggiungere

gli 8 – 10 kg NO₃⁻ - N/m³d. In figura 3.3 viene riportato un possibile schema di configurazione FBBR.

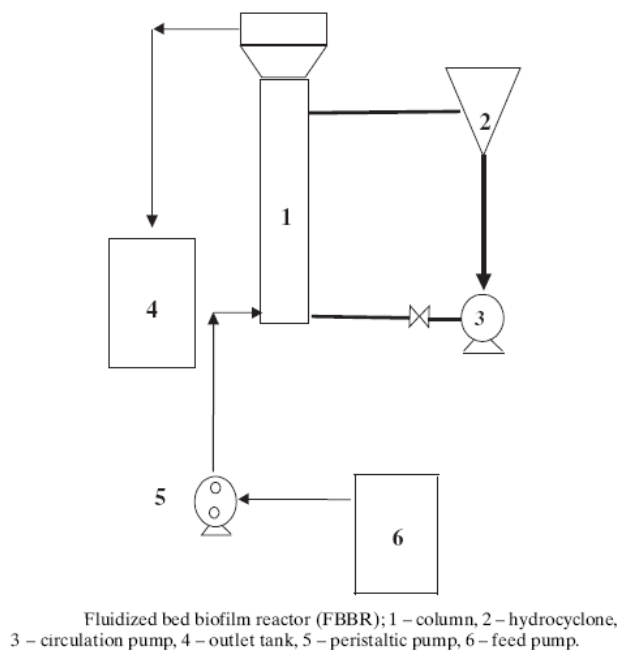


Figura 3.3 Possibile schema per un reattore a letto fluidizzato (FBBR); (Cattaneo et al., 2003).

Cattaneo et al. (2003), hanno paragonato un reattore FBBR ad un reattore STR, dimostrando che il reattore FBBR raggiunge le stesse prestazioni di rimozione (0,13 Kg NO₃⁻ - N/Kg_{vss} d), con il vantaggio di occupare minori spazi.

In tabella 3.3, vengono riportati i principali parametri operativi e di prestazione di reattori FBBR oggetto di diverse ricerche.

Tabella 3.3 Principali parametri che caratterizzano i reattori FBBR e le loro prestazioni.

fonte	processo	C/N	HRT (h)	velocità superficiali (m/h)	C _{in} (mg NO ₃ ⁻ - N/l)	carico volumetrico (kg NO ₃ ⁻ - N/m ³ d)	efficienza (%)	rateo di denitrificazione (kg NO ₃ ⁻ - N/m ³ d)
<i>Rabah et al.; 2003</i>	eterotrofo metanolo	2,7	-	45 – 55 - 65	1000	6 - 16	91,4 – 99,3	12
<i>Lazarova et al. 1993</i>	eterotrofo acetato	1,5	3 0,125	-	30	-	97 – 100	0,5 – 7
<i>Cattaneo et al.; 2003</i>	eterotrofo metanolo	2,7	1,7 0,83 0,42	-	140 - 530	-	94 - 100	5,36

Le efficienze di rimozione sono tutte su livelli alti (>90%), i ratei di rimozione variano da un valore di 5,36 a 12 kg NO₃⁻ - N/m³d. Il reattore che ha ottenuto il rateo maggiore è stato riempito con un materiale con alta superficie specifica (4200 m²/m³).

In tabella 3.4 vengono riportati i vantaggi e gli svantaggi di questa tipologia di reattore.

Tabella 3.4 Tabella riassuntiva dei principali vantaggi e svantaggi dei reattori FBBR.

VANTAGGI	SVANTAGGI
<p>Volumetrie di spazio occupato minori che non i reattori a biomassa sospesa e concentrazioni di biomassa, maggiori che portano a prestazioni migliori.</p> <p>Materiale di riempimento poco costoso e facilmente reperibile.</p> <p>Fasi limitate di contro lavaggio del materiale di supporto grazie alle alte velocità di acqua.</p>	<p>Possibilità di rilascio di biomassa e carbonio organico nell'effluente trattato, conseguente necessità di post – trattamenti.</p> <p>Costi di pompaggio dovuti alla necessità di imporre elevate velocità dell'acqua per permettere la fluidificazione del letto</p>

3.2 Reattori biologici a membrana (MBR)

I reattori biologici a membrana sono una categoria di reattori che combinano due tipologie di processi: il processo biologico di depurazione viene unito ad una tecnologia di filtrazione su membrana.

La tecnologia depurativa in questione prevede l'uso combinato di un reattore biologico unito all'uso di membrane con particolari funzioni che caratterizzano la tipologia di configurazione impiantistica MBR. Infatti, esistono diversi tipi di bio - reattori a membrana che sfruttano la denitrificazione delle acque potabili (McAdam e Judd, 2006):

1. **Pressure driven membrane bio – reactor** (MBR a pressione imposta), garantiscono la separazione e la ritenzione dei solidi (biomassa denitrificante) presenti nell'acqua da trattare all' interno del bio – reattore e permettono il passaggio solo dell' acqua depurata.
2. **Extractive membrane bio – reactor** (EMBR, MBR con membrana estrattiva), permettono l'estrazione di molecole solubili (organiche e non) presenti nell'acqua da trattare.
3. **Ion–Exchange membrane bio – reactor** (I-E MBR, MBR con membrana a scambio ionico), processo che ha lo stesso fine dell' EMBR, ma che utilizza, al posto della

tecnologia a membrane microporose, una tecnologia a membrane perm - selettive a scambio ionico.

4. **Gas transfer membrane bio – reactor** (MBR con membrana permeabile ai gas), processo che permette di immettere nel bireattore attraverso una membrana altamente selettiva il gas che funge da substrato per il processo.

Le membrane possono essere costruite con materiali diversi sia organici che inorganici. Le membrane organiche sono formate da materiali polimerici, principalmente da acetato di cellulosa (CA) o derivati di idrocarburi come polietilene (PE), polipropilene (PP), ma anche polimeri polari come poliammidi aromatiche (PA) e polisolfonati (PS). Altri materiali organici utilizzati per la produzione delle membrane includono nylon, poliacrilonitrile (PAN), polivinilalcol (PVA) gel di alginato di calcio, poliacrilammide, politetrafluoroetilene (PTFE o Gore-tex®) e polivinilidenefluoruro (PVDF).

Le membrane possono distinguersi in funzione della loro configurazione:

- fibre cave (Hallow fiber),
- su supporto piano (figura 3.4)
- in forma tubolare (figura 3.5)

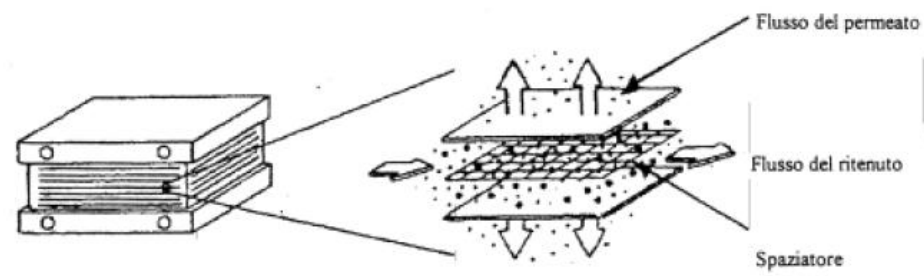


Figura 3.4 Configurazione di membrane ad unità piana; (P. Battistoni).

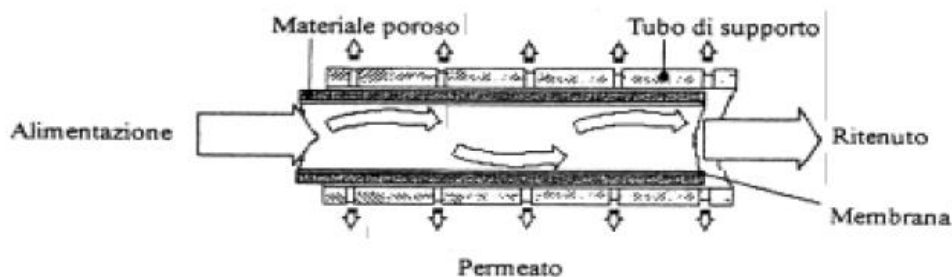


Figura 3.5 Configurazione di membrane tubolare; (P. Battistoni).

Mentre anche il sistema di trattamento può essere distinto a seconda del suo funzionamento:

- a flusso continuo
- se in tipologia carico e scarico (batch)
- con ricircolo.

Serve sottolineare che questo tipo di tecnologia è di recente concezione, e quindi la maggior parte dei dati disponibili sono dati ricavati da prove su scala di laboratorio e su scala pilota. Si è ancora, soprattutto per i processi ai punti 2, 3 e 4, in una fase embrionale e molto sperimentale della ricerca.

Di seguito verrà descritta più in dettaglio ciascuna specifica configurazione riportata nell'elenco precedente.

3.2.1 Reattori biologici a membrane a pressione imposta (pressure driven Membrane Bio – Reactor).

Questa applicazione prevede che un reattore anossico sia combinato con un sistema di membrane di microfiltrazione (dimensione dei pori compresa fra 0,1 e 1 μm) o ultrafiltrazione (dimensione dei pori compresa fra 0,001 e 0,1 μm). La membrana funge da barriera filtrante e trattiene, fisicamente, nel reattore la biomassa denitrificante, i solidi sospesi e le particelle inquinanti aventi dimensioni superiori a quelle dei pori e non riescono ad attraversarla.

Esistono due differenti tipologie di configurazione di reattori MBR:

- “Submerged”: bio – reattore è integrato con la membrana immersa (figura 3.6 a)
- “Side – stream”: bio – reattore ricircolato con unità esterna di separazione a membrana. (figura 3.6 b)

Nella modalità “submerged “ (figura 3.6 a): la separazione su membrana ed i processi di biodegradazione avvengono nella stessa vasca. Le membrane installate in moduli nel reattore biologico sono sottoposte ad una depressione che determina il passaggio dell'acqua (permeato) attraverso la membrana, mentre i solidi sono trattenuti all'interno del reattore. Le tipologie di membrane maggiormente utilizzate per questa modalità sono: moduli a fibre cave e moduli plate and frame. La modalità “submerged” è stata considerata recentemente per il suo utilizzo su larga scala nelle applicazioni MBR grazie ai suoi costi più contenuti (*McAdam et al., 2006*).

Nella modalità “side stream” (figura 3.6 b): il reattore e l'unità a membrana sono due entità fisicamente separate e il passaggio del liquido da un'unità all'altra avviene tramite una pompa

con ricircolo della miscela più concentrata verso il reattore. I solidi sono trattenuti nel reattore dalla membrana, mentre l'acqua l'attraversa. La forza motrice del processo è data dalla pressione generata dalla pompa. L'alta velocità tangenziale contribuisce a mantenere la membrana pulita.

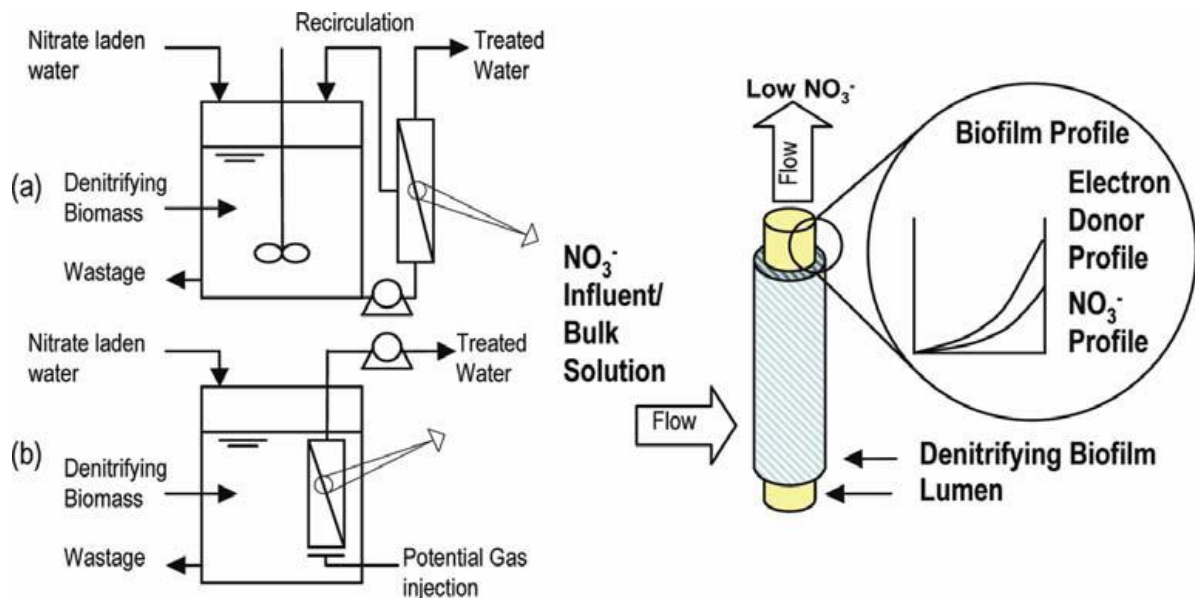


Figura 3.6 Schema d'impianto per un impianto pressure – driven MBR: a) modalità “submerged”, b) modalità “side – stream”; (Mansell e Schroeder, 2002).

Chang et al. (1993), hanno studiato le performance di un impianto MBR in modalità “side – stream” in cui la denitrificazione biologica è stata condotta sfruttando un processo eterotrofo che utilizzava etanolo come fonte di carbonio organico.

La prima parte dello studio è stata condotta utilizzando un carico volumetrico di nitrati all'ingresso pari a $2,8 \text{ KgNO}_3^-/\text{m}^3\text{d}$ con un rapporto C/N pari a 1,15, e un HRT di 1h.

La concentrazione del nitrato nell'acqua trattata ha raggiunto concentrazioni che variavano tra 1 e 5 $\text{mg NO}_3^-/\text{l}$. La concentrazione di nitrito, invece, è sempre stata vicina al limite di misurabilità, tranne che per un aumento fino a 0,03 mg/l , dovuto probabilmente ai complessi processi biologici che si instaurano durante la fase transitoria che si determina all'avviamento o in qualsiasi istante il sistema venga turbato da una variazione dei fattori che regolano il processo e che comportano un'incompletezza del processo.

Il rateo specifico di denitrificazione ottenuto è stato di $0,27 \pm 0,05 \text{ Kg NO}_3^- - \text{N/Kg SS d}$ raggiungendo efficienze del 96%..

E' stato osservato che le capacità filtranti della membrana col passare del tempo decrescono dopo 250 h si è passati da una capacità filtrante di 120 l/h m^2 a 45 l/h m^2 . Durante questo

periodo sono state riscontrate due fasi di decadimento, una a breve termine (50 h) e una a lungo termine (200 h) . Questo porta a confermare che il problema principale dell'utilizzo delle membrane è l'imbrattamento (fouling) che subiscono durante il loro utilizzo che occlude e intasa i pori e, di conseguenza, fa diminuire in modo marcato le prestazioni della membrana.

La riduzione e la soluzione al problema del fouling (imbrattamento) delle membrane è uno dei principali argomenti di studio per rendere veramente vantaggioso l'utilizzo di questa metodologia di trattamento. Molti metodi sono stati proposti che si possono classificare in: metodi fisici o metodi chimici. Anche se i metodi chimici permettano di raggiungere prestazioni di pulizia più elevate, questi comportano gli svantaggi di:

- Dover interrompere il trattamento depurativo.
- Rilasciare residui chimici pericolosi sulla superficie della membrana.
- Alti costi degli agenti pulenti.

I metodi fisici risultano essere più vantaggiosi ed economici.

Il metodo che ha portato a risultati migliori è quello del controlavaggio della membrana che si ottiene imponendo una pressione del permeato maggiore della pressione di trans membrana. Come esempio si riporta uno studio di Chang et al (1993). Essi hanno adoperato questo sistema di pulizia operando un contro lavaggio di 12 s ogni 12 min. Il contro lavaggio ha portato a ridurre il declino delle prestazioni a breve termine, oltre che osservare una più basso declino del flusso ($0,5 \text{ l/h m}^2 \text{ d}$) rispetto al declino che si è potuto riscontrare senza le fasi di contro lavaggio ($2 \text{ l/h m}^2 \text{ d}$).

In tabella 3.5 vengono riportati parametri caratteristici ottenuti da studi condotti a diverse scale su impianti MBR a pressione imposta per la denitrificazione di acque potabili.

Si possono osservare concordanze sui valori ottenuti dei ratei di denitrificazione, dell'ordine di $20 - 30 \text{ gNO}_3^- \text{N/g SS d}$ ed efficienze superiori al 90% che hanno consentito di ottenere concentrazioni di nitrato all'effluente sotto il valore limite di legge.

In tabella 3.5 si riportano i dati ricavati da vari studi effettuati su reattori MBR a pressione imposta. Si può notare come alte efficienze (>90%), sono state ottenute con contenuti rapporti C/N, che consentono un risparmio sui costi del substrato organico da fornire.

Tabella 3.5 Tabella di confronto di vari studi basati sull'utilizzo di processi MBR a pressione imposta

fonte	biomassa substrato	C/N	tipo membrana e materiale scala	porosità (μm)	$[\text{C}]_{\text{in}}$ (mg NO_3^- - N/l) - carico volum. ($\text{Kg N/m}^3\text{d}$)	flusso permeato ($\text{l/m}^2\text{h}$)	efficienza (%)	rateo di denitrificazione [gNO_3^- N/g SS d]
<i>Chang et al., 1993</i>	eterotrofa etanolo	1,15	HF/cellulosa laboratorio	0,01	- 2,8	150	96	27
<i>Buttiglieri et al., 2005</i>	eterotrofa etanolo	2,2	HF pilota	0,2	30 -	22,6	nd	19,65
<i>McAdam e Judd, 2007</i>	eterotrofa etanolo	1,52	HF/PVDF laboratorio	0,04	14,7 -	9,4	92	-

3.2.2 Reattori biologici a membrane estrattiva (extractive membrane bio – reactor - EMBR).

Nel processo EMBR (figura 3.7), conosciuto anche con il termine inglese confined cell o fixed membrane biofilm reactor e traducibile in italiano come reattore biologico a membrana estrattiva, il nitrato passa attraverso la membrana per diffusione molecolare ed è, in questo modo, allontanato dall'acqua da trattare. Esso viene, poi, trasportato in un reattore dove avviene la degradazione biologica di denitrificazione. Il gradiente di concentrazione di nitrato fra l'acqua da trattare ($[\text{C}]$ maggiore) e l'acqua di ricircolo ($[\text{C}]$ minore) rappresenta la forza motrice che permette la diffusione dell'inquinante attraverso la membrana, e quindi il passaggio del nitrato nel reattore. Il processo di denitrificazione solitamente è un processo di tipo eterotrofo, ma può essere anche utilizzato il processo autotrofo con idrogeno.

Per cercare di sfruttare solo il fenomeno diffusivo come forza motrice del passaggio del nitrato attraverso la membrana, si cerca di mantenere, a cavallo di essa, una pressione costante per cercare di ridurre al minimo l'influenza di questa sul fenomeno diffusivo (*Mansell e Schroeder, 2002*).

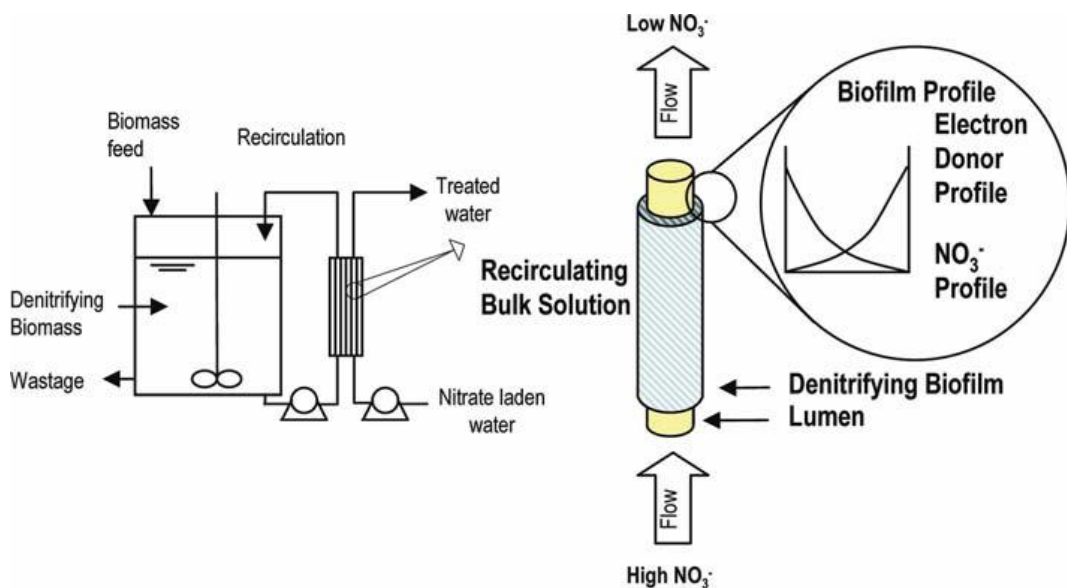


Figura 3.7 Schema d'impianto per un extractive membrane bio-reactor (EMBR); (Mansell e Schroeder, 2002)

Come già accennato (fig. 3.8) (Fuchs et al., 1997), la membrana consente il passaggio dei nitrati dal flusso di acqua da trattare (retentato) verso la zona in cui avviene la reazione biologica, restituendo così, all'uscita di questa, acqua denitrificata. Dal lato opposto la fonte di carbonio e i nutrienti (fosfati) necessari al processo eterotrofo diffondono nel biofilm creatosi sulla membrana e nel reattore in cui avviene la denitrificazione. La membrana mantiene separati i microorganismi dall'acqua trattata e la biomassa in più può facilmente essere separata in una zona di sedimentazione. Quindi il biofilm costituisce una barriera che non permette al carbonio organico e ai nutrienti di contaminare l'effluente trattato.

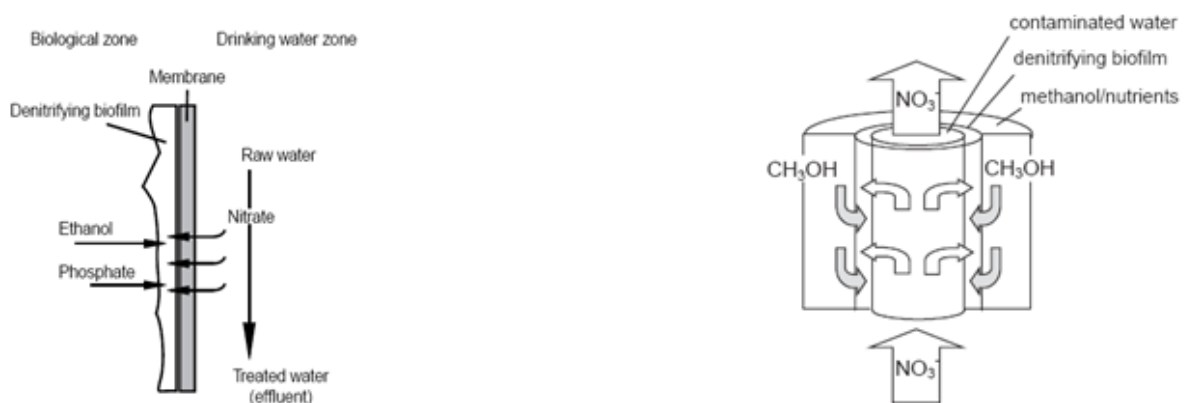


Figura 3.8 Funzionamento membrane EMBR piane e tubolari; (Fuchs et al., 1997).

In figura 3.9 vengono riportati i profili di distribuzione della concentrazione di substrato organico (etanolo) e di nitrate nel biofilm presente sulla membrana ed anche il profilo di

crescita batterica, in condizioni di dosaggio controllato di substrato organico. La crescita batterica è stata modellata basandosi su un'espressione di Monod che considera due substrati limitanti, nitrato ed etanolo.

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{S}{(K_S+S)} \cdot \frac{N}{(K_N+N)} \quad (1)$$

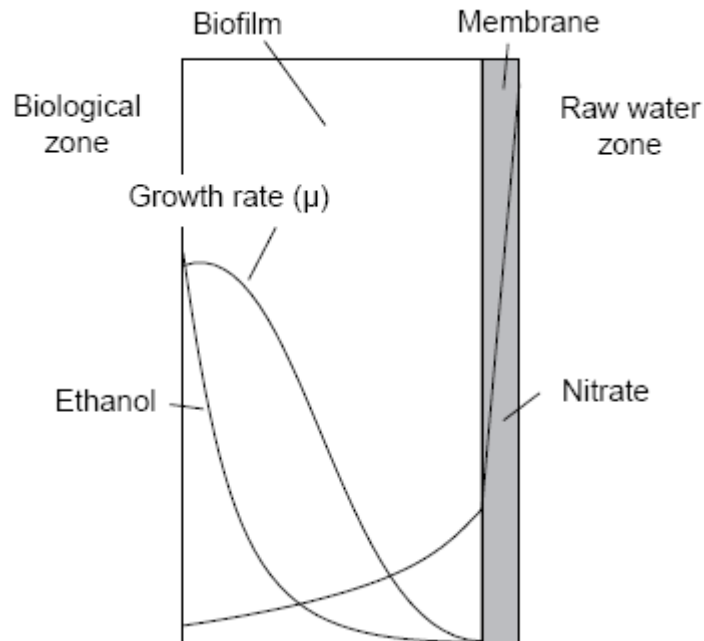


Figura 3.9 Profilo di concentrazione di etanolo, nitrati nel biofilm e profilo di crescita batterica; (Reising e Schroeder, 1996).

Di seguito viene riportato un modello che descrive il trasferimento di massa dei nitrati attraverso una membrana tubolare.

Il flusso J [$\text{g}/\text{m}^2\text{s}$] dei nitrati che va dall'interno della membrana all'esterno vale:

$$J = K \cdot (C - C_S) \quad (2)$$

dove:

- K è il coefficiente globale di trasferimento di massa [m/s],
- C e C_S [g/m^3] sono, rispettivamente, le concentrazioni di NO_3^- all'interno (lumen) e all'esterno (shell side) della membrana.

Tre principali fattori di resistenza contribuiscono al coefficiente globale di trasferimento di massa K : la resistenza della membrana K_m , la resistenza del retentato (flusso interno alla membrana, lumen) K_l e quella del permeato (shell) K_s . il coefficiente globale di trasferimento di massa è perciò così determinato:

$$\frac{1}{K} = \frac{1}{K_m} + \frac{1}{K_l} + \frac{1}{K_s} \quad (3)$$

Allo stato stazionario il trasferimento di NO_3^- attraverso la membrana è descritta da:

$$v \frac{dC}{dx} = K \cdot a \cdot (C - C_s) \quad (4)$$

dove:

- v è la velocità del flusso all'interno della membrana [m/s],
- a [1/m], è l'area della membrana per unità di volume ($a = 4/d$ con d il diametro delle fibre).

Integrando l'equazione 4 con le condizioni al contorno $C = C_i$ per $x = 0$ e $C = C_0$ per $x = L$, si ottiene:

$$C_0 = (C_i - C_s) \exp\left(-\frac{K \cdot a \cdot L}{v}\right) + C_s \quad (5)$$

con:

- C_0 è la concentrazione in uscita,
- L la lunghezza delle fibre.

Dai loro studi su una membrana in acrilonite, Ergas e Rheinheimer (2004), hanno osservato un valore del flusso di nitrato medio attraverso la membrana di $6,1 \text{ g NO}_3^- \cdot \text{N/m}^2\text{d}$, raggiungendo un rateo di denitrificazione di $1,1 \text{ g NO}_3^- \cdot \text{N/m}^2\text{d}$ ed efficienze di rimozione superiori al 99%. Rendimenti di rimozione simili, compresi fra il 90 e il 99%, sono stati ricavati anche da altri ricercatori che hanno sperimentato configurazioni EMBR (*Fuches et al., 1997; Mansell e Schroeder, 1999*). Tuttavia, questa tecnologia di trattamento presenta come svantaggio lo scarso controllo del substrato donatore di elettroni nell'effluente trattato. Infatti, Mansell e Schroeder (1999), hanno misurato una concentrazione di carbonio organico totale (TOC) nell'effluente trattato di 4 mg TOC/l (16 mg COD/l), mentre Ergans e Rehinhomeier (2004) hanno riscontrato che nell'effluente trattato una fuga di circa l'8% del metanolo somministrato al bio - reattore.

Reising e Schroeder (1996) hanno condotto esperimenti in modalità batch utilizzando una membrana a configurazione piana e metanolo come donatore di elettroni. Hanno voluto comparare le prestazioni del processo denitrificante di un reattore a biomassa sospesa con quelle di uno a biomassa adesa cresciuta sulla membrana. Durante il processo a biomassa sospesa è stato notato un significativo trasporto di metanolo attraverso la membrana. Questo fenomeno è stato attribuito alla presenza di un' elevata concentrazione iniziale di substrato organico unita al fatto che si era nella fase di avvio del reattore, e della mancanza di un fenomeno resistivo nei confronti della diffusione molecolare, dovuta all'assenza del biofilm sulla membrana. I ricercatori hanno osservato che il processo di rimozione attraverso il biofilm comporta una diminuzione del 25% della diffusività effettiva della membrana, nei confronti del substrato organico, se paragonato al processo con crescita sospesa.

Manasell e Schroeder (2002) hanno sperimentato un reattore EMBR che sfrutta il processo di denitrificazione autotrofo con idrogeno come donatore di elettroni e bicarbonato come fonte inorganica di elettroni. Questa tipologia di processo potrebbe essere una soluzione al problema del breakthrough (perforazione) che si crea con il carbonio organico. Sono stati misurati rendimenti di rimozione che vanno dal 90 al 96% con ratei di denitrificazione elevati, rispetto ad altri studi, che variavano entro un range di 2,7 - 5,6 g NO_3^- - N/m² d (concentrazione di nitrato in ingresso di 20 mg N/l) . E' stato riscontrato nell' acqua effluente un contenuto minimo di batteri. Tuttavia la scarsa conoscenza che si possiede sul problema dell'imbrattamento (fouling), tipico di questo processo autotrofo, delle membrane e il suo controllo in impianti a scala maggiore richiede una ricerca più approfondita per poter inquadrare il problema e ovviare agli eventuali limiti.

Nella tabella 3.6, si riportano i risultati ottenuti da prove batch effettuate da Fuchs et al. (1997) su membrane di materiale diverso, facendo variare la concentrazione dei nitrati nell'acqua da trattare e la dose di C/N, calcolando così pure la dose ottimale di C/N per l'etanolo. Il massimo rateo di denitrificazione raggiunto è stato di 1,230 g NO_3^- - N/m²d (ad una temperatura di 20°C) utilizzando una membrana di cellulosa rigenerata, anche se la resa di rimozione riscontrata con quella velocità di rimozione è stata del 40 – 60%. Rese maggiori (80 – 100%) sono state raggiunte sempre utilizzando una membrana di cellulosa rigenerata ma con velocità di rimozione del nitrato quasi dimezzate (0,45 – 0,56 g NO_3^- - N/m²d), in questa fase dell'esperimento la concentrazione di nitrato in ingresso è stata diminuita da 200 a 100 mg/l.

Tabella 3.6 Risultati ottenuto da prove batch con impianto a scala di laboratorio di EMBR; (*Fuchs et al., 1997*).

tipo di membrana	permeabilità ai nitrati [cm/s]	media NO₃⁻ nell'effluente [mg/l]	efficienza di eliminazione [%]	rateo di denitrificazione [gNO₃⁻N/m²d]	C/N [g/g]
cellulosa rigenerata	0,37 × 10 ⁻³	80 – 12 ^a	40 – 60	0,82 – 1,23	2,3
PVDF	0,43 × 10 ⁻³	140 ^a	30	1,23	3
polipropilene	ND	170 ^a	15	0,27	3 - 4
cellulosa rigenerata	0,37 × 10 ⁻³	0 – 20 ^b	80 - 100	0,45 – 0,56	1,9 – 2,4

Si può dedurre come fra i tre materiali sperimentati la membrana formata da cellulosa rigenerata è quella che restituisce risultati più interessanti, raggiungendo efficienze elevate anche se il rateo di denitrificazione non è elevato se paragonato a quello ricavato da Ergas e Rheinheimer (2004) e Manasell e Schroeder (2002). La quantità di etanolo da somministrare (C/N) è paragonabile alla quantità che serve somministrare a reattori a biomassa adesa comuni per la denitrificazione (C/N = 2,4).

In tabella 3.7 vengono riportati i principali parametri e dati ottenuti di studi effettuati utilizzando configurazioni EMBR.

Tabella 3.7 Tabella di confronto di vari studi basati sull'utilizzo di processi EMBR.

fonte	biomassa substrato	C/N	tipo membrana e materiale	porosità (μm)	$[\text{C}]_{\text{in}}$ (mg NO_3^- - N/l)	K (cm/s) – flusso (g NO_3^- - N/m ² d)	efficienza (%)	rateo di denitrificazione [g NO_3^- N/m ² d]
<i>Fuchs et al., 1997</i>	eterotrofa etanolo	1,9 – 2,4	tubolare cellulosa rigenerata	nd	100	0,0003 nd	80 - 100	0,45 – 0,56
<i>Mansell e Schroeder, 1998</i>	eterotrofa metanolo	1,125	- politetrafluoretilene (PTFE)	0,2	20	nd 4	90	nd
<i>Mansell e Schroeder, 2002</i>	autotrofa idrogeno e bicarbonato	Bic/H ₂ 2:1	- politetrafluoretilene (PTFE)	0,02	20 - 40	0,0006 nd	92 – 95,6	2,7 – 5,3
<i>Ergas e Rheinheimer, 2004</i>	eterotrofa metanolo	5,5	fibre cave (HF) acrilonite	nd	200	6,1 0,00026	96	1,1

Si può osservare che le efficienze di rimozione sono tutte dal 90% in su. I ratei di denitrificazione, variano in un range molto ampio (0,45 – 5,3 g NO_3^- - N/m²d). Da notare come l'utilizzo di un processo autotrofo con idrogeno abbia portato a valori di velocità denitrificanti più alti rispetto a quelli ricavati con processi eterotrofi, con l'ulteriore vantaggio di non rilasciare carbonio organico nell'effluente perché non è utilizzato come substrato per il processo e perché presenta rese di crescita cellulare molto più contenute che non quelle di processi eterotrofi.

Concludendo i vantaggi di questa tipologia di processo sono (*Ergas e Rheinheimer, 2004*) :

- l'acqua trattata resta separata dai batteri denitrificanti grazie alla membrana. La fuga di carbonio organico nell'effluente trattato dovrebbe essere minimizzata da una limitata

immissione di substrato necessaria e anche dal mantenimento di un'elevata densità della massa del biofilm.

- Se la denitrificazione viene condotta da batteri eterotrofi, questi possono raggiungere alte velocità di denitrificazione utilizzando substrati organici a basso costo come etanolo, metanolo o acido acetico.
- I reattori possono essere costruiti con membrane tubolari o a fibre cave a basso costo con basse perdite di carico e limitata capacità sporcante.

Gli svantaggi che presenta questa tecnologia depurativa, invece, sono:

- La possibilità non remota dell'instaurarsi del fenomeno di fouling (imbrattamento) che può compromettere il funzionamento ottimale della membrana e aumentare i costi operativi per la necessità di processi di pulizia.
- I costi elevati delle membrane.
- La bassa resistenza dei materiali delle membrane.
- Costi aggiuntivi di pompaggio
- Possibilità di breakthrough della fonte di carbonio con conseguente richiesta di processi aggiuntivi di post trattamento.

3.2.3 Reattori biologici a membrana a scambio ionico (ion – Exchange membrane bio reactor).

La configurazione (fig. 3.10) è identica al processo EMBR, l'unica differenza è che la membrana microporosa è sostituita da una membrana perm - selettiva a scambio ionico. Il vantaggio di questa tecnologia sta nel fatto che la membrana non porosa facilita una più specifica estrazione dei nitrati dall'acqua da trattare e soprattutto ostacola la diffusione della sostanza organica nell'acqua trattata. La matrice della membrana, come per le resine a scambio ionico, viene caricata con degli opportuni gruppi attivi funzionali che operano da barriera selettiva per gli ioni con carica uguale e permettono il passaggio degli ioni di segno opposto. Il processo ha come forza motrice il gradiente di concentrazione delle specie ioniche da filtrare. Essendo un processo a scambio ionico, la rimozione dei nitrati dall'acqua è bilanciata da un trasporto attraverso la membrana nella direzione opposta di una molalità equivalente di un altro ione di carica omologa (cloruro o bicarbonato). La membrana utilizzata presenta una bassa permeabilità al donatore organico di elettroni utilizzato (etanolo).

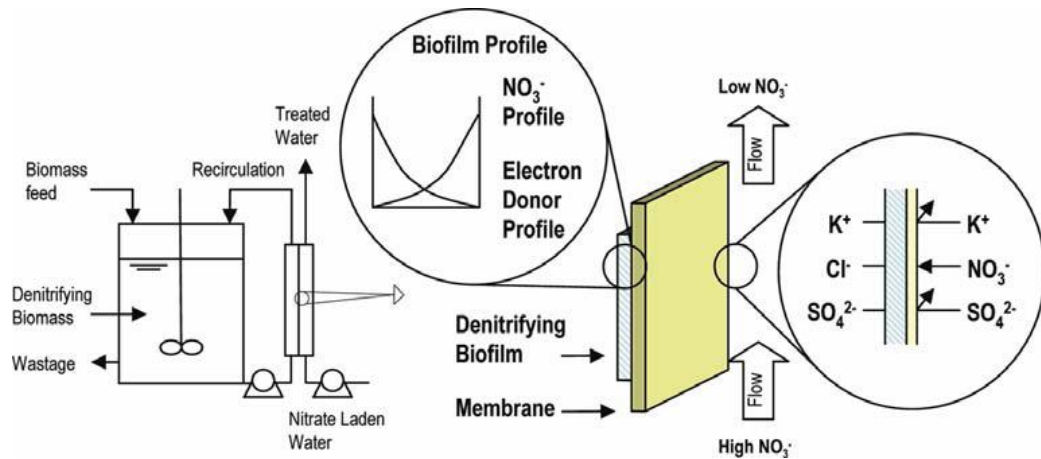


Figura 3.10 Schema d'impianto per un ion – exchange membrane bioreactor; (Mansell e Schroeder, 2002).

De Fonseca et al. (2000) hanno utilizzato una membrana a scambio anionico collegata ad un bio – reattore anossico dove la crescita batterica è condotta in forma sospesa, e in cui viene attuato un processo di denitrificazione eterotrofa che sfrutta come fonte di carbonio l'etanolo. Nel loro studio, De Fonseca et al. (2000), hanno espresso in termini quantitativi, nell'equazione 8, il trasporto di massa dell'etanolo (N_i) attraverso la membrana a scambio anionico. Questo risulta essere il prodotto fra il coefficiente di trasferimento di massa (K_i) dell'etanolo, l'area della membrana (A) e la differenza di concentrazione del substrato organico nella parte di acqua trattata ($C_{i,F}$) e quella nella zona in cui avviene il processo eterotrofo ($C_{i,D}$). combinando l'equazione del trasferimento di massa, con il bilancio di massa per entrambi i compartimenti si ottiene:

$$N_i = K_i \cdot A \cdot (C_{i,D} - C_{i,F}) = \frac{dC_{i,F}}{dt} \cdot V_F = \frac{dC_{i,D}}{dt} \cdot V_D \quad (6)$$

Ricavato K_i dai risultati sperimentali inseriti nell'equazione 8, de Fonseca e al. sono stati in grado di ricavare il coefficiente di diffusione apparente (Da_i) noto lo spessore δ_m della membrana (equazione 9).

$$K_i = \frac{Da_i}{\delta_m} \quad (7)$$

Il valore del coefficiente di diffusione Da_i ricavato vale: $1,8 \cdot 10^{-8} \text{ cm}^2/\text{s}$, ed è risultato essere tre ordini di grandezza più basso che $1,28 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ che è l'effettivo coefficiente di diffusione dell' etanolo nell'acqua a 20°C .

Serve sottolineare che essendo la membrana a scambio anionico, la diffusione dei cationi al suo interno è molto bassa comparata con quella degli anioni. Per definire e descrivere il comportamento della membrana nei confronti degli anioni, i ricercatori hanno utilizzato per il modello solfati e fosfati, perché sono gli anioni più presenti nella soluzione del reattore.

Hanno trovato un coefficiente di diffusione per i solfati pari a $2,3 \cdot 10^{-8}$ cm²/s. Per quanto riguarda i fosfati hanno riscontrato che la più alta permeabilità è attribuibile allo ione fosfato monovalente H₂PO₄⁻.

Si può notare come, nello studio condotto da De Fonseca et al. (2000), sia stata raggiunta un'efficienza del 92%, con un rateo di denitrificazione pari a 7,8 g N/m² d.

Serve osservare come nell'acqua trattata è stata misurata un'elevata concentrazione di anioni Cl⁻ e HCO₃⁻ (che si formano naturalmente dalla formazione di CO₂ dovuta al processo denitrificante eterotrofo). Ciò è sinonimo del corretto funzionamento della membrana a scambio ionico, che permette il passaggio solo degli anioni. La concentrazione di carbonio organico nell'effluente trattato, invece, non è stato possibile misurare in quanto il suo valore è sempre stato al di sotto della soglia di misurabilità.

Come già asserito, il vantaggio principale di questa tecnologia è la sua capacità di impedire il trasporto nell'effluente trattato di qualsiasi tipologia di residuo organico (compreso il donatore di elettroni). Tuttavia, la membrana è stata principalmente studiata utilizzando acque preparate, ad hoc, artificialmente. Non è mai stata testata utilizzando acque naturali. Poco si conosce, perciò, delle possibili complicazioni che potrebbero influire sul rendimento della membrana come fenomeni quali il fouling (imbrattamento), derivanti da un uso di acqua con caratteristiche elevate di durezza (Oldani et al., 1992). Serve sottolineare, pure, che questa tipologia di membrana presenta costi elevati e quindi è necessario valutarne la vita media in condizioni reali, per poter valutare se l'impiego può risultare veramente conveniente.

3.2.4 Reattori biologici a membrana per il trasferimento di gas (gas transfer membrane bioreactor).

In questa applicazione, la membrana svolge il ruolo principale di trasferire nel bio – reattore il substrato gassoso necessario al processo, già disciolto in acqua, evitando così inutili perdite e quindi ottimizzando il processo di trasferimento, che può raggiungere anche un'efficienza del 100% (Mo et al., 2005) (figura 3.11).

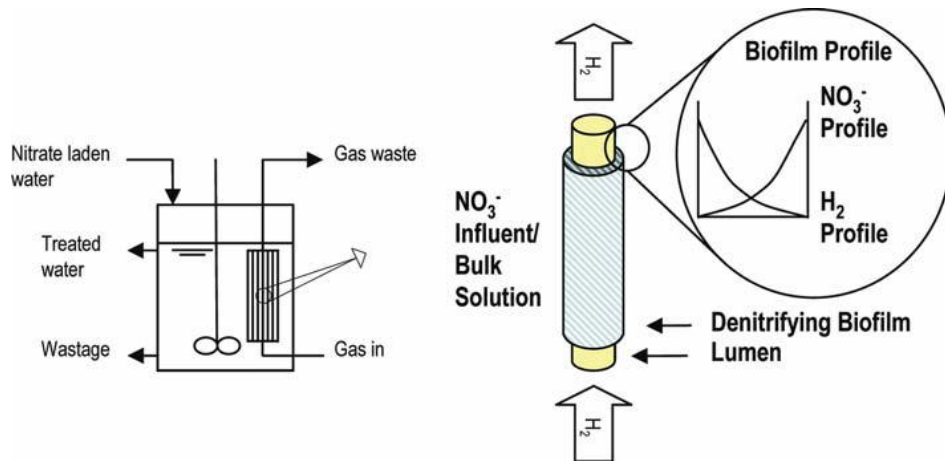


Figura 3.11 Schema d'impianto per un gas transfer membrane bio – reactor; (Mansell e Schroeder, 2002).

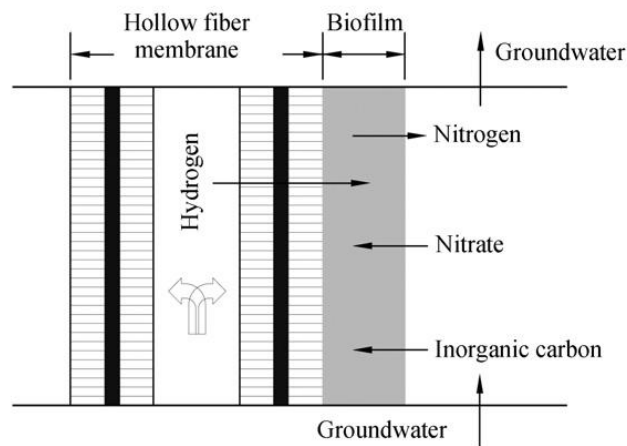


Figura 3.12 Schema di funzionamento di una gas transfer membrane; (Siquing Xia e al., 2009).

L'idrogeno gassoso viene prima disciolto nell'acqua da un gorgogliatore e poi convogliato attraverso la membrana che consente il passaggio del gas. Il gas disciolto (figura 3.12) permea dall'interno della membrana all'esterno di essa, nel lato su cui cresce il biofilm batterico. Attraversando lo strato di biomassa adesa, il donatore di elettroni può essere utilizzato dalla coltura batterica per il proprio metabolismo. Gli altri substrati necessari (nitrato e carbonio inorganico) diffondono in controcorrente rispetto all'idrogeno nello strato di biofilm e in questo modo si sviluppa il processo biologico denitrificante.

Le tipologie di materiali utilizzabili sono molteplici. Tipicamente questa unità di processo prevede l'impiego di membrane a fibre cave permeabili ai gas (gas - permeable hollow fiber, HF), anche se sono stati utilizzati tubi di silicone gas - permeabili. Questa tipologia di membrana ha il vantaggio di occupare meno spazio delle altre.

Ergans e Reuss (2001) hanno utilizzato una membrana a fibre cave in polipropilene, con una concentrazione di nitrati nell'acqua da trattare di 145 mg $\text{NO}_3^- \text{N/l}$ e un tempo di residenza

idraulica di 4,1 h hanno conseguito una velocità di rimozione dei nitrati di 2,49 g N/m²d. Lee e Rittmann (2000/2002), utilizzando membrane a fibre cave in polietilene e in poliuretano hanno misurato ratei di rimozione, rispettivamente, entro intervalli che vanno da 1,27 a 2,07 g N/m²d per il primo materiale e 0,63 – 1,6 g N/m² per il secondo. Con una membrana in cloruro di polivinile, Zhang e al. (2009), hanno misurato la velocità di 1,5 g N/m²l. Shin e al. (2008) hanno testato le prestazioni di una speciale membrana composta da più strati sovrapposti ed hanno ottenuto ratei di rimozione di 1,72 g N/m²l. Smith e al. (2007) hanno testato una membrana in silicone trattato con platino e hanno raggiunto velocità di denitrificazione pari a 4,4 g N/ m²l.

Come accennato in precedenza per il trasferimento di gas sono state impiegate anche tubi in silicone (*Ho et al., 2001; Terada et al., 2006*). Ho et al. (2001) hanno riportato velocità di denitrificazione che andavano da 1,6 a 5,4 g N/m²l. In uno studio riportato da Shau et al. (2009) sono stati raggiunti ratei di rimozione che andavano in un range di 0,22 – 5,88 g N/m²l, utilizzando una membrana microporosa idrofobica permeabile ai gas con la parte interna della stessa rivestita con polimeri di perfluoro.

Questi e altri risultati di studi, con le caratteristiche dell' acqua effluente e da trattare, della membrana utilizzata e del reattore sono riportati in tabella 3.8.

Tabella 3.8 Risultati di studi effettuati con impianti MBR; (Karanasios et al., 2010).

processo	tipo/materiale	fonte di C	HRT (h)	dimensione pori (μm)	gas flow	$[\text{C}]_{\text{in}}$ (mg $\text{NO}_3^-/\text{N/l}$)	carico volumetrico (Kg $\text{N}/\text{m}^3\text{d}$)	vel. denitr. (g $\text{N}/\text{m}^2\text{d}$)	fonte
continuo	HF/PE e poliuretano	NaHCO_3	0,7	Nd	0,31-0,42 H_2atm	10-12,5	0,228-0,37	1,27-2,07	Lee e al., 2000
continuo	tubo/silicone	CO_2	8,33	Nd	20ml H_2/min 0-20 ml CO_2/min 28 H_2KPa	120	0,063-0,211	1,6-5,4	Ho e al., 2001
batch	HF/PP mischiato con polisulfone	CO_2	4,1	0,05		145	0,77	2,49	Ergans e al., 2001
continuo	HF/Pe e poliuretano	NaHCO_3	0,7	Nd	0,2-0,45 H_2atm	5-15	0,23-0,505	0,63-1,6	Lee e Rittmann, 2002
continuo	Membrana/PTFE	HCO_3^-	Nd	0,02	Nd	20-40	Nd	2,7-5,3	Mansell e Schroeder, 2002
continuo	HF/Celgard® X30-240 microporosa e ZeeWeed® – 1	NaHCO_3	9–12	0,04	Nd	12-72	0,024-0,192	1,76-2,87	Mo e al., 2005
batch in sequenza	HF/ Celgard® e ZeeWeed® – 1	NaHCO_3	9-12 48-81,6	0,04	0,28-0,55 H_2atm	330	0,56-0,046	8,2-14,2	Rezania e al., 2005
continuo	HF/polisulfone	NaHCO_3	6	Nd	Nd	50-150	0,83-2,48	0,48-1,43	Shin e al., 2005
continuo	HF/ ZeeWeed® – 1	Nd	3	0,04	120 $\text{H}_2\text{:psi}$	33	0,14	8,34	Rezania e al., 2006
continuo	Membrana/matrice di polimeri (dimetilsiloxane e silicone)	CO_2	7,78-14,6	Nd	20-50 H_2Kpa 50 CO_2Kpa	100	0,164-0,305	3,53-6,58	Terada e al., 2006
continuo	Membrana	CO_2	4-5	Nd	18ml H_2/min 1,5ml CO_2/min 0,6 $\text{H}_2\text{:psi}$	15-25	Nd	0,50-0,59	Celmer e al., 2006
continuo	HF/silicone trattato con platino	KHCO_3	24,48	Nd		10-30	0,12	4,4	Smith e al., 2007
continuo	HF/ ZeeWeed® – 1	NaHCO_3	3	0,04	120 $\text{H}_2\text{:psi}$	25	0,11	6,55	Rezania e al., 2007
continuo	Membrana/PP	Nd	4	Nd	10ml H_2/min	20	Nd	0,93-1,20	Celmer e al., 2008
continuo	HF/PE	NaHCO_3	6-10	Nd	Nd	50	0,118-0,22	0,95-1,72	Shin e al., 2008
continuo	HF/PE	$\text{NaHCO}_3/\text{CO}_2$	2-9	0,1	0,4-0,5 H_2bar	50	0,104-0,380	0,309-1,13	Visvanthan e al., 2008
continuo	HF/polivinilcloruro	NaHCO_3	0,625	0,01	0,04 H_2Mpa	10	0,414	1,50	Zhang e al., 2009
continuo	HF/non porosa	Nd	7-18	Nd	2,5 $\text{H}_2\text{:psi}$	30	0,0434-0,0598	0,61-0,84	Hwang e al., 2009
continuo	Membrana tubolare/rivestita di polimeri di perfluoro	$\text{NaHCO}_3/\text{CO}_2$	1,5-6,7	Nd	10ml H_2/min	40-50	0,88-23,52	0,22-5,88	Sohu e al., 2009

Dalla tabella 3.8 si può notare come sono state ottenute velocità di denitrificazione con valori molto eterogenei, che vanno da 0,59 a 14,2 g N/m²d, anche se sembra che sia una tecnologia che porti ad ottenere risultati soddisfacenti e promettenti. Si può notare come la pressione ottimale di idrogeno imposta per ottenere risultati buoni si aggiri intorno a 0,04 – 0,05 MPa.

A titolo d'esempio per confermare quanto riportato sopra, in figura 3.13 si riportano i risultati di prove condotte da Siquing Xia et al. (2009) per determinare la pressione adeguata di idrogeno da imporre. Come si può notare il valore ottenuto è stato di 0,05 MPa con cui si è raggiunta un'efficienza di rimozione del 97%. Il massimo rateo di denitrificazione misurato è stato di 0,34 g NO₃⁻ - N/m² d, raggiungendo un'efficienza del 95% per un HRT di 4h.

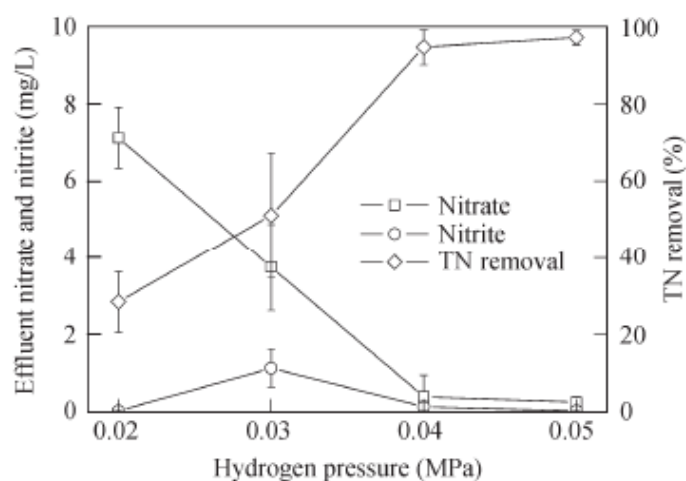


Figura 3.13 [C] all' effluente di nitrati e nitriti e rendimento di rimozione dell'azoto totale in funzione della pressione di idrogeno imposta al reattore; (Siquing Xia et al.,2009).

In conclusione la tecnologia MBR che utilizza membrane che permettono il trasferimento di substrato gassoso, hanno il principale vantaggio di poter fornire il substrato ai batteri con rendimenti elevati e con sprechi contenuti.

Tuttavia la sua applicazione è ancora a livello di laboratorio e molti problemi devono essere ancora risolti, come quello del frequente imbrattamento (fouling) che compromette le prestazioni del trasferimento, l'abbattimento dei costi dei moduli a membrana e la facile tendenza alla loro rottura.

3.2.5 Conclusioni

In tabella 3.9 (*McAdam e Judd, 2006*) sono riportati i vantaggi e gli svantaggi di ciascuna configurazione MBR fin qui trattata.

Fra gli svantaggi comuni a ciascuna tecnologia si evidenzia che la membrana presenta costi elevati e facilità a rotture e imbrattamento. Queste problematiche dovranno essere affrontate e risolte con la ricerca, per poter implementare a piena scala queste tecnologie di trattamento.

Tabella 3.9 Vantaggi e svantaggi per ciascuna tipologia di configurazione a membrana.

configurazione	vantaggi	svantaggi
extractive	<ul style="list-style-type: none"> - Separazione della biomassa e della fonte di carbonio dall'acqua trattata - Ritenzione della biomassa 	<ul style="list-style-type: none"> - Richiesta di processi aggiuntivi a valle (filtrazione di virus e batteri, colore, torbidità) - Breakthrough della fonte di carbonio - Costi di pompaggio
ion - exchange	<ul style="list-style-type: none"> - Le membrane perm-selettive riducono significativamente i rischi di Breakthrough della fonte di carbonio - Ritenzione della biomassa 	<ul style="list-style-type: none"> - Richiesta di ulteriori processi a valle - Operazione potenzialmente complessa - Poca chiarezza sulla problematica del fouling - Rispetto alle altre tipologie di membrane ha costi maggiori - Costi di pompaggio
gas transfer	<ul style="list-style-type: none"> - utilizzo di donatori di elettroni non tossici e a basso costo (es. H₂) - rendimenti di rimozione maggiori rispetto alle altre tecnologie a membrana - basso rendimento di crescita della biomassa 	<ul style="list-style-type: none"> - Richiesta di processi aggiuntivi a valle - Breakthrough per la biomassa - Possibilità di fouling che limita il trasferimento di massa - Rischi sulla sicurezza e sulla salute causati dalla dissoluzione dell'idrogeno - Lunghi tempi di adattamento e di avviamento dei batteri autotrofi
pressure driven	<ul style="list-style-type: none"> - Ritenzione della biomassa - Filtrazione diretta che alleggerisce i processi a valle - Configurazione nel complesso più economica - Configurazione di più facile gestione - Indipendenza dalle caratteristiche di sedimentabilità del fango, filamentosi e bulking - Alte [C] di SST trattenute nel reattore - A parità di volume allungamento dell'età del fango 	<ul style="list-style-type: none"> - Potenziale breakthrough della fonte di carbonio - Pproblematica del fouling ancora in fase di studio - Costi di pompaggio (soprattutto per la configurazione "sidestream") - Costi di areazione (per la rimozione del fouling) - Richiesta di trattamenti a valle (affinamento e disinfezione) - Elevati consumi energetici

3.3 Reattori bioelettrochimici (bioelettrochemical reactor - BER).

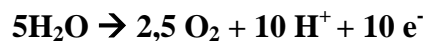
Un reattore BER (reattore bioelettrochimico) è un reattore a cui viene applicata, grazie alla presenza di elettrodi (catodo e anodo), una differenza di potenziale che genera un flusso di corrente elettrica. Il funzionamento solitamente è a flusso continuo, il funzionamento discontinuo porta a un'incompletezza del processo denitrificante e ad un conseguente rilascio di nitrito nell'effluente trattato (*Cast e Flora, 1998*).

La coltura batterica denitrificante che si sviluppa sul catodo può sfruttare direttamente gli elettroni ceduti da quest'ultimo per compiere il proprio metabolismo, oppure, grazie all'instaurarsi del fenomeno di elettrolisi delle molecole d'acqua (equazione (10)), si genera idrogeno che funge da substrato donatore di elettroni per un processo denitrificante autotrofo.

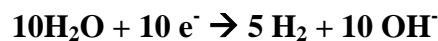
Infatti l'idrogeno e l'ambiente a basso potenziale di ossido riduzione prodotti dalle reazioni che avvengono intorno al catodo possono essere sfruttati dal metabolismo di batteri autotrofi denitrificanti (figura 3.14). Un efficiente contatto fra i batteri e l'idrogeno permette e aiuta lo svolgersi della denitrificazione biologica. Il reattore BER aiuta direttamente ad immobilizzare sul catodo i batteri denitrificanti e facilita per i microrganismi l'accesso al donatore di elettroni. Quindi il processo di denitrificazione è agevolato in quanto i BER hanno la peculiarità di fornire in maniera diretta il donatore di elettroni creato (*Ghafari et al. 2008*).

Elettrolisi dell'acqua (8) (*Ghafari et al. 2008*):

Sull'anodo:



Sul catodo



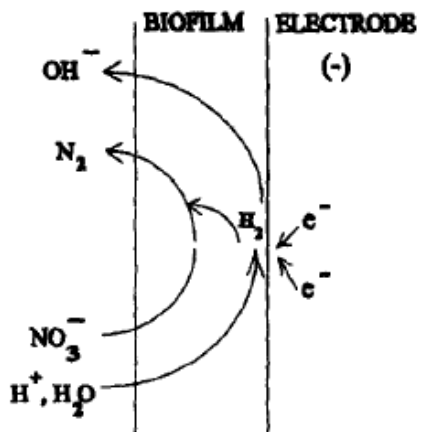


Figura 3.14 (Islam e Suidan, 1998)

Nel reattore BER è possibile anche condurre la denitrificazione biologica di tipo eterotrofo. Essa utilizza gli elettroni che si formano grazie al flusso di corrente imposto (Park et al., 2005). Analizzando questo processo si sono riscontrate efficienze di denitrificazione elevate (98%) con ratei di denitrificazione del valore di $0,17 \text{ mg NO}_3^- - \text{N/cm}^2$ (superficie di biofilm) d, cioè $3,67 \text{ mg NO}_3^- - \text{N/l h}$. Questi risultati sono stati ottenuti da Park et al. (2005) imponendo una corrente di 200mA, per correnti superiori si è instaurato il fenomeno di elettrolisi che ha portato alla produzione di idrogeno e all'abbassamento dell'efficienza di denitrificazione.

In figura 3.15 vengono riportata a titolo d'esempio possibili configurazione di BER a scala di laboratorio (Kerri e Folra, 1997; Sakakibara e Nakayama 2000).

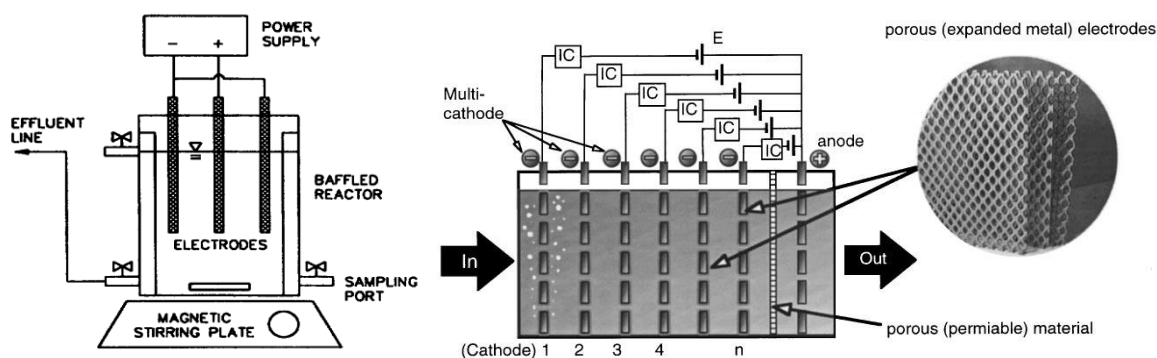


Figura 3.15 Esempi di impianti BER a scala di laboratorio; (Kerri e Folra, 1997; Sakakibara e Nakayama 2000).

3.3.1 Configurazioni dei BER

La tipologia di elettrodo, e la configurazione del reattore BER, giocano un ruolo fondamentale e influenzano significativamente il rateo di denitrificazione. I fattori principali che serve scegliere per la realizzazione e la progettazione del reattore BER sono: i materiali, la forma, il numero di elettrodi, e la loro sistemazione.

Negli studi passati sono state sperimentate molte tipologie di configurazioni (tabella 3.8) e sono state utilizzati come materiali, rispettivamente, per il catodo e l'anodo molte tipologie di metalli e di carbonio. Carbonio nella forma di GAC e grafite, come metalli quali acciaio inox, titanio nichel e rame sono stati i materiali più studiati (*Ghafari et al. 2008*).

Cast e Flora (1998), per esempio, hanno utilizzato, per elettrodi, due materiali diversi e ne hanno studiato i rendimenti. Hanno paragonato un elettrodo in acciaio inox con uno in grafite su maglia di polipropilene. Hanno concluso che l'acciaio inossidabile può essere un materiale adatto a comporre il catodo grazie alla sua resistenza e alla sua maneggevolezza. Lo studio ha dimostrato che fra i due materiali non c'è molta differenza per quanto concerne l'efficienza di denitrificazione.

Un altro fattore che influisce sulla costruzione e sulla configurazione dei reattori BER è la forma degli elettrodi. Solitamente vengono utilizzati elettrodi a forma di:

- aste
- piani
- cilindrici

Pannelli reticolari, lamiere o maglie riempiti di materiali porosi, quali GAC schiume di poliuretano o altri materiali polimerici, come la configurazione BER studiata da Prosnansky et al., (2002), sono stati oggetto di studio da parte dei ricercatori nelle forme piane o cilindriche, in quanto portano ad un aumento della superficie specifica disponibile per la crescita della biomassa e quindi a rendimenti di rimozione maggiori .

La struttura del reattore può essere caratterizzata dall'utilizzo di uno o più catodi. Sistemi a multi – elettrodi a differenza di quelli con elettrodo singolo hanno il vantaggio di operare con efficienze maggiori, in quanto consentono di ridurre il tempo di residenza idraulica (HRT) da 10h, per BER ad elettrodi singoli, a 2h per effettuare una denitrificazione completa grazie ad una maggiore disponibilità di superficie su cui può svilupparsi il biofilm (*Sakakibara e Kuroda, 2002*). Per aumentare l'efficienza di denitrificazione e cercare di

uniformare il più possibile le reazioni al catodo e all'anodo, creando così condizioni ottimali e uniformi in tutto il reattore per il metabolismo batterico, si è pensato di sviluppare reattori BER in cui la corrente elettrica poteva essere partizionata singolarmente su ciascun elettrodo (Sakakibara e Nakayama, 2001).

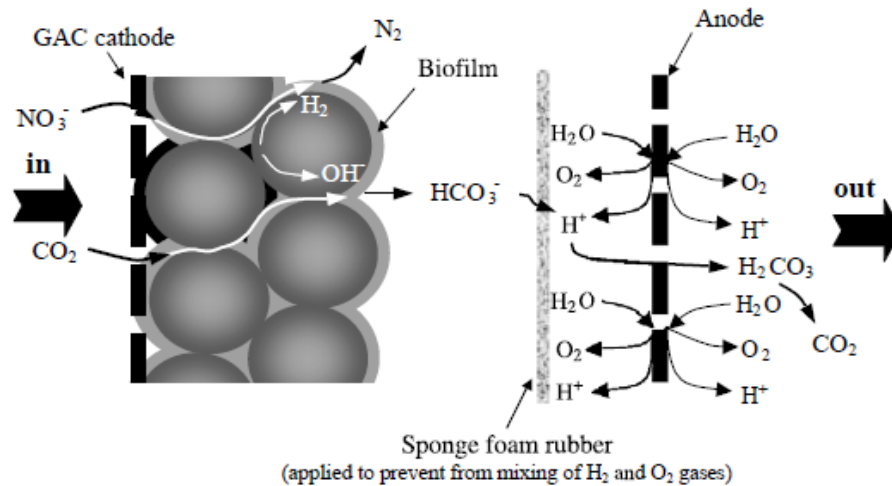


Figura 3. 16 Struttura di un catodo riempito con GAC e i un anodo con una spugna di gomma che non consente il mescolamento fra idrogeno e ossigeno; (Prosnasky et al, 2002)

Una volta definita la tipologia degli elettrodi serve anche definire la loro distribuzione nello spazio del reattore. Solitamente i catodi si installano paralleli fra di loro, se sono di forma piana, oppure in modo concentrico se sono a forma cilindrica.

La produzione di ossigeno dal catodo potrebbe inibire il processo denitrificante in quanto non potrebbero più sussistere le condizioni di anossia necessarie per far avvenire la denitrificazione biologica. Serve perciò (figura 3.16) prevedere l'installazione di adeguate barriere che non consentono all'ossigeno di interferire con la denitrificazione biologica e rilasciato in fase gassosa.

In tabella 3.10 sono riportate alcune configurazioni di BER oggetto di studio.

Tabella 3.10 Tipologie di configurazioni di reattori BER sperimentate in studi passati; (*Ghafari et al. 2008*).

forma elettrodo	numero e materiale usato per gli elettrodi		area del catodo (cm ²)	configurazione	fonte
	catodo	anodo			
piano	acciaio inox	-	-	-	<i>Beshkov e al., 2004</i>
piano	5 catodi in acciaio inox in lamiera stirata riempiti di GAC	1 anodo fatto di platino rivestito di titanio	750 (ognuno 150)	catodi messi in parallelo a monte dell'anodo	<i>Prosnansky e al., 2002</i>
piano	1 catodo in feltro di grafite	1 anodo a forma di maglia	105	anodo verticale e catodi orizzontali	<i>Park e al., 2005</i>
piano	2 catodi in acciaio inox + una matrice porosa	1 anodo di carbonio amorfo	251	anodo fra i catodi disposti in parallelo	<i>Feleke e al., 1998</i> <i>Feleke e Sakakibara, 2002</i>
catodo cilindrico e anodo ad asta	1 catodo cilindrico in grafite	1 anodo di grafite a forma di asta	-	anodo in centro circondato da catodi cilindrici	<i>islam e Suidam 1998</i>
cilindrico	8 catodi in lamiera stirata di titanio + una matrice porosa	2 anodi a forma di lamiera stirata rivestite di platino	-	anodo in centro circondato da catodi cilindrici concentricamente	<i>Sakakibara e Nakayama, 2001</i>
asta	12 aste di carbonio	1 anodo in carbonio a forma di asta	1800	anodo in centro circondato da catodi cilindrici (attaccati alla calotta superiore)	<i>Watanabe e al., 2001</i>
asta	4 aste in acciaio inox e 4 aste in grafite	1 anodo in grafite a forma di asta	-	anodo in centro circondato da catodi cilindrici (attaccati alla calotta superiore)	<i>Cast e Flora 1998</i>
elettrodi a tubo	1 maglia in acciaio inox	1 anodo in acciaio inox	7,6	in parallelo e attaccati alla calotta superiore	<i>Skadberg e al 1999</i>

3.3.2 Prestazioni dei reattori BER

Un parametro principale che determina le prestazioni dei reattori BER e le rese di rimozione, è la corrente applicata agli elettrodi. I valori ottimali di corrente, come riportato in figura 3.17, sono stati osservati essere nell'intorno di 20 mA (efficienza di rimozione 98%) (Islam e Suidiam, 1998), per acque contaminate da 20 mg NO₃⁻ - N/l. I ricercatori hanno ipotizzato che, in funzione della corrente imposta, il reattore rilascia quantità di idrogeno che, se troppo elevate (oltre lo stechiometrico necessario per il processo denitrificante) o troppo basse (sotto lo stechiometrico), portano a un'inibizione del processo denitrificante e quindi ad efficienze non ottimali. Infatti, oltre correnti imposte di 60 mA, sono state rilevate alte concentrazioni di idrogeno nella fase gassosa rilasciata dal reattore sintomo di un eccesso di produzione.

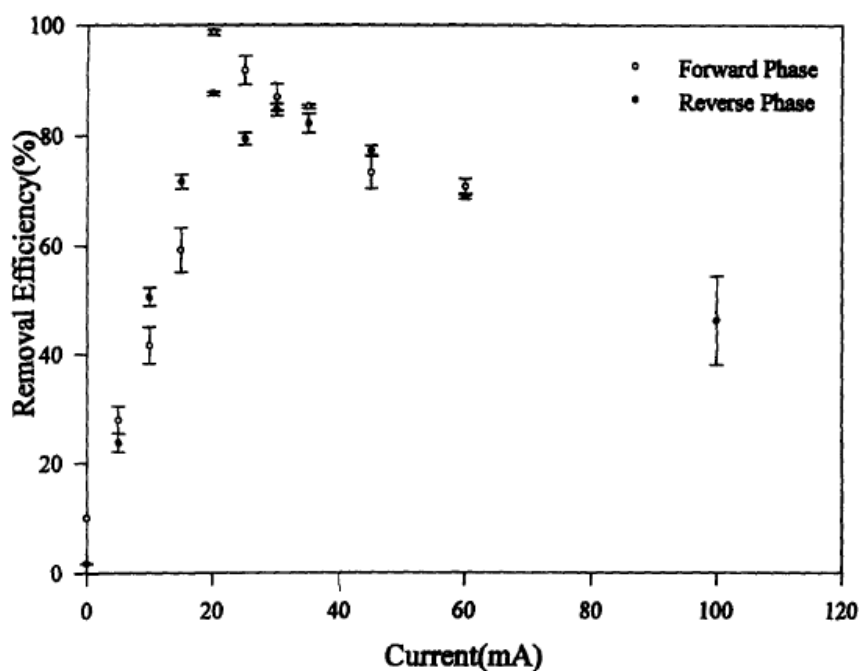


Figura 3.17 Efficienza di rimozione dei nitrati ottenuta in funzione della corrente imposta nella prima fase dell'esperimento; (Islam e Suidiam, 1998).

Altro parametro da tenere sotto controllo per ottimizzare il processo denitrificante è il pH. I batteri, consumando idrogeno, determinano un accumulo di ioni OH⁻ con conseguente aumento del pH. Questo innalzamento porta a condizioni sfavorevoli per l'attività batterica e quindi a una diminuzione dell'efficienza del processo. Serve perciò prevedere l'aggiunta di una sostanza tampone che permetta di riequilibrare il pH dell'ambiente e mantenerlo in condizioni ottimali. Islam e Suidiam (1998) hanno utilizzato un tampone di carbonato. Prosnansky et al., (2002) (figura 3.18) hanno utilizzato come tampone l'anidride carbonica,

considerandola più adeguata in quanto oltre alle sue buone capacità di neutralizzazione, essa contribuisce anche al miglioramento della conducibilità elettrica dell'acqua ed alla diminuzione del potenziale ohmico grazie alla ionizzazione della CO_2 in HCO_3^- e CO_3^{2-} (equazioni (9), (10) e (11); figura 3.33). Cast e Flora (1998) invece hanno utilizzato un tampone di fosfati.

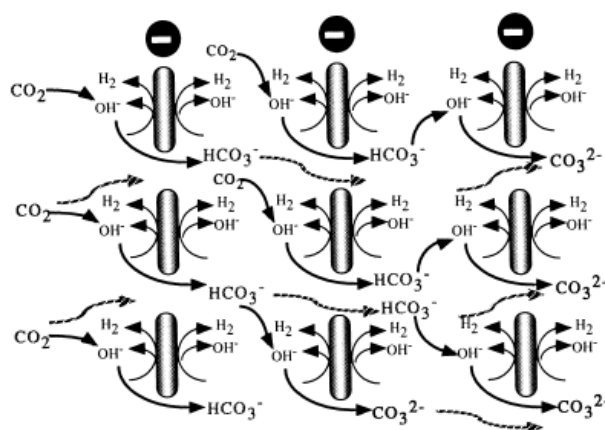
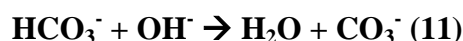
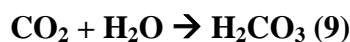


Figura 3.18 Illustrazione del meccanismo di trasferimento della carica elettrica in un sistema a multi elettrodi; (Prosnansky et al., 2002).

Un parametro fondamentale che restituisce informazioni sullo stato del funzionamento del reattore è l'efficienza elettrica del sistema per la denitrificazione (equazione (12)). Quest'ultima è legata al consumo energetico; utile parametro per il confronto dell'efficienza fra reattori BER (figura 3.19).

$$\eta = \frac{Q \cdot (C_{in} - C_{out})}{\frac{5I}{F}} \quad (12)$$

Con:

- Q, la portata volumetrica (cm^3/s)
- C_{in} e C_{out} le concentrazioni in ingresso e in uscita dei nitrati
- 5 il coefficiente stechiometrico derivante da:
 $\text{NO}_3^- + 3\text{H}_2\text{O} + 5\text{e}^- \rightarrow 0,5 \text{N}_2 + 6 \text{OH}^-$

- I l'intensità di corrente applicata
- F la costante di Faraday

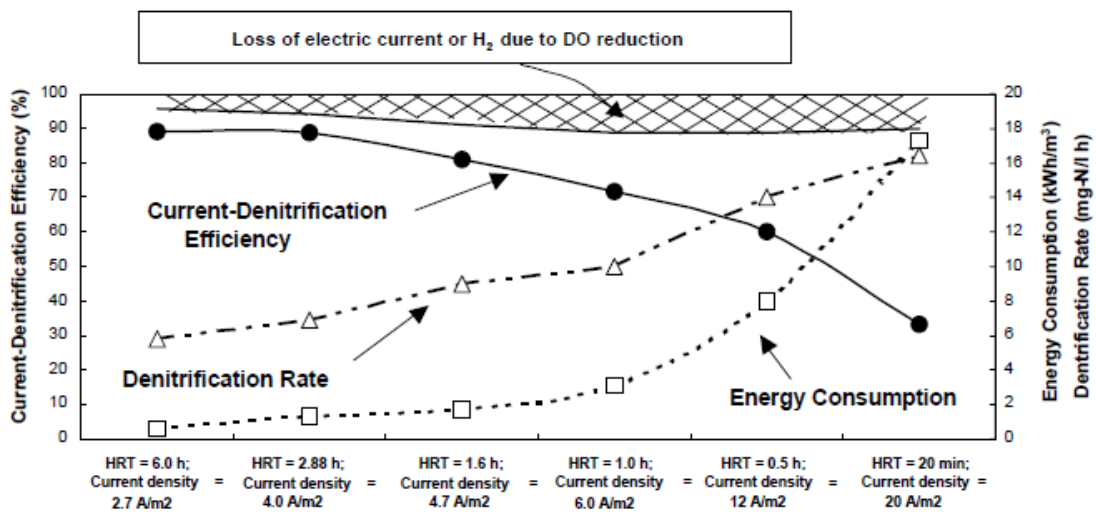


Figura 3.19 consumo energetico, rateo di denitrificazione ed efficienza elettrica del sistema per la denitrificazione in funzione dell'HRT che caratterizza ciascuna fase dello studio; (Prosnasky et al, 2002).

Altro parametro da tenere sotto controllo per garantire un ambiente di crescita ottimale è il potenziale di ossido riduzione (ORP) che è un buon indicatore delle condizioni riducenti del reattore BER. Questo parametro subisce variazioni a causa della corrente imposta e diminuisce nella zona del catodo, creando zone molto riducenti, mentre aumenta nella zona dell'anodo formando ambienti molto ossidanti. Zone a basso potenziale di ossido riduzione sono auspicabili per garantire la vita dei batteri denitrificanti (Sakakibara e Nakayama, 2001). Una diminuzione dell'ORP è sinonimo di un aumento della concentrazione di idrogeno, mentre un aumento dell'ORP è sinonimo di un aumento della concentrazione di nitrato (Islam e Suidiam, 1998) e quindi di un cattivo funzionamento del reattore.

Cast e Flora (1998) effettuando esperimenti con acqua contaminate da un metallo pesante come il rame sono giunti alla conclusione la presenza di metalli pesanti è un fattore che influisce negativamente sulle prestazioni del sistema. Infatti i metalli pesanti causano depositi al catodo che interferiscono con l'attività batterica.

In tabella 3.11 sono riportati i valori dei principali parametri caratteristici delle configurazioni BER studiate da diversi ricercatori.

Come si può notare le efficienze maggiori e i valori di velocità di denitrificazione maggiori sono stati riscontrati con configurazioni BER a multi – catodo con corrente partizionata.

Tabella 3.11 Confronto fra i valori dei parametri caratteristici di diverse configurazione BER studiate.

fonte	reattore funzionamento	processo	[C] _{in} (mg NO ₃ ⁻ - N/l)	corrente (mA)	tampone	efficienza di denitrificazione (%)	velocità di denitrificazione	efficienza di corrente (%)	ORP (mV)
<i>Islam e Suidiam, 1998</i>	BER con catodo cilindrico in carbonio continuo	autotrofo H ₂	20	20	fosfato carbonato	98	1,46 mg N/l h	nd	100
<i>Cast e Flora, 1998</i>	BER 4 catodi in acciaio inox e grafite + supporto polipropilene continuo	autotrofo H ₂	20	nd	fosfato	68,3	0,28 mg N/l h	54,3	nd
<i>Prosnasky et al., 2002</i>	BER 5 elettrodi riempiti di GAC a corrente partizionata continuo	autotrofo H ₂	15 - 40	40 - 300	anidride carbonica	37 - 90	massimo 16,4 mg N/l h	30 - 90	nd
<i>park et al., 2005</i>	BER con catodo in grafite continuo	eterotrofo e ⁻ da catodo	25 - 70	200	fosfato	98	0,17 mg N/cm ² (biofilm) d	nd	nd

3.3.3 Conclusioni

Benché questa tipologia di trattamento presenti innumerevoli potenzialità per la rimozione del nitrato dalle acque, serve sottolineare che la fase di studio e le conoscenze fin qui raccolte sono ancora in una fase molto sperimentale. Fino ad ora sono stati sperimentati impianti e configurazioni solo a scala di laboratorio. Questa tipologia di trattamento non è mai stata sviluppata su scala di impianto reale e quindi non se ne possono conoscere con certezza le conseguenze, le problematiche e le criticità che potrebbero crearsi. La ricerca futura dovrebbe improntare lo studio e muoversi nella direzione di definire quali materiali, forme e configurazioni di catodo consentono di ottimizzare costi, prestazioni e superficie a disposizione per le colture batteriche e di definire la tipologia di configurazione impiantistica di reattore BER più adeguata, anche se la configurazione a multi – catodi cilindrici riempiti con materiale ad alta superficie specifica, sembrerebbe quella che porta a risultati migliori. E' necessario definire anche con precisione dei modelli matematici che permettono di simulare il funzionamento del reattore e siano di aiuto per un corretto dimensionamento.

In tabella 3.12 vengono riassunti i principali vantaggi e svantaggi caratteristici di questa tecnologia di trattamento.

Tabella 3.12 Principali vantaggi e svantaggi della tecnologia di trattamento BER.

VANTAGGI	SVANTAGGI
non si deve fornire substrato donatore di elettroni dall'esterno	incidenza sui costi di esercizio dovuti al consumo di energia elettrica
efficienze di denitrificazione elevate ed alti ratei di denitrificazione (16,4 mg N/l h) a bassi HRT (20 min)	necessità di somministrare una sostanza tampone per compensare un aumento di pH
non presenza di eluati concentrati da smaltire	processo non idoneo per acque contaminate da metalli pesanti
facilità di gestione operativa	tecnologia ancora in fase sperimentale modelli matematici poco sviluppati e approssimativi

Tabella 3.13 Tabella riassuntiva

						efficienza di rimozione		informazioni rinvenute		
fonte	scala di sperimentazione	tipo di trattamento e alimentazione	tipo di biomassa	substrato	C/N (g C/g N)	η (%)	rateo di rimozione	caratteristiche acqua	parametri operativi	fattori di influenza riportati
<i>Ergans e Reihemeier; 2004</i>	laboratorio	EMBR (continuo)	eterotrofa	metanolo	5,46	99	1,1 g NO ₃ ⁻ - N /m ² d	200 mg NO ₃ ⁻ - N/l; pH = 7; 5,44 gKH ₂ PO ₄ /l; 6,97 gK ₂ HPO ₄ /l	HRT = 13 - 72 min; membrana H/F in acrilonite in configurazione tubolare	presenza di C organico nell'effluente trattato; diminuendo C/N cala il η e la qualità dell'acqua
<i>Fuchs et al. ; 1997</i>	laboratorio	EMBR (batch)	eterotrofa	etanolo	2,4	80 - 100	0,45 g NO ₃ ⁻ - N /m ² d	100 mg NO ₃ ⁻ - N/l; 0,5 gKH ₂ PO ₄ /l;1 gK ₂ HPO ₄ /l	T=20°C;membrana in cellulosa rigenerata in configurazione tubolare; area=270 cm ² ;volume reattore=500 ml	aumentando il rapporto superficie della membrana/volume aumentano i rendimenti di rimozione
<i>Mansell e Schroeder; 2002</i>	laboratorio	EMBR (continuo)	autotrofa	idrogeno	Bic/N = 2:1	92 - 95,6	2,7 - 5,3 g NO ₃ ⁻ - N /m ² d	20 - 40 mg NO ₃ ⁻ - N/l; 1,7 gKH ₂ PO ₄ /l;2,14 gK ₂ HPO ₄ /l; pH = 7	T=21°C, Q = 0,4 cm ³ /min membrana in goretex (PTFE) con dimensione dei pori 0,02 μ m; ore di funzionamento 116h, volume reattore 20 cm ³	la membrana compie un'effettiva funzione di barriera alla contaminazione microbica dell'effluente trattato(HPC = 9 CFU/ml)
<i>De Fonseca et al.; 2000</i>	laboratorio	1-E MBR (batch)	eterotrofa	etanolo	11,7	92	7,8 g NO ₃ ⁻ - N/ m ² d	36,4 - 50,4 mg NO ₃ ⁻ - N/l; 0,11 gKH ₂ PO ₄ /l;10 mg KCl/l; 10mgK ₂ SO ₄ /l; pH = 7,2	area membrana 28,3 cm ² , capacità di scambio = 2 meq/g; Q = 0,3 ml/min HRT = 4,4 h; T = 24°C; volume 300 ml	la membrana I-E essendo caricata positivamente non permette il passaggio di cationi e quindi del c organico nell'effluente trattato
<i>Siqing Xia et al.; 2009</i>	laboratorio	gas transfer MBR	autotrofa	idrogeno	H/N = 0,14	95	0,34 g NO ₃ ⁻ -	10 mg NO ₃ ⁻ - N/l; 128 gKH ₂ PO ₄ /l;	membrana H/F , 32 moduli area tot	La pressione ottimale di H ₂ da

		(continuo)			gH/gN		N/m ² d	pH = 7,2	86,2 cm ² , HRT = 4h; pressione H2 = 0,02 – 0,04 Mpa	somministrare è 0,04/0,05 Mpa.
<i>Chang et al., 1993</i>	laboratorio	MBR pressure driven (continuo)	eterotrofa	etanolo	1,15	96	0,27 Kg NO ₃ ⁻ - N/Kg SSV d	2,8 Kg NO ₃ ⁻ - N/l;	membrane in cellulose con dimensione dei pori 0,01 µm, superficie 1m ² volume reattore = 20 l, HRT = 1h	si necessita di contro lavaggio (12 sec per ogni 12 min) per garantire ottime prestazioni della membrana
<i>Islam e Suidiam; 1998</i>	laboratorio	BER (batch)	autotrofa	idrogeno	-	87 – 98	0,08 mg NO ₃ ⁻ - N/cm ² d	20 mg NO ₃ ⁻ - N/l; 17,5 gKH ₂ PO ₄ /l; 11,5 g Na ₂ HPO ₄ /l pH = 7,5	catodo cilindrico in grafite(d = 10,2 cm); Q = 2,65 l/d; I = 25 mA	Il rateo e l'efficienza di denitrificazione è funzione della corrente imposta, le prestazioni migliori sono state raggiunte imponendo una corrente pari a I = 25 mA
<i>Prosnansky et al., 2002</i>	laboratorio	BER (multicatodo) + microfiltr. (continuo)	autotrofa	idrogeno	-	90	16,4 mg NO ₃ ⁻ - N/l h	15 – 45 mg NO ₃ ⁻ - N/l; pH = 7; 2,08 gKH ₂ PO ₄ /l; 1,76 gK ₂ HPO ₄ /l;	5 catodi cilindrici porosi riempiti con GAC; area 750 cm ² ; pori membrana 0,02 µm, area = 374 cm ² tampone usato CO ₂ HRT = 0,33h I = 20 A/m ² T = 20°C	la configurazione a multi catodo aumenta l'efficienza come il riempimento con GAC perché contribuisce all'aumento di Superficie Specifica, l'aumento di I permette una maggiore produzione di H ₂
<i>Park et al., 2005</i>	laboratorio	BER (continuo)	eterotrofa	e ⁻ forniti dal flusso di corrente imposto nel reattore	-	98	0,17 – 3,67 mg NO ₃ ⁻ - N/l h	25 – 70 mg NO ₃ ⁻ - N/l; 8,7 gKH ₂ PO ₄ /l; 6,8 gK ₂ HPO ₄ /l; pH = 7,4	volume reattore 1l; superficie catodo 105 cm ² T = 30°C; I = 200 mA	per I = 200 mA si è registrata la massima efficienza. Per I maggiori si incorre nell'elettrolisi senza produrre e ⁻ , ma H ₂ .
<i>Aesoy et al. 1998</i>	impianto pilota	fixed bed (continuo) Biostyr	eterotrofa	etanolo e acido acetico	COD/ NO ₃ ⁻ - N = 2 - 18		2,5 Kg NO ₃ ⁻ - N/m ³ d	carico nitrati: 1 – 4 Kg NO ₃ ⁻ - N/m ³ d; 1 – 3 mg P/l; pH = 8,75	contro lavaggio ogni 24 h; materiale di riempimento: Biolite (2 – 4 mm) T = 11°C volume reattore	C/N migliore 4,5 con etanolo

									141,3 l; velocità di filtrazione 1-5 m/h	
<i>Volokita et al.; 1996</i>	laboratorio	fixed bed (continuo)	eterotrofa	cotone	3,6	95	-	100 - 400 mg NO ₃ ⁻ - N/l	volume = 4l; massa cotone 380 g; T = 20 – 28°C; Q = 0,005 – 0,012 m ³ /d;	il cotone è un substrato adeguato per a denitrificazione eterotrofa, la temperatura influisce in maniera significativa sul processo, sono richiesti trattamenti ulteriori di affinamento in post denitrificazione
<i>Koenig et al.; 2002</i>	laboratorio	fixed bed (continuo)	autotrofa	zolfo	-	98	-	71,16 – 250,7 mg NO ₃ ⁻ - N/l; 1 gKH ₂ PO ₄ - P/l; pH ingresso = 8,5; pH effluente = 6,7;	Q = 0,42 – 0,68 l/h HRT = 8,86 – 5,47 h; T = 20 – 25°C; alcalinità 407 mg CaCO ₃ /l dimensioni supporto = 2,8 – 5,6 mm tampone utilizzato calcare riempimento calcare/zolfo del letto 4:1; 2:1;1:1	il rapporto zolfo/calcare del materiale di riempimento influenza le prestazioni del reattore , così come l'alcalinità. Maggiore è l'alcalinità; l'efficienza diminuisce con l'aumento della portata trattata
<i>Soares; 2002</i>	laboratorio	fixed bed (continuo)	autotrofa	zolfo	-	92	0,24 Kg NO ₃ ⁻ - N/m ³ d	100 mg NO ₃ ⁻ - N/l; bicarbonato di sodio = 600 mg/l; fosfati = 3 mg/l	volume 683,7 cm ³ ; tampone utilizzato = calcare peso zolfo 777g; T = 24°C; vel = 0,2 m/h	per velocità troppo elevate di acqua immesse si riscontra presenza di nitrito nell'effluente.
<i>Vasiliadou et al.; 2009.</i>	laboratorio	fixed bed (draw – fill; continuo)	autotrofa	idrogeno	-	70 - 100	2,3 - 4,4 g NO ₃ ⁻ - N/l d	10 – 340 mg NO ₃ ⁻ - N/l; pH = 6,8 3,39 gKH ₂ PO ₄ /l; 3,53 g Na ₂ HPO ₄ /l;	T = 27°C; riempimento con ghiaia con tre diverse dimensioni (1,75 – 2,41 – 4,03 mm); carbonio inorganico	dimensioni di riempimento con superfici specifiche adeguate e senza il pericolo di intasamento = 2,41 mm; per trattare acque con concentrazioni

									CO ₂ ; portata: 5 – 20 ml/mi; contro lavaggio ogni 5 giorni	maggiori sono stati utilizzati 3 filtri in serie riempiti con ghiaia di dimensioni in ordine decrescente
<i>Rabah et al.; 2003</i>	laboratorio	FBBR (continuo)	eterotrofa	metanolo	2,7	91,4 – 99,7	12 Kg NO ₃ ⁻ - N/m ³ d	carico nitrato imposto = da 6 a 16 Kg NO ₃ ⁻ - N/m ³ d; pH = 7,5;	T = 23°C; velocità superficiali = 45; 55; 65 m/h; diametro sabbia = 0,84 mm superficie specifica 4200 m ² /m ³ ; volume = 9l;	efficienza diminuisce all'aumentare della velocità e all'aumentare del carico imposto
<i>Lazarova et al. 1993</i>	laboratorio	FBBR (continuo)	eterotrofa (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Pseudomonas stutzeri</i>)	acetato	1,5	97 - 100	0,5 - 7 Kg NO ₃ ⁻ - N/m ³ d	30 mg NO ₃ ⁻ - N/l; pH = 8; 0,4 mg PO ₄ ³⁻ /l;	diámetro sabbia = 2,75 mm; T = 25°C; HRT = 3 – 0,125 h; volume = 33l	Ps. Aeruginosa portano alla formazione di nitriti durante avviamento; C/N non influenzano significativamente l'accumulo di nitrito;
<i>Cattaneo et al.; 2003</i>	laboratorio	FBBR (continuo)	eterotrofa (<i>Pseudomonas denitrificans</i>)	metanolo	2,7	94 - 100	5,36 Kg NO ₃ ⁻ - N/m ³ d	140 - 530 mg NO ₃ ⁻ - N/l; KH ₂ PO ₄ /NaNO ₃ = 1/5; pH = 7 – 8;	T = 40°C; HRT = 99,7 – 49,8 – 25 min; concentrazione biomassa = 10 Kg _{BM} /m ³ ; diametro sabbia = 0,5 mm; superficie specifica 1000m ² /m ³ ; Volume 10 l; sabbia = 2 Kg;	comparato ad un reattore STR il reattore FBBR riporta prestazioni comparabili pur occupando meno spazio.

BIBLIOGRAFIA

- Jiunn-Jye Her, Ju Seng Huang (1995). Influences of carbon source and C/N ratio on nitrate/nitrite denitrification and carbon breakthrough. *Bioresource Technology*, 54, 45-51.
- M.I.M Soares (2002). Denitrification of groundwater with elemental sulfur. *Water Research*, 36, 1392-1395.
- Bokey, W.-R. Muller, G Haider (2000). Biodegradable polymers as solid substrate and biofilm carrier for denitrification in recirculated aquaculture systems. *Aquacultural Engineering*, 22, 75-85.
- C. Marazioti, M. Kornaros, G. Lyberatos (2003). Kinetic modeling of a mixed culture of *Pseudomonas Denitrificans* and *Bacillus subtilis* under aerobic and anoxic operating conditions. *Water Research*, 37, 1239-1251.
- A. Koenig, L.H. Liu (2001). Kinetic model of autotrophic denitrification in sulphur packed-bed reactors. *Water Research*, 35, 1969-1978.
- M. Volokita, A. Abeliovich, M.I.M Soares (1996). Denitrification of groundwater using cotton as energy source. 34, 379-385.
- M.O. Rivett, S.R. Buss, P. Morgan, J.W.N. Smith, C.D. Bement (2008). Nitrate attenuation in groundwater: A review of biogeochemical controlling processes. *Water Research*, 42, 4215-4232.
- K.A. Karanasios, I.A. Vasiliadou, S. Pavlou, D.V. Vayenas (2010). Hydrogenotrophic denitrification of potable water: A review. *Journal of Hazardous Materials*, 180, 20-37.
- J.P. Rajapakse, J.E. Scutt (1999). Denitrification with natural gas and various new growth media. *Water Research*, 33, 3723-3724.
- M.A. Gomez, J. Gonzalez-Lopez, E. Hontoria-Garcia (2000). Influence of carbon source on nitrate removal of contaminated groundwater in a denitrifying submerged filter. *Journal of Hazardous Materials*, B80, 69-80.
- M.I.M. Soares, A. Abeliovich (1998). Wheat straw as substrate for water denitrification. *Water Research*, 32, 3790-3794.
- Z. Salem, H. Lebig, W.K. Cherafa, K. Allia (2007). Valorisation of olive pits using biological denitrification. *Desalination*, 204, 72-78.

L. Foglar, F. Briski (2003). Wastewater denitrification process-the influence of methanol and kinetic analysis. *Process Biochemistry*, 39, 95-103.

K.M. Hiscock, J.W. Lloyd, D.N. Lerner (1991). Review of natural and artificial denitrification of groundwater. *Water Research*, 9, 1099-1111.

B.P. Gayle, G.D. Boardman, J.H. Seherrard, R.E. Benoit. Biological denitrification of water.

S. Islam, M.T. Suidan (1998). Electrolytic denitrification: long term performance and effect of current intensity. *Water Research*, 2, 528-536.

K.L. Cast, J.R.V. Flora (1998). An evaluation of two cathode materials and the impact of copper on bioelectrochemical denitrification, *Water Research*, 32, 63-70.

H.I. Park, D.K.Kim, Y.J. Choi, D. Park (2005). Nitrate reduction using an electrode as direct electron donor in a biofilm-electrode reactor. *Process Biochemistry*, 40, 3383-3388.

M. Prosnansky, Y. Sakakibara, M. Kuroda (2002). High-rate denitrification and SS rejection by biofilm-electrode reactor (BER) combined with microfiltration. *Water Research*, 36, 4801-4810.

Y. Sakakibara, T. Nakayama (2001). A novel multi-electrode system for electrolytic and biological water treatments: electric charge transfer and application to denitrification. *Water Research*, 35, 768-778.

S.Ghafari, M. Hasan, M.K. Aroua (2008). Bio-electrochemical removal of nitrate from water and wastewater-A review. *Bioresource Technology*, 99, 3965-3974.

S.J Ergas, D.E. Rheinheimer (2004). Drinking water denitrification using a membrane bioreactor. *Water Research*, 38, 3225-3253.

W.Fuchs, G. Schatzmayr, R. Braun (1997). Nitrate removal from drinking water using a membrane-fixed biofilm reactor. *Application Microbiologic Biothechnology*, 48, 267-274.

S. Xia, F. Zhong, Y. Zhang, H. Li, X. Yang (2010). Bio-reduction of nitrate groundwater using hydrogen-based membrane biofilm reactor, *Journal of Environmental Sciences*, 22, 257-262.

S.Xia, Y.H. Zhang, F. Zhong (2009). A continuous stirred hydrogen-based polyvinyl chloride membrane biofilm reactor for the treatment of nitrate contaminated drinking water. *Bioresource Technology*, 10, 6223-6228.

S.Xia, Y.H. Zhang, F. Zhong, X. Wang, J. Li (2009). Autohydrogenotrophic denitrification of drinking water using a polyvinyl chloride hollow fiber membrane biofilm reactor. *Journal of Hazardous Materials*, 170, 203-209.

- Anabela De Fonseca, J.C. Crespo, J.S. Almeida, M.A. Ries (2000). Drinking water denitrification using a novel ion-exchange membrane bioreactor. *Environmental Science Technology*, 34, 1557-1562.
- B.O. Mansell, E.D. Schroeder (2002). Hydrogenotrophic denitrification in a microporous membrane bioreactor. *Water Research*, 36, 4683-4690.
- B.O. Mansell, E.D. Schroeder (1999). Biological denitrification in a continuous flow membrane reactor. *Water Research*, 33, 1845-1850.
- J. Chang, J Manem, A. Beaubien (1993). Membrane bioprocesses for the denitrification of drinking water supplies. *Journal of Membrane Science*, 80, 233-239.
- E.J. McAdam, S.J. Judd (2007). Denitrification from drinking water using a membrane bioreactor: Chemical and biochemical feasibility. *Water Research*, 43, 4242-4250.
- E.J. McAdam, S.J. Judd (2006). A review of membrane bioreactor potential for nitrate removal from drinking water. *Desalination*, 196, 135-148.
- H. Hallvard, A. Aesoy, K. Bach, R. Pujol, M. Hamon (1998). Denitrification in a packed bed biofilm reactor (biofor) - Experiments with different carbon sources . *Water Research*, 32, 1463-1470.
- K.A. Karanasios, I.A. Vasiliadou, S. Pavlou, D.V. Vayenas (2009). Experimental and modelling study of drinking water hydrogenotrophic denitrification in packed-bed reactors. *Journal of Hazardous Materials*, 165, 812-824.
- P. Kesseru, I. Kiss, Z. Bihari, B. Polyák (2003). Biological denitrification in a continuous-flow pilot bioreactor containing immobilized *Pseudomonas butanovora* cells. *Bioresource Technology*, 87, 75-80.
- V. Lazarova, B. Capdeville, L. Nikolov (1994). Influence of accumulation seeding conditions on nitrite in a denitrifying fluidized bed reactor. *Water Research*, 28, 1189-1197.
- B. Moreno, M.A. Gomez, J. Gonzalez- Lopez, E. Hontoria (2005). Inoculation of a submerged filter for biological denitrification of nitrate polluted groundwater: a comparative study. *Journal of Hazardous Materials*, B117, 141-147.
- B. Moreno, M.A. Gomez, A. Ramos, J. Gonzalez- Lopez, E. Hontoria (2005). Influence of inocula over start up of a denitrifying submerged filter applied to nitrate contaminated groundwater treatment. *Journal of Hazardous Materials*, B127, 180-186.

L.H. Liu, A. Koenig (2002). Use of limestone for pH control in autotrophic denitrification: continuous flow experiments in pilot-scale packed bed reactors. *Journal of Biotechnology*, 99, 161-171.

Y. Cohen (2001). Biofiltration - the treatment of fluids by microorganisms immobilized into the filter bedding material: a review. *Bioresource Technology*, 77, 257-274.

S. Aslan, H. Cakici (2007). Biological denitrification of drinking water in a slow sand filter. *Journal of Hazardous Materials*, 148, 253-258.

G. Buttiglieri, F. Malpei, E. Daverio, m. Melchiori, H. Nieman, J. Ligthart (2005). Denitrification of drinking water sources by advanced biological treatment using a membrane bioreactor. *Desalination*, 178, 211 - 218