

**POLITECNICO DI MILANO**

Scuola di ingegneria Civile e Ambientale

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



**APPLICAZIONE DEL PROCESSO ANAMMOX ALLA  
FRAZIONE LIQUIDA DEL DIGESTATO DA FORSU:  
PROVE DI TRATTABILITÀ**

Relatore: Dott. Ing. Elena Ficara

Correlatori: Dott. Ing. Tommaso Lotti

Dott. Ing. Davide Scaglione

Tesi di:  
Lucia Magno  
Matricola 800713

Anno Accademico 2013-2014

# ***Indice***

SOMMARIO .....	4
1. L'AZOTO.....	6
1.1 Il ciclo dell'azoto e problematiche: eutrofizzazione e danni per l'uomo .....	6
1.2 Rimozione convenzionale dell'azoto dalle acque reflue .....	8
1.2.1 Nitrificazione .....	8
1.2.2 Denitrificazione .....	10
1.3 Il processo anammox .....	11
1.3.1 Stechiometria e confronto con nitrificazione/denitrificazione .....	11
1.3.2 Le inibizioni al processo anammox .....	14
1.3.3 Effetto della salinità.....	16
1.3.4 Configurazioni reattoristiche .....	20
1.3.5 Impianti esistenti e tipologie di refluo trattato.....	21
2. IL DIGESTATO DA FORSU .....	25
2.1 Che cos'è la FORSU .....	25
2.2 Stato dell'arte in Europa e in Italia .....	25
2.3 Filiera di trattamento della FORSU .....	29
2.4 Digestione anaerobica.....	31
2.5 Descrizione degli impianti e caratteristiche della FORSU .....	34
3. MATERIALI E METODI.....	36
3.1 Metodi analitici .....	36
3.2 Prove batch di misura dell'attività anammox .....	37
3.2.1 L'inoculo utilizzato.....	37
3.2.2 Descrizione del metodo della prova .....	38
3.2.3 Elaborazione dei dati .....	40
3.2.4 Soluzioni utilizzate .....	43
3.2.5 Programmazione delle prove batch .....	44
3.3 Prova in continuo in reattore SBR .....	47
3.3.1 Il reattore SBR .....	47
3.3.2 Le soluzioni utilizzate.....	51
3.3.3 L'inoculo utilizzato.....	53

3.3.4	Le prove di attività.....	54
4.	RISULTATI E DISCUSSIONE.....	57
4.1	Caratterizzazione dei digestati e confronti rispetto a configurazione degli impianti .....	57
4.2	Risultati delle prove manometriche .....	60
4.2.1	Prova con frazione liquida del digestato dell’Impianto1 .....	60
4.2.2	Prova con frazione liquida del digestato dell’Impianto2.....	64
4.2.3	Prova con frazione liquida del digestato dell’Impianto3b.....	66
4.2.4	Prova con frazione liquida del digestato dell’Impianto3c .....	67
4.2.5	Prova con frazione liquida del digestato dell’Impianto4b.....	69
4.2.6	Prova di inibizione da ammoniaca .....	72
4.2.7	Prove di salinità .....	74
4.2.8	Considerazioni conclusive sulle prove batch .....	78
4.3	Risultati della gestione del reattore SBR .....	83
4.3.1	FASE1 .....	83
4.3.2	FASE2 .....	89
4.3.3	Confronto tra risultati delle prove batch e della gestione del reattore....	102
4.3.4	Confronto con i risultati di letteratura .....	104
5.	CONCLUSIONI.....	108
	BIBLIOGRAFIA .....	111
	APPENDICE .....	115

## **SOMMARIO**

Il presente elaborato ha lo scopo di valutare l'applicabilità del processo biologico anammox al fine di rimuovere l'azoto da separato liquido del digestato della frazione organica dei rifiuti solidi urbani (FORSU).

La necessità di trattare il separato liquido proveniente dalla digestione anaerobica della FORSU nasce dalle caratteristiche del refluo stesso: alte concentrazioni di azoto ammoniacale e di carbonio organico lentamente biodegradabile. Attualmente, la tecnologia più utilizzata per il suo trattamento è il processo di nitrificazione/denitrificazione; la scelta di applicare il processo anammox (acronimo dell'inglese ANaerobic AMMonium Oxidation) risulta perciò completamente nuova.

Il processo biologico anammox si basa sulla conversione di ammonio e nitrito in azoto gassoso, catalizzata batteri autotrofi anaerobi, chiamati anch'essi batteri anammox. L'utilizzo di questo processo in luogo della denitrificazione risulta interessante perché consente un risparmio di risorse economiche non indifferente rispetto al classico processo di nitrificazione/denitrificazione: l'ossidazione parziale dell'ammoniaca a nitrito in fase di nitrificazione (nitritazione) e la mancanza di carbonio organico da somministrare costituiscono i due punti chiave per lo sviluppo del processo.

Durante la fase di sperimentazione si sono valutate le risposte a breve termine del processo anammox su diversi tipi di reflui campionati in quattro diversi impianti di trattamento della FORSU; si è inoltre valutata la fase di start-up di un reattore SBR alimentato con un singolo refluo tra quelli testati a breve termine. L'aspetto su cui si è focalizzata l'attenzione durante tutta la sperimentazione è l'effetto inibitorio causato dai diversi tenori di salinità che caratterizzano i singoli reflui utilizzati.

Le prove a breve termine sono state condotte in batch attraverso l'utilizzo di un sistema manometrico che misura la variazione di pressione prodotta nel tempo, dovuta alla produzione di azoto gassoso durante il processo anammox. Sulla base del confronto tra l'attività batterica in presenza di una soluzione di controllo, si è determinata la percentuale di inibizione dell'attività anammox per il trattamento di ogni singolo refluo.

L'inibizione è stata quindi associata alle caratteristiche del refluo utilizzato ed in particolare alla capacità di adattamento della biomassa a diversi tenori di salinità. I valori di inibizione ottenuti variano dal 70 al 98%.

Il reattore SBR è stato gestito in due fasi differenti: la FASE1 durante la quale si è valutata l'inibizione causata principalmente dall'alta salinità dell'alimento sintetico dato in ingresso in concomitanza ad altri tipi di stress cui la biomassa è stata sottoposta; la FASE2 durante la quale si è valutata la fase di start-up del reattore con l'alimento proveniente da uno degli impianti campionati. Anche in questo caso il parametro considerato più influente sull'attività batterica è stata la conducibilità.

La sperimentazione sul reattore alimentato in continuo è stata condotta per un breve periodo di tempo per cui non possono essere fatte valutazioni certe sul lungo periodo. Si può pensare però che, una volta stabilizzata l'attività e quindi la biomassa si sia acclimatata, l'attività specifica possa restare costante nel tempo o addirittura aumentare in seguito a fenomeni di arricchimento o di adattamento della biomassa stessa.

## 1.L'AZOTO

### *1.1 Il ciclo dell'azoto e problematiche: eutrofizzazione e danni per l'uomo*

Il ciclo dell'azoto è un ciclo biogeochimico che coinvolge le diverse specie azotate che passano dall'atmosfera, al terreno alle piante fino ad arrivare agli esseri viventi.

L'azoto è l'elemento più abbondante presente nell'atmosfera terrestre, infatti circa il 78% di essa è costituita da azoto gassoso. Perché l'azoto presente nell'atmosfera possa essere disponibile per le piante e successivamente per gli esseri viventi, è necessario che venga trasformato in composti assimilabili. Le trasformazioni avvengono ad opera di diversi gruppi di batteri presenti nel sottosuolo e ad opera delle piante. La Figura 1.1 rappresenta una schematizzazione del ciclo. I batteri azotofissatori del suolo, producono ammonio a partire dall'azoto molecolare gassoso presente in atmosfera. Successivamente, attraverso altri gruppi di batteri, viene prodotto nitrato, disponibile per le piante, le quali, effettuano un'operazione di organicazione. I prodotti dell'organicazione sono molecole organiche disponibili sia per la pianta sia per gli erbivori e, attraverso la catena alimentare, arrivano ai carnivori e all'uomo. Infine, quando i composti organici azotati vengono restituiti al suolo, attraverso la decomposizione della materia organica per opera dei batteri decompositori prima e dei denitrificanti poi, si restituisce all'atmosfera l'azoto gassoso molecolare.

Recentemente, con la scoperta dei batteri anammox, si è capito che anche questi ultimi rientrano a pieno titolo all'interno del ciclo dell'azoto. Infatti, è stata rintracciata la loro naturale presenza in molti ambienti marini e quindi è a loro attribuito il 70% della produzione di  $N_2$  negli oceani (Van Hulle et al., 2010).

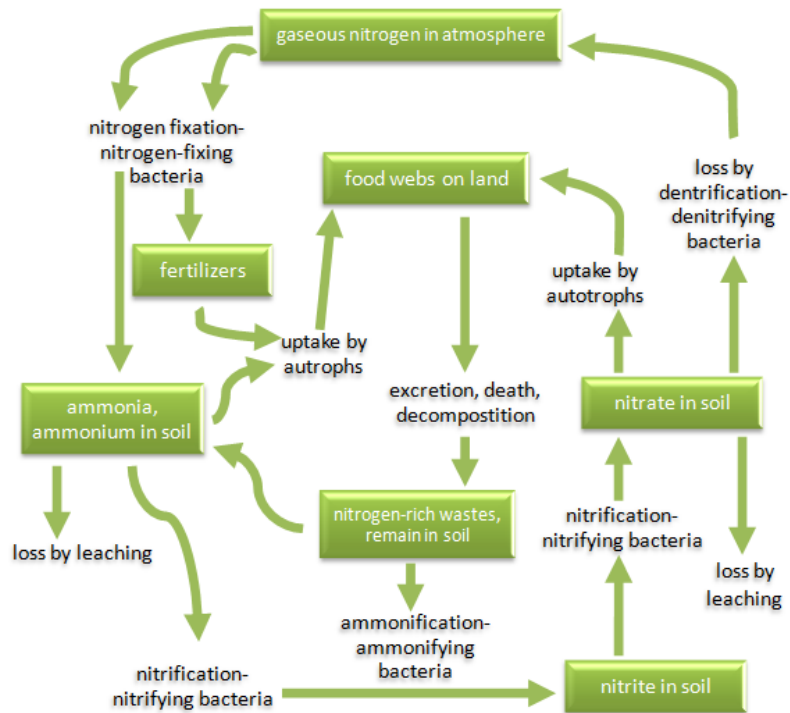


Figura 1.1 Il ciclo dell'azoto

Attualmente sussiste un problema di squilibrio del ciclo dell'azoto dovuto all'introduzione da parte dell'uomo di grandi quantità di ammoniaca nei suoli al fine di aumentarne la fertilità ed incrementare la produzione agricola e di  $N_2O$  (gas effetto serra) in atmosfera, proveniente dalla gestione delle deiezioni animali.

L'eccesso di ammoniaca e di composti azotati introdotti nel sottosuolo, si ripercuote su tutto il ciclo naturale dell'azoto in cui le quantità immesse superano notevolmente quelle trasformate.

Le conseguenze dello squilibrio del ciclo dell'azoto si ripercuotono sia sui terreni che sui corpi idrici e infine anche sull'uomo.

L'eutrofizzazione è un fenomeno che si sviluppa nei corpi idrici quando la concentrazione di azoto e fosforo è molto elevata ed è tale da provocare una crescita eccessiva di alghe. La crescita algale incontrollata causa lo sviluppo di batteri decompositori che entrano in competizione per l'ossigeno con le specie presenti nei corpi idrici. Se la quantità di ossigeno presente non è sufficiente, si creano condizioni di anaerobiosi che a loro volta causano lo sviluppo di batteri decompositori anaerobi che rilasciano composti tossici per le specie esistenti. Le conseguenze dell'eutrofizzazione

sono sia di tipo ambientale che economico. Le conseguenze ambientali si descrivono in termini di un peggioramento della qualità delle acque: impossibilità di utilizzo per la potabilizzazione, moria di pesci e produzione di cattivi odori. Le conseguenze di tipo economico derivano dall'impossibilità di sfruttare il corpo idrico per esempio per la pesca o per la balneazione.

Per quanto riguarda i rischi associati alla salute umana, essi sono legati all'assunzione di nitriti, negli adulti e nei bambini, per mezzo delle acque di approvvigionamento. L'assunzione anche a basse concentrazioni del nitrito, può portare sia alla formazione di nitrosammine, sostanze cancerogene, sia all'impoverimento di ossigeno nel sangue causato dall'affinità del nitrito con l'emoglobina.

Per le direttive europee 2006/118/CE sulle acque sotterranee e 98/83/CE e sulle acque potabili la concentrazione limite di nitrati per le acque destinate al consumo umano è di  $50 \text{ mg L}^{-1}$ . Per quanto riguarda gli scarichi provenienti da impianti di trattamento delle acque reflue, il limite normativo imposto dal decreto legislativo 152/2006 riguarda l'azoto totale (la somma di azoto organico, ammoniacale, nitrico e nitroso) e dipende dal numero di abitanti equivalenti serviti dall'impianto: se gli abitanti sono compresi tra 10.000 e 100.000 la concentrazione deve essere minore di  $15 \text{ mgN L}^{-1}$ ; se gli abitanti equivalenti serviti sono maggiori di 100.000, il limite è di  $10 \text{ mgN L}^{-1}$ .

### ***1.2 Rimozione convenzionale dell'azoto dalle acque reflue***

Le acque reflue di tipo civile sono caratterizzate da considerevoli carichi di azoto ammoniacale e di sostanza organica biodegradabile (BOD). Mediamente il carico procapite è considerato pari a  $12 \text{ gN ab}^{-1} \text{ d}^{-1}$  e  $60 \text{ g BOD ab}^{-1} \text{ d}^{-1}$  rispettivamente.

La pratica comune della rimozione dell'azoto dalle acque reflue consiste nel processo biologico di nitrificazione/denitrificazione. Questo processo si basa sull'utilizzo di due ceppi batterici, uno autotrofo e uno eterotrofo, che trasformano l'azoto ammoniacale in nitrito e nitrato e infine lo riconvertono in azoto molecolare che si libera in atmosfera come di seguito descritto in dettaglio.

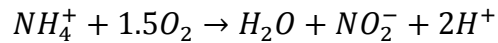
#### ***1.2.1 Nitrificazione***

La nitrificazione è un processo a due fasi in serie, operata da due tipi di batteri: AOB (Ammonia Oxidizing Bacteria) e NOB (Nitrite Oxidizing Bacteria); sono

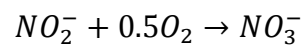


entrambi aerobi autotrofi, cioè utilizzano, una fonte di carbonio inorganico per la sintesi cellulare.

Gli AOB ossidano lo ione ammonio  $NH_4^+$  a nitrito  $NO_2^-$ ; i batteri comunemente riconosciuti per questa fase sono i *Nitrosomonas*. La reazione di ossidazione è la seguente:



Gli NOB ossidano il nitrito a nitrato  $NO_3^-$ ; il gruppo di batteri principale riconosciuto per questa fase è il *Nitrobacter*. La reazione è la seguente:

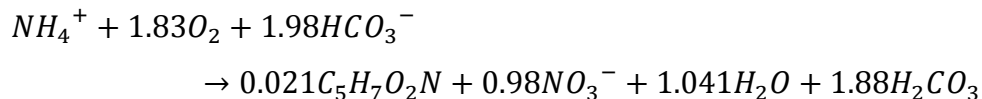


La reazione complessiva è la seguente:



Come si evince da quest'ultima reazione, la nitrificazione è un processo che porta ad una acidificazione del refluo, infatti per ogni mole di ammonio ossidato, si producono due moli di ione  $H^+$ .

La reazione metabolica complessiva della fase di nitrificazione è la seguente:



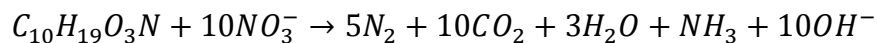
La reazione mostra che per ogni mole di ammonio ossidato sono necessarie quasi il doppio delle moli di ossigeno, cioè 1.83 e un apporto di carbonio inorganico pari a 1.98 moli. Il tasso di crescita cellulare è molto basso, infatti si producono 0.021 moli di nuova biomassa per ogni mole di ammonio consumata.

In generale, la velocità di crescita degli AOB è più lenta di quella degli NOB. Poiché gli NOB utilizzano come substrato il nitrito prodotto dagli AOB, se questi ultimi sono più lenti nel produrre nitrito di quanto gli NOB siano veloci a consumarlo, non sempre c'è disponibilità di substrato per gli NOB. Perciò la cinetica degli AOB è quella limitante ed è pari alla cinetica complessiva della reazione.

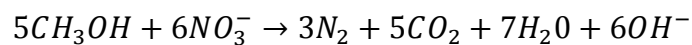
### 1.2.2 Denitrificazione

La denitrificazione è un processo durante il quale batteri eterotrofi riducono il nitrato prodotto in fase di nitrificazione ad azoto gassoso utilizzando carbonio organico naturalmente presente nel refluo o aggiunto sottoforma di metanolo  $\text{CH}_3\text{OH}$  o di acido acetico  $\text{CH}_3\text{COOH}$ .

I batteri denitrificanti vengono chiamati eterotrofi facoltativi in quanto sono in grado di modificare il loro metabolismo da aerobico ad anaerobico. In presenza sia di nitrati che di ossigeno, i batteri utilizzano l'ossigeno come accettore di elettroni in quanto permette di ricavare maggiore energia; perché quindi i denitrificanti utilizzino il nitrato e lo trasformino in azoto gassoso è importante che non ci sia ossigeno disciolto nel refluo. La denitrificazione infatti avviene in condizioni anossiche. La reazione nel caso in cui sia presente carbonio internamente disponibile è la seguente:



Nel caso invece ci fosse la necessità di aggiungere carbonio organico dall'esterno sottoforma per esempio di metanolo, la reazione sarebbe la seguente:



In entrambi i casi si ha una produzione di alcalinità sottoforma di ioni  $\text{OH}^-$  che in parte compensa la produzione di acidità della fase di nitrificazione.

Questo processo biologico di rimozione dell'azoto, si sviluppa in un sistema impiantistico chiamato a fanghi attivi. Questa tipologia di impianto consiste nell'utilizzare colonie di batteri organizzati in aggregati fioccosi che, attraverso la miscelazione della vasca in cui si trovano, restano sospesi nel liquame da trattare. Nitrificazione e denitrificazione avvengono in due vasche separate, viste le necessità di aerazione della prima e di anossia della seconda. Le configurazioni impiantistiche possono essere diverse: si parla di pre o post-denitrificazione a seconda che il reattore di denitrificazione sia fisicamente posizionato prima o dopo quello di nitrificazione. In ogni caso è prevista una fase di sedimentazione finale in si separa la biomassa dal refluo. Mentre la prima in genere viene ricircolata in testa all'impianto di depurazione, il separato liquido procede verso altre fasi di trattamento terziario.

### 1.3 Il processo anammox

ANAMMOX (ANaerobic AMMonium OXidation) è l'acronimo di un processo di rimozione dell'azoto ammoniacale da effluenti liquidi in condizioni anossiche. Il processo avviene per mezzo di batteri, anch'essi chiamati anammox, che sono in grado di convertire l'ammonio in azoto gassoso  $N_2$ , utilizzando il nitrito come accettore di elettroni. Questa alternativa di trattamento consente un netto risparmio in termini di ossigeno da insufflare e non richiede sostanza organica.

Il processo anammox è stato scoperto circa 30 anni fa con una prima applicazione sul trattamento delle acque reflue in sostituzione della convenzionale nitrificazione/denitrificazione. Perché i batteri anammox possano effettuare la conversione dei nitriti ad azoto gassoso è comunque necessaria la presenza di azoto sottoforma di ammonio che costituisce uno dei substrati. Al contrario di quanto avviene in nitrificazione, quindi, non tutta l'ammoniaca deve essere ossidata a nitrito. La Figura 1.2 mostra la differenza tra il processo nitrificazione/denitrificazione e il processo anammox.

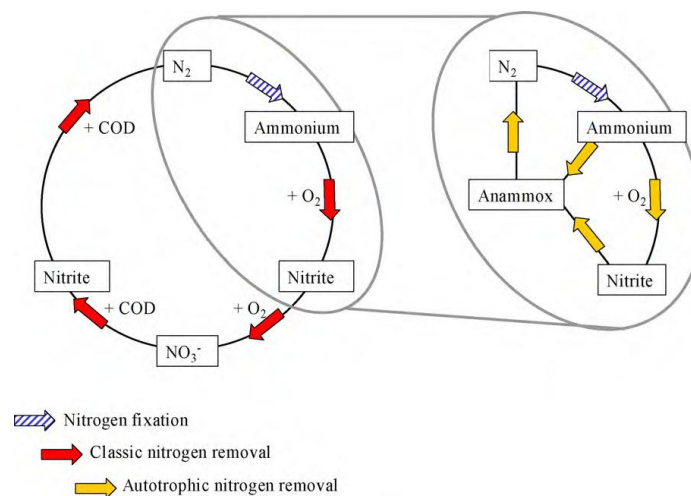
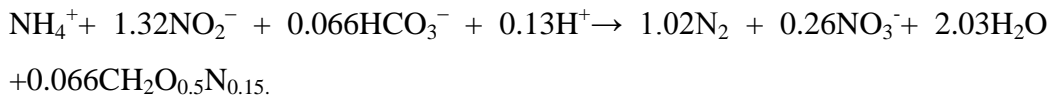


Figura 1.2 Confronto tra nitrificazione/denitrificazione e processo anammox (van Hulle et al., 2010)

#### 1.3.1 Stechiometria e confronto con nitrificazione/denitrificazione

I batteri anammox identificati appartengono a cinque generi dell'ordine dei Planctomycetes: *Brocadia*, *Kuenenia*, *Scalindua*, *Anammoxoglobus*, *Jettenia*.

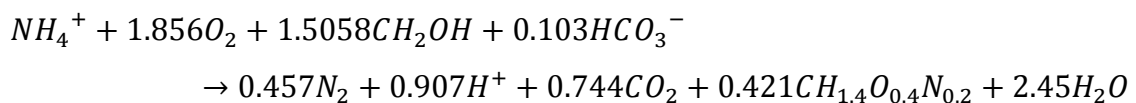
La reazione effettuata dai batteri anammox è la seguente:



La reazione si svolge in tre fasi diverse durante le quali si producono intermedi di reazione quali l'idrazina e l'idrossilammina. Gli anammox hanno altissima affinità con i substrati nitrito e ammonio e di conseguenza sono caratterizzati da una costante di semi-saturazione  $K_s$  molto bassa se confrontata con quella degli eterotrofi, e pari a  $0.035 \text{ mgN L}^{-1}$  (Lotti et al., 2014a). Il rateo di crescita è abbastanza basso; si è calcolato un tempo di duplicazione che va dai 7 agli 11 giorni (Schmid et al, 2000). Il rapporto di consumo  $\text{NO}_2/\text{NH}_4$  è pari a 1.32, per cui è sempre necessario avere un apporto di nitrito che viene garantito con una preliminare fase di ossidazione dell'ammonio. Nella reazione, il nitrito funge sia da accettore di elettroni per l'ossidazione dell'ammonio a nitrato e sia come donatore di elettroni per la produzione di nuova biomassa a partire dal carbonio inorganico.

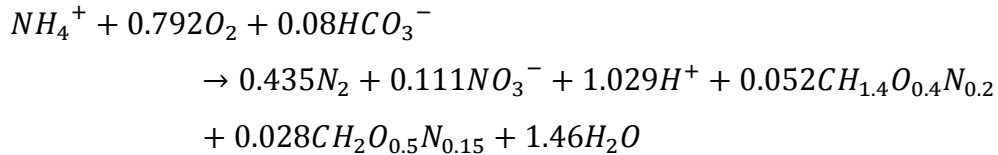
Il carbonio inorganico  $\text{HCO}_3^-$ , è un altro dei substrati, la cui mancanza costituisce una limitazione alla reazione. Se, d'altro canto, la concentrazione di bicarbonato è eccessiva, c'è il rischio che il pH del refluo aumenti e nel caso in cui si supera il valore di 8.1, la concentrazione di ammoniaca libera aumenta fino a livelli potenzialmente inibenti per l'attività anammox.

Il processo convenzionale di nitrificazione/denitrificazione, si costituisce, come già spiegato, di due fasi: una di ossidazione dell'ammoniaca a nitrato (nitrificazione) e una di riduzione del nitrato ad azoto gassoso (denitrificazione). La reazione complessiva del processo con l'impiego di metanolo come sostanza organica è la seguente:



Dalla reazione è chiaro come il passaggio da ammonio ad azoto gassoso richieda una notevole quantità di ossigeno: per ogni mole di ammonio ossidata, sono necessarie 1.86 moli di ossigeno. Inoltre poiché metà del processo avviene ad opera dei batteri eterotrofi, è richiesta anche la presenza di carbonio organico; se il refluo da trattare non lo contiene, è necessario un apporto esterno.

Il processo anammox, si basa invece sull'ossidazione dell'ammonio in condizioni anossiche utilizzando il nitrito come accettore di elettroni. Poiché il nitrito sia disponibile, è comunque necessaria una preliminare fase di ossidazione parziale dell'ammoniaca ad opera degli AOB (nitritazione parziale, PN). La reazione complessiva del processo PN/anammox è la seguente:



dove  $CH_{1.4}O_{0.4}N_{0.2}$  rappresenta la composizione media degli AOB mentre  $CH_2O_{0.5}N_{0.15}$  rappresenta la composizione media degli anammox.

Le due reazioni appena riportate mostrano come il processo PN/anammox richieda meno della metà di moli di ossigeno per l'ossidazione di una mole di ammonio e nessun tipo di apporto di sostanza organica in quanto sia gli AOB che gli anammox sono batteri autotrofi; ciò che si richiede è infatti la sola presenza di carbonio inorganico. Questo comporta, in fase di gestione di un impianto PN/anammox, un netto risparmio in termini economici: 60% in meno di ossigeno da insufflare nelle vasche di aerazione e nessuna sostanza organica da aggiungere, il cui costo viene completamente annullato rispetto alla gestione di un impianto di nitrificazione/denitrificazione.

Poiché i batteri autotrofi in generale e gli anammox in particolare hanno tempi di duplicazione molto ridotti rispetto agli eterotrofi, il processo PN/anammox, comporta una crescita batterica minore rispetto al convenzionale sistema di nitrificazione/denitrificazione. Dalle reazioni sopra riportate, si evince che il sistema tradizionale causa una produzione maggiore dell'80% in termini di fanghi attivi rispetto al sistema PN/anammox che si ripercuote su non trascurabili costi di gestione e smaltimento.

Uno dei prodotti della reazione anammox è il nitrato per cui l'efficienza di rimozione dell'azoto è di circa l'89%, inferiore rispetto all'efficienza del trattamento convenzionale, maggiore del 90%. L'efficienza di rimozione tuttavia può aumentare se sono presenti batteri eterotrofi che, con basse concentrazioni di sostanza organica

naturalmente presenti nel refluo da trattare, riescono a convertire il nitrato in azoto gassoso, senza di fatto far aumentare considerevolmente i costi di gestione.

Nonostante i vantaggi appena elencati, esistono delle criticità rispetto allo sviluppo del processo PN/anammox che riguardano soprattutto la gestione del processo stesso. Se è vero che solo metà dell'ammonio deve essere trasformato in nitrito, è anche vero che la fase di ossidazione richiede un controllo molto attento in quanto l'ossigeno costituisce un inibente all'attività anammox. Un altro aspetto importante su cui va posta l'attenzione per lo sviluppo a piena scala, riguarda la competizione degli anammox con gli eterotrofi denitrificanti. Le cinetiche di crescita degli anammox sono di gran lunga più lente di quelle degli eterotrofi perciò questi ultimi oltre a consumare la sostanza organica, sottraggono nitrito agli anammox prima che questi possano utilizzarlo. Per questo motivo l'applicabilità del processo PN/anammox è favorita su reflui contenenti basse concentrazioni di sostanza organica prontamente biodegradabile come il digestato di impianti della depurazione delle acque reflue. Altre applicazioni del processo possono riguardare il percolato da discarica, il separato liquido da digestione anaerobica della FORSU e il separato liquido da digestione dei reflui zootecnici.

Ad oggi, il sistema più comunemente utilizzato per lo smaltimento dei reflui con alte concentrazioni di ammonio è ancora la nitrificazione/denitrificazione in quanto, seppur con costi moderati, garantisce affidabilità e alte percentuali di rimozione dell'azoto. Nonostante i problemi legati soprattutto alla gestione del processo più che alle efficienze e ai costi, il processo PN/anammox, inizia a prendere piede in Europa e un crescente interesse sembra si stia dimostrando in America.

### ***1.3.2 Le inibizioni al processo anammox***

I fattori aventi un'influenza sull'attività anammox sono i seguenti:

- Nitrito

Come già detto il nitrito costituisce un substrato per l'attività anammox; tuttavia è importante che la sua concentrazione non superi determinati valori perché potrebbe diventare un inibente dell'attività batterica. È stato provato (Strous et al. 1999) che concentrazioni maggiori di  $100 \text{ mgN L}^{-1}$  inibiscono completamente l'attività batterica; l'inibizione può essere causata anche dall'esposizione a concentrazioni più

basse, ma prolungate nel tempo, da 5 a 280 mgNO<sub>2</sub>-N L<sup>-1</sup> a seconda dei valori degli altri parametri di processo (Jin et al. 2012). Se le concentrazioni superano i 280 mgNO<sub>2</sub>-N L<sup>-1</sup> per lungo tempo, l'attività batterica risulta completamente compromessa, al contrario, per valori inferiori, si osserva un adattamento (Isaka et al., 2006). Kimura et al., 2010 hanno provato che l'inibizione da nitrito è reversibile: passando da 750 mgNO<sub>2</sub>-N L<sup>-1</sup> a 250 mgNO<sub>2</sub>-N L<sup>-1</sup>, l'attività è stata recuperata in 3 giorni. La reversibilità dell'inibizione dipende, oltre che dalla concentrazione, anche dalla durata dell'esposizione: è stato osservato un recupero dell'attività del 46% dopo esposizione di 24 ore a concentrazioni di 1000 mgNO<sub>2</sub>-N L<sup>-1</sup> (Lotti et al., 2012). Scaglione et al., 2012 hanno invece osservato un recupero del 70% dopo 48 ore di esposizione a 500 mgNO<sub>2</sub>-N L<sup>-1</sup>. In genere, l'accumulo di nitrito è causato dalla maggiore velocità di ossidazione dell'ammonio da parte degli AOB rispetto alla velocità di crescita degli anammox. La diminuzione dell'attività può essere recuperata aggiungendo piccole quantità di intermedi della reazione come l'idrossilamina e l'idrazina.

- Ammonio

L'inibizione da ammonio non si verifica fino a concentrazioni di 1 gN L<sup>-1</sup> (Strous et al., 2001). L'inibizione è causata principalmente dall'ammoniaca libera (FA): sono state osservate riduzione del 50% dell'attività specifica nel breve periodo per concentrazioni di 38 mgFA L<sup>-1</sup> e attività instabile nel lungo periodo per concentrazioni maggiori di 20-25 mgFA L<sup>-1</sup> (Fernandez et al., 2012).

- Ossigeno

La presenza di ossigeno è uno dei parametri da tenere sotto controllo durante la reazione anammox. I primi studi sull'inibizione da ossigeno, riportano inibizioni a basse concentrazioni (<5%) e descrivono l'irreversibilità dell'inibizione (Strous et al., 1999). Studi più recenti hanno mostrato che l'inibizione da ossigeno è invece reversibile anche dopo esposizione a concentrazioni di 8 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> (Hu et al., 2013).

- Temperatura e pH

La temperatura di esercizio ottimale per l'attività anammox è maggiore di 25°C, in particolare, nel range compreso tra 30 e 40°C; temperature maggiori di 45°C

portano alla lisi cellulare e quindi ad una perdita irreversibile dell'attività batterica. Alcuni studi hanno dimostrato che c'è un buon adattamento anche a temperature di 20°C, pur con una sostanziale riduzione del rateo di produzione dell'azoto gassoso (Hu et al., 2013).

Il range di pH ottimale è compreso tra 6,7 e 8,3 con l'ottimo di 8 (van Hulle et al., 2010).

### **1.3.3 Effetto della salinità**

La salinità è uno degli aspetti su cui il presente elaborato si focalizza; è importante perciò cercare di capire qual è il comportamento degli anammox rispetto a variazioni di salinità anche se in letteratura si trovano pareri talvolta discordanti.

Uno studio è stato condotto da Liu et al., 2009 in un reattore a letto fisso con un inoculo di batteri provenienti dal trattamento di acque reflue senza aggiunta di sali. La concentrazione di sale è stata aumentata fino a 33 gNaCl L<sup>-1</sup>. Fino ad una concentrazione di 30 gNaCl L<sup>-1</sup>, non è stato registrato nessun aumento delle concentrazioni in uscita di NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e di NO<sub>2</sub><sup>-</sup> denotando un buon adattamento della specie batterica all'aumento di salinità; all'aumento della concentrazione oltre i 30 gNaCl L<sup>-1</sup> le concentrazioni di NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e NO<sub>2</sub><sup>-</sup> dell'effluente sono aumentate. La concentrazione del sale è stata quindi riportata al valore di 30 gNaCl L<sup>-1</sup> e si è calcolato il tasso di rimozione dell'azoto (NRR) pari a 1,7 kgN m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>.

Kartal et al., 2006 non hanno riscontrato effetti sull'attività in un reattore SBR, per concentrazioni minori di 30 gNaCl L<sup>-1</sup>. Aumentando la concentrazione a 45 gNaCl L<sup>-1</sup>, hanno osservato una riduzione dell'attività specifica massima (SAA) dell'85%, mentre con le prove in batch, hanno ottenuto una diminuzione della SAA solo del 10%. Una possibile spiegazione per questa differenza potrebbe essere l'utilizzo di due diverse modalità di prova: una in batch e una in continuo. L'aumento di salinità, comporta anche un aumento della densità della miscela da trattare perciò, i granuli o i fiocchi di batteri più leggeri vengono più facilmente dilavati via in un reattore come quello SBR.

Windey et al., 2005 riportano invece come valore soglia, al di sopra del quale si registra un'inibizione per le prove in batch, la concentrazione 45 gNaCl L<sup>-1</sup>.

Nello studio condotto da Chen Ma et al., 2014 è stato utilizzato un reattore UASB e la sperimentazione è stata condotta aumentando gradualmente la concentrazione di NaCl



fino a 60 gNaCl L<sup>-1</sup>; l'attività batterica è risultata diminuire all'aumentare della concentrazione di sale ma comunque si è osservata una ripresa dopo un certo periodo di acclimatazione. Anche in questo caso la concentrazione soglia di sale risulta essere 30 gNaCl L<sup>-1</sup>: al di sopra l'attività batterica non è più risultata stabile. Un aspetto importante affrontato in questo studio riguarda il decadimento della biomassa legato all'aumento della salinità: si è notato che la biomassa ha una velocità di decadimento maggiore nel passare da 0 a 5 gNaCl L<sup>-1</sup> rispetto al decadimento registrato per concentrazioni maggiori. Secondo gli autori, i batteri subiscono uno shock maggiore nel passare da condizioni non saline a quelle saline rispetto allo shock subito nel passare da concentrazioni minori a concentrazioni maggiori di sale.

La stabilità dell'attività batterica ad alte concentrazioni è stata indagata anche da Ren-Cun Jin et al., 2011. Quando l'attività batterica si è stabilizzata alla concentrazione di 30 gNaCl L<sup>-1</sup>, dopo un primo aumento di carico, è stato necessario diminuire le concentrazioni in ingresso dei substrati poiché la concentrazione effluente di nitrito registrata era maggiore di 100 mgNO<sub>2</sub>-N L<sup>-1</sup>. Da quel punto in poi non è stata più registrata un'attività anammox stabile.

Altri studi effettuati in merito (Fernandez et al., 2008, Dapena-Mora, 2010, Jin et al., 2011) sono riassunti in Tabella 1.1. Nella Tabella 1.1 vengono riportati gli effetti che sono stati riscontrati nei diversi studi elencati per i valori di concentrazione di sale applicati e alla corrispondente conducibilità<sup>1</sup>. L'opinione condivisa è che la concentrazione di 30 gNaCl L<sup>-1</sup> (equivalente a circa 52.9 mS cm<sup>-1</sup>) è considerata il valore soglia per la stabilità dell'attività batterica. Dalla Tabella 1.1 si nota infatti come i primi effetti legati alla salinità si osservano per concentrazioni di 30 gNaCl L<sup>-1</sup>. Un aspetto molto importante riguarda l'acclimatazione della biomassa alla salinità: quando la biomassa passa da una soluzione non salina ad una salina, essa subisce uno shock osmotico che si ripercuote in una diminuzione dell'attività rispetto a quella massima calcolata in condizioni non saline. Tuttavia, con il passare del tempo si nota un recupero dell'attività; questo recupero è la dimostrazione dell'adattamento della biomassa a reflui salini. (Kartal et al., 2006).

---

<sup>1</sup> Conducibilità e concentrazione di sale hanno un legame lineare del tipo  $y=1.76 \cdot x+ 82$  dove  $y$  è la conducibilità espressa in  $\mu\text{S cm}^{-1}$  e  $x$  è la concentrazione di NaCl in  $\text{mg L}^{-1}$

Jin et al., 2011 hanno dimostrato la reversibilità parziale dell'inibizione alla salinità. Passando da 30 gNaCl L<sup>-1</sup> a 0 hanno osservato un recupero dell'attività, con valori di inibizione che diminuivano dal 67.5% al 43%.

In conclusione, gli effetti della salinità sulla biomassa anammox possono essere così riassunti:

- esiste un valore soglia di 30 gNaCl L<sup>-1</sup> (circa 52.9 mS cm<sup>-1</sup>) superato il quale l'attività batterica anammox risulta ridotta rispetto alle condizioni non saline;
- si osserva un adattamento alla salinità che dipende dal tempo di contatto e dalla concentrazione di sale;
- la biomassa mostra maggiori difficoltà ad adattarsi alle variazioni di carico applicate in presenza di reflui salini;
- l'inibizione è parzialmente reversibile.

Tabella 1.1 Dati di letteratura sull'inibizione da salinità sui batteri anammox

	Setup sperimentale	Sale	Concentrazione [gsale L <sup>-1</sup> ]	Conducibilità* [mS cm <sup>-1</sup> ]	Tipo biomassa	Effetto
Kartal et al., 2006	reattore SBR	90% NaCl 10%KCl	45	79.4	adattata	75% di diminuzione della SAA; inibizione reversibile
	batch	90% NaCl 10%KCl	45	79.4	adattata	10% di riduzione della SAA
Fernandez et al., 2008	reattore SBR	NaCl	5-10	8.9-17.6	non adattata	nessun effetto di inibizione
Dapena -Mora, 2010	reattore SBR	NaCl	20	35.3	non adattata	inibizione del 50%
	batch	NaCl	20	35.3	adattata	SAA aumenta fino a 15 gNaCl L <sup>-1</sup> poi riduzione
Ruscalleda et al., 2010	reattore SBR	-	-	10.16	-	riduzione dell'11% della SAA
	batch	NaCl	30	53	adattata	41.5% di diminuzione della SAA
Jin et al., 2011	batch	NaCl	30	53	non adattata	67.5% di diminuzione della SAA
	batch	NaCl	30-0	53-0	adattata	SAA passa da 27 a 39 mgNH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N gSSV <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>
	reattore UASB	NaCl	30	53	adattata	NRR=448 mg L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> comparabile con reattore non salino
Yang et al., 2011	reattore up-flow	NaCl	30	53	-	NRR=4.5 kgN m <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup> stabile
Ma et al., 2012	reattore UASB	NaCl	60	105	non adattata	NRR=2.6 kg m <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup> dopo adattamento di 26 giorni
	reattore UASB	NaCl	30	53	non adattata	aumento graduale di salinità, NRR=3.71 kgN m <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup>
Chen et al., 2014	reattore UASB	NaCl	30	53	non adattata	schock salino, NRR=3.48 kgN m <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup>
	reattore UASB	NaCl	5	8.9	non adattata	Rateo di rimozione di 1.98 kgN m <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup>
Bao-Shang Xing et al., 2015	reattore UASB	NaCl	15	26.5	non adattata	Rateo di rimozione di 1.6 kgN m <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup>

\* Conducibilità calcolata con la relazione  $y=1.76 \cdot x + 82$ , dove  $y$  è la conducibilità in  $\mu\text{S cm}^{-1}$  e  $x$  è la concentrazione di NaCl in  $\text{mg L}^{-1}$

### 1.3.4 Configurazioni reattoristiche

Come già detto, perché il processo anammox si possa svolgere, è necessario che l'ammoniaca presente nel refluo da trattare venga parzialmente ossidata a nitrito e ciò può avvenire attraverso due soluzioni impiantistiche diverse: in singolo reattore o in due reattori separati. Di seguito verranno analizzate le due configurazioni possibili.

*-singolo reattore:* in questa configurazione, all'interno di un unico reattore sono presenti batteri aerobi e anammox che ossidano l'ammonio in condizioni di concentrazioni di ossigeno sufficientemente basse da non inibire l'attività degli anammox. In genere i batteri sono organizzati in biofilm che ottimizzano le reazioni di loro competenza: gli anammox si trovano negli strati più interni del biofilm e possono utilizzare come substrato il nitrito prodotto dagli ammonio-ossidanti; sono inoltre protetti dal contatto con l'ossigeno poiché viene consumato negli strati più esterni. È necessario che ci sia un equilibrio tra le velocità di reazione dei due tipi di batteri. Se il nitrito prodotto dagli ammonio-ossidanti è subito consumato dagli anammox, l'ossigeno potrebbe costituire l'elemento limitante per la reazione complessiva; se invece gli anammox sono più lenti potrebbe verificarsi un accumulo di nitrito che, come già detto, provoca la loro inibizione.

Alcuni di questi sistemi che operano a 30-35°C hanno registrato un consumo massimo di azoto di 0.075-1.15 kgN m<sup>-3</sup>.

Le attuali configurazioni per realizzare questo processo sono molteplici: reattore CSTR (Completely Stirred Tank Reactors), MBR (Membrane BioReactor) e SBR (Sequencing Batch Reactor). Il criterio più importante per il corretto funzionamento è il tempo di ritenzione cellulare (SRT).

Un altro tipo di configurazione è un reattore aerato a membrane (MABR) costituito da membrane permeabili ai gas. Nelle zone ricche di ossigeno, vicino alle membrane, si sviluppano i batteri ossidanti mentre gli anammox si sviluppano nella zona lontana dalle membrane dove c'è carenza di ossigeno ma c'è una grande quantità di nitrito.

*-due reattori:* questo sistema è costituito da due reattori distinti in cui, nel primo avviene una parziale nitrificazione dell'ammonio e nel secondo il processo anammox.

L'obiettivo del primo reattore è quello di produrre una miscela in uscita avente un rapporto nitrito:ammonio pari a 1,32:1 cioè pari al rapporto stechiometrico di consumo

della reazione anammox che avviene poi nel secondo reattore. Nel primo reattore inoltre, è importante che il nitrito prodotto non venga ulteriormente ossidato a nitrato; per evitare ciò è possibile lavorare a temperature maggiori di 24°C. Infatti, oltre i 24°C, gli NOB hanno velocità di crescita minori rispetto agli AOB e di conseguenza, il nitrito prodotto da questi ultimi non viene consumato dagli NOB. Si verifica invece un accumulo di nitrito, poi utilizzato nel secondo reattore dagli anammox. Se tuttavia si vuole operare a temperature maggiori di 24°C si possono inibire gli NOB per esempio con basse concentrazioni di ossigeno. Le condizioni di pH da rispettare sono comprese tra 6 e 8.8.

Il secondo reattore è quello nel quale avviene la reazione di conversione del nitrito prodotto in azoto gassoso per mezzo degli anammox. Poiché la crescita batterica è molto lenta, è necessario garantire dei tempi di ritenzione cellulare estremamente alti. Per questo il reattore più efficiente è di tipo SBR o MBR. Le altre tipologie hanno dimostrato di non essere capaci di ritenere biomassa durante il loro funzionamento (perdita di biomassa per flottazione intrappolata nella bolle di gas in un reattore a letto mobile (Strous et al., 1997)).

Per quanto riguarda invece il tipo di biomassa utilizzata, nelle applicazioni a piena scala, si trovano reattori che operano con biofilm o biomassa granulare ottenendo buone prestazioni in termini di rimozione dell'azoto.

La configurazione a due reattori permette una migliore ottimizzazione del processo poiché è possibile intervenire sui due stadi separatamente; comporta tuttavia un investimento economico maggiore rispetto al singolo reattore, dovuto ai costi di costruzione.

### ***1.3.5 Impianti esistenti e tipologie di refluo trattato***

Il primo impianto ad utilizzare il processo anammox è stato progettato per il trattamento delle acque reflue in Olanda nel 2002 e da allora molti sono stati i passi in avanti fatti sulla conoscenza del funzionamento del processo.

La Tabella 1.2 mostra alcune caratteristiche dei reflui trattati da alcuni impianti presenti in Europa (Lackner et al., 2014)

Tabella 1.2 Caratteristiche dei reflui in ingresso e in uscita da alcuni degli impianti presenti in Europa che usano il processo anammox (Lackner et al., 2014)

IMPIANTO	INFLUENTE		EFFLUENTE			
	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N [mgN L <sup>-1</sup> ]	COD/NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N [mgN L <sup>-1</sup> ]	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N [mgN L <sup>-1</sup> ]	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N [mgN L <sup>-1</sup> ]	COD [mg L <sup>-1</sup> ]
Olburgen	<500	1.1	<25	<25	<25	<200
Bergen op Zoom	<500	3.7	<5	-	<10	-
Lichtenvoorde	≈500	2	≈25	<10	≈25	<250
Zurigo	700	0.9	<50	<1	<20	-
Balingen	>500	1.6	<100	<1	<50	-
Plettenberg	>500	-	<100	<5	<50	-
Amersfort	>500	-	≈150	<5	<25	-
Heidelberg	≈1000	-	<50	<5	≈50	-
Malmö	≈1000	0.7	<100	<5	<100	-
Inglostadt	≈1000	0.7	≈150	<1	<100	≈250
Nieuwegein	≈1000	0.6	≈200	<20	<100	-
Rotterdam	≈1000	15	<50	<5	<100	-
Apeldoorn	>1000	1.8	≈100	<5	≈50	<1000
Landshut	>1500	0.3	≈100	<1	≈50	-

Attualmente si contano 90 impianti a scala reale, la maggior parte situata in Europa. Anche il Nord America sta ponendo grossa attenzione sul processo. Visto il grande interesse sull'argomento, si è stimato a più di 100 il numero degli impianti a scala reale a fine 2014. Con l'impiego a scala reale, ci si sta orientando verso una tipologia impiantistica ad un solo stadio (88%) piuttosto che due, come tuttavia si era fatto agli inizi, e quindi con la fase di parziale nitrificazione e processo anammox che avvengono nello stesso reattore cambiando i parametri di processo. La maggior parte dei reattori (più del 50%) è di tipo SBR, ne è un esempio il reattore SBR di Zurigo, in funzione dal 2007 e controllato monitorando la concentrazione di ammonio; la portata d'aria invece permette il controllo della fase di nitrificazione e anammox.

Altri sistemi sono a biomassa granulare e infine reattori a letto mobile con biomassa organizzata in biofilm (MBBR). La società olandese Paques si occupa dal 2006 di progettare impianti granulari monostadio che hanno mostrato di avere i più alti carichi volumetrici. Nei Paesi Bassi invece è stato realizzato un piccolo impianto con tecnologia basata su biodischi; si contano comunque una decina di impianti a letto mobile in tutto il mondo. Non esistono invece applicazioni a scala reale che applicano

biomassa a letto fisso. Un altro modo di caratterizzare gli impianti è il modo in cui essi vengono alimentati e il modo in cui l'ossigeno viene immesso: in modo continuo o discontinuo. Per esempio, l'impianto SBR a Inglostadt in Germania, utilizza un sistema di aerazione e alimentazione entrambi in discontinuo: 6 minuti di aerazione e 9 di aerazione spenta e alimentazione accesa 4 volte su sei ore di ciclo.

In generale, liquami caratterizzati da alte concentrazioni di ammonio e basso rapporto COD/N sono quelli più adatti al trattamento anammox rispetto al trattamento di nitrificazione/denitrificazione. Infatti, poiché il refluo contiene poca sostanza organica, il trattamento convenzionale richiede notevoli quantità di sostanza organica da aggiungere.

Ad oggi le applicazioni del trattamento di alcuni reflui con i batteri anammox riguardano molteplici campi. Il processo si applica alle acque provenienti da disidratazione dei fanghi di depurazione delle acque reflue, molto concentrati in termini di azoto, e che se immesse nella linea di trattamento acque potrebbero comportare non trascurabili aumenti di carico (il 75% degli impianti che sfruttano gli anammox trattano questo tipo di refluo). In particolare, per quanto riguarda il surnatante proveniente da disidratazione dei fanghi dopo digestione anaerobica, è stato dimostrato (Strous et al. 1997) che i range di temperatura e di pH di cui generalmente sono caratterizzati, sono perfettamente compatibili con le esigenze dei batteri anammox.

Altri reflui sono i liquami derivanti da zootecnia precedentemente trattati con digestione anaerobica, ricchi di carbonio organico, azoto e fosforo con processo, il percolato da discarica caratterizzato anch'esso da grandi quantità di azoto.

Le applicazioni più interessanti e più affini al presente elaborato riguardano il trattamento dei percolati da discarica e le acque di lavorazione del pesce; esse infatti presentano bassi rapporti COD/N ma sono caratterizzate da alte concentrazioni di sali. Per quanto riguarda il percolato da discarica, esso è caratterizzato da alte concentrazioni di ammonio (superiori ai  $100 \text{ mgN L}^{-1}$ ), alte concentrazioni di BOD e presenza di metalli pesanti. Alcuni studi che testimoniano l'applicabilità del processo anammox per il trattamento del percolato sono stati già condotti, la maggior parte in Cina. Considerando un sistema a scala pilota suddiviso in tre stadi corrispondenti a parziale nitrificazione, anammox e sistema di infiltrazione del percolato trattato a scala pilota,

l'efficienza di rimozione dell'azoto totale è stata calcolata pari all'87%, mentre quella dell'ammonio del 97%. La maggior parte della rimozione è da attribuire alla fase anammox, durante la quale il 60% del nitrito è stato consumato. Un aspetto da non sottovalutare però è l'accumulo di nitrito durante la fase anammox dovuto alle alte concentrazioni in ingresso di ammonio ( $1400\text{-}2800\text{ mgN L}^{-1}$ ) che ne causa l'inibizione (Liang, Liu, 2008). Un altro tipo di configurazione che ha portato buoni risultati di rimozione dell'azoto totale è la seguente: nitrificanti, anammox e denitrificanti nello stesso reattore SBR in cui si alternano condizioni aerobiche e anaerobiche. Allo stato stazionario le tre popolazioni risultano essere "sincronizzate" per la rimozione dell'azoto totale con un rateo di rimozione di  $0.65\text{ kgNH}_4^+\text{-N kg}^{-1}\text{ d}^{-1}$  (Xu et al., 2010). Anche Rusalleda et al., 2010 hanno studiato l'applicabilità del processo anammox, in concomitanza con quello eterotrofo, su percolato e in particolare hanno utilizzato due reflui con conducibilità l'uno maggiore del 67% rispetto all'altro. Si è registrato un calo nell'attività specifica nel passare da percolato a  $10\text{ mS cm}^{-1}$  a  $17\text{ mS cm}^{-1}$  con un tempo di recupero di 60 giorni. In generale, in letteratura si parla di alti livelli di rimozione di ammonio e nitrito in condizioni saline: 87 % e 75% rispettivamente (Zhang e Zhou, 2006 ) e 93% come azoto totale (Liu et al., 2009).

Un'altra applicazione interessante riguarda le acque industriali, soprattutto quelle di lavorazione del pesce. Uno studio è stato condotto da Dapena-Mora, 2006 su acque reflue della Galizia, in Spagna, caratterizzate da un alto contenuto salino ( $19\text{ gCl}^{-1}\text{ L}^{-1}$  e  $12\text{ gNa}^{+}\text{ L}^{-1}$  circa). I batteri anammox sono stati sottoposti a concentrazioni di  $10\text{ gNaCl L}^{-1}$  mostrando notevole stabilità fino a concentrazioni in uscita di  $200\text{ mgNO}_2\text{-N L}^{-1}$  e rimozioni medie di azoto totale del 67%. Altri studi in merito sono stati condotti e si sono ottenuti adattamenti a concentrazioni di sali dai 5 ai  $10\text{ gNaCl L}^{-1}$  (Fernandez et al., 2008).



## **2. IL DIGESTATO DA FORSU**

### **2.1 Che cos'è la FORSU**

Secondo il decreto italiano D.Lgs 152/2006 che recepisce la normativa europea 2008/98/CE in termini di rifiuti, la definizione di rifiuto organico è la seguente: *rifiuti biodegradabili di giardini e parchi, rifiuti alimentari e di cucina prodotti da nuclei domestici, ristoranti, servizi di ristorazione e punti vendita al dettaglio e rifiuti simili prodotti dall'industria alimentare raccolti in modo differenziato. (art. 183 definizioni, comma 1, let. d).*

La FORSU è la frazione organica dei rifiuti solidi urbani; comprende cioè tutti i rifiuti organici separati attraverso la raccolta differenziata. Sebbene non sia possibile considerare le sue caratteristiche costanti, la FORSU è notoriamente caratterizzata da elevati valori di umidità, circa 70-80% e di putrescibilità.

La separazione della FORSU con la raccolta differenziata contribuisce alla riduzione della frazione dei rifiuti smaltiti in modo indifferenziato. Sono disponibili oggi, infatti, diversi sistemi di degradazione della FORSU che apportano benefici sia all'ambiente che all'uomo. Alcuni di questi trattamenti, sono in grado di produrre per esempio gas metano attraverso la digestione anaerobica oppure compost per la fertilizzazione dei terreni agricoli.

### **2.2 Stato dell'arte in Europa e in Italia**

Nel 2012, l'Europa ha prodotto 246,8 milioni di tonnellate di rifiuti solidi urbani (RSU), il 2,4% in meno rispetto al 2011, confermando il trend di diminuzione degli anni precedenti e le cui cause sono tuttora da accertare. La composizione merceologica dei rifiuti prodotti è molto variabile tuttavia si può facilmente distinguere la frazione organica (FORSU) la cui produzione varia tra le 118 e 135 tonnellate all'anno.

Fino al 2010 sono stati censiti in Europa 244 impianti che trattano per la maggior parte unicamente FORSU, la restante parte tratta invece FORSU in co-digestione, per una capacità di trattamento maggiore di 7,75 milioni di tonnellate all'anno, il 5% dei rifiuti biodegradabili prodotti. Il 33% degli impianti si trova in Germania, Spagna, Svizzera e Italia.

Per quanto riguarda la situazione italiana, nel 2013 la produzione di rifiuti urbani si attesta a valori inferiori a 30 milioni di tonnellate con una diminuzione del 1,3% rispetto al 2012, come mostrato in Figura 2.1, dato in linea con il trend europeo degli stessi anni. 5,2 milioni di tonnellate di rifiuti organici sono stati raccolti attraverso la raccolta differenziata nel 2013, pari al 42% sul totale, con un aumento del 8.5% rispetto al 2012.

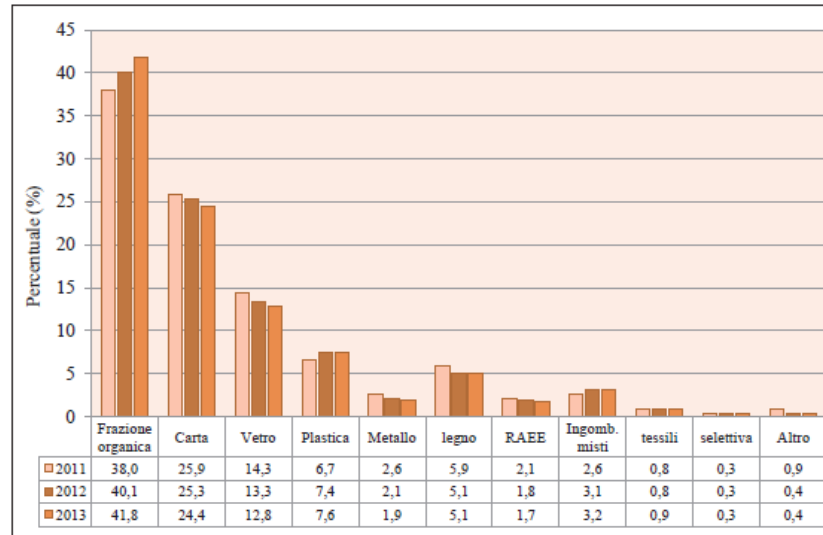


Figura 2.1 Ripartizione percentuale della raccolta differenziati in Italia negli anni 2011, 2012 e 2013

Il Nord risulta la macroarea più virtuosa, con 3 milioni di tonnellate di rifiuti organici raccolti, seguito dal Sud e Centro con 1,3 milioni e poco meno di un milione di tonnellate rispettivamente.

La Lombardia è la regione con la maggiore quantità di rifiuti differenziati raccolti e 1 milione di tonnellate di FORSU raccolto nel 2013.

La quantità di rifiuti trattata con digestione anaerobica nel 2013 è pari a circa un milione di tonnellate, di cui 527.00 tonnellate proveniente da raccolta differenziata, come mostrato in Figura 2.2. Nonostante la quantità complessiva di rifiuti trattati sia aumentata, i rifiuti organici proveniente da raccolta differenziata sono leggermente diminuiti rispetto al 2012 ma restano la frazione preponderante (50,5%) tra le diverse tipologie di rifiuti trattati (fanghi, rifiuti da agroindustria). L'obiettivo è quello di ridurre il quantitativo di rifiuti biodegradabili smaltiti in discarica al 35% di quelli prodotti nel 1995 entro il 2016 (Direttiva 199/31/CE).

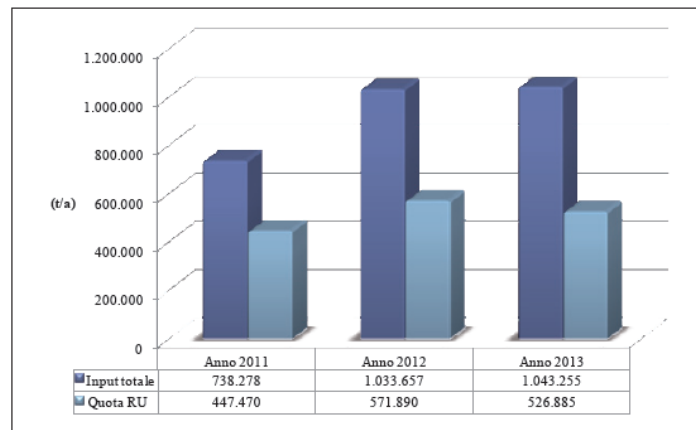


Figura 2.2 Frazione dei rifiuti urbani sul totale negli anni 2011, 2012 e 2013

La presenza di impianti di digestione anaerobica della FORSU su territorio italiano è di 50 unità censite di cui 43 operative così ripartite: 86% al Nord, 2,3% al Centro e 11,6% al Sud. Le caratteristiche di alcuni di questi impianti sono riassunte nella Tabella 2.1 sottostante.

In Europa, le forme di gestione dei RSU sono: riciclo, il trattamento biologico ( in cui, nello studio effettuato da Eurostat, rientra anche il trattamento anaerobico), incenerimento e discarica. Le nuove norme europee di tutela ambientale impongono una maggiore attenzione alle problematiche legate allo smaltimento dei rifiuti, in particolare allo smaltimento in discarica, di cui fino a qualche decennio fa si faceva largo uso. In quest'ottica rientra un maggiore utilizzo di tecniche a minor impatto ambientale come il riciclo, il riuso e il compostaggio per la frazione biodegradabile. Nel 2012 circa 35,5 milioni di tonnellate di RU sono state smaltite con compostaggio.

Tabella 2.1 Caratteristiche di alcuni impianti che trattano la FORSU su territorio italiano

<i>Località</i>	<i>Anno di avviamento</i>	<i>Temperatura processo</i>	<i>Potenzialità [ton anno<sup>-1</sup>]</i>	<i>Matrici trattate</i>	<i>Tecnologia</i>	<i>Separazione S/L</i>
<i>Albairate (MI)</i>	2013	-	70.000	FORSU verde	-	-
<i>Bassano del Grappa (VI)</i>	2003	mesofilia	66.300	FORSU verde fanghi	dry	Centrifuga pressatura
<i>Camposampiero (PD)</i>	2005	termofilia	53.500	FORSU fanghi liquami	wet	centrifuga
<i>Castelleone (CR)</i>	2010	mesofilia	100.000	FORSU liquami	wet	-
<i>Cesena</i>	2001	mesofilia	40.000	FORSU	dry	-
<i>Este (PD)</i>	-	mesofilia	116.000	Frazione liquida FORSU	wet	centrifuga
<i>Lana (BZ)</i>	2006	mesofilia	15.000	FORSU	wet	centrifuga
<i>Lozzo Atestino (PD)</i>	1998	mesofilia	73.000	Frazione liquida FORSU	wet	-
<i>Maccarese (RM)</i>	2003	-	23.320	FORSU verde	-	-
<i>Montello (BG)</i>	2008	termofilia	285.000	FORSU	wet	-
<i>Pinerolo (TO)</i>	2003	termofilia	90.000	FORSU	Semi-dry	nastropressa
<i>Treviso</i>	2000	mesofilia	3.000	FORSU fanghi	wet	-
<i>Villacidro (CA)</i>	2004	mesofilia	55.000	FORSU fanghi	wet	-
<i>Voghera (PV)</i>	-	mesofilia	30.000	FORSU fanghi	wet	-
<i>Zinasco (PV)</i>	-	termofilia	25.000	FORSU	-	Centrifuga

### 2.3 Filiera di trattamento della FORSU

La digestione anaerobica della FORSU è un trattamento biologico mirato ad ottenere la stabilizzazione del materiale altrimenti troppo putrescibile, garantendo contestualmente un recupero energetico attraverso la produzione di biogas (metano) e un recupero di materiale grazie alla produzione di compost. La Figura 2.3 mostra un esempio di un impianto di trattamento della FORSU con digestione anaerobica.

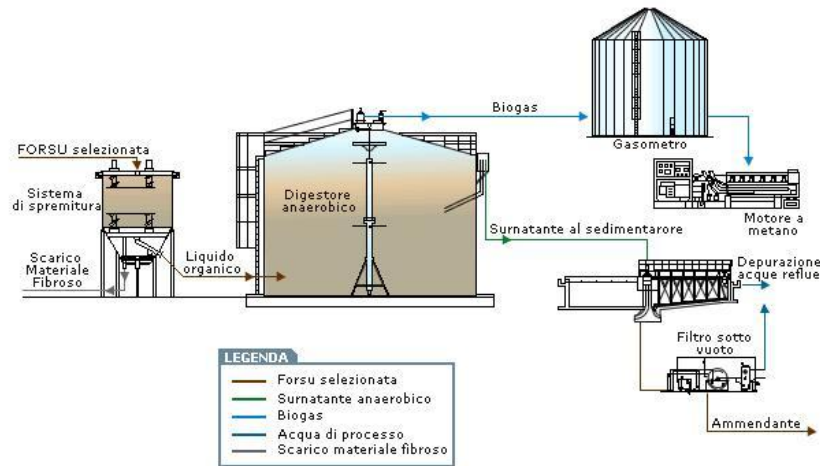


Figura 2.3 Esempio di schema di impianto di digestione anaerobica della FORSU

La digestione anaerobica applicata alla FORSU può essere di due tipi: a secco e a umido. La differenza nei due processi risiede nel contenuto di acqua presente nel rifiuto durante la digestione. Nella digestione a secco (dry) il contenuto di solidi totali è maggiore del 20%, il contenuto di solidi totali nei processi a umido (wet), invece, è minore del 10%.

- Il processo ad umido prevede una fase di pretrattamento del rifiuto in cui vengono allontanati plastica e inerti; successivamente la triturazione del rifiuto e la miscelazione con opportune quantità di acqua di rete o di processo, garantiscono l'omogeneità del rifiuto da digerire. A digestione completata, attraverso una fase di disidratazione, la frazione liquida viene allontanata da quella solida e mandata a trattamento. La frazione solida viene, invece, mandata a compostaggio: si tratta di un'ulteriore degradazione, di tipo aerobico, condotta ad alte temperature.

- Il processo a secco si svolge in maniera analoga al processo ad umido, fatta eccezione per la quantità di acqua miscelata e per pezzatura del rifiuto tritato, più fine nel processo a secco.

Il processo di digestione viene utilizzato per la stabilizzazione dei rifiuti e per il recupero energetico attraverso la produzione di biogas e di compost.

- Il digestato: è considerato un rifiuto speciale (DLgs 152/2006) e pertanto necessita di alcune fasi di affinamento prima di essere utilizzato. Le possibili destinazioni del digestato sono: smaltimento in discarica previa disidratazione, trasformazione in combustibile dopo essiccamento, valorizzazione in agricoltura dopo stabilizzazione. La destinazione finale dipende dalle sue caratteristiche chimico-fisiche: generalmente contiene la sostanza organica non degradata anaerobicamente a causa dell'insufficiente tempo di residenza dei rifiuti nel reattore. Le caratteristiche chimico-fisiche del digestato dipendono in larga parte dalle caratteristiche del rifiuto in ingresso. Generalmente la frazione solida contiene alte quantità di azoto ammoniacale che non lo rendono adatto al diretto utilizzo come ammendante; per questo viene sottoposto ad un processo di stabilizzazione aerobica: il compostaggio. Durante questo processo i batteri in condizioni aerobiche, utilizzano la sostanza organica come substrato per la crescita producendo CO<sub>2</sub>, acqua e sali minerali; il processo avviene a temperature di circa 60-70°C che consentono anche una buona igienizzazione del prodotto finale.

- La frazione umida: dalla separazione solido/liquido successiva alla degradazione anaerobica, si ottiene un surnatante (contenuto di sostanza secca minore del 5%) generalmente caratterizzato da alte quantità di azoto ammoniacale, sostanza organica parzialmente stabilizzata e sali.

Se le caratteristiche del surnatante sono idonee, può essere utilizzato in campo agricolo per la fertirrigazione altrimenti è necessario provvedere ad un corretto smaltimento: nel caso di impianto di trattamento misto FORSU-fanghi, il surnatante può essere inviato in testa alla linea acque e depurato per via biologica.

- Il biogas: il gas che si produce durante la digestione anaerobica è costituito prevalentemente da metano e anidride carbonica, in percentuale variabile in funzione delle condizioni di processo e delle caratteristiche della FORSU. In generale, si può assumere come potenziale di biometanazione il valore di  $0,3 \text{ Nm}_{\text{CH}_4}^3 \text{ kg}_{\text{CODdegradato}}^{-1}$ .

Il biogas prodotto, dopo upgrading, può essere utilizzato in impianti di cogenerazione per la produzione di calore e di elettricità, in caldaie oppure per la produzione di biometano.

Nonostante la digestione anaerobica della FORSU sia attualmente una delle migliori soluzioni di smaltimento, essa è caratterizzata da alcune criticità. Tra queste vanno annoverati i pre-trattamenti cui il materiale deve essere sottoposto prima di essere trattato al fine di rimuovere plastiche e inerti in esse presenti; i pre-trattamenti, il trasporto e lo stoccaggio, sono soggetti a esalazione di odori dovuti alla presenza nei rifiuti di sostanze organiche volatili; ne consegue che l'aria estratta deve essere opportunamente trattata prima di essere immessa in atmosfera. I problemi più rilevanti del trattamento anaerobico riguardano principalmente la gestione del digestato, soprattutto per i processi ad umido.

La frazione liquida del digestato proveniente dalla degradazione anaerobica della FORSU è caratterizzata da alte concentrazioni di ammonio e sostanza organica. Date le sue caratteristiche, il metodo più utilizzato per il trattamento è la nitrificazione/denitrificazione insieme alle acque reflue di origine civile. Attualmente si sta pensando ad un metodo di trattamento più efficiente, economicamente più sostenibile e meno impattante dal punto di vista ambientale: il processo di parziale nitrificazione e anammox. Con questo processo è caratterizzato da un notevole risparmio di energia rispetto alla convenzionale nitrificazione/denitrificazione in termini di ossigeno da insufflare e di sostanza organica da aggiungere.

#### ***2.4 Digestione anaerobica***

La digestione anaerobica è un trattamento biologico utilizzato per stabilizzare la sostanza organica putrescibile presente in alcuni rifiuti o sottoprodotti. Le sue applicazioni più importanti sono state sviluppate nell'ambito del trattamento delle acque

reflue e in particolare nella stabilizzazione dei fanghi di supero e della digestione della frazione organica dei rifiuti solidi ma sono molto sviluppate anche in ambito agricolo ed agro-industriale ad esempio per la digestione dei reflui zootecnici.

La digestione anaerobica si compone di quattro diverse fasi che si susseguono in serie ognuna delle quali operata da diversi batteri ed è quindi caratterizzata da diversi intervalli ottimali per i parametri di processo. La Figura 2.4 mostra le diverse fasi in cui la digestione anaerobica è suddivisa.

- idrolisi: durante questa prima fase le macromolecole come lipidi e proteine vengono degradati a monomeri solubili e quindi in grado di essere assimilati; il pH ottimale è compreso tra 5 e 6;
- acidogenesi: è la fase in cui i prodotti dell'idrolisi vengono trasformati in intermedi acidi, gli acidi grassi volatili; il pH si abbassa;
- acetogenesi: durante questa fase gli acidi grassi volatili precedentemente prodotti vengono trasformati in acido acetico che verrà poi convertito in metano; viene rilasciato idrogeno che può essere inibente per i batteri metanigeni della fase successiva e per gli stessi batteri fermentativi;
- metanogenesi: consiste nella produzione di biogas costituito prevalentemente da metano e anidride carbonica in percentuali di circa 70 % e 30% rispettivamente. La crescita dei batteri metanigeni è la più lenta. È indispensabile che l'intero processo sia calibrato sulla velocità di crescita dei metanigeni anche perché alcuni prodotti delle reazioni precedenti sono inibenti per questi batteri; infatti se la velocità delle reazioni fermentative fosse maggiore, gli inibenti si accumulerebbero e causerebbero l'arresto di questa fase.



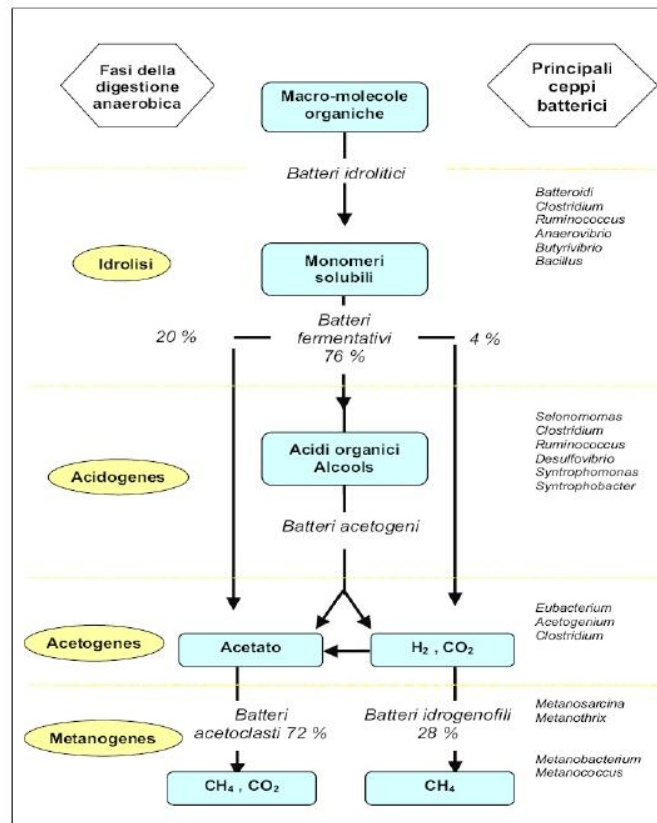


Figura 2.4 Schema riassuntivo delle fasi della digestione anaerobica

Per aumentare l'efficienza del processo è possibile separare in due reattori le fasi fermentative di idrolisi e acidogenesi da quelle di acetogenesi e metanogenesi. La separazione è effettuata per garantire condizioni di processo ottimali a tutte le fasi; infatti mentre le prime due sono favorite da pH acidi, le ultime lo sono a pH più alti, superiori al 6. In questo modo è inoltre possibile differenziare le temperature di processo: in genere la prima parte avviene a temperature termofile, la seconda a temperature termofile o mesofile.

Il processo avviene mediante l'utilizzo di batteri strettamente anaerobi, cioè che non sono in grado di lavorare in condizioni aerobiche oppure di batteri anaerobi facoltativi. Poiché i batteri governano il processo è fondamentale che le condizioni che si sviluppano all'interno di reattori opportunamente coibentati siano le più favorevoli alla loro crescita. Alcuni parametri da tenere sotto controllo sono perciò:

- temperatura: diversi ceppi batterici lavorano a diversi range di temperatura; condizioni psicrofile si hanno per temperature comprese tra 10 e 15 °C, condizioni

mesofile tra 15 e 45°C e termofile tra 45 e 65°C. All'aumentare della temperatura la velocità del metabolismo batterico aumenta tuttavia aumenta anche l'energia necessaria a mantenere la temperatura costante;

- pH: è un parametro da monitorare perché sovraccarichi potrebbero portare un rapido accumulo di acidi grassi volatili e a un crollo repentino del pH; un parametro utile da tenere sotto controllo è dunque anche il FOS/TAC ovvero il rapporto tra Acidi Grassi Volatili (come mg L<sup>-1</sup> di acido acetico equivalente) ed alcalinità (come mg L<sup>-1</sup> di CaCO<sub>3</sub> equivalente)
- fabbisogno di nutrienti: perché i batteri possano crescere è necessario che essi abbiano a disposizione macronutrienti come azoto, fosforo, potassio e zolfo e micronutrienti, come i metalli in traccia quali ferro, zinco, rame e altri.

### ***2.5 Descrizione degli impianti e caratteristiche della FORSU***

La frazione liquida del digestato da FORSU su cui è stata condotta la sperimentazione, proviene da diversi impianti di trattamento situati nelle zone limitrofe di Milano. Poiché la filiera di trattamento di ogni impianto influenza le caratteristiche del refluo che è stato sottoposto alla sperimentazione, è necessario conoscere le tecnologie del trattamento della FORSU. Di seguito sono riportate le caratteristiche degli impianti da cui provengono i campioni utilizzati.

- Impianto1: presenta una fase di pretrattamento del rifiuto: tritura sacchi, deferrizzazione e idropulper con diluizione con acqua in rapporto 1:1. Segue la fase di digestione in termofilia. La depurazione avviene previo allontanamento di materiale grossolano precipitato e materiale flottante. A queste fasi seguono una fase di pre-denitrificazione e nitrificazione divisa su due linee; infine la fase di post-denitrificazione con aggiunta di glucosio o acetato. Segue una fase di flottazione finale. A valle della flottazione si effettua la separazione solido/liquido con centrifuga da cui la frazione solida viene inviata a compostaggio e la parte liquida inviata a trattamento.
- Impianto2: l'ingresso è costituito da 20% di FORSU e il restante 80% da fanghi. Il refluo è trattato con il processo di nitrificazione/denitrificazione in due digestori che operano in condizioni di mesofilia.

- Impianto3: prevede un pretrattamento della FORSU prima della fase di digestione costituito da un pulper che miscela la FORSU con acqua di ricircolo proveniente dalla sedimentazione dell'impianto di trattamento delle acque reflue adiacente. In seguito, il refluo passa alla fase di digestione mesofila e successivamente la fase liquida viene separata dalla fase solida attraverso un sistema di nastropresse, durante le quali viene dosato un polielettrolita.
- Impianto4: la fase di pretrattamento è costituita dalla separazione della plastica e da spremitori che triturano i rifiuti e ne aumentano l'umidità attraverso l'aggiunta di refluo ricircolato dalla separazione solido/liquido finale. Segue una vasca per l'allontanamento dei materiali pesanti e successivamente il digestore anaerobico termofilo. Infine un sistema di centrifughe separa la frazione liquida dalla frazione solida. Mentre la frazione solida viene inviata a compostaggio, la frazione liquida viene trattata in loco: prima un trattamento di nitrificazione e post-denitrificazione in SBR e infine una vasca di evaporazione da cui evapora l'acqua che, una volta condensata, viene scaricata in corpo idrico. La frazione non evaporata, poiché precedentemente acidificata per evitare l'evaporazione dell'ammoniaca, viene trattata come rifiuto speciale.

Tabella 2.2 Caratteristiche degli impianti campionati

	<i>HRT [d]</i>	<i>Ricircolo</i>	<i>Materiale trattato</i>	<i>Temperatura di processo [°C]</i>
IMPIANTO 1	20	No	FORSU	57
IMPIANTO 2	7	No	FORSU+fanghi	35
IMPIANTO 3a	30	No	FORSU+fanghi	40
IMPIANTO 3b	30	No	FORSU	40
IMPIANTO 3c	30	No	FORSU	40
IMPIANTO 4a	60	Si	FORSU	60
IMPIANTO 4b	60	Si	FORSU	60

La Tabella 2.2 riassume altre caratteristiche degli impianti da cui sono stati prelevati i campioni. Gli impianti che compaiono più di una volta (numerati con le lettere progressive a, b, c), sono stati campionati più volte e la sperimentazione è stata quindi ripetuta per ogni campionamento.

### 3. MATERIALI E METODI

Nel presente capitolo vengono descritte le metodiche analitiche, la modalità di conduzione delle prove in batch e di quelle in continuo condotte per valutare la trattabilità anammox del digestato da FORSU.

#### 3.1 Metodi analitici

I parametri che sono stati investigati durante tutta la sperimentazione sono molteplici: le forme azotate ( $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ ), il COD, i solidi totali e volatili, conducibilità e pH, i metalli presenti nei reflui trattati.

L'analisi delle forme azotate e del COD è stata effettuata utilizzando test in kit (Hach Lange GmbH, Dusseldorf, Germany) con misura su spettrofotometro (Lange Xion 500).

La procedura di analisi prevede innanzitutto una filtrazione a  $0.45 \mu\text{m}$  del campione da analizzare e successivamente una diluizione con acqua ultrapura. La misura infatti deve ricadere nel range di rilevabilità del kit. Effettuata la diluizione, si attende il tempo di reazione che dipende dall'analisi che si sta facendo: dai 10 minuti per il nitrito ai circa 30 min del COD il quale necessita di un passaggio preliminare alla lettura che consiste nella digestione del campione a  $150^\circ\text{C}$ .

Il test del nitrato è sensibile alla presenza di azoto nitroso per cui è necessario, una volta effettuata la diluizione, aggiungere acido sulfammico che reagisce con il nitrito presente e lo riduce a  $\text{N}_2$ .

La misura del pH e della conducibilità sono state effettuate attraverso un pHmetro e un conduttivimetro (WTW, Multi 3420 SET C, Germany).

L'analisi dei metalli presenti nei reflui trattati è stata condotta secondo la metodica UNI EN ISO 17294-1 2007 e 17294-2 2005; l'analisi dei fosfati e solfati attraverso la metodica APAT IRSA CNR 4020 Man 29/2003, i cloruri con la metodica ISO 10304-1, 1999.

L'analisi dei solidi totali e volatili è stata effettuata a partire da un volume noto di campione che è stato successivamente filtrato con un filtro in fibra di vetro al fine di separare la frazione liquida dalla frazione solida. La filtrazione avviene attraverso un sistema di filtrazione sottovuoto. I filtri utilizzati per la filtrazione vengono precedentemente essiccati in stufa per 24 ore.

I solidi ottenuti dalla filtrazione vengono messi in stufa a 105°C per 24 ore per far evaporare l'acqua. Il residuo che si ottiene viene pesato e si ricava così il peso dei solidi totali. La Figura 3.4a mostra la biomassa separata con la filtrazione con sistema sottovuoto, mentre la Figura 3.4b mostra i solidi totali ottenuti dopo il passaggio in stufa. Dopo la pesatura, i solidi vengono messi in muffola a 550°C per 2 ore al termine delle quali i campioni vengono nuovamente pesati al fine di ricavare il valore di solidi sospesi volatili SSV. Dalla pesatura dopo l'essiccazione in muffola, si ottiene il valore dei solidi non volatili poiché i volatili, a 550°C evaporano. Per differenza si trova il valore di solidi volatili. Noto, infine, il valore iniziale del volume filtrato, si possono ricavare le rispettive concentrazioni.

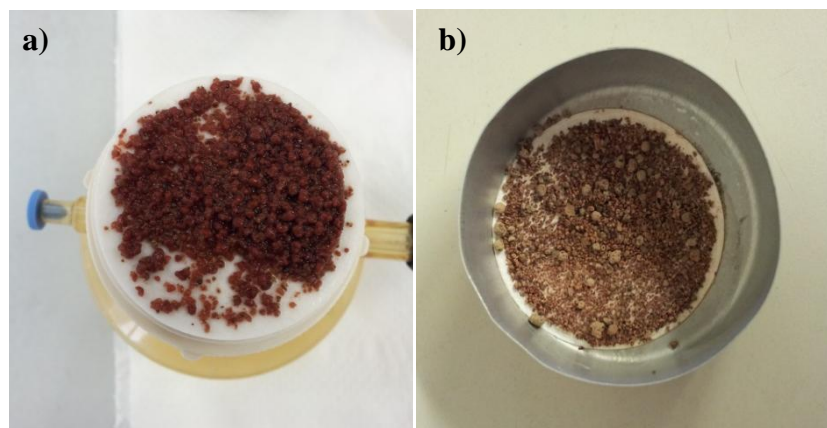


Figura 3.1 Biomassa anammox wet (a) e dopo il passaggio in stufa a 105°C (b)

L'analisi dei solidi si effettua per le prove manometriche per poter risalire all'attività specifica massima ( $\text{mgN}_2\text{-N gSSV}^{-1} \text{d}^{-1}$ ) a partire dall'attività volumetrica ( $\text{mgN}_2\text{-N L}^{-1} \text{d}^{-1}$ ). L'analisi dei solidi durante la fase di gestione del reattore serve per il calcolo del valore dell'SRT (Sludge Residence Time), definito in seguito.

#### **3.2 Prove batch di misura dell'attività anammox**

Queste prove consistono nel mettere a contatto una nota quantità di refluo da trattare con una nota quantità di batteri anammox al fine di valutarne l'attività massima sulla base dell'azoto prodotto.

##### **3.2.1 L'inoculo utilizzato**

La biomassa utilizzata per le prove è costituita da batteri anammox aggregati in granuli. La biomassa utilizzata proviene da Rotterdam, da un impianto di trattamento

delle acque reflue. Il reattore da cui sono stati prelevati i granuli, tratta un refluo già parzialmente nitrificato in un reattore SHARON. La maggior parte dei batteri nell'impianto appartiene alla specie dei *Brocadia* (van der Star et al., 2007). Per le prove manometriche sono stati utilizzati batteri campionati in momenti diversi: Maggio e Novembre 2014 e un'ultima prova si è svolta su un campione di biomassa di Febbraio 2015. Quando la biomassa arriva in laboratorio viene stoccata all'interno di una tanica contenente il refluo trattato nell'impianto di origine.

### 3.2.2 Descrizione del metodo della prova

Le prove in batch sono state svolte con procedura manometrica in cui la misura della produzione di  $N_2$  da parte dei batteri è valutata a partire dalla sovrappressione che lo sviluppo del gas induce all'interno di una bottiglia chiusa. La prova si svolge attraverso l'utilizzo di bottiglie codate chiuse ermeticamente, una delle quali mostrata in Figura 3.2. Le estremità di ogni bottiglia vengono chiuse attraverso dei setti in gomma



Figura 3.2 Una delle bottiglie usate durante le prove manometriche

che garantiscono la tenuta ma possono essere forati da aghi per permettere le iniezioni di ammonio e nitrito. La parte superiore, invece, viene chiusa con una testa manometrica (Oxitor, WTW, Weilheim, Germany) che misura la sovrappressione che si crea nel tempo. Perché le bottiglie possano essere mantenute ad una temperatura costante e ben miscelate, vengono poste all'interno di un termostato-aggitatore di cui si fissa la temperatura e la velocità di movimento.

Ogni prova si costituisce di diverse bottiglie in cui il refluo da trattare viene messo a contatto con la biomassa. Il refluo in genere è costituito da refluo tal quale, refluo diluito 1:2 e soluzione madre cioè una soluzione salina ottimale per i batteri anammox. I composti e le soluzioni da usare per ottenere la soluzione madre sono descritti in Tabella 3.1. Le prove vengono condotte in doppio.

Il separato liquido ottenuto dai vari impianti di digestione della FORSU, viene pretrattato prima di essere messo a contatto con la biomassa. Innanzitutto è prevista una fase di filtrazione sottovuoto con filtro in carta per eliminare le frazioni più grossolane.

Successivamente, una parte del refluo filtrato è diluita con acqua deionizzata, in rapporto 1:2; a questo punto, si aggiungono nitrato e carbonio inorganico per portarli ad una concentrazione finale di  $100 \text{ mgNO}_3\text{-N L}^{-1}$  e  $100 \text{ mgNaHCO}_3 \text{ L}^{-1}$ . Anche nella soluzione madre, precedentemente preparata vengono aggiunti nitrato e carbonio inorganico. L'aggiunta del nitrato serve ad evitare la formazione di solfuri che si può verificare quando il nitrato è completamente consumato. Il consumo di nitrato è associato all'attività dei batteri eterotrofi. Il carbonio inorganico, viene aggiunto per evitare eventuali limitazioni, infatti il carbonio inorganico è uno dei substrati del metabolismo anammox.

Dopo aver deciso la quantità di biomassa da impiegare nella prova, dai 3 ai 6 g di peso bagnato (WW), di cui 7% circa di solidi totali (SST) e 5% di solidi volatili (SSV), la biomassa viene pesata e unita alla frazione liquida in modo tale che il volume complessivo sia di 200 mL. Conclusa questa operazione, si garantiscono le condizioni anossiche attraverso il flussaggio con pietre porose della frazione liquida e dello spazio di testa di un gas costituito da  $\text{N}_2$  (95%) e  $\text{CO}_2$  (5%). Una volta strappato l'ossigeno dalla frazione liquida, le bottiglie vengono sigillate e viene insufflato il gas attraverso un sistema di tubi e aghi che vengono inseriti nei setti posti nei colli laterali delle bottiglie. Per evitare che si crei una sovrappressione all'interno della bottiglia, ad essa viene collegato un sistema di sfato, costituito anch'esso da aghi e tubi posti sotto battente. Concluse le operazioni di flussaggio, le bottiglie vengono posizionate all'interno del termostato e si attende che la temperatura del refluo e dello spazio di testa si assestino a  $35^\circ\text{C}$ . In questa fase si genera una sovrappressione in conseguenza all'espansione del gas causata dall'aumento della temperatura e dallo sviluppo della tensione di vapore. Passate le due ore, per ogni bottiglia, si effettua un'iniezione (spike) di 1 mL di soluzione concentrata contenente  $50 \text{ mgN L}^{-1}$  come nitrito,  $50 \text{ mgN L}^{-1}$  come ammonio e  $22.7 \text{ mgHCO}_3^- \text{ L}^{-1}$  come bicarbonato di sodio; il rapporto stechiometrico tra nitrito e ammonio è pari a 1, inferiore a quello stechiometrico di 1:1.32 in modo da poter operare in condizioni di limitazioni da nitrito.

Dopo 24 ore, vengono scaricati i dati di pressione e, se da questi si deduce che il nitrito è stato tutto consumato, si ripete l'iniezione e si riavvia la prova per altre 24 ore; la procedura si ripete finché non si hanno dati sufficienti per descrivere un trend di consumo del nitrito in presenza del refluo preso in considerazione. Se 24 ore non sono

state sufficienti per consumare il nitrito iniettato si fa proseguire la prova per altre 24 ore senza fare altri spike. Questa situazione può verificarsi per le bottiglie in cui la biomassa è esposta al refluo. Il consumo di nitrito viene valutato attraverso l'osservazione dei dati restituiti dalle singole teste e confrontati con il dato di pressione restituito dai bianchi. Complessivamente ogni prova dura dai 5 ai 7 giorni.

### 3.2.3 Elaborazione dei dati

Per ogni prova manometrica, si ottengono i valori di pressione dovuti alla produzione di azoto gassoso  $N_2$  durante l'attività anammox. Nell'ipotesi che tutto il gas prodotto sia azoto, conoscendo le concentrazioni di nitrito e ammonio iniettati per ogni spike nelle singole bottiglie, è possibile ricavare l'attività specifica massima (SAA) della biomassa. I dati di pressione ottenuti ogni giorno, vengono inseriti all'interno di un foglio di calcolo da cui si ricavano le informazioni utili all'elaborazione, come di seguito descritto.

Mettendo su un grafico la pressione prodotta in funzione del tempo di contatto si ottiene una curva come quella rappresentata in Figura 3.3, in cui le linee verticali tratteggiate separano diverse fasi della prova e da cui è possibile estrapolare diverse informazioni:

- il primo tratto completamente piatto durante il quale nessuna attività è presente; si riconosce un salto di pressione che corrisponde al momento in cui viene effettuata l'iniezione;
- il secondo tratto rettilineo che identifica la produzione di azoto costante nel tempo ad opera dei batteri anammox e che si protrae fino al ginocchio della curva, punto in cui il nitrito iniettato è stato tutto consumato;
- il terzo tratto, rettilineo anch'esso ma con una pendenza molto minore rispetto al secondo. La diversità tra primo e secondo tratto è dovuta ad una diversa attività dei batteri: nell'ultima parte della curva la variazione di pressione registrata è dovuta all'attività dei denitrificanti che utilizzano il nitrato prodotto dalla reazione anammox per produrre azoto.

Per poter ricavare la produzione di azoto effettivamente attribuibile al processo anammox è necessario sottrarre la sovrappressione dovuta all'attività denitrificante ottenendo così una curva di pressione, piatta nell'ultimo tratto. Infatti, l'attività



eterotrofa denitrificante si verifica durante tutta la prova per cui, ciò che si osserva è in effetti la somma dell'attività anammox e di quella eterotrofa. Questo aspetto viene considerato nei calcoli e di conseguenza l'attività eterotrofa viene sottratta. Inoltre viene sottratta, qualora fosse presente, anche l'attività registrata prima dello spike così da ottenere solo i dati riconducibili all'attività anammox.

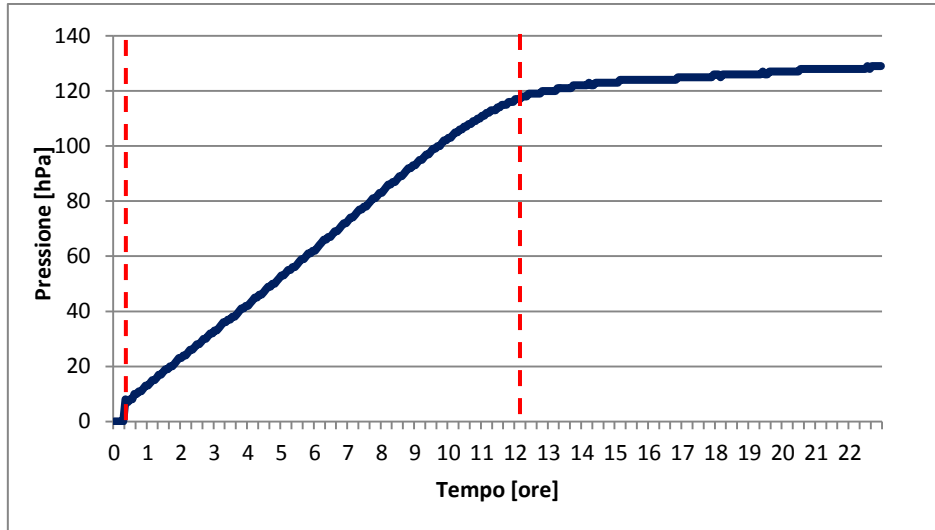


Figura 3.3 Grafico della pressione ottenuta con prova manometrica in funzione del tempo

Nota la pressione prodotta in funzione del tempo, e nell'ipotesi che tutto il gas prodotto sia azoto, è possibile ricavare il numero di moli di  $N_2$  prodotte attraverso la legge dei gas perfetti:

$$PV = nRT$$

Dove:

P è il valore di pressione misurato dalla testa manometrica (atm),

V è il volume dello spazio di testa (L),

n è il numero di moli di  $N_2$  prodotto nello spazio di testa,

R è la costante universale dei gas perfetti ed è pari a  $0.0821 \text{ L atm K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ ,

T è la temperatura (K).

Invertendo la formula sopra esposta si ricava il numero di moli  $n$  di  $N_2$  prodotte

$$n = \frac{PV}{RT}$$

Noto il tempo necessario per la produzione delle moli, è possibile ricavare il rateo di produzione misurato in  $\text{mmolNO}_2\text{-N min}^{-1}$ .

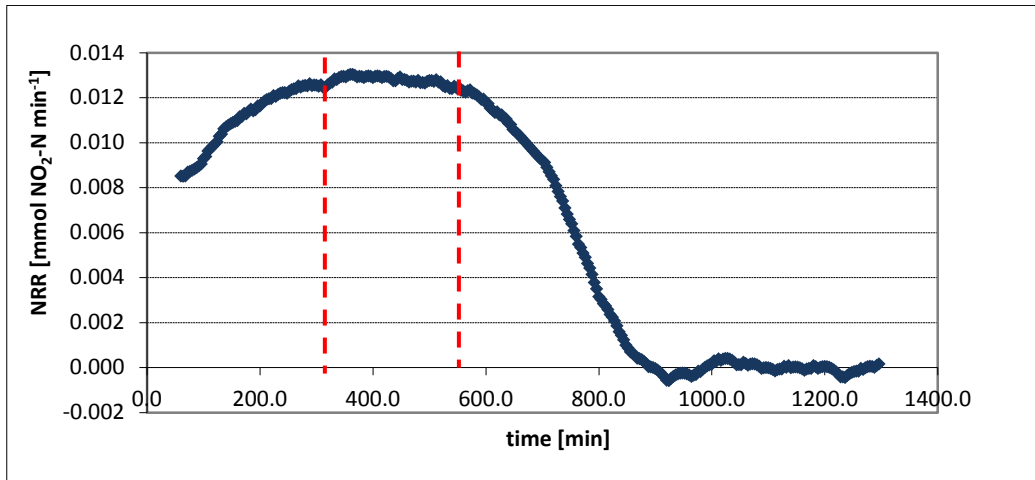


Figura 3.4 Grafico del rateo di rimozione in funzione del tempo

La Figura 3.4 mostra l'andamento del rateo calcolato nel tempo e rispecchia l'andamento riportato in Figura 3.3: nel primo tratto il rateo di produzione aumenta, poi si stabilisce su un valore costante (plateau della curva) che corrisponde al tratto rettilineo nella produzione di pressione (secondo tratto); il terzo tratto è invece caratterizzato da una diminuzione del rateo che si annulla in corrispondenza dell'assenza di produzione di  $\text{N}_2$  (dal ginocchio della curva di pressione in poi). La produzione massima si calcola sulla base del valore medio dei punti che formano il plateau.

Dal valore di produzione massimo, nota la quantità di solidi sospesi volatili (SSV) per ogni bottiglia, si può così calcolare l'attività massima specifica, misurata in  $\text{gN}_2\text{-N gSSV}^{-1} \text{d}^{-1}$ .

Per valutare la bontà dei dati di pressione ottenuti durante la prova manometrica, si valuta la differenza tra la pressione teoricamente ottenibile nello spazio di testa e quella effettivamente misurata. La pressione teorica si calcola con la legge dei gas perfetti, sopra descritta, a partire dal volume dello spazio di testa. Il volume dello spazio di testa viene calcolato come differenza tra il volume totale della bottiglia e il volume della frazione liquida che aumenta di 1 mL per ogni spike effettuato. La pressione effettiva

invece, è quella media calcolata sul plateau. Noti questi due valori, si calcola l'errore che si commette utilizzando i dati di pressione ottenuti dalla prova manometrica. L'errore percentuale si calcola con la seguente formula:

$$Errore = \frac{\Delta P_t - \Delta P_r}{\Delta P_t} \cdot 100$$

Dove:

$\Delta P_t$  è la variazione di pressione teorica;

$\Delta P_r$  è la variazione di pressione effettiva.

Quanto minore è l'errore, tanto maggiore è la bontà dei dati ottenuti.

### 3.2.4 Soluzioni utilizzate

L'attività batterica che si registra durante le prove batch dipende, a parità di concentrazioni di substrati, dalle caratteristiche del refluo in cui i batteri sono immersi. Durante le prove effettuate, il mezzo da testare è il separato liquido proveniente dalla digestione anaerobica della FORSU. Per capire quanto le caratteristiche del mezzo liquido influiscano sull'attività, è necessario fare una prova parallela in cui i batteri sono immessi in una soluzione sintetica, detta mezzo madre, preparata al fine di garantire le condizioni ottimali per la produzione di  $N_2$ . Infatti in questo mezzo non sono presenti inibenti, anzi sono presenti tutti i micronutrienti di cui i batteri anammox hanno bisogno (Fe, K, fosfati ed elementi in traccia). La ricetta del mezzo madre è descritta in Tabella 3.1. La Tabella 3.2 riporta le soluzioni utilizzate per la preparazione della soluzione madre.

Tabella 3.1 Composizione della soluzione madre

<i>Composto</i>	<i>Concentrazione</i>
$KH_2PO_4$	0.025 g L <sup>-1</sup>
Hepes (C <sub>8</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S)	6 g L <sup>-1</sup>
Soluzione CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.625 mL L <sup>-1</sup>
Soluzione MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.625 mL L <sup>-1</sup>
Soluzione I	1.25 mL L <sup>-1</sup>
Soluzione II	1.25 mL L <sup>-1</sup>

Tabella 3.2 Composizione delle soluzioni impiegate per ottenere la soluzione madre

	<i>Composto</i>	<i>Concentrazione [g L<sup>-1</sup>]</i>
Soluzione CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	240
Soluzione MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	160
Soluzione I	FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	5
	EDTA	5
Soluzione II	EDTA	15
	ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.43
	CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.24
	MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	1
	CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.25
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0.22
	NiCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.2
	NaSeO <sub>4</sub> ·10H <sub>2</sub> O	0.2
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.014
	NaWO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.05

Il pH della soluzione madre viene portato a 7.5 con l'aggiunta di NaOH. La conducibilità della soluzione madre è di 6 mS cm<sup>-1</sup>.

La soluzione utilizzata per le iniezioni di ammonio e nitrito è preparata con acqua ultrapura a cui vengono aggiunti: NH<sub>4</sub>Cl (38.21 g L<sup>-1</sup>), NaNO<sub>2</sub> (49.29 g L<sup>-1</sup>) e NaHCO<sub>3</sub> (39.6 g L<sup>-1</sup>). La concentrazione di bicarbonato è di 28.3 g L<sup>-1</sup>. Le prove vengono fatte invece con concentrazione di ammonio e nitrito di 50 mgN L<sup>-1</sup>. Come già detto, il rapporto molare NO<sub>2</sub>/NH<sub>4</sub> è pari a 1 per limitare il rischio di accumulo di nitrito.

### 3.2.5 Programmazione delle prove batch

Le prove batch si sono svolte con reflui reali provenienti da diversi impianti di trattamento della FORSU e con soluzioni sintetiche. Le prove sui reflui reali, sono state svolte al fine di valutare il comportamento a breve termine della biomassa a contatto con il refluo. Le prove con soluzione sintetica, sono state svolte per valutare diversi

effetti di inibizione. L'attività della biomassa a contatto con la soluzione madre viene confrontata con quella effettuata dalla biomassa a contatto con i reflui reali o le soluzioni sintetiche. Le prove si sono svolte ripetendo un certo numero di volte lo spike di soluzione di iniezione.

- Le prove manometriche su reflui reali, sono state svolte sul refluo tal quale cioè filtrato su filtro di carta (FC) e con lo stesso refluo diluito con soluzione madre 1:2. L'unica eccezione è il refluo effluente dall'Impianto1 che è stato trattato sia tal quale che filtrato a 0.45  $\mu\text{m}$  ma non diluito 1:2.
- Le prove con soluzioni sintetiche si sono svolte per valutare l'inibizione a breve termine della salinità e dell'ammonio sulla biomassa.

Si sono effettuate due prove con soluzione salina. Una si è svolta con l'obiettivo confrontare la biomassa campionata a Maggio 2014 (biomassa1) e quella campionata a Novembre 2014 (biomassa2). L'altra per valutare la risposta, rispetto a due diverse soluzioni saline, della biomassa inoculata nel reattore nella prima fase di gestione e poi sostituita. Poiché il problema principale riscontrato nella prima fase della sperimentazione sul reattore era l'alta salinità del refluo alimentato, la prova manometrica si è svolta valutando l'attività batterica in tre differenti mezzi a diverse conducibilità: il mezzo madre con conducibilità di 7  $\text{mS cm}^{-1}$ , una soluzione sintetica con conducibilità pari a quella alimentata nel reattore e di 13  $\text{mS cm}^{-1}$  e una soluzione sintetica con conducibilità di 24  $\text{mS cm}^{-1}$ . La biomassa posta a contatto con la soluzione madre è stata preventivamente "lavata" per circa 20 minuti con una soluzione a conducibilità intermedia tra la madre e quella sintetica di 13  $\text{mS cm}^{-1}$ .

La soluzione utilizzata per la prima prova di salinità è riportata in Tabella 3.3. La conducibilità di questa soluzione è di 13  $\text{mS cm}^{-1}$ , pari a quelle del refluo campionato dopo la fase di post-aerazione dall'Impianto1.

Tabella 3.3 Composti utilizzati per ottenere la soluzione salina con conducibilità di 13 mS cm<sup>-1</sup>

<i>Composto</i>	<i>Concentrazione</i>
NaHCO <sub>3</sub>	1.84 g L <sup>-1</sup>
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.025 g L <sup>-1</sup>
Hepes	6 g L <sup>-1</sup>
KCl	1.89 g L <sup>-1</sup>
NaCl	2.6 g L <sup>-1</sup>
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.46 g L <sup>-1</sup>
Soluzione CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.625 mL L <sup>-1</sup>
Soluzione MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.625 mL L <sup>-1</sup>
Soluzione I	1.25 mL L <sup>-1</sup>
Soluzione II	1.25 mL L <sup>-1</sup>

Nella seconda prova di salinità si sono utilizzate due soluzioni: quella descritta in Tabella 3.3 e l'altra con conducibilità di 24 mS cm<sup>-1</sup>, pari a quella dell'effluente all'Impianto4b. La soluzione utilizzata è descritta in Tabella 3.4

Tabella 3.4 Composti utilizzati per ottenere la soluzione salina con conducibilità di 24 mS cm<sup>-1</sup>

<i>Composto</i>	<i>Concentrazione</i>
NaHCO <sub>3</sub>	32 g L <sup>-1</sup>
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.025 g L <sup>-1</sup>
Hepes	6 g L <sup>-1</sup>
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.3 g L <sup>-1</sup>
KCl	5.7 g L <sup>-1</sup>
NaCl	7.43 g L <sup>-1</sup>
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.91 g L <sup>-1</sup>
Soluzione CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.625 mL L <sup>-1</sup>
Soluzione MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.625 mL L <sup>-1</sup>
Soluzione I	1.25 mL L <sup>-1</sup>
Soluzione II	1.25 mL L <sup>-1</sup>

Per quanto riguarda la prova effettuata per la valutazione dell'inibizione da ammoniaca, sono state preparate due soluzioni con concentrazioni rispettivamente di  $1.5 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1}$  e  $3 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1}$ . La Tabella 3.5 mostra i composti utilizzati per preparare le soluzioni.

Tabella 3.5 Composti utilizzati per ottenere le soluzioni concentrate  $1.5 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1}$  e  $3 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1}$

<i>Composto</i>	<i>Concentrazione</i>	
	<i>Soluzione <math>1.5 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1}</math></i>	<i>Soluzione <math>3 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1}</math></i>
$\text{NH}_4\text{HCO}_3$	$2.8 \text{ g L}^{-1}$	$5.6 \text{ g L}^{-1}$
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	$3.43 \text{ g L}^{-1}$	$5.86 \text{ g L}^{-1}$
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	$0.025 \text{ g L}^{-1}$	$0.025 \text{ g L}^{-1}$
Hepes	$6 \text{ g L}^{-1}$	$6 \text{ g L}^{-1}$
Soluzione $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$0.625 \text{ mL L}^{-1}$	$0.625 \text{ mL L}^{-1}$
Soluzione $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$0.625 \text{ mL L}^{-1}$	$0.625 \text{ mL L}^{-1}$
Soluzione I	$1.25 \text{ mL L}^{-1}$	$1.25 \text{ mL L}^{-1}$
Soluzione II	$1.25 \text{ mL L}^{-1}$	$1.25 \text{ mL L}^{-1}$

### 3.3 Prova in continuo in reattore SBR

#### 3.3.1 Il reattore SBR

L'impianto pilota che si è utilizzato per valutare l'attività anammox in continuo è un reattore SBR (sequencing batch reactor) prodotto dalla Pharmaring (Italia) e mostrato in Figura 3.5. L'impianto è costituito da un fermentatore di circa 5.5 L come volume complessivo; in questa sperimentazione il volume utile era di 3 L. L'impianto è dotato di un sistema di regolazione della temperatura costituito da una camicia riscaldante e da un sistema di refrigerazione ad acqua regolati dall'unità di controllo per mantenere la temperatura al valore desiderato, fissato a  $35^\circ\text{C}$ . Il reattore è a tenuta al fine di garantire le condizioni anossiche per i batteri. La miscelazione è garantita dalla rotazione dell'albero motore disposto ad asse verticale su cui sono montate delle palette a diverse altezze. Nel reattore sono immerse alcune sonde che permettono di monitorare i parametri più importanti: il pHmetro, la sonda redox e la sonda di temperatura, direttamente immersi nella frazione liquida e il pressostato che invece misura la pressione dello spazio di testa. Al reattore sono collegate due elettrovalvole, a loro volta collegate ad una bombola di gas  $\text{N}_2$  (95%) e  $\text{CO}_2$  (5%), che attivano o disattivano

l'insufflazione del gas nello spazio di testa e sotto battente. Allo spazio di testa è inoltre collegato un tubo di sfiato che finisce sotto un battente di 40 cm di acqua, corrispondenti a 40 mbar di sovrappressione.

Al reattore sono inoltre collegate cinque diverse pompe peristaltiche che girano a velocità regolabili. Una è utilizzata per l'alimentazione: l'alimento è contenuto in una bag di plastica collassabile e attraverso i tubi di collegamento e la pompa stessa, viene immesso nel reattore. Un'altra pompa viene utilizzata per lo scarico. Altre due pompe sono collegate rispettivamente ad una soluzione acida (HCl) e ad una soluzione basica ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) per la correzione del pH. L'ultima pompa consente lo scarico di sicurezza e si attiva in caso di troppo pieno del reattore.



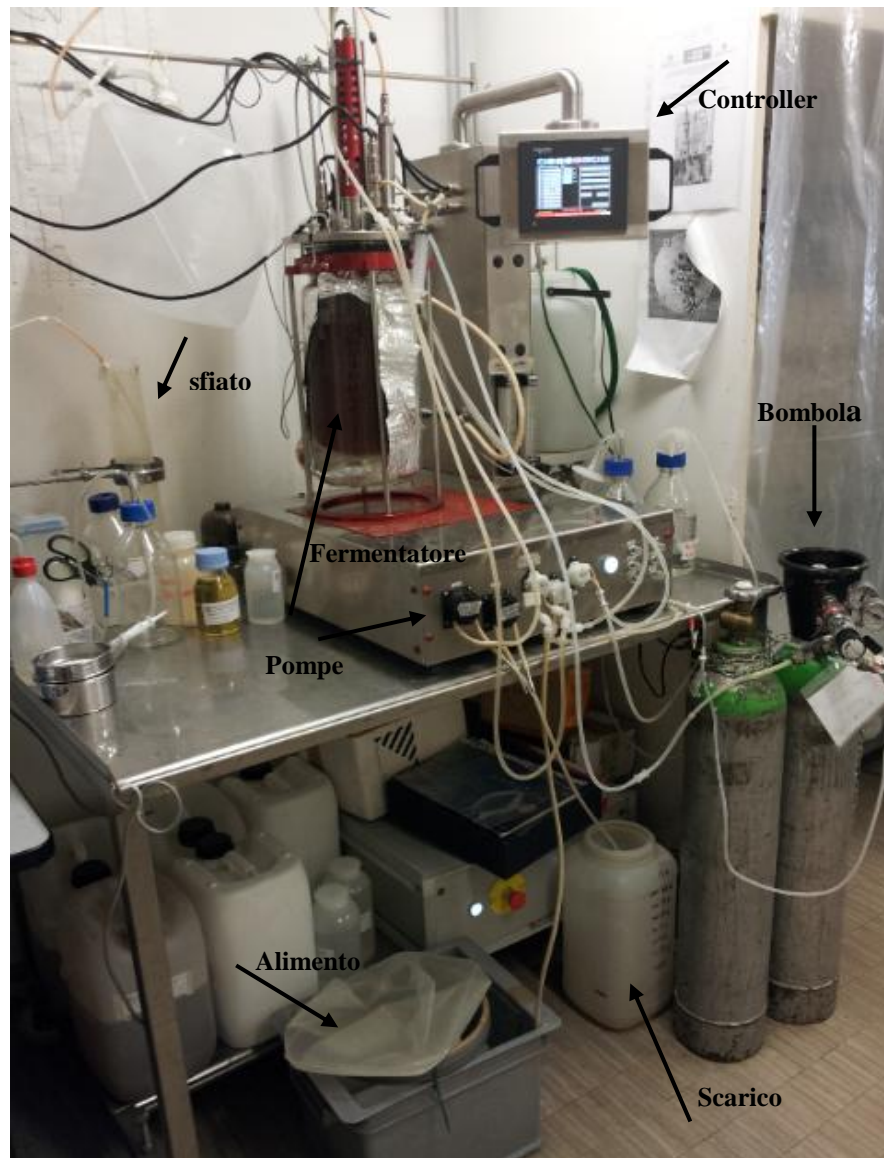


Figura 3.5 Reattore SBR utilizzato durante la sperimentazione

La gestione del reattore è programmata attraverso un controller touch screen da cui è possibile modificare i parametri di controllo, le velocità e il senso di rotazione delle pompe, la durata di ogni fase.

Il reattore opera in modalità ciclica; ogni ciclo si costituisce di 5 fasi distinte:

- *alimentazione*. Durante questa fase i batteri nel reattore ricevono l'alimento attraverso l'accensione della pompa ad esso collegata. Il miscelatore è in funzione così da garantire una buona distribuzione dell'alimento in arrivo e nel contempo mantenere i batteri in sospensione. La Figura 3.6a mostra la biomassa sospesa

durante la fase di alimento. La durata di questa fase dipende dal carico che si vuole alimentare;

- *reazione*. In questa fase la pompa di carico è disattivata ed il sistema è mantenuto in miscelazione;
- *sedimentazione*. Il miscelatore viene spento e i granuli possono sedimentare; la Figura 3.6b mostra la fase di sedimentazione durante la quale la biomassa si porta sul fondo del reattore;
- *scarico*. In questa fase la pompa di scarico viene accesa e aspira la frazione liquida fino al livello in cui la pompa è immersa nel reattore, in questo caso 2.5 L. Durante lo scarico, l'elettrovalvola collegata allo spazio di testa è accesa al fine di mantenere una certa sovrappressione ed evitare richiamo di ossigeno dall'esterno.
- *idle*. L'ultima fase in cui ci si prepara al nuovo ciclo: si riaccende il motore e si risospende così la biomassa.

Durante le fasi di alimentazione, reazione e idle è attivo il controllo del pH con dosaggio regolato di acido o base.

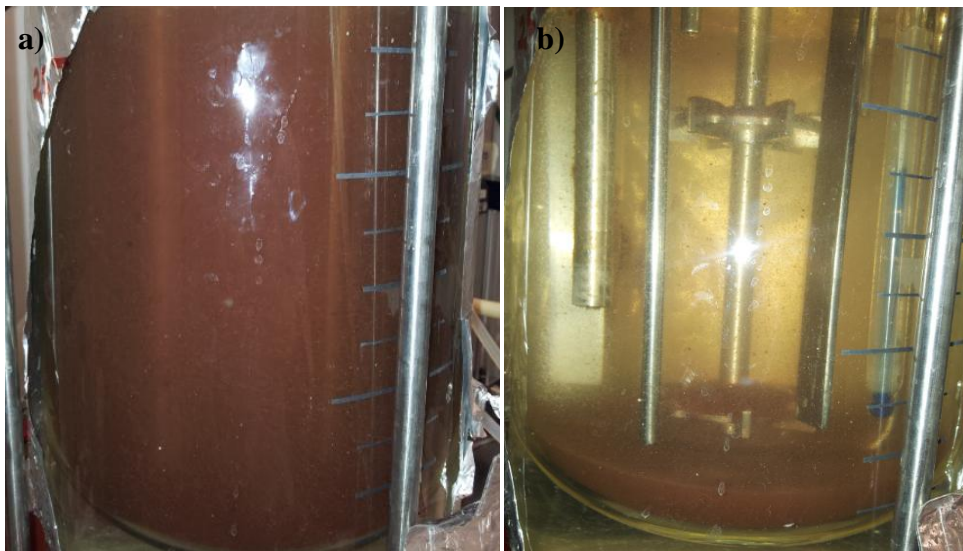


Figura 3.6 Biomassa nel reattore: a) la biomassa è completamente miscelata; b) fase di sedimentazione

Le 24 ore giornaliere sono state suddivise in 3 cicli da 8 ore, ognuno dei quali costituito da: 5 ore di alimentazione, 2.5 ore di reazione, 15 minuti di sedimentazione, 5 minuti di scarico (con portata fissa di  $100 \text{ mL min}^{-1}$ ) e 10 minuti di idle. Successivamente si è reso necessario cambiare l'impostazione dei cicli giornalieri.

Dall'impostazione del ciclo dipendono due parametri di controllo del processo in batch: HRT e NLR. Il primo, Hydraulic Retention Time è definito come il rapporto tra il

volume del reattore occupato dalla frazione liquida e la portata di alimento. NLR è il Nitrogen Loading Rate cioè il rateo di rimozione dell'azoto espresso in termini di azoto nitrico, nitroso, ammoniacale o come azoto totale; in genere si esprime in  $\text{g N L}^{-1} \text{d}^{-1}$ .

La sperimentazione è stata suddivisa in due parti: la FASE1 e la FASE2. La Tabella 3.6 mostra le impostazioni del ciclo e le condizioni di alimentazione durante le fasi.

Tabella 3.6 Impostazione del ciclo e modalità di alimentazione reattore SBR nel corso della sperimentazione.

<i>Caratteristiche</i>		<i>FASE1 (giorni 1-48)</i>		<i>FASE2 (giorni 1-21)</i>	
		<i>Giorni 1-15</i>	<i>Giorni 16-48</i>	<i>Giorni 1-13</i>	<i>Giorni 14-21</i>
Cicli/d		3	3	4	4
Durata della fasi [min]	Alimentazione	300	300	330	270
	Reazione	150	150	0	60
	Sedimentazione	15	15	15	15
	Scarico	5	5	5	5
	Idle	10	10	10	10
HRT [d]		1.7	2	2	3.4
Refluo alimentato		Sintetico	Sintetico	Sintetico e reale	Reale
Conc. $\text{NO}_2$ in alimento [ $\text{g-N L}^{-1}$ ]		1.25	0.94	0.94	0.94
NLR [ $\text{g NO}_2\text{-N L}^{-1} \text{d}^{-1}$ ]		0.7	0.5	0.5	0.3

### 3.3.2 Le soluzioni utilizzate

La FASE1 della sperimentazione sul reattore SBR si è svolta con una matrice sintetica (Alimento 1), corrispondente alla soluzione madre utilizzata nelle prove manometriche a cui sono stati aggiunti nitrito, ammonio, nitrato e carbonio inorganico. Le concentrazioni dei sali sciolti nell'Alimento 1 e nelle soluzioni successivamente preparate, sono riassunte nella Tabella 3.7. Il rapporto molare  $\text{NO}_2/\text{NH}_4$  è stato mantenuto pari a 1 al fine di evitare accumulo di nitrito e conseguente inibizione. La necessità di introdurre il nitrato nella soluzione risiede nel fatto di voler evitare il fenomeno della solfato riduzione nell'ipotesi in cui il nitrito non sia alimentato e quindi non ci siano accettori di elettroni disponibili, eccezion fatta per i solfati che appunto si riducono a  $\text{H}_2\text{S}$  provocando seri problemi alla crescita batterica.

Tabella 3.7 Sali presenti nelle soluzioni alimentate al reattore SBR

Sale	Concentrazione [g L <sup>-1</sup> ]			
	Alimento 1	Alimento 2	Alimento 3	Refluo reale
NaHCO <sub>3</sub>	1.05	0.94	0	0
KHCO <sub>3</sub>	0	2.26	0	0
NH <sub>4</sub> Cl	4.78	3.59	0	0
NaNO <sub>2</sub>	6.16	4.63	4.73	4.73
KCl	0.21	0.21	0.21	0
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.03	0.03	0.03	0
KNO <sub>3</sub>	0.72	0	0	0
NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub>	0	0	5.42	5.42

Le quantità delle componenti azotate aggiunte alla soluzione madre sono state calcolate in funzione della concentrazione da alimentare pari a 1.25 gNH<sub>4</sub>-N L<sup>-1</sup> e 1.25 gNO<sub>2</sub>-N L<sup>-1</sup>. Il pH della soluzione che si ottiene aggiungendo i sali viene portato a 7.5. Prima di collegare la soluzione al reattore, si procede alla fase di strippaggio dell'ossigeno attraverso una pietra porosa che flussa N<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> per una ventina di minuti. L'Alimento 1 preparato con le concentrazioni di sali riportate in Tabella 3.7, però, presentava dei problemi legati all'eccessiva conducibilità dovuta alla presenza dei sali aggiunti per ottenere le concentrazioni di nitrito e ammonio desiderate. La conducibilità misurata era di 20 mS cm<sup>-1</sup>. È stata perciò modificata la ricetta della soluzione sintetica per ottenere una soluzione (Alimento 2) con conducibilità di circa 15 mS cm<sup>-1</sup> e una concentrazione alimentata di 0.94 gNH<sub>4</sub>-N L<sup>-1</sup> e 0.94 gNO<sub>2</sub>-N L<sup>-1</sup>. Diminuendo la concentrazione e mantenendo l'HRT costante si è ridotto il carico in ingresso al reattore.

Per quanto riguarda la FASE2, la procedura di alimentazione seguita è la stessa che per la FASE1. Tuttavia, la soluzione sintetica (Alimento 3) è stata preparata per ottenere una salinità circa pari a quella del refluo reale che è stato successivamente alimentato. Le concentrazioni della soluzione alimentata erano di 0.94 gNH<sub>4</sub>-N L<sup>-1</sup> e 0.94 gNO<sub>2</sub>-N L<sup>-1</sup>. Poiché il carico alimentato doveva essere pari a 0.64 gNH<sub>4</sub>-N L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> e 0.64 gNO<sub>2</sub>-N L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, il tempo di ritenzione idraulica è stato diminuito rispetto alla FASE1 e portato a 1.5 d, di conseguenza la portata alimentata era pari a 2 L d<sup>-1</sup>. In questo caso, per evitare eccessivi aumenti di salinità, l'ammonio è stato inserito nell'alimento come bicarbonato

d'ammonio ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ), che permette così di inserire anche bicarbonato, mentre il nitrito continuava ad essere inserito come  $\text{NaNO}_2$ .

Quando si è iniziato ad alimentare il refluo reale, la procedura di pretrattamento è stata la stessa che per l'alimento sintetico: si è aggiunto bicarbonato d'ammonio e nitrito di sodio alle stesse concentrazioni dell'alimento sintetico poiché l'obiettivo era quello di mantenere lo stesso carico alimentato.

La Tabella 3.6 riporta le concentrazioni e i carichi applicati durante le due fasi di funzionamento del reattore. Come si può notare, il problema della salinità resta in quanto è necessario aggiungere sali di ammonio e nitrito per raggiungere le concentrazioni a cui si vuole lavorare. In realtà, poiché il reattore è completamente miscelato, la conducibilità con cui i batteri si confrontano è minore rispetto a quella in ingresso e pari a quella in uscita.

### 3.3.3 L'inoculo utilizzato

L'inoculo ha le stesse caratteristiche di quello utilizzato per le prove manometriche anche se la FASE1 della sperimentazione è stata condotta con i batteri campionati a Novembre 2014, per la FASE2 si sono utilizzati batteri campionati a Febbraio 2015.

La quantità di batteri in massa inseriti all'interno del reattore è stata calcolata sulla base dell'inibizione che questi hanno registrato durante le prove manometriche con il refluo dell'Impianto1. L'inibizione calcolata sulla SAA è risultata del 70% rispetto al bianco. Dal valore di inibizione, si ricava il valore di SAA effettiva e quindi dividendo il carico in alimento per questi valori, si ricava la concentrazione di SSV [ $\text{gSSV L}^{-1}$ ] da inserire:

$$SAA_{NH4} \text{ nota inibita} = SAA \text{ nota bianco} * (1 - 70\%)$$

$$SAA_{NO2} \text{ nota inibita} = SAA \text{ nota inibita} * 1.32$$

$$Conc. SSV \text{ allo start} - up = \frac{\text{carico } NO_2 - N}{SAA_{NO_2} \text{ nota inibita}}$$

A questo punto, noto il rapporto  $\text{gSSV gWW}^{-1}$  pari al 5%, si calcola la quantità di biomassa bagnata [ $\text{gWW}$ ] da inserire nel reattore:

$$WW \text{ nel reattore} = \frac{Conc. SSV \text{ allo start} - up}{5\%} * Vol \text{ reattore}$$

Sulla base di alcune analisi successive all'inoculo fatte sulla biomassa presente all'interno del reattore, si è deciso di aumentare la quantità di biomassa rispetto al valore inizialmente calcolato.

Per quanto riguarda il secondo inoculo del reattore, la quantità di biomassa inocolata è stata calcolata esattamente come appena descritto e si è ricavato un valore di 200 gWW. Il peso è inferiore rispetto al peso ottenuto nella FASE1 perché ciò che cambia è l'attività specifica utilizzata per i conti. Si è fatto riferimento al valore di SAA ottenuta sul bianco di prove manometriche precedentemente effettuate. Si parte in questo caso da un'attività di  $0.56 \text{ gN}_2\text{-N gSSV}^{-1}\text{d}^{-1}$  ma il rapporto  $\text{gSSV gWW}^{-1}$  è pari al 10%.

### 3.3.4 Le prove di attività

Le prove di attività consentono di valutare la capacità effettiva di rimozione dei substrati della biomassa anammox nel reattore SBR. Si inietta, per mezzo di una siringa, una concentrazione nota di ammonio e nitrito nel reattore attraverso un setto forabile e si valuta la variazione di concentrazione nel tempo. Passati cinque minuti dallo spike, si preleva un campione, attraverso la siringa di campionamento che aspira direttamente dalla frazione liquida, e si valuta la concentrazione iniziale di nitrito ed eventualmente di ammonio. Successivamente si prelevano altri campioni e si ripetono le analisi delle forme azotate di interesse. L'obiettivo è quello di ottenere un trend di consumo del nitrito nel tempo per cui il tempo tra un campionamento e il successivo può variare a seconda dell'attività stimata. Anche il numero di campionamenti può essere adeguato allo scopo della prova. Durante la FASE1 le prove di attività si sono svolte misurando la concentrazione di nitrito nel tempo. Per valutare la stechiometria della reazione, si è misurato anche la variazione di ammonio nel tempo. La stechiometria di reazione può essere valutata anche sulla base delle analisi fatte allo scarico in termini di nitrito, ammonio e nitrato. Durante la FASE2, le prove di attività sono state condotte misurando la variazione di ammonio nel tempo poiché la misura del nitrito include anche l'attività eterotrofa, più importante in questa fase rispetto a quella della FASE1 in quanto il refluo reale contiene naturalmente COD. La valutazione del rateo massimo di consumo si ottiene dal valore della pendenza della retta su cui si allineano i valori di concentrazione rispetto al tempo (Figura 3.7). La pendenza coincide con il valore del rateo di consumo massimo ( $\text{NRR}_{\text{max}}$ ).

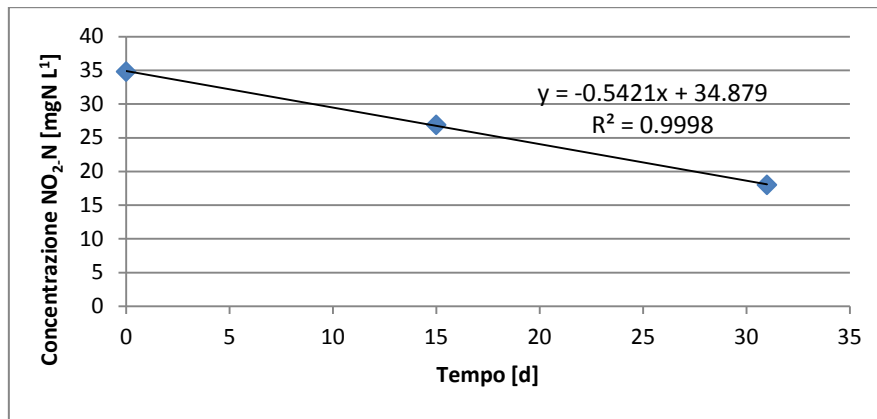


Figura 3.7 Andamento della concentrazione di nitrito nel tempo durante una prova di attività nel reattore SBR

Un altro tipo di prova di attività può essere svolta per via manometrica sfruttando il manometro di cui il reattore è dotato: si misura la variazione di pressione nel tempo dopo aver aggiunto al reattore una concentrazione di nitrito nota. Perché la prova possa funzionare è necessario innanzitutto che il reattore sia assolutamente a tenuta. A questo scopo bisogna chiudere ogni possibile via d'uscita del gas, a partire dai tubi di scarico e di alimento, i collegamenti con l'acido e la base e, non ultimo, lo sfiato collegato al battente idrico. La prova ha inizio con lo spike di soluzione di iniezione usata per le prove manometriche e termina quando la curva della pressione in funzione del tempo mostra un plateau. Il plateau denota un rallentamento dell'attività dovuto all'assenza di nitrito. A questo punto è possibile calcolare l'attività specifica massima attraverso la regressione dei dati che si trovano lungo la retta (il procedimento è lo stesso utilizzato per il sistema manometrico descritto in precedenza).

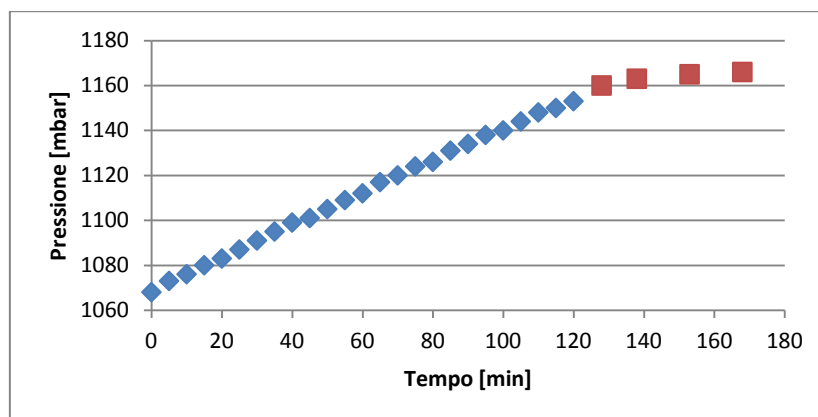


Figura 3.8 Andamento della pressione nel tempo ricavata da prova di attività in pressione con SBR

La Figura 3.8 mostra chiaramente l'attività anammox rappresentata dalla parte iniziale del grafico (i punti in blu) e l'attività eterotrofa che si instaura quando il nitrito è consumato (quadrati rossi).



## **4. RISULTATI E DISCUSSIONE**

### ***4.1 Caratterizzazione dei digestati e confronti rispetto a configurazione degli impianti***

Le caratteristiche principali dei reflui su cui si è condotta la sperimentazione sono raccolte nella Tabella 4.1. Per un'analisi più dettagliata si rimanda il lettore all'Appendice. In Tabella 4.1 viene specificato, per ogni impianto in quale sezione il campione è stato prelevato:

- influente prelevato dopo i pre-trattamenti e all'ingresso del trattamento di nitrificazione/denitrificazione,
- post-aerazione dopo la fase di nitrificazione,
- effluente alla fine del processo, dopo l'ultima fase di post-denitrificazione.

Tabella 4.1 Caratteristiche principali dei reflui provenienti dai diversi impianti campionati

	IMPIANTO1		IMPIANTO2	IMPIANTO3a	IMPIANTO3b	IMPIANTO3c	IMPIANTO4a		IMPIANTO4b	
	Influyente	Post aerazione					Effluente	Influyente	Effluente	Influyente
Conducibilità [mS/cm]	19	11	6	15	9	13	32	26	36	23
Alcalinità [mg/L]	6540	-	-	11300	7620	-	2420	68	-	-
pH	8.8	7.9	8.2	8.5	8.2	8.3	9.1	5.8	7.4	7.4
ST [g/L]	13.0	8.0	2.0	6.0	6.0	6.0	15.0	16.0	-	-
SV [g/L]	7	1	0.5	2	3	2	6	3	-	-
SST [g/L]	7	0.3	146	1.0	603	605	-	-	-	-
SSV [g/L]	6	0.3	160	0.6	490	483	-	-	-	-
TKN [mg/L]	2400	108	614	1590	980	1140	3120	565	-	-
Ammonio [mgN/L]	1670.0	10.0	572	1200	765	1110	2930	0	3080	112
Nitrito[mgN/L]	-	0.2	-	-	-	-	-	4	-	12
Nitrato[mgN/L]	-	6	-	-	-	-	-	6	-	8
COD [mg/L]	4334	760	566	1740	875	2420	2150	1481	-	-
BOD5 [mg/L]	883	81	-	699	805	-	396	23	1575	-
BOD20 [mg/L]	-	-	-	946	1160	-	1095	135	2175	-

Da una prima analisi sui reflui trattati provenienti dagli impianti campionati, si denota una caratteristica comune: valori elevati di conducibilità, compresi tra i 10 e i 30 mS cm<sup>-1</sup>. L'unica eccezione è costituita dal refluo proveniente dall'Impianto2, esso infatti tratta solo una piccola percentuale di separato liquido proveniente da FORSU (20%) rispetto al totale costituito da fanghi. Le differenze nei valori di conducibilità tra un refluo e l'altro sono dovute principalmente al tipo di configurazione impiantistica: il refluo dell'Impianto4 presenta valori di conducibilità maggiori di 30 mS cm<sup>-1</sup> perchè si utilizza, in fase di pre-trattamento del rifiuto, acqua di ricircolo proveniente dalla separazione solido/liquido ottenuta con una centrifuga posta alla fine della filiera; questo comporta che, la restante parte della frazione liquida che deve essere trattata, abbia contenuto di sali maggiori rispetto per esempio al refluo dell'Impianto1 che utilizza acqua di pozzo per i pre-trattamenti della FORSU. Inoltre, l'utilizzo di un polielettrolita, per facilitare la separazione solido/liquido con centrifuga nell'Impianto4, modifica le caratteristiche di trattabilità della frazione liquida che viene separata. Il polielettrolita infatti influisce sull'attività batterica anammox, causandone una diminuzione, come verrà spiegato più avanti nella trattazione.

Per gli impianti di cui sono stati campionati sia influente che effluente si nota una diminuzione in termini di conducibilità e questo è da attribuire alla rimozione di ammonio e nitrito durante le fasi di nitrificazione/denitrificazione che contribuiscono, in quanto ioni, all'aumento della salinità.

Un altro dato importante che si ricava dall'analisi dei reflui trattati è il valore di TKN, nella maggior parte dei casi superiore a 1000 mg L<sup>-1</sup>, fatta eccezione per il refluo dell'Impianto2, per i motivi già descritti. In particolare, attenzione va posta sul valore della concentrazione di ammonio dell'influente, da oltre 1000 mgN L<sup>-1</sup> degli impianto 1 e 3 agli oltre 3000 mg L<sup>-1</sup> dell'Impianto4. I valori di COD sono tali per cui il rapporto COD/N risulta basso (<2) e di conseguenza, per motivi già spiegati, i reflui hanno buone potenzialità di essere trattati con il processo anammox.

I valori di pH sono compresi tra 8.8 dell'influente e 7.4 dell'effluente. Il valore dell'influente è alto per gli standard del trattamento anammox ma comunque non ne esclude l'applicabilità.

Il BOD<sub>5</sub> diminuisce dall'ingresso rispetto all'uscita poiché tutti gli impianti prevedono una fase di denitrificazione ad opera di batteri eterotrofi che utilizzano la maggior parte della sostanza organica come substrato. Una parte del BOD<sub>5</sub> inoltre viene consumato aerobicamente in fase di nitrificazione.

#### 4.2 Risultati delle prove manometriche

Nella presente sezione vengono riportati i risultati ottenuti con le prove batch effettuate sui reflui campionati applicando la biomassa anammox secondo le modalità già esposte.

##### 4.2.1 Prova con frazione liquida del digestato dell'Impianto1

In tutte le prove riportate si è escluso il primo spike dall'analisi in quanto non significativo. Inoltre i batteri, passando dalla tanica di stoccaggio alla bottiglia subiscono uno "shock" dovuto al cambiamento del mezzo nel quale sono sospesi.

- Influyente

La prova con l'influente si è svolta con un numero complessivo di 7 spike. La Figura 4.1 mostra il grafico dei valori di SAA ottenuti durante la prova in funzione del tempo di contatto. I dati mostrati sono valori medi calcolati sulle prove in doppio.

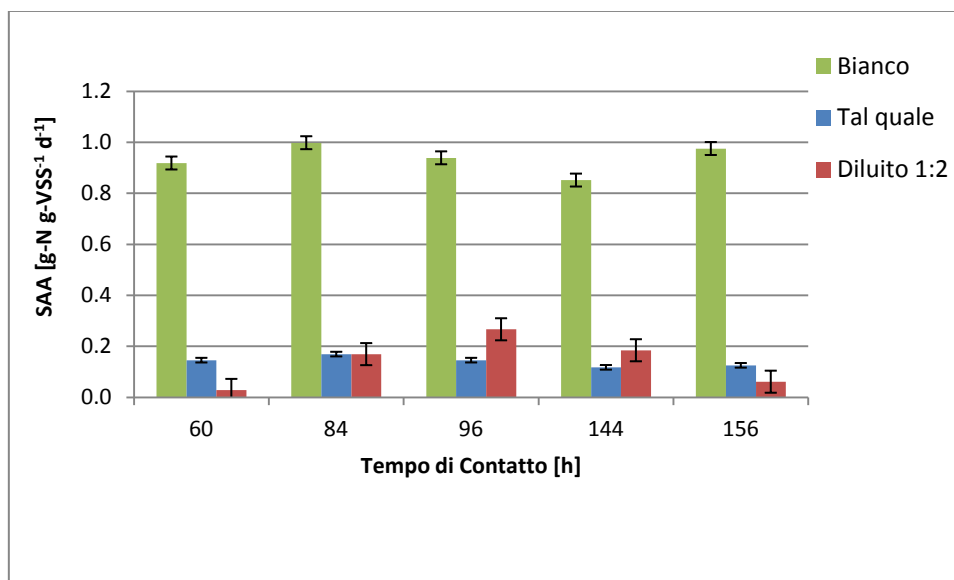


Figura 4.1 SAA ottenuta dalla prova condotta sull'influente tal quale e diluito 1:2 dell'Impianto1

L'analisi più rappresentativa è a partire dal terzo spike (tempo di contatto di 60 ore). Si vede che il rateo specifico del bianco resta pressoché costante intorno a 0.9 g-N gSSV<sup>-1</sup>

d<sup>-1</sup>; la SAA della biomassa a contatto con il refluo tal quale è anch'essa più o meno costante attorno al valore di 0.1 g-N gSSV<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup> mentre l'attività del refluo diluito cresce fino a oltre 0.2 g-N gSSV<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> e poi decresce a partire dalle 96 ore di contatto.

- Post aerazione

La prova si è svolta con 5 spike. Anche per questa prova in Figura 4.2 si riporta il grafico del rateo di biomassa specifico in funzione del tempo di contatto dei tre campioni analizzati.

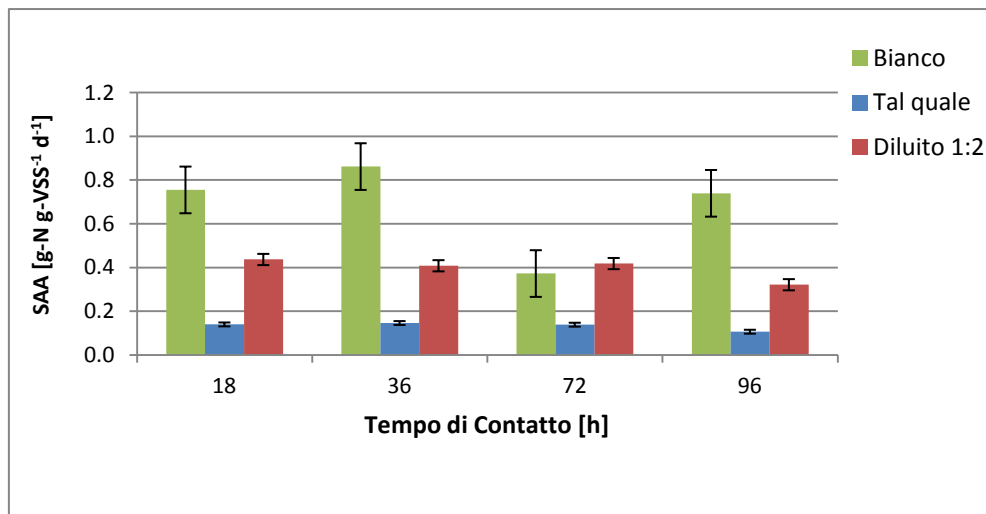


Figura 4.2 SAA ottenuta dalla prova condotta sul post-aerazione tal quale e diluito 1:2 dell'Impianto1

In questo caso l'andamento dell'attività segue un trend abbastanza costante per tutti e tre i campioni: il bianco registra un'attività compresa tra 0.7 e 0.85 g-N gSSV<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, il refluo tal quale è caratterizzato da un'attività di circa 0.1 g-N gSSV<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>, invece il rateo del diluito è compreso tra 0.3 e 0.4 g-N gSSV<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>.

In corrispondenza delle 72 ore si è verificata una diminuzione dell'attività del bianco; poiché nelle ore successive si registra un'attività paragonabile a quella precedente alle 72 ore, è possibile che la diminuzione sia da attribuire ad un errore sperimentale (come per esempio un' iniezione minore di 1 mL), gli altri due campioni infatti, durante quella prova non hanno riportato significative variazioni.

- Effluente

Di seguito, la Figura 4.3 mostra la produzione di  $N_2$  specifica in funzione del tempo per la prova effettuata con l'effluente dall'Impianto1. Durante questa prova sono stati effettuati 5 spike.

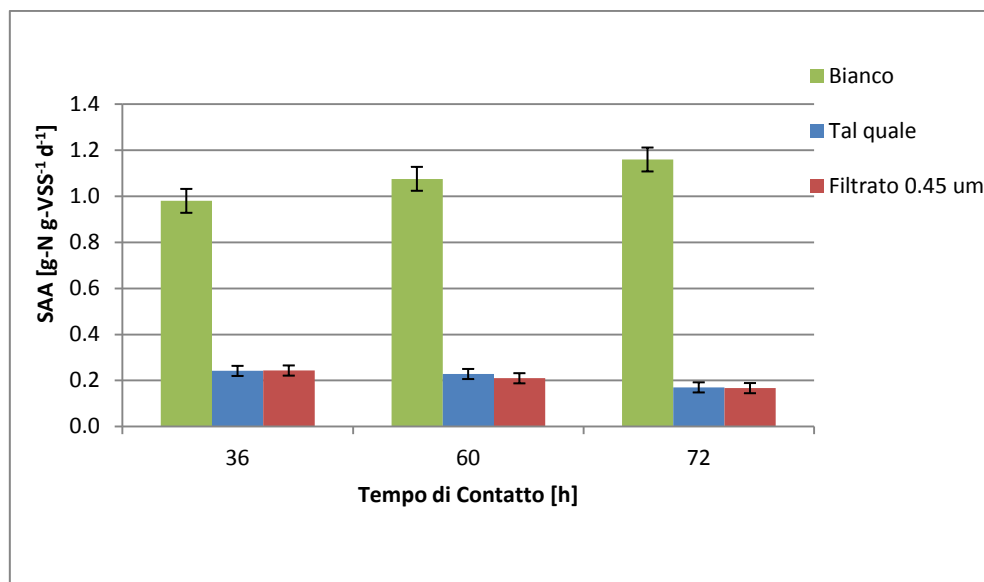


Figura 4.3 SAA ottenuta dalla prova condotta sull'effluente tal quale e filtrato 0.45 µm dell'Impianto1

L'attività di tutti i campioni si stabilizza su valori compresi tra 0.8 e 1.2 g-N gSSV<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> per i bianchi, attorno a 0.2 g-N gSSV<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> per il campione tal quale e filtrato a 0.45 µm. L'ultimo spike (non riportato nell'immagine) è ricavato dopo 4 giorni, compreso un fine settimana durante il quale l'attività non può essere monitorata se non alla fine. Durante quel periodo, i bianchi hanno quasi dimezzato la loro attività; stessa considerazione per gli altri due. Le cause di questo dimezzamento non sono chiare.

A partire dalle prove effettuate, è possibile ricavare i valori di inibizione della SAA sui reflui utilizzati. La Figura 4.4 mostra l'inibizione subita dalla biomassa a contatto con il refluo reale influente, post-aerazione ed effluente dell'Impianto1 rispetto al bianco. Per quanto riguarda l'influente, la percentuale di inibizione si assesta dopo meno di 50 ore (2 giorni) sul valore dell'80%. Effluente e post-aerazione hanno un comportamento simile: il valore dell'inibizione varia tra il 77% e l'87% per l'effluente e tra il 76% e 87% per il post aerato.

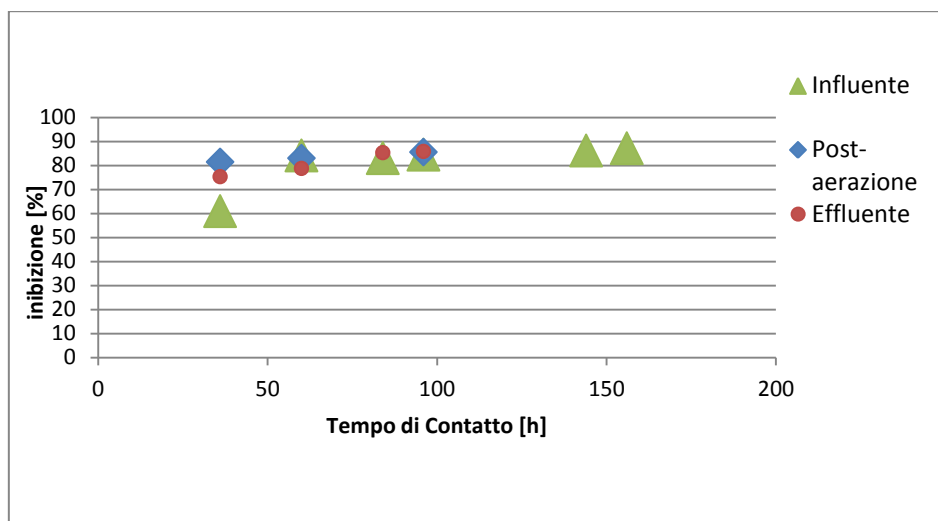


Figura 4.4 Valori di inibizione nel tempo del refluo influente, post-aerazione e effluente dell'Impianto1

• Una prova batch è stata effettuata sul refluo post-aerato dell'Impianto1 campionato a Febbraio 2015 utilizzando la biomassa campionata nella stesso mese. La Figura 4.5 mostra i valori di SAA ottenuti durante la prova che si è condotta solo sul refluo tal quale, iniettando 4 volte i substrati.

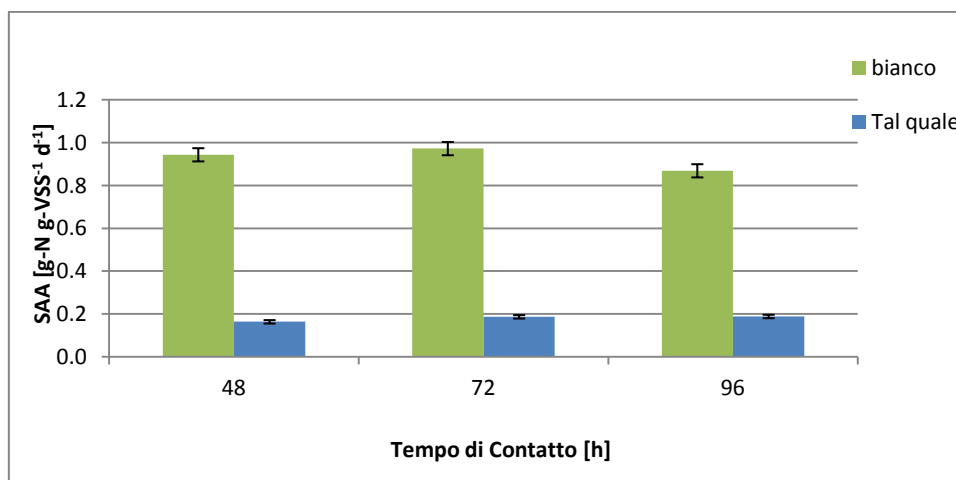


Figura 4.5 SAA ottenuta dalla prova condotta sul post-aerazione tal quale dell'Impianto1

Il valore di SAA registrato dai bianchi è mediamente di  $0.9 \text{ gN gSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , mentre quello registrato per il refluo tal quale è di  $0.19 \text{ gN gSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ . Entrambi i campioni hanno mantenuto la loro attività stabile nel tempo, senza visibili cambi di tendenza. Le percentuali di inibizione della biomassa a contatto con il refluo reale rispetto al bianco, sono riportate in Figura 4.6.

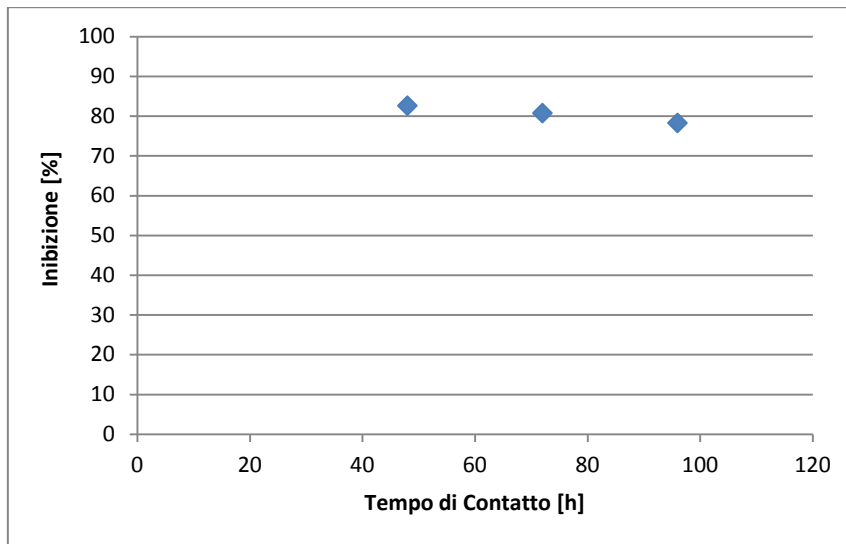


Figura 4.6 Valori di inibizione nel tempo del post-aerazione dell'Impianto1

Il valore di inibizione è di circa 80%, stabile durante tutta la durata della prova. Questo valore è confrontabile con quello ottenuto durante la prova sullo stesso refluo ma utilizzando la biomassa campionata a Maggio 2015. In quel caso la SAA registrata era pari a  $0.14 \text{ gN SSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$  quindi inferiore rispetto a quella ottenuta con questa prova ma l'inibizione era anche in quel caso pari all'80% circa. Infatti confrontando la Tabella 4.4 in cui sono riportate le caratteristiche principali del refluo utilizzato con la biomassa campionata a Febbraio 2015 e la Tabella A.1 in Appendice in cui sono riportate le caratteristiche del refluo post aerato dell'Impianto1 campionato a Maggio, si evince che le caratteristiche del refluo non sono cambiate con il tempo. Quindi l'inibizione della biomassa resta anch'essa invariata. Per quanto riguarda il valore della SAA dei bianchi nelle due diverse prove invece, una variazione come quella registrata non deve stupire in quanto dipende semplicemente dal diverso grado di arricchimento di batteri anammox (rapporto tra i grammi di VS relativi ai batteri anammox attivi e i grammi di VS totali) nelle diverse biomasse utilizzate.

#### 4.2.2 Prova con frazione liquida del digestato dell'Impianto2

La prova sul digestato proveniente dall'Impianto2, è stata condotta con la biomassa campionata a Novembre 2014 sia sul tal quale che sul diluito 1:2 con soluzione madre. Sono stati fatti 4 spike complessivamente. I risultati dei tre spike significativi sono rappresentati in Figura 4.7.



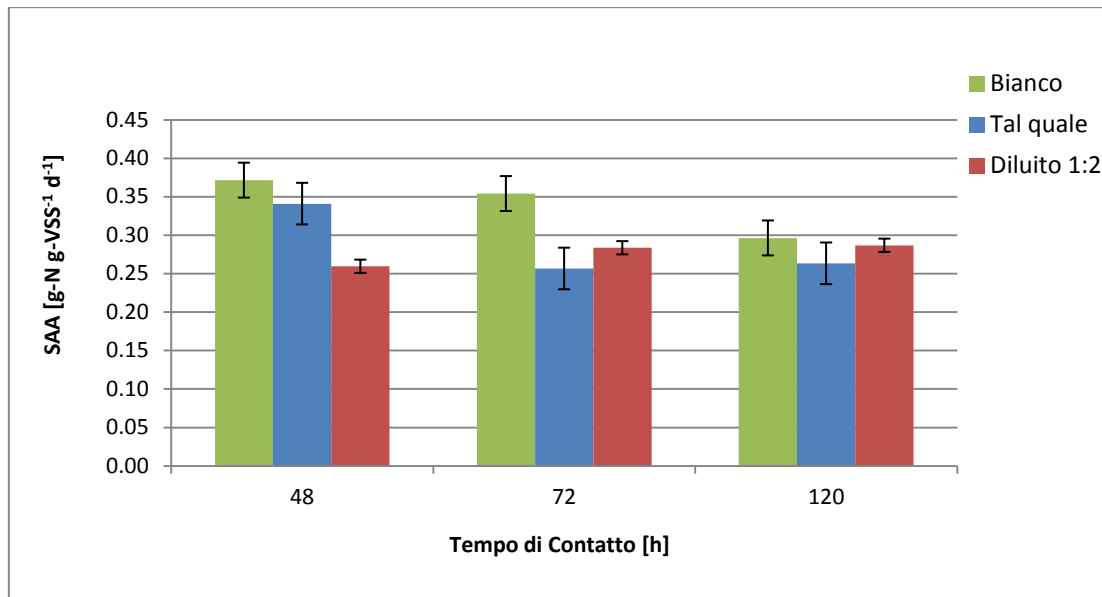


Figura 4.7 SAA ottenuta dalla prova condotta sull'influente tal quale e diluito 1:2 dell'Impianto2

Il rateo specifico dei bianchi è caratterizzato da un massimo dopo 48 ore di contatto e da una successiva leggera diminuzione. Anche il tal quale presenta un massimo al minuto 48 e poi sembra assestarsi sul valore di  $0.25 \text{ g-N L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ . Il refluo diluito invece, si assesta da subito su valori compresi tra  $0.25$  e  $0.3 \text{ g-N L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ .

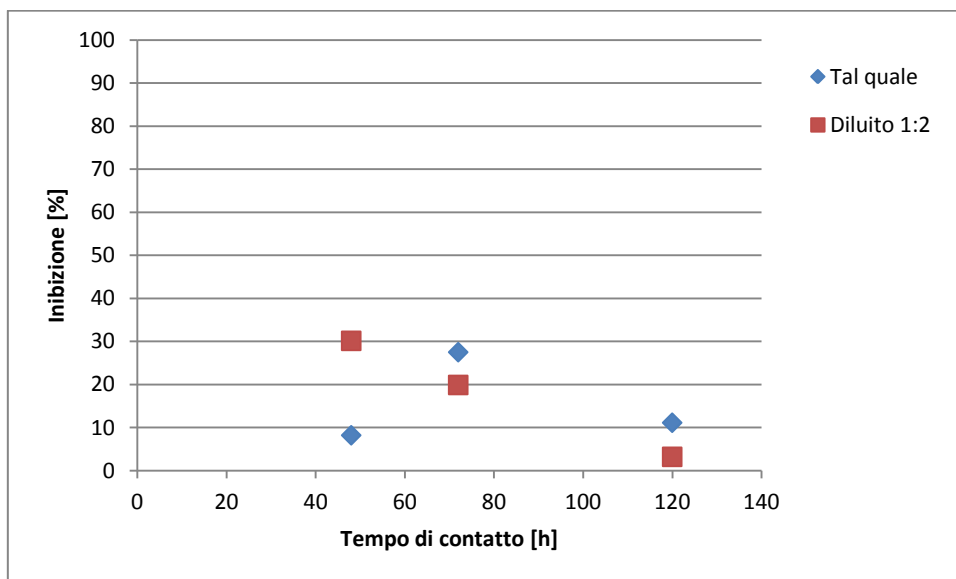


Figura 4.8 Valori di inibizione nel tempo dell'influente tal quale e diluito 1:2 dell'Impianto2

La figura 4.8 mostra le percentuali di inibizione del refluo tal quale e diluito rispetto al bianco. La percentuale di inibizione diminuisce all'aumentare del tempo di contatto fino al 10% per il tal quale e al 5% per il diluito. Valori di inibizione così bassi sono da attribuire alle caratteristiche del refluo che presenta una minore conducibilità, pari a 5.7

mS cm<sup>-1</sup>, paragonabile alla soluzione di stoccaggio in cui i batteri vengono tenuti e rapporto COD/NH<sub>4</sub>-N tra i più bassi dei reflui trattati in questa sperimentazione. Il motivo per cui il refluo ha queste caratteristiche è dovuto alla composizione di origine del digestato da cui è stato separato: 80% costituito da fanghi e il restante 20% da FORSU. Inoltre, percentuali di inibizione così basse possono essere spiegate considerando che la biomassa anammox è stata coltivata in un impianto di trattamento delle acque reflue la cui composizione media è molto simile al separato liquido utilizzato in questa prova. Non si sono riscontrati, quindi, grossi problemi di adattamento al refluo.

#### 4.2.3 Prova con frazione liquida del digestato dell'Impianto3b

I risultati riportati in questo paragrafo riguardano la sperimentazione effettuata sul refluo influente all'Impianto3, campionato nel mese di Luglio 2014 e con biomassa campionata a Maggio 2014. La prova si è svolta facendo 6 spike ai bianchi, 9 ai diluiti 1:2 e 4 spike al tal quale. Il numero di spike è stato deciso sulla base dei dati utili necessari ad ottenere una stabilizzazione dell'attività registrata. La biomassa immersa nel refluo tal quale, ha mostrato una attività bassa che non ha consentito il consumo dei substrati nitrito e ammonio iniettati nell'arco delle 24 ore che di norma intercorrono tra 2 spike successivi. Per questo i valori di SAA ottenuti si hanno per intervalli di tempo maggiori rispetto agli altri due campioni, come mostrato dalla Figura 4.9.

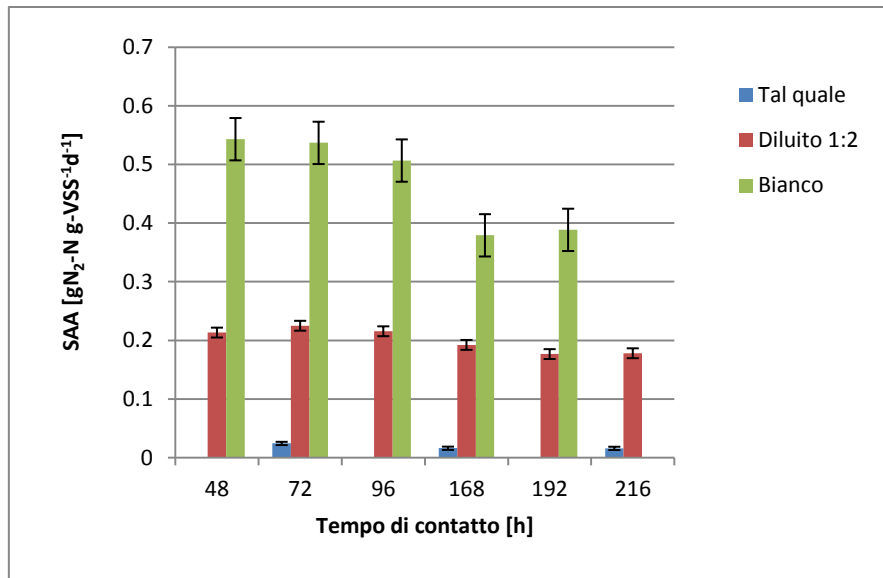


Figura 4.9 SAA ottenuta dalla prova condotta sull'influente tal quale e diluito 1:2 dell'Impianto3b

Il rateo specifico dei bianchi è superiore a  $0.5 \text{ gN gSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$  fino a 96 ore di contatto e diminuisce nettamente al di sotto di  $0.4 \text{ gN gSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$  a partire da 168 ore di contatto mantenendo comunque un comportamento abbastanza stabile nelle ore successive. È interessante invece analizzare il comportamento del refluo diluito 1:2 e tal quale: entrambi mostrano una SAA costante per tutta la durata della prova ma, mentre per il primo si registra un rateo pari a circa la metà di quello registrato dal bianco, il tal quale è caratterizzato da un'attività molto bassa, poco superiore a zero ( $<0.02 \text{ gN gSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ). Poiché l'attività del campione diluito 1:2 è circa media tra quella del bianco e del tal quale, sicuramente c'è una fonte di inibizione nel refluo tal quale che viene diluita appunto, con l'aggiunta di soluzione madre. Nella Figura 4.10 vengono riportati i valori di inibizione percentuali. Poiché l'inibizione è calcolata rispetto al bianco, i valori per il diluito sono tanti quanti gli spike fatti ai bianchi. Anche in questo caso sembra che l'inibizione si assesti dopo 50 ore di contatto, su un valore maggiore del 90% per il tal quale e tra il 50% e il 60% per il diluito.

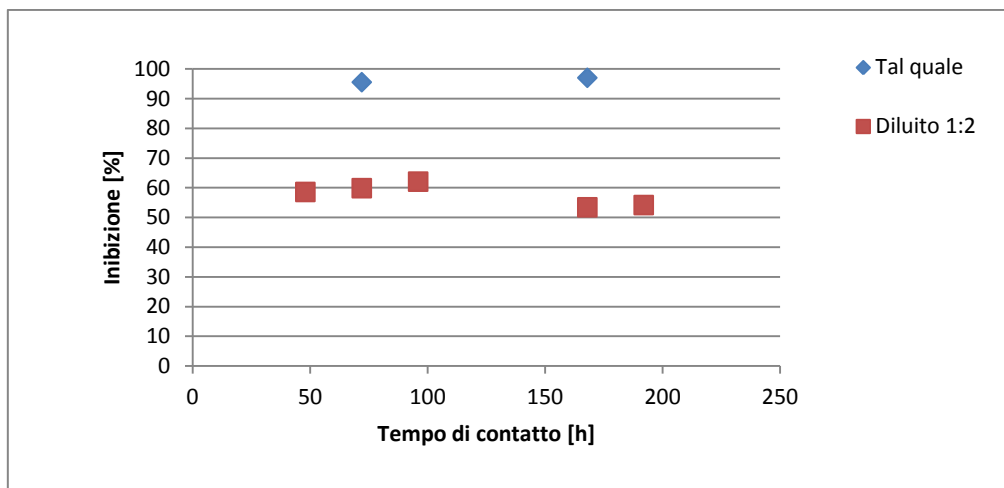


Figura 4.10 Valori di inibizione nel tempo dell'influenza tal quale e diluito 1:2 dell'Impianto3b

#### 4.2.4 Prova con frazione liquida del digestato dell'Impianto3c

La prova si è svolta utilizzando la biomassa campionata a Novembre 2014 e utilizzando il refluo influente all'Impianto3c, anch'esso ricampionato a Novembre 2014. Le condizioni cui i batteri sono stati sottoposti sono le stesse che per la prova sul refluo dell'Impianto3b. La Figura 4.11 mostra i valori di SAA ottenuti.

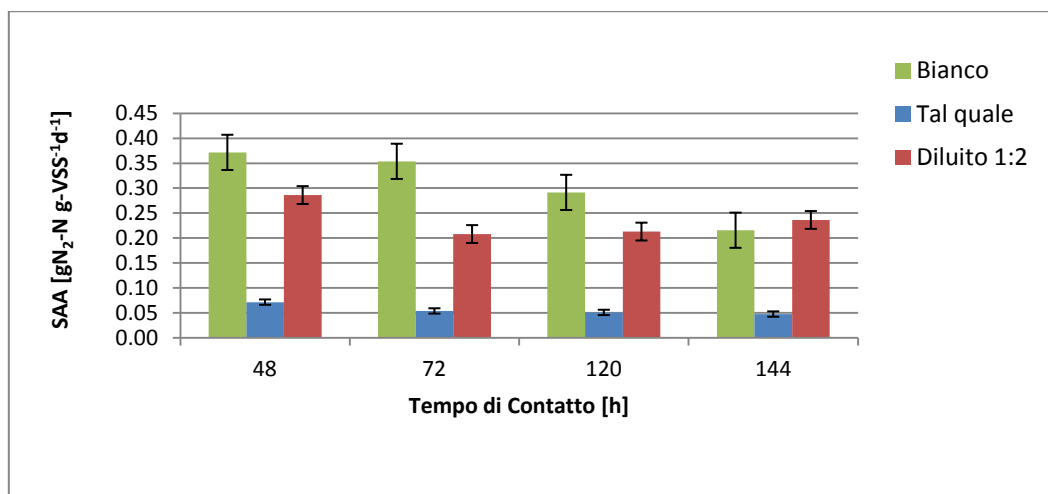


Figura 4.11 SAA ottenuta dalla prova condotta sull'influente tal quale e diluito 1:2 dell'Impianto3c

Per quanto riguarda l'analisi delle SAA, la biomassa a contatto con la soluzione madre diminuisce leggermente la sua attività nel tempo; il diluito resta invece attorno a valori di  $0.2 \text{ gN gSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ . Infine il tal quale ha registrato un'attività attorno allo  $0.05 \text{ gN gSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , più alta della prova precedentemente effettuata sul refluo campionato nello stesso impianto (Impianto3b), come mostrato in Figura .

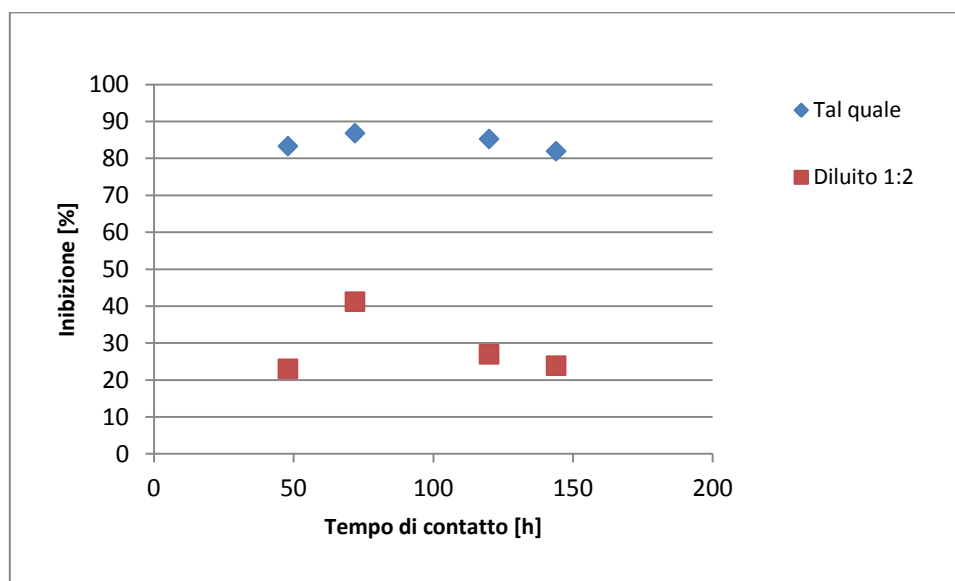


Figura 4.12 Valori di inibizione nel tempo dell'influente tal quale e diluito 1:2 dell'Impianto3c

Le percentuali di inibizione del refluo tal quale e diluito sono rappresentate in Figura 4.12. Il confronto con la prova precedente mostra una diminuzione nella inibizione: il refluo tal quale inibisce la biomassa fino a valori compresi tra l'80% e il 90%, contro l'inibizione maggiore del 90% della prova precedente; diminuisce notevolmente invece l'inibizione della biomassa a contatto con il diluito che passa dal 60% al 25% circa.

I motivi per cui l'attività di questa prova risulta maggiore della precedente è legata alla biomassa e non a cambiamenti nelle caratteristiche del refluo. (Per un confronto si veda la Tabella 2.3). Infatti la biomassa utilizzata nella prova con il refluo proveniente dall'Impianto3b, come già detto, era stata campionata a Maggio 2014 e mantenuta nella tanica di stoccaggio fino a quando si è condotta la prova, ad Ottobre 2014. La seconda prova è stata invece condotta a Novembre 2014 con la biomassa campionata nello stesso mese. È possibile quindi che durante il periodo di stoccaggio ci siano stati dei fenomeni di decadimento della biomassa o comunque una difficoltà a riprendere l'attività dopo mesi di inattività.

#### 4.2.5 Prova con frazione liquida del digestato dell'Impianto4b

Nel seguito vengono esposti i risultati ottenuti trattando il refluo influente ed effluente dell'Impianto4b con biomassa anammox campionata a Novembre 2014.

- Influyente

L'analisi dei dati restituiti da questa prova sono di difficile interpretazione poiché le caratteristiche del refluo in oggetto sono poco compatibili con l'attività batterica degli anammox. Durante queste prove, per alcuni campioni si sono osservati dei comportamenti talvolta non coerenti, per cui i dati sotto riportati vanno considerati con la dovuta cautela. La prova si è svolta ripetendo 6 volte lo spike.

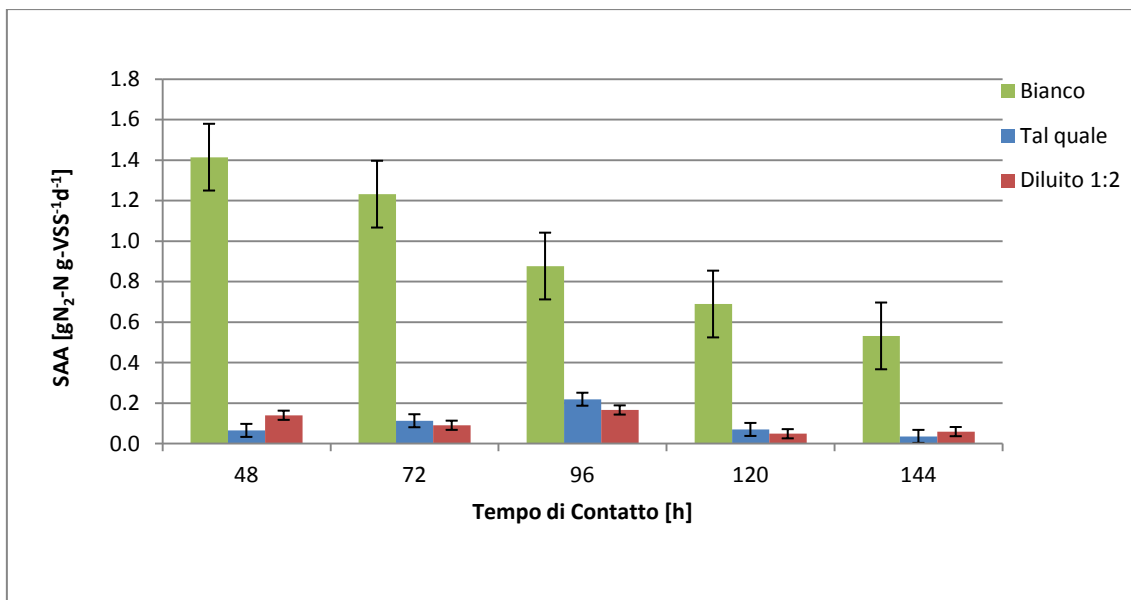


Figura 4.13 SAA ottenuta dalla prova condotta sull'influente tal quale e diluito 1:2 dell'Impianto4b

La Figura 4.13 mostra valori di SAA decrescenti per il bianco che passa da 1.4 gN gSSV<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> a poco più di 0.5 gN gSSV<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> dal secondo al sesto spike. Si possono considerare gli spike dal secondo al quarto per il diluito in cui il rateo risulta pressoché costante sul valore di 0.1 gN<sub>2</sub>-N gSSV<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>. Il tal quale è caratterizzato da un'attività crescente fino alle 96 ore di contatto, decrescente per le ore successive e fino alla fine della prova. Le percentuali di inibizione mostrate in Figura 4.14 sono di circa il 90%.

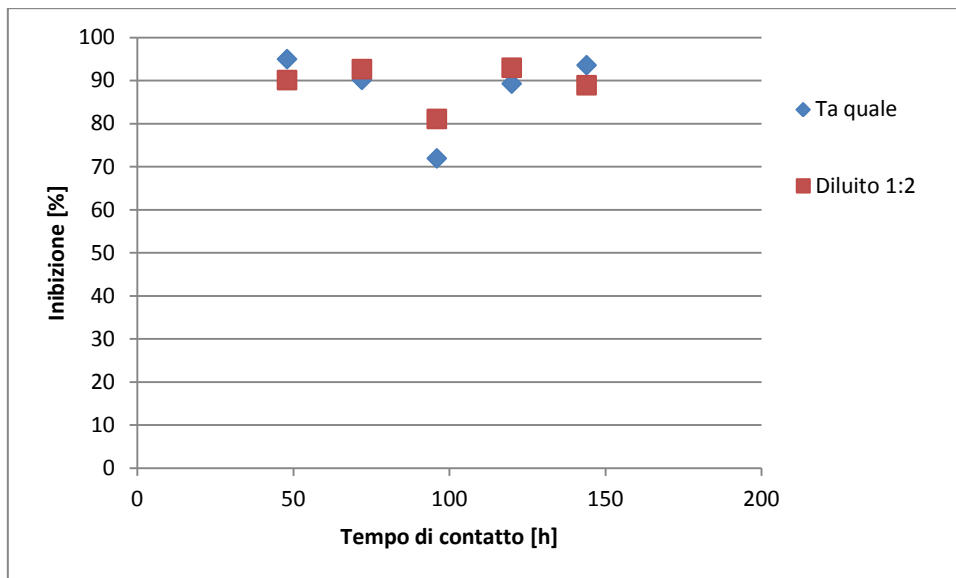


Figura 4.14 Valori di inibizione nel tempo dell'influenza tal quale e diluito 1:2 dell'impianto4b

- Effluente

Anche in questo caso le prove effettuate sono di difficile interpretazione. Ciò è dovuto a problemi di tipo sperimentale legati alla tenuta delle bottiglie, talvolta non proprio affidabile durante questa prova sommata all'incompatibilità del refluo con l'attività anammox. Fin da subito entrambe le bottiglie contenenti il refluo tal quale hanno dato problemi in termini di consumo del nitrito iniettato. Dopo 48 ore di contatto, in ogni bottiglia contenente il refluo tal quale si erano accumulati 100 mgNO<sub>2</sub>-N L<sup>-1</sup> cioè la biomassa non è stata in grado di consumare il substrato somministrato nei due spike effettuati. Il fatto che si fossero effettuati due spike consecutivi senza che si fosse consumato il substrato del primo spike, è stato dovuto ad una cattiva interpretazione dei dati. A questo punto si è deciso di lasciare le bottiglie nell'agitatore senza fare ulteriori spike e valutare la procedura da effettuare di volta in volta nei giorni successivi in base alla risposta in termini di consumo.

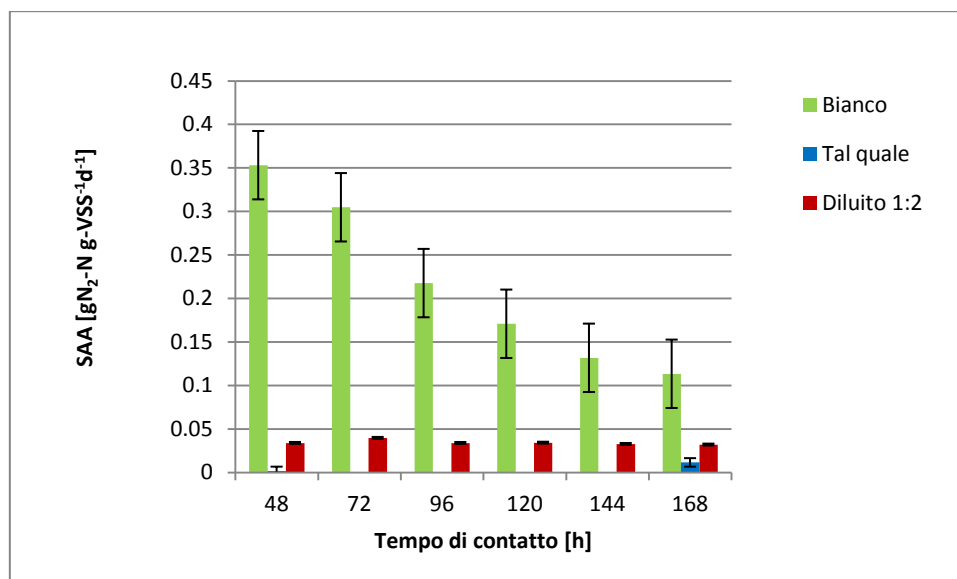


Figura 4.15 SAA ottenuta dalla prova condotta sull'effluente tal quale e diluito 1:2 dell'Impianto4b

L'analisi sul bianco è la stessa che per l'influenza dell'Impianto4b in quanto le prove sono state svolte contemporaneamente e con lo stesso bianco di confronto per entrambe. Dalla Figura 4.15 si evince che il campione con refluo diluito 1:2 ha un andamento costante nel tempo ma comunque molto basso, inferiore a  $0.05 \text{ gN gSSV}^{-1}\text{d}^{-1}$ . Per quanto riguarda l'attività del tal quale, è praticamente inesistente con valori molto inferiori a  $0.05 \text{ gN gSSV}^{-1}\text{d}^{-1}$  e tempi di contatto dell'ordine del centinaio di ore. Come si vede dalla Figura 4.16 infatti, la percentuale di inibizione sul tal quale è quasi del 100%. Per il diluito invece l'inibizione diminuisce all'aumentare del tempo di contatto passando dal 90% al 70% circa. Questi alti valori di inibizione, sono giustificabili se si considerano le caratteristiche del refluo a contatto con la biomassa. Un aspetto molto importante riguarda la conducibilità, molto elevata, pari a  $23.1 \text{ mS cm}^{-1}$  e quindi un'alta concentrazione di sali che inibisce l'attività anammox. Un secondo aspetto da non sottovalutare riguarda le condizioni operative dell'impianto da cui il refluo deriva e che riguardano l'aggiunta di un polielettrolita e di metanolo durante alcune fasi del processo. Il polielettrolita viene inserito alla fine della fase di digestione anaerobica dei rifiuti organici per aumentare l'efficienza di separazione solido/liquido mentre, il metanolo viene aggiunto nella fase di post-denitrificazione. Il polielettrolita non ha influenza certa sull'attività anammox ma alcuni esperimenti non presenti in letteratura hanno mostrato che alcuni di essi causano inibizione all'attività mentre si pensa che il dosaggio di metanolo in fase di post-denitrificazione formi aldeidi, nocive per gli anammox. Il diluito invece, caratterizzato da una conducibilità di  $15 \text{ mS cm}^{-1}$ , mostra un

adattamento alla salinità nel tempo: la SAA si mantiene, seppur bassa, costante durante tutta la prova. In questo caso le percentuali di inibizione non risultano significative perché il bianco non ha un comportamento costante nel tempo.

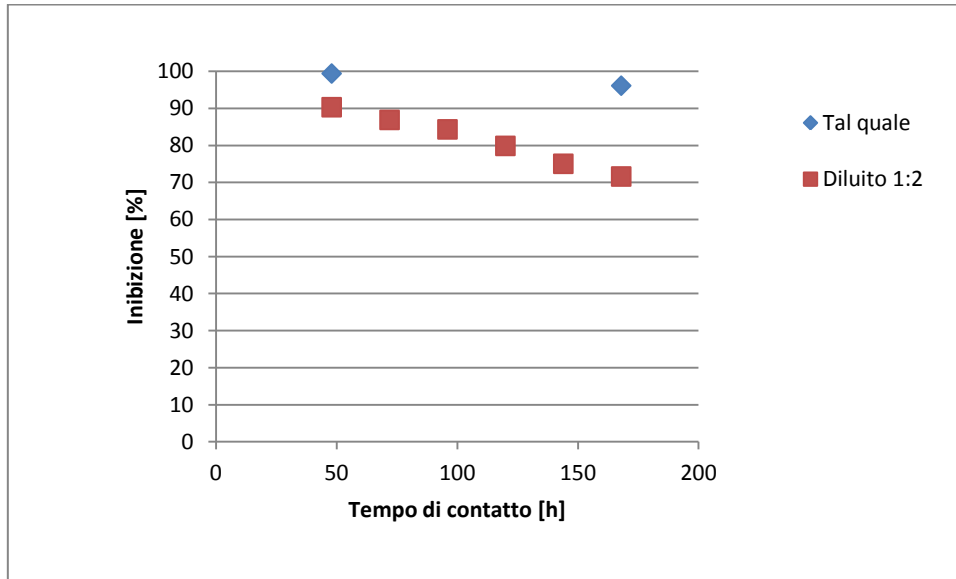
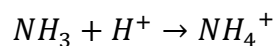


Figura 4.16 Valori di inibizione nel tempo dell'effluente tal quale e diluito 1:2 dell'Impianto4b

#### 4.2.6 Prova di inibizione da ammoniacca

Una prova in batch è stata effettuata per valutare l'inibizione ad alte concentrazioni di ammoniacca. Oltre al bianco, la prova è stata condotta preparando due soluzioni sintetiche a concentrazioni rispettivamente di  $1.5 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1}$  e  $3 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1}$ . Durante questa prova, lo spike alle bottiglie contenenti la soluzione concentrata di ammonio è stato fatto solo con nitrito e bicarbonato ed è stato ripetuto 6 volte per il bianco e per la soluzione concentrata  $1.5 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1}$ , 3 volte per la soluzione con ammonio concentrato  $3 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1}$ .

L'equilibrio ammonio-ammoniacca dipende dal pH secondo la reazione che segue:



La concentrazione di ammoniacca presente nelle due soluzioni sintetiche si calcola con la formula seguente (Anthonisen et al., 1976):

$$[\text{NH}_3] = \frac{\text{TAN} \cdot 10^{\text{pH}}}{\exp\left(\frac{6344}{T + 273}\right) + 10^{\text{pH}}}$$

dove:



TAN è la concentrazione di azoto ammoniacale [ $\text{mgN L}^{-1}$ ];

T è la temperatura [ $^{\circ}\text{C}$ ].

La soluzione concentrata  $1.5 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1}$ , per pH di 7.4 e alla temperatura di  $35^{\circ}\text{C}$  ha una concentrazione di ammoniaca di  $41.5 \text{ mgNH}_3\text{-N L}^{-1}$ . La soluzione concentrata  $3 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1}$ , per pH di 7.6 e temperatura di  $35^{\circ}\text{C}$  ha una concentrazione di ammoniaca di  $161 \text{ mgNH}_3\text{-N L}^{-1}$ . Alla fine della prova, le concentrazioni di ammoniaca calcolate dalla formula sopra esposta, erano di  $64.8 \text{ mgNH}_3\text{-N L}^{-1}$  e  $200 \text{ mgNH}_3\text{-N L}^{-1}$ . C'è stato quindi un aumento della concentrazione di ammoniaca libera causato dall'aumento del pH come conseguenza dell'attività alcalinizzante anammox.

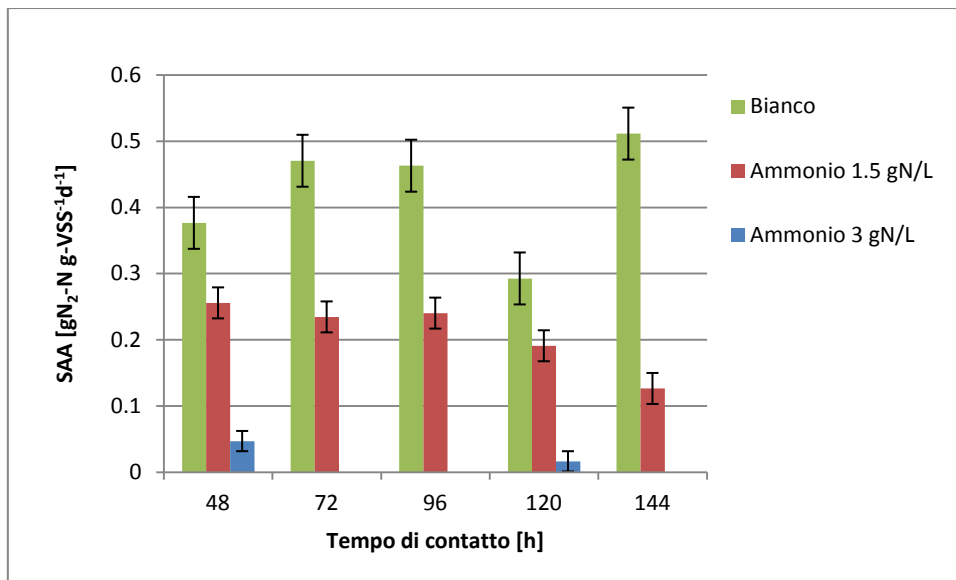


Figura 4.17 SAA ottenuta dalla prova condotta con soluzioni sintetiche concentrate  $1.5 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1}$  e  $3 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1}$

Dalla Figura 4.17 si evince che l'attività specifica nelle condizioni di  $3 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1}$  di ammonio è completamente compromessa e diminuisce all'aumentare del tempo di contatto. Per quanto riguarda invece l'attività registrata con la soluzione concentrata a  $1.5 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1}$  di ammonio, è circa la metà del bianco. Se fino a 96 ore di contatto risulta maggiore di  $0.2 \text{ gN}_2\text{-N gSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , diminuisce anch'essa all'aumentare del tempo arrivando, in corrispondenza delle 144 ore di contatto, a poco più di  $0.1 \text{ gN}_2\text{-N gSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ . C'è quindi una stabilità dell'attività durante un lasso di tempo limitato e pari a 100 ore alla concentrazione di ammonio  $1.5 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1}$  e un decadimento dell'attività per un prolungamento del tempo di contatto. Oltre le 100 ore si registra infatti un netto

aumento dell'inibizione che passa dal 50% all'80%, come dimostrato dall'andamento dalla Figura 4.18.

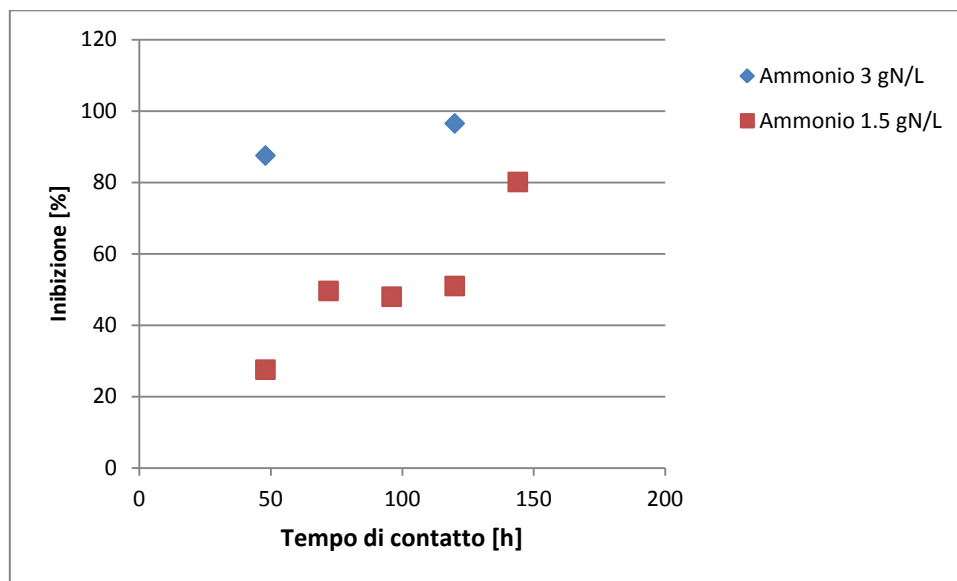


Figura 4.18 Valori di inibizione nel tempo con soluzioni sintetiche concentrate  $1.5 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1}$  e  $3 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1}$

#### 4.2.7 Prove di salinità

- La prova di salinità per il confronto tra biomassa1 e biomassa2 è stata condotta mettendo le biomasse a contatto con la soluzione madre e con una soluzione sintetica con conducibilità di circa  $10 \text{ mS cm}^{-1}$ . Il tenore di salinità voluto, si è ottenuto aggiungendo alla soluzione madre  $2.6 \text{ g L}^{-1}$  di NaCl e  $1.89 \text{ g L}^{-1}$  di KCl, così da rispettare il rapporto tra  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Cl}^-$  riscontrato nel caso del refluo aerato dell'Impianto1.

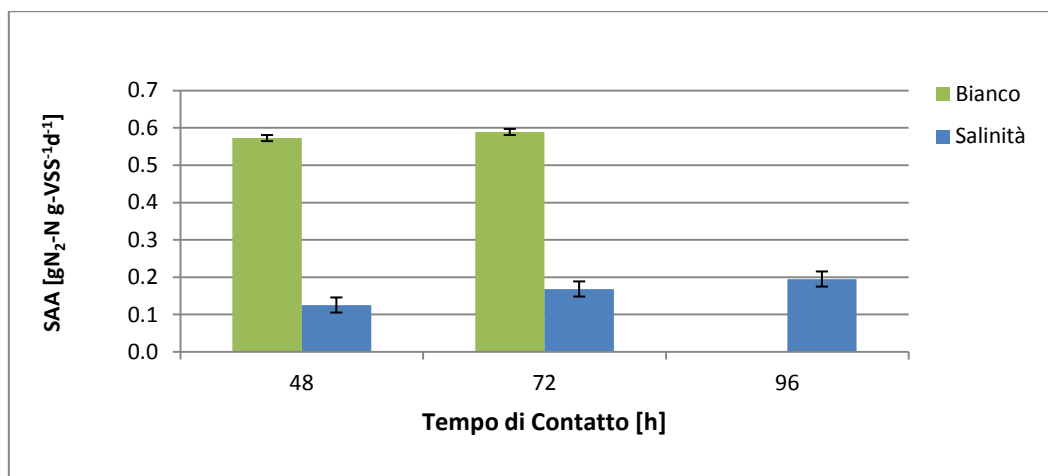


Figura 4.19 SAA ottenuta dalla prova con soluzione salina sulla biomassa1

La prova del bianco è durata 72 ore perché il valore di SAA ottenuto si è mostrato stabile fin dall'inizio della prova e non si è ritenuto opportuno continuare con ulteriori spike.

La Figura 4.19 mostra che la risposta della biomassa1 allo shock salino è quella di una stabilizzazione a partire dalle 48 ore di contatto. L'attività specifica si stabilizza attorno al valore di  $0.2 \text{ gN}_2\text{-N gSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ .

I valori di SAA della biomassa2 ottenuti con la prova di salinità, alle stesse condizioni della biomassa1, sono rappresentati in Figura 4.20.

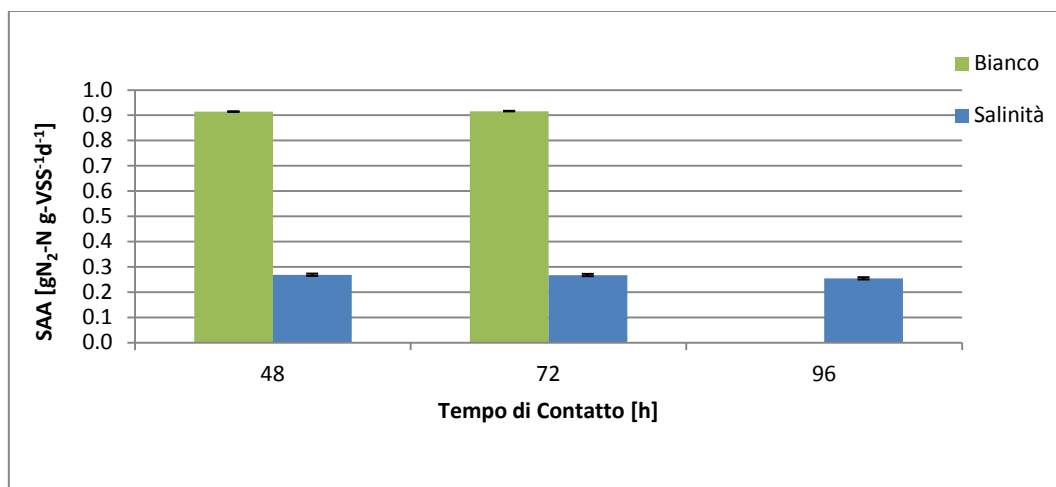


Figura 4.20 SAA ottenuta dalla prova con soluzione salina sulla biomassa2

In generale, la biomassa2 è caratterizzata da un'attività specifica maggiore rispetto alla biomassa1. Il valore di SAA su cui si stabilizza è maggiore di  $0.2 \text{ gN}_2\text{-N gSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$  già a partire dalle 48 ore di contatto. La differenza tra le attività registrate dalle due biomasse è visibile dalle percentuali di inibizioni calcolate e rappresentate in Figura 4.21. Mentre la biomassa2 subisce solo all'inizio lo shock salino, infatti il valore di inibizione si mantiene pari al 70% per tutta la durata della prova, la biomassa1 sembra aver bisogno di qualche ora in più per acclimatarsi alle nuove condizioni, portandosi anch'essa sul valore di inibizione del 70%.

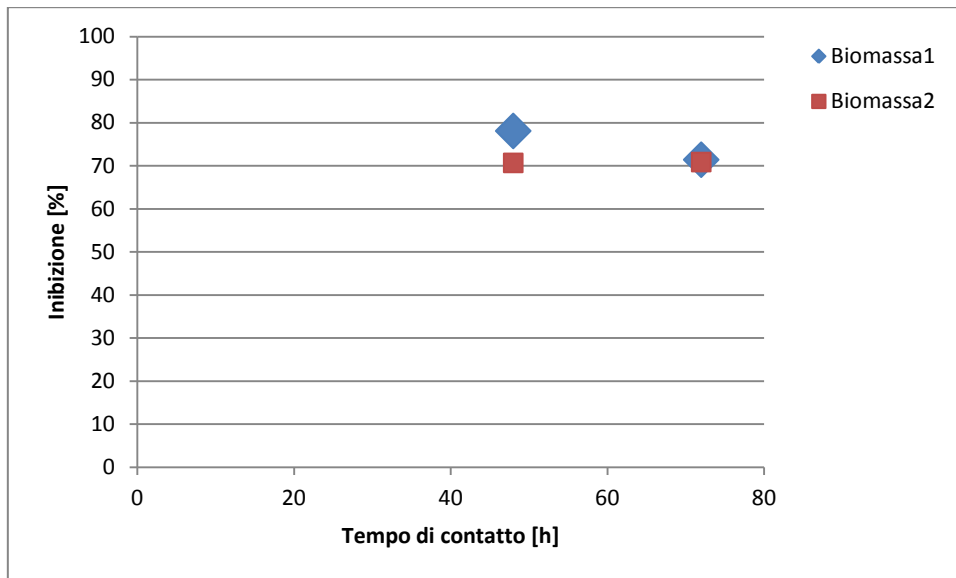


Figura 4.21 Valori di inibizione nel tempo per biomassa1 e biomassa2 con soluzione salina

Il tenore di salinità cui la biomassa è stata sottoposta in questa prova è confrontabile con il refluo uscente dalla fase di post-aerazione dell'Impianto1. La prova precedentemente descritta, effettuata con la biomassa1 restituisce un'inibizione compresa tra l'80% e il 90%, più alta di quella ottenuta con la prova di salinità con refluo sintetico. Le motivazioni di questa differenza risiedono nel tipo di refluo alimentato: il refluo sintetico è stato preparato a partire dalla soluzione madre a cui sono stati aggiunti solo i sali necessari mentre la prova sul refluo dell'Impianto1 è stata condotta con un refluo reale che contiene naturalmente diversi componenti inibenti oltre la salinità che contribuiscono alla ulteriore diminuzione dell'attività batterica.

- La biomassa estratta dal reattore per poter consentire il secondo inoculo, è stata utilizzata per una prova batch di 3 giorni per capire qual è il suo comportamento a diverse concentrazioni di sali dopo essere stata esposta a conducibilità di circa  $22 \text{ mS cm}^{-1}$  per quasi 50 giorni. La prova si è svolta mettendo a contatto la biomassa con soluzione madre con conducibilità di  $6.3 \text{ mS cm}^{-1}$ , con soluzione sintetica con conducibilità di circa  $12 \text{ mS cm}^{-1}$ , pari a quella del post-aerazione dell'impianto1 (salinità Impianto1), e infine con soluzione sintetica con conducibilità di circa  $24 \text{ mS cm}^{-1}$ , come l'influente dell'Impianto4b (salinità Impianto4b).

I risultati ottenuti sono mostrati in Figura 4.22.

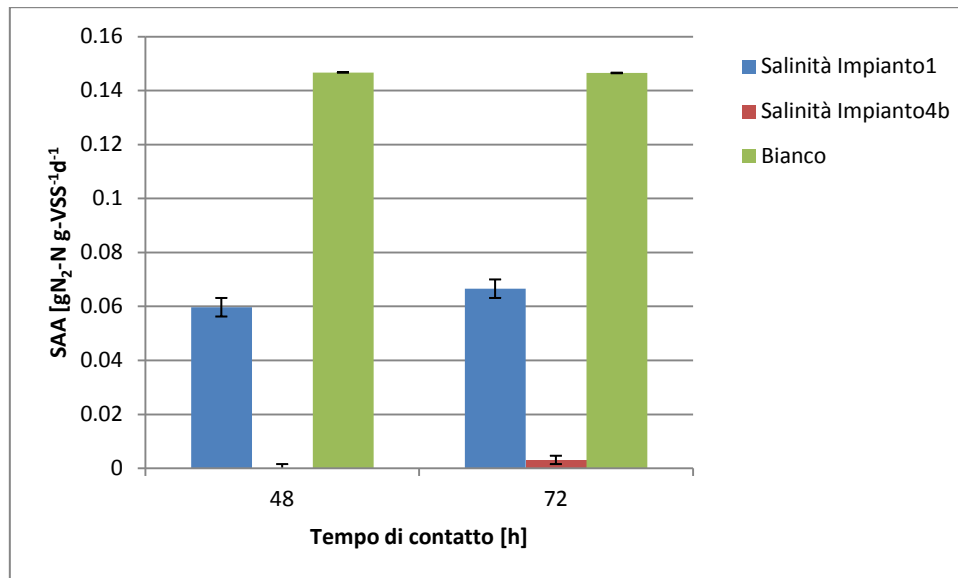


Figura 4.22 SAA ottenuta dalla prova con soluzioni saline sull'inoculo della FASE1 del reattore SBR

La biomassa a contatto con la soluzione madre è caratterizzata da una produzione specifica più alta rispetto alle altre, maggiore di  $0.14 \text{ gN}_2\text{-N gSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , a partire dalle 48 ore di contatto. Si registra quindi un buon adattamento a condizioni meno saline rispetto alle precedenti forse facilitato dal fatto che, la biomassa prima di essere messa nella bottiglie a contatto con la soluzione madre, è stata lavata con una soluzione a conducibilità intermedia e pari a  $7.8 \text{ mS cm}^{-1}$ . Per quanto riguarda la biomassa a contatto con il refluo salinità Impianto1, fin da subito ha mostrato un'attività molto stabile e attorno ai  $0.06 \text{ gN}_2\text{-N gSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ . Per quanto riguarda invece l'attività della biomassa a contatto con il refluo salinità Impianto4b, essa risulta praticamente assente: sono state necessarie 72 ore per arrivare alla produzione volumetrica di  $\text{N}_2$  pari a quella del bianco con conseguente valore di SAA di  $0.003 \text{ gN}_2\text{-N gSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ; il valore di inibizione per questa biomassa è del 97%. La Figura 4.23 mostra le inibizioni rispetto al bianco per le due soluzioni sintetiche saline. La percentuale di inibizione della biomassa a contatto con salinità Impianto1 è di circa il 60%.

In conclusione, la biomassa passando dalla soluzione di partenza con conducibilità di  $22 \text{ mS cm}^{-1}$  a soluzioni meno saline, recupera la sua attività quanto più il gap salino è elevato. Il dato ottenuto è coerente con quanto trovato da Jin et al., 2011 rispetto al recupero di attività passando da una soluzione concentrata  $30 \text{ gNaCl L}^{-1}$  ( $53 \text{ mS cm}^{-1}$ ) a una con concentrazione nulla di sale.

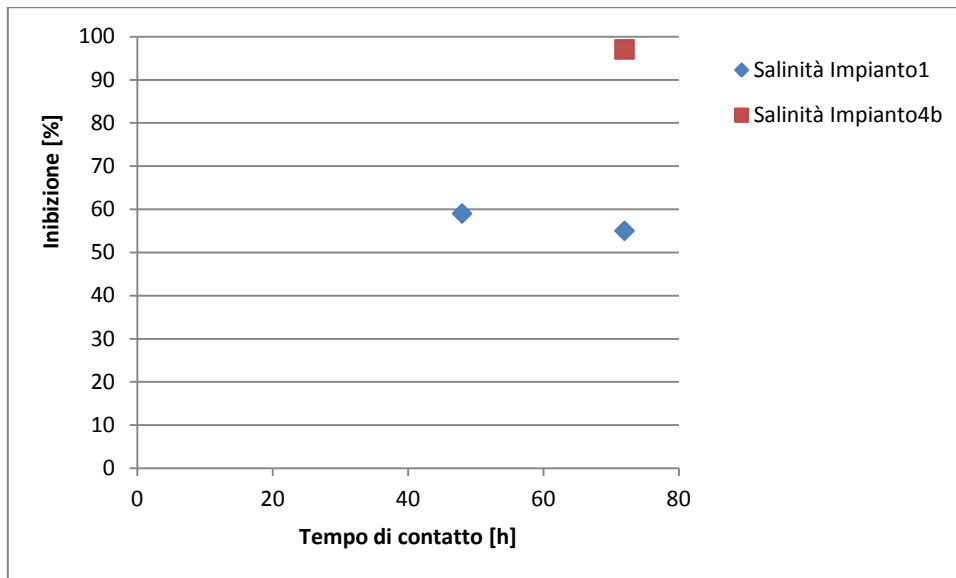


Figura 4.23 Valori di inibizione nel tempo con soluzioni saline sull'inoculo della FASE1 del reattore SBR

#### 4.2.8 Considerazioni conclusive sulle prove batch

Le valutazioni sul comportamento della biomassa in funzione del mezzo nel quale sono immessi, dipendono quasi esclusivamente dalle caratteristiche del mezzo stesso. Nelle prove svolte e finora descritte, l'elemento che più contraddistingue i singoli reflui è la conducibilità che dipende dalla concentrazione di cloruri. Di seguito viene riportata la Figura 4.24 che mette in relazione la conducibilità espressa in  $\text{ms cm}^{-1}$  dei reflui trattati con le percentuali di inibizioni medie sui reflui tal quali e diluiti che si sono ottenute.

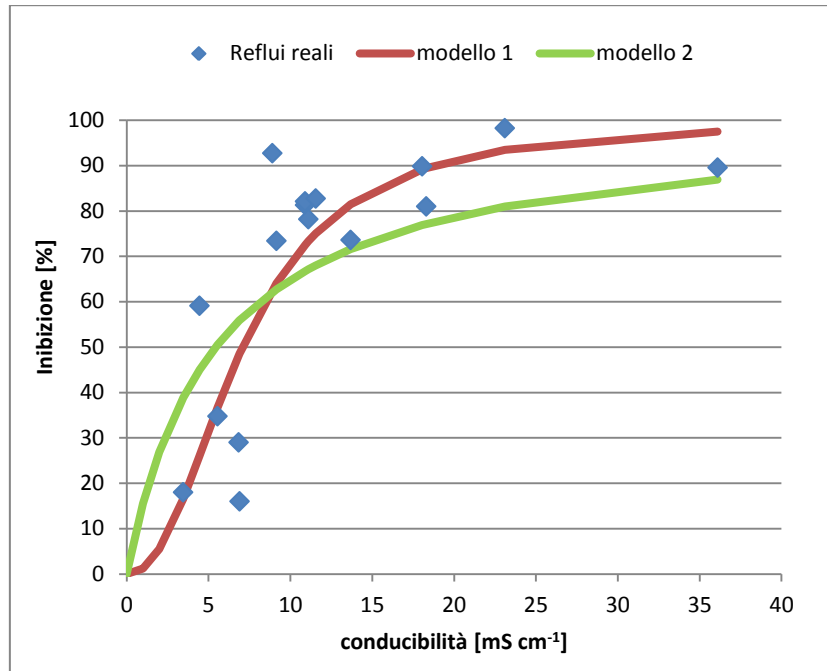


Figura 4.24 Valori di inibizione in funzione della conducibilità dei reflui tal quali e diluiti impiegati durante le prove batch e curve dei modelli 1 e 2

Come si può notare dal grafico, c'è una chiara relazione tra conducibilità del refluo e percentuale di inibizione. I punti ottenuti e riportati in Figura 4.24 sono stati confrontati con due modelli: il modello di inibizione non competitiva modificata (modello 1) e il modello di inibizione non competitiva (modello 2). Il modello 1 è rappresentato dalla seguente equazione:

$$y = 1 - \frac{1}{1 + \left(\frac{x}{k_1}\right)^{k_2}} \cdot 100$$

dove:

y è l'inibizione percentuale;

x è la conducibilità;

$k_1$  e  $k_2$  sono due costanti,  $k_1$  rappresenta la  $IC_{50}$  cioè il valore di conducibilità per il quale si ottiene un'inibizione pari al 50%.

I valori calcolati di  $k_1$  e  $k_2$  sono rispettivamente di 7.1 e 2.2. Il valore di  $R^2$  ottenuto è di 0.73.

Il modello 2 è invece descritto dalla seguente equazione:

$$y = 1 - \frac{k}{k + x} \cdot 100$$

dove

y è l'inibizione percentuale;

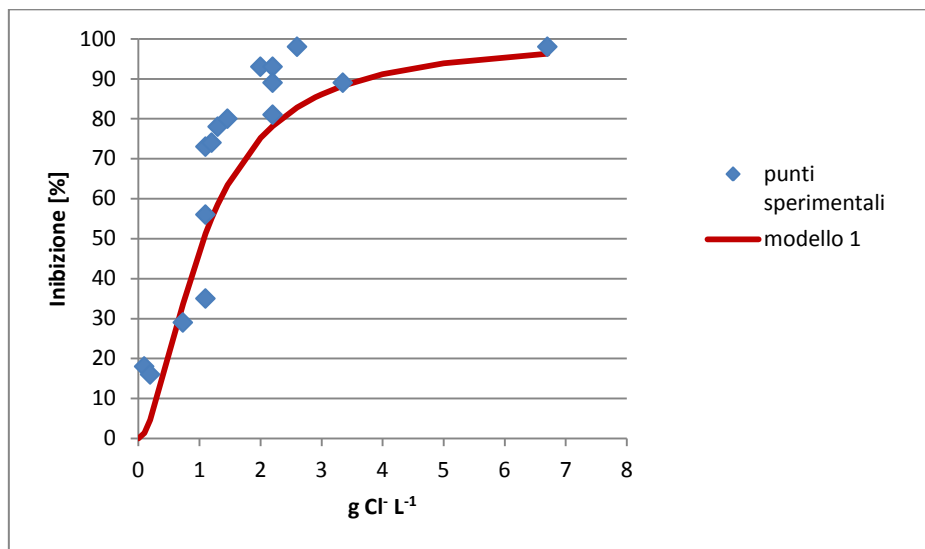
$x$  è la conducibilità;

$k$  è una costante, corrispondente alla  $IC_{50}$ .

Applicando questo modello, si ricava un valore per la  $k$  pari a 5.4, con un  $R^2$  di 0.69.

I punti di inibizione in funzione della conducibilità, sono meglio rappresentati dal modello 1.

La Figura 4.25 mostra il legame tra concentrazione di cloruri e inibizione. Poiché la conducibilità dipende in larga parte dalla concentrazione di cloruri, i punti hanno lo stesso andamento della Figura 4.24 e sono ben interpretati dal modello 1 di parametri  $k_1=1$  e  $k_2=1.8$ . Anche in questo caso la costante  $k_1$  corrisponde al valore di  $IC_{50}$  ed è pari a  $1 \text{ gCl}^- \text{ L}^{-1}$ .



**Figura 4.25** Valori di inibizione in funzione della concentrazione di cloruri nei reflui tal quali e diluiti impiegati durante le prove batch

Inibizioni minori dell'80% si registrano per concentrazioni di cloruri minori di  $2 \text{ g L}^{-1}$ , invece per concentrazioni maggiori, la percentuale di riduzione di SAA è compresa tra l'80% e il 100%. Nella Tabella 4.1 riportata di seguito, vengono riassunti tutti i dati ottenuti da tutte le prove batch svolte sui reflui degli impianti 1, 2, 3 e 4. Nella Tabella 4.2, invece vengono riportati i valori riassuntivi ottenuti sulle prove dei reflui diluiti 1:2.



Tabella 4.1 Valori di SAA, inibizione e conducibilità dei reflui tal quale

	<b>Tipo refluo</b>	<b>SAA</b> [gN <sub>2</sub> -N gSSV <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> ]	<b>Inibizione</b> ±dev.st. [%]	<b>Conducibilità</b> [mS cm <sup>-1</sup> ]
<b>IMPIANTO1</b>	Influente	0.15	81±10	19.1
	Post-aerazione	0.14	78±9	10.9
	Effluente	0.22	81±5	10.8
<b>IMPIANTO2</b>	Influente	0.20	16±26	5.7
<b>IMPIANTO3a</b>	Influente	0.04	80±2	15
<b>IMPIANTO3b</b>	Influente	0.02	93±2	8.9
<b>IMPIANTO3c</b>	Influente	0.05	74±6	13.2
<b>IMPIANTO4a</b>	Influente	-	-	32.1
	Effluente	0.004	99±3	26.1
<b>IMPIANTO4b</b>	Influente	0.09	90±9	36.1
	Effluente	0.01	98±2	23.1

I dati riportati in Tabella 4.1 mostrano un legame tra conducibilità e percentuale di inibizione: all'aumentare della conducibilità, aumenta l'inibizione. I reflui sicuramente più inibiti, con percentuali dell'ordine del 90% sono quelli dell'Impianto4 caratterizzati da conducibilità comprese tra 23 e 36 mS cm<sup>-1</sup>. Il refluo meno inibito è l'influente all'Impianto2 con inibizione del 16%. Considerando invece i dati ottenuti sui reflui diluiti, i valori della SAA sono superiori rispetto a quelli calcolati sul refluo tal quale e di conseguenza le inibizioni percentuali risultano più basse. Il motivo è da ricondursi alla diluizione del refluo che causa un dimezzamento della conducibilità e di altri potenziali fattori inibenti del mezzo con cui la biomassa viene a contatto. La biomassa a contatto con alcuni di questi reflui diluiti ha subito una drastica riduzione dell'inibizione rispetto all'inibizione registrata dalla biomassa a contatto con il refluo tal quale. Per esempio l'inibizione sul post-aerazione dell'Impianto1 passa dal 78% al 32% e l'inibizione sull'influente dell'Impianto3c passa dal 74 al 29%. Entrambi i reflui tal quali sono caratterizzati da una conducibilità superiore ai 10 mS cm<sup>-1</sup> che si riduce, con la diluizione, a 5.5 mS cm<sup>-1</sup> e 6.6 mS cm<sup>-1</sup> rispettivamente. Non c'è invece grossa differenza tra i valori di inibizione calcolati sul refluo tal quale e sul diluito dell'Impianto4. È difficile ottenere valori di SAA maggiori di 0.09 gN<sub>2</sub>-N gSSV<sup>-1</sup> L<sup>-1</sup> per il tal quale di 0.07 gN<sub>2</sub>-N gSSV<sup>-1</sup> L<sup>-1</sup> per il diluito. La spiegazione può essere ottenuta osservando i punti riportati in Figura 4.24: l'inibizione varia notevolmente per piccole variazioni di conducibilità nell'intervallo compreso tra 0 e 10 mS cm<sup>-1</sup>, resta più o meno invariata per conducibilità maggiori di 10 mS cm<sup>-1</sup>. La diluizione del refluo influente all'Impianto3c e del post-aerazione dell'Impianto1 porta la conducibilità da 10 mS cm<sup>-1</sup> a 6.6 mS cm<sup>-1</sup> e 5.5 mS cm<sup>-1</sup> rispettivamente cioè proprio nel range di valori di

conducibilità in cui si registra una grande variazione dell'inibizione. La biomassa a contatto con i reflui dell'impianto4 invece non subisce una diminuzione dell'inibizione perché il valore di conducibilità di partenza è talmente alto che anche con la diluizione non si scende al di sotto di  $10 \text{ mS cm}^{-1}$  di conducibilità.

Tabella 4.2 Valori di SAA, inibizione e conducibilità dei reflui diluiti 1:2

	Tipo reflu	SAA [ $\text{gN}_2\text{-N gSSV}^{-1}\text{d}^{-1}$ ]	Inibizione $\pm\text{dev.st. [\%]}$	Conducibilità [ $\text{mS cm}^{-1}$ ]
<b>IMPIANTO1</b>	Influente dil. 1:2	0.17	73 $\pm$ 29	9.6
	Post-aerazione dil. 1:2	0.42	32 $\pm$ 28	5.5
	Effluente dil. 1:2	-	-	5.4
<b>IMPIANTO2</b>	Influente dil. 1:2	0.22	18 $\pm$ 20	2.8
<b>IMPIANTO3a</b>	Influente dil. 1:2	0.59	-14 $\pm$ 74	7.5
<b>IMPIANTO3b</b>	Influente dil. 1:2	0.20	60 $\pm$ 10	4.5
<b>IMPIANTO3c</b>	Influente dil. 1:2	0.23	29 $\pm$ 8	6.6
<b>IMPIANTO4a</b>	Influente dil. 1:2	0.09	77 $\pm$ 10	16.1
	Effluente dil. 1:2	0.08	82 $\pm$ 4	13.1
<b>IMPIANTO4b</b>	Influente dil. 1:2	0.07	90 $\pm$ 4	18.1
	Effluente dil. 1:2	0.03	89 $\pm$ 7	11.6

Per quanto riguarda le prove con i mezzi sintetici, quelle che risultano significative sono quelle di salinità sulle diverse biomasse: il confronto tra la biomassa1 e la biomassa2 in termini di percentuale di inibizione riportati in Figura 4.21 porta ad una migliore risposta della biomassa2. Poiché entrambi i campionamenti della biomassa sono stati effettuati dallo stesso impianto, trattando sempre lo stesso tipo di reflu, la spiegazione potrebbe risiedere nel lungo periodo di stoccaggio in laboratorio cui la biomassa1 è stata sottoposta rispetto alla biomassa2. Seppur sempre monitorata in termini di nitrato presente, la biomassa1 non era messa in condizione di crescita e di conseguenza il lungo periodo di stoccaggio potrebbe aver causato una maggiore deficienza nell'attività oltre che ad un possibile decadimento di parte della biomassa stessa.

Per quanto riguarda la prova effettuata per valutare l'inibizione da ammoniaca, i risultati ottenuti mostrano un'inibizione maggiore sulla biomassa a contatto con la soluzione a concentrazione di  $3 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1}$ , compresa tra l'85% e il 95%. Le bottiglie con concentrazione di  $1.5 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1}$  hanno manifestato un comportamento irregolare nel tempo. Le percentuali di inibizione registrate sono caratterizzate da salti in corrispondenza delle 60 e 130 ore di contatto, dovuti probabilmente ad un cambiamento dell'equilibrio ammonio-ammoniaca più marcato in quel periodo. Il tempo che

intercorre tra un salto e l'altro dell'inibizione è circa lo stesso e di circa 60 ore di contatto.

### 4.3 Risultati della gestione del reattore SBR

In questo paragrafo vengono riportati i risultati ottenuti durante l'attività svolta con il reattore SBR. I risultati vengono presentati per la FASE1 e per la FASE2 separatamente.

#### 4.3.1 FASE1

La FASE1 di attività del reattore, si è svolta per 48 giorni. L'inoculo utilizzato è quello corrispondente alla biomassa2 di cui si è già discusso. L'alimento utilizzato nell'intero periodo è stata esclusivamente una soluzione sintetica preparata a partire dalla soluzione madre e aggiungendo i sali necessari ad ottenere le condizioni operative volute. Le caratteristiche della soluzione utilizzata sono sintetizzate in Tabella 3.7.

La figura 4.26 mostra l'andamento nel tempo del carico di nitrito applicato (NLR) espresso come  $\text{gNO}_2\text{-N L}^{-1} \text{d}^{-1}$  e il rateo massimo di consumo misurato durante le prove di attività.

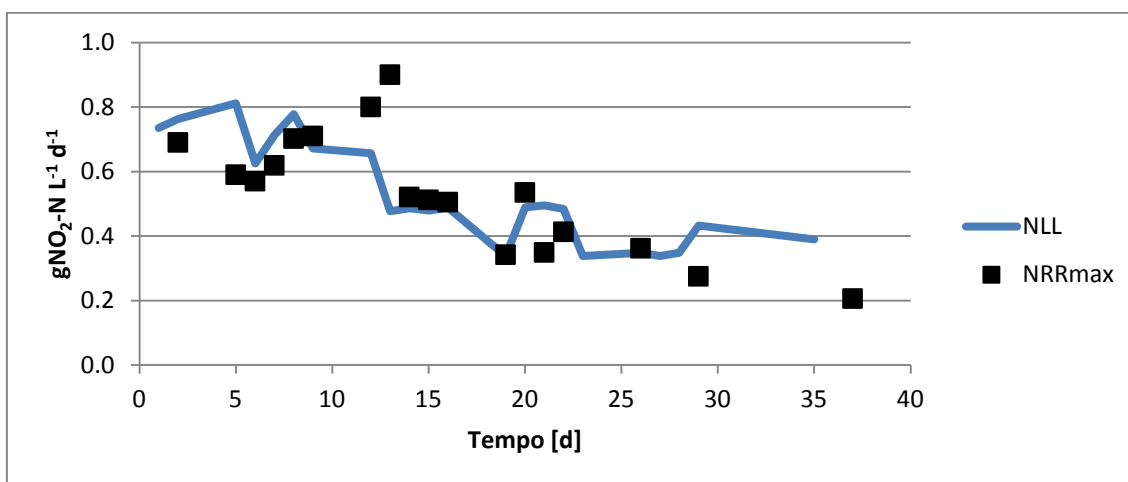


Figura 4.26 Andamento dell'NLR e dell'NRRmax nel tempo durante la FASE1

La figura mostra un'attività massima decrescente con il tempo passando da  $0.7 \text{ gNO}_2\text{-N L}^{-1} \text{d}^{-1}$  a  $0.2 \text{ gNO}_2\text{-N L}^{-1} \text{d}^{-1}$ ; di conseguenza il carico è stato diminuito per consentire il consumo del substrato alimentato. L'obiettivo originario era quello di alimentare un carico pari a  $0.625 \text{ gNO}_2\text{-N L}^{-1} \text{d}^{-1}$ , tuttavia con il passare del tempo si è reso necessario diminuire il carico in ingresso. Il valore del carico applicato, dipende dal rateo di consumo del nitrito da parte della biomassa. Poiché l'obiettivo è quello di rimuovere il

substrato in ingresso, è necessario che il carico di substrato in ingresso sia minore del rateo di consumo del substrato stesso da parte della biomassa. Infatti, non devono verificarsi fenomeni di accumulo di nitrito all'interno del reattore in quanto, oltre che un substrato, il nitrito costituisce un inibente all'attività anammox.

Per diminuire il carico in ingresso, dal giorno 19 si è diminuita la concentrazione di  $\text{NO}_2$  e  $\text{NH}_4$  a  $0.94 \text{ gN L}^{-1}\text{d}^{-1}$ .

Tutta la durata della FASE1 è stata caratterizzata da incertezze riguardanti la determinazione delle cause che hanno portato alla diminuzione dell'attività massima anammox nel tempo. Per questo motivo, le prove di attività sono state ripetute anche più di una volta al giorno mettendo la biomassa in condizioni diverse e restituendo, nella maggior parte dei casi, dati non significativi. La Figura 4.26 mostra, per esempio in corrispondenza dei giorni 12 e 13, dei valori maggiori dell'attività massima calcolata rispetto al carico in ingresso. Questo induce a pensare che la biomassa era potenzialmente capace di rimuovere più substrato di quanto stesse facendo nella normale durata dei cicli giornalieri con il conseguente accumulo di nitrito nel reattore

I problemi che si sono riscontrati durante questa fase erano causati da diversi fattori legati al carico in ingresso, alla concentrazione di solidi volatili (SSV) inizialmente inoculati nel reattore, all'anomalia nel funzionamento di una elettrovalvola collegata alla bombola del gas e alla mancanza di micro e macro nutrienti oltre che all'elevata salinità nella soluzione di alimento.

Il carico in ingresso effettivo era maggiore di quello teorico perché la pompa di alimentazione non funzionava correttamente. Il volume alimentato non dipendeva dalla portata impostata e di conseguenza non è stato possibile trovare il valore di portata che consentisse di ottenere il carico in ingresso pari a quello teorico. Di conseguenza, quando il carico alimentato era troppo alto rispetto alla capacità di rimozione, si accumulava nitrito nel reattore.

Per quanto riguarda la concentrazione di solidi volatili, la quantità di biomassa inoculata è stata calcolata a partire da dati di inibizione che la biomassa stessa aveva registrato durante una prova manometrica a contatto con un refluo reale di pari caratteristiche (post-aerazione Impianto1, Figura 4.4) e sul rapporto SSV/SST calcolato in quella circostanza. Da un'analisi dei solidi presenti all'interno del reattore, si è riscontrato un

rapporto SSV/SST praticamente dimezzato rispetto a quello utilizzato per il calcolo della biomassa da inoculare. Si è deciso quindi di aumentare la concentrazione di biomassa nel reattore raddoppiando la quantità di biomassa [WW].

Un problema invece, di tipo pratico era legato al malfunzionamento di una delle due elettrovalvole collegate alla bombola di gas e al reattore. È stata riscontrata un'anomalia nel funzionamento dell'elettrovalvola che insufflava il gas direttamente nella frazione liquida per cui durante il periodo di funzionamento richiamava aria dall'esterno e inibiva l'attività batterica anammox. L'elettrovalvola è stata staccata e si è collegato il tubo del gas direttamente al tubo sottobattente e l'insufflazione del gas avveniva manualmente.

Risolti i problemi di tipo pratico, fatta eccezione per quello della pompa di alimento, si è cercato di capire se l'alimento preparato sinteticamente fosse costituito da sali e soluzioni che causassero l'inibizione dell'attività anammox. Diverse ipotesi sono state fatte in merito. Un test è stato effettuato per valutare una limitazione da mancanza di ferro: il giorno 26 è stata effettuata una prova di attività iniettando  $2.5 \text{ mg L}^{-1}$  di soluzione di ferro direttamente nel reattore. Per valutare la limitazione da assenza di ferro a lungo termine, la prova di attività è stata ripetuta il giorno 27: da una prova all'altra, si è avuto un raddoppiamento dell'attività, che è passata da  $0.389 \text{ gNO}_2\text{-N L}^{-1} \text{ d}^{-1}$  a  $0.673 \text{ gNO}_2\text{-N L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , facendo dedurre una limitazione da ferro. La mancanza di ferro nella soluzione era dovuta ad un errore nella preparazione della soluzione di alimento in cui venivano messe le soluzioni I e II in concentrazioni 10 volte maggiori rispetto al necessario. Questo ha portato alla precipitazione del ferro insieme ai solfati e agli altri sali erroneamente dosati in concentrazioni maggiori rendendo la quasi totalità del ferro non più solubile e quindi non più disponibile per i batteri anammox. La diminuzione dell'attività massima dovuta alla mancanza di ferro ha creato, a partire dal giorno 20 un salto nell'attività misurata. Il problema è stato risolto sia correggendo l'errore durante la preparazione della soluzione di alimento che modificando la ricetta della soluzione di ferro (soluzione I), in cui è stato aggiunto l'EDTA cioè un complessante acido che contribuisce a mantenere il ferro in forma solubile e ne ostacola la precipitazione. Altre prove sono state condotte per valutare una eventuale limitazione da carbonio inorganico e da micro-nutrienti senza ottenere risultati significativi.

Il problema sicuramente più importante e che unito agli altri sopraesposti non ha consentito una stabilizzazione dell'attività è legato all'alta conducibilità della soluzione alimentata, pari a  $20 \text{ mS cm}^{-1}$ . Un valore così alto di conducibilità è da attribuirsi all'aggiunta di sali necessari ad ottenere le concentrazioni di nitrito e ammonio desiderate. Il fattore salinità, quindi, ha determinato una forte inibizione della biomassa e unito agli altri fattori, non ha permesso una chiara comprensione del problema. Ad ogni modo, nel periodo di sperimentazione di questa fase, si può calcolare una diminuzione del 70% sull'attività massima.

- Stechiometria di reazione

L'analisi della stechiometria si effettua valutando i rapporti molari con cui vengono modificate le specie azotate  $\text{NO}_2/\text{NH}_4$  e  $\text{NO}_3/\text{NH}_4$  per effetto dei processi biologici e calcolati sulla base delle concentrazioni misurate in ingresso e in uscita dal reattore. Secondo la stechiometria anammox, questi rapporti valgono 1.32 e 0.26 rispettivamente. Le Figure 4.27 e 4.28 riportano il confronto tra  $\text{NO}_2/\text{NH}_4$  e  $\text{NO}_3/\text{NH}_4$  misurati e stechiometrici.

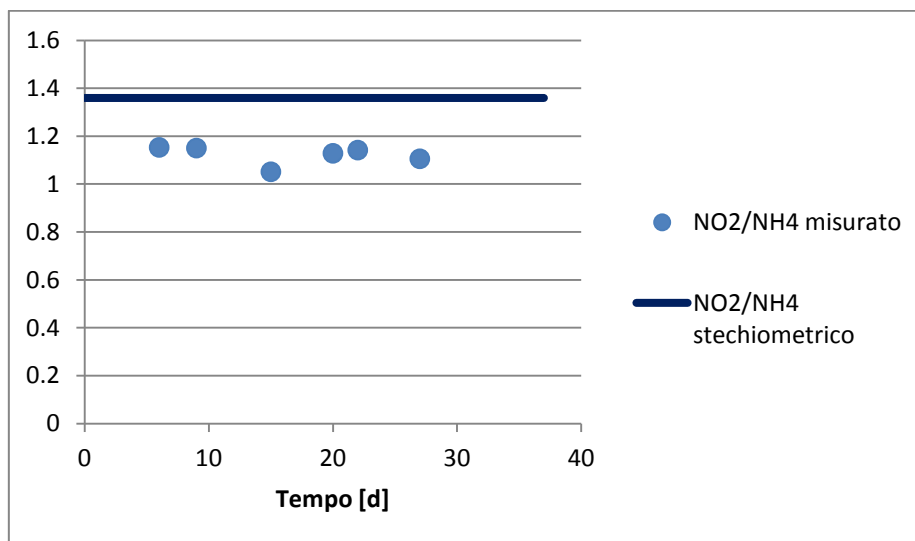


Figura 4.27 Confronto tra  $\text{NO}_2/\text{NH}_4$  misurato e stechiometrico nel tempo per la FASE1

Durante tutta la FASE1, il rapporto  $\text{NO}_2/\text{NH}_4$  si è mantenuto al di sotto di quello stechiometrico ma comunque costante attorno al valore di 1.13. Il fatto che il rapporto sia più basso è da attribuire all'attività eterotrofa che consuma  $\text{NO}_2$  trasformandolo in  $\text{N}_2$  sottraendolo agli anammox. Il fatto che esista un'attività eterotrofa nonostante in ingresso non ci sia sostanza organica in quanto il refluo alimentato è sintetico, dipende

dal fatto che c'è un decadimento batterico. È possibile che a decadere siano stati gli stessi batteri anammox come suggerito dalla riduzione notevole della loro attività a causa delle condizioni alle quali sono stati sottoposti.

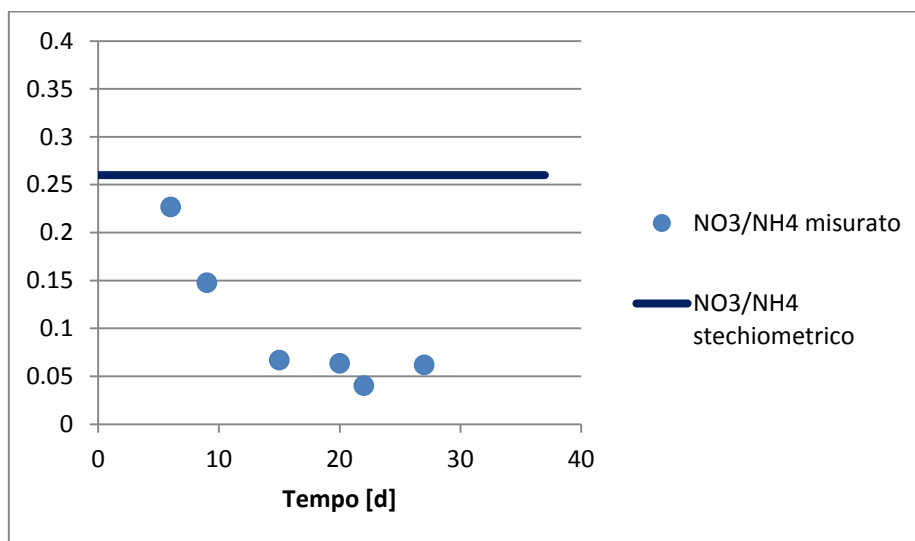


Figura 4.28 Confronto tra NO<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub> misurato e stechiometrico nel tempo per la FASE1

L'andamento del rapporto NO<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub> è diminuito nel tempo fino al giorno 15 per poi stabilizzarsi sul valore di 0.05, molto minore del valore 0.26 di stechiometria. Il motivo di un rapporto così basso potrebbe essere dovuto ad una bassa crescita della biomassa anammox che si misura in termini di nitrato prodotto oppure legata al consumo eterotrofo di nitrato. Infatti se gli anammox producono nitrato e contemporaneamente gli eterotrofi lo consumano, il rateo di produzione che si calcola è minore di quello effettivo. Nel paragrafo 4.3.2, riguardante la FASE2, vengono mostrati i conti che giustificano la diminuzione dei rapporti NO<sub>2</sub>/NH<sub>4</sub> e NO<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub> a causa dell'attività eterotrofa.

- Analisi dei solidi sospesi

La Figura 4.29 mostra l'andamento dei solidi sospesi in uscita dal reattore durante la FASE1. Non ci sono solidi in ingresso poiché la soluzione di alimento è preparata sinteticamente. L'analisi dei solidi in uscita è stata eseguita mediamente una volta a settimana a partire dai solidi scaricati durante i diversi cicli giornalieri. Questa analisi è utile per il calcolo del SRT (Solids Residence Time) del reattore.

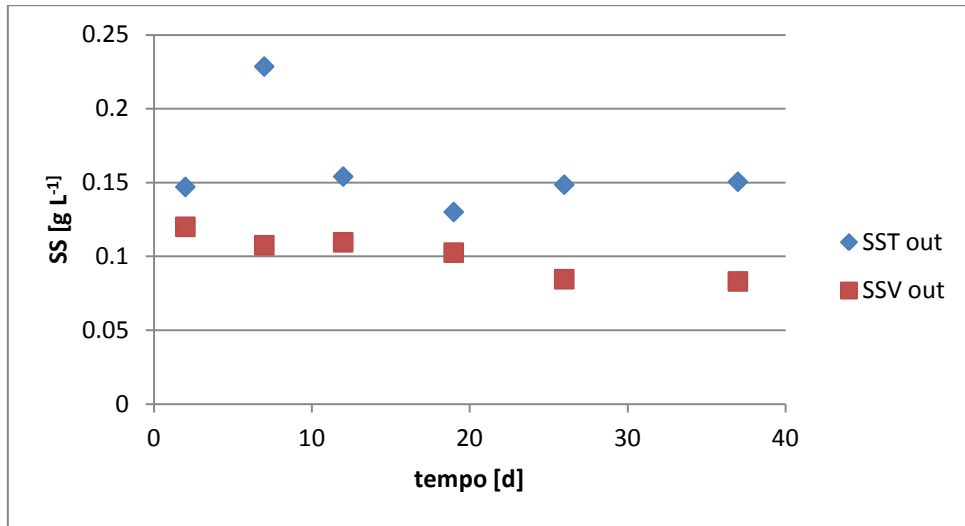


Figura 4.29 SST e SSV in uscita dal reattore

L'analisi dei solidi nel reattore invece si effettua a partire da un campione di biomassa prelevato attraverso la siringa di campionamento e misurandone quindi la concentrazione a partire dal volume noto campionato. La Tabella 4.3 mostra i valori di SST, SSV, SSV/SST medi nel reattore e nell'effluente. Il campionamento della biomassa all'interno del reattore è stato effettuato 3 volte, l'analisi dei solidi in uscita è stata effettuata 6 volte.

Tabella 4.3 SST, SSV e SSV/SST nel reattore e nell'effluente

	SST ± dev.std. [g L <sup>-1</sup> ]	SSV ± dev.std. [g L <sup>-1</sup> ]	SSV/SST ± dev.std.
Reattore	4.29 ± 0.3	3.17 ± 0.05	0.74 ± 0.04
Effluente	0.16 ± 0.04	0.10 ± 0.01	0.63 ± 0.15

L'SRT è definito come il rapporto tra la quantità di biomassa presente nel reattore e quella effluente. In formule:

$$SRT = \frac{x \cdot V}{q \cdot x_e + v \cdot x}$$

dove:

$x$  è la concentrazione di biomassa

$V$  è il volume della frazione liquida nel reattore

$q$  è la portata giornaliera



$v$  è il volume utilizzato per il campionamento della biomassa nel reattore

$x_e$  è la concentrazione di biomassa in uscita

Nel calcolo dei solidi in uscita dal reattore vengono considerati anche i solidi estratti per l'analisi della concentrazione di biomassa nel reattore (corrispondente al termine  $v \cdot x$ ).

Il valore medio calcolato di SRT è di 69 giorni.

#### 4.3.2 FASE2

La FASE2 inizia con il rinoculo del reattore con la biomassa<sup>3</sup>. Il rinoculo con nuova biomassa, si è reso necessario perché, prima di passare al trattamento del refluo reale, è necessario che l'attività della biomassa si stabilizzi. Poiché le condizioni a cui sono stati sottoposti i batteri durante la FASE1 hanno fatto sì che la loro attività non si stabilizzasse su dei valori costanti, non è stato possibile alimentare il refluo reale.

Durante la FASE2, dopo una settimana di alimentazione con il refluo sintetico, con le stesse caratteristiche della FASE1, si è passati all'alimento del refluo reale, proveniente dalla fase di post-aerazione dell'Impianto<sup>1</sup>. Il passaggio è stato possibile perché si è vista una stabilizzazione dell'attività di rimozione del nitrito. L'alimento preparato sinteticamente aveva concentrazione di ammonio e nitrito pari a  $0.94 \text{ gN L}^{-1}$  e un rapporto  $\text{NO}_2/\text{NH}_4$  pari a 1. La conducibilità della soluzione sintetica in ingresso era pari a  $13.5 \text{ mS cm}^{-1}$ , più bassa rispetto a quella della FASE1 perché sono stati sostituiti i sali utilizzati: al posto di  $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{NaHCO}_3$  e  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , si sono utilizzati solo  $\text{NaNO}_2$  e  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ , le cui concentrazioni sono riportate in Tabella 3.7. In questo modo si sono inseriti ammonio e bicarbonato con un unico sale limitando la conducibilità della soluzione.

Il refluo reale in alimento era anch'esso addizionato di ammonio e nitrito per ottenere le stesse concentrazioni dell'alimento sintetico. Poiché il refluo partiva da una conducibilità di  $10.8 \text{ mS cm}^{-1}$ , l'aggiunta dei sali ha causato l'aumento della conducibilità dell'influenza al reattore al valore di  $22 \text{ mS cm}^{-1}$ . In realtà la conducibilità all'interno del reattore era pari alla conducibilità effluente perché il reattore era completamente miscelato. La conducibilità all'interno del reattore è aumentata gradualmente e si è raggiunta una condizione stazionaria dopo 10 giorni. La Tabella 4.4 mostra la caratterizzazione del refluo tal quale prelevato cioè dall'Impianto<sup>1</sup> dopo la

fase di post-aerazione e la caratterizzazione dello stesso refluo utilizzato come alimento a seguito della filtrazione su filtri di carta e dell'aggiunta dei sali.

**Tabella 4.4** Caratteristiche principali del refluo tal quale e alimentato al reattore

Caratteristiche	IMPIANTO1	
	Tal Quale	Alimento
Conducibilità [mS cm <sup>-1</sup> ]	10	22
Alcalinità [mgCaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> ]	2560	2560
pH	7.7	7.7
ST [g L <sup>-1</sup> ]	7.82	n.d.
SV [g L <sup>-1</sup> ]	1.63	n.d.
SST [g L <sup>-1</sup> ]	0.17	0.29
SSV [g L <sup>-1</sup> ]	0.16	0.24
TKN [mgN L <sup>-1</sup> ]	121	1060
Ammonio [mgN L <sup>-1</sup> ]	27.8	968
Nitrito [mgN L <sup>-1</sup> ]	0.34	940
Nitrato [mgN L <sup>-1</sup> ]	6.00	6.00
COD [mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> ]	2060	1090
BOD <sub>5</sub> [mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> ]	212	212
BOD <sub>20</sub> [mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> ]	360	n.d.

La Figura 4.30 mostra l'andamento del carico applicato in termini di ammonio e il rateo massimo di consumo calcolato nel tempo. La linea tratteggiata separa la fase in cui si è alimentata la soluzione sintetica e il periodo in cui è stato alimentato il refluo reale.

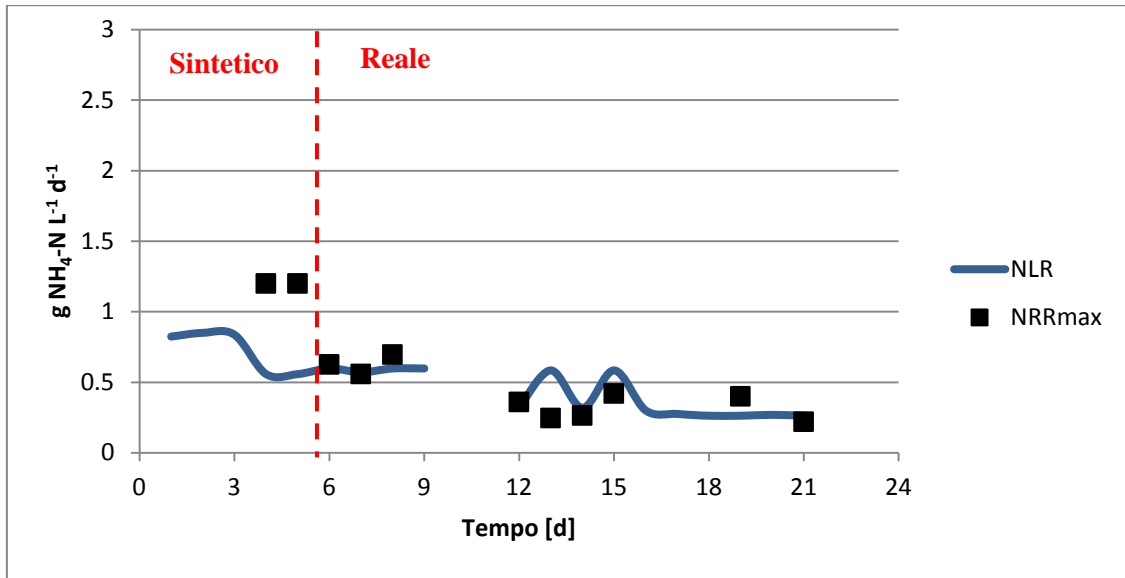
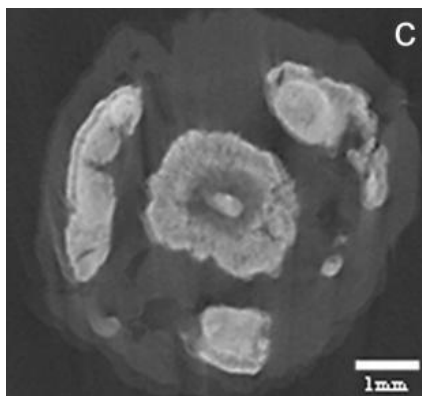


Figura 4.30 Andamento dell’NLR e dell’NRRmax nel tempo durante la FASE2

Il primo punto di attività massima registrata il giorno 4 era di  $1.2 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , stesso valore misurato il giorno successivo. Vista la stabilità del rateo massimo, si è deciso di alimentare il refluo reale.

L’attività dal giorno 6 al giorno 8 si stabilizza sul valore di  $0.6 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , con valori di carico in ingresso equiparabili e con concentrazioni in uscita poco maggiori a  $2 \text{ mgNO}_2\text{-N L}^{-1}$ . Il valore di conducibilità misurata sull’effluente varia tra gli 11 e i 13  $\text{mS cm}^{-1}$ . Il salto nell’attività massima misurata tra il giorno 5 e il giorno 6 è riconducibile al passaggio dalla soluzione sintetica al refluo reale. Durante i giorni 9, 10 e 11, a causa di problemi legati all’alimentazione delle corrente elettrica, si è dovuto spegnere il reattore. Dal giorno 12 in poi, il carico applicato è stato diminuito a  $0.3 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , con valori di nitrito in uscita pari a circa  $10 \text{ mgNO}_2\text{-N L}^{-1}$ . Con il carico imposto e la concentrazione in uscita riscontrata, si è calcolato un valore di carico medio rimosso pari a  $0.205 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ . Le prove di attività hanno mostrato una stabilità dell’attività massima attorno al valore di  $0.4 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1} \text{ d}^{-1}$  fino al termine della sperimentazione. Il valore di conducibilità dell’effluente è a questo punto stabilizzato a  $15 \text{ mS cm}^{-1}$ . La diminuzione di attività rispetto al valore di  $1.2 \text{ g NO}_2\text{-N L}^{-1}$  è del 67%. L’accumulo di nitrito nel reattore di  $10 \text{ mgNO}_2\text{-N L}^{-1}$  che si verifica nonostante l’attività massima sia maggiore del carico imposto si può spiegare facendo delle ipotesi sulla struttura granulare della biomassa. Si può ipotizzare che la struttura del granulo sia concentrica, cioè che sia caratterizzato dall’alternanza di uno strato di biomassa e di uno

di materiale inorganico. Con questa ipotesi, al diminuire della concentrazione di substrato nel reattore, solo i batteri sempre più esterni partecipano al consumo. Di conseguenza la cinetica di consumo diventa molto più lenta e non tutto il substrato viene consumato prima che la nuova fase di alimento ricominci. Lin et al., 2013 hanno condotto un'analisi tomografica su granuli anammox provenienti dallo stesso reattore da cui è stata campionata la biomassa utilizzata in questa sperimentazione. Dall'analisi si è visto che i granuli sono costituiti da strati di biomassa alternati a strati di sostanza inorganica che rendono il granulo molto più resistente alla compressione. La Figura 4.31 mostra una sezione del granulo in cui la parte scura costituisce la frazione organica, quella più chiara la parte inorganica.



**Figura 4.31** Sezione tomografica di un granulo anammox (Lin et al., 2014)

È lecito quindi supporre che anche i batteri presenti nel reattore siano costituiti da stratificazioni concentriche che portano ad una riduzione dell'attività massima quando si opera a basse concentrazioni.

Una conferma della stratificazione del granulo si è presentata durante una prova di attività il cui andamento è rappresentato in Figura 4.32.

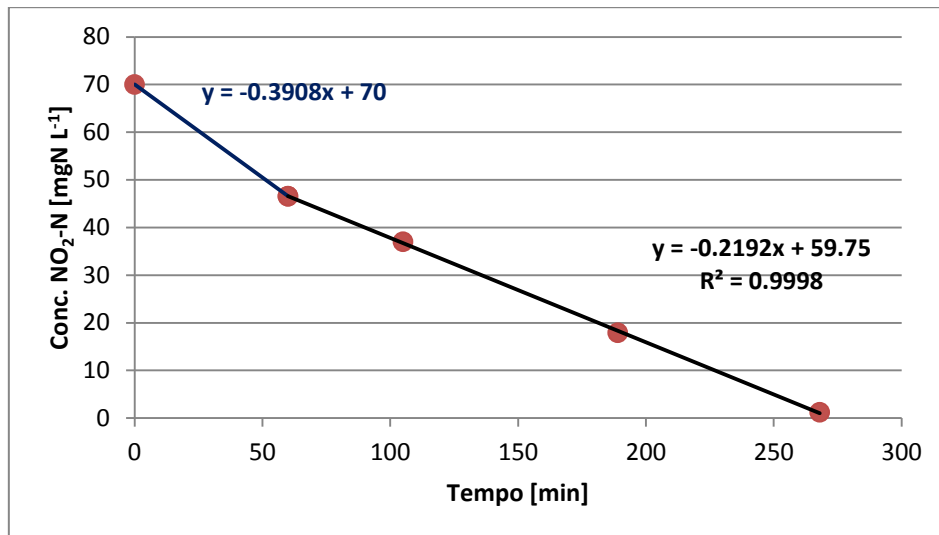


Figura 4.32 Concentrazione di nitrito in funzione del tempo

La concentrazione da cui si è partiti è di  $70 \text{ mgNO}_2\text{-N L}^{-1}$  e la prova si è protratta fino alla concentrazione di  $1 \text{ mgNO}_2\text{-N L}^{-1}$ . La figura mostra come i primi due punti siano allineati su una retta con pendenza di  $0.4 \text{ mgNO}_2\text{-N L}^{-1} \text{ min}^{-1}$ , mentre gli altri si allineano su una retta con pendenza praticamente dimezzata e pari a  $0.22 \text{ mgNO}_2\text{-N L}^{-1} \text{ min}^{-1}$ . Poiché la pendenza della retta costituisce il rateo massimo di rimozione nel nitrito espressa in  $\text{mgNO}_2\text{-N L}^{-1} \text{ min}^{-1}$ , i risultati dimostrano come questo dipenda dalla concentrazione di nitrito: maggiore è la concentrazione, maggiore è anche il rateo di consumo. Poiché la biomassa è di tipo granulare, questo si spiega considerando che più alta è la concentrazione di substrato più il granulo è penetrato e di conseguenza anche i batteri più interni partecipano al consumo del nitrito.

Lotti et al., 2014 hanno trovato una corrispondenza tra le dimensioni del granulo e il valore della costante di semisaturazione  $K_s$  apparente per il nitrito ( $K_{\text{NO}_2^-}$ ). Nello studio la correlazione tra dimensione del granulo e  $K_{\text{NO}_2^-}$  è di tipo esponenziale per dimensioni del granulo comprese tra  $100 \mu\text{m}$  e  $800 \mu\text{m}$ , invece per valori più bassi di  $100 \mu\text{m}$  e più alti di  $800 \mu\text{m}$ , la  $K_{\text{NO}_2^-}$  risulta costante e pari rispettivamente a  $0.1 \text{ mgNO}_2\text{-N L}^{-1}$  e  $2.3 \text{ mgNO}_2\text{-N L}^{-1}$ . Poiché in questo caso i granuli hanno diametro di circa  $1 \text{ mm}$ , maggiore di  $800 \mu\text{m}$ , è lecito ipotizzare che il valore di  $K_{\text{NO}_2^-}$  è dell'ordine dei  $2.3 \text{ mgN L}^{-1}$ . Tuttavia, nel caso in cui l'ipotesi della stratificazione sia verificata, non è facile trovare il valore della  $K_{\text{NO}_2^-}$  propria di tutto il granulo. Dalla Figura 4.32, infatti, è evidente che esistono due andamenti cinetici differenti non interpretabili con un unico modello cinetico.

Tuttavia, è possibile calcolare il valore della  $K_{NO_2^-}$  per lo strato più esterno del granulo ipotizzando la concentrazione di equilibrio pari a  $10 \text{ mgNO}_2\text{-N L}^{-1}$ , il carico medio di rimozione di  $271 \text{ mgNO}_2\text{-N L}^{-1} \text{ d}^{-1}$  e il rateo di rimozione massimo di  $0.42 \text{ mgNO}_2\text{-N L}^{-1} \text{ d}^{-1}$  misurato durante la prova di attività. Il valore della  $K_{NO_2^-}$  si ricava a partire dall'equazione di Monod:

$$Rateo_{NO_2^-} = Rateo_{NO_2^-}^{max} \cdot \frac{C_{NO_2^-}}{C_{NO_2^-} + K_{NO_2^-}}$$

Dove:

$Rateo_{NO_2^-}$  è il rateo di consumo di nitrito allo stato stazionario [ $\text{g NO}_2\text{-N L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ];

$Rateo_{NO_2^-}^{max}$  è il rateo massimo di consumo del nitrito misurato durante la prova di attività [ $\text{g NO}_2\text{-N L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ];

$C_{NO_2^-}$  è la concentrazione di nitrito allo stato stazionario [ $\text{gNO}_2\text{-N L}^{-1}$ ];

$K_{NO_2^-}$  è la costante di semisaturazione riferita al nitrito [ $\text{gNO}_2\text{-N L}^{-1}$ ];

Invertendo l'equazione si ottiene un valore di  $K_{NO_2^-}$  pari a  $4.6 \text{ mg NO}_2\text{-N L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ .

La fase di sturtp sul refluo reale analizzata è durata 15 giorni, durante i quali l'andamento dell'attività è influenzata dalle condizioni in ingresso del refluo. La Figura 4.33 mostra il confronto tra l'andamento del NRRmax e della conducibilità misurata in uscita.

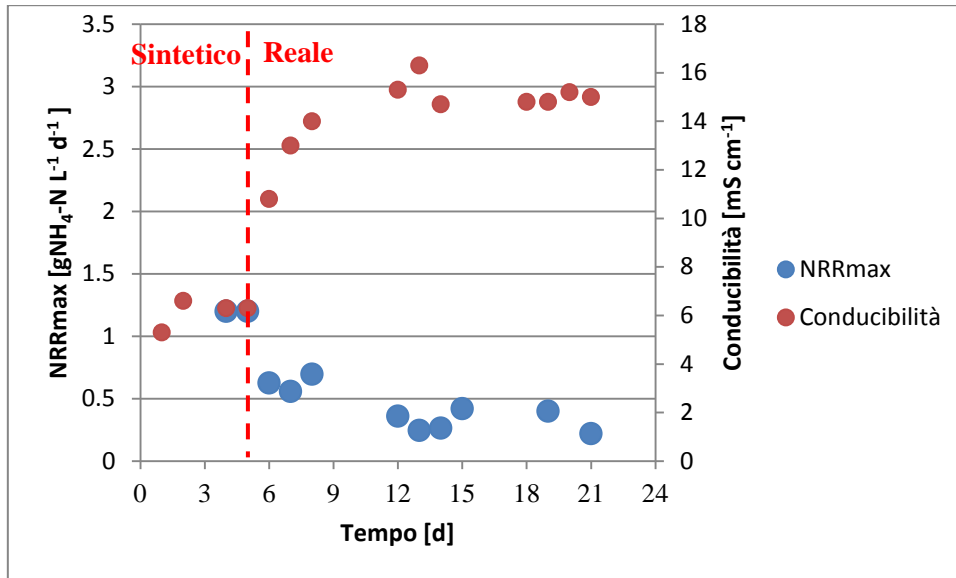


Figura 4.33 NRRmax e conducibilità in funzione del tempo

La conducibilità misurata in uscita coincide con quella all'interno del reattore e aumenta nel tempo. La Figura 4.34 mostra l'andamento teorico della conducibilità dell'effluente in funzione dell'HRT.

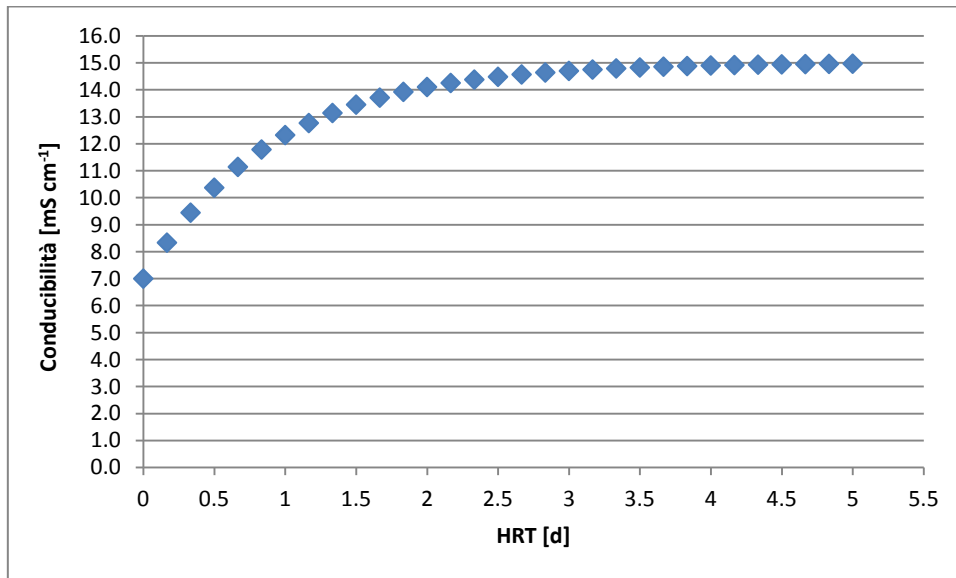


Figura 4.34 Conducibilità teorica dell'effluente in funzione dell'HRT

La Figura 4.34 mostra che dopo un tempo pari a 3 volte l'HRT si ha una stabilizzazione della conducibilità in uscita dal reattore sul valore di 15 mS cm<sup>-1</sup>. Poiché l'HRT della FASE2 della sperimentazione è di 3.4 d, il tempo necessario alla stabilizzazione è pari a 10 d. Nella sperimentazione si è registrata la stabilizzazione al giorno 12, come mostrato in Figura 4.33.

Tra il giorno 3 e il giorno 6 in cui si passa dall'alimento sintetico a quello reale, si registra un salto nella conducibilità che passa da 6 a 10  $\text{mS cm}^{-1}$ , motivo per il quale si registra anche il salto nell'attività di cui si è già discusso.

La Figura 4.35 mostra il confronto tra le specie azotate ( $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$ ) in ingresso e in uscita al reattore.

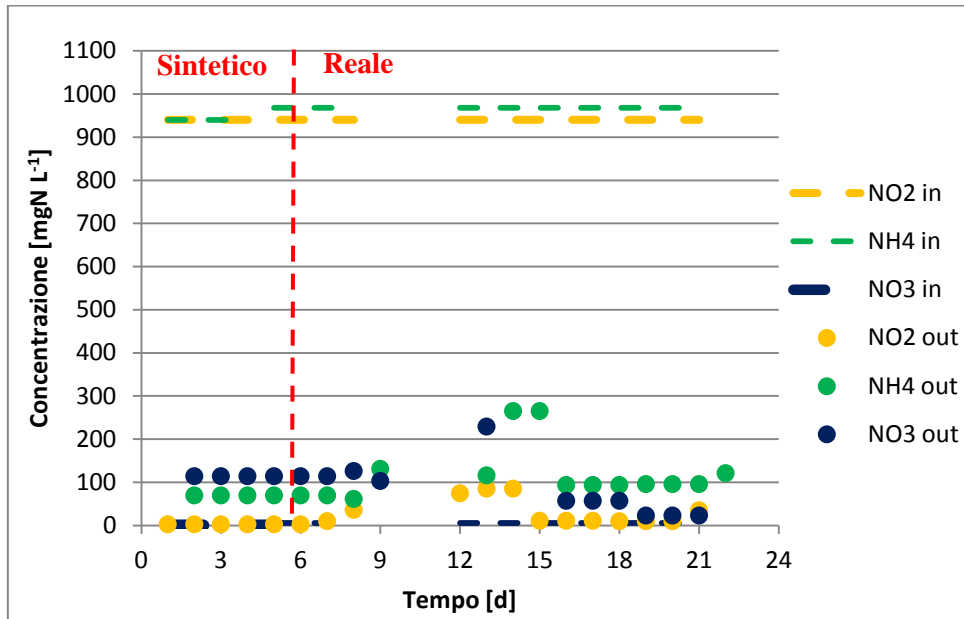


Figura 4.35  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  in ingresso e in uscita al reattore SBR

La Figura 4.35 mostra come durante il periodo dell'alimento della soluzione sintetica, fino al giorno 5, non ci sia nitrito in uscita, infatti, durante quel periodo la biomassa è stata sotto caricata rispetto alle sue potenzialità. Dal giorno 6 al giorno 15, il nitrito in uscita è aumentato ma è rimasto al di sotto dei 50  $\text{mgNO}_2\text{-N L}^{-1}$  prima del giorno 9 e appena sotto i 100  $\text{mgNO}_2\text{-N L}^{-1}$  fino al giorno 15. L'aumento del nitrito in uscita registrato fino al giorno 9 è da considerarsi causato dal passaggio all'alimento reale. L'aumento di nitrito in uscita registrato il giorno 12 e i giorni successivi invece, può essere stato causato dallo spegnimento del reattore, durante il quale la biomassa non ancora acclimatata al nuovo refluo è rimasta inattiva. A quel punto il carico è stato diminuito per dare la possibilità ai batteri di recuperare l'attività. A partire dal giorno 15 la concentrazione di nitrito in uscita è tornata ad essere minore di 10  $\text{mgNO}_2\text{-N L}^{-1}$ , con percentuali di rimozione del 99%. Le considerazioni riguardanti l'ammonio sono le stesse appena descritte a commento dell'andamento del nitrito, la differenza consiste



nella concentrazione in uscita, più alta rispetto a quella del nitrito, pari a  $94 \text{ mg NH}_4\text{-N L}^{-1}$ . La ragione è da ricondursi alla stechiometria anammox: per ogni mole di ammonio consumata, si consumano 1.32 moli di nitrito. Per quanto riguarda il nitrato invece, la concentrazione in ingresso è sempre minore di quella in uscita, quindi la produzione anammox risulta maggiore del consumo eterotrofo.

Per valutare l'effettiva attività anammox è importante analizzare i rapporti stechiometrici  $\text{NO}_2/\text{NH}_4$  e  $\text{NO}_3/\text{NH}_4$ . Le Figure 4.36 e 4.37 mostrano l'andamento della stechiometria durante la fase sperimentale e quella teorica.

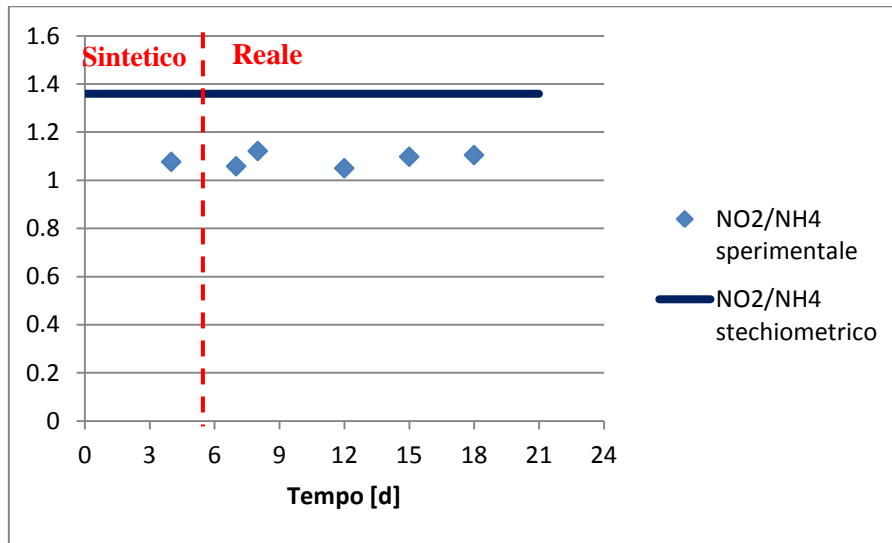
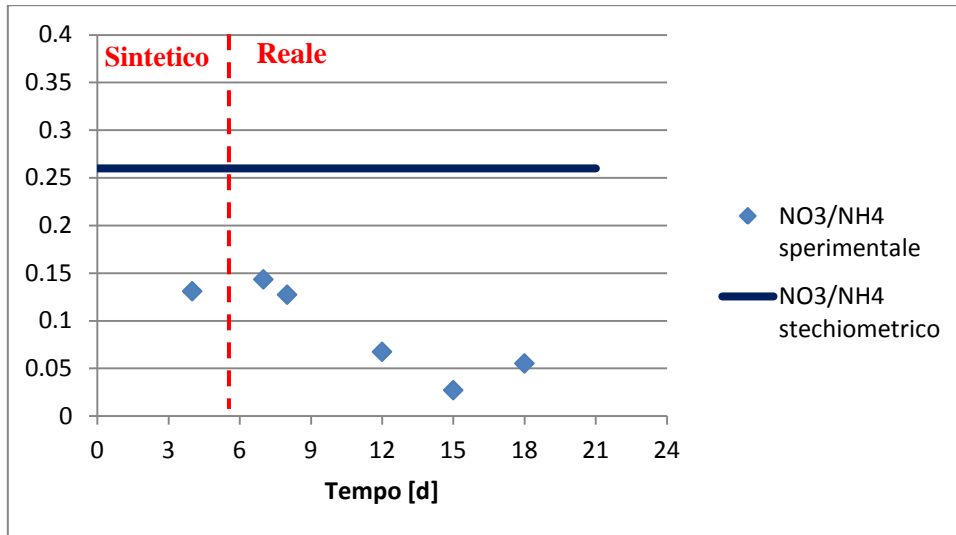


Figura 4.36  $\text{NO}_2/\text{NH}_4$  stechiometrico e sperimentale

Il rapporto  $\text{NO}_2/\text{NH}_4$  si mantiene più o meno costante durante tutta la sperimentazione attorno al valore di 1.1, al di sotto del valore stechiometrico teorico di 1.32. Il fatto che il valore sia più basso rispetto allo stechiometrico, induce a pensare ad una produzione eterotrofa di nitrito che in parte compensa il consumo degli anammox. Gli eterotrofi, non consumando ammonio, lasciano inalterata la concentrazione di quest'ultimo e di conseguenza il rapporto  $\text{NO}_2/\text{NH}_4$  diminuisce.

Figura 4.37 NO<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub> stechiometrico e sperimentale

Il rapporto NO<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub> subisce una notevole variazione nel tempo, passando da 0.13 a 0.05. Tutti i valori ottenuti sono minori del valore stechiometrico denotando una forte attività eterotrofa che consuma il nitrato prodotto dagli anammox ma non l'ammonio. Poiché il rapporto rimane sempre positivo, la produzione attribuita agli anammox risulta comunque maggiore del consumo ad opera dei denitrificanti. La Figura 4.37 mostra che il rapporto è nettamente diminuito tra il giorno 6 e il giorno 12, corrispondente al periodo di passaggio tra l'alimento sintetico e il refluo reale. Oltre il giorno 12 sembra esserci una stabilizzazione attorno al valore di 0.05, in parallelo alla stabilizzazione della conducibilità in uscita. Una riprova del fatto che esiste un'attività eterotrofa contestuale a quella anammox è data dall'analisi dei ratei di consumo e produzione di nitrito, nitrato e COD. La Tabella 4.5 mostra le concentrazioni di nitrito, ammonio, nitrato e COD misurate in ingresso e in uscita dal reattore con i rispettivi ratei di consumo per nitrito, ammonio e COD e di produzione per il nitrato, teorici e calcolati.

Tabella 4.5 Concentrazioni In e Out e ratei di consumo teorici e calcolati per NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e COD

Parametro	Conc. In [mg L <sup>-1</sup> ]	Conc. Out [mg L <sup>-1</sup> ]	Rateo osservato [mg L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> ]	Rateo teorico [mg L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> ]
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	940	94	262	262
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N	940	10	288	346
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	6	40	10.5	68.2
COD	1290	823	144	179

I ratei teorici di nitrito e nitrato sono stati calcolati moltiplicando il reato di consumo dell'ammonio per i coefficienti 1.32 e 0.26 rispettivamente, derivanti dalla reazione metabolica anammox. I ratei osservati sono stati calcolati a partire dalle concentrazioni misurate. I ratei teorici così ottenuti risultano maggiori di quelli calcolati. Per quanto riguarda il nitrito, il rateo calcolato è più basso di quello teorico perché nella misura delle concentrazioni viene considerata la produzione di  $\text{NO}_2$  ad opera degli eterotrofi contemporanea al consumo da parte degli anammox. Il rateo di produzione del nitrato teorico è anch'esso maggiore di quello calcolato perché la misura della concentrazione considera anche la quantità di nitrato consumata dagli eterotrofi contemporaneamente alla produzione anammox. Per giustificare queste considerazioni si è calcolato il rateo di riduzione del nitrato a nitrito ad opera degli eterotrofi sottraendo al rateo di produzione di nitrato teorico anammox il rateo osservato (che include sia il consumo eterotrofo che la produzione anammox). Si ottiene così il valore di  $57.6 \text{ mgN L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ . Allo stesso modo è possibile calcolare il rateo di produzione di  $\text{NO}_2$  eterotrofa come differenza tra il rateo teorico e quello effettivamente misurato; si ottiene il valore di  $57.9 \text{ mgN L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ . Il rapporto di consumo/produzione  $\text{NO}_3/\text{NO}_2$  eterotrofo ottenuto è molto vicino a 1, cioè quello stechiometrico. Quindi si è dimostrato che tutto il nitrato consumato dagli eterotrofi è convertito in  $\text{NO}_2$ . Il nitrito prodotto per via eterotrofa si aggiunge al nitrito presente nel refluo e di conseguenza il rateo di consumo di nitrito misurato si abbassa perché di fatti, parallelamente al consumo, c'è una fonte di produzione che ne aumenta la concentrazione misurata. Quindi se il rateo di consumo di nitrito si abbassa, si abbassa di conseguenza il rapporto di consumo  $\text{NO}_2/\text{NH}_4$ . Stesso discorso vale per il nitrato in termini però di consumo: la produzione di nitrato misurata è minore di quella teorica perché gli eterotrofi consumano il nitrato prodotto dagli anammox. Se il rateo di produzione netto di nitrato diminuisce, anche il rapporto  $\text{NO}_3/\text{NH}_4$  diminuisce. Un'altra conferma è data dall'analisi del rateo di consumo del COD: poiché per ogni grammo di nitrato ridotto a nitrito per via eterotrofa, è necessario ossidare 3.1 g di COD, moltiplicando il rateo di rimozione eterotrofa del nitrato di  $57.6 \text{ mgN L}^{-1} \text{ d}^{-1}$  per il coefficiente di 3.1 si ottiene il valore del rateo di consumo del COD. In questo caso il rateo di consumo è di  $144 \text{ mgCOD L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , confrontabile con il rateo di consumo calcolato pari a  $179 \text{ mgCOD L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ .

Il valore di 3.1 è la quantità in grammi di COD per il metabolismo eterotrofo. Questo valore si ricava applicando la seguente formula:

$$\frac{1.14}{1 - Y_H}$$

Dove:

1.14 è la quantità di COD necessaria per il solo catabolismo [gCOD gN<sup>-1</sup>];

Y<sub>H</sub> è il coefficiente di resa cellulare eterotrofa, pari a 0.63 [gCOD gN<sup>-1</sup>] (Henze et al., 2000).

La Tabella 4.6 riassume i parametri operativi degli ultimi giorni della sperimentazione corrispondenti al periodo di stabilizzazione della conducibilità del refluo in uscita, pari a 15 mS cm<sup>-1</sup>.

Tabella 4.6 Principale parametri operativi degli ultimi giorni di sperimentazione

Parametro	NLR [gN L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> ]	NRR max [gN L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> ]	Rimozione [%]	inibizione [%]
NO <sub>2</sub>	0.3	0.42	99	67
NH <sub>4</sub>	0.3	0.40	90	

- Analisi dei solidi sospesi

La Figura 4.38 mostra l'andamento dei solidi sospesi totali e sospesi volatili in ingresso e in uscita al reattore. Durante i primi 5 giorni non sono state fatte analisi dei solidi in ingresso perché l'alimento era preparato sinteticamente.

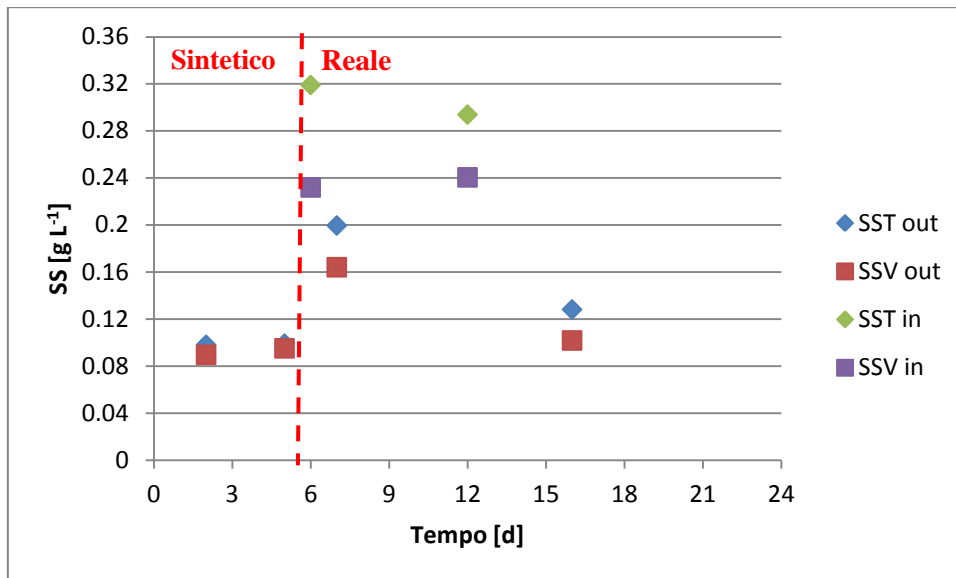


Figura 4.38 concentrazioni di SST e SSV in ingresso e uscita al reattore

Per quanto riguarda il primo periodo, i valori di SST e di SSV in uscita sono molto vicini tra loro, infatti l'unico apporto di solidi è dato dalla biomassa in uscita con l'effluente che è caratterizzata da un rapporto SSV/SST pari al 0.93. Nel refluo reale sono invece presente sia solidi sospesi totali sia volatili. Infatti il rapporto SSV/SST in uscita diminuisce a 0.83.

Dai valori riportati nel grafico, si deduce che c'è un accumulo di solidi all'interno del reattore infatti la concentrazione di solidi in ingresso è maggiore di quella in uscita. Dopo il passaggio al refluo reale, si registra una diminuzione di solidi in uscita, che denota un accumulo sempre crescente di solidi nel reattore. Tuttavia, poiché non si hanno a disposizione dati sufficienti, non è possibile stabilire un trend per questo periodo di sperimentazione.

L'analisi dei solidi è utile perché finalizzata alla determinazione dell'SRT. Durante la fase di sperimentazione con il refluo reale, l'SRT medio calcolato è pari a 115 giorni. Il valore è da considerarsi approssimativo sia per l'esiguo numero di dati sui solidi sospesi in uscita, sia perché non è stato possibile campionare la biomassa all'interno del reattore e quindi determinare effettivamente la sua concentrazione. Il valore di 115 giorni è stato calcolato sulla base dell'analisi della biomassa fatta il giorno dell'inoculo del reattore.

### 4.3.3 Confronto tra risultati delle prove batch e della gestione del reattore

In questo paragrafo si propone un confronto tra i risultati ottenuti dalle prove manometriche e quelli ottenuti durante la FASE2 della gestione del reattore SBR. Le prove manometriche infatti descrivono la risposta a breve termine della biomassa posta a contatto con reflui con diverse caratteristiche, la fase di gestione del reattore invece, nonostante il breve lasso di tempo della sperimentazione, può fornire degli spunti di riflessione sul comportamento della biomassa a medio-lungo termine. Il confronto può essere effettuato analizzando la Figura 4.39 che mostra il legame tra conducibilità e inibizione ottenuto durante lo svolgimento delle prove batch con i reflui utilizzati e durante la gestione del reattore. È da tenere in considerazione quindi che i punti riportati in Figura 4.39 riguardanti le prove batch derivano dall'analisi di reflui diversi mentre sul reattore si è alimentato sempre lo stesso refluo.

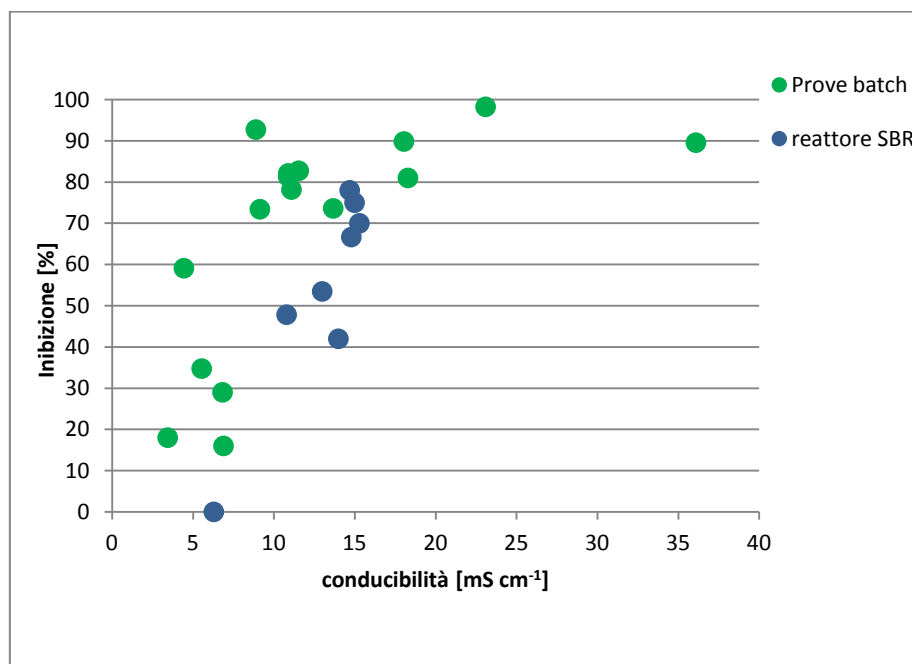


Figura 4.39 Valori di inibizione in funzione della conducibilità ottenuti sui reflui durante le prove batch e durante la gestione del reattore SBR

In entrambi i casi, l'inibizione è fortemente influenzata dalla conducibilità. La diminuzione dell'attività più significativa si registra passando da conducibilità di circa 2 mS cm<sup>-1</sup> a circa 10 mS cm<sup>-1</sup>, con conseguenti valori di inibizione che passano dal 15%

al 70% durante le prove manometriche e da 0 al 50% durante la prova in continuo. Oltre i  $10 \text{ mS cm}^{-1}$ , l'inibizione varia dal 70 al 100% durante le prove batch, dal 55% all'80% circa durante la prova in continuo. Con le prove batch, si ottengono quindi valori di inibizione maggiori rispetto alla prova in continuo. Il fatto che l'inibizione registrata durante la prova in continuo sia minore rispetto a quella misurata durante le prove batch, può essere spiegato considerando le diverse condizioni operative cui la biomassa è stata sottoposta nel reattore rispetto alle prove manometriche. Infatti, durante la gestione del reattore, oltre all'aumento progressivo nel tempo della conducibilità, la biomassa è stata alimentata per una settimana con la soluzione sintetica permettendo un recupero graduale dell'attività persa durante il periodo di stoccaggio in laboratorio. Questo recupero graduale non è previsto prima dello svolgimento delle prove batch. La biomassa, infatti viene posta a diretto contatto con il refluo da trattare subendo uno "shock" dovuto alle diverse caratteristiche del refluo rispetto alla soluzione di stoccaggio.

Il periodo di gestione del reattore non è sufficientemente lungo da consentire un'analisi esaustiva della fattibilità del processo sul refluo in esame. Tuttavia può essere effettuato un confronto tra i risultati della prova batch condotta sul refluo utilizzato come alimento al reattore e i dati ottenuti negli ultimi giorni di gestione del reattore. Dalle prove batch si ricavano i valori di SAA e di inibizione rispetto al campione di controllo nel breve periodo, senza acclimatazione della biomassa. Sul breve periodo, l'inibizione della biomassa a contatto con il refluo in esame è dell'80%, dato questo, che si è mantenuto stabile durante tutte le 100 ore di durata della prova, come precedentemente mostrato nella Figura 4.6. Per quanto riguarda, invece, l'inibizione calcolata durante la FASE2, essa varia in funzione della conducibilità e si stabilizza sul valore di 67% quando la conducibilità misurata dell'effluente è di  $15 \text{ mS cm}^{-1}$ . Il fatto che durante la FASE2 si registri un'inibizione minore rispetto a quella ottenuta con il batch, prova che l'adattamento progressivo a cui la biomassa all'interno del reattore è stata sottoposta migliora le prestazioni in termini di attività specifica rispetto a prove in cui la biomassa viene immersa rapidamente nel refluo da trattare. I dati ottenuti dalla gestione del reattore riguardano comunque un breve periodo di tempo molto vicino alla fase di transizione tra il refluo sintetico e quello reale, è addirittura possibile che questa fase di adattamento sia ancora in corso. Nonostante ciò, durante i primi giorni di monitoraggio,

si sono conseguiti buoni risultati in termini di riduzione dell'attività massima rispetto al refluo sintetico e di percentuali di rimozione dei substrati. Non è da escludere infine che proseguendo con la sperimentazione, a seguito dell'adattamento al refluo, la biomassa possa recuperare parte della sua attività persa fino a questo momento.

#### 4.3.4 *Confronto con i risultati di letteratura*

Nel presente paragrafo si propone un confronto tra la sperimentazione effettuata e alcuni studi presenti in letteratura.

La Tabella 4.7 mostra una sintesi delle condizioni operative e dei risultati ottenuti in letteratura. La durata degli studi presi in considerazione è molto variabile, dagli 80 ai 1460 giorni. Gli studi sono stati scelti in base al tipo di prova effettuata, nello specifico prove di salinità e nella maggior parte dei casi, prove con aumento graduale di concentrazione di sale. Nella maggior parte dei casi le prove sono state condotte con soluzione sintetica, nei restanti casi si è usato percolato da discarica o acque provenienti da industria alimentare. La durata della fase in continuo di questa sperimentazione non è confrontabile con la durata di quelle presenti in letteratura in quanto questa sperimentazione si è occupata di valutare la fase di avvio del reattore. È possibile tuttavia provare a fare dei confronti sulla base della stabilizzazione dell'attività registrata negli ultimi giorni di analisi.

Nel presente studio, la conducibilità misurata negli ultimi giorni si è mantenuta costante sul valore di  $15 \text{ mS cm}^{-1}$ . La sperimentazione si avvicina quindi allo studio di Dapena-Mora et al., 2006 in cui si è utilizzato un refluo proveniente dall'inscatolamento del pesce (fish canning). Il separato liquido da FORSU e il refluo utilizzato da Dapena-Mora et al., 2006 sono caratterizzati da alta conducibilità e per questo meglio confrontabili rispetto agli studi in cui si sono utilizzate soluzioni sintetiche. Inoltre Dapena-Mora et al., 2006 hanno utilizzato un reattore SBR e quindi le condizioni operative possono essere meglio confrontate. Il carico applicato in questa sperimentazione durante gli ultimi giorni di stabilizzazione dell'attività, è pari a  $0.6 \text{ gN L}^{-1} \text{ d}^{-1}$  e il  $\text{NRR}_{\text{max}}$  pari a  $0.476 \text{ g N L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ . Dapena-Mora et al., 2006 ottiene dei valori di carico rimosso in un intervallo compreso tra  $0.44$  e  $1.19 \text{ gN L}^{-1} \text{ d}^{-1}$  in funzione dell'aumento di biomassa presente nel reattore. Poiché in questo studio si è valutata la fase di avvio del reattore, durante la quale non è stata considerata la crescita di biomassa, il valore di confronto è di  $0.44 \text{ gN L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , simile a quello trovato in questa



sperimentazione. Per quanto riguarda l'efficienza di rimozione, Dapena-Mora et al., 2006 hanno ottenuto valori più bassi: 68% contro il 94%.

Un confronto interessante riguarda le percentuali di rimozione dell'azoto in ingresso. Esse variano notevolmente da caso a caso, a seconda della concentrazione di sale a cui si è operato. L'efficienza di rimozione sul percolato ottenute da Fernandez et al., 2008 e Scaglione et al., 2012 sono confrontabili con il valore del 96% medio ottenuto nel presente studio. Dapena-Mora et al., 2006 ottiene efficienze di rimozione più basse. Le cause di questa differenza possono risiedere nella diversa tipologia di refluo utilizzato: il percolato da discarica è più simile al separato liquido proveniente dalla digestione della FORSU di quanto non lo sia il refluo di scarto della lavorazione del pesce. Gli altri studi presi in considerazione sono stati effettuati su un refluo sintetico addizionato di sali al fine di raggiungere la concentrazione desiderata. Da un'analisi complessiva si evince che per concentrazioni di sali minori di  $30 \text{ gNaCl L}^{-1}$ , corrispondenti a conducibilità di  $53 \text{ mS cm}^{-1}$ , le percentuali di rimozioni sono maggiori dell'80%. Nel presente studio, si è ottenuta una percentuale di rimozione media dell'ammonio e del nitrito del 94%, perfettamente compatibile con i valori di letteratura.

Un'altra analisi può essere condotta sui rapporti  $\text{NO}_2/\text{NH}_4$  e  $\text{NO}_3/\text{NH}_4$ , laddove disponibili. Dapena-Mora et al., 2006 ottiene valori rispettivamente di 1.67 e 0.28, entrambi al di sopra dei rapporti stechiometrici teorici del metabolismo anammox. Questi valori non si discostano molto da quelli teorici, soprattutto per quanto riguarda il rapporto  $\text{NO}_3/\text{NH}_4$ . Questo indica una scarsa attività eterotrofa che non è in grado di modificare i rapporti stechiometrici osservati. Rusalleda et al., 2010 ottengono un rapporto  $\text{NO}_2/\text{NH}_4$  pari a 1.3 e  $\text{NO}_3/\text{NH}_4$  pari a 0.05. Mentre il primo è molto vicino a quello teorico, il secondo è molto più basso. Durante la presente sperimentazione i rapporti stechiometrici ottenuti sono entrambi più bassi di quelli teorici e pari a 1.1 e 0.05 rispettivamente. Le cause sono state ricondotte ad un consumo eterotrofo di nitrato, ridotto a nitrito.

Gli altri studi riportati in Tabella 4.7 riguardano prove di salinità con alimento sintetico in ingresso a diversi reattori. Gli studi sono stati condotti per testare la capacità della biomassa anammox di adattarsi ad alte concentrazioni di sali. Le inibizioni maggiori si registrano per concentrazioni di sale maggiori di  $30 \text{ gNaCl L}^{-1}$ . Gli studi analizzati possono essere confrontati se si considera il rapporto rateo di rimozione/carico

applicato: varia dallo 0.58 di Windey et al., 2005 allo 0.6 di Fernandez et al., 2008 allo 0.85 di Yang et al., 2010. Il rapporto ottenuto in questa sperimentazione è invece pari a 0.79, non molto diverso quindi dai valori appena citati.

Le variazioni dei valori di letteratura possono essere dovute al fatto che in alcuni studi si utilizzino reflui reali e in altri reflui sintetici. I reflui reali infatti, oltre ad essere molto salini, contengono molti altri elementi potenzialmente inibitori o favorenti l'attività batterica. Inoltre negli studi di letteratura vengono utilizzati diversi setup sperimentali che mettono la biomassa in diverse condizioni operative.

Tabella 4.7 Studi di letteratura analizzati

	Tipo di alimento	Tipo di prova	Setup sperimentale	Durata [d]	Carico applicato [gN L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> ]	Rateo rimozione [gN L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> ]	Inibizione [%]	Efficienza di rimozione [%]	SAA [gN <sub>2</sub> -N gSSV <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> ]	Stechiometria	
										NO <sub>2</sub> /NH <sub>4</sub>	NO <sub>3</sub> /NH <sub>4</sub>
Windey et al., 2005	simetico	Periodo di riferimento	Reattore RBC*	11	1	0.88	0	-	-	-	-
	simetico	salinità: da 0 a 5 g NaCl L <sup>-1</sup>	Reattore RBC*	14	1	0.93	0	93	-	-	-
	simetico	salinità: da 5 a 10 g NaCl L <sup>-1</sup>	Reattore RBC*	55	1.1	0.64	27	58	-	-	-
	simetico	salinità: da 10 a 30 g NaCl L <sup>-1</sup>	Reattore RBC*	53	0.85	-	-	86-70	-	-	-
	simetico	salinità: 30 g NaCl L <sup>-1</sup>	Reattore RBC*	42	0.73	0.61	31	-	-	-	-
Yang et al., 2010	simetico	temperatura	Reattore up-flow	-	-	17.5	-	-	-	-	-
	simetico	salinità: da 4 a 20 g NaCl L <sup>-1</sup>	Reattore up-flow	14	8.1	6.9	60	85	-	-	-
	simetico	salinità: da 14 a 30 g NaCl L <sup>-1</sup>	Reattore up-flow	42	5.1	-	-	-	-	-	-
	simetico	salinità: 30 gNaCl L <sup>-1</sup>	Reattore up-flow	34	5.2	4.5	74	-	-	-	-
	Dapena-Mora et al., 2006	refluo da industria alimentare	applicabilità a refluo industriale con salinità di 10 gNaCl L <sup>-1</sup>	Reattore SBR	110	0.5	da 0.44 a 1.19	-	68	0.44	1.67
Liu et al., 2009	simetico	Periodo di riferimento	-	102	-	1.6	-	-	-	-	-
	simetico	salinità: 30g NaCl L <sup>-1</sup>	Reattore a letto fisso	337	2.2	1.7	0	-	-	1.29	0.24
Fernandez et al., 2008	simetico	salinità passa da 0, 5, 10 g NaCl L <sup>-1</sup>	Reattore SBR	80	0.4	0.24	0	-	0.4	-	-
	percolato	applicabilità a percolato	Reattore SBR	360	0.24	-	-	89	-	1.3	0.05
Scaglione et al., 2012	simetico	salinità	Reattore SBR	1460	0.95	0.14-1.02	-	80-99	-	-	-
	percolato	applicabilità a percolato	Reattore SBR	730	0.62	0.08-0.42	-	73-93	-	-	-

\*Reattore Rotating Biological Contactors (RBC)

## 5. CONCLUSIONI

Lo scopo della presente tesi è stato quello di valutare l'applicabilità del processo anammox al separato liquido di digestato da FORSU. L'attività di ricerca risulta innovativa in quanto, sebbene studi simili su altri reflui salini sono presenti in letteratura, nessuno ancora su questo tipo di refluo. La sperimentazione si è effettuata con prove manometriche in batch su reflui campionati in diversi impianti di digestione della FORSU e su un reattore SBR a scala pilota alimentato prima con soluzione sintetica e successivamente con un singolo refluo tra quelli testati durante le prove batch.

L'aspetto più importante che si è voluto investigare è l'effetto della salinità sulla biomassa anammox.

Le prove manometriche sono state effettuate allo scopo di quantificare l'inibizione che la biomassa anammox ha subito a breve termine sui diversi reflui utilizzati. Ogni singola prova si è svolta per un massimo di 7 giorni. I reflui utilizzati per le prove, sono caratterizzati da alti valori di conducibilità, compresi tra i 10 e i 36 mS cm<sup>-1</sup>, fatta eccezione per il refluo proveniente dall'Impianto2, caratterizzato da conducibilità di 5 mS cm<sup>-1</sup>. I valori di inibizione ottenuti, sono compresi tra il 70% e il 90% in funzione delle caratteristiche del refluo. Solo sul refluo campionato dall'Impianto2 si sono ottenuti valori di inibizione del 15%. Dai dati ottenuti, si evince che esiste un legame tra l'inibizione della biomassa e la salinità e quindi la conducibilità del refluo. Poiché la salinità dipende dalla concentrazione di cloruri, è possibile che esista un legame tra quest'ultima e l'inibizione stessa, tuttavia sono necessari studi più approfonditi per stabilire l'entità di questo legame.

La sperimentazione sul reattore SBR si è condotta in due fasi distinte: la FASE1 durante la quale è stato alimentato un refluo sintetico salino al fine di capire quale fosse l'inibizione derivante dall'alta concentrazione di sale e la FASE 2 che costituisce la fase di avvio del reattore SBR alimentato con uno dei reflui già analizzati con prove in batch.

Durante la FASE1, per cause diverse, la stabilizzazione dell'attività batterica nel tempo non si è verificata. Alcune di queste cause riguardano errori sperimentali dovuti per

esempio alla preparazione della soluzione di alimento in maniera non corretta. Altri problemi si sono riscontrati nella gestione pratica del reattore come per esempio il cattivo funzionamento della pompa di alimento o la mancanza dell'alimentazione elettrica durante alcuni giorni della sperimentazione. Molte ipotesi sono state fatte in merito all'andamento del rateo di rimozione del nitrito, mai stabile durante tutto il periodo della prova. Sono state ipotizzate eventuali limitazioni da mancanza di ferro, carbonio inorganico, micronutrienti ecc. L'unica limitazione trovata è stata quella da mancanza di ferro ed è stata successivamente risolta, senza tuttavia riscontrare miglioramenti significativi dell'attività batterica sul lungo periodo. Nonostante questi aspetti rilevanti, la diminuzione dell'attività registrata durante questo periodo di prova è da attribuire, per larga parte, all'elevata salinità della soluzione in alimento, pari a 22  $\text{mS cm}^{-1}$ . L'effetto combinato della riduzione di attività a causa della salinità e delle altre problematiche sopra esposte, ha causato quindi la diminuzione dell'attività batterica. Tuttavia, vista le difficoltà operative riscontrate e la difficoltà di scindere le diverse cause che hanno portato a questa diminuzione, i dati ottenuti non risultano utili per un confronto con gli studi presenti in letteratura e perciò si rimanda a sperimentazioni future l'approfondimento di questi aspetti.

La FASE2 è iniziata rinoculando il reattore con biomassa anammox. Durante i primi giorni di gestione, il reattore è stato alimentato con una soluzione sintetica al fine di permettere la stabilizzazione dell'attività massima di consumo del substrato e di conseguenza poter alimentare il refluo reale. La stabilizzazione dell'attività si è registrata dopo i primi 5 giorni. Poiché la sperimentazione si è protratta per 21 giorni complessivamente, i dati ottenuti non consentono di trarre solide conclusioni riguardo al comportamento della biomassa sul lungo periodo. È tuttavia possibile fare delle valutazioni sull'andamento dell'attività batterica riguardanti la fase di avvio del reattore. Nella fase di acclimatazione della biomassa al refluo reale si sono ottenuti dei valori di  $\text{NRR}_{\text{max}}$  decrescenti all'aumentare della conducibilità all'interno del reattore. L'analisi dei dati, ha mostrato infatti, che esiste un legame tra conducibilità del refluo e  $\text{NRR}_{\text{max}}$ . Negli ultimi 4 giorni di sperimentazione, quando la conducibilità si è stabilizzata a 15  $\text{mS cm}^{-1}$ , anche l' $\text{NRR}_{\text{max}}$  si è stabilizzato a  $0.4 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1} \text{ d}^{-1}$  con un carico applicato di  $0.3 \text{ gNH}_4\text{-N L}^{-1} \text{ d}^{-1}$  e un'efficienza di rimozione sul nitrito del 99%.

L'inibizione calcolata in questo periodo è variabile tra il 55 e l'80%, a dimostrazione del fatto che ancora non si è raggiunta la stabilizzazione dell'attività. L'inibizione ottenuta dalle prove batch, sullo stesso refluo utilizzato in alimento al reattore, hanno restituito valori di inibizione dell'80%. Il confronto tra questi dati è significativo in quanto, la graduale acclimatazione della biomassa nel reattore e la mancanza di shock salino cui era invece sottoposta la biomassa durante le prove in batch, costituiscono le chiavi di lettura dei valori di inibizione diversi per le due modalità operative. A questo livello della sperimentazione è difficile fare valutazioni sul lungo periodo ma è possibile che le condizioni operative degli ultimi giorni di sperimentazione siano molto vicine alla condizione di massimo effetto inibente del refluo sull'attività della biomassa anammox. Di conseguenza è lecito pensare che il rateo di rimozione potrebbe non solo restare invariato ma addirittura aumentare con il tempo.

Oltre all'effetto scontato di un incremento del livello di arricchimento della biomassa presente nel reattore in termini di batteri anammox, preme far notare che eventi di acclimatazione di lungo periodo dovuti a fenomeni evolutivi sono tipici di processi biologici applicati a reflui con potenziale inibente e sono stati contestualmente riportati in letteratura anche nel caso di batteri anammox e reflui salini. I risultati suggeriscono la trattabilità del separato liquido da digestato della FORSU con processo anammox. Tuttavia questi risultati andranno confermati da una sperimentazione in continuo di più lungo periodo, attualmente ancora in corso.

**BIBLIOGRAFIA**

- Akgul D., Kalkan Aktan C., Yapsakli K., Mertoglu B. *Treatment of landfill leachate using UASB-MBR-SHARON–Anammox configuration*. Biodegradation (2013) 24:399–412 DOI 10.1007/s10532-012-9597-y
- Anthonisen A.C., Loehr R.C., Prakasam T.B.S. & Srinath E.G. (1976). *Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid*. Journal Water Pollution Control Federation, 48, 835-852
- APAT *Digestione anaerobica della frazione organica dei rifiuti solidi. Aspetti fondamentali, progettuali, gestionali, di impatto ambientale ed integrazione, con la depurazione delle acque reflue*. Manuali e linee guida 13/2005
- Chen H., Yu-Xin Ji C. M., Ni W.-M., Jin R.-C. Evaluation of the efficacy and regulation measures of the anammox process under salty conditions. Separation and Purification Technology 132 (2014) 584–592
- Centemero M., Zanardi W., *Il trattamento biologico dei rifiuti urbani in Italia: compostaggio, trattamento meccanico-biologico, digestione anaerobica*
- Corbellini V. *APPLICAZIONE DEL PROCESSO BIOLOGICO ANAMMOX PER LA RIMOZIONE DELL’AZOTO DA DIGESTATI AGRO-ZOOTECNICI*. Tesi di laurea magistrale, 2013
- Dapena-Mora A., Vázquez-Padín J.R., Campos J.L, Mosquera-Corral A., Jetten M.S.M., Méndez R. *Monitoring the stability of an Anammox reactor under high salinity conditions*. Biochemical Engineering Journal 51 (2010) 167–171
- Dapena-Mora A., Campos J.L, Mosquera-Corral A., Mendez R. *Anammox process for nitrogen removal from anaerobically digested fish canning effluents*. Water Science & Technology Vol 53 No 12 pp 265–274 DOI 10.1007/s00253-009-2359-z
- Fantozzi F., Massoli S., Pugliese A., Buratti C. *DIGESTIONE ANAEROBICA IN CONDIZIONI TERMOFILE DI FORSU TRATTATA MECCANICAMENTE: CARATTERIZZAZIONE CHIMICO FISICA DEGLI EFFLUENTI*. 66° Congresso Nazionale ATI – Rende (Cosenza), 5-9 Settembre 2011
- Fernández I., Vázquez-Padín J.R., Mosquera-Corral A., Campos J.L., Méndez R. *Biofilm and granular systems to improve Anammox biomass retention* Biochemical Engineering Journal 42 (2008) 308–313
- Fernández I., Vázquez-Padín J.R, Mosquera-Corral A., Campos J.L., Méndez R. *Biofilm and granular systems to improve Anammox biomass retention* Biochemical Engineering Journal 42 (2008) 308–313
- Henze DA, Borhegyi Z, Csicsvari J, Mamiya A, Harris KD, Buzsaki G (2000) *Intracellular features predicted by extracellular recordings in the hippocampus in vivo*. J Neurophysiol 84:390–400.
- Hu Z., Lotti T. , van Loosdrecht M., Kartal B. *Nitrogen removal with the anaerobic ammonium oxidation process*. Biotechnol Lett DOI 10.1007/s10529-013-1196-4
- ISPRA *Rapporto Rifiuti Urbani. Edizione 2014, dati di sintesi*
- Jetten M. S.M., Strous M., van de Pas-Schoonen K. T., Schalk J., van Dongen U. G.J.M, van de Graaf A. A., Logemann S., Muyzer G., van Loosdrecht M. C.M., Kuenen J. G. *The anaerobic oxidation of ammonium*. FEMS Microbiology Reviews 22 (1999) 421-437

- Jetten M. S.M., Wagner M., Fuerst J., van Loosdrecht M., Kuenen G. and Strous M. *Microbiology and application of the anaerobic ammonium oxidation ('anammox') process*. Current Opinion in Biotechnology 2001, 12:283–288
- Jin R.-C., Ma C., Mahmood Q., Yang G.-F., Zheng P. *Anammox in a UASB reactor treating saline wastewater*. Process Safety and Environmental Protection 89 (2011) 342–348
- Jin R.C., Yang G.f., Yu J.J., Zheng P. *The inhibition of the Anammox process: A review*. Chemical Engineering Journal 197 (2012) 67–79
- Kartal B., Koleva M., Arsov R., van der Star W., Jetten M. S.M., Strous M. *Adaptation of a freshwater anammox population to high salinity wastewater*. Journal of Biotechnology 126 (2006) 546–553
- Kimura Y., Isaka K., Kazama F., Sumino T. *Effects of nitrite inhibition on anaerobic ammonium oxidation*. Appl Microbiol Biotechnol (2010) 86:359–365
- Kuenen J. G. *Anammox bacteria: from discovery to application*. nature reviews, volume 6 (2008)
- Lackner S., Gilbert E. M., Vlaeminck S. E., Joss A., Horn H., van Loosdrecht M.C.M. *Full-scale partial nitritation/anammox experiences-An application survey*. water research 55 (2014) 292-303.
- Langone M. Yan J., Haaijer S. C. M., OpdenCamp H. J. M., Jetten M. S. M., Andreottola G. *Coexistence of nitrifying, anammox and denitrifying bacteria in a sequencing batch reactor*. Frontiers in microbiology February 2014 | Volume 5 | Article 28
- Liang Z., Liu J. *Control factors of partial nitritation for landfill leachate treatment*. Journal of Environmental Sciences 19(2007) 523–529
- Liang Z., Liu J. *Landfill leachate treatment with a novel process: Anaerobic ammonium oxidation (Anammox) combined with soil infiltration system*. Journal of Hazardous Materials 151 (2008) 202–212
- Lin Y.M., Lotti T., Sharma P.K., van Loosdrecht M.C.M. *Apatite accumulation enhances the mechanical property of anammox granules*. water research 47 (2013) 4556-4566
- Liu C., Yamamoto T., Nishiyama T., Fujii T., and, Furukawa K. *Effect of salt concentration in anammox treatment using non woven biomass carrier*. Journal of Bioscience and Bioengineering VOL. 107 No. 5, 519–523, 2009
- Lotti T., Scaglione D., Teli A., Canziani R., Ficara E., Malpei F. *RIMOZIONE COMPLETAMENTE AUTOTROFA DELL'AZOTO CON BATTERI ANAMMOX: PASSATO, PRESENTE E FUTURO*. Ingegneria dell'Ambiente Vol. 1, n.1/2014
- Lotti T., van der Star W.R.L., Kleerebezem R., Lubello C., van Loosdrecht M.C.M. *The effect of nitrite inhibition on the anammox process*. water research 46 (2012) 2559-2569
- Lotti T., Kleerebezem R., Lubello C., van Loosdrecht M.C.M. *Physiological and kinetic characterization of a suspended cell anammox culture*. water research 60 (2014) 1-14
- Ma C., Jin R.-C., Yang G.-F., Yu J.-J., Xing B.-S., Zhang Q.-Q. *Impacts of transient salinity shock loads on Anammox process performance*. Bioresource Technology 112 (2012) 124–130



- Ma C., Jin R.-C., Yang G.-F., Yu J.-J., Xing B.-S., Zhang Q.-Q. *Impacts of transient salinity shock loads on Anammox process performance*. *Bioresource Technology* 112 (2012) 124–130
- Ruscalleda M., Puig S., Mora X., López H., Ganigué R., Balaguer M. D., Colprim J. *The effect of urban landfill leachate characteristics on the coexistence of anammox bacteria and heterotrophic denitrifiers*. *Water Science & Technology—WST* | 61.4 | 2010
- Scaglione D., Ruscalleda M., Ficara E., Balaguer M.D., Colprim J. *Response to high nitrite concentrations of anammox biomass from two SBR fed on synthetic wastewater and landfill leachate*. *Chemical Engineering Journal* 209 (2012) 62–68
- Scaglione D., Ruscalleda M., Ficara E., Balaguer M.D., Colprim J. *Response to high nitrite concentrations of anammox biomass from two SBR fed on synthetic wastewater and landfill leachate*. *Chemical Engineering Journal* 209 (2012) 62–68
- Third K. A., Sliemers A. O., Kuenen J. G., Jetten M. S. M *The CANON System (Completely Autotrophic Nitrogen-removal Over Nitrite) under Ammonium Limitation: Interaction and Competition between Three Groups of Bacteria*. *System. Appl. Microbiol.* 24, 588–596 (2001)
- Urbini G., Torretta V., Bini P., Valvassori M., Conti F. *DIGESTIONE ANAEROBICA: SITUAZIONE IMPIANTISTICA ITALIANA ED EUROPEA*. *Rifiuti Solidi* vol. XXII n. 6 novembre-dicembre 2008
- van der Star WRL, Abma WR, Blommers D, Mulder J, Tokutomi T, Strous M, Picioreanu C and van Loosdrecht MCM (2007) *Startup of reactors for anoxic ammonium oxidation: Experiences from the first full-scale anammox reactor in Rotterdam*. *Water Research* 41(18): 4149-4163.
- van Dongen L.G.J.M., Jetten M.S.M. and van Loosdrecht M.C.M. *The Combined Sharon/Anammox Process A sustainable method for N-removal from sludge water*. STOWA report 2000-25, STOWA
- Van Hulle S. W.H., Vandeweyer H.J.P, Meesschaert B. D.Vanrolleghe P. A., Dejana P., Dumoulin A. *Engineering aspects and practical application of autotrophic nitrogen removal from nitrogen rich streams*. *Chemical Engineering Journal* 162 (2010) 1–20
- Vazquez-Padin J.R., Pozo M.J., Jarpa M., Figueroa M., Franco A., Mosquera-Corral A., Campos J.L., Mendez R. *Treatment of anaerobic sludge digester effluents by the CANON process in an air pulsing SBR*. *Journal of Hazardous Materials* 166 (2009) 336–341
- Windey K., Bo I.D., Verstraete W. *Oxygen-limited autotrophic nitrification-denitrification (OLAND) in a rotating biological contactor treating high-salinity wastewater*. *Water Research* 39 (2005) 4512–4520
- Xing B.-S., Guo Q., Yang G.-F., Zhang Jue., Qin T.-Y., Li P., Ni W.-M., Jin R.-C. *The influences of temperature, salt and calcium concentration on the performance of anaerobic ammonium oxidation (anammox) process*. *Chemical Engineering Journal* 265 (2015) 58–66
- Xu Z.-Y., Zeng G.-M., Yang Z.-H., Xiao Y., Cao M., Sun H.-S., Ji L.-L. Chen Y. *Biological treatment of landfill leachate with the integration of partial nitrification, anaerobic ammonium oxidation and heterotrophic denitrification*. *Bioresource Technology* 101 (2010) 79–86

Yang J., Zhang Li., Hira D., Fukuzaki Y., Furukawa K. *Anammox treatment of high-salinity wastewater at ambient temperature*. *Bioresource Technology* 102 (2011) 2367–2372

Yang J., Zhang L., Hira D., Fukuzaki Y., Furukawa K. *Anammox treatment of high-salinity wastewater at ambient temperature*. *Bioresource Technology* 102 (2011) 2367–237

## APPENDICE

Tabella A.1 Caratteristiche dell'Impianto1

Parametro	IMPIANTO1								
	Influente			Post Aerazione			Effluente		
	Tal Quale	Filtrato Carta	Solubile (0.45 µm)	Tal Quale	Filtrato Carta	Solubile (0.45 µm)	Tal Quale	Filtrato Carta	Solubile (0.45 µm)
Temperatura [°C]	13	-	-	20	-	-	20	-	15
conducibilità [mS cm <sup>-1</sup> ]	19	-	-	11	-	-	11	-	11
Alcalinità [mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> ]	6540	-	-	-	-	-	-	-	-
pH	8.9	8.8	8.9	7.3	8.0	8.30	7.5	7.7	7.9
ST [g L <sup>-1</sup> ]	14	11	-	-	7.8	-	7.7	7.1	-
SV [g L <sup>-1</sup> ]	7.7	5.2	-	-	1.4	-	1.1	0.8	-
SST [g L <sup>-1</sup> ]	10.5	2.6	-	-	0.3	-	0.1	0.1	-
SSV [g L <sup>-1</sup> ]	8.9	2.5	-	-	0.3	-	0.05	0.1	-
TKN [mgN L <sup>-1</sup> ]	2590	2200	-	-	-	108	36	-	29
ammonio [mgN L <sup>-1</sup> ]	-	-	1665	-	-	10	-	-	<0.02
nitrito [mgN L <sup>-1</sup> ]	-	-	-	-	-	0.15	-	-	0.05
nitrato [mgN L <sup>-1</sup> ]	-	-	-	-	-	6.4	-	-	3.5
COD [mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> ]	6880	-	1790	-	-	760	631	-	553
BOD <sub>5</sub> [mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> ]	678	1090	-	-	81	-	-	-	56
BOD <sub>20</sub> [mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> ]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Cromatografo Ionico</b>									
Fosfato [mgP L <sup>-1</sup> ]	-	-	-	-	-	9.5	-	-	1.6
Solfato [mgS L <sup>-1</sup> ]	-	-	-	-	-	83	-	-	90
Cloruro [mgCl L <sup>-1</sup> ]	-	-	-	-	-	2200	-	-	2600
Bicarbonato [mgHCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> ]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Solfuri [mgS L <sup>-1</sup> ]	-	-	<0.1	-	-	<0.1	-	-	<0.1
<b>ICP-MS</b>									
Al [mg L <sup>-1</sup> ]	-	4.3	-	-	3.8	0.66	-	0.27	<0.1
As [µg L <sup>-1</sup> ]	-	44	-	-	15	17	-	102	12
Ag [µg L <sup>-1</sup> ]	-	<1	-	-	<1	<1	-	<1	<1
Ca [mg L <sup>-1</sup> ]	-	48	-	-	95	100	-	8.5	112
Cd [µg L <sup>-1</sup> ]	-	<0.5	-	-	<0.5	<0.5	-	<0.5	<0.5
Co [µg L <sup>-1</sup> ]	-	49	-	-	18.8	<20	-	25	25
Cr [µg L <sup>-1</sup> ]	-	66	-	-	31	<1	-	32	<1
Cu [mg L <sup>-1</sup> ]	-	0.04	-	-	0.03	x	-	<0.004	<0.004
Fe [mg L <sup>-1</sup> ]	-	8.1	-	-	0.58	<0.13	-	0.14	0.13
Hg [µg L <sup>-1</sup> ]	-	<1	-	-	<1	<1	-	<1	<1
K [mg L <sup>-1</sup> ]	-	1250	-	-	1270	1250	-	1110	1090
Mg [mg L <sup>-1</sup> ]	-	55	-	-	55	58	-	58	61
Mo [µg L <sup>-1</sup> ]	-	19	-	-	<10	<10	-	0	<10
Mn [µg L <sup>-1</sup> ]	-	695	-	-	163	143	-	169	170
Na [mg L <sup>-1</sup> ]	-	1180	-	-	1380	1210	-	1450	1430
Ni [µg L <sup>-1</sup> ]	-	234	-	-	118	106	-	101	107
Pb [µg L <sup>-1</sup> ]	-	9	-	-	<5	<5	-	<5	<5
Se [µg L <sup>-1</sup> ]	-	18	-	-	<1	<1	-	<1	<1
Sr [µg L <sup>-1</sup> ]	-	298	-	-	225	255	-	234	259
Va [µg L <sup>-1</sup> ]	-	<20	-	-	2.9	4.6	-	4.4	1.9
Zn [mg L <sup>-1</sup> ]	-	0.56	-	-	0.43	<0.3	-	<0.3	<0.005

Tabella A.2 Caratteristiche dell'Impianto2

Parametro	IMPIANTO2		
	Influente		
	Tal Quale	Filtrato Carta	Solubile (0.45 µm)
Temperatura [°C]	-	22	-
conducibilità [mS cm <sup>-1</sup> ]	-	5.7	-
Alcalinità' [mgCaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> ]	-	-	-
pH	-	8.2	-
ST [g L <sup>-1</sup> ]	1.6	-	-
SV [g L <sup>-1</sup> ]	0.50	-	-
SST [g L <sup>-1</sup> ]	146	-	-
SSV [g L <sup>-1</sup> ]	160	-	-
TKN [mgN L <sup>-1</sup> ]	616	611	-
ammonio [mgN L <sup>-1</sup> ]	-	-	572
nitrito [mgN L <sup>-1</sup> ]	-	-	-
nitrato [mgN L <sup>-1</sup> ]	-	-	-
COD [mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> ]	657	475	-
BOD <sub>5</sub> [mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> ]	-	-	-
BOD <sub>20</sub> [mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> ]	-	-	-
<b>Cromatografo Ionico</b>	-	-	-
Fosfato [mgP L <sup>-1</sup> ]	-	-	18
Solfato [mgS L <sup>-1</sup> ]	-	-	11
Cloruro [mgCl L <sup>-1</sup> ]	-	-	194
Bicarbonato [mgHCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> ]	-	-	-
Solfuri [mgS L <sup>-1</sup> ]	-	-	-
<b>ICP-MS</b>			
Al [mg L <sup>-1</sup> ]	-	<0.15	-
As [µg L <sup>-1</sup> ]	-	3.5	-
Ag [µg L <sup>-1</sup> ]	-	6.7	-
Ca [mg L <sup>-1</sup> ]	-	19	-
Cd [µg L <sup>-1</sup> ]	-	<0.5	-
Co [µg L <sup>-1</sup> ]	-	17.1	-
Cr [µg L <sup>-1</sup> ]	-	15	-
Cu [mg L <sup>-1</sup> ]	-	0.009	-
Fe [mg L <sup>-1</sup> ]	-	0.46	-
Hg [µg L <sup>-1</sup> ]	-	<2.5	-
K [mg L <sup>-1</sup> ]	-	151	-
Mg [mg L <sup>-1</sup> ]	-	22	-
Mo [µg L <sup>-1</sup> ]	-	1.1	-
Mn [µg L <sup>-1</sup> ]	-	3.6	-
Na [mg L <sup>-1</sup> ]	-	141	-
Ni [µg L <sup>-1</sup> ]	-	37	-
Pb [µg L <sup>-1</sup> ]	-	<2.5	-
Se [µg L <sup>-1</sup> ]	-	<1	-
Sr [µg L <sup>-1</sup> ]	-	120	-
Va [µg L <sup>-1</sup> ]	-	<10	-
Zn [mg L <sup>-1</sup> ]	-	0.027	-

Tabella A.3 Caratteristiche dell'Impianto3

Parametro	IMPIANTO3a			IMPIANTO3b			IMPIANTO3c		
	Influente			Influente			Influente		
	Tal Quale	Filtrato Carta	Solubile (0.45 µm)	Tal Quale	Filtrato Carta	Solubile (0.45 µm)	Tal Quale	Filtrato Carta	Solubile (0.45 µm)
Temperatura [°C]	13	16	20	18	-	-	-	22	-
conducibilità [mS cm <sup>-1</sup> ]	15	15	15	9	-	-	-	13	-
Alcalinità' [mg caCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> ]	11300	-	-	7620	-	-	-	-	-
pH	8.4	8.6	8.4	8.2	-	-	-	8.3	-
ST [g L <sup>-1</sup> ]	6.7	6.2	-	6.2	-	-	5.5	-	-
SV [g L <sup>-1</sup> ]	1.8	1.3	-	2.5	-	-	1.6	-	-
SST [g L <sup>-1</sup> ]	1	0.5	-	603	-	-	605	-	-
SSV [g L <sup>-1</sup> ]	0.8	0.4	-	490.00	-	-	483.00	-	-
TKN [mgN L <sup>-1</sup> ]	1600	1560	-	980	-	-	1140	1140	-
ammonio [mgN L <sup>-1</sup> ]	-	-	1200	-	-	765	-	-	1110
nitrito [mgN L <sup>-1</sup> ]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
nitrato [mgN L <sup>-1</sup> ]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
COD [mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> ]	1860	-	1610	-	-	875	2680	2155	-
BOD <sub>5</sub> [mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> ]	847	551	-	1070	540	-	-	-	-
BOD <sub>20</sub> [mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> ]	1172	720	-	1600	710	-	-	-	-
<b>Cromatografo Ionico</b>									
Fosfato [mgP L <sup>-1</sup> ]	-	-	2.8	-	-	5.5	-	-	3.3
Solfato [mgS L <sup>-1</sup> ]	-	-	93	-	-	8.7	-	-	41
Cloruro [mgCl L <sup>-1</sup> ]	-	-	2200	-	-	1040	-	-	1460
Bicarbonato [mgHCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> L <sup>-1</sup> ]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Solfuri [mgS L <sup>-1</sup> ]	-	-	0.155	-	-	-	-	-	-
<b>ICP-MS</b>									
Al [mg L <sup>-1</sup> ]	-	1.7	-	-	0.07	<0.05	-	3	-
As [µg L <sup>-1</sup> ]	-	19	-	-	10	11	-	12	-
Ag [µg L <sup>-1</sup> ]	-	62	-	-	<5	<5	-	0.57	-
Ca [mg L <sup>-1</sup> ]	-	24	-	-	102	69	-	59	-
Cd [µg L <sup>-1</sup> ]	-	<0.2	-	-	<2.5	<2.5	-	<0.5	-
Co [µg L <sup>-1</sup> ]	-	<20	-	-	<2.5	<2.5	-	4.05	-
Cr [µg L <sup>-1</sup> ]	-	<1	-	-	<5	<5	-	8.7	-
Cu [mg L <sup>-1</sup> ]	-	0.19	-	-	0.04	0.01	-	0.017	-
Fe [mg L <sup>-1</sup> ]	-	5.4	-	-	1.7	1.2	-	1	-
Hg [µg L <sup>-1</sup> ]	-	<1	-	-	<5	<5	-	<2.5	-
K [mg L <sup>-1</sup> ]	-	1090	-	-	754	700	-	885	-
Mg [mg L <sup>-1</sup> ]	-	41	-	-	34	31	-	64	-
Mo [µg L <sup>-1</sup> ]	-	<3	-	-	7.1	5.4	-	7.8	-
Mn [µg L <sup>-1</sup> ]	-	163	-	-	132	85	-	57	-
Na [mg L <sup>-1</sup> ]	-	790	-	-	520	469	-	670	-
Ni [µg L <sup>-1</sup> ]	-	107	-	-	8.8	<5	-	30	-
Pb [µg L <sup>-1</sup> ]	-	47	-	-	<10	<10	-	4.5	-
Se [µg L <sup>-1</sup> ]	-	<5	-	-	<5	<5	-	2.7	-
Sr [µg L <sup>-1</sup> ]	-	830	-	-	930	715	-	655	-
Va [µg L <sup>-1</sup> ]	-	<2	-	-	<10	<10	-	<10	-
Zn [mg L <sup>-1</sup> ]	-	0.6	-	-	0.48	0.197	-	0.34	-

Tabella A.4 Caratteristiche dell'Impianto4

Parametro	IMPIANTO4a			IMPIANTO4b		
	Influente			Effluente		
	Tal Quale	Filtrato Carta	Solubile (0.45 µm)	Tal Quale	Filtrato Carta	Solubile (0.45 µm)
Temperatura [°C]	-	9	-	-	7.9	-
conducibilità [mS cm <sup>-1</sup> ]	-	36.1	-	-	23.1	-
Alcalinità [mgCaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> ]	-	-	-	-	-	-
pH	-	7.4	-	-	7.4	-
ST [g L <sup>-1</sup> ]	-	-	-	-	-	-
SV [g L <sup>-1</sup> ]	-	-	-	-	-	-
SST [g L <sup>-1</sup> ]	-	-	-	-	-	-
SSV [g L <sup>-1</sup> ]	-	-	-	-	-	-
TKN [mgN L <sup>-1</sup> ]	-	-	-	-	-	-
ammonio [mgN L <sup>-1</sup> ]	-	-	3080	-	-	112
nitrito [mgN L <sup>-1</sup> ]	-	-	-	-	-	11.5
nitrato [mgN L <sup>-1</sup> ]	-	-	-	-	-	8.20
COD [mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> ]	-	-	-	-	-	-
BOD <sub>5</sub> [mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> ]	-	1580	-	-	-	-
BOD <sub>20</sub> [mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> ]	-	2180	-	-	-	-
<b>Cromatografo Ionico</b>						
Fosfato [mgP L <sup>-1</sup> ]	-	-	0.8	-	-	-
Solfato [mgS L <sup>-1</sup> ]	-	-	13	-	-	-
Cloruro [mgCl L <sup>-1</sup> ]	-	-	6700	-	-	-
Bicarbonato [mgHCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> ]	-	-	-	-	-	-
Solfuri [mgS L <sup>-1</sup> ]	-	-	-	-	-	-
<b>ICP-MS</b>						
Al [mg L <sup>-1</sup> ]	-	0.54	-	-	-	-
As [µg L <sup>-1</sup> ]	-	31	-	-	-	-
Ag [µg L <sup>-1</sup> ]	-	1.3	-	-	-	-
Ca [mg L <sup>-1</sup> ]	-	64	-	-	-	-
Cd [µg L <sup>-1</sup> ]	-	<0.5	-	-	-	-
Co [µg L <sup>-1</sup> ]	-	28	-	-	-	-
Cr [µg L <sup>-1</sup> ]	-	55	-	-	-	-
Cu [mg L <sup>-1</sup> ]	-	0.007	-	-	-	-
Fe [mg L <sup>-1</sup> ]	-	29	-	-	-	-
Hg [µg L <sup>-1</sup> ]	-	<2.5	-	-	-	-
K [mg L <sup>-1</sup> ]	-	2000	-	-	-	-
Mg [mg L <sup>-1</sup> ]	-	76	-	-	-	-
Mo [µg L <sup>-1</sup> ]	-	64	-	-	-	-
Mn [µg L <sup>-1</sup> ]	-	1180	-	-	-	-
Na [mg L <sup>-1</sup> ]	-	1750	-	-	-	-
Ni [µg L <sup>-1</sup> ]	-	205	-	-	-	-
Pb [µg L <sup>-1</sup> ]	-	<2.5	-	-	-	-
Se [µg L <sup>-1</sup> ]	-	5.9	-	-	-	-
Sr [µg L <sup>-1</sup> ]	-	237	-	-	-	-
Va [µg L <sup>-1</sup> ]	-	<10	-	-	-	-
Zn [mg L <sup>-1</sup> ]	-	0.1	-	-	-	-