

POLITECNICO DI MILANO

Dipartimento di Ingegneria per l'Ambiente e il Territorio



**RIMOZIONE BIOLOGICA DELL'AZOTO DA REFLUI  
DELLA STAMPA DIGITALE TESSILE IN REATTORE  
A BIOMASSA GRANULARE**

Relatore: Prof. Roberto Canziani

Correlatore: Ing. Giacomo Bellandi

Tesi di Laurea Magistrale di:

Andrea Molteni

Matricola 884291

Anno Accademico 2018/2019



# RINGRAZIAMENTI

Un sentito grazie a tutte le persone che mi hanno permesso di arrivare fin qui e di portare a termine questo lavoro di tesi.

Grazie al prof. Roberto Canziani per avermi dato la possibilità di lavorare a questo progetto che mi ha permesso di crescere sia a livello professionale sia a livello umano. Lo ringrazio inoltre per la sua pazienza, disponibilità, per il tempo dedicatomi e per i consigli preziosi che mi ha dato.

Ringrazio Giacomo per l'aiuto che mi ha fornito sia in laboratorio che nella stesura della tesi e per aver sopportato le mie chiamate per i mille dubbi che mi affliggevano. Ringrazio Simone e Andrea ed i tecnici del laboratorio, Glauco, Enrico, Sabrina e Ruggero, per il supporto, l'aiuto e la loro disponibilità.

Ringrazio i miei genitori, che mi hanno sostenuto, supportato ma soprattutto finanziato. Grazie a mia mamma Cinzia per tutto quello che fa per me ogni giorno senza chiedere mai nulla in cambio. Grazie a mio papà Ambrogio per avermi spronato a finire questo percorso: sì, finalmente posso venire a lavorare con te!

Ringrazio i miei amici per le serate passate insieme, per avermi fatto divertire e per avermi consigliato. Ringrazio i miei nonni per l'affetto che mi danno ogni giorno e per tutte le mangiate che mi avete fatto fare e che mi farete fare.

Ringrazio la mia famiglia, non posso nominarvi tutti (siete troppi e devo stare in una pagina) ma so che ci siete e ci sarete sempre per me.

Infine, ringrazio la mia ragazza Corinna per l'amore che mi dà ogni giorno, per avermi accompagnato a fare gli esami, per i pranzi insieme al Poli e per aver creduto in me, senza di lei probabilmente la mia laurea sarebbe arrivata tra almeno un anno.



## SINTESI

La tesi è stata sviluppata nell'ambito del progetto Life DeNtreat (LIFE 16 ENV/IT/000345, Decentralized innovative treatment of ammonium-rich urban wastewater), nel quadro del programma LIFE (L'Instrument Financier pour l'Environnement), strumento di finanziamento europeo per la tutela dell'ambiente e del clima.

La tesi si propone di verificare l'applicabilità del processo PN/anammox (Partial Nitritation e ANaerobic AMMonium OXidation microorganism) per il trattamento delle acque di rifiuto dell'industria della stampa digitale tessile, e verificare la fattibilità di una soluzione di trattamento che permetta di ridurre la concentrazione di azoto entro i limiti autorizzati per lo scarico in una rete di fognatura pubblica.

La stampa digitale su tessuto è una tecnologia in rapida espansione nel settore della trasformazione tessile, grazie ai significativi miglioramenti di produttività e flessibilità apportati in questo settore industriale diffuso a livello globale. D'altra parte, le acque reflue provenienti dai bagni di risciacquo sono ricche di azoto (fino a 600 mg/L presente come azoto ammoniacale e organico), a causa dell'uso massiccio di urea nel condizionare il tessuto prima della stampa. Una concentrazione così elevata impedisce lo scarico diretto nei corpi idrici e persino nelle fognature pubbliche. È necessario un pretrattamento in loco dedicato di queste acque reflue industriali ed è necessaria una tecnologia efficiente in termini di spazio / energia adatta per l'applicazione in loco.

La rimozione autotrofa dell'azoto è una soluzione consolidata per il trattamento delle acque reflue ricche di azoto. Nel progetto LIFE DeNTreat si applica processo di nitrificazione parziale (PN) seguita da un processo basato su biomassa anammox, a singolo stadio, come trattamento decentralizzato di questo tipo di reflui, caratterizzato da minore impatto ambientale, da minori consumi energetici e di reagenti, oltre che da una assai minore produzione di residui (fanghi).

In particolare, la sperimentazione è stata condotta per valutare la trattabilità con il processo PN/anammox di reflui prodotti dai processi di stampa digitale di

diverse aziende di cui una italiana (Stamperia di Cassina Rizzardi, SCR, in provincia di Como) e due portoghesi (Estamparia Adalberto, Porto; Satinskin, Braga).

Al fine della ricerca è stato utilizzato un impianto pilota da laboratorio che ha permesso il controllo delle condizioni operative ideali per il lavoro della biomassa. Il lavoro ha confermato la possibilità di trattamento di questi reflui evidenziando anche la possibilità di convertire l'urea in azoto ammoniacale grazie all'azione di alcuni ceppi batterici ammonio ossidanti (AOB).

In alcuni casi, la presenza di composti inibenti, non hanno permesso di raggiungere i risultati teoricamente ottenibili, e ulteriori approfondimenti saranno necessari per comprendere meglio quali azioni correttive possano essere adottate.

La gestione del processo e, in particolare, il controllo dei parametri principali come pH, ossigeno disciolto e temperatura, sono di fondamentale importanza per garantire l'adattamento della biomassa a questo tipo di reflui.

Oltre a ciò, si è sviluppato un modello di simulazione del processo biologico, con l'utilizzo della piattaforma software Biowin™, che ha permesso di valutare l'influenza dei parametri operativi sull'efficienza del processo.

## ABSTRACT

The thesis was developed within the Life DeNtreat project (LIFE 16 ENV / IT / 000345, Decentralized innovative treatment of ammonium-rich urban wastewater), in the framework of the LIFE program (L'Instrument Financier pour l'Environnement), European financial instrument for environment and climate protection.

The thesis aims to verify the applicability of the PN / anammox process (Partial Nitritation and ANaerobic AMMonium OXidation microorganism) for the treatment of wastewater discharged by digital textile printing processes, and to verify the feasibility of a treatment solution that allows reduce the concentration of nitrogen within the limits authorized for discharge into a public sewer system.

Thanks to the significant productivity and flexibility improvements that Digital textile printing (DTP) made in the textile processing industrial sector, nowadays this technology is rapidly expanding globally. On the other hand, the wastewater from the rinsing and washing baths is rich in nitrogen (up to 600 mg/L, as ammonium and organic nitrogen), due to the massive use of urea in conditioning the fabric before printing. Such a high concentration prevents the direct discharge into water bodies and even into public sewers. Dedicated on-site pre-treatment of these industrial wastewater is required and space / energy efficient technology is required for on-site application.

Autotrophic nitrogen removal is a consolidated solution for nitrogen-rich wastewater treatment. In the LIFE DeNTreat project, a partial nitritation process (PN) is applied in a single-stage granular process along with anammox biomass as a decentralized treatment of this type of waste. This returns lower environmental impact, lower energy consumption and reagents, and a significantly lower production of residues (sludge).

In particular, the experimentation was conducted to evaluate the treatability with the PN / anammox process of wastewater produced by the digital printing processes of various companies, one of which was Italian (Stamperia of Cassina

Rizzardi, SCR, in the province of Como) and two Portuguese (Estamparia Adalberto, Porto; Satinskin, Braga).

For the purpose of the research, an experimentation on a laboratory pilot plant was run and allowed to define the control of the best operating conditions.

The work confirmed the possibility of treating these wastes, also highlighting the possibility of converting urea into ammoniacal nitrogen, thanks to the action of some ammonium oxidizing bacterial strains (AOB).

In some cases, the presence of inhibiting compounds, did not allow to reach the maximum theoretically obtainable results, and further investigations will be necessary to better understand what corrective actions can be adopted.

The management of the process and, in particular, operational control of parameters such as pH, dissolved oxygen and temperature, was confirmed to be of fundamental importance to guarantee the adaptation of the biomass to this type of wastewater.

In addition to this, the biological process was simulated using Biowin™, which allowed to assess the influence of the operating parameters on the efficiency of the process and gain important insights on process operation.

# INDICE DEI CONTENUTI

RINGRAZIAMENTI .....	I
SINTESI.....	III
ABSTRACT.....	V
INDICE DELLE FIGURE .....	XI
INDICE DELLE TABELLE .....	XV
CAPITOLO 1 INTRODUZIONE.....	1
1.1 PROGETTO LIFE DENTREAT .....	1
1.2 STAMPA TESSILE DIGITALE.....	4
1.2.1 TIPOLOGIE DI STAMPA TESSILE DIGITALE .....	6
<i>Stampa a getto continuo</i> .....	6
<i>Stampa a getto a richiesta</i> .....	7
1.3 SCOPO DELL'ELABORATO .....	8
CAPITOLO 2 IL PROCESSO PN/ANAMMOX .....	13
2.1 LA NITRIFICAZIONE .....	14
2.2 LA NITRITAZIONE PARZIALE .....	15
2.3 IL PROCESSO ANAMMOX .....	19
2.3.1 STECHIOMETRIA E CINETICA DEL PROCESSO .....	20
2.3.2 CONFIGURAZIONI IMPIANTISTICHE .....	22
<i>Configurazione mono stadio</i> .....	23
<i>Configurazione bistadio</i> .....	25
2.3.3 INIBENTI DEL PROCESSO .....	26
<i>Inibizione da substrati</i> .....	26
<i>Inibizione da sostanza organica</i> .....	28
<i>Inibizione da salinità</i> .....	29

2.3.4 PARAMETRI OPERATIVI E STRATEGIE DI CONTROLLO .....	30
<i>pH e temperatura</i> .....	30
<i>Ossigeno disciolto</i> .....	32
2.4 CONFRONTO CON IL PROCESSO DI NITRO/DENITRO .....	32
2.4.1 CONFRONTO SULLA PRODUZIONE DI N <sub>2</sub> O .....	34
CAPITOLO 3 MATERIALI E METODI.....	37
3.1 IL REATTORE.....	39
3.2 IL PLC.....	42
3.2.1 FUNZIONAMENTO DEI SISTEMI DI CONTROLLO .....	44
3.3 COMPONENTI DELL'IMPIANTO .....	46
3.3.1 SISTEMI DI MISCELAZIONE E AERAZIONE.....	48
3.3.2 POMPE DI CARICO E SCARICO DEL REATTORE.....	49
3.3.3 SISTEMA DI REGOLAZIONE DEL PH .....	51
3.3.4 SISTEMA DI REGOLAZIONE DELLA TEMPERATURA .....	51
3.4 PARAMETRI DEL CICLO .....	52
3.4.1 OSSIGENO DISCIOLTO .....	53
3.4.2 PH.....	53
3.4.3 TEMPERATURA.....	53
3.4.4 POTENZIALE REDOX E CONDUCIBILITÀ.....	54
3.4.5 DURATA DELLE FASI DEL CICLO DI TRATTAMENTO.....	54
3.5 METODI ANALITICI .....	55
3.6 REFLUI TRATTATI .....	58
3.6.1 CARATTERIZZAZIONE DEI REFLUI.....	58
3.7 IL GASCROMATOLOGRAFO .....	61
3.8 LA BIOMASSA GRANULARE .....	63
3.9 MODELLO DI ATTIVITÀ ANAMMOX SEMPLIFICATO .....	64
3.10 MODELLAZIONE CON BIOWIN™ .....	70
3.10.1 PARAMETRI DEL MODELLO.....	72
CAPITOLO 4 RISULTATI .....	75

4.1 RISULTATI SU “GRANULI 1” .....	75
4.2 RISULTATI SUI “GRANULI 2” .....	80
4.2.1 SPERIMENTAZIONE SU SCR .....	80
4.2.2 SPERIMENTAZIONE SU SATINSKIN.....	84
4.2.3 SPERIMENTAZIONE SU ADALBERTO .....	89
4.3 MISURE DI N <sub>2</sub> O.....	95
4.4 MODELLAZIONE DEI RISULTATI .....	97
CAPITOLO 5 CONCLUSIONI .....	101
BIBLIOGRAFIA .....	103



## INDICE DELLE FIGURE

<b>Fig. 1.1</b> Rappresentazione dei m <sup>2</sup> stampati attraverso metodo digitale e relativo tasso di crescita negli ultimi anni (“World Textile Information Network”, 2017) .....	2
<b>Fig. 1.2</b> Confronto tra due tipi di processo di stampa, il primo quello tradizionale e il secondo quello digitale. Con relative tempistiche (Gupta, 2001).....	6
<b>Fig. 1.3</b> Principali tipi di tecnologie a getto d'inchiostro (Ujiie and Textile Institute, 2006).....	8
<b>Fig. 2.1</b> Rappresentazione del rateo di crescita dei batteri AOB (linea blu) e NOB (linea rossa) in funzione del pH (Jubany et al., 2008) .....	14
<b>Fig. 2.2</b> Effetto della temperatura sul SRT dei batteri AOB e NOB (Hellinga et al., 1998).....	16
<b>Fig. 2.3</b> Rappresentazione schematica del catabolismo anammox. I rombi rappresentano i substrati, i quadrati gli intermedi di reazione e i cerchi i prodotti (Lotti <i>et al.</i> , 2014a) .....	20
<b>Fig. 2.4</b> Distribuzione sistemi PN/anammox (83 installazioni censite). Il carico di azoto medio riportato si riferisce al carico di azoto totale trattato in ciascuna categoria (adattato da Lackner <i>et al.</i> , 2014). .....	22
<b>Fig. 2.5</b> A: Granuli prelevati da un reattore operante il processo PN/anammox; B: Immagine al microscopio di una sezione (spessore 20 µm) di un granulo. Sulla sezione è stata utilizzata la tecnica di biologia molecolare denominata FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) che attraverso l'uso di sonde oligonucleotidiche specifiche, consente di colorare selettivamente alcuni ceppi batterici rispetto ad altri. In questo caso in verde sono evidenziati i batteri anammox mentre in rosso gli AOB. Le reazioni biologiche sono state inserite scopo unicamente esemplificativo (Lotti <i>et al.</i> , 2014a). .....	24
<b>Fig. 3.1</b> Impianto pilota e sue componenti .....	37
<b>Fig. 3.2</b> Schema di flusso dell'impianto .....	38
<b>Fig. 3.3</b> Corpo del reattore SBR.....	39
<b>Fig. 3.4</b> Prospetto geometrico del reattore SBR (Bellieni 2016).....	40
<b>Fig. 3.5</b> Pannello di controllo dello stato del reattore .....	42
<b>Fig. 3.6</b> Sonde Hamilton che controllano rispettivamente: a) ossigeno disciolto, b) pH, c) conducibilità e d) potenziale redox .....	43
<b>Fig. 3.7</b> Confronto tra modalità "on/off" a sinistra e modalità "pausa lavoro" a destra .....	45
<b>Fig. 3.8</b> Schermata del PLC per l'impostazione della modalità di lavoro del compressore .....	46
<b>Fig. 3.9</b> Schema di funzionamento del reattore SBR .....	47
<b>Fig. 3.10</b> Pompa peristaltica utilizzata per il ricircolo del gas nel reattore .....	48
<b>Fig. 3.11</b> Compressore per l'insufflazione di aria nel reattore .....	49
<b>Fig. 3.12</b> Pompa di carico dell'influente .....	50
<b>Fig. 3.13</b> Pompa di scarico dell'effluente .....	50
<b>Fig. 3.14</b> Pompe di dosaggio di acido e base .....	51

<b>Fig. 3.15</b> Termostato .....	52
<b>Fig. 3.16</b> Spettrofotometro.....	56
<b>Fig. 3.17</b> Procedura di utilizzo del kit per la misura del COD .....	57
<b>Fig. 3.18</b> Confronto tra la composizione (in termini di azoto totale) dei tre reflui utilizzati durante la sperimentazione, per il refluo SCR si è utilizzata la media di tutti i reflui utilizzati .....	60
<b>Fig. 3.19</b> Il gascromatografo.....	62
<b>Fig. 3.20</b> Granuli estratti dal reattore.....	64
<b>Fig. 3.21</b> Configurazione impiantistica del modello per simulare il reattore SBR per il processo PN/anammox .....	74
<b>Fig. 4.1</b> Concentrazioni in ingresso ed uscita misurate per la biomassa "granuli 1" dal 04/02/19 al 07/06/19 su refluo SCR. a) Misurazioni in ed out di azoto ammoniacale (NH <sub>4</sub> -N); b) Misurazioni in ed out di azoto totale (N <sub>tot</sub> ); c) Misurazioni in ed out di azoto organico (N organico); d) Misurazioni in ed out di COD (Chemical Oxygen Demand); .....	76
<b>Fig. 4.2</b> a) NLR ed NRR espressi in [mg N/g VSS/ d], esprimono rispettivamente il rateo di carico di azoto (NLR) e il tasso di rimozione dell'azoto (NRR); b) Efficienza di rimozione dell'azoto ottenuto come rapporto tra NRR e NLR	78
<b>Fig. 4.3</b> Attività anammox dei "granuli 1" su refluo SCR espressa in funzione dell'ammonio rimosso.....	79
<b>Fig. 4.4</b> a) NLR ed NRR espressi in [mg N/g VSS/ d], esprimono rispettivamente il rateo di carico di azoto (NLR) e il tasso di rimozione dell'azoto (NRR); b) Efficienza di rimozione dell'azoto ottenuto come rapporto tra NRR e NLR. ....	81
<b>Fig. 4.5</b> Concentrazioni in ingresso ed uscita misurate per la biomassa "granuli 1" dal 04/02/19 al 07/06/19 su refluo SCR. a) Misurazioni in ed out di azoto ammoniacale (NH <sub>4</sub> -N); b) Misurazioni in ed out di azoto totale (N <sub>tot</sub> ); c) Misurazioni in ed out di azoto organico (N organico); d) Misurazioni in ed out di nitrito (NO <sub>2</sub> -N); .....	83
<b>Fig. 4.6</b> Attività anammox dei "granuli 2" su refluo SCR espressa in funzione dell'ammonio rimosso.....	83
<b>Fig. 4.7</b> NLR ed NRR (mgN/gVSS/d) calcolati per i tre influenti .....	85
<b>Fig. 4.8</b> Composizione dell'azoto totale in ingresso (152 mg/L) ed in uscita (41 mg/L) del refluo sintetico (N organico = 0 mg/L).....	88
<b>Fig. 4.9</b> Composizione dell'azoto totale in ingresso (402 mg/L) ed in uscita (143 mg/L) del refluo sintetico al 50% e Satinskin al 50%.....	88
<b>Fig. 4.10</b> Composizione dell'azoto totale in ingresso (728 mg/L) ed in uscita (528 mg/L) del refluo Satinskin al 100% .....	89
<b>Fig. 4.11</b> NLR ed NRR (mgN/gVSS/d) calcolati per le modalità utilizzate .....	92
<b>Fig. 4.12</b> Composizione dell'azoto totale in ingresso (352 mg/L) ed in uscita (250 mg/L) del refluo sintetico al 50% e Adalberto al 50% .....	93
<b>Fig. 4.13</b> Composizione dell'azoto totale in ingresso (508 mg/L) ed in uscita (202 mg/L) del refluo Adalberto al 100% per il ciclo da 6 ore .....	93
<b>Fig. 4.14</b> Composizione dell'azoto totale in ingresso (508 mg/L) ed in uscita (150 mg/L) del refluo Adalberto al 100% per il ciclo da 8 ore .....	94
<b>Fig. 4.15</b> Quantità di N <sub>2</sub> O emessa, ricavata dalle misure effettuate, confrontata con la concentrazione di NH <sub>4</sub> -N ed NO <sub>2</sub> -N misurate nell'effluente .....	96
<b>Fig. 4.16</b> Risultato della simulazione con l'utilizzo dei parametri cinetici di default .....	98

**Fig. 4.17** Risultato della simulazione effettuata con i parametri cinetici modificati  
.....99



## INDICE DELLE TABELLE

<b>Tab. 1.1</b> Concentrazioni medie dei reflui da stamperie tessili a confronto con limiti allo scarico vigenti (D. Lgs. 152/06) .....	3
<b>Tab. 2.1</b> Concentrazioni dei metalli che comportano l'inibizione della nitrificazione, tra questi lo zinco è quello che ha fornito maggiore inibizione dal 24 al 44% (Grunditz et al., 1998).....	18
<b>Tab. 2.2</b> Risultati su inibizione da nitrito per i batteri anammox di alcune ricerche. Adattato da (Jin et al., 2012). .....	28
<b>Tab. 2.3</b> Valori di pH ottimali per attività anammox.....	31
<b>Tab. 2.4</b> Confronto tra i consumi di O <sub>2</sub> , COD e di produzione di biomassa tra i processi anammox e di nitro-denitro (Lotti et al., 2014a) .....	33
<b>Tab. 2.5</b> Esempi di emissioni di N <sub>2</sub> O da impianti di depurazione riportati in letteratura.....	35
<b>Tab. 2.6</b> Produzione di N <sub>2</sub> O osservata in differenti studi su reattore PN/anammox (adattato da Ali et al., 2016) .....	36
<b>Tab. 3.1</b> Caratteristiche geometriche del reattore .....	39
<b>Tab. 3.2</b> Durata delle fasi dei cicli utilizzati .....	55
<b>Tab. 3.3</b> Riassunto dei kit utilizzati e del loro funzionamento.....	56
<b>Tab. 3.4</b> Durata della sperimentazione sui tre reflui.....	58
<b>Tab. 3.5</b> Caratterizzazione degli influenti provenienti da SCR .....	59
<b>Tab. 3.6</b> Caratterizzazione dei reflui provenienti da Adalberto e Satinskin .....	59
<b>Tab. 3.7</b> Composizione della soluzione sintetica (a sinistra) e della soluzione trace elements (a destra) .....	61
<b>Tab. 3.8</b> Tabella dei parametri per la conversione della misura di N <sub>2</sub> O.....	62
<b>Tab. 3.9</b> Parametri cinetici dei batteri AOB .....	72
<b>Tab. 3.10</b> Parametri cinetici dei batteri NOB .....	72
<b>Tab. 3.11</b> Parametri cinetici dei batteri anammox .....	72
<b>Tab. 3.12</b> Parametri cinetici dei batteri eterotrofi.....	73
<b>Tab. 3.13</b> Durata fasi della simulazione .....	73
<b>Tab. 3.14</b> Parametri di dimensionamento del reattore .....	74
<b>Tab. 4.1</b> Concentrazioni, mediate sul periodo di utilizzo dell'influente, in ingresso (mg/L) .....	84
<b>Tab. 4.2</b> Concentrazioni, mediate sul periodo di utilizzo dell'influente, in uscita (mg/L) .....	85
<b>Tab. 4.3</b> Concentrazioni, mediate sul periodo di utilizzo dell'influente, in ingresso (mg/L) .....	90
<b>Tab. 4.4</b> Concentrazioni, mediate sul periodo di utilizzo dell'influente, in uscita (mg/L) .....	90
<b>Tab. 4.5</b> Misure di N <sub>2</sub> O effettuate dal gascromatografo su gas bag.....	95
<b>Tab. 4.6</b> Risultati della conversione delle misure di N <sub>2</sub> O.....	95
<b>Tab. 4.7</b> Quantità di N <sub>2</sub> O prodotta in rapporto alla quantità di azoto totale in ingresso .....	97

<b>Tab. 4.8</b> Concentrazioni medie misurate sul periodo di simulazione con deviazione standard .....	98
<b>Tab. 4.9</b> Parametri utilizzati per la caratterizzazione dell'influente .....	100

# CAPITOLO 1 INTRODUZIONE

La tesi è stata sviluppata nell'ambito del progetto Life DeNtreat, progetto di ricerca europeo, che si pone come obiettivo la ricerca di una soluzione per l'abbattimento degli elevati carichi di azoto che si ritrovano nelle acque di scarico dei processi di stampa tessile digitale.

## 1.1 Progetto LIFE DeNtreat

Il progetto Life (L'Instrument Financier pour l'Environnement) DeNtreat (Decentralized innovative treatment of ammonium-rich urban wastewater) (LIFE 16 ENV/IT/000345) fa parte del programma Life, ovvero uno strumento di finanziamento europeo per la tutela dell'ambiente e del clima. Life è nato nel 1992 con l'obiettivo di sviluppare politiche per favorire uno sviluppo quanto più ecosostenibile. Da quando ha avuto inizio il programma, sono stati co-finanziati circa 4000 progetti in tutta Europa.

Il progetto ha avuto inizio nel luglio del 2017 ed è prevista una durata di circa 36 mesi, con fine prevista per luglio 2020. Vi hanno preso parte diverse aziende, quali: Lariana Depur SpA (Italia), Stamperia di Cassina Rizzardi (Italia), CITEVE – Centro Tecnológico Industrias Têxtil Vestuário Portugal (Portogallo), EURATEX – European Apparel and Textile Confederation (Belgio) e ovviamente il Politecnico di Milano (Italia).

Lo scopo è quello di sviluppare soluzioni sostenibili per affrontare il problema dell'aumento delle alte concentrazioni di azoto negli scarichi industriali delle stampe tessili digitali. Questo bisogno è connesso con lo sviluppo che la stampa tessile digitale ha avuto durante gli ultimi anni. Solo nel 2017 sono stati stampati più di 1.9 miliardi di m<sup>2</sup> grazie alla stampa digitale. Si prospetta inoltre una crescita di circa il 20% di volumi stampati tra il 2017 e il 2021.

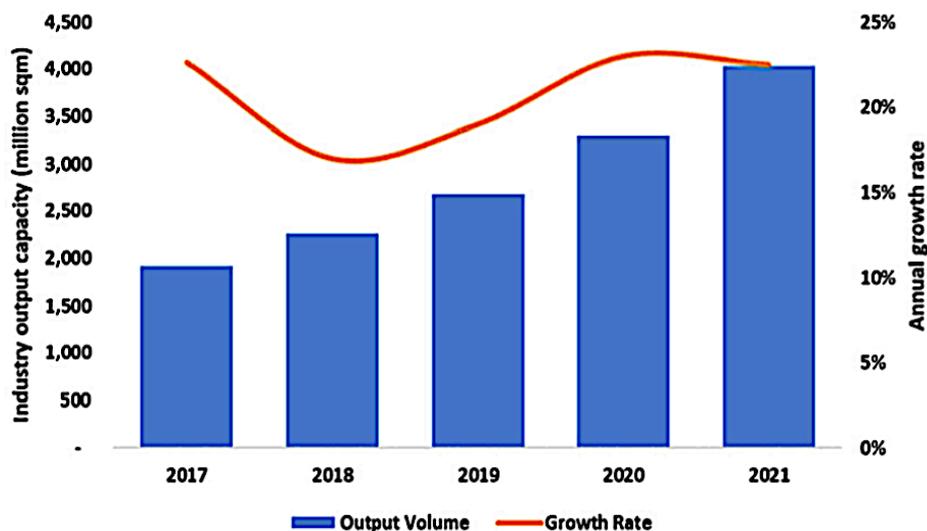


Fig. 1.1 Rappresentazione dei m<sup>2</sup> stampati attraverso metodo digitale e relativo tasso di crescita negli ultimi anni (“World Textile Information Network”, 2017)

Al fine di fissare la tintura della stampa sul tessuto, è necessario effettuare su tutto il tessuto di stampa un pretrattamento con un agente fissante (urea). Successivamente l'urea viene rimossa dal tessuto grazie a diversi risciacqui. Le acque scaricate dalle operazioni di risciacquo contengono un carico di azoto superiore fino al 200% rispetto a quelle scaricate dai processi tradizionali di stampa.

Per la colorazione dei tessuti vengono utilizzate delle tinture azoiche, che non vengono biodegradate nei trattamenti biologici convenzionali aerobici. Possono

subire una biodegradazione parziale in condizioni anaerobiche, ma i sottoprodotti che si originano risultano spesso tossici e/o mutageni. La loro struttura è pensata per essere resistente (non devono perdere colore) alla radiazione UV, agli attacchi chimici o microbiologici. Ve sono di diversi tipi e sono caratterizzate dalla presenza di un doppio legame azoto azoto (N=N) che i batteri presenti nel reattore non sono in grado di rompere rendendo difficile la rimozione di questo composto dal refluo (Zissi et al., 1996; Rather et al., 2018; Ozyurt and Ataçag, 2003; Sudha et al., 2014).

In Tab. 1.1 viene mostrato un confronto tra i limiti allo scarico e le concentrazioni ritrovate nei reflui dell'industria tessile per rendere evidente la problematica.115

**Tab. 1.1** Concentrazioni medie dei reflui da stamperie tessili a confronto con limiti allo scarico vigenti (D. Lgs. 152/06)

<b>Parametro</b>	<b>Valori reflui stampa digitale</b>	<b>Limiti normativi per lo scarico in fognatura pubblica (D. Lgs 152/06)</b>
<b>pH</b>	7 - 9.5	5.5 - 9.5
<b>COD</b>	400 - 800 mg L <sup>-1</sup>	≤ 500 mg L <sup>-1</sup>
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N</b>	35 - 300 mg L <sup>-1</sup>	≤ 22.4 mg L <sup>-1</sup>
<b>Ntot</b>	50 - 600 mg L <sup>-1</sup>	≤ 22.4 mg L <sup>-1</sup> (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N) ≤ 0.6 mg L <sup>-1</sup> (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N) ≤ 30 mg L <sup>-1</sup> (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N)

Nel distretto comasco, vigono deroghe ai limiti allo scarico in fognatura, subordinati alla verifica della capacità di trattamento da parte dell'impianto centralizzato dove recapita la rete fognaria. In particolare, il limite per l'azoto complessivo (TKN + NO<sub>3</sub>-N + NO<sub>2</sub>-N) concesso dall'autorità di controllo è di 100 mg/L.

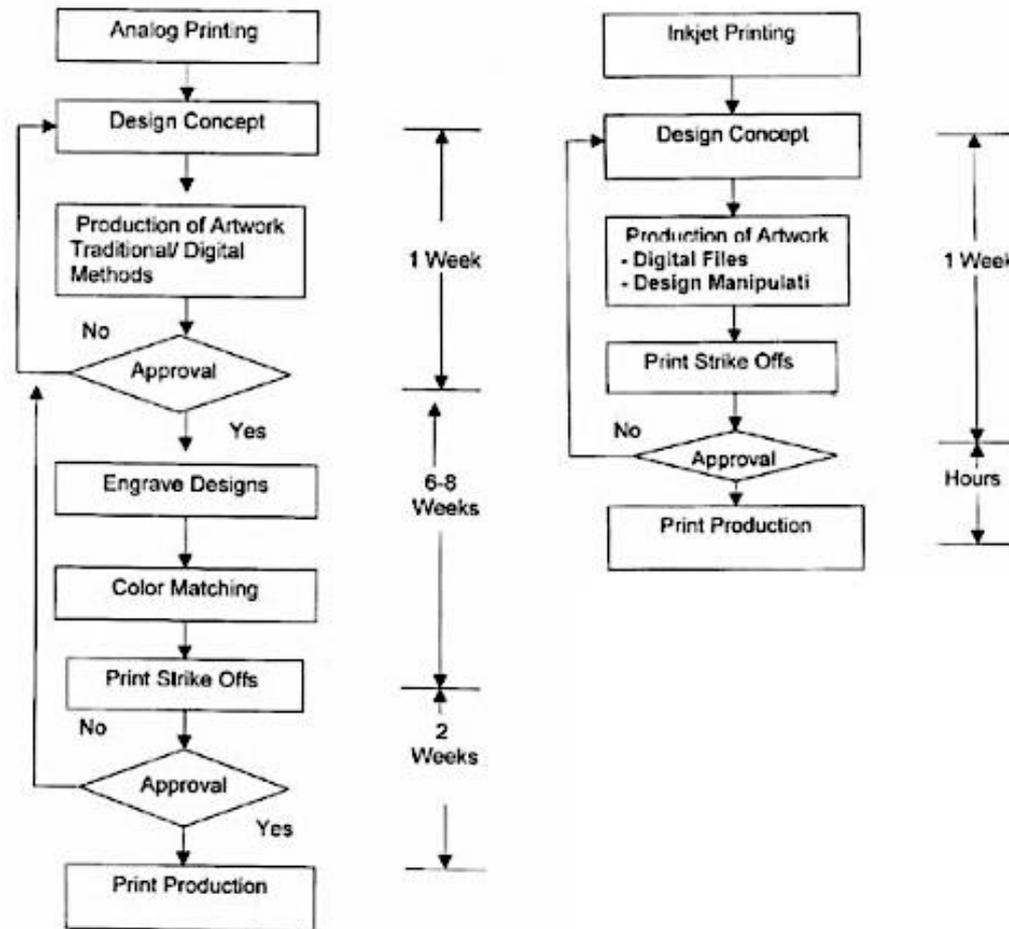
Tra gli obiettivi che il progetto si pone ci sono ("Life DeNTreat", 2019):

- Proporre un sistema di trattamento delle acque di scarico che riduca la concentrazione di azoto totale allo scarico in fognatura al di sotto di 100 mg/L;
- Rispettare l'obiettivo della direttiva 91/271/CEE art. 5 (recepita in Italia dal D. Lgs. 152/06) che richiede una riduzione percentuale minima del carico in ingresso agli impianti di trattamento delle acque reflue urbane pari al 75% per l'azoto totale;
- Consentire agli impianti centralizzati di trattamento delle acque reflue urbane di rispettare agevolmente il limite di concentrazione in uscita pari a 10 mg/L di azoto totale (per impianti superiori a 100.000 AE);
- Un risparmio effettivo fino al 40% dei costi di investimento e di gestione (questi soprattutto per i minori costi energetici, di reagenti e di smaltimento fanghi) rispetto alle tecnologie attuali;
- Minimizzare le emissioni di N<sub>2</sub>O;
- Ridurre il volume prodotto di fanghi del 25% rispetto alle tecnologie attualmente adottate.

## **1.2 Stampa tessile digitale**

La stampa tessile digitale (STD) ha avuto un impatto importante sull'industria tessile (Ujiie and Textile Institute, 2006). Questa rivoluzione ha avuto inizio circa 40 anni fa continuando ad evolversi negli anni. Questa tecnologia vede in Como uno dei maggiori centri di sviluppo, la città Lariana è ormai da tempo uno dei cardini dell'industria tessile nel mondo. A Lariana troviamo alcune delle aziende direttamente coinvolte nel progetto Life DeNtreat. La STD ha preso sempre più

piede nel settore tessile perché è in grado di soddisfare quelle che sono le nuove esigenze di mercato. Una rapida risposta ai cambiamenti permette di adattarsi al modo in cui nuove mode si impongono ogni giorno, cosa che per sistemi tradizionali sarebbe impossibile, come risulta evidente in Fig. 1.2 la stampa tradizionale richiede per portare a compimento un lavoro tra le 9-11 settimane, invece con la STD i tempi sono notevolmente ridotti, si parla di una settimana circa per completare il ciclo produttivo. Questa velocità permettere alla STD di adattarsi anche ad un altro problema, ovvero la pirateria del design. Infatti, design originali vengono copiati in maniera molto rapida, è allora importante poter lavorare in maniera veloce per evitare di essere preceduti da altre stamperie. La STD possiede inoltre il vantaggio di poter stampare su nuovi materiali, questo non è sempre possibile per i metodi tradizionali. È un processo più ecosostenibile e dai costi più contenuti, caratteristiche che stanno diventando sempre più importanti nell'economia dell'aziende moderne (Gupta, 2001). Tutto ciò ha permesso lo sviluppo della STD.



**Fig. 1.2** Confronto tra due tipi di processo di stampa, il primo quello tradizionale e il secondo quello digitale. Con relative tempistiche (Gupta, 2001)

### 1.2.1 Tipologie di stampa tessile digitale

La STD si divide principalmente in due tipologie: a getto continuo (Continuous Ink Jet – CIJ) e a getto a richiesta (Drop On Demand – DOD) (Ujii and Textile Institute, 2006).

#### Stampa a getto continuo

Nella stampa a getto continuo l'inchiostro viene spruzzato attraverso gli ugelli in maniera costante. Dagli ugelli fuoriescono delle piccole gocce di inchiostro che

vengono caricate elettrostaticamente e possono depositarsi o meno sul tessuto grazie piastre caricate che ne possono deviare il flusso. Le gocce considerate in “eccesso” vengono ricircolate nel sistema e riutilizzate in un secondo momento. Si distinguono principalmente due tipologie di stampa a getto continuo, la prima multilevel deflected e la seconda binary deflected (Gupta, 2001).

### Stampa a getto a richiesta

Nel sistema a getto a richiesta, l'inchiostro viene emesso solo su richiesta del sistema senza generare un flusso continuo. In questo sistema la velocità di eiezione risulta minore rispetto al sistema a flusso continuo. Di conseguenza c'è una diminuzione della velocità di lavoro ma permette una semplificazione del processo grazie all'adozione di teste di stampa più economiche e caratterizzate da minor frequenza di guasti.

Anche in questo caso vi sono due principali meccanismi per il rilascio dell'inchiostro, getto d'inchiostro piezoelettrico (PIJ) o getto d'inchiostro termico (TIJ).

Oltre ai sistemi citati per l'emissione delle gocce di inchiostro, ve ne sono poi altri, che vengono riportati per completezza nella Fig. 1.3.

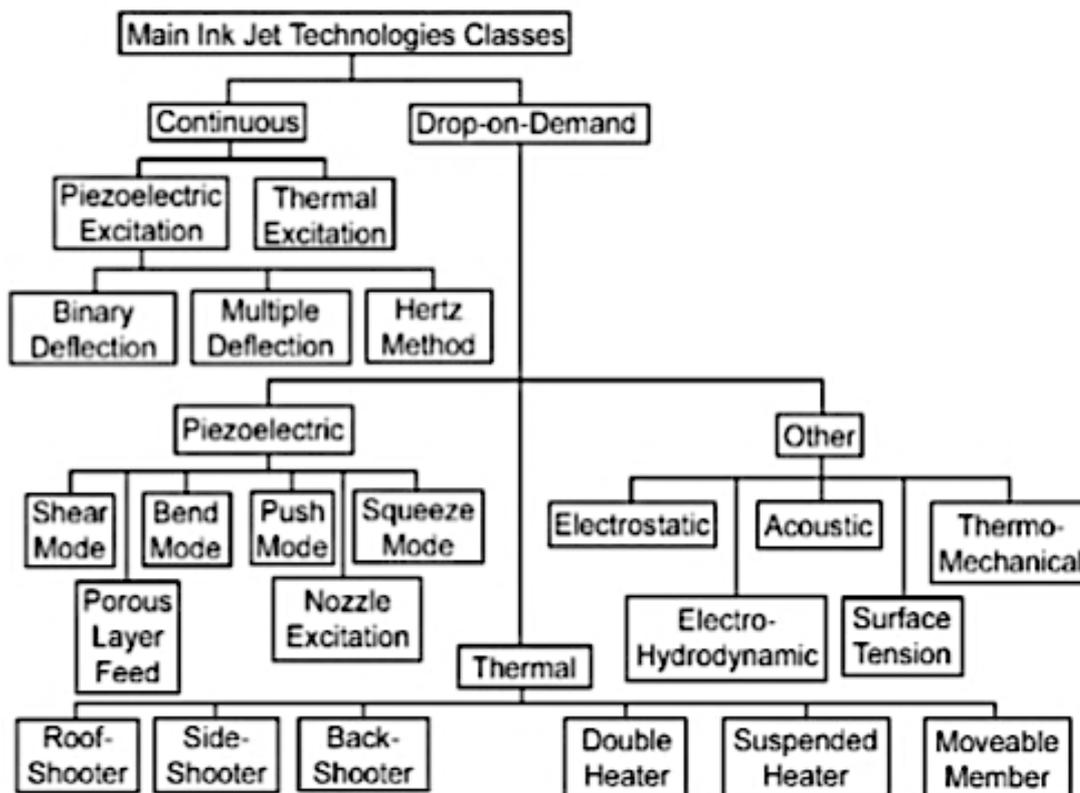


Fig. 1.3 Principali tipi di tecnologie a getto d'inchiostro (Ujiie and Textile Institute, 2006)

## 1.3 Scopo dell'elaborato

La tesi si propone di verificare l'applicabilità del processo PN/anammox (Partial Nitrification e ANaerobic AMMonium OXidation microorganism) per il trattamento delle acque di rifiuto dell'industria della stampa tessile, al fine di proporre una soluzione di trattamento che permetta lo scarico in fognatura rispettando i limiti autorizzati. Inoltre, applicando il processo a piedi di fabbrica, si riduce il carico in arrivo ai depuratori centralizzati, risolvendo i problemi connessi agli elevati carichi azotati, cui non corrisponde un proporzionale aumento dei carichi organici.

L'afflusso di elevati carichi azotati comporta un notevole dispendio energetico per i consumi necessari all'ossidazione dell'azoto (nitrificazione) e il basso apporto di COD biodegradabile comporta il dosaggio di substrati carboniosi

biodegradabili che vanno acquistati e che gravano sui costi di gestione alla voce reagenti. Infine, in condizioni svantaggiose (basse temperature o presenza di inibenti) è generalmente richiesta un'elevata età del fango per assicurare la nitrificazione. Di conseguenza, i volumi o i tempi di residenza dei reattori devono essere considerevolmente aumentati limitando la capacità di trattamento (Praveen, 2017).

Al fine della ricerca è stato utilizzato un impianto pilota da laboratorio che ha permesso il controllo delle condizioni operative ideali per il lavoro della biomassa PN/anammox, utilizzata in forma di agglomerati granulari in cui convivono diverse specie batteriche (vedi Capitolo 2). La tesi si inserisce in un lavoro di ricerca avviato nel 2015 con l'impianto di laboratorio, che ha già in parte evidenziato come il processo anammox fosse attuabile, non solo per il trattamento della frazione liquida di digestati di fanghi di depurazione o scarichi dell'industria alimentare ma anche per trattare reflui derivanti dalla stampa tessile digitale.

In un primo lavoro (Niccolini, 2014) sono stati condotti test manometrici in batch per studiare la trattabilità mediante processo PN/anammox di acque reflue provenienti da diverse industrie di stampa digitale, sia dopo equalizzazione che tal quali. In un secondo studio (Santarsia, 2015) si è esaminata la possibilità di rimuovere l'azoto in maniera autotrofa su acque reflue concentrate della stampa tessile. I test batch dell'attività anammox sulle acque concentrate hanno rilevato problemi legati all'azione inibente dell'ammoniaca libera derivante dall'ureolisi, che comporta un aumento dell'ammoniaca libera e, quindi, del pH, incompatibile con le reazioni biologiche. L'effetto combinato dell'elevato pH e della elevata concentrazione di ammoniaca libera non ha permesso di stabilire l'effettiva trattabilità delle acque reflue con biomassa anammox. Inoltre, l'inibizione da pH

alto ed elevata concentrazione di ammoniaca libera non ha consentito di indagare l'eventuale inibizione causata dalle caratteristiche intrinseche delle acque reflue, a causa di composti diversi dall'urea e utilizzati per i processi di stampa. Per determinare i fenomeni inibitori derivanti esclusivamente dalle caratteristiche delle acque è stata suggerita l'implementazione di test sull'impianto pilota a pH controllato in modo da separare questi effetti da quelli derivanti dall'idrolisi dell'urea. In un terzo studio (Bellieni, 2016) il processo PN/anammox è stato applicato in un impianto pilota SBR a gas-lift, dove i risultati hanno confermato l'applicabilità del processo per trattare le acque reflue equalizzate. Tuttavia, il processo applicato ad acque concentrate non ha fornito buoni risultati di trattabilità. Difatti, in questo tipo di reflui, la concentrazione di azoto è molto più elevata e presente soprattutto sotto forma di urea, mentre in quelle equalizzate si trova principalmente ammonio (Praveen, 2017). L'urea non può essere utilizzata direttamente dagli anammox come substrato. Perciò dallo studio è emerso che le acque reflue concentrate non potevano essere trattate con il processo PN/anammox a meno di garantire la trasformazione dell'urea in ammonio prima o durante il trattamento, mantenendo il pH intorno a valori compatibili con il processo biologico.

Infine in un quarto studio (Praveen, 2017) è stata valutata l'attività anammox su reflui della Stamperia di Cassina Rizzardi (SCR) a basso rapporto COD/N.

Per simulare il processo tramite modello GSST (Granular Sludge Sequencing Tank) è stato utilizzato il software Biowin<sup>TM</sup>, che ha consentito:

1. Di valutare differenti scenari di gestione del pilota SBR e

2. attraverso l'utilizzo del modello ASDM (Activated Sludge/Anaerobic Digestion Model), gli effetti del pretrattamento anammox sul depuratore di Livescia.

Test manometrici sulla biomassa anammox hanno dimostrato l'assenza di fenomeni di tossicità acuta in diversi campioni di acque reflue della stampa tessile digitale, dimostrando l'idoneità della biomassa anammox fosse utilizzabile per la rimozione dell'azoto da questi tipi di reflui.

Si è ritenuto comunque necessario proseguire con i test su impianto pilota, prima di passare ad un trattamento su vasta scala, per meglio comprendere il comportamento della biomassa, anche, per esempio, per valutarne eventuali effetti di tossicità cronica, evidenziabili solo con prove a più lungo termine.

La modellazione ha confermato che i tempi di avviamento di un processo PN/anammox (anche sull'impianto SBR gas-lift) sono abbastanza lunghi (circa 60 giorni per raggiungere risultati che si approssimano al funzionamento stabile).

Uno dei problemi evidenziati è il controllo della biomassa eterotrofa, che, se si sviluppa in eccesso, tende a compromettere l'integrità della biomassa granulare. Per evitarne l'accumulo si è verificata, sia su modello, sia nell'impianto a scala di laboratorio, l'efficacia di adottare brevi tempi di sedimentazione che favoriscano la ritenzione della biomassa granulare e l'allontanamento nello scarico di quella fioccosa (in gran parte eterotrofa, caratterizzata da crescita rapida) con conseguente dilavamento della stessa.

Il modello è stato anche utilizzato per verificare i benefici dell'adozione del processo PN/anammox sull'impianto centralizzato che riceve gli scarichi dei processi di stampa tessile digitale (evitare l'aggiunta di carbonio per la

denitrificazione, riduzione della produzione di fanghi e riduzione dei consumi energetici).

## CAPITOLO 2 IL PROCESSO PN/ANAMMOX

Il processo PN/anammox (dall'inglese *partial nitrification/anaerobic ammonium oxidation*) sfrutta principalmente il metabolismo di due ceppi batterici, i batteri azoto-ossidanti (AOB, Ammonia Oxidizing Bacteria) ed i batteri anammox (AMX). È un processo applicato recentemente (i primi studi a riguardo sono di Mulder *et al.*, 1995), ma che negli ultimi dieci anni si sta diffondendo come alternativa al processo di nitrificazione e denitrificazione per acque di scarico calde ( $> 25^{\circ}\text{C}$ ), con concentrazioni di azoto ammoniacale  $> 100$  mg/L e rapporto tra COD biodegradabile e azoto  $< 2$ .

Il processo PN/anammox sfrutta l'azione combinata delle due popolazioni presenti nella biomassa:

- Gli AOB ossidano a nitrito circa metà dell'ammonio presente (nitrificazione parziale);
- Gli AMX utilizzano i nitriti prodotti e l'ammonio residuo per produrre azoto molecolare.

In alcuni processi le due reazioni biologiche avvengono in due reattori separati, in altri, come nel caso considerato in questa tesi, i due processi sono combinati in un solo reattore grazie alla compresenza di entrambe le popolazioni batteriche in agglomerati granulari.

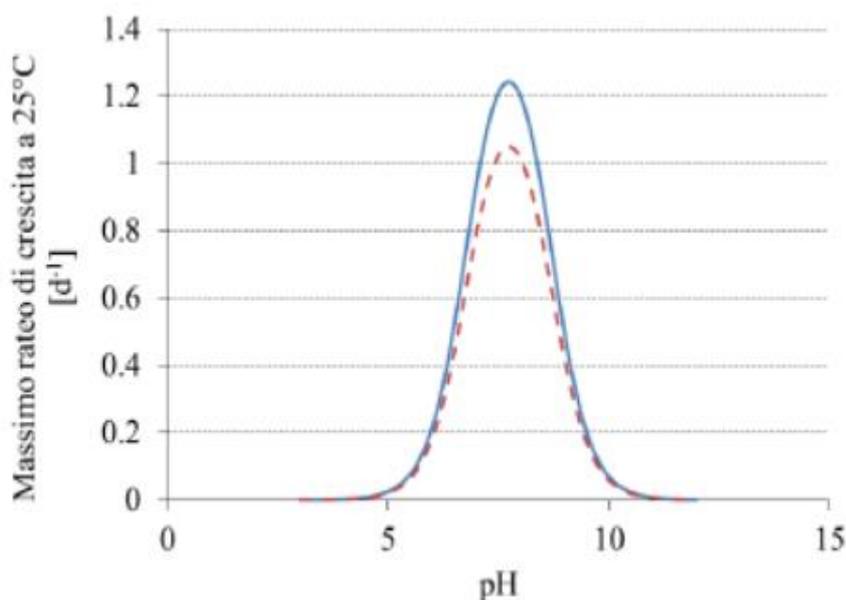
## 2.1 La nitrificazione

La nitrificazione è un processo biologico che comporta l'ossidazione dell'ammonio a nitrito e successivamente da nitrito a nitrato ad opera di due gruppi batterici aerobici e chemioautotrofi (ricavano energia dall'ossidazione di sostanze inorganiche semplici).

Il processo di ossidazione dove l'ammonio viene ossidato a nitrito grazie ai batteri AOB, avviene secondo la seguente reazione (si mostra solo la reazione catabolica):



Il processo è acidificante in quanto vengono prodotte due moli di  $H^+$  per mole di ammonio ( $NH_4^+$ ) ossidata. È necessario prestare attenzione a questo parametro perché i batteri AOB sono inibiti a pH acido mentre lavorano meglio a pH intorno alla neutralità o leggermente alcalino (Fig. 2.1).



**Fig. 2.1** Rappresentazione del rateo di crescita dei batteri AOB (linea blu) e NOB (linea rossa) in funzione del pH (Jubany et al., 2008)

La seconda fase della nitrificazione è la nitratazione, in cui il nitrito viene ossidato a formare nitrato grazie all'azione dei batteri NOB (nitrite oxidizing bacteria), secondo la reazione:



L'unione dei due processi sopra descritti dà luogo alla seguente reazione complessiva:



## 2.2 La nitritazione parziale

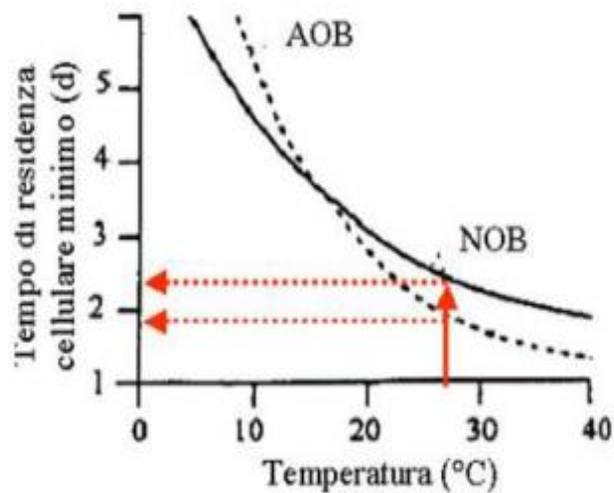
La nitritazione parziale è così chiamata perché comporta la conversione di circa metà dell'ammonio in soluzione, mentre la quota restante viene utilizzata dai batteri anammox insieme all'azoto ammoniacale non ancora reagito.

Per poter fare ciò è necessario impedire l'attività dei batteri NOB, che sottrarrebbero il nitrito agli anammox producendo nitrato.

Gli NOB però possono essere inibiti mediante un'attenta gestione del processo che prevede la combinazione di:

- Temperatura elevata e basso SRT: il valore di SRT minimo che garantisce l'accumulo di biomassa all'interno del reattore è funzione della temperatura. Come illustrato in letteratura (Jetten et al., 1998) un aumento di temperatura comporta un maggior rateo di crescita per i batteri AOB rispetto agli NOB. Perciò a temperature elevate il valore di SRT minimo per gli AOB per poter accumularsi è minore rispetto a quello degli NOB, come mostrato in Fig. 2.2. Risulta quindi possibile ottenere un dilavamento degli NOB attraverso temperature elevate e bassi SRT come

peraltro dimostrato grazie al processo SHARON (Single reactor High activity Ammonia Removal Over Nitrite) (Hellinga et al., 1998).



**Fig. 2.2** Effetto della temperatura sul SRT dei batteri AOB e NOB (Hellinga et al., 1998)

- Concentrazione di ammoniaca libera ( $\text{NH}_3$ ) e acido nitrico libero ( $\text{HNO}_2$ ): le concentrazioni di ammoniaca libera e acido nitrico libero sono calcolabili conoscendo i valori di pH, temperatura, concentrazione di azoto totale (TN) e concentrazione di nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) (Anthonisen et al., 1976):

$$[\text{NH}_3] = \frac{[\text{TN}] \cdot 10^{\text{pH}}}{\frac{6344}{e^{T+273}} + 10^{\text{pH}}}$$

$$[\text{HNO}_2] = \frac{[\text{NO}_2^-] \cdot 10^{-\text{pH}}}{\frac{-2300}{e^{T+273}} + 10^{-\text{pH}}}$$

Il rapporto tra le forme ioniche ( $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_2^-$ ) e quelle non ioniche ( $\text{NH}_3$  e  $\text{HNO}_2$ ) è definito dai valori di pH e temperatura all'interno del reattore e possono essere calcolati grazie all'equilibrio acido base.

La quantità di ammoniaca libera cresce al crescere del pH, mentre la quantità di acido nitroso diminuisce, questo promuove la crescita dei batteri AOB e sopprime gli NOB (Van Hulle et al., 2010). Ne consegue che gli NOB possono essere inibiti in un ambiente debolmente alcalino (pH tra 7.5 e 8).

L' $\text{NH}_3$  è il principale inibente a pH elevato ( $>8$ ), mentre a pH più bassi ( $<7.5$ ) lo è l' $\text{HNO}_2$ . In letteratura sono state definite differenti valori di soglia inibenti sia per AOB che per NOB, che dipendono però molto dal tipo di ambiente e dal grado di adattabilità degli stessi batteri.

Anthonisen et al. (1976) ha definito che per i batteri AOB sono inibenti concentrazioni di  $\text{NH}_3$  tra 8-120 mg N L<sup>-1</sup> e di  $\text{HNO}_2$  tra 0.2-2.8 mg N L<sup>-1</sup>, mentre per gli NOB tra 0.08-0.82 mg N L<sup>-1</sup> per  $\text{NH}_3$  e tra 0.06-0.83 mg N L<sup>-1</sup> per  $\text{HNO}_2$ . Da questo risulta evidente come l'effetto di  $\text{NH}_3$  e  $\text{HNO}_2$  sia molto più probante per i batteri NOB che per gli AOB. Tuttavia questo tipo di approccio sembra limitato dal fatto che i batteri NOB siano in grado di adattarsi a questo tipo di ambienti (Turk and Mavinic, 1989). Perciò sarebbe più opportuno lavorare soprattutto su gli altri fattori per ottenere la nitrificazione parziale (Peng and Zhu, 2006).

- Bassa concentrazione di ossigeno disciolto: essendo la nitrificazione un processo aerobico l'ossigeno disciolto è di fondamentale importanza sia per gli AOB che per gli NOB. Tuttavia, i batteri NOB risentono maggiormente della limitazione cinetica dovuta a basse concentrazioni di ossigeno disciolto. Ciò risulta evidente dal diverso valore della costante di semi saturazione per le due popolazioni batteriche: i valori variano tra 0.25-0.5 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> per gli AOB e tra 0.34-2.5 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> per gli NOB.

Alcuni autori sono concordi nell'individuare nelle basse concentrazioni di ossigeno disciolto la causa principale della limitazione cinetica dei batteri NOB rispetto agli AOB (*inter alia*: Canziani et al., 2006; Jubany et al., 2009; Yoo et al., 1999). Altri autori hanno indentificato invece nell'idrossilammina e non nella costante di semi saturazione la principale causa della limitazione cinetica dei batteri NOB a basse concentrazioni di ossigeno disciolto (Yang and Alleman, 1992; Castignetti and Gunner, 1982; Steven et al., 1992).

- Altri tipi di inibenti: e.g. benzene, toluene e xilene sono stati rilevati come sostanze che comportano una riduzione nell'attività batterica.

Metalli pesanti come cromo, nichel, alluminio, zinco, piombo e cadmio inibiscono entrambe le reazioni di ossidazione dell'azoto a differenti concentrazioni (Tab. 2.1).

Acido formico, acetico, propionico e butirrico inibiscono gli NOB (Eilersen et al., 1994).

**Tab. 2.1** Concentrazioni dei metalli che comportano l'inibizione della nitrificazione, tra questi lo zinco è quello che ha fornito maggiore inibizione dal 24 al 44% (Grunditz et al., 1998)

Metalli	Concentrazione ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Cr	0.7-785
Ni	3-860
Cu	3-5730
Zn	3-1000
Pb	0.09-1680
Cd	0.01-20

## 2.3 Il processo anammox

L'esistenza di un processo metabolico che sfruttasse le reazioni anammox è stato teorizzato per la prima volta da Broda (Broda, 1977) attraverso dei calcoli stechiometrici e valutazioni termodinamiche. Tuttavia, per molti anni ci fu molto scetticismo riguardo a questa possibilità, fino a che Mulder e la sua squadra riuscirono, durante i loro esperimenti, ad osservare la rimozione di nitrito e ammonio con conseguente formazione di azoto molecolare (Mulder et al., 1995). Più tardi si riuscì a coltivare questo microorganismo all'interno di un reattore SBR (Sequencing Batch Reactor), permettendo in questo modo uno studio approfondito della stechiometria del processo e della fisiologia degli organismi coinvolti (Strous et al., 1998).

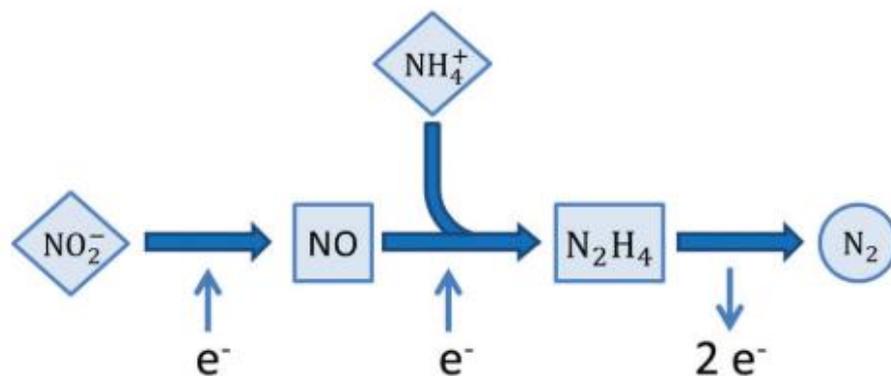
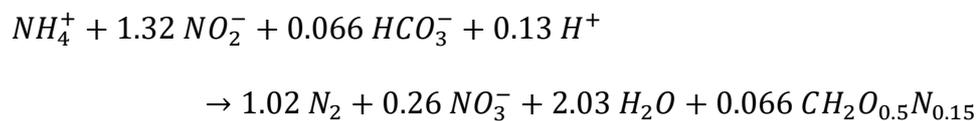
Un reattore SBR consente di garantire una buona ritenzione della biomassa, che permette la crescita dei batteri, evitandone il dilavamento, mentre la distribuzione omogenea dei substrati, dei prodotti e degli aggregati, evita la formazione all'interno del reattore di zone critiche per la sopravvivenza batterica. Grazie a questi fattori, sono state mantenute condizioni stabili che hanno evitato situazioni di stress per tutta la durata della sperimentazione (oltre 1 anno), anche in condizioni di substrato limitante e permesso la prima effettiva sperimentazione su anammox.

Tutte queste caratteristiche hanno permesso al sistema SBR di essere ancora tutt'oggi una delle tipologie reattoristiche più utilizzate.

### 2.3.1 Stechiometria e cinetica del processo

Il processo anammox richiede innanzitutto la presenza di nitrito e ammonio e si svolge principalmente in 3 fasi (Fig. 2.3): la prima fase comporta la riduzione del nitrito a monossido di azoto (NO), la seconda fase prevede la reazione del NO con l'ammonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) a formare idrazina (N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>), reazione catalizzata dall'enzima idrazina sintetasi, la terza fase ossida l'idrazina ad azoto molecolare (Kartal et al., 2011).

La stechiometria che viene ancora oggi accettata è la seguente (Strous et al., 1998):



**Fig. 2.3** Rappresentazione schematica del catabolismo anammox. I rombi rappresentano i substrati, i quadrati gli intermedi di reazione e i cerchi i prodotti (Lotti et al., 2014a)

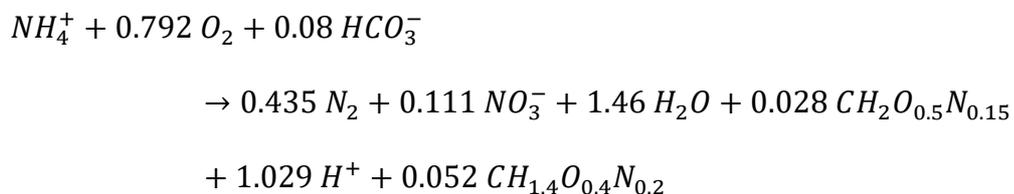
Nel metabolismo anammox il carbonio inorganico viene utilizzato come fonte di carbonio per la produzione di biomassa, mentre il nitrito svolge un duplice ruolo: funge da accettore di elettroni per ossidare l'ammonio e come donatore di

elettroni per ridurre il carbonio inorganico durante la fase anabolica, con conseguente formazione di azoto nitrico (Lotti et al., 2014a).

I batteri anammox possiedono un'elevata affinità per i loro substrati, difatti ammonio e nitrito vengono consumati fino a concentrazione bassissime. Tuttavia l'attività metabolica è relativamente bassa questo potrebbe spiegare il basso tasso di crescita (Jetten et al., 2009).

I batteri anammox presentano infatti un tempo di duplicazione di circa 2 settimane, con un tasso di crescita massimo di  $0.0027 \pm 0.0005 \text{ h}^{-1}$  (Strous et al., 1998). Studi più recenti hanno però dimostrato come il tempo di duplicazione possa essere molto inferiore ( $T_d = 3.3 \text{ d}$ , Lotti et al., 2014b) se i batteri vengono mantenuti nelle condizioni ideali.

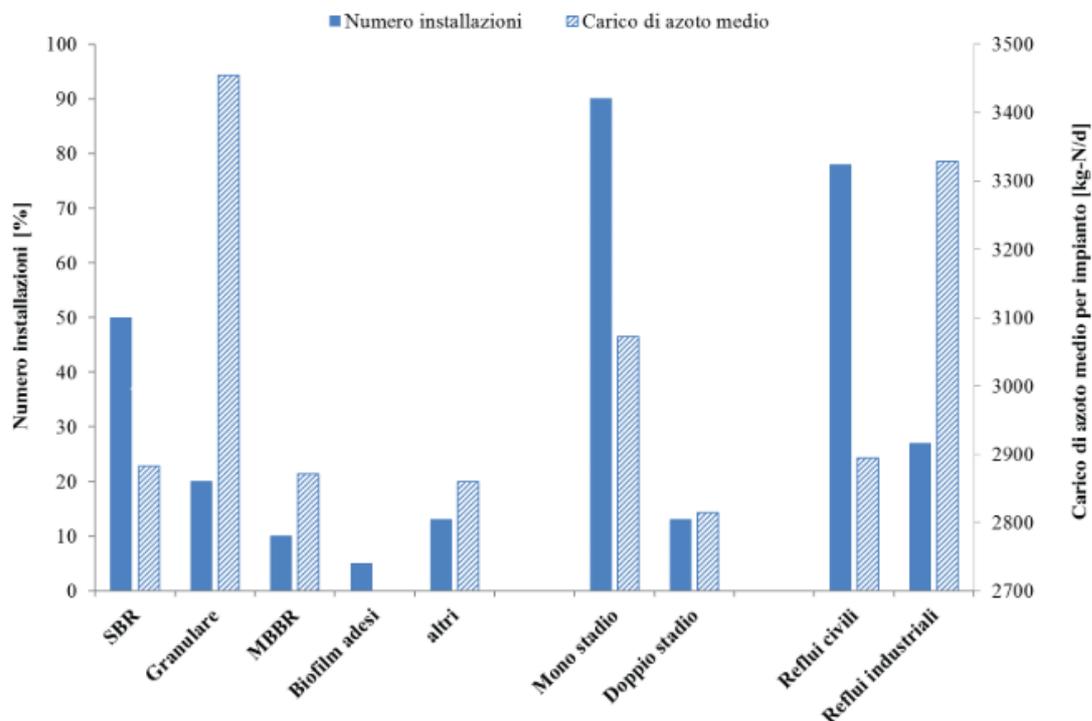
Nel caso in cui il processo anammox avvenga in combinazione con il processo di nitrificazione parziale, è possibile combinare le due stechiometrie per ottenere il seguente risultato:



Come si nota dalla stechiometria, per ogni mole di ammonio rimosso, si producono 0.111 moli di nitrato. In teoria è perciò impossibile condurre una rimozione totale dell'azoto ammoniacale (possiamo raggiungere al massimo un'efficienza dell'89%). La coesistenza nel reattore di batteri eterotrofi denitrificanti che sfruttino la presenza di sostanza biodegradabile potrebbe rendere possibili rendimenti di rimozione anche superiori a questo 89%.

## 2.3.2 Configurazioni impiantistiche

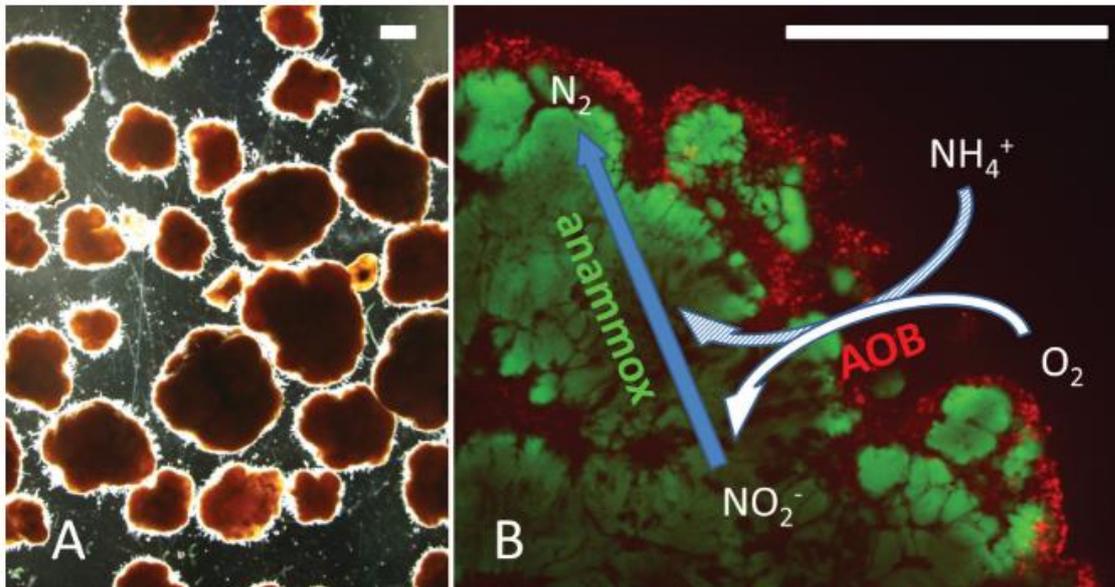
Il processo PN/anammox può essere implementato attraverso due differenti tipologie impiantistiche. La prima è quella mono stadio in cui sia il processo di nitrificazione parziale che quello anammox avvengono all'interno dello stesso reattore. La seconda è quella bistadio in cui i due processi avvengono in 2 reattori separati. Ad oggi la maggior parte delle configurazioni impiantistiche adottate in tutto il mondo sono quelle mono stadio, con la tecnologia SBR che, come è già stato fatto notare, sembra essere la più adatta per questo tipo di processo. Difatti l'88% circa degli impianti sono in configurazione mono stadio e circa il 50% sono di tipo SBR. Inoltre il 75% di tutti gli impianti PN/anammox sono utilizzati per trattare reflui di origine civile (Fig. 2.4) (Lackner et al., 2014).



**Fig. 2.4** Distribuzione sistemi PN/anammox (83 installazioni censite). Il carico di azoto medio riportato si riferisce al carico di azoto totale trattato in ciascuna categoria (adattato da Lackner et al., 2014).

## Configurazione mono stadio

La configurazione mono stadio prevede un unico reattore per l'esecuzione di entrambi i processi. È importante limitare la crescita degli NOB (cfr. 2.2 La nitrificazione parziale), per evitare la loro competizione con gli AOB nell'uso dell'ossigeno e con gli anammox nell'uso del nitrito. Esistono differenti opzioni per una configurazione mono stadio, tra queste SBR o air lift soprattutto utilizzati con biomassa sospesa o anche RBC (Rotating Biological Contactor) e MBBR (Moving Bed BioReactor) che prevedono per lo più biomasse adese. Solitamente la biomassa si trova in granuli (o biofilm). I batteri anammox si annidano solitamente all'interno dei granuli (o biofilm) mentre all'esterno si trovano i batteri AOB (Fig. 2.5). Questo permette agli anammox di essere protetti dalla presenza di ossigeno disciolto (inibente per loro) che viene consumato dagli AOB, oltre che da altre sostanze inibenti che non riescono a diffondere all'interno del granulo. L'ammonio invece, se presente in concentrazioni sufficienti, riesce a penetrare all'interno del granulo permettendo ai batteri di consumarlo.



**Fig. 2.5** A: Granuli prelevati da un reattore operante il processo PN/anammox; B: Immagine al microscopio di una sezione (spessore 20  $\mu\text{m}$ ) di un granulo. Sulla sezione è stata utilizzata la tecnica di biologia molecolare denominata FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) che attraverso l'uso di sonde oligonucleotidiche specifiche, consente di colorare selettivamente alcuni ceppi batterici rispetto ad altri. In questo caso in verde sono evidenziati i batteri anammox mentre in rosso gli AOB. Le reazioni biologiche sono state inserite scopo unicamente esemplificativo (Lotti et al., 2014a).

Negli anni sono stati sviluppati diverse tipologie di impianti mono stadio, tra i quali ricordiamo il processo OLAND (Oxygen Limited Autotrophic Nitrification and Denitrification), il processo CANON (Completely Autotrophic Nitrogen removal Over Nitrite), DEMON (aerobic/anoxic deammonification) e il processo SNAP (Single-stage Nitrogen removal using Anammox and Partial nitrification). Per un approfondimento su queste tipologie di reattori si rimanda il lettore a Lotti et al. (2014a), Van Hulle et al. (2010) e Lackner et al. (2014).

Ci sono diversi vantaggi connessi con l'utilizzo di questa configurazione impiantistica. Minori costi di investimento, deve essere costruito un solo reattore e di conseguenza avrò anche minori consumi energetici. Minor rischio di inibizione dei batteri anammox da parte di accumuli di nitrito, che in condizioni

ottimali non riesce ad accumularsi perché viene consumato all'istante. Alcuni studi hanno osservato che le emissioni di  $N_2O$  connesse ai processi mono stadio sono tra 0.4-1.3% del carico di azoto (Joss et al., 2009), mentre le quantità prodotte dal processo bistadio sono tra il 2.3-6.6% del carico di azoto (Kampschreur et al., 2008).

## Configurazione bistadio

Nella configurazione bistadio si ha la presenza di 2 reattori in serie in cui le 2 fasi del processo PN/anammox avvengono separatamente. Nel primo si attua il processo di nitrificazione parziale, dove i batteri AOB convertono parte dell'ammonio in nitrito, nel secondo avviene il processo anammox dove la parte restante dell'ammonio e il nitrito formato nel primo reattore vengono convertiti in azoto molecolare. Il primo reattore sarà aerato, mentre il secondo si trova in condizioni di anossia. La problematica principale è quella di riuscire a mantenere un rapporto ammonio nitrito di 1:1.32 (come da stechiometria, Strous et al., 1998) evitando un accumulo di nitrito che comporta l'inibizione dei batteri anammox. I principali tipi di reattori utilizzati in questa configurazione sono: il reattore CSTR (Completely Stirred Tank Reactor), l'MBR (Membrane Bioreactor) e l'SBR (Sequencing Batch Reactor). Tra i principali vantaggi di un sistema bistadio c'è sicuramente la possibilità di ottimizzare i due processi singolarmente, ciò facilita la soppressione degli NOB oltre che ridurre i tempi di start up. Viene eliminato il problema del rapporto COD/N troppo elevato perché c'è la possibilità di rimuovere la sostanza organica nel primo reattore. Viene eliminato il rischio di inibizione da parte dell'ossigeno per i batteri anammox. Bisogna però fare

attenzione ad un accumulo eccessivo di nitrito nel secondo reattore che per concentrazioni elevate può risultare inibente per i batteri anammox.

### 2.3.3 Inibenti del processo

Affinché il processo anammox possa avvenire in maniera corretta è necessario che le condizioni operative siano ottimali, evitando accumuli di sostanze che possano inibire totalmente o parzialmente la loro attività.

#### Inibizione da substrati

Per quanto riguarda il substrato principale, ovvero l'ammonio, è stato riscontrato durante primi studi che questo composto non avesse particolare inibizione anche a concentrazioni elevate, superiori a 1 g N/L (Strous et al., 1999).

Tuttavia, studi più recenti hanno riscontrato degli effetti negativi dell'ammonio. Dapena-Mora et al. (Dapena-Mora et al., 2007) hanno riscontrato una riduzione dell'attività del 50% per concentrazioni di ammonio pari a 770 mg N/L che causavano un eccesso di ammoniaca. In uno studio successivo Fernández et al. (2012) mostra gli effetti della ammoniaca libera sul breve e lungo periodo sul processo anammox. Dalla loro ricerca è emerso che una concentrazione di ammoniaca libera pari a 38 mg/L fosse sufficiente a ridurre del 50% l'attività batterica sul breve periodo. Mentre sul lungo periodo sono sufficienti concentrazioni pari a 20-25 mg/L per ottenere l'instabilità del processo.

Il consiglio è perciò di mantenere concentrazioni di ammoniaca libera al di sotto di quest'ultimo valore per evitare una totale perdita di attività batterica.

In letteratura si riscontrano differenti valori di inibizione dovuti ad ammoniaca libera, è stato quindi ipotizzato che anche le caratteristiche degli stessi batteri e il loro grado di adattamento contribuiscano al tipo di inibizione che l'ammoniaca libera può comportare su di loro (Oshiki et al., 2011).

Per quanto riguarda il nitrito, altro importante substrato del processo, molte ricerche hanno evidenziato degli effetti inibenti da accumulo, ci sono però molte discordanze sulla concentrazione massima sopportabile di nitrito. Nella Tab. 2.2 vengono mostrati i risultati di alcune ricerche sull'inibizione dei batteri anammox da parte di concentrazioni più o meno elevate di nitrito. Come risulta evidente i risultati sono molto diversi tra di loro, possiamo quindi affermare che il limite inibente di concentrazione vari in funzione delle condizioni operative e delle caratteristiche dei batteri. Ad esempio, sembra rilevante il modo in cui i batteri vengano coltivati. Biomassa anammox coltivata a concentrazioni basse di nitrito ( $< 1 \text{ mg L}^{-1}$ ) è risultata essere più sensibile ad accumuli, viceversa coltivazioni a concentrazioni più elevate comportano una resistenza dei batteri anche a condizioni che risulterebbero critiche altrimenti. In realtà sembrerebbe che l'attività inibente non dipenda direttamente dalla presenza di nitrito ma bensì dalla formazione di acido nitroso libero ( $\text{HNO}_2$ ), come nel caso dell'ammonio e dell'ammoniaca libera. La presenza di  $\text{NO}_2^-$  o di  $\text{HNO}_2$  è strettamente correlata al valore di pH. In letteratura non si trovano molte informazioni riguardo le concentrazioni limite di questo composto. Fernández et al. (Fernández et al., 2012) riportano che concentrazioni di  $11 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  comportano una riduzione del 50% dell'attività anammox, mentre concentrazioni pari a  $1.5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  portano ad una riduzione della rimozione e destabilizzazione del processo.

Perciò il controllo di ammoniaca libera e acido nitroso libero sembra essere di fondamentale importanza, anche se ad oggi non è del tutto chiaro il meccanismo che porti all'inibizione batterica.

**Tab. 2.2** Risultati su inibizione da nitrito per i batteri anammox di alcune ricerche.  
Adattato da (Jin et al., 2012).

Tipo di biomassa	T [°C]	pH influente	Reattore	Modalità operativa	Nitriti [mg/L]	Effetto	Riferimenti
Fango anammox	-	-	SBR	-	>100	Inibizione	(Strous, 1999)
Biofilm nitrificante	37	7	Bottiglie di siero	Batch	>185	Inattivazione	(Egli et al., 2001)
Fango anammox	37	7.2	ABF	Flusso continuo	>280	Inibizione	(Isaka, 2007)
Fango reattore a letto fisso	36	-	Tubi di Monod	Batch	>274	Inibizione	(Kimura et al., 2010)
Fango reattore a letto fisso	30	-	Reattore cilindrico	Flusso continuo	>750	Inibizione	(Tang et al., 2010a)
Fango granulare anaerobico	35	6.8	UBF	Flusso continuo	380	-31%	(Tang et al., 2010a)
Fango fioccoso denitrificazione	35	6.8	UBF	Flusso continuo	390	-85%	(Fernández et al., 2012)
Biofilm anammox	30	-	SBR	Flusso continuo	<240	No inibizione	(Fernández et al., 2012)
Fango granulare anammox	35	6.8	UASB	Flusso continuo	300,400, 280	Inibizione -12%	(Tang et al., 2010b)
Biofilm anammox	37	7.8	Fiale	Batch	224	-50%	(Oshiki et al., 2011)
Fango granulare anammox	35	6.8-7	EGSB	Flusso continuo	768	-24%	(Chen et al., 2011)

## Inibizione da sostanza organica

Si può distinguere l'inibizione da sostanza organica in due tipi, sostanza organica non tossica e sostanza organica tossica.

L'effetto della sostanza organica non tossica dipende dalla concentrazione.

Concentrazioni elevate inibiscono l'attività anammox (Tang et al., 2010c) mentre

basse concentrazioni possono addirittura promuoverne il metabolismo (Dapena-Mora et al., 2007).

Solitamente vengono considerati due meccanismi di inibizione per la sostanza non tossica. Il primo meccanismo, anche detto “Out competition”, consiste nella competizione tra i batteri anammox e gli eterotrofi. I batteri eterotrofi in condizioni di elevate concentrazioni di sostanza organica crescono molto più rapidamente dei batteri anammox riuscendo a sopraffarli. Il secondo meccanismo prevede che i batteri anammox cambino il loro cammino metabolico, ovvero sfruttino la sostanza organica come substrato al posto di ammonio e nitrito (Güven et al., 2005). Di conseguenza l'attività anammox si riduce e contestualmente si riduce anche la rimozione di azoto. In ogni caso l'attività anammox può essere “ripristinata” inserendo i batteri in un ambiente libero da sostanza organica.

La sostanza organica tossica, invece, agisce avvelenando i microorganismi o disattivandone l'attività enzimatica: spesso l'inattivazione è irreversibile (Güven et al., 2005). Tra le principali sostanze tossiche si trovano alcoli, aldeidi, fenoli e antibiotici.

### Inibizione da salinità

Un'elevata salinità comporta un'elevata pressione osmotica che risulta essere dannosa per i batteri che in queste condizioni muoiono o vengono disattivati (Jin et al., 2007). I processi di rimozione anaerobica sono inibiti da reflui ad elevata salinità; tuttavia il processo anammox può essere utilizzato per trattare acque con questo tipo di caratteristiche. Infatti i batteri anammox sono stati scoperti in ambienti marini anossici (Xiao and Roberts, 2010) ad alte concentrazioni di sale

perciò sembra che questi batteri possano sopravvivere in situazioni che risulterebbero estreme per altri tipi di microorganismi. Alcune ricerche riportano che a certe concentrazioni di salinità viene promossa la formazione di biomassa granulare ed incrementata la ritenzione batterica nel reattore (Fernández et al., 2008). Concentrazioni troppo elevate di sale possono inibire la biomassa anammox anche se è in grado di accrescere le proprie performance attraverso un'adeguata acclimatazione. Come per tutti gli altri inibenti, l'inibizione da salinità dipende molto dalle caratteristiche della biomassa, dalle condizioni operative e dal tipo di refluo da trattare.

### 2.3.4 Parametri operativi e strategie di controllo

Per evitare la riduzione dell'attività anammox è necessario oltre che evitare la presenza di inibenti in concentrazioni elevate anche mantenere una gestione corretta del reattore e il mantenimento di condizioni operative quanto più opportune per il processo.

#### pH e temperatura

Due parametri di fondamentale importanza per garantire la sopravvivenza della biomassa anammox sono pH e temperatura.

Il pH risulta essere molto importante perché regola la concentrazione di ammoniaca libera e di acido nitroso libero che risultano essere molto inibenti ad elevate concentrazioni. Per bassi valori di pH si hanno elevate concentrazioni di acido nitroso libero e basse concentrazioni di ammoniaca libera, mentre elevati valori di pH comportano concentrazioni elevate di ammoniaca libera e basse

concentrazioni di acido nitroso libero. Per questo motivo il pH ottimale è intorno alla neutralità anche se in letteratura sono presenti discordanze per quanto riguarda il valore ottimale di pH da mantenere. In Tab. 2.3 sono presentati i valori ottimali ottenuti da differenti ricerche.

**Tab. 2.3** Valori di pH ottimali per attività anammox

<b>pH ottimale</b>	<b>Riferimenti</b>
~ 7.4	(Carvajal-Arroyo et al., 2014)
7.2-7.6	(Puyol et al., 2014)
6.5-8	(S. W. Van Hulle et al., 2007)
7.5-8.3	(Y. Yang et al., 2006)
~ 8	(Egli et al., 2001)
6.7-8.3	(Strous et al., 1999)

La temperatura, come il pH, influenza la concentrazione di ammoniaca libera e acido nitroso libero. Anche l'attività batterica risulta essere influenzata in modo diretto: il valore di temperatura ottimale per l'attività anammox è compreso tra i 30-40 °C (Strous et al., 1999; Egli et al., 2001). Temperature al di fuori di questo range comportano una perdita di rimozione a volte anche molto importante. Tuttavia, il range di temperatura che gli anammox possono tollerare varia tra i -5°C e i 60-80 °C (questo range è stato definito a seguito di ricerche su batteri anammox ritrovati in natura): questo significa che potrebbe esserci la possibilità di ottenere buoni risultati anche al di fuori dei range ottimali di temperatura. Questo potrebbe essere un grande vantaggio dal punto di vista del consumo energetico. Molto spesso i reflui da trattare hanno una temperatura al di fuori del range ottimale e di conseguenza si è costretti a riscaldare il refluo, con i consumi energetici che ne derivano. Sono stati fatti diversi studi a riguardo: Isaka et al. (2007) hanno riscontrato un tasso di rimozione pari a 8.1 g N L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> a 20-22°C in un reattore biologico anaerobico, Ma et al. (2013) hanno ottenuto una rimozione

di 2.28 g N L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> a 16°C e vi sono poi molti altri esempi, per un approfondimento si rimanda a Tomaszewski et al. (2017).

## Ossigeno disciolto

Un altro parametro operativo molto importante da controllare è l'ossigeno disciolto (OD): i batteri anammox sopravvivono in condizioni di anossia. Concentrazioni molto basse di OD possono ridurre o annullare la loro attività metabolica.

Egli et al. (2001) hanno osservato concentrazioni di OD che hanno inibito reversibilmente ed irreversibilmente l'attività anammox pari rispettivamente a 0.08 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> e 1.44 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. In un altro studio di Strous et al. (1997) concentrazioni di OD tra 0.1-0.16 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> hanno comportato l'inibizione irreversibile dei batteri. Uno dei vantaggi del processo PN/anammox è che avendo della biomassa granulare i batteri AOB consumano l'ossigeno presente nel bulk evitando che questo arrivi a contatto con gli anammox. Perciò i batteri AOB formano una sorta di barriera protettiva che permette agli anammox di ritrovare all'interno del granulo le condizioni ideali per la propria crescita (Lotti et al., 2015).

## 2.4 Confronto con il processo di nitro/denitro

Il processo di nitrificazione e denitrificazione è il processo convenzionalmente utilizzato per la rimozione dell'azoto dai reflui, soprattutto di origine civile.

Questo processo vede l'unione di un processo autotrofo detto nitrificazione (accennato al paragrafo 2.1) e di un processo eterotrofo detto denitrificazione.

Il processo di nitrificazione sfrutta due ceppi batterici gli AOB e gli NOB per ossidare l'ammonio prima a nitrito e poi a nitrato. Il processo di denitrificazione invece comporta la riduzione del nitrato ad azoto molecolare.

Il processo di nitrificazione comporta grandi consumi di ossigeno mentre la denitrificazione richiede grandi quantità di sostanza organica che funge da donatore di elettroni per la riduzione. Perciò per il processo si hanno grandi consumi sia energetici che in sostanze da dosare esternamente. Confrontando questo processo con il PN/anammox possiamo definire che nel processo PN/A il consumo di ossigeno sia notevolmente ridotto in quanto la nitrificazione si ferma alla nitrificazione e non si ha bisogno di sostanza organica perché sia gli AOB che gli anammox sono batteri autotrofi. Inoltre, la natura autotrofa di questi batteri garantisce una bassa resa cellulare con ridotta produzione di fanghi. Dal confronto tra i due processi si evince come il processo PN/anammox comporti un risparmio del 100% di carbonio organico, dell'80% nella produzione di fanghi di supero e riduzione del 60% dei consumi energetici dovuti all'aerazione (Mulder, 2003), definendo un risparmio del 40% sui costi di gestione dell'impianto (van Dongen et al., 2001; Siegrist et al., 2008).

**Tab. 2.4** Confronto tra i consumi di O<sub>2</sub>, COD e di produzione di biomassa tra i processi anammox e di nitro-denitro (Lotti et al., 2014a)

	<b>Consumo di O<sub>2</sub></b> <b>[kg O<sub>2</sub>/ kg N]</b>	<b>Consumo di COD</b> <b>[kg COD/ kg N]</b>	<b>Produzione di biomassa</b> <b>[kg SSV/ kg N]</b>
<b>PN/anammox</b>	1.81	0	0.13
<b>Nitro-denitro</b>	4.24	3.63	0.68

Gli anammox sono in grado di formare facilmente biofilm adesi su supporti inerti ma anche biofilm auto-aggreganti molto stabili in forma granulare, ciò consente la formazione di sistemi compatti, caratterizzati da un'alta concentrazione di

biomassa (fino a 15-20 g SSV L<sup>-1</sup>), alta età del fango (oltre 30 giorni) e alti tassi di rimozione dell'azoto (5-10 kg N m<sup>3</sup> d).

Tutti questi vantaggi presentano però delle criticità di processo. Bisogna far coesistere (a meno di utilizzare un processo bistadio) tra loro differenti specie batteriche con esigenze ambientali diverse.

Inoltre, è necessario adottare delle condizioni tali da permettere l'eliminazione della biomassa indesiderata: ciò è possibile mediante un'esperta gestione del processo e delle sue variabili.

### 2.4.1 Confronto sulla produzione di N<sub>2</sub>O

La produzione di N<sub>2</sub>O avviene ad opera sia dei batteri autotrofi (AOB ed NOB) che dei batteri eterotrofi. La produzione durante la nitrificazione parziale avviene quando la quantità di ossigeno disciolto è limitata e gli AOB utilizzano il nitrito come accettore di elettroni al posto dell'ossigeno portando alla formazione di N<sub>2</sub>O. Per quanto riguarda gli eterotrofi questi batteri sono i principali responsabili della denitrificazione, ovvero la riduzione di NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO e N<sub>2</sub>O ad azoto gassoso. In determinate situazioni (basso rapporto COD:N, elevate concentrazioni di NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, elevata concentrazione di DO) può però accadere che il processo venga interrotto durante la fase di riduzione dell'N<sub>2</sub>O causando il suo accumulo e la conseguente emissione. Le emissioni di N<sub>2</sub>O degli impianti di depurazione delle acque variano molto in base ai processi e alle condizioni operative, possono passare dall'essere trascurabili a sostanziali. Sulla base di misure su campo è stata calcolata la produzione di N<sub>2</sub>O in impianti di rimozione biologica dell'azoto, definendo un'emissione pari al 7% del carico di azoto in

ingresso (Guo et al., 2013; Law et al., 2013). Tipicamente il picco di emissione si verifica nel primo compartimento aerato del processo biologico. La produzione di N<sub>2</sub>O risulta essere sito specifica e deve essere valutata puntualmente caso per caso.

In Tab. 2.5 sono riportati i risultati di alcune ricerche sulle emissioni di N<sub>2</sub>O da impianti di depurazione delle acque reflue.

**Tab. 2.5** Esempi di emissioni di N<sub>2</sub>O da impianti di depurazione riportati in letteratura

<b>Configurazione impianto di depurazione</b>	<b>Emissione di N<sub>2</sub>O (% rispetto NH<sub>4</sub>-N influente)</b>	<b>Riferimento</b>
Due step CAS plug flow	1 <sup>st</sup> step: 0.68% 2 <sup>nd</sup> step: 3.5	(Pan et al., 2016)
SBR	6.80%	(Rodriguez-Caballero et al., 2015)
Impianto BNR	0.03% 0.14%	(Tumendelger et al., 2014)
Impianto danese (dati aggregati)	0.49%	(Thomsen, 2016)
Solo rimozione COD	0.016% – 0.31%	(Brotto et al., 2015)
A <sup>2</sup> O	0.08%	Adattato da (Yan et al., 2014)
A <sup>2</sup> O inverso	0.17%	
Fossa di ossidazione	0.28%	
Schema MLE	0.85%	Adattato da (Townsend-Small et al., 2011)

Per processi autotrofi di rimozione dell'azoto è stata osservata un'emissione di N<sub>2</sub>O pari al 6% del carico di azoto in ingresso (Desloover et al., 2012).

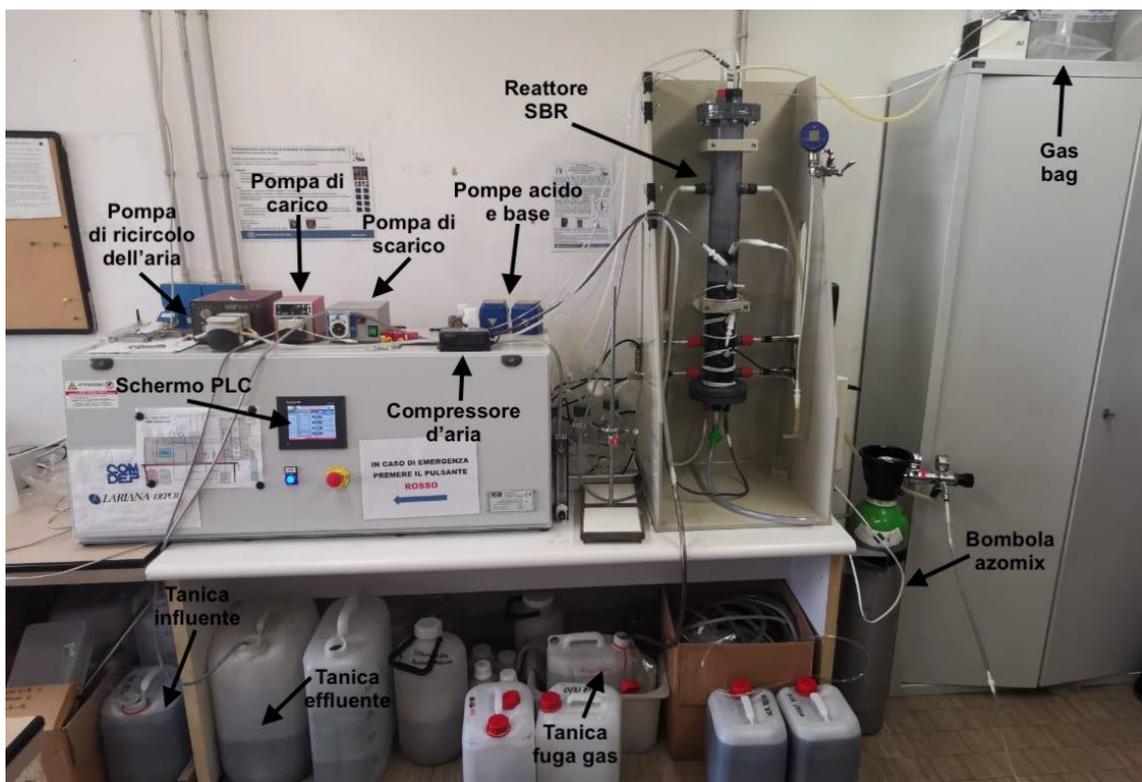
Domingo-Félez et al. (2014) hanno mostrato che un reattore monostadio in processo PN/anammox può generare emissioni di N<sub>2</sub>O variabili dal 1.9% al 11% dell'azoto totale rimosso in base all'attivazione della fase di aerazione (Bellandi, 2017). In Tab. 2.6 sono mostrati i risultati di alcune ricerche sull'emissione di N<sub>2</sub>O da parte di reattori PN/anammox.

**Tab. 2.6** Produzione di N<sub>2</sub>O osservata in differenti studi su reattore PN/anammox  
(adattato da Ali et al., 2016)

Tipo di reattore	NLR (Nitrogen loading rate)	NRR (Nitrogen removal rate)	emissione N <sub>2</sub> O (% NLR)	emissione N <sub>2</sub> O (% NRR)	Riferimento
	kg/m <sup>3</sup> d		%		
Full-scale	2	1.48	1.2	1.67	(Kampschreur et al., 2009)
Lab-scale	0.1315	0.11	0.1	0.11	(Slijkers et al., 2002)
Lab-scale	0.30-0.74	0.25-0.61	0.4-2	0.48-2.44	(Yang et al., 2013)
Lab-scale	0.025	0.021	2.45	2.4	(Hu et al., 2013)
Lab-scale	0.69	0.48	0.28-1.06	0.41-1.53	(Xiao et al., 2014)
Full-scale	1.5	1.35	0.8	0.89	(Joss et al., 2009)
Pilot-scale	0.58-2.7	0.47-1.31	3.0-6.4	11.1-19.1	(De Clippeleir et al., 2013)
Full-scale	1.76	1.31	2	2.69	(Castro-Barros et al., 2015)
Lab-scale	0.75	0.66	1.2-6.0	1.7-7.0	(Domingo-Félez et al., 2014)
Lab-scale	0.5-0.8	0.4-0.6	0.98 ± 0.42	1.35 ± 0.72	(Ali et al., 2016)

## CAPITOLO 3 MATERIALI E METODI

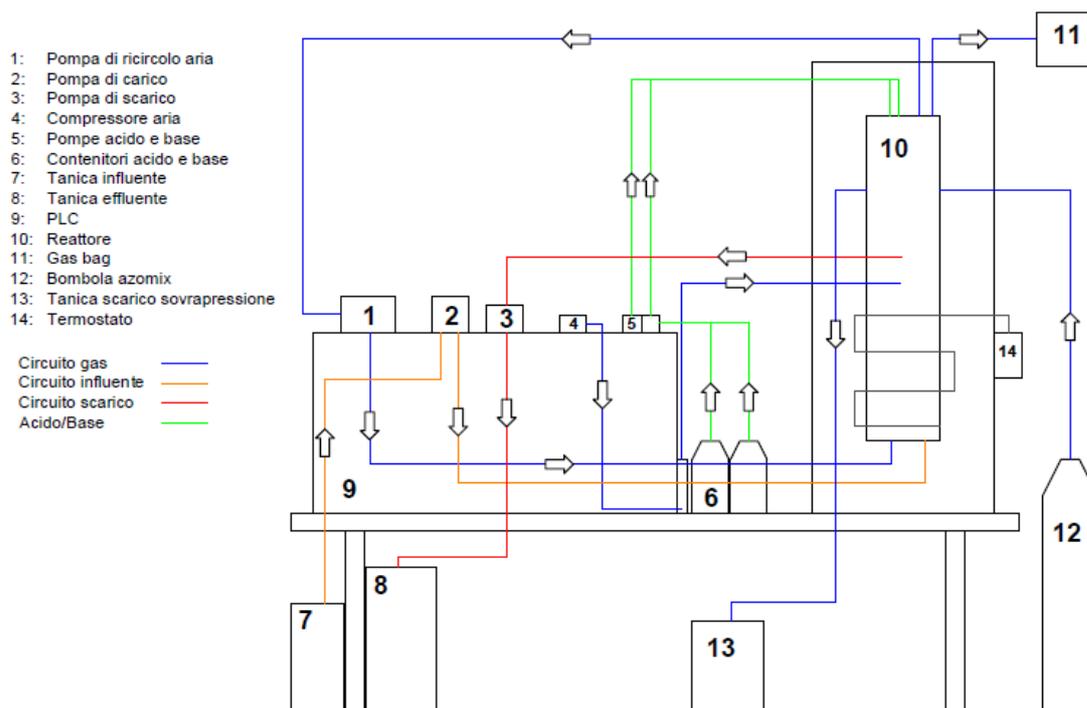
Per svolgere l'attività di ricerca si è optato per l'utilizzo di un reattore SBR monostadio, la scelta è ricaduta su questa tipologia di impianto per i vantaggi che presenta e per gli ingombri ridotti. Il reattore è connesso con un pannello di controllo elettronico che attraverso un software (PLC – Programmable Logic Controller) ne controlla i parametri gestionali e il funzionamento. In Fig. 3.1 sono evidenziati le principali componenti dell'impianto.



**Fig. 3.1** Impianto pilota e sue componenti

Il sistema è dotato di pompe peristaltiche per caricare e scaricare il reattore, per la regolazione del pH e per il ricircolo del gas necessario alla miscelazione. Un

compressore fornisce ossigeno immettendo aria prelevata dall'ambiente su richiesta del PLC. In Fig. 3.2 viene mostrato lo schema di flusso del reattore, in blu è evidenziato il circuito dei gas quindi dell'aria immessa nel reattore, quella che viene ricircolata e quella che viene rimossa quando la pressione all'interno del reattore diviene troppo elevata. L'azomix, una miscela di  $N_2$  e  $CO_2$  (~7%) viene utilizzato in caso di necessità per rimuovere eccessi di ossigeno nel reattore allo startup (potenzialmente inibenti per gli AMX). In rosso ed arancione sono i flussi di refluo in uscita ed in entrata al reattore, mentre in verde sono rappresentati i flussi di acido e base che vengono usati per aggiustare il pH all'interno del reattore.



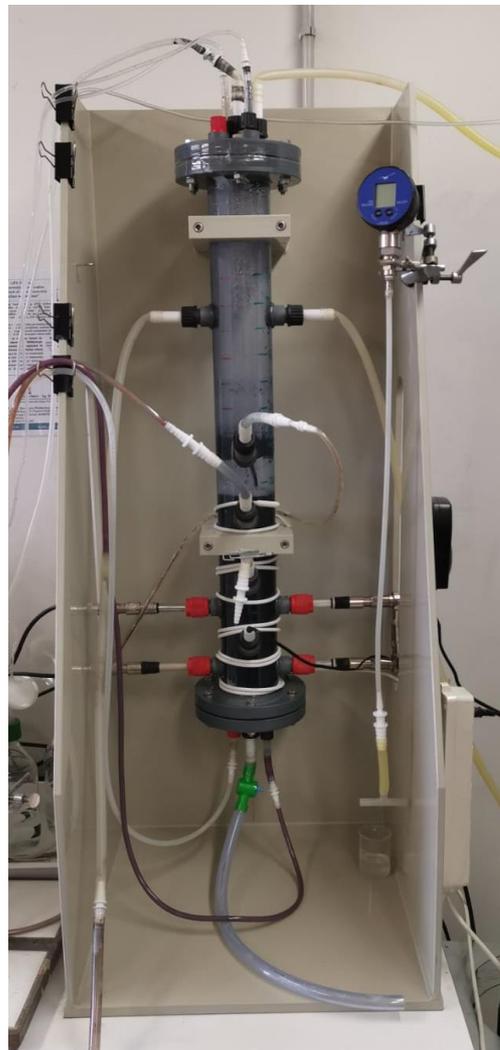
**Fig. 3.2** Schema di flusso dell'impianto

## 3.1 Il reattore

Il reattore è un cilindro del volume di 4 L dove vengono alloggiati i granuli e il refluo. In Tab. 3.1 sono definite le caratteristiche dimensionali mentre in Fig. 3.3 e Fig. 3.4 sono mostrati un'immagine del reattore e il suo prospetto geometrico.

**Tab. 3.1** Caratteristiche geometriche del reattore

Parametro	Valore
Volume totale	0.004 m <sup>3</sup> (4 L)
Altezza	0.8 m (800 mm)
Diametro interno	0.08 m (80 mm)
Diametro esterno	0.09 m (90 mm)



**Fig. 3.3** Corpo del reattore SBR



Il reattore è dotato di 6 aperture laterali, nelle 4 inferiori sono alloggiati le sonde che misurano in continuo pH, ossigeno disciolto, conducibilità e potenziale redox, tutte dotate di sensore di temperatura e correzione automatica. Le 2 aperture laterali superiori invece sono usate per la fuoriuscita del gas in eccesso e per l'ingresso dell'azomix. Vi sono poi 4 aperture frontali, partendo dall'alto la prima viene usata per l'inserimento del tubo dell'aria, la seconda è collocata su 1.5 L di riempimento ed è usata per lo scarico del refluo, la terza viene usata per prelevare la biomassa del reattore (in alternativa si può posizionare qui lo scarico se si vuole lavorare o con maggior volume di scambio o con minor volume di liquido nel reattore). Infine, nella quarta è posizionata la sonda del termostato che misura la temperatura interna al reattore comandando la resistenza riscaldante. Nella sezione di fondo sono posizionati 4 accessi, 3 sono usati rispettivamente per l'ingresso dell'aria ricircolata, per l'ingresso del refluo da trattare e per lo svuotamento del reattore, mentre il rimanente non è utilizzato. Infine, sulla sezione di testa sono posizionati altri 4 accessi e questi sono usati per l'ingresso dell'acido e della base, per l'uscita dell'aria da ricircolare e il collegamento della gas bag che viene utilizzata sia per raccogliere campioni di gas dal reattore che saranno poi analizzati attraverso il gascromatografo che come polmone per garantire che durante la fase di scarico il sistema vada in depressione comportando poi ingressi di aria incontrollati dall'esterno.

## 3.2 II PLC

Il PLC è il sistema di controllo del reattore, è dotato di un touch screen da cui è possibile controllare i valori di pH, ossigeno disciolto, potenziale redox e conducibilità all'interno del reattore (Fig. 3.5). Inoltre, è possibile impostare i parametri del ciclo e controllare il funzionamento di tutte le apparecchiature elettromeccaniche.

Il PLC è connesso con le sonde poste all'interno del reattore e fornisce in tempo reale la misura, è anche in grado di registrare tutte le misure effettuate e le rende disponibili sia per essere consultate direttamente dal suo schermo che per essere scaricate su altri dispositivi.



Fig. 3.5 Pannello di controllo dello stato del reattore

Il PLC dispone di 8 prese indipendenti (tensione pari a 220 V), ad esso sono collegate tutte le apparecchiature elettromeccaniche e le 4 sonde di misura. Le sonde sono sonde Hamilton programmabili e misurano rispettivamente pH, ossigeno disciolto, potenziale redox e conducibilità (Fig. 3.6).



**Fig. 3.6** Sonde Hamilton che controllano rispettivamente: a) ossigeno disciolto, b) pH, c) conducibilità e d) potenziale redox

Il PLC è inoltre dotato di un pulsante di sicurezza che una volta attivato permette di togliere tensione a tutto il sistema.

Per un ciclo è possibile impostare da 1 a 21 fasi e per ognuna di esse si può definire:

- Durata;
- Apparecchiature in funzione (possono funzionare anche tutte contemporaneamente);
- Set point di pH e ossigeno disciolto.

Il PLC eseguirà in serie tutte le fasi (max 21) con durata superiore a 0 secondi per poi ricominciare dalla prima fase.

Oltre alle 21 fasi vi sono 2 fasi ulteriori la fase 100 e la fase 300.

La fase 100 non è propriamente una fase, la sua durata dipende dalla durata delle 21 fasi. Se la durata impostata per le fasi è minore della durata impostata per la fase 100 allora la fase 100 avrà durata pari alla somma delle durate di tutte

le fasi impostate. Se invece la durata impostata per le fasi è uguale o superiore alla durata impostata per la fase 100 allora la fase 100 non avrà durata. Questo serve a garantire che ogni ciclo abbia sempre la stessa durata.

La fase 300, anche detta fase di emergenza, viene usata per evitare danneggiamenti in caso di guasto ad una apparecchiatura. La fase 300 infatti si attiva quando si verificano delle condizioni considerate critiche a discrezione dell'utente. Attivata la fase 300 il sistema smetterà di eseguire le fasi cicliche impostate e funzionerà in modalità di emergenza.

È possibile inoltre impostare il salto di fase, questa funzionalità garantisce che se durante una fase di processo si raggiungono determinate condizioni (ad esempio concentrazioni di ossigeno disciolto particolarmente elevate) il sistema passi alla fase successiva senza terminare la fase in atto.

### 3.2.1 Funzionamento dei sistemi di controllo

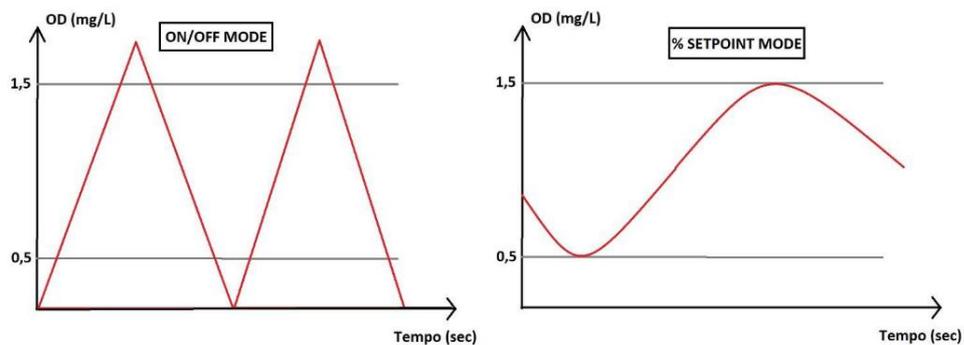
Il sistema di controllo dell'ossigeno disciolto lavora secondo un sistema detto di "pausa lavoro". L'aggiunta di aria avviene in maniera temporizzata, attivando il dosaggio continuo fino ad una certa distanza dal set point. La distanza dal set point al raggiungimento della quale il dosaggio viene interrotto viene impostata a circa il 20% della lettura. Raggiunto questo valore, l'apparecchiatura inizia a lavorare in modalità "pausa lavoro", ovvero viene attivato per un certo tempo (e.g. 10 secondi) e messo in pausa per un altro (e.g. 10 secondi) dando la possibilità al sistema di stabilizzarsi. Passato il tempo di pausa il dosaggio riparte se e solo se la concentrazione misurata si trova ancora al di sotto del set point massimo.

Una volta superato il set point massimo, il dosaggio non riparte fino a che la concentrazione non scende al di sotto del set point minimo.

Se non viene impostata la distanza dal set point da cui il sistema inizia a lavorare in modalità "pausa lavoro" allora il sistema lavorerà in modalità "on/off" ovvero il compressore lavora in continuo fino a che la concentrazione non supera il valore di set point massimo, superato il set point il compressore si ferma e riparte solo dopo che la concentrazione è scesa sotto il valore di set point minimo.

Le pompe di dosaggio di acido e base lavorano in modalità "on/off".

In Fig. 3.7 è mostrata la differenza di funzionamento tra la modalità "pausa lavoro" e quella "on/off". Mentre in Fig. 3.8 viene mostrata la schermata di PLC da cui è possibile impostare la modalità di lavoro del compressore d'aria (o pompa acido base).



**Fig. 3.7** Confronto tra modalità "on/off" a sinistra e modalità "pausa lavoro" a destra



**Fig. 3.8** Schermata del PLC per l'impostazione della modalità di lavoro del compressore

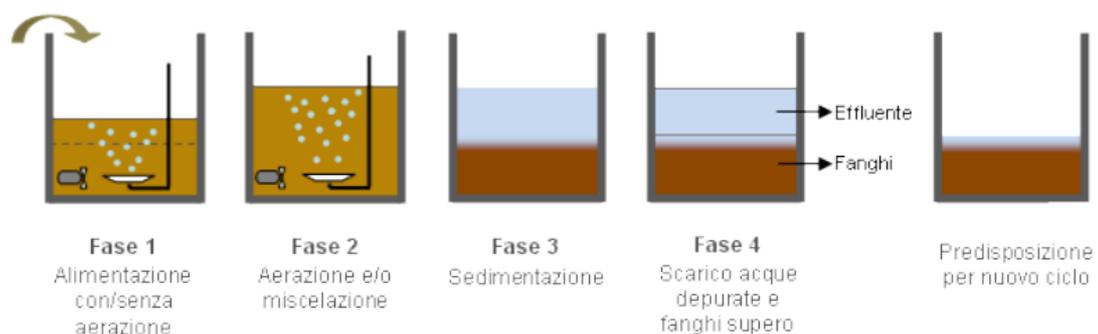
### 3.3 Componenti dell'impianto

L'impianto è composto da un reattore SBR di volume pari a 4 L, l'intero sistema è gestito attraverso il PLC, questo apparecchio è in grado di gestire la durata delle fasi all'interno del reattore e per ognuna di esse di far funzionare, o meno, le diverse apparecchiature elettromeccaniche (pompe, compressori, mixer). Durante la sperimentazione sono state utilizzate sempre 4 fasi distinte (Fig. 3.9). Talvolta si rende necessario l'introduzione di una quinta fase, detta di idle, che è una fase di quiete utile a modulare la durata totale del ciclo. La prima fase è quella di carico dell'influente, durante questa fase la pompa di alimento preleva l'influente dall'apposita tanica e lo immette dal fondo del reattore. L'alimentazione avviene di solito in condizioni di miscelamento del reattore per mantenere le condizioni al suo interno omogenee è inoltre possibile prevedere l'aerazione continua o discontinua durante la fase.

Una volta che il reattore ha raggiunto il livello prefissato, inizia la seconda fase (reazione). In questa fase i batteri completano la loro attività metabolica senza l'aggiunta di altro influente. Anche durante questa fase è possibile introdurre sia la miscelazione che l'aerazione.

La terza fase è la sedimentazione, durante la quale i sistemi di miscelazione e aerazione vengono disattivati per permettere ai granuli di depositarsi sul fondo del reattore. In questo modo, a seconda dei tempi utilizzati, si permette la permanenza nel reattore delle particelle di biomassa desiderate e si dilava il resto assieme all'effluente depurato. Ciò permette il disaccoppiamento tra il tempo di ritenzione idraulica (HRT) e il tempo di ritenzione della biomassa (SRT), ed è fondamentale per evitare il dilavamento della biomassa autotrofa.

L'ultima fase è quella di scarico del liquame depurato, la pompa di scarico preleva il liquido in eccesso dal reattore mandandolo all'apposita tanica di raccolta dell'effluente.



**Fig. 3.9** Schema di funzionamento del reattore SBR

### 3.3.1 Sistemi di miscelazione e aerazione

Il sistema di miscelazione viene utilizzato per garantire un buon contatto tra il refluo e i granuli mantenendo una situazione quanto più omogenea all'interno del reattore. Questo è stato fatto grazie all'utilizzo della pompa peristaltica Watson Marlow 313S (Fig. 3.10), questa pompa preleva gas dallo spazio di testa del reattore e lo ricircola sul fondo dello stesso, creando in questo modo la turbolenza necessaria a garantire la miscelazione della biomassa.

Il PLC aziona il compressore solo quando la concentrazione di ossigeno disciolto nel reattore scende al di sotto di un valore fissato, una volta che la concentrazione di ossigeno supera il valore massimo, il compressore viene spento.

Il compressore utilizzato per insufflare aria ambiente nel reattore è lo Schego WS2 (Fig. 3.11).



**Fig. 3.10** Pompa peristaltica utilizzata per il ricircolo del gas nel reattore



**Fig. 3.11** Compressore per l'insufflazione di aria nel reattore

### 3.3.2 Pompe di carico e scarico del reattore

La pompa di carico viene usata per immettere il refluo all'interno del reattore, come per le altre apparecchiature il suo funzionamento è gestito del PLC che ne garantisce il funzionamento durante la fase 1 (fase di carico dell'influente) e la ferma una volta terminata questa fase. La pompa utilizzata è una pompa peristaltica Watson Marlow 120S (Fig. 3.12). La pompa lavora fino ad un massimo di 200 rpm (rotazioni per minuto), il numero di rpm deve essere impostato in base alla quantità di liquido che si vuole immettere nel reattore e della durata della fase di carico. Questa funzionalità è da impostare manualmente, il PLC infatti non è in grado di cambiare i parametri delle apparecchiature ma ne gestisce esclusivamente il tempo di funzionamento.

La pompa di scarico svuota il reattore una volta terminato il ciclo, il suo funzionamento avviene solo durante la fase 4 (fase di scarico del reattore) ed è

gestito dal PLC. La pompa è peristaltica e si tratta di una Velp Scientifica SP311 (Fig. 3.13).



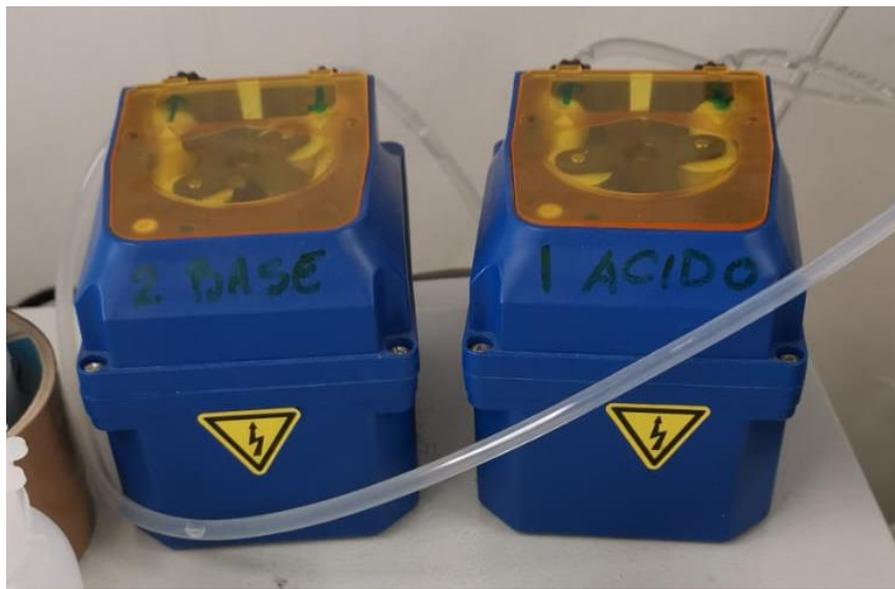
**Fig. 3.12** Pompa di carico dell'influente



**Fig. 3.13** Pompa di scarico dell'effluente

### 3.3.3 Sistema di regolazione del pH

Il sistema di regolazione del pH è composto da due pompe peristaltiche (Fig. 3.14) che immettono nel reattore soluzioni di NaOH e HCl. Le soluzioni di acido e base sono entrambe a 0.25 M. In base al pH misurato, il PLC aziona, se necessario, la pompa della base o quella dell'acido.



**Fig. 3.14** Pompe di dosaggio di acido e base

### 3.3.4 Sistema di regolazione della temperatura

Il sistema di regolazione della temperatura è composto da un termostato Zolux NanoLife T-Set 500 (Fig. 3.15). Il termostato è costituito da una sonda posta all'interno del reattore che ne misura la temperatura e da dei cavi riscaldanti sono avvolti intorno al reattore. Quando la temperatura scende sotto al valore desiderato il termostato riscalda il reattore attraverso i cavi, mantenendo la temperatura intorno al valore desiderato. Quando invece la temperatura diventa elevata il termostato smette di funzionare.



**Fig. 3.15** Termostato

### **3.4 Parametri del ciclo**

I parametri del ciclo sono di fondamentale importanza per la riuscita del processo PN/anammox. I parametri tenuti sotto controllo dal PLC sono 5, tre di questi sono parametri operativi che vengono gestiti direttamente dal PLC e sono pH, ossigeno disciolto e temperatura. Gli altri due sono dei parametri di controllo che ci permettono di sapere se la situazione all'interno del reattore sia più o meno adeguata alla vita dei microorganismi in esso presenti, questi due parametri sono il potenziale redox e la conducibilità.

### 3.4.1 Ossigeno disciolto

L'ossigeno disciolto è un parametro fondamentale per permettere la crescita dei batteri AOB ed evitare quella degli NOB. Tuttavia, bisogna fare attenzione perché concentrazioni elevate potrebbero inibire l'attività anammox.

Durante la sperimentazione si sono usati differenti set point variando da 0.1 mg/L a massimo 0.4 mg/L. Per la maggior parte della sperimentazione non ci sono stati problemi nel mantenere la concentrazione di ossigeno entro i limiti imposti. Tuttavia, durante una fase della sperimentazione con la biomassa attiva a pieno regime, il compressore non riusciva a fornire abbastanza ossigeno rispetto alla richiesta batterica e la concentrazione di OD è rimasta al di sotto di 0.1 mg/L.

Si è quindi provveduto a cambiare il compressore dell'aria con uno più potente che ci permettesse di garantire nel reattore la concentrazione di OD voluta.

### 3.4.2 pH

Il valore di pH ottimale garantisce la sopravvivenza batterica, valori di pH ottimali sono intorno alla neutralità o leggermente alcalini, per questo durante la sperimentazione il set point del pH è sempre rimasto tra i 7.2 e 7.6. Grazie al sistema di dosaggio di acido e base si è sempre riusciti a mantenere il pH nel range.

### 3.4.3 Temperatura

Il valore di temperatura ottimale sia per i batteri anammox che per gli AOB è di circa 32°C. Grazie all'utilizzo del termostato non ci sono stati problemi a

mantenere questo valore di temperatura durante tutta la durata della sperimentazione.

#### 3.4.4 Potenziale redox e conducibilità

Il potenziale redox e la conducibilità sono stati usati come parametri di controllo.

Il controllo di questi due parametri avveniva in tempo reale grazie all'utilizzo di due sonde Hamilton.

La sonda della conducibilità è in grado di misurare rispettivamente tra  $\pm 1000$  mS/cm. Il valore di conducibilità durante la sperimentazione è stato misurato tra i 2 mS/cm e 8 mS/cm. Inizialmente i batteri si trovavano in una soluzione a 8 mS/cm di conducibilità perciò nel tempo la conducibilità dell'influente è stata abbassata gradualmente fino a 2 mS/cm (che è la conducibilità mediamente misurata nei reflui trattati) per evitare shock eccessivi per i batteri passando immediatamente da 8 mS/cm a 2 mS/cm. La conducibilità dell'influente è stata aggiustata tramite l'aggiunta di NaCl. Il potenziale redox misurato durante la sperimentazione è stato tra i -200 mV e i -400mV, valori di questo genere sono giustificati dall'elevata concentrazione di ammonio. A causa del malfunzionamento della sonda redox del pilota, i valori venivano monitorati ogni due giorni con una sonda portatile.

#### 3.4.5 Durata delle fasi del ciclo di trattamento

La durata totale di un ciclo di trattamento è stata per lo più tenuta tra le 4 e le 6 ore, questo per permetterci uno scarico prefissato, ed avere un numero di cicli/giorno ben definito, rispettivamente 6 cicli/giorno per cicli della durata di 4

ore e 4 cicli/giorno per cicli della durata di 6 ore. Più raramente, quando le condizioni lo richiedevano, sono stati provati cicli della durata di 8 o 3 ore. Ogni ciclo è sempre stato composto da 4 fasi, carico, reazione, sedimentazione e scarico. Le fasi di carico e reazione hanno sempre occupato il 99% del tempo del ciclo. La fase di sedimentazione e scarico sono sempre state mantenute rispettivamente a 60 secondi la fase di sedimentazione e 33 secondi. Durate maggiori avrebbero permesso la crescita di biomassa fioccosa e sarebbero state ininfluenti per la sedimentazione della biomassa granulare e per lo scarico di 0.5 L dal reattore, che è il volume di scambio che abbiamo tenuto durante tutta la sperimentazione.

In Tab. 3.2 sono mostrate le durate tipiche dei cicli utilizzati.

**Tab. 3.2** Durata delle fasi dei cicli utilizzati

Durata del ciclo [h]	Carico [s]	Reazione [s]	Sedimentazione [s]	Scarico [s]
3	6693	4014	60	33
4	6693	7614	60	33
4	13420	887	60	33
6	10909	10598	60	33
6	11509	9998	60	33
8	10909	17798	60	33

### 3.5 Metodi analitici

La misura della concentrazione delle varie componenti è stata eseguita con test in cuvetta Hach-Lange e l'utilizzo di uno spettrofotometro (Fig. 3.16). In Tab. 3.3 è mostrato il tipo di kit utilizzato e il metodo che permette di misurare il composto di interesse.

In Fig. 3.17 è mostrato a titolo di esempio la procedura da eseguire per utilizzare un kit per la misura del COD.



**Fig. 3.16** Spettrofotometro

**Tab. 3.3** Riassunto dei kit utilizzati e del loro funzionamento

Composto analizzato	Codice del kit	Sommario del metodo
Azoto Totale	LCK 238	L'azoto in associazione organica ed inorganica viene ossidato in nitrato dissociandolo col perossidisolfato. Gli ioni nitrato reagiscono in soluzione solforica e fosforica col 2.6- dimetilfenolo dando il nitrofenolo.
Ammonio	LCK 303	Ioni ammonio reagiscono a pH 12,6 con ioni di ipoclorito e di salicilato, in presenza di nitroprussiato sodico quale catalizzatore, dando il blu indofenolo.
Nitrato	LCK 339	Ioni nitrato reagiscono in soluzione di acido solforico-fosforico con 2.6-dimetilfenolo dando 4-nitro-2.6-dimetilfenolo.
Nitrito	LCK 342	I nitriti reagiscono in soluzione acida con ammine aromatiche primarie formando sali di diazonio. Questi formano con complessi aromatici, contenenti un gruppo ammino o idrossilico, coloranti azoici intensamente colorati.

COD

LCK 514

Reazione con soluzione di acido solforico e dicromato potassico più solfato di argento quale catalizzatore. I cloruri vengono mascherati col solfato di mercurio. La colorazione verde del Cr<sup>3+</sup> viene letta fotometricamente.

### Procedura



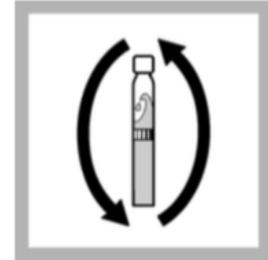
1. Capovolgere delicatamente per sospendere il fondo.



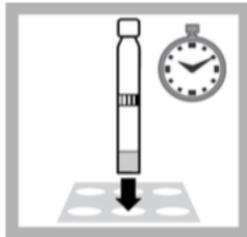
2. Pipettare con attenzione 2,0 mL di campione.



3. Tappare la cuvetta, pulire bene la cuvetta esternamente.



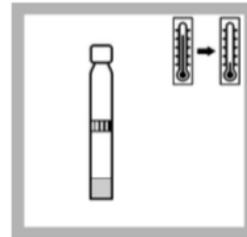
4. Capovolgere.



5. Riscaldare nel termostato.  
**COD classica:** per 2 ore a 148 °C (298.4 °F).  
**HT 200 S:** 15 minuti con il programma standard HT.



6. Estrarre la cuvetta calda.  
**COD classica:** capovolgere accuratamente due volte.  
**HT 200 S:** Dopo il rilascio del dispositivo di bloccaggio, capovolgere delicatamente due volte.



7. Lasciare raffreddare a temperatura ambiente.  
**COD classica:** in un portacuvette.  
**HT 200 S:** nel termostato.



8. Pulire bene la cuvetta esternamente e leggere.  
**Nota:** Prima dell'analisi il sedimento deve essersi completamente depositato.



9. Inserire la cuvetta nell'alloggiamento delle cuvette  
DR 1900: andare a metodi LCK/TNTplus. Selezionare il test, premere LEGGI.

Fig. 3.17 Procedura di utilizzo del kit per la misura del COD

## 3.6 Reflui trattati

Lo scopo della sperimentazione è stato quello di valutare la trattabilità con il processo PN/anammox di tre differenti tipi di reflui, uno prelevato dalla stamperia Di Cassina Rizzardi (SCR) situata a Cassina Rizzardi (Italia), un altro dalla stamperia Adalberto situata a Porto (Portogallo) e l'ultimo dalla stamperia Satinskin situata a Braga (Portogallo). In Tab 3.4 sono mostrati i tempi di sperimentazione sui tre reflui.

**Tab. 3.4** Durata della sperimentazione sui tre reflui

<b>Tipo di refluo</b>	<b>Durata Sperimentazione</b>
SCR	181 giorni
Adalberto	8 giorni
Satinskin	7 giorni

Come si nota dalla tabella la sperimentazione è avvenuta principalmente su refluo SCR come da progetto. I reflui da Adalberto e Satinskin (circa 20 L ciascuno) sono stati invece testati per circa una settimana ciascuno in seguito alla sperimentazione con SCR per la verifica del trattamento con reflui da altre stamperie

### 3.6.1 Caratterizzazione dei reflui

Il refluo principalmente utilizzato durante la sperimentazione è stato quello di SCR, i reflui utilizzati derivanti da SCR sono stati diversi e ognuno di diversa composizione. In Tab. 3.5 sono riassunte le concentrazioni di nitrito, nitrato, ammonio, azoto totale, COD e azoto organico per ognuno dei reflui SCR utilizzati.

**Tab. 3.5** Caratterizzazione degli influenti provenienti da SCR

<b>Caratterizzazione SCR</b>						
	<b>NO<sub>2</sub>-N</b>	<b>NO<sub>3</sub>-N</b>	<b>NH<sub>4</sub>-N</b>	<b>N TOT</b>	<b>COD</b>	<b>N organico</b>
<b>Data campione</b>	<b>[mg/l]</b>					
28/03	0	0.00	178	238	628	60
10/04	0	0.95	168	216	676	47
29/04	0	0.51	187	242	662	54
13/05	0	0.54	131	162	647	30
29/05	0	1.08	193	225	798	31
26/07	0	0.73	154	226	729	71
30/09	0	0.70	233	256	875	22
09/10	0	1.96	230	267	946	35
23/10	0	0.60	169	198	766	28

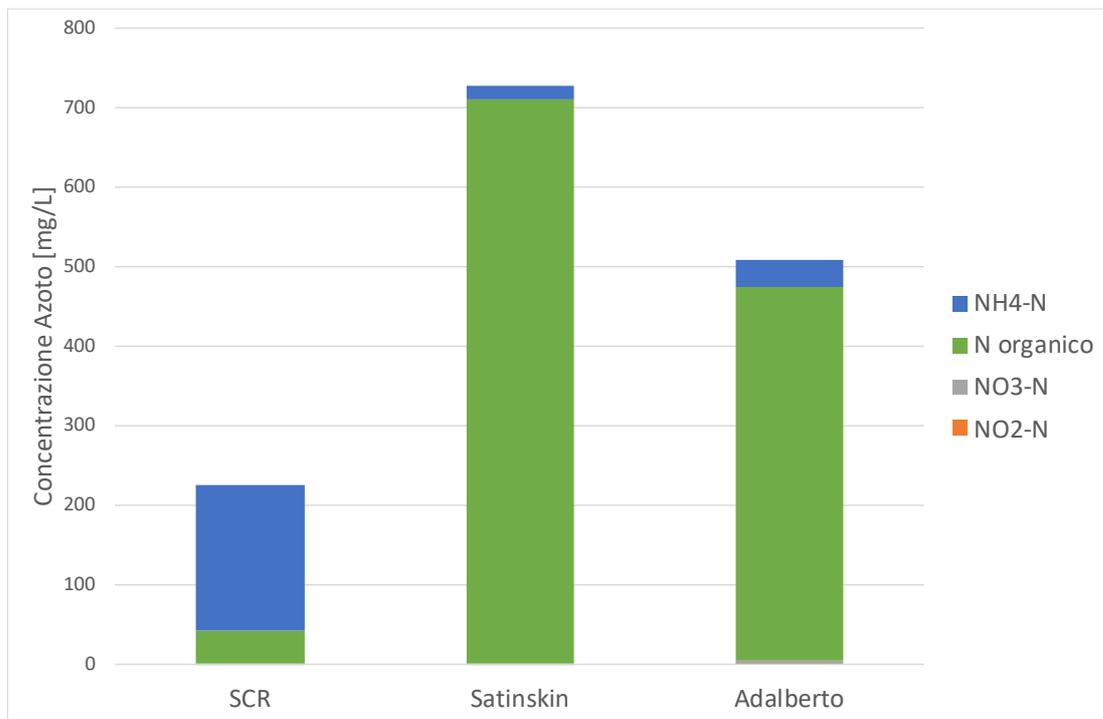
I reflui provenienti da SCR sono stati prelevati dalla vasca di equalizzazione della stamperia, qui avvengono dei fenomeni di ureolisi che convertono gran parte dell'urea presente in azoto ammoniacale. Dalla tabella si può notare come la concentrazione di azoto organico (solitamente composta da urea) sia minore rispetto a quella di azoto ammoniacale. Confrontando il valore di azoto organico misurato su refluo SCR con quello misurato sui reflui provenienti da Adalberto e Satinskin (Tab. 3.6) si può notare la differenza di concentrazione di azoto organico, probabilmente dovuta al fatto che nel caso di SCR il refluo sia stato prelevato dalla vasca di equalizzazione che comporta fenomeni di idrolisi. In Tab. 3.6 è mostrata la caratterizzazione dei reflui provenienti da Satinskin e Adalberto.

**Tab. 3.6** Caratterizzazione dei reflui provenienti da Adalberto e Satinskin

<b>Caratterizzazione Adalberto e Satinskin</b>						
	<b>NO<sub>2</sub>-N</b>	<b>NO<sub>3</sub>-N</b>	<b>NH<sub>4</sub>-N</b>	<b>N TOT</b>	<b>COD</b>	<b>N organico</b>
<b>Data e tipo campione</b>	<b>[mg/l]</b>					
16/09 Satinskin	0	1.34	18	728	891	709
23/09 Adalberto	0.9	4.90	33	508	395	469

In Fig. 3.18 sono mostrate le composizioni dell'azoto totale nei 3 reflui, da qui è ancora più evidente la differente composizione tra SCR e gli altri due tipi di reflui. Infatti, Satinskin e Adalberto presentano una concentrazione di azoto totale molto

più elevata e composta principalmente da azoto organico (prevalentemente urea) mentre SCR presente azoto totale molto più basso e composto prevalentemente da azoto ammoniacale.



**Fig. 3.18** Confronto tra la composizione (in termini di azoto totale) dei tre reflui utilizzati durante la sperimentazione, per il refluo SCR si è utilizzata la media di tutti i reflui utilizzati

Oltre ai tre reflui citati durante la sperimentazione è stato utilizzato un refluo sintetico preparato ad hoc per i batteri. Questo refluo è stato utilizzato soprattutto nei periodi di start up o di recupero della biomassa ed in alcuni casi è stato utilizzato per diluire i reflui utilizzati e permettere ai batteri di adattarsi più rapidamente.

La composizione della soluzione sintetica viene presentata in Tab 3.7.

**Tab. 3.7** Composizione della soluzione sintetica (a sinistra) e della soluzione trace elements (a destra)

Componente	Conc. g/L	Componente	Conc. g/L
NH <sub>4</sub> Cl	0.5732	EDTA	15.0
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.0748	ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.43
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.1012	CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.24
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.34	MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	1.00
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.436	CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.25
FeSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.0192	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0.22
Soluzione trace elements	1.25 mL/L	NiCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.20
		NaSeO <sub>4</sub> ·10H <sub>2</sub> O	0.20
		H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.014

### 3.7 Il gascromatografo

Il gascromatografo (Fig. 3.19) è stato utilizzato per analizzare la composizione del gas all'interno del reattore, questa valutazione è stata fatta per verificare la quantità di N<sub>2</sub>O presente. Conoscere la quantità di N<sub>2</sub>O prodotto è importante visto l'elevato GWP – Global Warming Potential (265-298 volte superiore a quello della CO<sub>2</sub> su un orizzonte di 100 anni), per questo motivo si è cercato di capire quelle che fossero le condizioni che ne influenzassero maggiormente la sua produzione per ridurla al minimo.

Il gascromatografo è in grado di fornire la concentrazione di N<sub>2</sub>O ritrovata all'interno del gas in ppm.

La misura viene convertita per essere espressa in g di N<sub>2</sub>O/giorno. Per fare questa conversione sono stati utilizzati i seguenti parametri.

**Tab. 3.8** Tabella dei parametri per la conversione della misura di N<sub>2</sub>O

<b>Parametro</b>	<b>Valore</b>
Peso molecolare N <sub>2</sub> O [g/mol]	44.01
Costante universale dei gas [L*atm/(K*mol)]	0.08205784
Temperatura [K]	298.15
Conversione da ppm a frazione decimale	1000000

Quindi sfruttando la legge universale dei gas ideali ( $pV=nRT$ ) è possibile ricavare la concentrazione di N<sub>2</sub>O nel gas (g N<sub>2</sub>O/L).

Infine, attraverso la portata d'aria dell'aeratore si converte la misura in g N<sub>2</sub>O/d.



**Fig. 3.19** Il gascromatografo

### 3.8 La biomassa granulare

Durante la sperimentazione sono stati utilizzati due tipi di biomassa granulare.

I risultati sono riportati separatamente ed i due tipi di biomassa sono chiamati “granuli 1” utilizzati dal 04 Febbraio 2019 al 07 Giugno 2019 e “granuli 2” utilizzati dal 03 Luglio 2019 al 04 novembre 2019.

Sui “granuli 1” è stata effettuata una sperimentazione esclusivamente con refluo SCR, mentre per i “granuli 2” sono stati utilizzati tutti e tre i reflui (SCR, Adalberto e Satinskin).

Entrambe le biomasse provengono dall’azienda Paques con sede a Balk (Olanda).

La caratterizzazione della biomassa “granuli 1” è stata effettuata prima dell’inizio di questo lavoro di tesi e l’unico dato disponibile è la percentuale di solidi volatili (SSV) rispetto ai solidi totali (SST) pari a 0.75 g SSV/g SST.

Per i “granuli 2” la densità apparente è di 0.885 kg di granuli sgocciolati per litro di volume occupato. Peso secco pari a 7.73 g di solidi secchi per g di granuli sgocciolati ed una percentuale di solidi volatili pari a 0.802 g di SSV per g di SST. I granuli si presentano di colore marrone scuro con macchie rossastre (Fig. 3.20), la colorazione è dovuta principalmente ai batteri AOB presenti sulla parte esterna e in parte alla biomassa anammox al suo interno. Mediamente la dimensione dei granuli si attesta tra i 3-4 mm. Particolarità di questa biomassa è l’elevata velocità di sedimentazione (fino a  $60 \text{ m h}^{-1}$ ), ciò permette di mantenere brevi durate della fase di sedimentazione. Non sono state effettuate analisi microbiologiche specifiche.



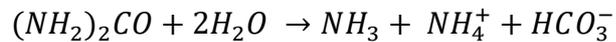
**Fig. 3.20** Granuli estratti dal reattore

### **3.9 Modello di attività anammox semplificato**

Durante il periodo di tesi è stato sviluppato un foglio Excel che in funzione delle concentrazioni ingresso ed uscita di nitrito, nitrato, ammonio, azoto totale, COD e azoto organico riuscisse a valutare la quantità di ammonio rimosso per via anammox. Per poter eseguire questi calcoli è stato necessario sviluppare un modello delle stechiometrie anammox e denitrificanti ed introdurre qualche ipotesi per interpretare in maniera adeguata i bilanci di massa sulle concentrazioni in entrata ed uscita.

La prima ipotesi introdotta è che le concentrazioni in uscita tra due cicli successivi siano uguali. Questo è abbastanza verosimile in quanto le condizioni tra un ciclo e l'altro sono stazionarie.

La seconda ipotesi è che l'azoto organico rimosso (principalmente urea) venga convertito tutto in azoto ammoniacale, questo perché al pH di lavoro (tra 7.2 e 7.6) l'urea viene idrolizzata tutta a formare ammonio secondo la seguente reazione:



L'equilibrio di questa reazione è regolato dal pH e nel nostro caso si viene a formare quasi esclusivamente ammonio, per questo motivo l'ipotesi sembra essere piuttosto valida.

La terza ipotesi è che i batteri NOB alle condizioni operative tenute nel reattore siano inibiti. Plausibile in quanto ad ossigeno disciolto così basso questi batteri faticano molto a crescere.

Infine, l'ultima ipotesi è che l'1% del COD rimosso sia dovuto all'ossidazione probabile in quanto lavorando a basso OD, bassa diffusività e a queste temperature (~32°C) gli eterotrofi non riescono ad ossidare aerobicamente il COD.

Tutti i calcoli mostrati in seguito si basano su queste 4 ipotesi.

Il foglio di calcolo è stato sviluppato partendo dai dati misurati, quindi dalle concentrazioni di refluo in ingresso ed in uscita dal reattore di nitrito, nitrato, ammonio, azoto totale e COD. Sfruttando inoltre i dati noti come volume di liquido nel reattore, volume di scambio per ciclo e numeri di cicli giorno. Innanzitutto, dai dati misurati è possibile ricavare la concentrazione di azoto organico sia in ingresso che in uscita come segue:

$$N_{organico} = N_{tot} - NH_4^+ - NO_2^- - NO_3^-$$

Per poter fare il bilancio è necessario calcolare la quantità di massa dei prodotti presente nel reattore ad inizio e fine del ciclo, in questo modo è possibile calcolare la massa rimossa.

Calcolo la massa nel reattore ad inizio ciclo:

$$Conc. out_i \cdot (Vol. reattore - Vol. scambio) + Conc. in_i \cdot Vol. scambio$$

Il pedice  $i$  indica il composto di cui si vuole calcolare la massa. Il primo termine indica la massa rimasta nel reattore dopo lo scarico, il secondo termine indica la massa in ingresso al reattore con l'influente;

Calcolo poi la massa nel reattore a fine ciclo:

$$Conc. out_i \cdot Vol. reattore$$

Questo termine indica la massa presente nel reattore a fine ciclo ma prima dello scarico;

Dalla differenza tra i termini sopra calcolati si definisce la quantità di massa prodotta (se il valore è negativo) o rimossa (se il valore è positivo) durante un ciclo:

$$Massa nel reattore ad inizio ciclo - Massa nel reattore a fine ciclo$$

Attraverso il risolutore Excel si calcolano le percentuali di rimozione delle varie specie batteriche.

Il calcolo parte dall'ammonio rimosso, dalla teoria è noto che questo composto può essere rimosso all'interno del reattore o dai batteri AOB che lo trasformano in nitrito o dai batteri anammox che lo utilizzano insieme al nitrito per produrre azoto gassoso. Inizialmente si ipotizza la percentuale di rimozione dell'ammonio sia degli AOB che degli anammox, sarà poi il risolutore a trovare la percentuale corretta per chiudere i bilanci.

L'ammonio rimosso totale è dato dalla somma tra ammonio rimosso ed azoto organico rimosso (da ipotesi convertito in ammonio). A questo punto da stechiometria è possibile calcolare la quantità di nitrito prodotta dai batteri AOB.

La stechiometria è la seguente:



Sa 1 mole di ammonio si produce 1 mole di nitrito, perciò si produrrà 1 mg NO<sub>2</sub>-N/mg NH<sub>4</sub>-N.

Il nitrito prodotto dagli AOB si calcola come:

$$(NH_4^+ \text{ rimosso} + \text{azoto organico rimosso}) \cdot \% \text{ rimossa da AOB} \cdot 1 \frac{mg NO_2^-}{mg NH_4^+}$$

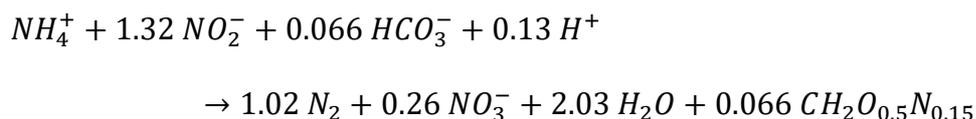
Il nitrito prodotto sarà utilizzato o dai batteri anammox o dagli NOB o dagli eterotrofi, mentre una parte del nitrito prodotto potrebbe non essere consumata, permanendo nel reattore.

Ipotizzo la percentuale di rimozione del nitrito da parte degli anammox, degli NOB e degli eterotrofi, sarà poi il risolutore a trovare le percentuali corrette. Il nitrito consumato dagli NOB porta alla formazione di nitrato secondo la seguente stechiometria:



1 mole di nitrito produce 1 mole di nitrato, avremo 1 mg NO<sub>3</sub>-N/mg NO<sub>2</sub>-N.

I batteri anammox consumano il nitrito insieme all'ammonio a formare nitrato e azoto gasso come segue:

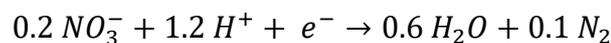


Si producono 0.26 mg NO<sub>3</sub>-N/mg NH<sub>4</sub>-N (0.20 mg NO<sub>3</sub>-N/mg NO<sub>2</sub>-N).

Il nitrito consumato dagli eterotrofi sarà ridotto ad azoto gassoso sfruttando il COD biodegradabile presente nel refluo.

Per rendere la risoluzione si utilizzano due parametri di controllo: l'ammonio consumato e il COD consumato (calcolati dalle misure). Il risolutore facendo variare le percentuali ipotizzate ricerca il suo obiettivo (nel nostro caso minimizzare i nitrati prodotti dagli NOB) e contemporaneamente fa in modo che l'ammonio e il COD rimossi calcolati corrispondano a quelli misurati.

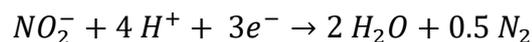
Il COD rimosso è stato calcolato dalla quantità di nitrito e nitrato consumata dagli eterotrofi. Il nitrato viene prodotto da anammox o NOB (minima parte, perché minimizziamo la loro attività) ed una parte rimane nel reattore mentre l'altra viene denitrificata sfruttando il COD. Le quantità di COD utilizzate per ridurre nitrito e nitrato sono state calcolate partendo dalle semi reazioni di riduzione della sostanza organica, che sono per il nitrato:



Da cui ricavo che sono necessari 2.86 g O<sub>2</sub>/g NO<sub>3</sub>-N, così calcolato:

$$\frac{0.25 \text{ mol } O_2 \cdot 32 \frac{\text{g}}{\text{mol}} O_2}{0.2 \text{ mol } NO_3^- \cdot 14 \frac{\text{g}}{\text{mol}} NO_3^-} = 2.86 \frac{\text{g } O_2}{\text{g } NO_3^-}$$

Mentre per il nitrito le semi reazioni di riduzione sono:



Da cui ricavo che sono necessari 1.71 g O<sub>2</sub>/g NO<sub>2</sub>-N, così calcolato:

$$\frac{0.75 \text{ mol } O_2 \cdot 32 \frac{\text{g}}{\text{mol}} O_2}{1 \text{ mol } NO_2^- \cdot 14 \frac{\text{g}}{\text{mol}} NO_2^-} = 1.71 \frac{\text{g } O_2}{\text{g } NO_2^-}$$

Definito il coefficiente di resa cellulare lorda ( $Y_H$ ), che rappresenta la quantità di biomassa cresciuta per unità di substrato/accettore rimosso, pari a 0.64 g batteri/g COD per questo tipo di biomassa, è possibile calcolare la quantità di COD consumata per quantità di nitrito/nitrato come segue:

$$\text{nitrato} \rightarrow \frac{2.86}{1 - Y_H} = 7.94 \frac{\text{mg COD}}{\text{mg NO}_3^-}$$

$$\text{nitrato} \rightarrow \frac{1.71}{1 - Y_H} = 4.76 \frac{\text{mg COD}}{\text{mg NO}_2^-}$$

Moltiplicando queste due grandezze per il nitrito e il nitrato rimosso dagli eterotrofi è possibile calcolare il COD consumato per denitrificazione.

Il risolutore ricava le percentuali di rimozione dei microorganismi coinvolti, tra questi anche la biomassa anammox.

Infine, per definire la percentuale di rimozione totale dell'anammox si esegue il seguente calcolo:

$$\begin{aligned} & \% \text{NH}_4^+ \text{ rimossa da anammox} + (\% \text{NO}_2^- \text{ rimossa da anammox} \\ & \cdot \% \text{NH}_4^+ \text{ rimossa da AOB}) \end{aligned}$$

Oltre a ciò sono stati calcolati anche l'NLR (Nitrogen Loading Rate) e l'NRR (Nitrogen Removal Rate) come segue:

$$NLR = \frac{N_{tot\,in} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{l}} \right]}{\text{Conc. biomassa reattore} \left[ \frac{\text{g VSS}}{\text{l}} \right]} \cdot \frac{\left( \text{Vol. scambio} \left[ \frac{\text{l}}{\text{ciclo}} \right] \cdot \text{cicli giorno} \left[ \frac{\text{ciclo}}{\text{d}} \right] \right)}{\text{Vol. reattore} [\text{l}]}$$

$$NRR = \frac{N_{tot_{in}} \left[ \frac{mg}{l} \right] - N_{tot_{out}} \left[ \frac{mg}{l} \right]}{Conc. \text{ biomassa reattore} \left[ \frac{g \text{ VSS}}{l} \right]} \cdot \frac{\left( Vol. \text{ scambio} \left[ \frac{l}{ciclo} \right] \cdot \text{cicli giorno} \left[ \frac{ciclo}{d} \right] \right)}{Vol. \text{ reattore} [l]}$$

Da cui si ricava l'efficienza di rimozione:

$$Efficienza = \frac{NRR}{NLR}$$

### 3.10 Modellazione con Biowin™

Per la simulazione è stato utilizzato il modello GSST (Granular Sludge Sequencing Tank), utile per simulare il processo PN/anammox all'interno di un reattore SBR. Questo modello simula il fango granulare come un biofilm monodimensionale, ovvero i granuli sono rappresentati da un biofilm di determinata area e spessore, e la sedimentazione dei granuli si basa sul modello monodimensionale di flusso dei solidi variabile.

Nel modello sono incluse 4 fasi: la fase di miscelazione che corrisponde all'inizio del ciclo dove i granuli e il liquido nel reattore vengono ben miscelati. In funzione del set point dell'OD il reattore potrà essere aerato in modo continuo od intermittente. La fase di sedimentazione durante la quale i granuli si depositano sul fondo del reattore per permettere lo scarico del liquido ma non della biomassa. La fase di carico dell'influente in cui il refluo viene inserito nel reattore attraverso il fondo dello stesso, dalla sommità l'effluente fuoriesce e viene scaricato. Infine, può esserci una fase di rimozione controllata del liquido chiarificato per prevenire la fuoriuscita del contenuto del reattore.

Il GSST inizialmente contiene valori stimati inseriti dall'utente per la biomassa granulare.

- Frazione del volume stimato dei granuli sedimentati (FG) rispetto al volume del reattore (Vt): si definisce la quantità iniziale di volume occupata sia dai granuli che dai vuoti inter granulari sedimentati sul fondo del reattore alle condizioni iniziali;
- Stima del diametro granulare (D) [mm];
- Volume dei vuoti (E): si definisce sul volume occupato dai granuli quanto sia occupato dai vuoti.

Da questi parametri viene poi calcolata l'area superficiale dei granuli (A) [m<sup>2</sup>]:

$$A = \frac{[FG \cdot Vt \cdot (1 - E)]}{\frac{D}{2000}}$$

Il modello è poi in grado di calcolare dinamicamente il diametro granulare in funzione di alcuni fattori, come il carico dei substrati e lo scambio di solidi tra i granuli e il liquido. Il volume dei granuli sedimentati (FG) cambia proporzionalmente in funzione dell'area superficiale dei granuli:

$$FG = \frac{[A \cdot D]}{Vt \cdot (1 - E) \cdot 2000}$$

### 3.10.1 Parametri del modello

Nelle tabelle sottostanti sono mostrati i principali parametri cinetici utilizzati per le simulazioni.

**Tab. 3.9** Parametri cinetici dei batteri AOB

<b>AOB</b>	<b>Default</b>	<b>Usato</b>
Tasso di crescita specifico max [1/d]	0.9	0.9
Substrato (NH <sub>4</sub> ) semisat. [mgN/L]	0.7	0.7
AOB denitro DO semisat. [mg/L]	0.1	0.1
AOB denitro HNO <sub>2</sub> semisat. [mgN/L]	5.00E-06	5.00E-06
Tasso decadimento aerobico [1/d]	0.17	0.17
Tasso decadimento anossico/anaerobico [1/d]	0.08	0.08
KiHNO <sub>2</sub> [mmol/L]	0.005	0.005

**Tab. 3.10** Parametri cinetici dei batteri NOB

<b>NOB</b>	<b>Default</b>	<b>Usato</b>
Tasso di crescita specifico max [1/d]	0.7	0.4
Substrato (NO <sub>2</sub> ) semisat. [mgN/L]	0.1	0.1
Tasso decadimento aerobico [1/d]	0.17	0.21
Tasso decadimento anossico/anaerobico [1/d]	0.08	0.08
KiNH <sub>3</sub> [mmol/L]	0.075	0.075

**Tab. 3.11** Parametri cinetici dei batteri anammox

<b>Anammox</b>	<b>Default</b>	<b>Usato</b>
Tasso di crescita specifico max [1/d]	0.2	0.25
Substrato (NH <sub>4</sub> ) semisat. [mgN/L]	2	2
Substrato (NO <sub>2</sub> ) semisat. [mgN/L]	1	1
Tasso decadimento aerobico [1/d]	0.019	0.019
Tasso decadimento anossico/anaerobico [1/d]	0.0095	0.0095

**Tab. 3.12** Parametri cinetici dei batteri eterotrofi

<b>Eterotrofi</b>	<b>Default</b>	<b>Usato</b>
Tasso di crescita specifico max [1/d]	3.2	0.01
Substrato semisat. [mgCOD/L]	5	5
Fattore di crescita anossico [-]	0.5	0.5
Produzione N2 denitro (NO3 or NO2) [-]	0.5	0.5
Tasso decadimento aerobico [1/d]	0.62	0.62
Tasso decadimento anossico [1/d]	0.233	0.233
Tasso decadimento anaerobico [1/d]	0.131	0.131

La maggior parte dei parametri sono stati mantenuti uguali a quelli di default.

Per i batteri AOB non è stato cambiato alcun parametro mentre per i batteri NOB è stato ridotto il tasso di crescita specifico ed è stato aumentato il tasso di decadimento aerobico per sfavorire la loro crescita e permetterne il dilavamento. Per gli anammox è stato aumentato il tasso di crescita per favorirne l'attività.

Mentre per gli eterotrofi è stato scoperto da Praveen (2017) durante il suo lavoro di tesi che il tasso di crescita di default degli eterotrofi permetteva a questi di prevalere su gli altri batteri, riducendo questo valore da 3.2 d<sup>-1</sup> di default a 0.01 d<sup>-1</sup> è stato possibile risolvere il problema.

Inoltre, la costante di semi saturazione dell'ossigeno per gli eterotrofi è stata impostata a 0.25 mgO<sub>2</sub>/L. per evitare la competizione con gli AOB e anammox.

In Tab. 3.13 è mostrata la durata delle varie fasi all'interno della simulazione.

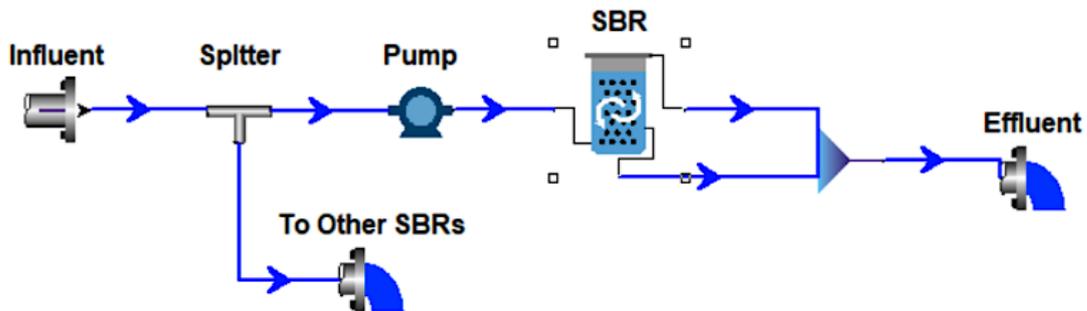
**Tab. 3.13** Durata fasi della simulazione

<b>Fase</b>	<b>Mix</b>	<b>Sed.</b>	<b>Scarico</b>	<b>Alimento</b>	<b>Decantazione</b>
<b>Durata (min)</b>	0-355	355-360	359-360	0-180	359-360

In Fig. 3.21 è raffigurata la configurazione utilizzata.

Lo splitter viene utilizzato per avere il controllo temporale sul flusso dell'alimento.

Ci permette di alimentare l'influente nel momento desiderato del ciclo.



**Fig. 3.21** Configurazione impiantistica del modello per simulare il reattore SBR per il processo PN/anammox

Infine, in Tab. 3.14 sono mostrati i parametri di dimensionamento del reattore.

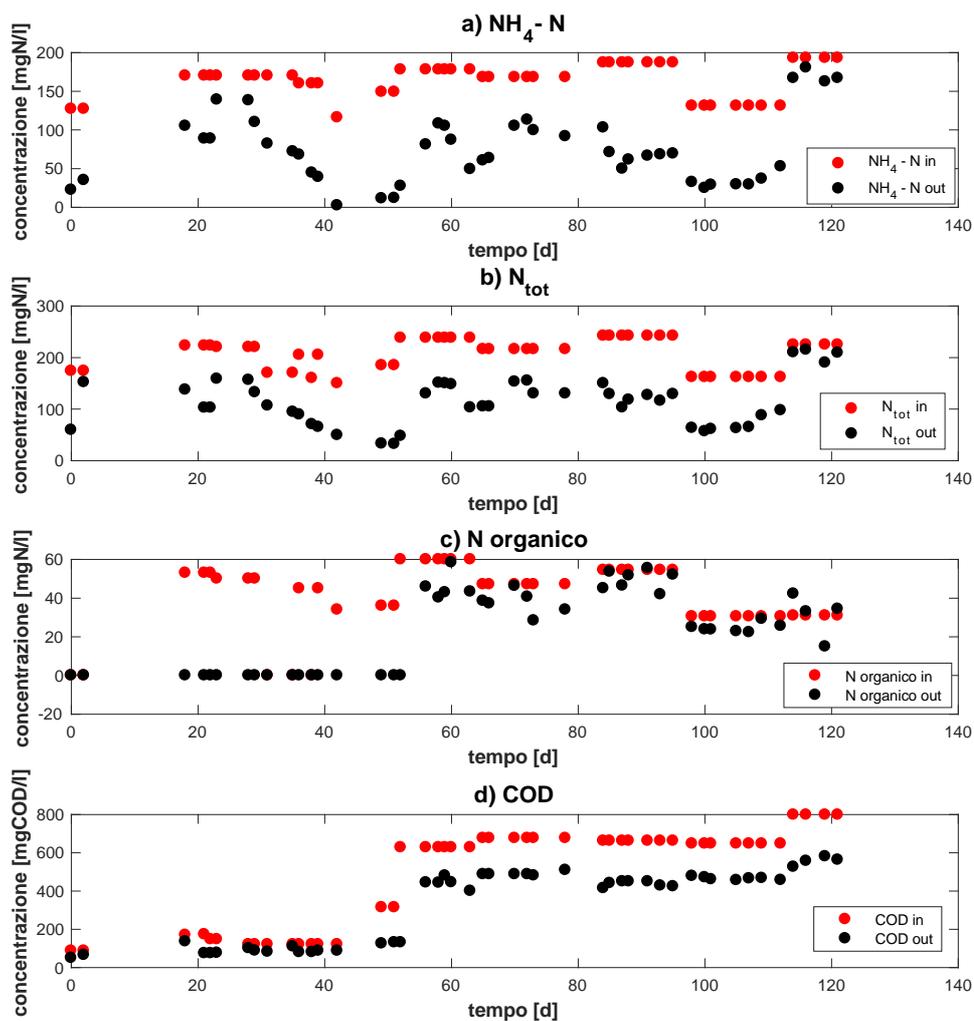
**Tab. 3.14** Parametri di dimensionamento del reattore

<b>Volume del reattore</b>	0.002 m <sup>3</sup>	<b>Flusso d'aria max</b>	10 m <sup>3</sup> /h
<b>Profondità</b>	0.5 m	<b>Livello decantazione</b>	96.5%
<b>Spessore</b>	0.1 m	<b>Set point OD</b>	0.1 mgO <sub>2</sub> /L
<b>N. di diffusori</b>	8	<b>N. di layer interni</b>	3
<b>Diametro diffusori</b>	270 mm	<b>Diametro granuli</b>	3 mm
<b>Area diffusori</b>	0.041 m <sup>2</sup>		

## CAPITOLO 4 RISULTATI

### 4.1 Risultati su “granuli 1”

La sperimentazione su questa biomassa è stata effettuata esclusivamente su refluo SCR. Il refluo è stato utilizzato a differenti diluizioni ottenute grazie alla soluzione sintetica per permettere l'adattamento della biomassa. In Fig. 4.1 sono mostrate le concentrazioni in ingresso ed in uscita riguardante azoto ammoniacale, azoto totale, azoto organico e COD su refluo SCR per la biomassa “granuli 1”. Le concentrazioni di azoto ammoniacale, azoto totale e COD sono state misurate tramite l'utilizzo dei kit, mentre l'azoto organico è una misura ricavata (cfr. “3.9 Modello di attività anammox semplificato”).



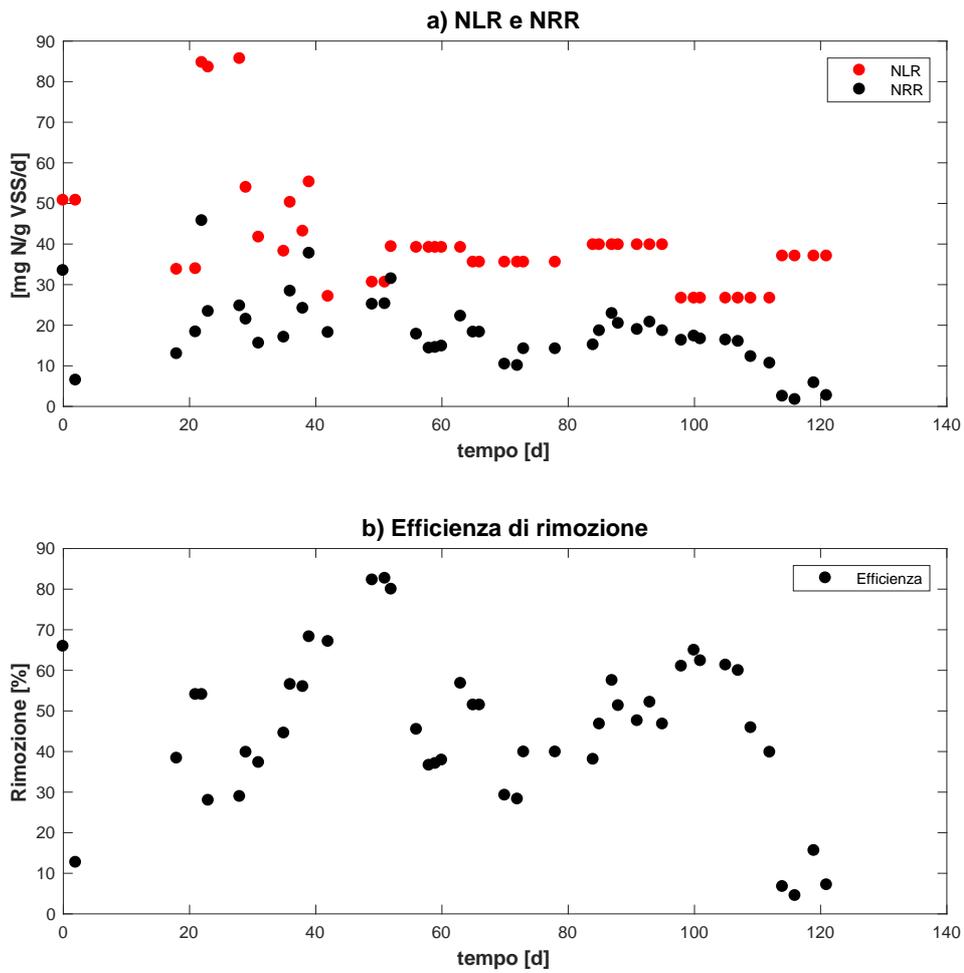
**Fig. 4.1** Concentrazioni in ingresso ed uscita misurate per la biomassa "granuli 1" dal 04/02/19 al 07/06/19 su refluo SCR. a) Misurazioni in ed out di azoto ammoniacale (NH<sub>4</sub>-N); b) Misurazioni in ed out di azoto totale (N<sub>tot</sub>); c) Misurazioni in ed out di azoto organico (N organico); d) Misurazioni in ed out di COD (Chemical Oxygen Demand);

Durante i primi 40 giorni di sperimentazione (antecedenti questo lavoro di tesi) si è mantenuto un rapporto di diluizione per SCR pari al 20% (20% SCR e 80% sintetico) per i primi 20 giorni e al 30% per altri 20 giorni. Analizzando i grafici si nota come i batteri sembrano adattarsi nel tempo, con efficienza in aumento dal giorno 20 al giorno 40 (Fig. 4.2). Anche l'attività anammox (Fig. 4.3) sembra essere elevata, a parte per un dato che potrebbe essere dovuto a un possibile errore di misura.

Dal 50-esimo giorno si passa ad SCR al 100% come evidenziato dall'aumento della concentrazione di azoto organico e COD (grafico c e d, Fig. 4.1). Qui i batteri risentono di questo cambio di influente con l'efficienza di rimozione che cala bruscamente passando dall'80% circa a meno del 50%. In seguito, l'adattamento dei batteri al nuovo tipo di ingresso riporta l'efficienza di rimozione tra il 60 e il 70%. Si può dedurre che un brusco cambio nell'influente comporti uno shock per i batteri che riducono per un certo periodo la propria attività metabolica.

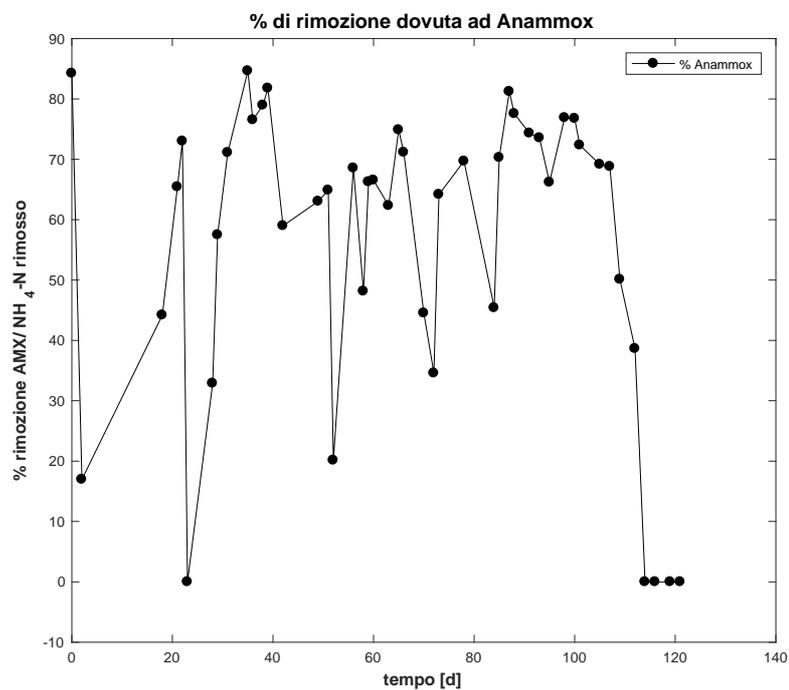
Un adattamento sembra che faccia recuperare parte della loro efficacia, anche se non riescono a tornare ai livelli di rimozione raggiunti con un influente sintetico. Negli ultimi 20 giorni di sperimentazione con i "granuli 1" osserviamo una riduzione dell'attività batterica fino alla completa inibizione.

Le cause di questa perdita di attività non sono note, anche se è possibile formulare delle ipotesi. Una prima ipotesi è un pH di lavoro troppo alto, determinato da una errata misura della sonda del pH (di un'unità inferiore rispetto al valore reale). Il reattore lavorava a un pH di circa 8.5 mentre il controllo automatico leggeva 7.5. Si tratta di una possibile spiegazione perché il pH di lavoro ottimale per AOB e anammox si trova intorno alla neutralità e, a pH così alti, la concentrazione di ammoniaca libera può essere inibente per i batteri. La seconda ipotesi è la presenza all'interno del refluo da trattare di un composto inibente o di un composto che si è depositato sui granuli rendendone meno efficace la diffusione all'interno del granulo. In effetti, i granuli presentavano sulla superficie una sostanza bluastra, gelatinosa alla vista, possibile conseguenza del deposito di pigmenti presenti nel refluo.



**Fig. 4.2** a) NLR ed NRR espressi in [mg N/g VSS/ d], esprimono rispettivamente il rateo di carico di azoto (NLR) e il tasso di rimozione dell'azoto (NRR); b) Efficienza di rimozione dell'azoto ottenuto come rapporto tra NRR e NLR

Nel grafico c di Fig. 4.1 parte dell'azoto organico presente nel refluo SCR non viene degradato. Il problema potrebbe essere connesso alla presenza di tinture azoiche utilizzate per colorare i tessuti (cfr. paragrafo 1.2 Stampa tessile digitale). Dai risultati ottenuti sembra quindi confermato che il processo PN/anammox non sia in grado di degradarle, per via biologica, almeno nelle condizioni operative attuate nell'impianto pilota.



**Fig. 4.3** Attività anammox dei “granuli 1” su refluo SCR espressa in funzione dell'ammonio rimosso

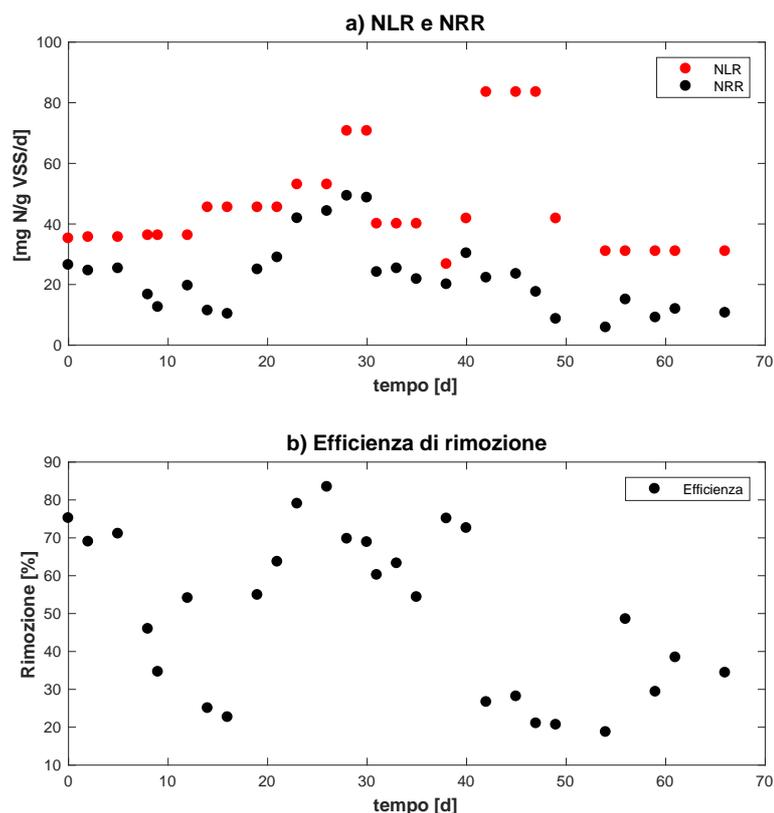
## 4.2 Risultati sui “granuli 2”

La sperimentazione sulla biomassa “granuli 2” è stata effettuata dal 03/07/19 al 04/11/19. Su questi batteri sono stati testati tutti e 3 i reflui (SCR, Satinskin e Adalberto).

### 4.2.1 Sperimentazione su SCR

La sperimentazione su SCR è stata effettuata in due periodi differenti, tra cui intercorre la sperimentazione sui reflui Satinskin e Adalberto.

La prima parte è avvenuta dal 03/07/19 al 02/08/19. Poi il reattore è stato svuotato e la biomassa riposta in frigorifero nel periodo di fermo estivo. Durante i primi giorni i batteri sono stati alimentati con il sintetico per adattarli ai carichi di azoto dei reflui ma evitando la presenza di eventuali inibenti. Rispettivamente è stato utilizzato SCR al 25% per i primi 5 giorni, poi al 60% per altri 15 giorni ed infine al 100% per gli ultimi 10 giorni prima dell'interruzione. Come osservato anche con gli altri granuli l'efficienza tende prima a decrescere (nella fase di adattamento della biomassa) per poi risalire. Durante i primi 25 giorni sono stati mantenuti 6 cicli/d, mentre negli ultimi 5 visti i buoni risultati che si stavano ottenendo (l'efficienza di rimozione supera l'80%) si è deciso di portare a 8 il numero di cicli/d, questo ha comportato una riduzione dell'efficienza di rimozione intorno al 70%, purtroppo a causa dell'interruzione estiva non è stato possibile indagare se questa riduzione fosse dovuta al poco tempo che i batteri hanno avuto a disposizione per la rimozione (l'NLR risulta maggiore però scende il tempo che i batteri hanno a disposizione per rimuoverlo) o se, come osservato nei casi precedenti, questa perdita di efficienza fosse dovuta solo ad una fase di adattamento al cambio introdotto.

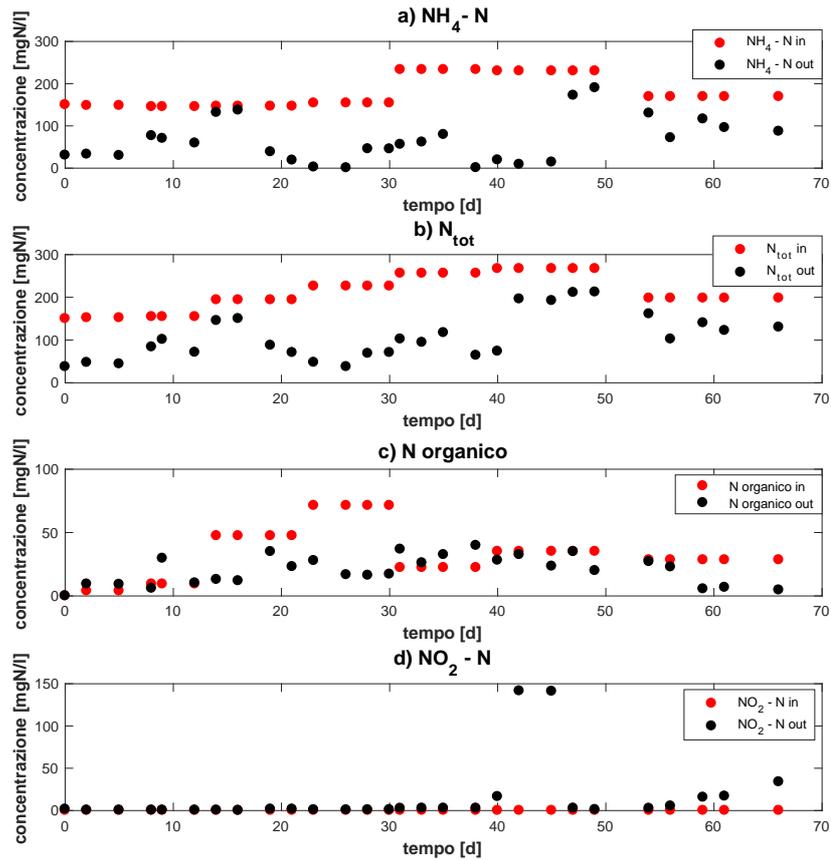


**Fig. 4.4** a) NLR ed NRR espressi in [mg N/g VSS/ d], esprimono rispettivamente il rateo di carico di azoto (NLR) e il tasso di rimozione dell'azoto (NRR); b) Efficienza di rimozione dell'azoto ottenuto come rapporto tra NRR e NLR.

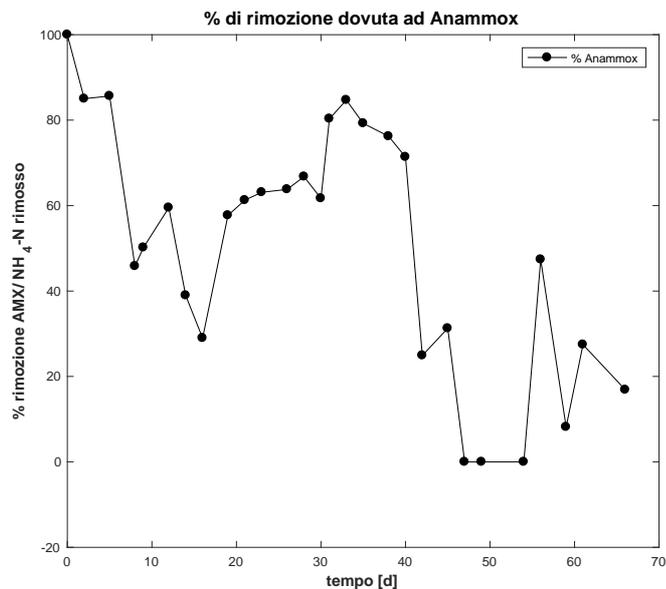
La sperimentazione su SCR è ripresa poi dal 30/09/19 fino al 04/11/19. Durante tutto questo periodo di tempo sono stati mantenuti 6 cicli/d. Questa sperimentazione è stata effettuata subito dopo quella sui reflui Satinskin e Adalberto che presentavano una composizione molto differente perciò inizialmente, come già sottolineato, la biomassa ha dovuto adattarsi al cambio di influente. L'efficienza di rimozione inizialmente si è attestata intorno al 50% per poi risalire abbastanza in fretta verso il 70%. Dal 40-esimo giorno in poi notiamo un brusco calo nell'efficienza (evidenziato anche all'elevata concentrazione di azoto totale e ammoniacale nell'effluente), proprio in corrispondenza di questo giorno viene cambiata la durata del tempo di alimentazione dell'influente (non

cambia la durata totale del ciclo) passando da 6693 s di durata a 13420 s. Il tempo di feed è stato raddoppiato perché è stato ipotizzato che alimentando più lentamente il reattore i batteri avrebbero avuto meno difficoltà a rimuovere l'ammonio in ingresso. Al contrario si è osservato che i batteri AOB trasformavano l'azoto ammoniacale in nitrito assai più velocemente di quanto gli anammox potessero consumarli utilizzando l'azoto ammoniacale. In questo modo la carenza di ammonio ai batteri anammox causava un accumulo di nitrito (grafico d, Fig. 4.5) tale da comportare l'inibizione degli stessi batteri anammox. A questo punto il reattore è stato svuotato e nuovamente riempito per eliminare il nitrito in eccesso e cercare di riattivare i batteri anammox. Osserviamo una piccola ripresa in seguito al lavaggio del reattore, ma l'attività dei batteri anammox è rimasta modesta (Fig. 4.6), con il nitrito che è tornato a crescere sul finire della sperimentazione.

Anche durante questa sperimentazione notiamo una parte di azoto organico (grafico c, Fig. 4.5) che non viene rimosso, si tratta anche qui della componente di azoto organico non ammonificabile, attribuibile alle tinte azoiche che, come si è detto in precedenza, non è possibile rimuovere con il trattamento PN/anammox.



**Fig. 4.5** Concentrazioni in ingresso ed uscita misurate per la biomassa "granuli 1" dal 04/02/19 al 07/06/19 su refluo SCR. a) Misurazioni in ed out di azoto ammoniacale ( $\text{NH}_4\text{-N}$ ); b) Misurazioni in ed out di azoto totale ( $\text{N}_{\text{tot}}$ ); c) Misurazioni in ed out di azoto organico ( $\text{N organico}$ ); d) Misurazioni in ed out di nitrito ( $\text{NO}_2\text{-N}$ );



**Fig. 4.6** Attività anammox dei "granuli 2" su refluo SCR espressa in funzione dell'ammonio rimosso

## 4.2.2 Sperimentazione su Satinskin

La sperimentazione su Satinskin ha avuto inizio l'11/09/19 ed è durata fino al 17/09/19. Lo scopo era di verificare la trattabilità del refluo su una quantità limitata di campione (20 L), fornita per via aerea dal partner portoghese del progetto LifeDeNTreat. I parametri operativi mantenuti durante il periodo sono:

- Durata del ciclo: 6 ore;
- Volume scambiato per ciclo: 0.45 L (rateo di scambio =  $0.45/2 = 22.5\%$ );
- Numero di cicli giorno:  $24/6 = 4$  cicli/d;
- Concentrazione biomassa nel reattore: a partire da 8 gTSS/L, cresciuta poi durante il periodo di lavoro.

I set point di ossigeno disciolto e pH sono stati mantenuti rispettivamente tra 0.2-0.4 ppm per l'OD e 7.2-7.6 per il pH.

I test sono stati effettuati prima con influente sintetico, questo per riattivare i batteri a seguito dello stop per le vacanze estive (per circa 2 giorni), in seguito si è utilizzato un influente al 50% sintetico e al 50% composto da Satinskin (2 giorni) e per il tempo restante si è utilizzato Satinskin al 100%.

Nelle due tabelle sottostanti sono mostrate le concentrazioni in ingresso ed in uscita per i tre influenti.

**Tab. 4.1** Concentrazioni, mediate sul periodo di utilizzo dell'influente, in ingresso (mg/L)

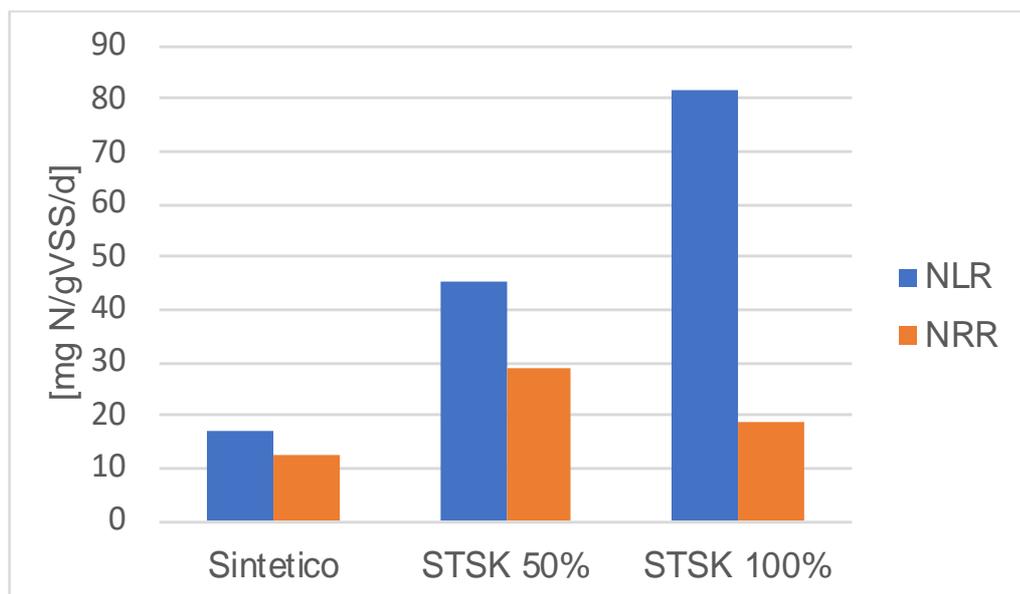
Influente	NO <sub>2</sub> -N	NO <sub>3</sub> -N	NH <sub>4</sub> -N	Ntot	COD	N organico
Sintetico	0.00	0.00	152.00	152.00	0.00	0.00
50% Satinskin	0.50	4.11	103.75	402.00	487.50	293.64
100% Satinskin	0.00	1.34	17.50	728.00	891.00	709.16

**Tab. 4.2** Concentrazioni, mediate sul periodo di utilizzo dell'influente, in uscita (mg/L)

Influente	NO <sub>2</sub> -N	NO <sub>3</sub> -N	NH <sub>4</sub> -N	Ntot	COD	N organico
Sintetico	1.00	24.75	15.25	41.00	0.00	0.00
50% Satinskin	0.75	19.46	91.55	143.50	278.00	31.74
100% Satinskin	30.06	7.37	437.50	558.00	690.50	83.08

Le efficienze di rimozione (calcolate sull'azoto totale) ottenute per ognuno degli influenti sono rispettivamente pari al 73% per l'ingresso sintetico, il 64% per l'ingresso al 50% Satinskin e 23% per Satinskin al 100%.

In Fig. 4.7 vengono mostrati l'NLR e l'NRR dei tre ingressi. Da qui sembra che il tasso di rimozione sia piuttosto basso a confronto con il carico. Tuttavia, osservando le tabelle (Tab. 4.1 e Tab. 4.2) possiamo notare un'attività di ammonificazione molto importante con la maggior parte dell'azoto organico convertito ad azoto ammoniacale.



**Fig. 4.7** NLR ed NRR (mgN/gVSS/d) calcolati per i tre influenti

Da Fig. 4.9 e Fig. 4.10 risulta ancora più evidente la conversione dell'azoto organico ad azoto ammoniacale nel refluo Satinskin al 50% e al 100%.

Tuttavia, confrontando il refluo al 50% rispetto a quello al 100% notiamo una rimozione di azoto minore, per la quale è possibile fare delle ipotesi. Visto che per pH intorno a 7.6 e temperatura di 30°C, l'ammoniaca libera rappresenta circa il 3% dell'ammonio, e che in questo caso l'ammonio rappresenta circa l'80% dell'azoto totale, potremmo avere in soluzione circa 13 mg/L di ammoniaca libera, che potrebbe essere sufficiente per esercitare un'azione inibente nei confronti dei batteri nitrificanti (AOB) (Anthonisen et al., 1976).

Di conseguenza i batteri AOB potrebbero perdere efficacia nel convertire l'ammonio a nitrito. Pertanto, la durata del ciclo potrebbe essere stata troppo breve per permettere sia l'ammonificazione sia la conversione dell'ammonio, con i batteri AOB che subiscono una parziale inibizione per la presenza dell'ammoniaca libera. Risultati simili sono stati riscontrati su effluenti della stampa tessile digitale in uno studio di Scaglione et al. (2016).

Per quanto riguarda l'attività anammox, dai bilanci di massa eseguiti con Excel è possibile definire i seguenti rendimenti:

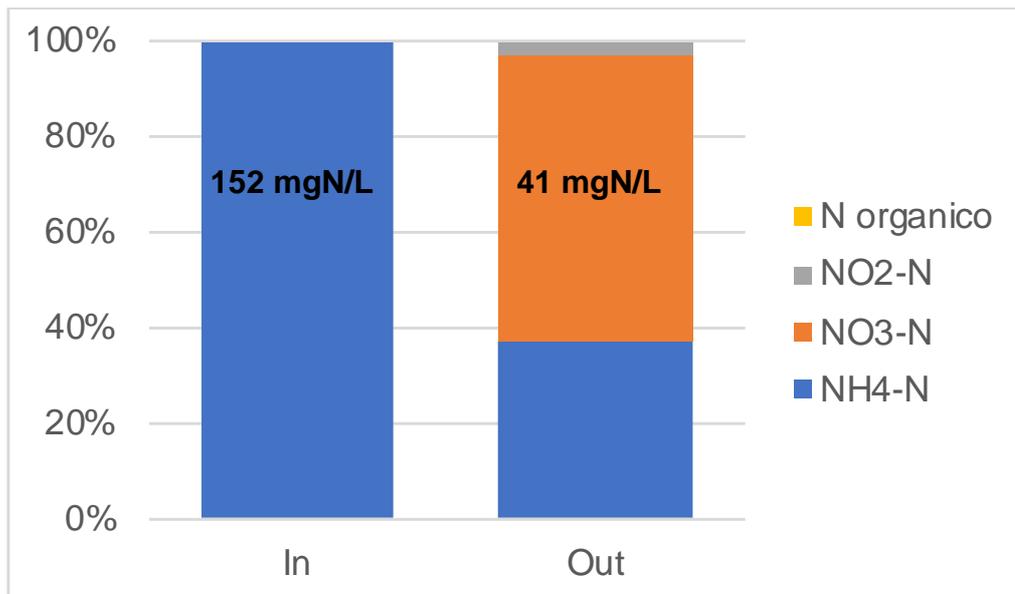
- Per il refluo sintetico il 90% dell'ammonio rimosso lo è stato per via anammox. Solitamente con refluo sintetico si ottiene una frazione rilevante di rimozione da parte di anammox. Anche Scaglione et al. (2016), per bassi valori di OD e temperatura intorno ai 30°C, avevano ottenuto una rimozione di ammonio da refluo sintetico per attività anammox prossima al 100%. Il motivo di questa leggera perdita di attività anammox potrebbe essere dovuto all'attività di batteri NOB (che ossidano il nitrito sottraendolo

agli anammox), promossa da un aumento dell'ossigeno disciolto fino a 1.5 ppm;

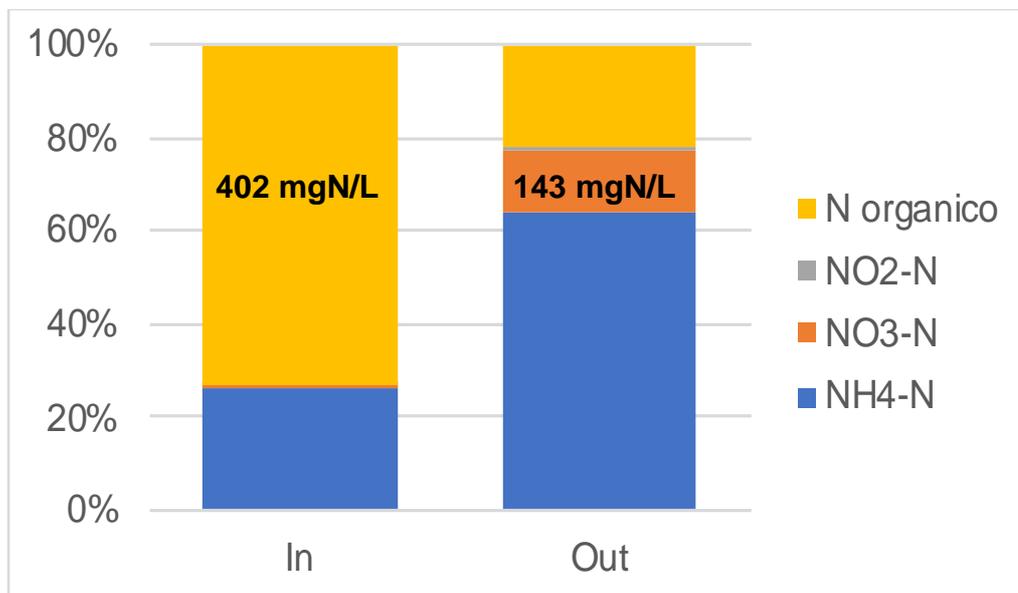
- Per il refluo al 50% sintetico e 50% Satinskin la percentuale di ammonio rimosso per attività anammox si attesta intorno al 93%;
- Per il refluo Satinskin al 100% la percentuale di ammonio rimosso per via anammox è intorno all'85%.

Una possibile soluzione per migliorare le performance del reattore potrebbe essere quella di lavorare a pH leggermente acido (6.8-7) per ridurre la concentrazione di ammoniaca libera ed incrementare il tasso di nitrificazione, oltre all'aumento della durata del ciclo per permettere ai batteri di avere tempo sufficiente per effettuare l'ammonificazione e la nitrificazione. Bisogna comunque considerare che i batteri non hanno avuto tempo per adattarsi in maniera adeguata al tipo di refluo, tempi di sperimentazione più lunghi sarebbero stati più adatti per avere risultati migliori soprattutto in termini di rimozione. Queste ipotesi vengono verificate con la sperimentazione su Adalberto (cfr. 4.2.3 Sperimentazione su Adalberto).

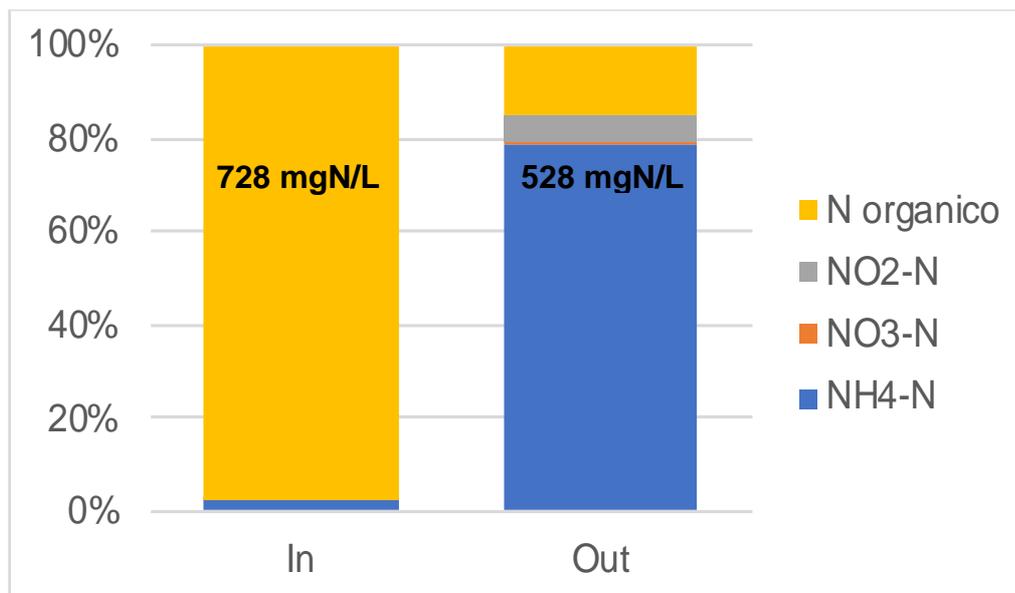
È comunque possibile affermare la trattabilità del refluo Satinskin attraverso il processo PN/anammox.



**Fig. 4.8** Composizione dell'azoto totale in ingresso (152 mg/L) ed in uscita (41 mg/L) del refluo sintetico (N organico = 0 mg/L)



**Fig. 4.9** Composizione dell'azoto totale in ingresso (402 mg/L) ed in uscita (143 mg/L) del refluo sintetico al 50% e Satinskin al 50%



**Fig. 4.10** Composizione dell'azoto totale in ingresso (728 mg/L) ed in uscita (528 mg/L) del refluo Satinskin al 100%

### 4.2.3 Sperimentazione su Adalberto

La sperimentazione su Adalberto è durata dal 18/09/19 al 27/09/19, per una durata complessiva di 10 giorni.

I parametri operativi utilizzati durante il periodo sono:

- Durata del ciclo: 6 ore dal 18/09 al 23/09 e 8 ore dal 23/09 al 27/09;
- Volume scambiato per ciclo: 0.45 L (rateo di scambio =  $0.45/2 = 22.5\%$ );
- Numero di cicli giorno: 4 cicli/d dal 18/09 al 23/09 e 3 dal 23/09 al 27/09;
- Concentrazione biomassa nel reattore: partita da 8 gTSS/L durante la sperimentazione su Satinskin, a fine lavoro su Adalberto si attestava intorno a 12 gTSS/L.

I set point per il pH e l'ossigeno disciolto sono gli stessi adottati durante i test con Satinskin, rispettivamente 7.2-7.6 per il pH e 0.2-0.4 ppm per l'OD.

La durata del ciclo è stata aumentata da 6 a 8 ore per testare la possibilità di convertire tutto l'azoto organico ad ammonio e rimuovere poi tutto l'ammonio.

Questo perché come evidenziato dai test su Satinskin né tutto l'azoto organico né tutto l'ammonio erano stati rimossi con cicli della durata di 6 ore. I risultati ottenuti sembrerebbero confermare questa ipotesi.

La sperimentazione è avvenuta secondo 3 modalità, innanzitutto si è utilizzato un influente misto al 50% sintetico e al 50% Adalberto per adattare la biomassa, poi si è passati ad Adalberto al 100% con cicli di 6 ore ed infine cicli da 8 ore sempre con Adalberto al 100%.

Nelle tabelle sottostanti sono mostrate le concentrazioni misurate in ingresso ed in uscita nel e dal reattore per le 3 condizioni sperimentate.

**Tab. 4.3** Concentrazioni, mediate sul periodo di utilizzo dell'influente, in ingresso (mg/L)

<b>Influente</b>	<b>NO<sub>2</sub>-N</b>	<b>NO<sub>3</sub>-N</b>	<b>NH<sub>4</sub>-N</b>	<b>Total N</b>	<b>COD</b>	<b>N organico</b>
ADLB 50%	8.3	6.0	77.2	352	274	261
ADLB 100%	0.9	4.9	33.4	508	395	469

**Tab. 4.4** Concentrazioni, mediate sul periodo di utilizzo dell'influente, in uscita (mg/L)

<b>Influente</b>	<b>NO<sub>2</sub>-N</b>	<b>NO<sub>3</sub>-N</b>	<b>NH<sub>4</sub>-N</b>	<b>Total N</b>	<b>COD</b>	<b>N organico</b>
ADLB 50%	1.9	27.9	138	250	267	82
ADLB 100% (cicli da 6h)	4.7	52.6	106	202	304	39
ADLB 100% (cicli da 8h)	1.3	98.5	2.7	151	291	48

Le efficienze di rimozione ottenute (calcolate sull'azoto totale) sono rispettivamente del 28% sull'influente misto sintetico/Adalberto, 60% con Adalberto al 100% e cicli da 6 ore ed infine 70% con Adalberto al 100% e cicli da 8 ore.

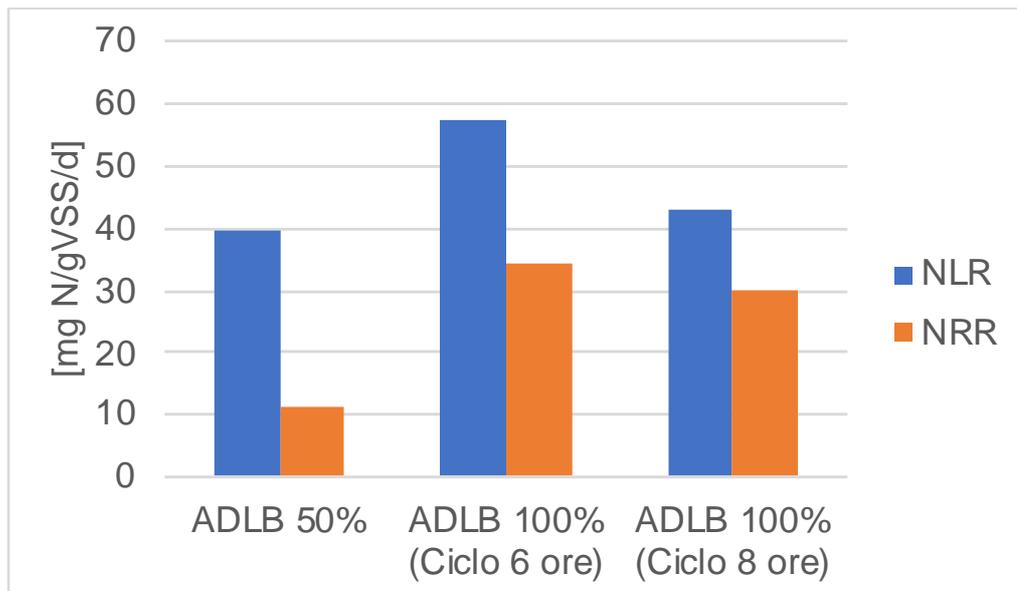
L'efficienza di rimozione osservata da i test con influente al 50% sintetico e 50% Adalberto risulta più bassa rispetto ai test successivi. Questo potrebbe essere

dovuto ad un insufficiente tempo di adattamento della biomassa (solo 2 giorni) a questo influente, ma è stato sufficiente ad osservare un buon tasso di ammonificazione, infatti una considerevole parte dell'azoto organico è stata convertita ad ammonio (più evidente da Fig. 4.12). In seguito, si è inserito il refluo al 100% per testare anche qui l'attività di ammonificazione, che si è confermata buona. Nella sperimentazione da 6 ore non si è riusciti però a rimuovere l'ammonio prodotto ed è proprio questa la differenza importante tra i cicli da 6 ore e quelli da 8 ore. In entrambi si riesce a convertire la quasi totalità dell'azoto organico ma nel ciclo da 8 ore si è riusciti anche a rimuovere completamente l'ammonio.

La conversione dell'azoto organico potrebbe essere dovuta all'azione di una specifica popolazione di AOB in grado di produrre ureasi, un enzima che permette la conversione dell'azoto organico in ammonio (Koper et al., 2004).

Tuttavia, una parte dell'azoto organico, circa il 10%, non viene convertita e sembrerebbe non biodegradabile. Anche in questo caso potrebbe trattarsi della quota di azoto non biodegradabile nelle tinte azoiche di cui si è già parlato in precedenza (cfr. 4.1 Risultati su "granuli 1").

In Fig. 4.11 sono mostrati l'NLR e l'NRR per le tre condizioni sottoposte a prova sperimentale.



**Fig. 4.11** NLR ed NRR (mgN/gVSS/d) calcolati per le modalità utilizzate

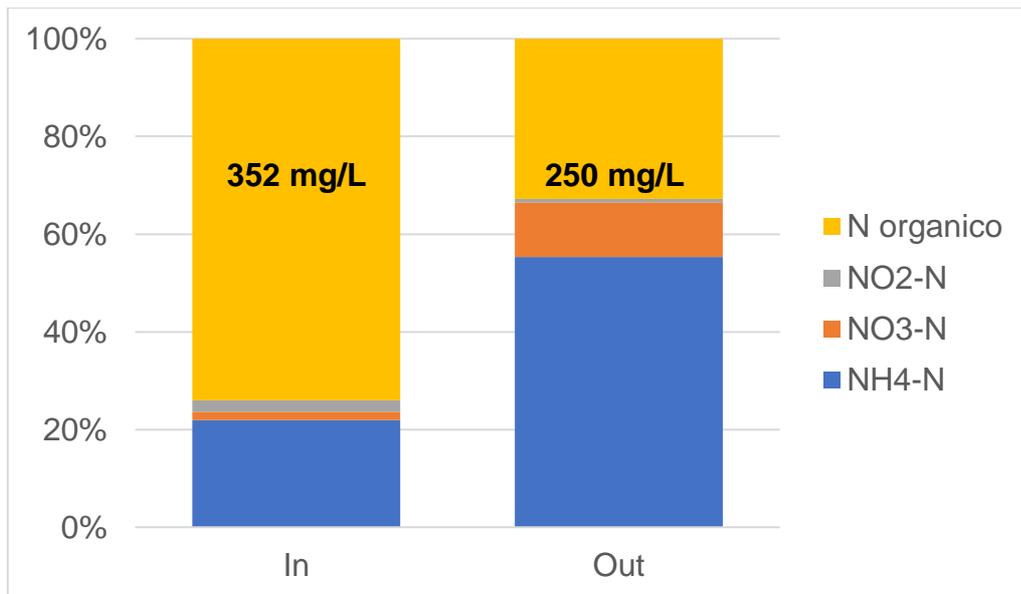
Dalla figura risulta evidente come il refluo prodotto da Adalberto possa essere trattato tramite processo PN/anammox con successo.

I bilanci di massa eseguiti tramite il foglio Excel hanno mostrato:

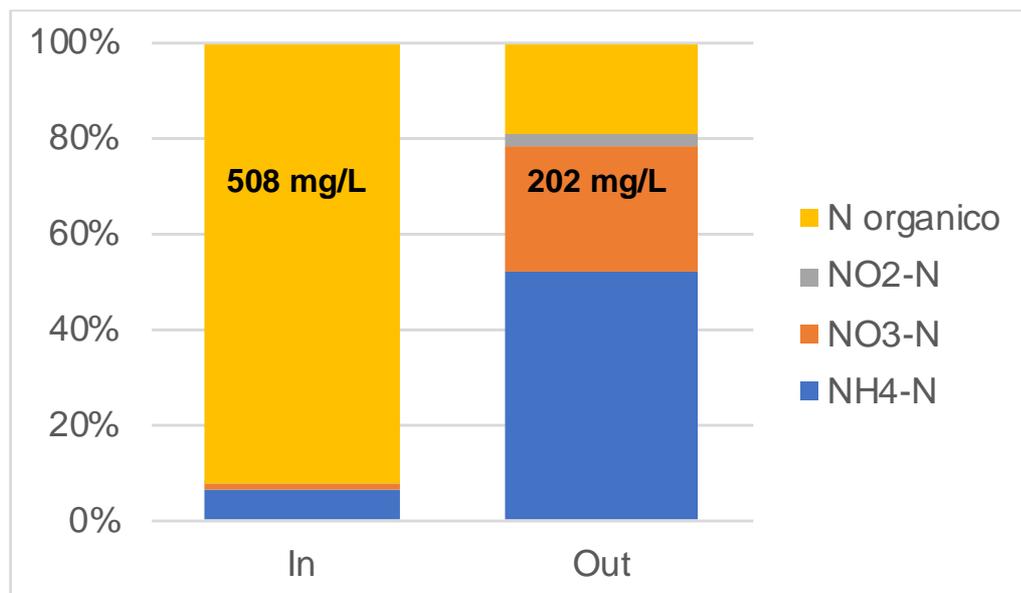
- Per il mix 50% sintetico e 50% Adalberto una rimozione del 91% di ammonio per opera dei batteri anammox;
- Per Adalberto al 100% (ciclo da 6 ore) una rimozione del 91% dell'ammonio da parte di anammox;
- Per Adalberto al 100% (ciclo da 8 ore) una rimozione dell'84% dell'ammonio da parte anammox.

Nitrificazione e denitrificazione eterotrofa sono responsabili per la rimozione del restante ammonio.

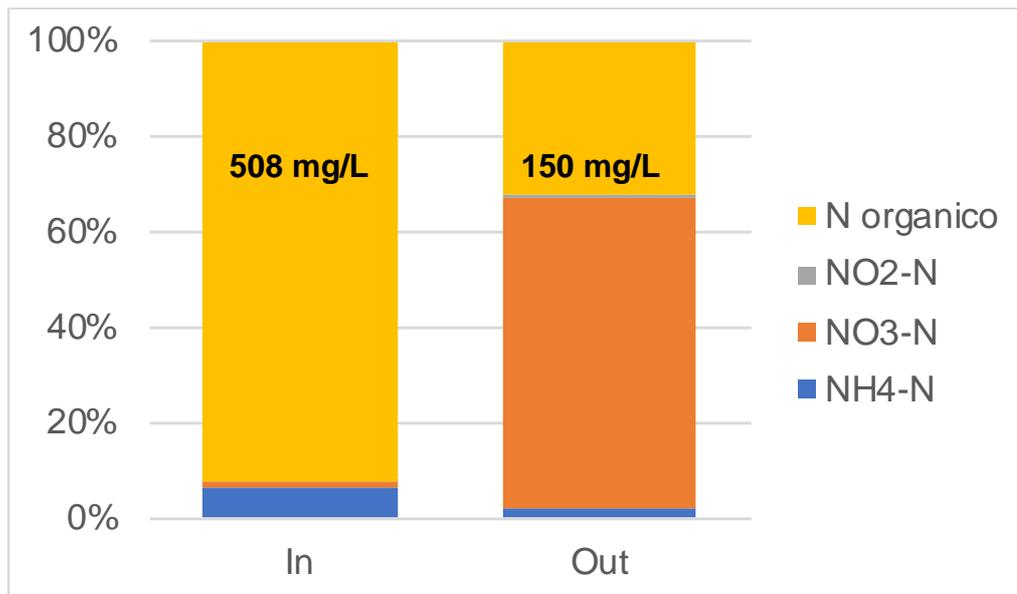
Nelle figure sottostanti si osserva meglio l'attività di ammonificazione e la rimozione dell'ammonio, queste figure mostrano la composizione dell'azoto totale in ingresso ed in uscita per le 3 configurazioni.



**Fig. 4.12** Composizione dell'azoto totale in ingresso (352 mg/L) ed in uscita (250 mg/L) del refluo sintetico al 50% e Adalberto al 50%



**Fig. 4.13** Composizione dell'azoto totale in ingresso (508 mg/L) ed in uscita (202 mg/L) del refluo Adalberto al 100% per il ciclo da 6 ore



**Fig. 4.14** Composizione dell'azoto totale in ingresso (508 mg/L) ed in uscita (150 mg/L) del refluo Adalberto al 100% per il ciclo da 8 ore

Nel ciclo da 8 ore possiamo notare una produzione di nitrato abbastanza elevata, dovuta principalmente ad anammox ma non è da escludere che possa esserci stata anche attività da parte dei batteri NOB.

Dopo i test su Satinskin sono state fatte alcune ipotesi riguardo il motivo per cui la concentrazione di ammonio in uscita fosse così alta. In seguito ai risultati dei test effettuati su Adalberto sembra confermata l'ipotesi della necessità di maggior tempo per poter completare sia l'azione di ammonificazione che quella di riduzione dell'ammonio. Anche possibilmente per l'interferenza di una certa quantità di ammoniaca libera nel reattore dovuta alle elevate concentrazioni di ammonio.

Oltre a ciò potrebbero essere presenti nei reflui sostanze inibenti per la biomassa come le stesse tinture azotate o altri composti.

## 4.3 Misure di N<sub>2</sub>O

Tra il 1° ottobre 2019 e il 14 Ottobre 2019 sono state effettuate delle misure sulla gas bag per verificare la produzione di N<sub>2</sub>O all'interno del reattore. Le misure sono state effettuate tramite il gascromatografo (cfr. 3.7 Il gascromatografo).

In Tab 4.5 sono mostrati i risultati delle misure effettuate.

**Tab. 4.5** Misure di N<sub>2</sub>O effettuate dal gascromatografo su gas bag

Stato del reattore	Data misura	Concentrazione di N <sub>2</sub> O [ppm]
Durata ciclo 4h (DO=0.1-0.3 ppm)	01/10/19	320.5
Durata ciclo 4h (DO=0.1-0.3 ppm)	04/10/19	445.17
Durata ciclo 6h (DO=0.1-0.3 ppm)	07/10/19	346.25
Durata ciclo 4h, feed lungo, aeratore nuovo	09/10/19	535.57
Durata ciclo 4h, feed lungo, aeratore nuovo 1 L/min, biomassa dimezzata (6 g/L)	11/10/19	46
Durata ciclo 4h, feed lungo, aeratore nuovo 0,1 L/min	14/10/19	66

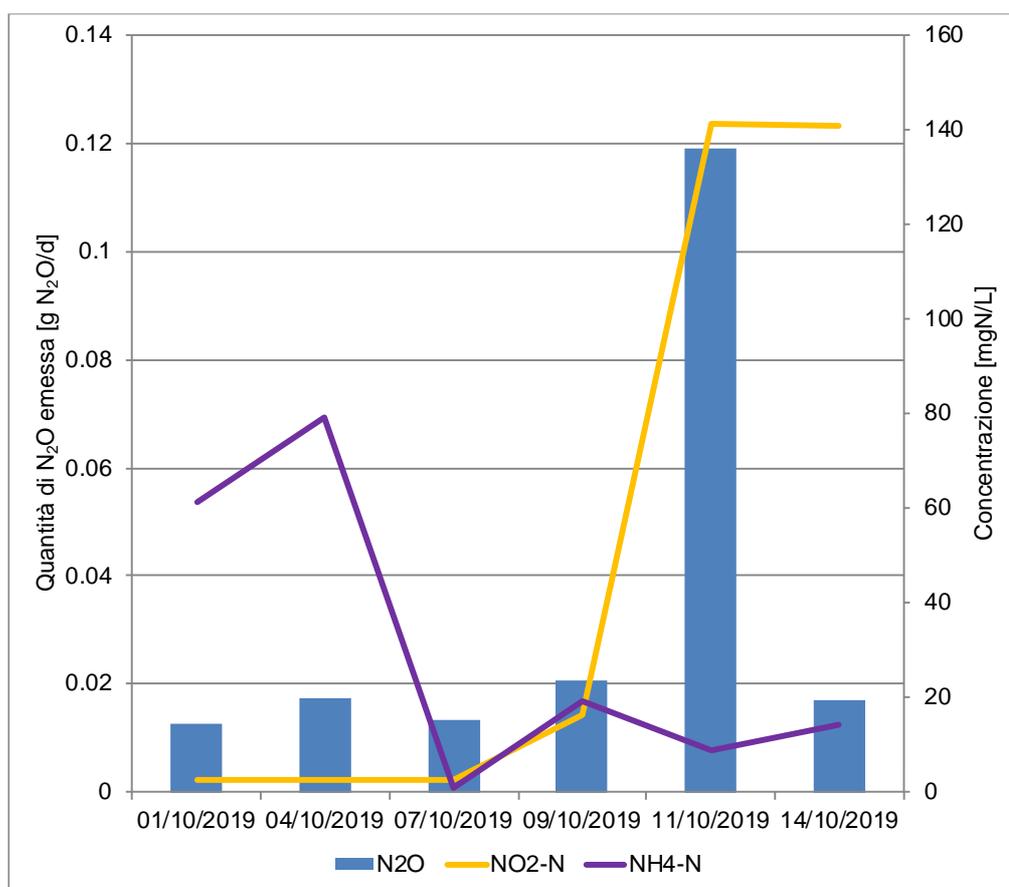
Mentre in Tab. 4.6 sono mostrati i risultati della conversione delle misure.

**Tab. 4.6** Risultati della conversione delle misure di N<sub>2</sub>O

Data	Portata d'aria [L/d]	g N <sub>2</sub> O/L in offgas	g N <sub>2</sub> O/d emessi
01/10/19	21.6	0.000576533	0.012453122
04/10/19	21.6	0.000800797	0.017297212
07/10/19	21.6	0.000622854	0.013453646
09/10/19	21.6	0.000963413	0.020809731
11/10/19	1440.0	0.000082747	0.119156242
14/10/19	144	0.000118725	0.01709633

In Fig. 4.15 sono illustrati i risultati ottenuti, da qui possiamo vedere come l'emissione maggiore sia stata ottenuta in corrispondenza della massima portata dell'aeratore e come la concentrazione di ammonio e nitrito possano influenzarne l'emissione. Osservando l'andamento dell'ammonio in uscita sembra che questo

ricalchi un po' l'andamento dell' $N_2O$ , mentre il picco di emissione va a coincidere non solo con l'aumento di portata dell'aeratore ma anche con il picco di concentrazione di  $NO_2^-$  presente in effluente. Dei risultati simili sono stati ottenuti da Castro-Barros et al. (2015) che mostrano come un'aerazione più intensa comporti una produzione ed emissione di  $N_2O$  maggiore rispetto a periodi di aerazione contenuta dove l' $N_2O$  tende ad avere un tasso di formazione minore e un maggiore accumulo nella fase liquida.



**Fig. 4.15** Quantità di  $N_2O$  emessa, ricavata dalle misure effettuate, confrontata con la concentrazione di  $NH_4-N$  ed  $NO_2-N$  misurate nell'effluente

Utilizzando l' $NLR$  calcolato per il periodo di interesse è possibile esprimere l' $N_2O$  prodotto in funzione del carico di azoto totale in ingresso.

In Tab. 4.7 sono riassunti i risultati.

**Tab. 4.7** Quantità di N<sub>2</sub>O prodotta in rapporto alla quantità di azoto totale in ingresso

Data	NLR [gN/d]	% N <sub>2</sub> O/N
01/10/19	0.768	1.62%
04/10/19	0.768	2.25%
07/10/19	0.512	2.63%
09/10/19	0.801	2.60%
11/10/19	0.801	14.88%
14/10/19	0.801	2.13%

I risultati mostrano una percentuale di produzione di N<sub>2</sub>O in linea con quella degli impianti tradizionali o di altre ricerche su processi PN/A (cfr. 2.4.1 Confronto sulla produzione di N<sub>2</sub>O).

In conclusione, potremmo dire che per controllare l'emissione di N<sub>2</sub>O sia importante ottimizzare il regime di aerazione, che sembrerebbe, insieme alla concentrazione di nitriti, essere i fattori con maggior influenza sulla produzione di N<sub>2</sub>O.

## 4.4 Modellazione dei risultati

Attraverso l'utilizzo del software Biowin<sup>TM</sup> si è cercato di trovare le condizioni ed i parametri del modello che permettessero di riprodurre i risultati ottenuti dai test sul reattore. Ciò per poter poi capire quali potrebbero essere stati i fattori più influenti sulla rimozione dell'ammonio da parte del processo PN/anammox.

La simulazione è stata eseguita sulla base dei risultati ottenuti durante il periodo che va dal 03/07/19 al 02/08/19 con refluo SCR.

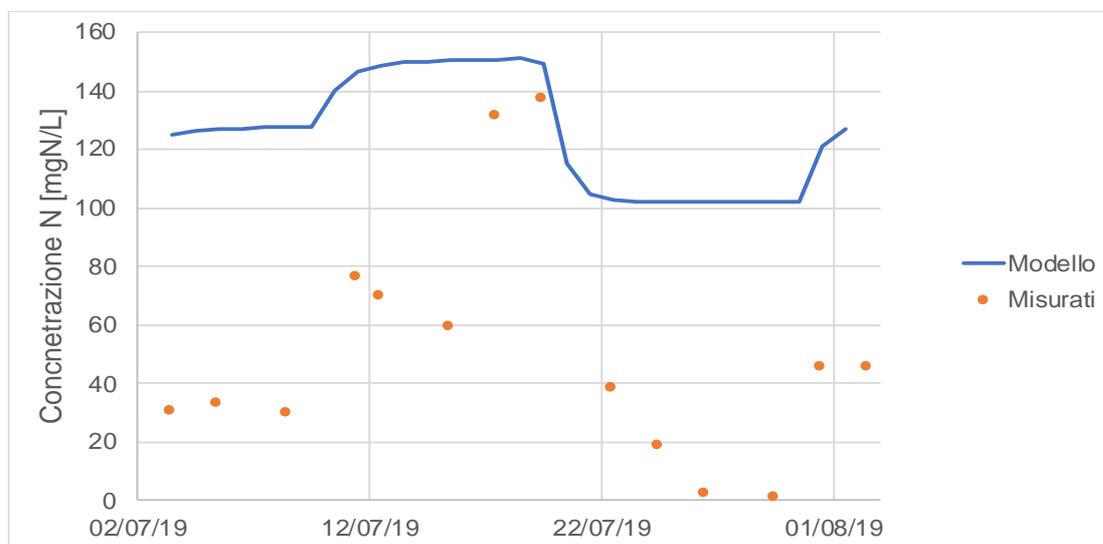
In Tab 4.8 sono mostrate le composizioni medie (con deviazione standard) dell'influente e dell'effluente misurate durante questo periodo.

**Tab. 4.8** Concentrazioni medie misurate sul periodo di simulazione con deviazione standard

Parametro	Influente [mg/L]	Effluente [mg/L]
COD	486.86 ± 211.43	280.21 ± 126.85
TKN	185.25 ± 30.48	67.29 ± 39.01
Ntot	185.46 ± 30.75	75.83 ± 34.74
Nitrato	0.21 ± 0.33	7.84 ± 7.93
pH	7.5	7.5

Sono stati confrontati i risultati di due simulazioni differenti, la prima utilizzando i parametri di default e la seconda con i parametri modificati per riprodurre al meglio la situazione reale.

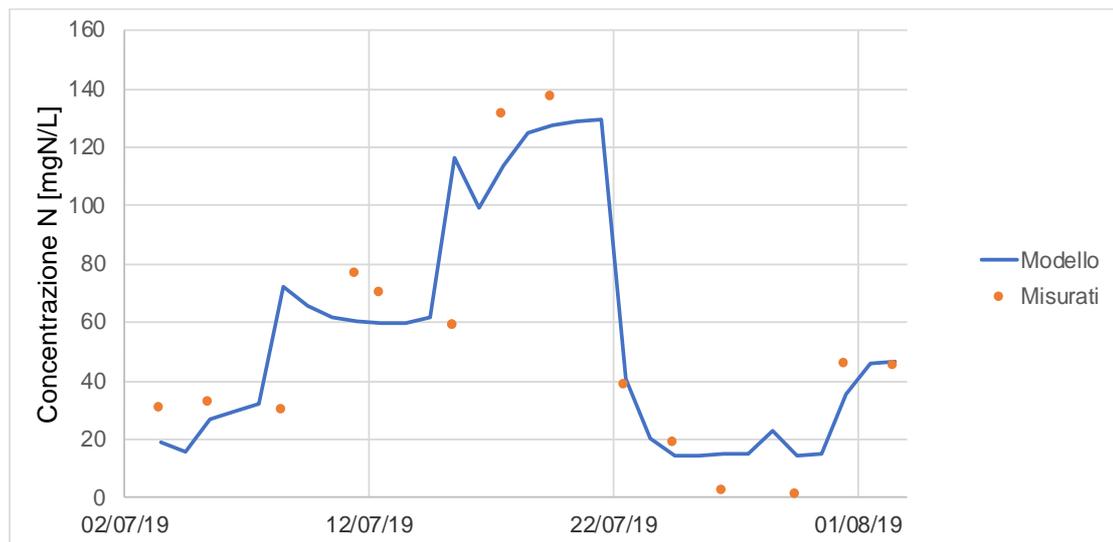
In Fig. 4.16 sono mostrati i risultati della simulazione con i parametri di default, come possiamo notare l'andamento dell'ammonio in uscita ricalca in qualche modo quello reale ma le concentrazioni risultano molto più elevate.



**Fig. 4.16** Risultato della simulazione con l'utilizzo dei parametri cinetici di default

Si è provveduto quindi alla modifica dei parametri cinetici per i batteri attivi nel processo. In particolare, per gli NOB è stato ridotto il tasso di crescita specifico ed è stato aumentato il tasso di decadimento. Per gli anammox è stato aumentato

il tasso di crescita. Per gli eterotrofi è stato ridotto il tasso di crescita ed è stata aumentata la costante di semi saturazione dell'ossigeno (cfr. 3.10.1 Parametri del modello). Ed è stata effettuata nuovamente la simulazione, ottenendo il risultato mostrato in Fig. 4.17.



**Fig. 4.17** Risultato della simulazione effettuata con i parametri cinetici modificati

Questa volta il modello riesce a rappresentare in maniera puntuale l'andamento reale. Tuttavia, bisogna sottolineare che per ottenere questa precisione nella simulazione sono state effettuate tre differenti simulazioni per permetterci di variare la composizione del refluo in ingresso.

In Tab. 4.9 sono presentati i parametri principali per la caratterizzazione dell'influente e sono illustrati i cambiamenti fatti per le tre simulazioni.

Per concludere possiamo affermare che la caratterizzazione dell'influente e corretta impostazione dei parametri cinetici risultano importanti per ottenere un risultato quanto più vicino alla realtà.

**Tab. 4.9** Parametri utilizzati per la caratterizzazione dell'influente

Parametro	Default	dal 03/07 al 14/07	dal 14/07 al 22/07	dal 22/07 al 02/08
COD rapidamente biodegradabile (incluso acetato) [gCODrb/gCOD	0.16	0.4	0.4	0.45
Acetato [gCOD/gCODrb]	0.15	0.223	0.223	0.223
COD lentamente biodegradabile non colloidale [gCOD/gCODsb]	0.75	0.75	0.75	0.75
COD solubile non biodegradabile [gCOD/gCOD totale]	0.05	0.2	0.2	0.12
COD particolato non biodegradabile [gCOD/gCOD totale]	0.13	0.001	0.001	0.13
Ammonio [gNH <sub>4</sub> -N/gTKN]	0.66	0.9	0.94	0.8
Azoto organico particolato [gN/gN organico]	0.5	0.001	0.001	0.001
TKN solubile non biodegradabile [gN/gTKN]	0.02	0.02	0.02	0.02
Rapporto N:COD per COD particolato non biodegradabile [gN/gCOD]	0.035	0.035	0.035	0.035
Fosfati [gPO <sub>4</sub> -P/gTTP]	0.5	0.5	0.5	0.5
Rapporto P:COD per COD particolato non biodegradabile [gP/gCOD]	0.011	5.00E-04	5.00E-04	5.00E-04
Frazione di COD per eterotrofi [gCOD/gCOD totale]	0.02	0.02	0.02	0.02
Frazione di COD per AOB [gCOD/gCOD totale]	1.00E-04	1.00E-04	1.00E-04	1.00E-04
Frazione di COD per NOB [gCOD/gCOD totale]	1.00E-04	1.00E-04	1.00E-04	1.00E-04
Frazione di COD per anammox [gCOD/gCOD totale]	1.00E-04	1.00E-04	1.00E-04	1.00E-04

## CAPITOLO 5 CONCLUSIONI

La sperimentazione eseguita sulle tre tipologie di refluo ha fornito risultati interessanti per quanto riguarda la trattabilità dei reflui della stampa tessile digitale tramite processo PN/anammox.

I risultati dimostrano la fattibilità del trattamento su tutti e tre i reflui sperimentati (SCR, Satinskin e Adalberto) sottolineando l'importanza di un preciso controllo e gestione del processo, in particolare dei livelli di pH, ossigeno disciolto e temperatura. La composizione dell'influente è inoltre di fondamentale importanza per il raggiungimento dei limiti allo scarico, in quanto sono stati osservati comportamenti della biomassa riconducibili a possibili tossicità croniche da parte del refluo. I reflui sottoposti a sperimentazione infatti sono sospetti contenere tinte azoiche che il processo biologico non è in grado di rimuovere e potrebbero d'altra parte generare metaboliti inibenti nei confronti del processo stesso. A questo riguardo sono in corso approfondimenti specifici.

I risultati suggeriscono la presenza di consorzi specifici di AOB in grado di effettuare la conversione dell'urea ad azoto ammoniacale, permettendo quindi di spingere la rimozione del carico azotato verso il raggiungimento dei limiti allo scarico senza l'aggiunta di enzimi ureasi.

La produzione di  $N_2O$  risulta essere in linea con i dati presenti in letteratura riguardo gli impianti PN/anammox ed è stato confermato come la gestione del sistema di aerazione sia di fondamentale importanza per ridurre la produzione di questo gas.

La sperimentazione ha quindi confermato il potenziale di trattabilità dei reflui in esame, portando nuove conoscenze per incrementare le rimozioni ottimizzando i trattamenti e nuove prospettive per il continuo della ricerca.

## BIBLIOGRAFIA

- Ali, Muhammad, Rathnayake M.L.D. Rathnayake, Lei Zhang, Satoshi Ishii, Tomonori Kindaichi, Hisashi Satoh, Sakae Toyoda, Naohiro Yoshida, and Satoshi Okabe. 2016. 'Source Identification of Nitrous Oxide Emission Pathways from a Single-Stage Nitritation-Anammox Granular Reactor'. *Water Research* 102 (October): 147–57.  
<https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2016.06.034>.
- Anthonisen, A. C., R. C. Loehr, T. B. S. Prakasam, and E. G. Srinath. 1976. 'Inhibition of Nitrification by Ammonia and Nitrous Acid'. *Journal (Water Pollution Control Federation)*. Wiley. <https://doi.org/10.2307/25038971>.
- Bellandi, Giacomo. 2018. 'N<sub>2</sub>O Emissions and Aeration Efficiency in Wastewater Treatment: Improved Monitoring; Mechanistic Modelling and Data Mining.' PhD Thesis, Ghent University, Belgium.  
<https://flore.unifi.it/handle/2158/1127922#.XeAkrehKjcs>.
- Bellieni, Martino. 2016. 'Rimozione Autotrofa Dell'azoto Da Reflui Della Stampa Tessile Digitale Con Processo Anammox - Sperimentazione a Scala Pilota'. Tesi di laurea magistrale, Politecnico di Milano, Italia.  
[https://www.politesi.polimi.it/bitstream/10589/123642/5/RIMOZIONE DELL%27AZOTO DA REFLUI DELLA STAMPA TESSILE DIGITALE CON PROCESSO ANAMMOX - SPERIMENTAZIONE A SCALA PILOTA.pdf](https://www.politesi.polimi.it/bitstream/10589/123642/5/RIMOZIONE%27AZOTO%20DA%20REFLUI%20DELLA%20STAMPA%20TESSILE%20DIGITALE%20CON%20PROCESSO%20ANAMMOX%20-%20SPERIMENTAZIONE%20A%20SCALA%20PILOTA.pdf).
- Broda, E. 1977. 'Two Kinds of Lithotrophs Missing in Nature'. *Zeitschrift Für Allgemeine Mikrobiologie* 17 (6): 491–93.  
<https://doi.org/10.1002/jobm.19770170611>.
- Brotto, Ariane C., Débora C. Kligerman, Samara A. Andrade, Renato P. Ribeiro, Jaime L. M. Oliveira, Kartik Chandran, and William Z. de Mello. 2015. 'Factors Controlling Nitrous Oxide Emissions from a Full-Scale Activated Sludge System in the Tropics'. *Environmental Science and Pollution Research* 22 (15): 11840–49. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4467-x>.

- Canziani, Roberto, Valeria Emondi, Massimiliano Garavaglia, Francesca Malpei, Eleonora Pasinetti, and Gianluigi Buttiglieri. 2006. 'Effect of Oxygen Concentration on Biological Nitrification and Microbial Kinetics in a Cross-Flow Membrane Bioreactor (MBR) and Moving-Bed Biofilm Reactor (MBBR) Treating Old Landfill Leachate'. *Journal of Membrane Science* 286 (1–2): 202–12. <https://doi.org/10.1016/J.MEMSCI.2006.09.044>.
- Carvajal-Arroyo, José M., Daniel Puyol, Guangbin Li, Reyes Sierra-Álvarez, and Jim A. Field. 2014. 'The Role of PH on the Resistance of Resting- and Active Anammox Bacteria to  $\text{NO}_2^-$  Inhibition'. *Biotechnology and Bioengineering* 111 (10): 1949–56. <https://doi.org/10.1002/bit.25269>.
- Castignetti, Domenic, and Haim B. Gunner. 1982. 'Differential Tolerance of Hydroxylamine by an *Alcaligenes* Sp., a Heterotrophic Nitrifier, and by *Nitrobacter Agilis*'. *Canadian Journal of Microbiology* 28 (1): 148–50. <https://doi.org/10.1139/m82-018>.
- Castro-Barros, C.M., M.R.J. Daelman, K.E. Mampaey, M.C.M. van Loosdrecht, and E.I.P. Volcke. 2015. 'Effect of Aeration Regime on  $\text{N}_2\text{O}$  Emission from Partial Nitritation-Anammox in a Full-Scale Granular Sludge Reactor'. *Water Research* 68 (January): 793–803. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2014.10.056>.
- Chen, Tingting, Ping Zheng, Lidong Shen, Shuang Ding, and Qaisar Mahmood. 2011. 'Kinetic Characteristics and Microbial Community of Anammox-EGSB Reactor'. *Journal of Hazardous Materials* 190 (1–3): 28–35. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2010.12.060>.
- Clippeleir, Haydée De, Siegfried E. Vlaeminck, Fabian De Wilde, Katrien Daeninck, Mariela Mosquera, Pascal Boeckx, Willy Verstraete, and Nico Boon. 2013. 'One-Stage Partial Nitritation/Anammox at 15 °C on Pretreated Sewage: Feasibility Demonstration at Lab-Scale'. *Applied Microbiology and Biotechnology* 97 (23): 10199–210. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-4744-x>.
- Dapena-Mora, A., I. Fernández, J.L. Campos, A. Mosquera-Corral, R. Méndez, and M.S.M. Jetten. 2007. 'Evaluation of Activity and Inhibition Effects on Anammox Process by Batch Tests Based on the Nitrogen Gas Production'. *Enzyme and Microbial Technology* 40 (4): 859–65.

- <https://doi.org/10.1016/J.ENZMICTEC.2006.06.018>.
- Desloover, Joachim, Siegfried E Vlaeminck, Peter Clauwaert, Willy Verstraete, and Nico Boon. 2012. 'Strategies to Mitigate N<sub>2</sub>O Emissions from Biological Nitrogen Removal Systems'. *Current Opinion in Biotechnology* 23 (3): 474–82. <https://doi.org/10.1016/J.COPBIO.2011.12.030>.
- Domingo-Félez, Carlos, A. Gizem Mutlu, Marlene M. Jensen, and Barth F. Smets. 2014. 'Aeration Strategies To Mitigate Nitrous Oxide Emissions from Single-Stage Nitritation/Anammox Reactors'. *Environmental Science & Technology* 48 (15): 8679–87. <https://doi.org/10.1021/es501819n>.
- Dongen, U. van, M. S.M. Jetten, and M. C.M. van Loosdrecht. 2001. 'The SHARON®-Anammox® Process for Treatment of Ammonium Rich Wastewater'. *Water Science and Technology* 44 (1): 153–60. <https://doi.org/10.2166/wst.2001.0037>.
- Egli, Konrad, Urs Fanger, Pedro J.J. Alvarez, Hansruedi Siegrist, Jan R. van der Meer, and Alexander J.B. Zehnder. 2001. 'Enrichment and Characterization of an Anammox Bacterium from a Rotating Biological Contactor Treating Ammonium-Rich Leachate'. *Archives of Microbiology* 175 (3): 198–207. <https://doi.org/10.1007/s002030100255>.
- Eilersen, Ann Marie, Mogens Henze, and Lene Kløft. 1994. 'Effect of Volatile Fatty Acids and Trimethylamine on Nitrification in Activated Sludge'. *Water Research* 28 (6): 1329–36. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)90298-4](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)90298-4).
- Fernández, I., J. Dosta, C. Fajardo, J.L. Campos, A. Mosquera-Corral, and R. Méndez. 2012. 'Short- and Long-Term Effects of Ammonium and Nitrite on the Anammox Process'. *Journal of Environmental Management* 95 (March): S170–74. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2010.10.044>.
- Fernández, I., J.R. Vázquez-Padín, A. Mosquera-Corral, J.L. Campos, and R. Méndez. 2008. 'Biofilm and Granular Systems to Improve Anammox Biomass Retention'. *Biochemical Engineering Journal* 42 (3): 308–13. <https://doi.org/10.1016/J.BEJ.2008.07.011>.
- Grunditz, Camilla, Lena Gumaelius, and Gunnel Dalhammar. 1998. 'Comparison of Inhibition Assays Using Nitrogen Removing Bacteria: Application to Industrial Wastewater'. *Water Research* 32 (10): 2995–3000. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(98\)00050-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(98)00050-5).

- Guo, Lisha, Coralie Lamaire-Chad, Giacomo Bellandi, Matthijs Daelman, Youri Amerlinck, Thomas Maere, Jurgen Nous, et al. 2013. 'High-Frequency Field Measurement of Nitrous Oxide (N<sub>2</sub>O) Gas Emissions and Influencing Factors at WWTPs under Dry and Wet Weather Conditions'. *Proceedings of the Water Environment Federation* 2013 (4): 621–29. <https://doi.org/10.2175/193864713813525310>.
- Gupta, Sanjay. 2001. 'Inkjet Printing-A Revolutionary Ecofriendly Technique for Textile Printing'. *Indian Journal of Fibre & Textile Research*. Vol. 26. [http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/24925/1/IJFTR\\_26\(1-2\)\\_156-161.pdf](http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/24925/1/IJFTR_26(1-2)_156-161.pdf).
- Güven, Didem, Ana Dapena, Boran Kartal, Markus C Schmid, Bart Maas, Katinka van de Pas-Schoonen, Seval Sozen, et al. 2005. 'Propionate Oxidation by and Methanol Inhibition of Anaerobic Ammonium-Oxidizing Bacteria.' *Applied and Environmental Microbiology* 71 (2): 1066–71. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.2.1066-1071.2005>.
- Hellinga, C., A.A.J.C. Schellen, J.W. Mulder, M.C.M. van Loosdrecht, and J.J. Heijnen. 1998. 'The Sharon Process: An Innovative Method for Nitrogen Removal from Ammonium-Rich Waste Water'. *Water Science and Technology* 37 (9): 135–42. [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(98\)00281-9](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(98)00281-9).
- Hu, Ziyue, Tommaso Lotti, Merle de Kreuk, Robbert Kleerebezem, Mark van Loosdrecht, Jans Kruit, Mike S M Jetten, and Boran Kartal. 2013. 'Nitrogen Removal by a Nitrification-Anammox Bioreactor at Low Temperature.' *Applied and Environmental Microbiology* 79 (8): 2807–12. <https://doi.org/10.1128/AEM.03987-12>.
- Hulle, Stijn W.H. Van, Helge J.P. Vandeweyer, Boudewijn D. Meesschaert, Peter A. Vanrolleghem, Pascal Dejans, and Ann Dumoulin. 2010. 'Engineering Aspects and Practical Application of Autotrophic Nitrogen Removal from Nitrogen Rich Streams'. *Chemical Engineering Journal* 162 (1): 1–20. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2010.05.037>.
- Hulle, Stijn WH Van, Eveline IP Volcke, Josefa López Teruel, Brecht Donckels, Mark CM van Loosdrecht, and Peter A Vanrolleghem. 2007. 'Influence of Temperature and PH on the Kinetics of the Sharon Nitrification Process'.

- Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 82 (5): 471–80.  
<https://doi.org/10.1002/jctb.1692>.
- Isaka, Kazuichi, Tatsuo Sumino, and Satoshi Tsuneda. 2007. 'High Nitrogen Removal Performance at Moderately Low Temperature Utilizing Anaerobic Ammonium Oxidation Reactions'. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 103 (5): 486–90. <https://doi.org/10.1263/JBB.103.486>.
- Jetten, Mike S.M., Laura Van Niftrik, Marc Strous, Boran Kartal, Jan T. Keltjens, and Huub J.M. Op Den Camp. 2009. 'Biochemistry and Molecular Biology of Anammox Bacteria Biochemistry and Molecular Biology of Anammox Bacteria M.S.M. Jetten et Al.' *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 44 (2–3): 65–84.  
<https://doi.org/10.1080/10409230902722783>.
- Jetten, Mike S.M., Marc Strous, Katinka T. van de Pas-Schoonen, Jos Schalk, Udo G.J.M. van Dongen, Astrid A. van de Graaf, Susanne Logemann, Gerard Muyzer, Mark C.M. van Loosdrecht, and J. Gijs Kuenen. 1998. 'The Anaerobic Oxidation of Ammonium'. *FEMS Microbiology Reviews* 22 (5): 421–37. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1998.tb00379.x>.
- Jin, Ren-Cun, Ping Zheng, Qaisar Mahmood, and Bao-Lan Hu. 2007. 'Osmotic Stress on Nitrification in an Airlift Bioreactor'. *Journal of Hazardous Materials* 146 (1–2): 148–54.  
<https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2006.12.004>.
- Jin, Ren Cun, Guang Feng Yang, Jin Jin Yu, and Ping Zheng. 2012. 'The Inhibition of the Anammox Process: A Review'. *Chemical Engineering Journal* 197: 67–79. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.05.014>.
- Joss, Adriano, David Salzgeber, Jack Eugster, Roger König, Karin Rottermann, Sabine Burger, Peter Fabijan, Susanne Leumann, Joachim Mohn, and Hansruedi Siegrist. 2009. 'Full-Scale Nitrogen Removal from Digester Liquid with Partial Nitrification and Anammox in One SBR'. *Environmental Science & Technology* 43 (14): 5301–6.  
<https://doi.org/10.1021/es900107w>.
- Jubany, Irene, Julián Carrera, Javier Lafuente, and Juan A. Baeza. 2008. 'Start-up of a Nitrification System with Automatic Control to Treat Highly Concentrated Ammonium Wastewater: Experimental Results and

- Modeling'. *Chemical Engineering Journal* 144 (3): 407–19.  
<https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2008.02.010>.
- Jubany, Irene, Javier Lafuente, Juan A. Baeza, and Julián Carrera. 2009. 'Total and Stable Washout of Nitrite Oxidizing Bacteria from a Nitrifying Continuous Activated Sludge System Using Automatic Control Based on Oxygen Uptake Rate Measurements'. *Water Research* 43 (11): 2761–72.  
<https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2009.03.022>.
- Kampschreur, M. J., R. Poldermans, R. Kleerebezem, W. R. L. van der Star, R. Haarhuis, W. R. Abma, M. S. M. Jetten, and M. C. M. van Loosdrecht. 2009. 'Emission of Nitrous Oxide and Nitric Oxide from a Full-Scale Single-Stage Nitritation-Anammox Reactor'. *Water Science and Technology* 60 (12): 3211–17. <https://doi.org/10.2166/wst.2009.608>.
- Kampschreur, Marlies J., Wouter R.L. van der Star, Hubert A. Wielders, Jan Willem Mulder, Mike S.M. Jetten, and Mark C.M. van Loosdrecht. 2008. 'Dynamics of Nitric Oxide and Nitrous Oxide Emission during Full-Scale Reject Water Treatment'. *Water Research* 42 (3): 812–26.  
<https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2007.08.022>.
- Kartal, Boran, Wouter J. Maalcke, Naomi M. de Almeida, Irina Cirpus, Jolein Gloerich, Wim Geerts, Huub J. M. Op den Camp, et al. 2011. 'Molecular Mechanism of Anaerobic Ammonium Oxidation'. *Nature* 479 (7371): 127–30. <https://doi.org/10.1038/nature10453>.
- Kimura, Yuya, Kazuichi Isaka, Futaba Kazama, and Tatsuo Sumino. 2010. 'Effects of Nitrite Inhibition on Anaerobic Ammonium Oxidation'. *Applied Microbiology and Biotechnology* 86 (1): 359–65.  
<https://doi.org/10.1007/s00253-009-2359-z>.
- Koper, Teresa E, Amal F El-sheikh, Jeanette M Norton, and Martin G Klotz. 2004. 'Urease-Encoding Genes in Ammonia-Oxidizing Bacteria' 70 (4): 2342–48. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.4.2342>.
- Lackner, Susanne, Eva M. Gilbert, Siegfried E. Vlaeminck, Adriano Joss, Harald Horn, and Mark C.M. van Loosdrecht. 2014. 'Full-Scale Partial Nitritation/Anammox Experiences - An Application Survey'. *Water Research* 55 (0): 292–303. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.02.032>.
- Law, Yingyu, Paul Lant, and Zhiguo Yuan. 2013. 'The Confounding Effect of

- Nitrite on N<sub>2</sub>O Production by an Enriched Ammonia-Oxidizing Culture'. *Environmental Science & Technology* 47 (13): 7186–94.  
<https://doi.org/10.1021/es4009689>.
- 'Life DeNTreat'. 2019. <https://www.life-dentreat.eu/projects/>. 2019.  
<https://www.life-dentreat.eu/projects/>.
- Lotti, T., R. Kleerebezem, Z. Hu, B. Kartal, M.K. de Kreuk, C. van Erp Taalman Kip, J. Kruit, T.L.G. Hendrickx, and M.C.M. van Loosdrecht. 2015. 'Pilot-Scale Evaluation of Anammox-Based Mainstream Nitrogen Removal from Municipal Wastewater'. *Environmental Technology* 36 (9): 1167–77.  
<https://doi.org/10.1080/09593330.2014.982722>.
- Lotti, T., R. Kleerebezem, C. Lubello, and M.C.M. van Loosdrecht. 2014b. 'Physiological and Kinetic Characterization of a Suspended Cell Anammox Culture'. *Water Research* 60 (September): 1–14.  
<https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2014.04.017>.
- Lotti, Tommaso, Davide Scaglione, Aronne Teli, Roberto Canziani, Elena Ficara, Francesca Malpei, Batteri Anammox Passato, Presente E Futuro, and Ida Acque. 2014a. 'Rimozione Completamente Autotrofa Dell' Azoto Con Batteri Anammox: Passato, Presente e Futuro' 1: 3–26.
- Ma, Bin, Yongzhen Peng, Shujun Zhang, Junmin Wang, Yiping Gan, Jiang Chang, Shuying Wang, Shanyun Wang, and Guibing Zhu. 2013. 'Performance of Anammox UASB Reactor Treating Low Strength Wastewater under Moderate and Low Temperatures'. *Bioresourc Technology* 129 (February): 606–11.  
<https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2012.11.025>.
- Mulder, A. 2003. 'The Quest for Sustainable Nitrogen Removal Technologies'. *Water Science and Technology* 48 (1): 67–75.  
<https://doi.org/10.2166/wst.2003.0018>.
- Mulder, A, A A Van De Graaf, L A Robertson, and J G Kuenen. 1995. 'Anaerobic Ammonium Oxidation Discovered in a Denitrifying Fluidized Bed Reactor'. *MICROBIOLOGY ECOLOGY FEMS Microbiology Ecology*. Vol. 16. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1995.tb00281.x>.
- Niccolini, Federico. 2014. 'Valutazione Della Trattabilità Dei Reflui Della Stampa Tessile Digitale Mediante Biomassa Anammox'. Tesi di laurea magistrale,

Politecnico di Milano, Italia.

[https://www.politesi.polimi.it/bitstream/10589/107451/3/2015\\_4\\_Niccolini.pdf](https://www.politesi.polimi.it/bitstream/10589/107451/3/2015_4_Niccolini.pdf).

- Oshiki, M., M. Shimokawa, N. Fujii, H. Satoh, and S. Okabe. 2011. 'Physiological Characteristics of the Anaerobic Ammonium-Oxidizing Bacterium "Candidatus Brocadia Sinica"'. *Microbiology* 157 (6): 1706–13. <https://doi.org/10.1099/mic.0.048595-0>.
- Ozyurt, Mustafa, and Hatice Ataçag. 2003. 'Biodegradation of Azo Dyes: A Review'. *Fresenius Environmental Bulletin* 12 (11): 1294–1302.
- Pan, Yuting, Ben van den Akker, Liu Ye, Bing-Jie Ni, Shane Watts, Katherine Reid, and Zhiguo Yuan. 2016. 'Unravelling the Spatial Variation of Nitrous Oxide Emissions from a Step-Feed Plug-Flow Full Scale Wastewater Treatment Plant'. *Scientific Reports* 6 (1): 20792. <https://doi.org/10.1038/srep20792>.
- Peng, Yongzhen, and Guibing Zhu. 2006. 'Biological Nitrogen Removal with Nitrification and Denitrification via Nitrite Pathway'. *Applied Microbiology and Biotechnology* 73 (1): 15–26. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0534-z>.
- Praveen, Muthusamy Raj Vellakaratur. 2017. 'One-Step Biological Autotrophic Process for Nitrogen Removal for Digital Textile Printing: Preliminary Lab-Tests and Modelling'. Master Thesis, Politecnico di Milano, Italy. <https://www.politesi.polimi.it/handle/10589/142586>.
- Puyol, D., J. M. Carvajal-Arroyo, G. B. Li, A. Dougless, M. Fuentes-Velasco, R. Sierra-Alvarez, and J. A. Field. 2014. 'High PH (and Not Free Ammonia) Is Responsible for Anammox Inhibition in Mildly Alkaline Solutions with Excess of Ammonium'. *Biotechnology Letters* 36 (10): 1981–86. <https://doi.org/10.1007/s10529-014-1564-8>.
- Rather, Luqman Jameel, Sabiyah Akhter, and Qazi Parvaiz Hassan. 2018. *Sustainable Innovations in Textile Chemistry and Dyes*.
- Rodriguez-Caballero, A., I. Aymerich, Ricardo Marques, M. Poch, and M. Pijuan. 2015. 'Minimizing N<sub>2</sub>O Emissions and Carbon Footprint on a Full-Scale Activated Sludge Sequencing Batch Reactor'. *Water Research* 71 (March): 1–10. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2014.12.032>.

- Santarsia, Roberto. 2015. 'Rimozione Dell'azoto Dai Reflui Della Stampa Tessile Digitale Mediante Processo Anammox: Studi Preliminari'. Tesi di laurea magistrale, Politecnico di Milano, Italia.  
[https://www.politesi.polimi.it/bitstream/10589/114067/3/Tesi Roberto Santarsia.pdf](https://www.politesi.polimi.it/bitstream/10589/114067/3/Tesi%20Roberto%20Santarsia.pdf).
- Scaglione, D., T. Lotti, G. Menin, F. Niccolini, F. Malpei, and R. Canziani. 2016. 'Complete Autotrophic Process for Nitrogen Removal from Ink- Jet Printing Wastewater'. *Chemical Engineering Transactions* 49 (May): 499–504.  
<https://doi.org/10.3303/CET1649084>.
- Siegrist, H., D. Salzgeber, J. Eugster, and A. Joss. 2008. 'Anammox Brings WWTP Closer to Energy Autarky Due to Increased Biogas Production and Reduced Aeration Energy for N-Removal'. *Water Science and Technology* 57 (3): 383–88. <https://doi.org/10.2166/wst.2008.048>.
- Sliekers, A.Olav, N. Derwort, J.L.Campos Gomez, M. Strous, J.G. Kuenen, and M.S.M. Jetten. 2002. 'Completely Autotrophic Nitrogen Removal over Nitrite in One Single Reactor'. *Water Research* 36 (10): 2475–82.  
[https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00476-6](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00476-6).
- Steven, Ralf, Michael Vollmer, and Eberhard Bock. 1992. 'The Impact of Organic Matter on Nitric Oxide Formation by Nitrosomonas Europaea'. *Archives of Microbiology* 158 (6): 439–43.  
<https://doi.org/10.1007/BF00276306>.
- Strous, M, E Van Gerven, J G Kuenen, and M Jetten. 1997. 'Effects of Aerobic and Microaerobic Conditions on Anaerobic Ammonium-Oxidizing (Anammox) Sludge.' *Applied and Environmental Microbiology* 63 (6): 2446–48. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16535633>.
- Strous, M, J J Heijnen, J G Kuenen, and M S M Jetten. 1998. 'The Sequencing Batch Reactor as a Powerful Tool for the Study of Slowly Growing Anaerobic Ammonium-Oxidizing Microorganisms'.  
<https://rd.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs002530051340.pdf>.
- Strous, Marc, J Gijs Kuenen, and Mike S M Jetten. 1999. 'Key Physiology of Anaerobic Ammonium Oxidation Downloaded From'. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*. Vol. 65. <http://aem.asm.org/>.
- Sudha, M, A Saranya, G Selvakumar, and N Sivakumar. 2014. 'Microbial

- Degradation of Azo Dyes: A Review'. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* Vol. 3. <http://www.ijcmas.com>.
- Tang, Chong-Jian, Ping Zheng, Bao-Lan Hu, Jian-Wei Chen, and Cai-Hua Wang. 2010. 'Influence of Substrates on Nitrogen Removal Performance and Microbiology of Anaerobic Ammonium Oxidation by Operating Two UASB Reactors Fed with Different Substrate Levels'. *Journal of Hazardous Materials* 181 (1–3): 19–26. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2010.04.015>.
- Tang, Chong-jian, Ping Zheng, Q. Mahmood, and Jian-wei Chen. 2010. 'Effect of Substrate Concentration on Stability of Anammox Biofilm Reactors'. *Journal of Central South University of Technology* 17 (1): 79–84. <https://doi.org/10.1007/s11771-010-0014-6>.
- Tang, Chong-Jian, Ping Zheng, Lei Zhang, Jian-Wei Chen, Qaisar Mahmood, Xiao-Guang Chen, Bao-Lan Hu, Cai-Hua Wang, and Yi Yu. 2010. 'Enrichment Features of Anammox Consortia from Methanogenic Granules Loaded with High Organic and Methanol Contents'. *Chemosphere* 79 (6): 613–19. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2010.02.045>.
- Thomsen, Marianne. 2016. 'AU Scientific Report from DCE-Danish Centre for Environment and Energy WASTEWATER TREATMENT AND DISCHARGE'. <https://www.dmu.dk/Pub/SR193.pdf>.
- Tomaszewski, Mariusz, Grzegorz Cema, and Aleksandra Ziemińska-Buczyńska. 2017. 'Influence of Temperature and PH on the Anammox Process: A Review and Meta-Analysis'. *Chemosphere* 182: 203–14. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.003>.
- Townsend-Small, Amy, Diane E. Pataki, Linda Y. Tseng, Cheng-Yao Tsai, and Diego Rosso. 2011. 'Nitrous Oxide Emissions from Wastewater Treatment and Water Reclamation Plants in Southern California'. *Journal of Environment Quality* 40 (5): 1542. <https://doi.org/10.2134/jeq2011.0059>.
- Tumendelger, Azzaya, Sakae Toyoda, and Naohiro Yoshida. 2014. 'Isotopic Analysis of N<sub>2</sub>O Produced in a Conventional Wastewater Treatment System Operated under Different Aeration Conditions'. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 28 (17): 1883–92. <https://doi.org/10.1002/rcm.6973>.

- Turk, Oussama, and Donald S. Mavinic. 1989. 'Maintaining Nitrite Build-up in a System Acclimated to Free Ammonia'. *Water Research* 23 (11): 1383–88. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(89\)90077-8](https://doi.org/10.1016/0043-1354(89)90077-8).
- Ujje, H. 2006. *Digital Printing of Textiles*. Digital Printing of Textiles. CRC Press. <https://doi.org/10.1533/9781845691585>.
- 'World Textile Information Network'. 2017. 2017. <https://www.wtin.com/>.
- Xiao, Pengying, Qing Cai, Daijun Zhang, Zongbao Yao, and Peili Lu. 2014. 'Characteristics of Nitrogen Removal and Nitrous Oxide Production in CANON Process'. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 89 (4): 552–58. <https://doi.org/10.1002/jctb.4153>.
- Xiao, Yeyuan, and Deborah J. Roberts. 2010. 'A Review of Anaerobic Treatment of Saline Wastewater'. *Environmental Technology* 31 (8–9): 1025–43. <https://doi.org/10.1080/09593331003734202>.
- Yan, Xu, Lin Li, and Junxin Liu. 2014. 'Characteristics of Greenhouse Gas Emission in Three Full-Scale Wastewater Treatment Processes'. *Journal of Environmental Sciences* 26 (2): 256–63. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(13\)60429-5](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(13)60429-5).
- Yang, Jingjing, Jozef Trela, Elzbieta Plaza, and Kåre Tjus. 2013. 'N<sub>2</sub>O Emissions from a One Stage Partial Nitrification/Anammox Process in Moving Bed Biofilm Reactors'. *Water Science and Technology* 68 (1): 144–52. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.232>.
- Yang, L., and J. E. Alleman. 1992. 'Investigation of Batchwise Nitrite Build-Up by an Enriched Nitrification Culture'. *Water Science and Technology* 26 (5–6): 997–1005. <https://doi.org/10.2166/wst.1992.0541>.
- Yang, Y., J.-E Zuo, P. Shen, and X.-S. Gu. 2006. 'Influence of Temperature, PH Value and Organic Substance on Activity of ANAMMOX Sludge'. *Huanjing Kexue/Environmental Science* 27 (4): 691–95.
- Yoo, Hyungseok, Kyu-Hong Ahn, Hyung-Jib Lee, Kwang-Hwan Lee, Youn-Jung Kwak, and Kyung-Guen Song. 1999. 'Nitrogen Removal from Synthetic Wastewater by Simultaneous Nitrification and Denitrification (SND) via Nitrite in an Intermittently-Aerated Reactor'. *Water Research* 33 (1): 145–54. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(98\)00159-6](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(98)00159-6).
- Zissi, U., and G. Lyberatos. 1996. 'Azo-Dye Biodegradation under Anoxic

Conditions'. *Water Science and Technology* 34 (5–6): 495–500.  
[https://doi.org/10.1016/0273-1223\(96\)00684-1](https://doi.org/10.1016/0273-1223(96)00684-1).