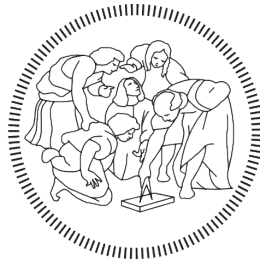


Politecnico di Milano

Scuola di Ingegneria Civile, Ambientale e Territoriale

Laurea Magistrale in Ingegneria per l'Ambiente e il Territorio



POLITECNICO
MILANO 1863

Produzione di acidi grassi volatili da fanghi di
depurazione delle acque reflue - monitoraggio di un
impianto a piena scala

Relatore: Prof.ssa Elena Ficara

Correlatore: Ing. Michele Platè

Matteo Grana

Matricola: 899012

Indice

1	Introduzione	1
1.1	Stato dell'arte	1
1.1.1	Gli acidi grassi volatili	1
1.1.2	La digestione anaerobica	3
1.1.3	Principali vie metaboliche della fermentazione	5
1.1.4	Fermentazione di fanghi derivanti dal trattamento acque reflue	10
1.1.4.1	Influenza principali parametri operativi	10
1.1.5	Possibili utilizzi dei VFA biosintetizzati	14
1.1.5.1	Bioenergia	14
1.1.5.2	Rimozione nutrienti	15
1.1.5.3	Estrazione PHA	20
1.2	Impianto di Sesto San Giovanni	22
2	Materiali e metodi	23
2.1	Impianto di produzione VFA	23
2.2	Prove di denitrificazione in manometria	28
2.3	BMP	32
2.4	Prove di fermentazione in batch a diversa temperatura	34
2.5	Metodi analitici	34
3	Risultati e discussione	37
3.1	Avviamento e monitoraggio impianto di produzione VFA	37
3.1.1	Messa in esercizio	37
3.1.2	Monitoraggio ed ottimizzazione del processo	41
3.2	Prove di denitrificazione in manometria	53
3.2.1	Discussione prove D	55
3.3	BMP	68
3.4	Prove di fermentazione in batch a diversa temperatura	72
4	Conclusioni	79

Bibliografia

85

Elenco delle figure

1.1	Schematizzazione fasi metanogenesi (Lv et al. 2010)	5
1.2	Vie metaboliche principali a seguire l'idrolisi di carboidrati e proteine (Zhou et al. 2018)	7
1.3	Molecole rilevanti nel metabolismo batterico	7
1.4	Concentrazione di VFA ottenuta in reattori CSTR operanti a differente temperatura (Maharaj e Elefsiniotis 2001)	12
1.5	Reazioni di nitrificazione e denitrificazione per la rimozione dell'azoto . . .	17
1.6	Rimozione del fosforo tramite il metabolismo dei PAO (Levlin 2010)	19
1.7	Esempi di PHA biosintetizzati e relativa formula chimica	21
2.1	Schema di flusso impianto di produzione VFA	24
2.2	Componenti sezione di produzione VFA	26
2.3	Setup sperimentale denitrificazione in manometria	31
2.4	Allestimento sperimentale prove di BMP	33
2.5	Allestimento sperimentale prove di fermentazione in batch	35
3.1	Accumulo di materiale lipidico sulla superficie delle tubazioni	40
3.2	Andamento della temperatura del fango fermentato nel tempo, fase I . . .	41
3.3	Volumi cumulati entranti e uscenti dal fermentatore, fase I	42
3.4	Andamenti di pH rilevato e concentrazione di sCOD nel tempo	44
3.5	Andamento della temperatura del fango fermentato nel tempo, fase II . . .	45
3.6	Concentrazione di azoto ammoniacale in funzione della concentrazione di sCOD nel liquido fermentato	46
3.7	Concentrazione di fosforo totale in funzione della concentrazione di sCOD nel liquido fermentato	46
3.8	Concentrazione di sCOD (g/L) in funzione dell'HRT medio dei 4 giorni precedenti	47
3.9	Andamento della concentrazione di sCOD in funzione della temperatura del fango fermentato	50
3.10	Frazionamento dei VFA in funzione dell'HRT medio dei 4 giorni precedenti	51

3.11	Risultati prove denitrificazione D_1 e D_2	56
3.12	Risultati prove denitrificazione D_3 e D_4	57
3.13	Risultati prove denitrificazione D_5 e D_6	58
3.14	Composizione VFA tramite gas cromatografo del liquido fermentato utilizzato nelle prove D_1 , D_2 , D_5 e D_6	66
3.15	Risultati modellistici prova di BMP_1	69
3.16	Risultati modellistici prova di BMP_2	70
3.17	Linearizzazione dati di concentrazione	73
3.18	Costante cinetica del primo ordine in funzione della temperatura	77
3.19	Estremi intervallo di confidenza al 95% per la stima delle costanti cinetiche	78
1	Risultati prove denitrificazione D_2 e D_3	83
2	Risultati prove denitrificazione D_5 e D_6	84

Elenco delle tabelle

1.1	Esempi di applicazioni dei VFA (Bhatia e Yang 2017; Jankowska et al. 2017)	2
1.2	Possibili substrati utilizzati per la produzione di VFA tramite fermentazione microbica (Bhatia e Yang 2017)	4
1.3	Reazioni biochimiche fermentazione acidogenica (Zhou et al. 2018)	9
1.4	Esempi di applicazioni a scala di laboratorio per la fermentazione di fanghi derivanti dal trattamento acque reflue (Lee et al. 2014)	11
1.5	Influenza del rapporto tra HAc, HPr e HBu sull'accumulo di lipidi all'interno delle cellule della cultura batterica (Fei et al. 2011)	16
1.6	Ratei di denitrificazione riportati in letteratura utilizzando VFA come substrato	18
1.7	Rateo di assorbimento dei VFA da parte dei PAO, rispetto all'acetato (Oehmen et al. 2004)	20
2.1	Coefficienti utilizzati nel calcolo delle perdite termiche del reattore di fermentazione (da relazione tecnica <i>Innoven SRL</i>)	28
2.2	Criteri di impostazione prove di denitrificazione	31
2.3	Criteri di impostazione prove di BMP	33
3.1	Portate medie giornaliere e volume medio di fango contenuto nel fermentatore dell'impianto di produzione VFA	42
3.2	Previsioni modellistiche sCOD in funzione di HRT e temperatura	49
3.3	Rese di acidificazione calcolate rispetto al massimo teoricamente ottenibile	50
3.4	Rese di acidificazione sperimentali	51
3.5	Percentuale di VFA-COD sul sCOD totale nel liquido fermentato	52
3.6	Risultati dell'interpolazione lineare migliore effettuata per il calcolo del rateo di denitrificazione	59
3.7	Risultati sperimentali prove di denitrificazione	60
3.8	Coefficiente di determinazione per regressioni lineari effettuate su diversi punti	61
3.9	Riassunto ratei prove denitrificazione con liquido fermentato	66

3.10	Calcolo potenziale di denitrificazione	67
3.11	Risultati modellistici prove di BMP	71
3.12	Risultati analitici prove di fermentazione in batch	74
3.13	Temperatura misurata e controllo miscelazione prove fermentazione in batch	75

Sommario

Il presente studio ha avuto come obiettivo l'avviamento ed il monitoraggio di un impianto a scala reale per la produzione di acidi grassi volatili (VFA) attraverso la fermentazione di fanghi di depurazione derivanti dal trattamento delle acque reflue. Il reattore di fermentazione, completamente miscelato, ha come volume utile 315 m^3 ed è alimentato in continuo da una miscela di fango primario - circa il 90% in massa sul totale - e fango di supero del trattamento biologico a fanghi attivi; il tempo di residenza idraulico è compreso tra 3 e 4 giorni. Il carico organico risulta mediamente $12 \text{ kgSV m}^{-3} \text{ d}^{-1}$. La massima concentrazione di VFA rilevata nella frazione liquida del fango fermentato è stata pari $9,5 \text{ g}_{\text{VFA-COD}}/\text{L}$, attestandosi mediamente ad un valore di $8 \text{ g}_{\text{VFA-COD}}/\text{L}$. La massa giornalmente prodotta è pari a circa $650 \text{ kg}_{\text{VFA-COD}}/\text{d}$.

La frazione liquida del fango fermentato viene dosata nel trattamento a fanghi attivi del medesimo impianto, per fornire una fonte esterna di carbonio rapidamente biodegradabile al fine di migliorare l'efficienza di denitrificazione. Per valutare l'efficacia del liquido fermentato in questo senso, sono state condotte delle prove di denitrificazione in manometria per stimare il rateo di denitrificazione della soluzione con la biomassa del medesimo impianto. Il rateo calcolato è variato da un minimo di $3,4 \text{ mg}_{\text{N-NO}_3} \cdot \text{gSV}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ad un massimo di $5,9 \text{ mg}_{\text{N-NO}_3} \cdot \text{gSV}^{-1} \text{ h}^{-1}$, corrispondenti ad un rateo relativo rispetto ad una soluzione di acetato sintetico - indicato come uno dei substrati ottimali per il processo di denitrificazione e testato in parallelo - pari a 100% e 160% rispettivamente.

La frazione solida del fango fermentato viene invece stabilizzata tramite digestione anaerobica. Per valutare l'effetto della fermentazione sulla produzione di biogas, sono state effettuate delle prove di BMP (Biochemical Methane Potential) sul fango fermentato e sul fango tal quale. Dai risultati di tali prove non è stato possibile trarre un'indicazione generale circa la differente produttività dei due fanghi, facendo concludere che i parametri di processo della fermentazione, variando, non permettano di stabilire a priori se il fango fermentato abbia un BMP maggiore o minore del fango tal quale.

Abstract

The objective of this study was the start-up, the monitoring and the optimization of a full-scale plant designed to produce Volatile Fatty Acids (VFA) through the fermentation of WWTP waste sludge. The fermenter volume, completely stirred, is 315 m³ and it is fed with a mixture of primary sludge - which accounts for 90% w/w of the total mass - and waste activated sludge. The average hydraulic retention time is in the range of 4-5 days, while the organic load rate is 12 kgVS m⁻³ d⁻¹.

The maximum measured concentration of VFAs in the liquid fraction of the fermented sludge is 9.5 g_{VFA-COD}/L, while the average value is 8 g_{VFA-COD}/L. The VFA mass daily production is approximately 650 kg_{VFA-COD}/d.

The liquid fraction of the fermented sludge is dosed in the activated sludge treatment in order to provide an external source of rapidly biodegradable carbon to enhance the denitrification process. To evaluate the effectiveness of the fermented liquid in this process, lab scale denitrification tests have been performed with the biomass of the same plant. The denitrification rate obtained is in the range of 3.4 mg_{N-NO₃} · gVS⁻¹ h⁻¹ - 5.9 mg_{N-NO₃} · gVS⁻¹ h⁻¹. These rates have been compared to the ones obtained with synthetic acetate - indicated as one of the best substrates for the denitrification process - and two hydroalcoholic solutions tested with the same procedure. The fermented liquid rate resulted to be in the range of 100%- 160% compared to acetate.

The solid fraction of the fermented sludge is stabilized in the anaerobic digestion process. To assess the fermentation influence on the biogas production, BMP (Biochemical Methane Potential) tests have been performed with both the fermented sludge and the fresh mixed sludge. It was not possible to draw general conclusions regarding which of the two has the highest BMP, as the results depend on the process parameters in the fermenter that change over time.

Capitolo 1

Introduzione

1.1 Stato dell'arte

1.1.1 Gli acidi grassi volatili

Gli acidi grassi volatili o VFA (Volatile Fatty Acids) sono acidi carbossilici con catene da meno di sei atomi di carbonio: acido acetico, acido propionico, acido butirrico, acido valerico, acido caproico ed i possibili isomeri. Le applicazioni industriali di questi prodotti sono molteplici, alcuni esempi sono riportati in tabella 1.1 (Bhatia e Yang 2017; Jankowska et al. 2017).

Il prezzo di mercato dei VFA è di 2500 \$/t per l'acido butirrico, 1700 \$/t per l'acido propionico e 800 \$/t per l'acido acetico (Jankowska et al. 2017). Il 90% della produzione di acidi grassi volatili è a partire da fonti non rinnovabili (Bhatia e Yang 2017).

In generale, il grande interesse economico e la crescente consapevolezza riguardante gli impatti negativi dovuti all'utilizzo di fonti non rinnovabili nella sintesi di materiali, stanno stimolando il mercato e la ricerca scientifica nella direzione della biosintesi di prodotti normalmente ricavati da fonti fossili (Bhatia e Yang 2017). Infatti, a titolo esemplificativo, per quanto riguarda l'emissione di CO₂ relativa alla produzione di una tonnellata di acido acetico secondo l'approccio LCA (analisi dell'intero ciclo vita di un prodotto), il valore stimato è di 3,3 tCO₂, eq/tHAc (Atasoy et al. 2018).

I VFA prodotti tramite sintesi biologica si ottengono prevalentemente a partire da microorganismi sfruttando il loro metabolismo di tipo fermentativo. Tale meccanismo si sviluppa in condizioni di anaerobiosi ad opera di microorganismi anerobi facoltativi, in grado di ricavare energia dall'ossidazione parziale di molecole organiche complesse precedentemente idrolizzate. Generi batterici che svolgono questo processo sono, tra gli altri: *Acetobacter*, *Clostridium*, *Kluyveromyces*, *Propionobacterium* e *Moorela* (Bhatia e Yang 2017).

Tabella 1.1: Esempi di applicazioni dei VFA (Bhatia e Yang 2017; Jankowska et al. 2017)

Acido (Prod. annuale [kt])	Applicazioni industriali	Fonte
Acido acetico (3500)	<p>Conservante per cibo: 5-20% acido acetico (aceto)</p> <p>Industria cosmetica: acetato di etile per accentuare gli aromi nei cosmetici</p> <p>Industria tessile: polivinilacetato utilizzato nelle fibre acriliche</p> <p>Altri usi: acetato di etile, acetato di butil e propil acetato sono utilizzati come solventi per inchiostro. L'acetato di magnesio e calcio è utilizzato come sale antigelo</p>	<p>Budiman et al. 2016</p> <p>Pal e Nayak 2017</p> <p>Todd Jr e Walters 1990</p>
Acido propionico (180)	<p>Conservante alimentare: inibisce la crescita di <i>Aspergillus flavus</i>, aerobico <i>Bacillus</i>, <i>Salmonella</i> e lieviti</p> <p>Sintesi di erbicidi: 2,2 dicloropropionato di sodio</p> <p>Preparazione di profumi: etere propionico e propionato di benzile</p> <p>Sintesi farmaceutica di anidride propionica e acido cloropropionico</p>	<p>Balamurugan et al. 1999</p> <p>Kumar e Babu 2006</p> <p>Kumar e Babu 2006</p>
Acido butirrico (30)	<p>Additivo alimentare: previene la crescita della <i>Salmonella</i> nel pollame; aromi (butirrato di metile)</p> <p>Industria tessile: butirrato e derivati sono utilizzati in materiale plastico e fibre plastiche</p> <p>Bionenergia: utilizzato come precursore per produrre butirrato di etile</p> <p>Industria farmaceutica: Intermedio nella produzione di diversi medicinali per il trattamento contro il cancro e leucemie</p>	<p>Van Immerseel et al. 2005</p> <p>Zigova e Sturdik 2000</p> <p>Bhatia e Yang 2017</p> <p>Hamer et al. 2008</p>
Acido isobutirrico (50)	<p>Additivo alimentare: metil isobutirrato ed etil isobutirrato sono utilizzati nei succhi di frutta</p> <p>Emulsionante per inchiostro da stampa</p> <p>Cosmetica e rivestimento di materiali plastici</p>	<p>K. Zhang et al. 2011</p> <p>Bhatia e Yang 2017</p> <p>Verardi et al. 1999</p>
Acido isovalerico (ND)	<p>Additivo alimentare: fragranze</p> <p>Industria farmaceutica: metil isovalerato ed etil isovalerato hanno una attività spasmolitica</p>	<p>Bhatia e Yang 2017</p> <p>Suerbaev et al. 2013</p>

In letteratura sono riportati molteplici esempi sperimentali di produzione di VFA sfruttando il metabolismo batterico fermentativo. I primi studi sono stati fatti a partire da zuccheri (monosaccaridi o polisaccaridi) puri come fonte di carbonio, quali ad esempio glucosio e saccarosio, o utilizzando miscele concentrate di diversi saccaridi, ad esempio melasse di zucchero di canna. In tabella 1.2 sono riportati casi di studio in cui sono stati utilizzati diversi substrati per la produzione di VFA.

Il prezzo di materie prime di alta qualità comporta costi elevati che rendono il processo di fermentazione economicamente svantaggioso rispetto alla sintesi a partire da fonti fossili (Bhatia e Yang 2017). Inoltre, l'utilizzo di substrati compatibili con coltivazioni a fini alimentari causa competizione con il mercato alimentare, rendendo discutibile la sostenibilità del processo.

Per questi motivi, recentemente si è sviluppato l'interesse ad utilizzare materiali di scarto quali fonti di carbonio per la fermentazione microbica volta alla biosintesi di acidi grassi volatili (Atasoy et al. 2018). Le fonti maggiormente investigate sono la frazione organica dei rifiuti solidi urbani, i fanghi prodotti negli impianti di trattamento delle acque reflue e particolari rifiuti liquidi industriali derivanti dall'industria alimentare (ad esempio siero di latte, scarti di lavorazione dello zucchero e scarti dei macelli). Tra le sopracitate fonti adatte per la fermentazione, il potenziale produttivo di VFA dalle acque reflue dell'industria casearia europea è stato stimato essere 10 Mt/anno come acetato equivalente (Atasoy et al. 2018).

Per quanto riguarda l'aspetto economico, un costo di soli 100 €/t COD è stato riportato per la produzione di VFA dalla fermentazione della frazione organica dei rifiuti solidi urbani (Frison et al. 2012).

Il recupero di risorse dai materiali di scarto è inoltre tra gli obiettivi di sviluppo sostenibile - SDG - (Sustainable Development Goals) 6 e 11, indicati dalle nazioni unite.

1.1.2 La digestione anaerobica

La digestione anaerobica è un processo operato da microorganismi in assenza di ossigeno che consiste nella degradazione di molecole organiche complesse quali polisaccaridi, proteine e lipidi. I prodotti finali principali sono metano e anidride carbonica. Il processo consta schematicamente di 4 fasi, riportata in figura 1.1 (Lv et al. 2010): idrolisi, acidogenesi, acetogenesi e metanogenesi.

La fase 0 consiste nell'idrolisi delle molecole organiche complesse nei rispettivi monomeri o polimeri più semplici di quelli di partenza. Successivamente la fase 1 consiste nell'acidogenesi, ossia la conversione dei prodotti dell'idrolisi ad acidi grassi volatili, idrogeno gas e anidride carbonica. La fase 2 prevede la conversione dei VFA ad acido acetico (oltre a H_2 e CO_2) tramite il processo denominato acetogenesi. Infine, i prodotti della

Tabella 1.2: Possibili substrati utilizzati per la produzione di VFA tramite fermentazione microbica (Bhatia e Yang 2017)

VFA prodotto	Microorganismo	Substrato	Impianto reattoristico
Acido acetico	<i>Acetobacter aceti</i>	Siero di latte	Processo in continuo a membrana
	<i>Clostridium lentocellum</i> SG6	Paglia di riso	In provetta
	<i>Clostridium thermoaceticum</i>	Glucosio	Batch
	<i>Moorella thermoacetica</i>	Residuo di canna da zucchero	Batch
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Acetobacter pasteurianus</i>	Glucosio	Batch
	<i>Kluyveromyces fragilis</i>	Siero di latte	Batch
Acido propionico	<i>Propionibacterium acidipropionici</i>	Lattato, glicerolo, glucosio, melassa di canna da zucchero, scarto ligno-cellulosico, siero di latte	Batch/fed-batch/continuo
	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>	Glucosio	Bioreattore a letto fisso granulare
	<i>Propionibacterium shermanii</i>	Glucosio, glicerolo	Batch
Acido butirrico	<i>Clostridium butyricum</i>	Saccarosio	Fed-batch
	<i>Clostridium butyricum</i> ZJUCB	Glucosio	Fed-batch
	<i>Clostridium thermobutyricum</i>	Glucosio	Continuo
	<i>Clostridium tyrobutyricum</i>	Xilosio, glucosio, melassa di zucchero di canna	Batch/Bioreattore a letto fisso granulare
Acido butirrico	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>	Substrato misto	Batch

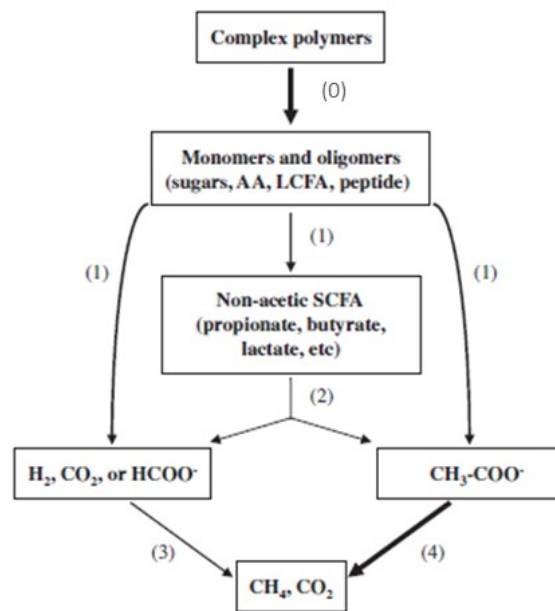


Figura 1.1: Schematizzazione fasi metanogenesi (Lv et al. 2010)

fase fermentativa formano metano tramite i due processi di metanogenesi acetoclastica (4) e idrogenotrofica (3). Le fasi 0,1 sono ad opera di batteri anaerobi facoltativi, le fasi di metanogenesi sono operate da anaerobi obbligati mentre la fase di acetogenesi è operata in parte da batteri anaerobi facoltativi ed in parte da anaerobi obbligati.

La digestione anaerobica è un processo comunemente utilizzato nella stabilizzazione dei fanghi prodotti negli impianti di trattamento delle acque reflue e nel trattamento della frazione organica dei rifiuti solidi urbani (FORSU).

Come discusso nel paragrafo 1.1.1, l'interesse per la produzione di VFA è cresciuto negli ultimi anni; rispetto alle diverse fasi della digestione anaerobica quindi, l'applicazione di sistemi progettati per le sole fasi di idrolisi, acidogenesi ed acetogenesi sta trovando sempre maggiori riscontri nel campo scientifico ed industriale. Nel successivo paragrafo 1.1.3 sono approfonditi gli aspetti metabolici dei processi di fermentazione.

1.1.3 Principali vie metaboliche della fermentazione

La fermentazione è un complesso di numerose vie metaboliche che coinvolgono diversi generi di microorganismi, generando una serie di reazioni chimiche con differenti substrati e prodotti.

In figura 1.2 (Zhou et al. 2018) sono riportate le sette principali vie metaboliche individuate a partire dall'idrolisi dei carboidrati. La fermentazione delle proteine segue in modo quasi identico questo schema, in quanto all'idrolisi, segue la degradazione ad acetil-coenzima A e piruvato.

La glicolisi del glucosio è la reazione di partenza di tutti i meccanismi riportati, e permette di produrre la molecola energeticamente ricca ATP (adenosina trifosfato). L'acido piruvico (Fig 1.3a) e l'acetil-coenzima A (Fig 1.3b) ricoprono un ruolo centrale nel processo di fermentazione. In generale, l'acido piruvico (in equilibrio con il piruvato) ha la funzione di collegamento tra le vie metaboliche riguardanti carboidrati, lipidi e proteine, mentre l'acetil-coenzima A è coinvolto in un ampio spettro di reazioni biochimiche negli esseri viventi quali, ad esempio, il ciclo di Krebs e la sintesi del colesterolo. Questi due composti inoltre, sono direttamente coinvolti nella reazione di decarbossilazione ossidativa del piruvato, che converte quest'ultimo ad acetil-coenzima A (Denniston 2019).

Di seguito è riportata una breve descrizione di quattro dei sette macro-meccanismi di fermentazione, illustrati in figura 1.2, suddivisi in base al prodotto finale principale. I dettagli sono riportati in Tab. 1.3.

Acido acetico-Etanolo L'acido acetico è prodotto sia a partire da zuccheri attraverso le reazioni di sintesi diretta che coinvolgono il piruvato e l'acetil-CoA (Muller et al. 2010) secondo il meccanismo di acidogenesi, che a partire da alcoli e VFA precedentemente prodotti (acetogenesi e omoacetogenesi). Il processo di omoacetogenesi è descritto più in dettaglio successivamente. Pertanto, la presenza spesso maggioritaria dell'acido acetico è dovuta a tali molteplici meccanismi che portano alla sua sintesi. Inoltre, la fermentazione di substrati ricchi di carboidrati si riflette nella predominanza dell'acido acetico tra i prodotti rispetto agli altri acidi grassi (Zhou et al. 2018).

I batteri del genere *Enterobacteriaceae* sono responsabili della conversione del piruvato ad etanolo, sempre a partire dai monosaccaridi (Chaganti et al. 2011). La produzione di etanolo, possibile anche grazie ad altre comunità batteriche (Bensaid et al. 2015) non sembra tuttavia essere una via metabolica maggioritaria nel processo di digestione anaerobica, il cui accumulo in quantità rilevanti sarebbe inoltre tossico per molte specie di microorganismi.

Acido propionico La produzione di acido propionico si può ricondurre a due differenti vie metaboliche principali. Una via prevede il lattato, ottenuto tramite la riduzione del piruvato come intermedio di reazione. Batteri dei generi *Bifidobacterium* o *Propionibacterium*, attraverso il ciclo di trans-carbossilasi sono invece responsabili della sintesi seguendo una differente via metabolica. L'accumulo di propionato non dissociato è un fattore che inibisce fortemente l'ulteriore sintesi del propionato stesso (Hsu e S.-T. Yang 1991).

Acido butirrico L'acido butirrico è sintetizzato a partire dalla riduzione e decarbossilazione del piruvato, con l'acetil-CoA come intermedio di reazione (Saady 2013). L'accu-

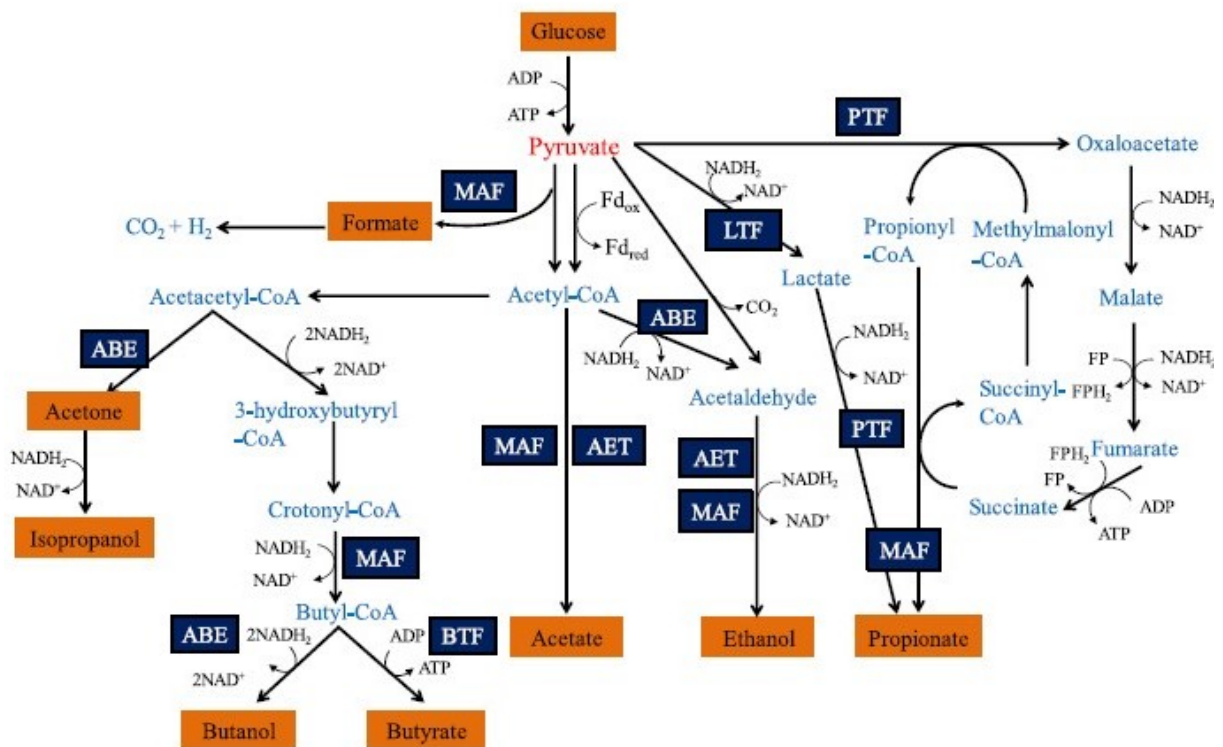


Figura 1.2: Vie metaboliche principali a seguire l'idrolisi di carboidrati e proteine (Zhou et al. 2018)

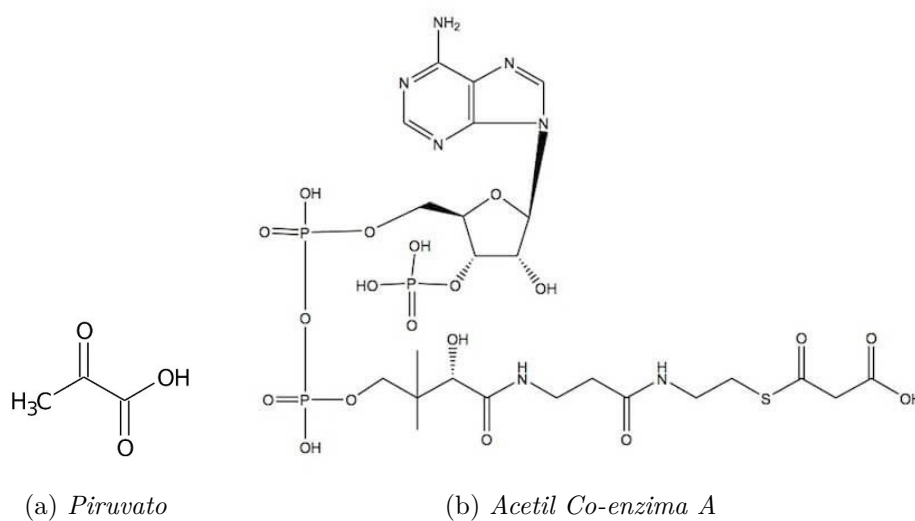


Figura 1.3: Molecole rilevanti nel metabolismo batterico

mulo di acetato sembra facilitare la sintesi di butirrato, sia per via dell'inibizione di una ulteriore sintesi dell'acetato stesso, sia ad un conseguente accumulo di NADH_2 , consumati in maggiore quantità nella sintesi di acido butirrico rispetto a quanto fatto nella sintesi di acetato (He et al. 2012).

Omoacetogenesi L'omoacetogenesi è il processo di conversione di idrogeno gassoso H_2 e anidride carbonica ad acido acetico. Chimicamente, l'idrogeno è il donatore di elettroni mentre il carbonio contenuto nella CO_2 viene ridotto ad acido acetico (Siriwongrungron et al. 2007). I batteri responsabili di questo processo sono chiamati omoacetogeni, e rappresentano il gruppo metabolicamente più eterogeneo tra gli anaerobi obbligati (T. C. Zhang e Noike 1994).

È importante sottolineare che le principali vie metaboliche fin qui presentate singolarmente, frequentemente si combinano originando vie metaboliche ibride (Zhu et al. 2009) che risultano nella sintesi dei diversi acidi grassi volatili presenti all'interno dei reattori di fermentazione. La differente concentrazione dei singoli VFA è quindi determinata dalla composizione chimico-fisica del substrato e dai parametri operativi che regolano il funzionamento reattoristico tra cui, principalmente, si evidenziano: pH, temperatura, tempo di residenza, carico organico e concentrazione di solidi volatili. L'influenza di questi parametri è discussa dettagliatamente nel capitolo 1.1.4.1.

Tabella 1.3: Reazioni biochimiche fermentazione acidogenica (Zhou et al. 2018)

Metabolic pathway	Reactions	Functional acidogens
Acetate-ethanol type (AET) metabolic pathway	$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + 2CO_2 + 4H_2$ Eq. (1)	<i>Aspergillus awamori</i>
	$CH_3CH_2COOH + 2H_2O \rightarrow CH_3COOH + CO_2 + 3H_2$ Eq. (2)	NA
	$CH_3CH_2CH_2COOH + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + 2H_2$ Eq. (3)	<i>Saccaromyces cerevisiae</i>
	$CH_3CH_2OH + 2H_2O \rightarrow CH_3COOH + 2H_2$ Eq. (4)	
	$C_6H_{12}O_6 + H_2O \rightarrow CH_3CH_2OH + CH_3COOH + 2H_2 + 2CO_2$ Eq. (5)	
Acetone-butanol-ethanol (ABE) fermentation	$C_6H_{12}O_6 + H_2O \rightarrow CH_3COCH_3 + 4H_2 + 3CO_2$ Eq. (6)	<i>Clostridium beijerinckii</i> BA101
	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3CH_2OH + 2CO_2$ Eq. (7)	<i>Clostridium acetobutylicum</i>
	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3CH_2CH_2CH_2OH + H_2O + 2CO_2$ Eq. (8)	
Propionate-type metabolic pathway (PTF)	$C_6H_{12}O_6 + 2H_2 \rightarrow 2CH_3CH_2COOH + 2H_2$ Eq. (9)	<i>Propionibacterium acidipropionici</i>
	$3C_6H_{12}O_6 \rightarrow 4CH_3CH_2COOH + 2CH_3COOH + 2CO_2 + 2H_2O$ Eq. (10)	<i>Propionibacterium acidipropionici</i>
Butyrate-type metabolic pathway (BTF)	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3CH_2CH_2COOH + 2CO_2 + 2H_2$ Eq. (11)	NA
	$4C_6H_{12}O_6 \rightarrow 8H_2 + 8CO_2 + 2CH_3COOH + 3CH_3CH_2CH_2COOH$ Eq. (12)	<i>Clostridium tyrobutyricum</i> strain RPT-4213
Mixed-acid metabolic pathway (MAF)	Glucose \rightarrow acetate + propionate + butyrate + valerate + CO_2 + H_2 Eq. (13)	NA
Lactate-type metabolic pathway (KTF)	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3CH(OH)COOH$ Eq. (14)	Mixed cultures
	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3CH(OH)COOH + CO_2 + CH_3CH_2OH$ Eq. (15)	
Homoacetogenic fermentation pathway	$4H_2 + 2CO_2 \rightarrow CH_3COOH + 2H_2O$ Eq. (16)	<i>Acetobacterium woodii</i>

1.1.4 Fermentazione di fanghi derivanti dal trattamento acque reflue

Nei processi di fermentazione dei fanghi ciò che determina una prima differenza nel processo è la tipologia di fango utilizzato. Negli impianti di trattamento acque reflue le possibilità sono sostanzialmente due, ossia il fango primario e il fango di supero derivante dai processi a fanghi attivi della linea acque. I fanghi primari hanno un contenuto maggiore di polimeri organici rapidamente biodegradabili quali carboidrati, proteine e lipidi. Ciò determina cinetiche più veloci e rese di fermentazione maggiori (Yuan et al. 2010). Il fango biologico di supero (*Waste Activated Sludge*) è invece per larga parte costituito da biomassa batterica; perciò la biodisponibilità per i processi fermentativi è conseguente alla lisi cellulare. Quest'ultima è lo step limitante e determina cinetiche di fermentazione più lente per questa tipologia di fango. Inoltre, la fermentazione del fango di supero determina rilasci consistenti di azoto ammoniacale e fosforo (Yuan et al. 2010).

La fermentazione di fanghi derivanti dal trattamento delle acque reflue è stata studiata su diverse scale applicative, dallo studio sperimentale a scala di laboratorio fino alle applicazioni impiantistiche.

Sebbene nel presente lavoro il focus sia sulla fermentazione dei soli fanghi di depurazione, molteplici sono le applicazioni in cui il substrato è costituito da fanghi di depurazione co-digeriti con altro materiale quale ad esempio biomassa algale (Argenio 2019) e FORSU (Cavinato et al. 2013).

In tabella 1.4 sono riportati alcuni esempi di risultati sperimentali ottenuti a scala di laboratorio.

È evidente come i risultati siano estremamente eterogenei a causa dell'influenza dei diversi parametri operativi che risultano in rese di fermentazione variabili. Oltre alla differenza di substrato digerito (fango primario o fango di supero), pH, temperatura, tempo di ritenzione e carico organico sono i parametri che più influenzano il processo.

1.1.4.1 Influenza principali parametri operativi

pH Il pH è un parametro fondamentale che influenza i processi biologici attraverso molteplici meccanismi. Le varie fasi della fermentazione hanno diversi valori di pH ottimali che permettono di raggiungere la massima resa; ciò determina necessariamente dei valori di compromesso nel caso in cui il pH non venga controllato tramite il dosaggio di acidi e/o basi.

La solubilizzazione e successiva idrolisi del COD è favorita a pH fortemente acidi (<5) o fortemente alcalini (>10).

Tabella 1.4: Esempi di applicazioni a scala di laboratorio per la fermentazione di fanghi derivanti dal trattamento acque reflue (Lee et al. 2014)

Substrato	Contenuto organico (mg COD/l)	or- (mg)	Condizioni sperimentali	Performance nella produzione di VFA
Fango di supero	18660		Reattore batch, pH 9, 35 °C, HRT 5 g	298 mg COD/g ssv
	18660		Reattore batch, pH 8, 55 °C, HRT 9 g	328 mg COD/g ssv
	14880		Reattore batch, 21 °C, HRT 6 g	339 mg COD/l
	N.A.		Reattore semi-continuo, pH 9, 55 °C, HRT 6 g	423 mg COD/g ssv
	14890		Reattore batch, 21 °C, HRT 6 g	191 mg COD/l
Fango primario	22840		Reattore batch, 21 °C, HRT 6 g	85 mg COD/g ssv
	20630		Reattore batch, pH 10, HRT 5 g	60 mg COD/g ssv/d
	343		CSTR in continuo, 25 °C, HRT 1,25 g, SRT 10 g	31 mg/g ssv/d

La resa di idrolisi all'interno di un fermentatore batch a pH controllato a valori di 4, 7 e 11 è risultata, rispettivamente, 22,0%, 8% e 24,6% (Gao et al. 2011). Le rese di acidificazione ai medesimi pH sono risultate essere rispettivamente 13,1%, 13,6% e 27,6%.

Oltre al caso sopracitato, in letteratura è ampiamente riportato come pH fortemente alcalini (>10) permettano di ottenere le rese di acidificazione migliori (Chen et al. 2017; Zhao et al. 2018; Begum et al. 2018). Per questa ragione, anche nelle applicazioni impiantistiche a piena scala la fermentazione alcalina è preferita (Longo et al. 2015; Liu et al. 2018). In tali intervalli di pH inoltre, è possibile inibire efficacemente la metanogenesi (Visser et al. 1993); lo stesso risultato si ottiene a pH inferiori a 6 (Steinbusch et al. 2010). Tuttavia, la correzione del pH a scala di impianto comporta dei costi connessi all'approvvigionamento dei composti chimici necessari. Per questa ragione, la maggiore resa a pH alcalini deve essere valutata per capire se i benefici ottenuti siano compensati dai maggiori costi.

Infine, diversi valori di pH sono in grado di modificare la composizione della comunità batterica e, di conseguenza, la composizione dei VFA che vengono sintetizzati durante il processo di fermentazione (Chen et al. 2017; Mohd-Zaki et al. 2016).

A titolo esemplificativo, in un reattore in cui il pH è stato progressivamente alzato da 4,5 a 8,5, si è riscontrato un aumento dell'acido acetico ed una diminuzione di acido butirrico. Parallelamente, si sono riscontrate minori concentrazioni di etanolo a pH acidi rispetto a pH neutro o pH basici (Mohd-Zaki et al. 2016).

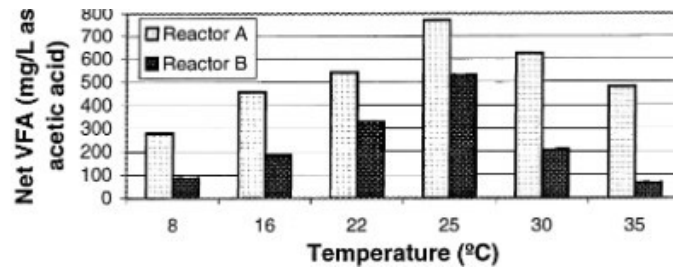


Figura 1.4: Concentrazione di VFA ottenuta in reattori CSTR operanti a diverse temperature (Maharaj e Elefsiniotis 2001). I reattori A e B si differenziano per una diversa concentrazione di solidi volatili

Temperatura Le cinetiche delle reazioni chimiche e biochimiche sono dipendenti dalla temperatura a cui avvengono. Nel particolare caso della fermentazione acidogenica, la temperatura influenza i ratei di idrolisi ed in generale l'attività enzimatica dei microrganismi (Zhou et al. 2018). Una prima differenziazione macroscopica si può individuare nella scelta di operare nei range di temperatura mesofili (20 °C - 45 °C) o termofili (> 45 °C). I dati riportati in letteratura riguardo al miglioramento dovuto alla scelta di operare nel range termofilo sono contrastanti, vengono infatti riportati incrementi di produzione di VFA pari a 10 volte quanto ottenuto con temperature mesofile (P. Zhang et al. 2009) così come sono stati altresì osservati incrementi trascurabili (Gruhn et al. 2016; Jiang et al. 2013). In generale poi, i costi di gestione connessi con il mantenimento di una temperatura maggiore di 45 °C vanno attentamente quantificati per valutare la convenienza economica di una maggiore produzione eventualmente ottenuta in queste condizioni. Non è invece chiaro quanto, all'interno del range mesofilo, la resa di produzione di VFA sia condizionata da una temperatura di fermentazione differente. Mahmoud et al. (2004) riportano di come la resa di acidificazione (calcolata rispetto a quanto contenuto nel substrato) all'interno di un reattore CSTR alimentato con fango primario passi dal 41% al 47% con un incremento della temperatura da 25 °C a 35 °C. Al contrario, Maharaj e Elefsiniotis (2001) hanno riscontrato la variazione della concentrazione di VFA in funzione della temperatura all'interno di un reattore CSTR riportata in figura 1.4. La diminuzione di concentrazione di VFA oltre i 30 °C non è infatti concorde con la stessa tendenza precedentemente riportata.

Infine, è stato riportato che la temperatura può influenzare la composizione della miscela di VFA, con l'acido butirrico maggiormente presente ad una temperatura di fermentazione termofila di 55 °C, rispetto alla predominanza dell'acido acetico a 35 °C (Jiang et al. 2013).

Tempo di ritenzione Il tempo di ritenzione all'interno di un reattore biologico si differenzia a seconda che ci si riferisca al flusso idraulico (HRT) o al tempo di residenza

del fango (SRT). Tali valori sono differenti nel caso in cui si operi una ricircolazione della biomassa contenuta nel flusso idraulico in uscita, a valle di una separazione solido/liquido. Nella pratica impiantistica si tende a non operare secondo questo processo, facendo coincidere le due grandezze (Lee et al. 2014).

Il tempo di permanenza del fango all'interno del reattore di fermentazione è strettamente connesso con le cinetiche batteriche. All'aumentare del tempo di residenza le fasi di idrolisi ed acidificazione hanno una resa migliore (Jankowska et al. 2015; Bolaji e Dionisi 2017). Inoltre, il tempo di residenza influenza la composizione dei mix di VFA, con la presenza dell'acido caproico misurata soltanto con tempi di residenza maggiore di 20 giorni (Bolaji e Dionisi 2017). Ciò è dovuto a differenze cinetiche delle diverse vie metaboliche che sintetizzano i vari acidi.

Nonostante alcuni processi siano favoriti all'aumentare del tempo di residenza, ciò potrebbe favorire la presenza dei metanigeni (se anche gli altri parametri necessari per tale processo siano adatti), osteggiata se l'obiettivo ricercato è la produzione di VFA. Inoltre, aumentando l'HRT una minore portata giornaliera viene estratta dai reattori di fermentazione in continuo; l'incremento di produzione di VFA all'interno del fango potrebbe quindi essere compensato negativamente determinando una produzione giornaliera in termini di massa inferiore.

Nella fermentazione dei fanghi di depurazione si opera solitamente con un tempo di ritenzione inferiore ai 5 giorni (Atasoy et al. 2018; Ferrer et al. 2010; H.-Q. Yu e Fang 2002). In generale però, il tempo di ritenzione è strettamente connesso con la complessità del substrato. È quindi usuale, per ogni impianto, trovare un caratteristico HRT che ottimizzi il processo per lo specifico fango trattato. Tale ottimizzazione è altresì influenzata dal tipo di prodotto che si vuole ottenere, in quanto la presenza dei differenti VFA è, come già sottolineato, influenzata anche dal tempo di ritenzione.

Carico organico (*Organic Load Rate*) quantifica la concentrazione di composti organici che sono alimentati al reattore di fermentazione. Tale quantificazione viene comunemente operata in termini di concentrazione di COD o di solidi volatili riferiti all'unità di tempo e di volume. L'influenza del carico organico sulla produzione di VFA non è univoca, in quanto è fortemente dipendente dal tipo di substrato alimentato. In generale però, a basse concentrazioni l'aumento dell'OLR ha un impatto positivo sulla produttività, mentre è individuabile un carico limite oltre il quale la produttività cala drasticamente (Oktem et al. 2006).

Anche in questo caso, il parametro in esame è in grado di influenzare la composizione dei VFA (J. Yu 2001). Tuttavia, non è possibile ricostruire una tendenza generale riguardo a come vari la composizione degli acidi in funzione del solo OLR, in quanto anche questo

aspetto è fortemente co-dipendente dal tipo di substrato.

Pretrattamenti È stato riportato come alcuni pretrattamenti del fango siano in grado di migliorare il processo di fermentazione, in particolare agendo sulla fase di idrolisi. Un trattamento consecutivo di ozonizzazione e ultrasuoni ha permesso di aumentare la concentrazione sCOD da 1821 mg/L a 3040 mg/L (Xu et al. 2010). Un aumento di sCOD pari al 22% è stato invece osservato tramite trattamento con microonde (Park et al. 2004).

1.1.5 Possibili utilizzi dei VFA biosintetizzati

Possibili utilizzi di surnatanti ricchi di VFA che vanno nella direzione di economia circolare e nell'ottimizzazione di processi volti alla riduzione dell'impatto delle attività umane sull'ambiente (i.e. miglioramento delle performance degli impianti di trattamento acque reflue) sono riportati di seguito.

1.1.5.1 Bioenergia

Il consumo di energia da fonti rinnovabili è un aspetto chiave nella riduzione delle emissioni climalteranti per contrastare gli effetti dei cambiamenti climatici. I biocombustibili possono contribuire agli sforzi in questa direzione (IPCC 2011).

In questo senso, l'utilizzo più naturale per i VFA e gli altri prodotti della fermentazione anaerobica è una successiva conversione a biometano nel processo di metanogenesi, attraverso una digestione bi-stadio in due reattori separati e conseguenti. Il processo è identico a quello che avviene nei digestori anaerobici monostadio, come già illustrato nel capitolo 1.1.2. Incrementi pari al 30%-50% di produzione di biogas sono riportati nel caso di digestione bi-stadio con fase acidogena nel range di temperatura termofilo (70 °C) ed un HRT di 2-3 giorni (Bolzonella et al. 2007). Un incremento di produzione di biogas pari al 32% è stato invece ottenuto con entrambi i reattori nel range mesofilo a 35 °C (Leite et al. 2016). Tuttavia, l'utilizzo dei VFA in questo processo, seppur porti ad un incremento della produzione di biogas, non porta ad un accumulo degli stessi ma ad un efficientamento di un processo in cui sono normalmente presenti come intermedio di reazione.

L'idrogeno gas è un combustibile che se bruciato ha come prodotto gassoso soltanto l'acqua. Per questa ragione, sempre nell'ottica di trovare sostituti dei combustibili fossili nel settore energetico, è da decenni considerato come una possibile soluzione per la mitigazione dei cambiamenti climatici. Nel processo di fermentazione anaerobica viene prodotto, ma non in quantità tali da poter essere convenientemente recuperato a scopo energetico.

Sono state proposte soluzioni per cui, successivamente alla fase di fermentazione in assenza di luce (*dark fermentation*), il prodotto ricco di VFA può essere utilizzato in un secondo stadio dove batteri fotosintetici denominati PNS (*Purple Non-Sulfur bacteria*) producono idrogeno gas a partire dai VFA. La resa di conversione è piuttosto elevata con un incremento del 250% rispetto all'idrogeno prodotto con la sola *dark fermentation* (Zong et al. 2009).

Un secondo metodo per produrre idrogeno a partire dai prodotti della *dark fermentation* è tramite elettrolisi, ossia inducendo una corrente di elettroni nella massa liquida che, reagendo con i protoni rilasciati durante l'elettrolisi dei VFA, producono idrogeno. Tuna et al. (2009) hanno applicato due tipologie di elettrodi (grafite e rame) a diversi voltaggi (1-3 V) e con diversi pH (2-7). La produzione massima ottenuta è stata pari a 4055 ml H₂ g⁻¹ VFA (pH= 5,8; V= 2 V). È comunque importante sottolineare che le tecnologie fin qui esposte per la produzione di idrogeno gas sono caratterizzate da una maturità tecnologica ridotta, rendendo l'applicazione a piena scala non ancora percorribile.

Un ulteriore utilizzo riportato per i VFA nel campo della produzione di biocombustibili è come fonte di carbonio in culture batteriche specializzate nell'accumulo di lipidi, utilizzati successivamente allo scopo di produrre biodiesel con un processo differente da quello comunemente adottato. Il biodiesel viene infatti tradizionalmente prodotto tramite la trans-esterificazione di acidi grassi a catena lunga quali, ad esempio, acidi palmitico, stearico, oleico. In generale, la problematica principale nella produzione di biodiesel è la competitività con la produzione di cibo, in quanto sono necessarie ampie aree per le coltivazioni sia per le piante oleose tradizionalmente utilizzate sia, nel caso si sfruttino microorganismi lipido-accumulanti, per la produzione di carboidrati necessari come fonte di carbonio per il loro metabolismo. L'utilizzo di VFA, prodotti a partire da materiali di scarto, come substrato di crescita per tali comunità batteriche quindi, potrebbe incrementare la sostenibilità del processo di produzione del biodiesel.

Utilizzando una cultura pura di *Cryptococcus albidus* (Fei et al. 2011) a pH 6 e ad una temperatura di 25 °C è stato ottenuto un contenuto lipidico nella cultura pari al 27,8%. La fonte di carbonio determina una differente ripartizione tra gli acidi grassi prodotti, così come un differente rapporto tra acido acetico, propionico e butirrico nel mix di VFA determina un accumulo di lipidi variabile (Tab. 1.5).

1.1.5.2 Rimozione nutrienti

I VFA possono essere efficacemente impiegati come fonte esterna di carbonio per alcuni processi biologici nella linea acque degli impianti di trattamento acque reflue. Tali processi sono mirati alla rimozione di azoto e fosforo.

Tabella 1.5: Influenza del rapporto tra HAc, HPr e HBu sull'accumulo di lipidi all'interno delle cellule della cultura batterica (terza colonna) (Fei et al. 2011)

Rapporto HAc:HPr:Bu	Concentrazione biomassa (g/l)	Lipidi accumulati (% w/w)
VFAs (4:3:3)	0,642	19,8
VFAs (8:1:1)	1,201	27,8
VFAs (6:1:3)	1,168	27,3
VFAs (7:2:1)	1,115	26,1

Rimozione azoto Il trattamento biologico a fanghi attivi prevede la rimozione dell'azoto contenuto nelle acque, maggiormente presente nella forma ammoniacale (come ammoniaca o ioni ammonio NH_4^+) tramite le due fasi successive di nitrificazione e denitrificazione (Metcalf et al. 1979), descritte in figura 1.5.

I batteri nitrificanti sono di tipo autotrofo mentre quelli denitrificanti sono eterotrofi. Per questa ragione, la prassi impiantistica prevede la fase di riduzione dei nitrati a monte, in cui i nitrati da rimuovere vengono dosati tramite ricircolazione di parte dei fanghi presenti nella successiva fase ossidativa (dove i nitrati vengono prodotti secondo la prima reazione in Fig. 1.5).

Focalizzandosi sulla reazione di denitrificazione, è possibile definire il parametro COD/N, che esprime il rapporto tra la concentrazione di COD solubile presente in vasca (sCOD) e la concentrazione di nitrati da rimuovere. Questa grandezza è uno dei parametri fondamentali che regolano il funzionamento del processo di denitrificazione.

Il valore di COD/N dipende dal tipo di substrato utilizzato e dal coefficiente di resa cellulare dalla biomassa (Y_H). Quest'ultimo esprime la percentuale di COD utilizzato nelle reazioni anaboliche della biomassa, COD che non viene utilizzato quindi nella reazione di denitrificazione ma viene invece consumato nella sintesi di nuova biomassa. Nel caso delle acque reflue, si può assumere un valore di crescita cellulare pari a 0,67 $\text{mg}_{\text{COD-SSV}}/\text{mg}_{\text{COD}}$ indicato dal modello ASM1 (*Activated Sludge Model*). Tenendo quindi conto che, stechiometricamente, sono necessari 2,86 $\text{g}_{\text{COD}}/\text{g}_{\text{N-NO}_3^-}$, il rapporto COD/N risulta essere 8,7. È importante sottolineare come questo valore sia indicato per i processi di denitrificazione in cui il COD utilizzato come substrato è quello disciolto nelle acque reflue, ed è in ogni caso rappresentativo di una biomassa batterica "media". È pertanto lecito aspettarsi discostamenti da tale valore nel momento in cui si considera una specifica biomassa, caratterizzata da un caratteristico coefficiente di crescita anche considerando il refluo come fonte di carbonio. A maggior ragione poi, quando il substrato utilizzato dai batteri è diverso dal refluo liquido trattato negli impianti, sono attese variazioni consistenti nel valore di Y_H (PENG et al. 2007). A titolo esemplificativo, Sobieszuk e Szewczyk (2006) riportano dei valori di COD/N sperimentali per metanolo ed etanolo rispettivamente pari

a 4,45 e 3,85.

In generale, anche considerando il COD solubile presente nel refluo trattato negli impianti, è importante distinguere tra COD rapidamente biodegradabile, ossia facilmente assimilabile dalle comunità batteriche, e COD lentamente biodegradabile. Poiché il COD contenuto nel refluo da trattare non è sempre costituito da una frazione rapidamente biodegradabile consistente, è di interesse pratico dosare dei composti contenenti carbonio rapidamente biodegradabile per migliorare la resa della fase di denitrificazione. Gli acidi grassi volatili sono da stati individuati come substrato ottimale per questo processo (Fass et al. 1994; Yatong 1996; Gerber et al. 1986).

Ad esempio, l'applicazione impiantistica di un surnatante ricco di VFA, ottenuto tramite fermentazione di fanghi di depurazione, all'interno del processo a fanghi attivi (configurazione A²O) ha permesso di ottenere una resa di rimozione dell'azoto totale pari a 80,1%, mentre nelle stesse condizioni impiantistiche ma senza il dosaggio di VFA come fonte esterna di carbonio l'abbattimento dell'azoto totale risultava essere 69,1% (Gao et al. 2011).

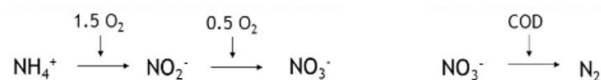


Figura 1.5: Reazioni di nitrificazione e denitrificazione per la rimozione dell'azoto

Passando ora all'aspetto cinetico del processo, tra i diversi VFA l'acido acetico permette di ottenere i migliori ratei di denitrificazione (Argenio 2019; Elefsiniotis et al. 2004) in quanto la via metabolica diretta di β -ossidazione forma l'acetil-CoA (Elefsiniotis et al. 2004). Gli altri acidi volatili seguono invece via metaboliche più complesse che determinano cinetiche più lente (Constantin e Fick 1997).

Per quanto riguarda substrati contenuti mix di VFA, è stato confermato un maggior e/o più rapido consumo di acido acetico rispetto agli altri acidi (Elefsiniotis et al. 2004; Gerber et al. 1986) dovuto sia ai fattori metabolici precedentemente illustrati che ad un fattore di concentrazione, in quanto l'acido acetico è solitamente il più presente nei prodotti di fermentazione. Gli acidi butirrico e propionico sono quelli che determinano ratei maggiori di denitrificazione dopo l'acido acetico (Elefsiniotis et al. 2004; Gerber et al. 1986).

Sono inoltre riportati molteplici esempi in cui un mix di VFA è più efficace del solo acetato (Argenio 2019; Yatong 1996), in quanto diverse comunità batteriche possono sfruttare simultaneamente substrati diversi diminuendo la competizione per il medesimo substrato.

In tabella 1.6 sono riportati ratei di denitrificazione ottenuti in letteratura con diverse fonti esterne di carbonio. Il range molto ampio di valori deriva da differenti parametri operativi che caratterizzano le diverse sperimentazioni, quali, ad esempio, pH, tempera-

Tabella 1.6: Ratei di denitrificazione riportati in letteratura utilizzando VFA come substrato

Fonte esterna di carbonio	Rateo $\text{mgNO}_3^- \cdot \text{gvss}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	Fonte
Acetato	0,64	Elefsiniotis e Li 2006
Propionato	0,32	
Acetato, propionato (1:1 w/w)	0,58	
Acetato	2,05	Argenio 2019
Propionato	1,33	
Isovalerato	0,90	
Mix VFA	5,81	
Mix VFA	1,09	Elefsiniotis et al. 2004
Acetato	2,51	Gerber et al. 1986
Propionato	1,68	
Butirrato	2,13	
Glucosio	0,92	
Etanolo	1,79	
Metanolo	1,12	
Acetato	25,13	Yatong 1996
Propionato	15,08	
Mix VFA	31,42	

tura, frazione di biomassa attiva, COD/N. Infine, la diversa composizione in termini di concentrazione dei singoli acidi nei mix di VFA, aggiunge ulteriore variabilità ai risultati sperimentali. Per queste motivazioni, è utile confrontare ratei ottenuti con fonte diverse all'interno dello stesso studio.

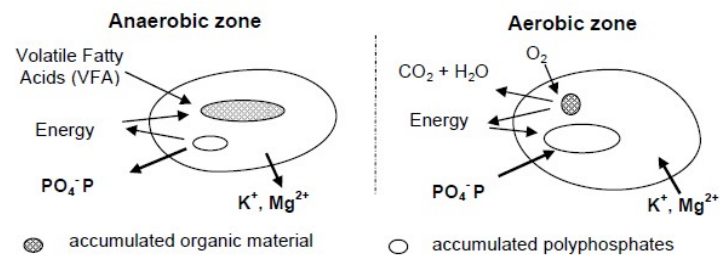


Figura 1.6: Rimozione del fosforo tramite il metabolismo dei PAO (Levlin 2010)

Rimozione fosforo La rimozione del fosforo può essere operata tramite processi chimici di precipitazione, dosando cloruro ferrico o policloruro di alluminio o tramite processi biologici (Metcalf et al. 1979). La rimozione biologica prevede l'alternanza tra una fase anaerobica ed aerobica. Nella prima fase i batteri fosforo accumulanti (PAO) immagazzinano molecole intracellulari con funzione di accumulo energetico, a causa della mancanza di accettori di elettroni che possano alimentare le reazioni cataboliche. Queste molecole, denominati polioidrossialcanoati (PHA), vengono immagazzinate grazie alla presenza di granuli di polifosfati; tale processo causa il rilascio di fosforo nella fase liquida della vasca. Nella successiva fase aerobica, i PHA (per una ulteriore discussione vedasi paragrafo successivo) vengono metabolizzati e, conseguentemente, vengono ripristinati i granuli di polifosfati all'interno della cellula tramite l'assimilazione del fosforo disciolto. Il netto delle due fasi determina l'abbattimento del fosforo del refluo.

Per promuovere la fase anaerobica, è necessaria la presenza di un substrato carbonioso rapidamente assimilabile dalla biomassa batterica, e la contemporanea assenza di batteri denitrificanti che sarebbero competitivamente favoriti. I VFA sono un ottimo substrato per promuovere la rimozione biologica del fosforo (Puig et al. 2008; Saunders et al. 2003): in figura 1.6 è riportato schematicamente il processo fin qui descritto.

In particolare, i PAO hanno una elevata selettività nei confronti di acetato e propionato sia rispetto agli altri acidi grassi volatili (Tab 1.7, Oehmen et al. 2004), che ad altre soluzioni idroalcoliche quali metanolo ed etanolo (Puig et al. 2008). Inoltre, la tipologia di fonte di carbonio utilizzata determina differenze nel tipo di PHA accumulati (Puig et al. 2008).

Efficienze di rimozione di circa il 65%, in termine di rapporto tra mg P-PO₄³⁻ · L⁻¹ tra ingresso ed uscita, sono stati riportati utilizzando acetato e propionato come fonti esterne di carbonio (Puig et al. 2008). Nella medesima applicazione impiantistica precedentemente citata per la rimozione dell'azoto (Gao et al. 2011), la rimozione del fosforo totale è incrementata dal 74%, ottenuto senza l'utilizzo di VFA come fonte esterna di carbonio, al 90% tramite dosaggio di liquido ricco di acidi grassi volatili.

Nelle configurazioni impiantistiche che permettono lo sviluppo di PAO, è spesso ri-

Tabella 1.7: Rateo di assorbimento dei VFA da parte dei PAO, rispetto all'acetato (Oehmen et al. 2004)

VFA utilizzato	Percentuale di assorbimento (rispetto all'acetato)
Propionato	76,9
Butirrato	9,9
Valerato	5,8
Isovalerato	3,4

portata la contemporanea presenza di un'altra tipologia di batteri, ossia i glicogeno-accumulanti (GAO). Ciò determina una quantità maggiore di substrato necessario per il metabolismo dei PAO, in quanto i GAO consumano substrato senza contribuire alla rimozione del fosforo. In questo senso, l'acido propionico, a differenza dell'acido acetico, viene assimilato molto più lentamente dai GAO rispetto che ai PAO (Oehmen et al. 2004). Una percentuale di acido propionico elevata nel substrato, rispetto agli acidi grassi totali, permette quindi di promuovere l'eliminazione dei GAO in favore dei PAO.

1.1.5.3 Estrazione PHA

I poliidrossialcanoati sono poliesteri di origine biologica e possono essere impiegati come monomeri per la produzione di polimeri plastici da fonte rinnovabile e biodegradabili; alcuni esempi sono riportati in figura 1.7.

Sono stati individuate 300 specie di microorganismi in grado di sintetizzare queste molecole (Dias et al. 2006) come riserva energetica in condizioni di substrato limitante. Le condizioni operative migliori per promuovere la produzione di PHA è l'alternanza di condizioni in cui c'è abbondanza di substrato per la crescita dei microorganismi con periodi di carestia. I VFA sono un ottimo substrato per la fase di substrato in eccesso, in quanto sono molto velocemente assimilabile dai microorganismi creando un vantaggio competitivo nella successiva fase a substrato limitante (Dionisi et al. 2006).

A seconda della cultura batterica utilizzata si ottiene una diversa composizione di PHA prodotti, determinando materiali con diverse caratteristiche fisico-chimiche in termini di proprietà meccaniche, strutturali e di resistenza termica. I primi promettenti risultati sono stati ottenuti tramite culture di microorganismi pure che determinano solitamente un miglior controllo del processo ed una più alta produttività (Frison et al. 2015; Albuquerque et al. 2011); ciò determina tuttavia alti costi di produzione.

Albuquerque et al. (2011) riportano come, in una cultura microbica mista, alimentando in continuo il substrato sia possibile aumentare notevolmente la produttività. Questo aspetto è fondamentale per abbassare i costi di produzione al fine di rendere questo prodotto competitivo con le plastiche prodotte da fonti fossili. In aggiunta, una cultura

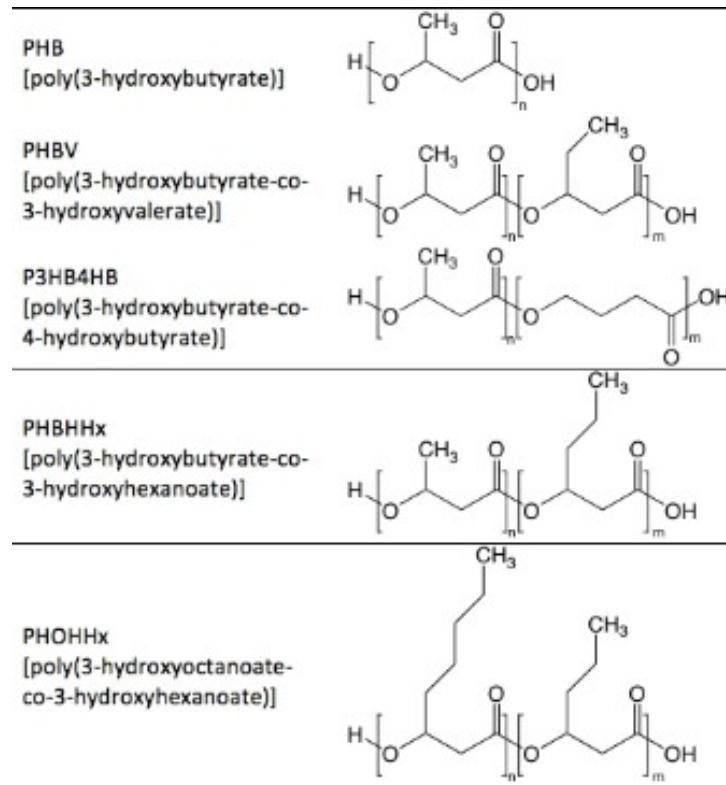


Figura 1.7: Esempi di PHA biosintetizzati e relativa formula chimica

microbica mista permette di ottenere un più ampio range di PHA prodotti, avendo quindi polimeri finiti con un più ampio spettro di possibili caratteristiche chimico-fisiche.

1.2 Impianto di Sesto San Giovanni

L'impianto di trattamento acque reflue di Sesto San Giovanni, gestito da gruppo CAP, è il contesto in cui si inserisce l'impianto di produzione di VFA; lo schema impiantistico è riportato in Appendice. La potenzialità dell'impianto è 150.000 AE, il refluo trattato è quasi esclusivamente civile e la portata media in tempo secco è circa 25.000 m³/d.

Linea acque La linea acque vera e propria, per la rimozione di COD, azoto e fosforo, è divisa in due parti. Circa il 70% della portata è trattato tramite biofiltrazione a biomassa adesa su supporto granulare (Biofor©, Suez). I 16 biofiltri presenti sono di tre diverse tipologie:

- 4 filtri C per la rimozione del solo carbonio
- 6 filtri C+N per la rimozione di carbonio e nitrificazione azoto ammoniacale
- 6 filtri DN per la denitrificazione dell'azoto ammoniacale (2 pre-DN e 4 post-DN)

Nei biofiltri in cui avviene la post denitrificazione è necessario il dosaggio di una soluzione idroalcolica per permettere le reazioni di conversione di nitrito e nitrato ad azoto molecolare.

Il restante 30% della portata è invece trattato tramite fanghi attivi. La configurazione delle vasche è stata recentemente modificata per predisporre le vasche per il processo di rimozione biologica del fosforo (non ancora implementato) secondo la configurazione A²O: anaerobica, anossica e infine aerobica.

Linea fanghi La linea fanghi è composta da: quattro sedimentatori a pacchi lamellari, un pre-ispessitore statico, il comparto di produzione VFA, due digestori (attualmente uno solo in funzione), un post-ispessitore statico e il comparto di disidratazione finale tramite due centrifughe.

Il comparto di produzione VFA è composto da un ispessitore dinamico, un fermentatore (di circa 315 m³) ed una pressa a vite per la separazione S/L del fango fermentato.

La portata della linea fanghi è pari a circa 600 m³/d come somma di fanghi primari e fanghi biologici di supero estratti dalla sedimentazione primaria, mentre si riduce a 90 m³/d circa in ingresso alla disidratazione finale.

Capitolo 2

Materiali e metodi

2.1 Impianto di produzione VFA

Il comparto di produzione di VFA presso l'impianto di trattamento delle acque reflue di Sesto San Giovanni (gruppo CAP) è stato avviato a Settembre 2019. Lo schema di flusso è riportato in figura 2.1, che si inserisce all'interno dell'intero layout di impianto riportato in appendice.

Gli elementi principali che costituiscono questa sezione di impianto sono: un addensatore dinamico, un fermentatore, una unità di separazione solido/liquido ed uno scambiatore di calore per il riscaldamento del fango in fermentazione.

Il fango utilizzato per la produzione di VFA è fango misto, sia primario che WAS, con il primo pari al 90%-100% in massa rispetto al totale (come rapporto gST/gST).

Di seguito vengono brevemente descritte le caratteristiche degli elementi sopra evidenziati, e i parametri operativi principali che ne regolano il funzionamento.

Addensatore dinamico (Fig 2.2a) L'ispessitore dinamico è stato fornito da Huber Wastewater technologies (S drum[®]). La capacità di trattamento è compresa tra 20 m³/h e 30 m³/h a seconda della concentrazione di solidi nel flusso in ingresso. Il principio di funzionamento prevede la rotazione di un tamburo posto in posizione inclinata e circondato da un cestello forato, affinché il fango, precedentemente flocculato tramite trattamento con polielettrolita, venga trasportato nella tramoggia di accumulo. Al contrario, l'acqua è in grado di passare per gravità attraverso i fori del cestello che circonda il tamburo. Il dosaggio del polielettrolita (a media-alta ramificazione ed ad alta cationicità, a base di acrilammide e di un estere cationico dell'acido acrilico) dipende dalla concentrazione di solidi in ingresso all'addensatore dinamico, ossia il fango in uscita dall'ispessitore statico. Questo ed altri parametri operativi quali velocità di rotazione del tamburo e del miscelatore posto nel flocculatore, sono controllati e modificati in funzione del tenore di secco del fango addensato, il cui valore obiettivo è compreso tra 40 gST/l e 55 gST/l.

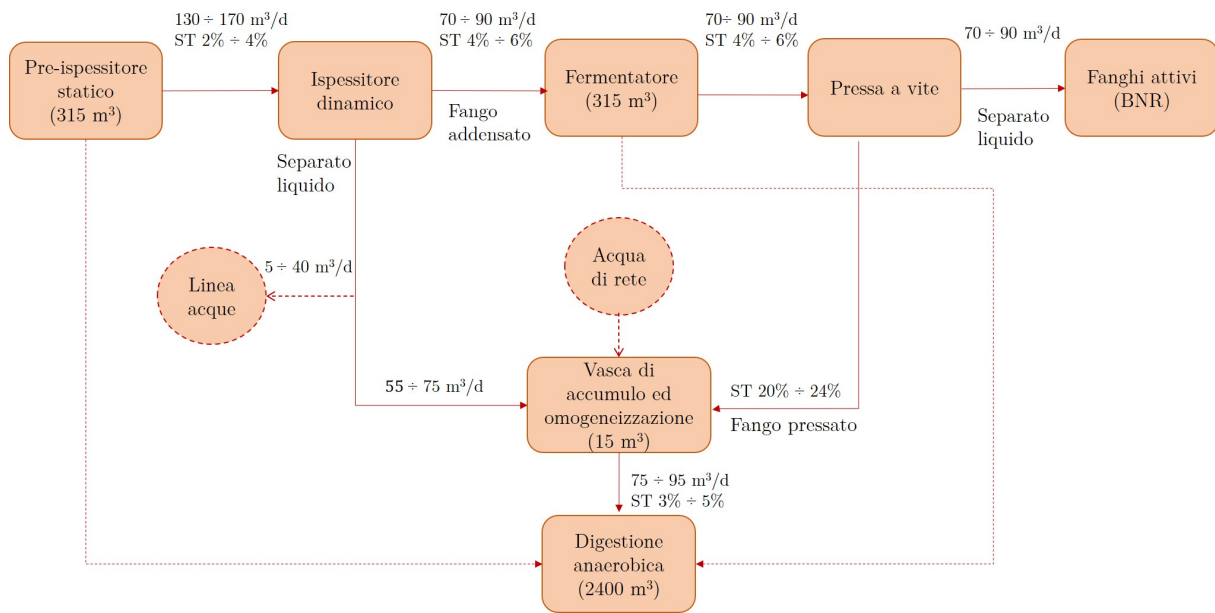


Figura 2.1: Schema di flusso impianto di produzione VFA

Fermentatore (Fig. 2.2c) Il fermentatore è una unità cilindrica a fondo conico, con una superficie utile di $78,5 \text{ m}^2$ ed una altezza di circa 4 m. Il volume utile complessivo è pertanto pari a 315 m^3 . La copertura è realizzata in acciaio e coibentata, mentre le pareti laterali sono in calcestruzzo e non sono attualmente provviste di isolamento termico. La miscelazione è continua grazie ad un miscelatore a cinghia ad asse verticale.

Pressa a vite (Fig. 2.2b) L'unità di separazione solido/liquido del fango fermentato è una pressa a vite fornita da IEA press. Anche in questo caso, una flocculazione del fango è necessaria affinché la coclea della macchina, esercitando una pressione dovuta alla rotazione, permetta al fango disidratato di raggiungere la fine del corpo macchina ed all'acqua di passare attraverso ai fori della gabbia metallica che circonda la coclea stessa. I parametri operativi principali su cui intervenire sono la portata di fango alimentata alla macchina e il dosaggio di polielettrolita (ramificato ed ad alta cationicità, a base di acrilammide e di un estere cationico dell'acido acrilico). La portata idraulica è direttamente connessa al carico solido che tratta la macchina: se troppo alto ($>250 \text{ kg/h}$) la resa di cattura dei solidi non è soddisfacente in quanto la concentrazione di solidi nel filtrato liquido sarebbe non trascurabile. In generale, la portata idraulica e il tenore di secco determinano la pressione rilevata nelle tubazioni; la velocità di rotazione della coclea si autoregola direttamente basandosi su tale valore (rilevato in continuo da un pressostato). Il liquido, ricco di VFA, viene dosato in testa alla linea a fanghi attivi, mentre il fango pressato ad una concentrazione di solidi totali ST pari a circa 200 g/l viene diluito per essere successivamente stabilizzato in digestione anaerobica. La diluizione viene effettuata in via preferenziale utilizzando il separato liquido dell'addensatore dinamico e, se

necessario, con integrazione con acqua trattata in uscita dall'impianto.

Scambiatore di calore Il riscaldamento del fango avviene grazie ad un flusso di acqua calda ottenuto tramite il funzionamento di due unità di cogenerazione di energia elettrica e calore. Tali unità sono composte da due microturbine alimentate dal biogas prodotto in digestione anaerobica. Ad integrazione dell'unità CHP (*Combined Heat and Power*), l'impianto è provvisto di due caldaie che entrano in funzione quando le microturbine sono spente.

Lo scambiatore è di tipo "tubo in tubo", in cui il tubo interno, entro cui fluisce il fango, di dimensione DN80 è contenuto in un tubo di dimensione DN100 dove scorre la portata di acqua calda. La lunghezza lineare è 15 m, l'area di scambio risulta quindi essere 4,2 m². La potenza termica di scambio, nell'ipotesi di ΔT di riscaldamento del fango di 11,5 °C e della disponibilità dell'acqua ad una temperatura di 80 °C, è pari a 160 kW. Tali ipotesi di funzionamento derivano dalla relazione tecnica di dimensionamento dell'impianto e dai dati dell'azienda fornitrice dello scambiatore, in cui viene indicato un coefficiente globale di scambio termico pari a 800 W · m⁻² · K⁻¹.

Fino al mese di Dicembre 2019, lo scambiatore era alimentato dal flusso di fango addensato, prima di essere caricato nel fermentatore. Da Febbraio 2020 invece, a seguito di interventi strutturali volti alla risoluzione di alcuni problemi tecnici, il fango addensato viene caricato direttamente nel fermentatore, senza essere riscaldato. Il mantenimento della temperatura viene operato tramite una pompa, costantemente in funzione, che alimenta lo scambiatore direttamente dal fermentatore, ricolando infine il fango riscaldato all'interno del fermentatore stesso.

Strumentazione La misurazione delle portate idrauliche viene realizzata tramite misuratori magnetici *Promag L 400*, forniti da *Endress+Hauser (E+H)*. Per il calcolo delle portate giornaliere, vengono quotidianamente registrati i volumi totalizzati dai misuratori nell'arco delle 24 ore, che, per differenza, coincidono con la portata giornaliera trattata.

Il volume di fango contenuto nel fermentatore viene calcolato a partire dall'area, nota, e dall'altezza media giornaliera del letto di fango, ottenuta tramite misuratore radar (*Micropilot FMR20, E+H*).

Al fine di ottenere dati in tempo reale sul funzionamento dell'impianto, sono installati in linea due torbidimetri per la misura dei solidi totali (*Turbimax CUS51D, E+H*), uno per la misura del fango addensato dinamicamente e uno per la misura del fango caricato nel digestore. Nella condotta di alimentazione della pressa a vite inoltre, è presente un misuratore di pH (*Orbisint CPS11D, E+H*).



(a) *Ispessitore dinamico*



(b) *Pressa a vite*



(c) *Fermentatore*

Figura 2.2: Componenti sezione di produzione VFA

La misurazione della temperatura del fango fermentato viene operata tramite una sonda portatile (*Hach-Lange HQ40d*) su campioni di fango prelevati al momento in impianto. Attraverso lo stesso strumento e sul medesimo campione, viene effettuata un misura per via potenziometrica del pH.

Bilanci termici Come evidenziato nel paragrafo 1.1.4, la temperatura è un parametro fondamentale che regola il processo di fermentazione. Per questa ragione, sono stati realizzati dei bilanci termici per valutare l'efficacia delle varie componenti coinvolte ed individuare possibili migliorie impiantistiche per risolvere eventuali problematiche evidenziate.

Il fabbisogno termico necessario per mantenere il volume di fango del fermentatore alla temperatura desiderata è, al netto delle perdite termiche, il calore necessario per scaldare il fango in ingresso al fermentatore stesso; la temperatura di fermentazione di progetto è pari a 31,5 °C. L'equazione relativa è la 2.1

$$Q_{th}[W] = \dot{m}_{fango} \cdot C_p \cdot \delta T = Q_{idraulica} \cdot \rho_{fango} \left[\frac{kg}{s} \right] \cdot C_p \left[\frac{J}{kgK} \right] \cdot (31,5 - T_{in,fango_addensato}) [K] \quad (2.1)$$

con

- Q_{th} potenza termica necessaria
- \dot{m}_{fango} portata in massa del fango addensato
- C_p calore specifico del fango, assunto pari a quello dell'acqua (4186 J/kgK)
- $Q_{idraulica}$ portata volumetrica del fango addensato
- ρ_{fango} densità del fango assunta pari a 1015 kg/m³

Per quanto riguarda le perdite termiche, i contributi previsti in fase progettuale sono 3, dovuti alle perdite nel reattore di fermentazione.

Le superfici dissipanti individuate sono il fondo del fermentatore, le pareti laterali e la copertura in acciaio. L'equazione utilizzata è sempre la medesima (eq. 2.2), mentre i coefficienti utilizzati per ogni contributo sono riportati in tabella 2.1.

$$Q_{th}[W] = U \left[\frac{W}{m^2K} \right] \cdot A [m^2] \cdot (T_{fango,in} - T_{esterna}) [K] \quad (2.2)$$

con:

- Q_{th} potenza termica persa

- U coefficiente di scambio termico
- A area della superficie interessata
- $T_{\text{fangio,in}}$ temperatura all'interno del fermentatore (31,5 °C)
- T_{esterna} temperatura esterna, nel caso peggiore (inverno)

Tabella 2.1: Coefficienti utilizzati nel calcolo delle perdite termiche del reattore di fermentazione (da relazione tecnica *Innoven SRL*)

Punto	Materiale	U (W/m ² K)	A (m ²)	T_{esterna} (K)
Copertura	Acciaio	0,7	78,5	-10 (aria)
Pareti laterali	Calcestruzzo	0,7	125,7	-10 (aria)
Fondo	Calcestruzzo	2,28	78,5	5 (terreno)

Grazie ad un progetto di simbiosi industriale con il settore trattamento rifiuti solidi urbani, è previsto che il reattore di fermentazione verrà altresì co-alimentato da un flusso di 1500-5000 t/anno di FORSU. Promuovendo la co-digestione, è atteso un incremento significativo della produzione di VFA.

2.2 Prove di denitrificazione in manometria

Al fine di valutare la qualità del fermentato prodotto come fonte esterna di carbonio utilizzabile nel processo di denitrificazione, sono state effettuate delle prove di denitrificazione in manometria.

Le prove sono state effettuate in batch in bottiglie (capacità di circa 1 L) del tipo illustrato in figura 2.3, in cui la sovrappressione sviluppata dai gas prodotti viene registrata e memorizzata grazie al sistema *Oxytop Measuring Head* ©, WTW.

La reazione di interesse è descritta nel capitolo 1.1.5.2, in figura 1.5. I gas sviluppati sono quindi azoto molecolare e anidride carbonica. Al fine di registrare la sola presenza dell'azoto molecolare, l'allestimento sperimentale prevede un alloggiamento per le pastiglie di idrossido di sodio poste nello spazio di testa che, tramite una reazione acido-base, permettono l'assorbimento dell'anidride carbonica.

La biomassa utilizzata è stata campionata nella vasca di ossidazione del trattamento a fanghi attivi dell'impianto di Sesto San Giovanni. Il punto di campionamento è stato scelto per limitare l'influenza del sCOD (COD solubile) presente nel campione, al fine di vedere più chiaramente l'effetto del COD presente nelle varie soluzioni carboniose di interesse. All'interno delle vasche di ossidazione infatti, il COD viene degradato dalla

biomassa batterica; valori in uscita da questo impianto sono tipicamente inferiori a 10 mg sCOD/l.

La caratterizzazione della biomassa viene ripetuta per ogni prova, in termini di SST e SSV, concentrazione di nitrato e di sCOD.

La procedura sperimentale utilizzata è descritta in Ficara et al. (2009) e Lopez-Vazquez et al. (2016).

Per tutte le prove realizzate (in doppio), i passaggi principali sono stati i seguenti:

- Dosaggio della biomassa
- Aggiunta di acqua di diluizione, necessaria per ottenere il volume di liquido desiderato
- Dosaggio della soluzione concentrata utilizzata come fonte di carbonio, se prevista, e 1 mL di soluzione di allitiourea con titolo 10 g/L per inibire la nitrificazione
- Chiusura delle bottiglie e deossigenazione dello spazio di testa con gas Argon per una durata di 5-10 minuti a seconda del volume dell'atmosfera di testa
- Dosaggio del nitrato attraverso il setto perforabile posto nel braccio laterale della bottiglia
- Inizio miscelazione all'interno del termostato a 20 °C e avviamento della rilevazione dei dati di pressione

Il confronto è stato effettuato utilizzando come substrato le seguenti fonti di carbonio:

Acetato di sodio sintetico che, come riportato in capitolo 1.1.5.2 è uno dei migliori substrati possibili per la denitrificazione

Liquido fermentato prodotto dal processo di separazione solido/liquido del fango fermentato nella sezione di produzione VFA dell'impianto di Sesto San Giovanni. Il liquido è stato caratterizzato tramite il frazionamento dei VFA presenti come riportato nel paragrafo 2.5, fondamentale per interpretare i risultati ottenuti

Soluzioni idroalcoliche fornite dalla ditta *SECAM*, una a base di metanolo (successivamente denominata SCM) ed una a base di acido acetico ed alcoli (successivamente denominata SCA)

In quasi tutte le prove è stato altresì valutato il rateo di denitrificazione senza l'aggiunta di una fonte di carbonio esterno, sfruttando quindi il carbonio endogeno presente nella biomassa.

Oltre alle sigla già esplicitate, nella denominazione delle prove verrà utilizzata la lettera *D* ad indicare una prova di denitrificazione, il pedice _{*i*} per etichettare il numero progressivo della prova, la lettera *A* ad indicare le prove con acetato sintetico, la lettera *F* ad indicare il liquido fermentato e la lettera *E* ad indicare le prove con il solo carbonio endogeno.

In tabella 2.2 sono riportati i criteri di impostazione delle prove di denitrificazione effettuate.

Il rapporto COD/N è stato scelto, per le prove con acetato sintetico, significativamente sovrastechiometrico, al fine di condurre le prove con il nitrato come substrato limitante. Le prove con liquido fermentato e con le soluzioni *SECAM* sono state condotte in condizioni variabili, sia sotto che sovrastechiometriche.

Si noti che l'individuazione del COD/N stechiometrico per ogni tipologia di substrato è reso complesso dalle diverse sostanze che compongono il substrato stesso, in quanto miscele di diversi composti.

Le prove con COD/N approssimativamente stechiometrico o sottostechiometrico sono state realizzate per individuare diversi ratei di denitrificazioni riconducibili alle diverse componenti della soluzione.

Al termine della prova, i dati di pressione vengono interpretati secondo la legge dei gas perfetti, riportata in equazione 2.3.

$$P = n \frac{RT}{V_{hs}} \quad (2.3)$$

in cui *P* indica la pressione, *n* il numero di moli di gas sviluppato, *R* è la costante dei gas perfetti, *T* è la temperatura del gas e *V_{hs}* è il volume occupato del gas (ossia lo spazio di testa all'interno della bottiglia). A partire dal dato di pressione è quindi possibile risalire al numero di moli di azoto sviluppato e, di conseguenza, alla massa di nitrato rimossa nel processo. Per un doppio confronto quest'ultimo dato viene altresì stimato tramite analisi di nitrato prima e dopo la prova, tramite apposito kit cromatografico *Lange*.

A partire dalla curva che descrive l'andamento delle moli di N₂ sviluppate nel tempo, si stima il rateo di denitrificazione tramite l'interpolazione lineare dei punti della curva che si allineano su una retta. Tale rateo viene espresso in mgNO₃⁻ · gvss⁻¹ · h⁻¹, riferendo perciò il rateo di denitrificazione alla massa di solidi volatili presenti nella bottiglia, riconducibili alla biomassa batterica.



Figura 2.3: Setup sperimentale denitrificazione in manometria

Tabella 2.2: Criteri di impostazione prove di denitrificazione

Prova	$C_{0,\text{nitrato}}$ (mg/l)	COD/N	$C_{0,\text{vss}}$ (g/l)
D_1A	24	10	2,2
D_1F	75	5	2,2
D_2A	24	10	2,0
D_2F	150	2,5	2,0
D_2E	150	0	2,0
D_3A	24	10	2,4
D_3SCM	150	2,9	2,4
D_3E	150	0	2,4
D_4A	24	10	3,2
D_4SCA	150	1,8	3,2
D_5A	24	10	2,0
D_5F	150	1,8	2,0
D_5E	150	0	2,0
D_6A	24	10	2,6
D_6F	200	4	2,6
D_6E	120	0	2,6

2.3 BMP

Le prove di BMP (*Biochemical Methane Potential*) sono state effettuate al fine di valutare eventuali variazioni nella produzione di biometano dovute al precedente processo di fermentazione.

Il fango utilizzato come substrato è stato quindi il fango addensato dinamicamente, denominato *IN FERM*, e il fango in ingresso al digestore (*IN DIG*) ossia il fango fermentato disidratato dalla pressa a vite e successivamente diluito. L'inoculo utilizzato è il digestato del medesimo impianto di Sesto San Giovanni, dopo essere stato degasato una settimana a 35 °C per limitare il più possibile la produttività endogena durante le prove.

L'apparato sperimentale utilizzato (figura 2.4) è di tipo volumetrico, in cui pertanto viene misurato il volume di biogas prodotto giornalmente in ogni bottiglia. Le bottiglie utilizzate, di capacità pari a circa 1 L, hanno il proprio spazio di testa collegato con celle costituite da un parallelepipedo con una base mancante, immerso in una soluzione di soda 3M. L'accumulo di un determinato volume di gas, caratterizzato da una minore densità, all'interno del parallelepipedo provoca il ribaltamento dello stesso. Ogni singola cella viene calibrata per calcolare il volume di gas necessario a provocare il ribaltamento; conteggiando quindi il numero di ribaltamenti che avvengono nell'unità di tempo, si risale al volume di biogas prodotto. Poiché, come detto, le celle contengono una soluzione di soda 3M, il gas conteggiato è solo metano in quanto l'anidride carbonica, presente fino al 45% in volume (Metcalf et al. 1979), viene assorbita grazie alla reazione acido-base. Altri gas eventualmente prodotti (eccetto l'idrogeno solforato, che essendo un gas acido subisce lo stesso processo dell'anidride carbonica) vengono conteggiati come metano, sovrastimandone la produzione. La loro eventuale concentrazione è tuttavia trascurabile, rendendo l'errore conseguente irrilevante ai fini delle conclusioni.

I conteggi sono registrati tramite un software installato su una piattaforma *Arduino*; tali dati sono quindi elaborati tramite un programma scritto in linguaggio Python che restituisce il volume di metano prodotto in ogni bottiglia. Il dato così ottenuto deve essere tuttavia elaborato per avere un dato di BMP espresso in $\frac{\text{NmL}_{\text{CH}_4}}{\text{gSV}}$; i passaggi necessari sono descritti di seguito.

In ogni prova sono state allestite delle bottiglie di 'bianco', per misurare il biogas prodotto dal carbonio endogeno presente nell'inoculo. Tali prove sono necessarie al fine di sottrarre ai BMP dei campioni di interesse la produzione riconducibile all'inoculo stesso, per poter ottenere esclusivamente la produzione netta.

Infine, la produzione volumetrica di metano netta viene riferita alla massa di substrato presente in ogni bottiglia, espressa in termini di solidi volatili. In equazione 2.4 è riportato quanto appena descritto.

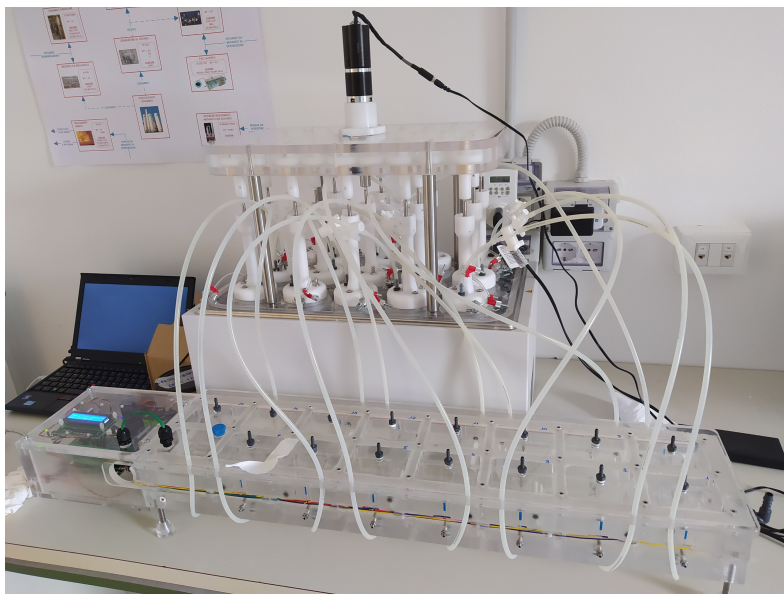


Figura 2.4: Allestimento sperimentale prove di BMP

Tabella 2.3: Criteri di impostazione prove di BMP

Prova	I/S	$C_{SV,inoculo}$ (g/l)	$C_{SV,substrato}$ (g/l)
INFERM ₁	1,55	7,2	4,6
INDIG ₁	1,63	7,2	4,4
BIANCO ₁	0	7,2	0
INFERM ₂	1,59	7,4	4,7
INDIG ₂	1,16	7,4	6,4
BIANCO ₂	0	7,4	0

$$BMP\left[\frac{NmL_{CH_4}}{gSV}\right] = \frac{V_{CH_4,campione} - V_{CH_4,bianco}}{gSV_{substrato}} \quad (2.4)$$

Le bottiglie (due replicati per ogni tipologia di fango) sono poste in un bagno termostato con temperatura fissata a 35 °C. La miscelazione avviene tramite un mixer ad asse verticale, il cui funzionamento non è continuo ma ad intervalli regolari (ogni 102 minuti) controllati tramite temporizzatore elettrico.

L'allestimento delle prove prevede il dosaggio di inoculo, substrato e acqua di diluizione (volume totale di liquido all'interno di ciascuna bottiglia pari a circa 800 mL) secondo i criteri di impostazione illustrati in tabella 2.3. La grandezza I/S indica il rapporto, in termini di solidi volatili, tra inoculo e substrato, il cui range ottimale è compreso tra 1 e 4 (Holliger et al. 2016). In aggiunta, è stata dosata una soluzione di oligoelementi secondo lo standard OECD 311 e del bicarbonato di sodio quando il pH iniziale della miscela è risultato essere minore di 7,3.

2.4 Prove di fermentazione in batch a diversa temperatura

Per valutare l'influenza della temperatura sulla cinetica di acidogenesi sono state realizzate delle prove di fermentazione in batch a diversa temperatura. Le temperature indagate sono state: 22 °C (prova in doppio), 25 °C, 28 °C, 31 °C, 34 °C e 37 °C.

L'allestimento sperimentale è mostrato in figura 2.5. Poiché lo spazio di testa è ridotto a circa 5 cm, per evitare la rottura dell'apparato quest'ultimo è collegato tramite un ago ed un tubo ad un becker riempito d'acqua. In questo modo i gas sviluppati nel processo di fermentazione vengono gorgogliati sul pelo libero dell'acqua, equilibrando la pressione interna con quella atmosferica. Il contenuto è miscelato tramite agitatori magnetici, mentre il controllo della temperatura è stato effettuato attraverso forni termostatati (per le temperature 22 °C e 31 °C) o immergendo le bottiglie all'interno di bagni di acqua mantenuti in temperatura da riscaldatori per acquario.

I batch, di volume circa pari a 0,5 L, sono stati riempiti con fango misto pre-ispessito dell'impianto di Sesto San Giovanni e con fango fermentato del medesimo impianto (con funzione di inoculo), precedentemente centrifugato e risospeso più volte per ridurre la concentrazione iniziale di VFA, ammonio e sCOD. Inoculo e substrato sono stati caratterizzati in termini di SST e SSV per condurre le prove con un rapporto F/M (*Food to Microorganisms*) pari a 1,1; inoltre, sono stati determinati per i due campioni le concentrazioni di VFA, sCOD e ammonio. Successivamente al riempimento delle bottiglie, lo spazio di testa è stato flussato con gas argon per 2 minuti.

Ad intervalli prestabiliti (dopo 24 h, 68 h, 163 h e 234 h) sono stati prelevati dei campioni da ogni bottiglia per analizzare il pH, le concentrazioni di sCOD, NH_4^+ (tramite kit cromatografico) e VFA con relativo frazionamento dei singoli acidi (analisi in gas cromatografo). Sono stati altresì monitorati temperatura dei bagni riscaldanti oltre che l'efficacia della miscelazione. Dopo ogni prelievo, lo spazio di testa è stato deossigenato con gas argon per 2 minuti.

2.5 Metodi analitici

Misure interne CAP Presso il laboratorio interno di gruppo CAP sono realizzate, su base settimanale, analisi di SST (metodologia APAT CNR IRSA 2090 B) e SSV (metodologia riportata in Quad. 64 IRSA CNR) sui campioni di fango: pre-ispessito, ispessito dinamicamente, fermentato, disidratato dalla pressa a vite e in ingresso al digestore. Limitatamente al solo fango fermentato viene altresì misurato il pH.

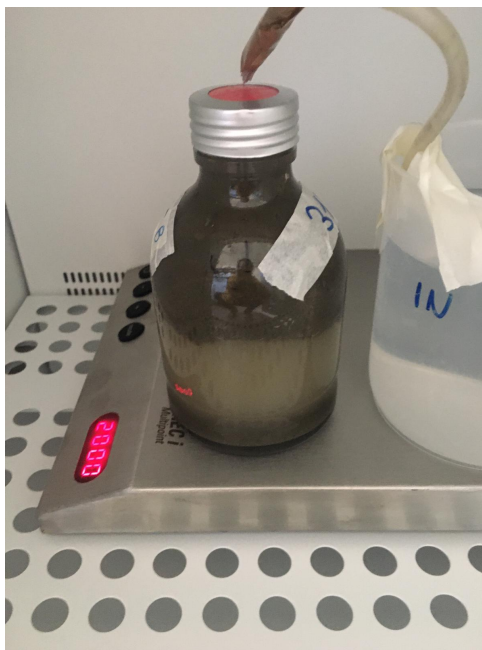


Figura 2.5: Allestimento sperimentale prove di fermentazione in batch

Per quanto riguarda il separato liquido della pressa a vite vengono analizzati pH, sCOD (metodologia ISPRA MAN 117/2014), azoto ammoniacale (APAT CNR IRSA 4030) e fosforo totale (M.U. 2252:2008).

Prove di laboratorio Di seguito sono riportate le metodiche analitiche utilizzate per la valutazione dei diversi parametri chimico-fisici e il relativo standard di riferimento.

- *Solidi*: i contenuti di ST, SV, SST e SSV sono stati determinati in doppio o triplo in accordo al Metodo Standard APHA 2540.
- *pH*: misurato per via potenziometrica direttamente sui campioni utilizzando una sonda portatile (Hach-Lange HQ40d).
- *sCOD*, NO_3^- , NH_4^+ : misure effettuate tramite metodo colorimetrico in kit Hach-Lange previa filtrazione dei campioni su filtri di porosità $0,45 \mu m$, secondo le istruzioni fornite dal produttore. L'assorbanza dei kit è stata letta tramite spettrofotometro Hach-Lange UV-VIS DR6000 e, per le misure di sCOD in cui è necessario un trattamento termico, è stato utilizzato il termostato Hach-Lange LT200.
- *VFA*: il contenuto di acidi grassi volatili (acetico, propionico, iso-butirrico, butirrico, iso- valerico e valerico) è stato determinato in accordo al Metodo Standard APHA 5560, utilizzando un gas cromatografo (DANI Master GC) con rivelatore a ionizzazione di fiamma (FID 86/10).

Capitolo 3

Risultati e discussione

3.1 Avviamento e monitoraggio impianto di produzione VFA

3.1.1 Messa in esercizio

La messa in esercizio dell'impianto è avvenuta a Settembre 2019. Le prime settimane sono state necessarie per conoscere a fondo le componenti dell'impianto, sia dal punto di vista meccanico che elettronico. Osservazioni circa il funzionamento dei vari macchinari e le principali problematiche riscontrate sono illustrate di seguito.

Il funzionamento dell'ispessitore dinamico è regolato da diversi parametri quali dosaggio di polielettrolita, velocità di rotazione di tamburo e velocità del mixer inserito nel flocculatore. Un dosaggio specifico pari circa a $7 \text{ g}_{\text{PA}}/\text{kg}_{\text{ST}}$ - con *PA* principio attivo del polielettrolita (acrilammide) - si è sperimentalmente dimostrato adeguato per ottenere una flocculazione efficace. Tale valore è stato ricavato quantificando il dosaggio di polielettrolita necessario, di volta in volta, per una flocculazione efficace a seconda del contenuto di solidi totali del fango alimentato. Il dosaggio viene però regolato dalla macchina in termini di rapporto volumetrico tra soluzione di polielettrolita e portata di fango rilevata istantaneamente. Per questa ragione, il processo di flocculazione deve essere controllato manualmente, osservando l'efficacia della flocculazione e regolando di volta in volta il rapporto volumetrico adatto per il tipo di fango alimentato in quel momento. La percentuale di solidi totali infatti, è variabile e compresa tra $20 \text{ g}_{\text{ST}}/\text{L}$ e $35 \text{ g}_{\text{ST}}/\text{L}$.

Un possibile miglioramento del processo si potrebbe ottenere tramite una rilevazione continua dei solidi totali in ingresso attraverso l'installazione di un torbidimetro in linea, prevedendo quindi un automatismo per fissare il dosaggio secondo il rapporto specifico sopra riportato.

É rilevante sottolineare che la formazione di fiocchi troppo voluminosi (ossia con un diametro > 5 cm come regola empirica), indice di una flocculazione molto efficiente, ha mostrato avere come risultato una concentrazione di solidi nel fango addensato superiore a 60 g ST/L. Sebbene alzando il carico organico (stando al di sotto del carico limite) si ha tendenzialmente un impatto positivo sulla resa di acidificazione (Oktem et al. 2006), ciò comporta inconvenienti pratici quali frequenti intasamenti delle tubazioni ed uno sforzo eccessivo per le pompe, riducendone la vita utile attesa.

Viceversa, una flocculazione non efficace ha come risultato la formazione di fiocchi non sufficientemente stabili da permettere una corretta eliminazione dell'acqua e, di conseguenza, un addensamento inferiore a quanto desiderato. In questo modo si riduce il coefficiente di cattura dei solidi, parametro che indica la massa di solidi presenti nel fango addensato rispetto alla quantità entrante. L'accumulo di solidi così ottenuto nel separato liquido va sia a inficiare sul processo di diluizione del fango disidratato dalla pressa a vite (operato con parte del surnatante dell'ispessitore dinamico) che a ricircolare in testa impianto parte dei solidi precedentemente separati nella sedimentazione primaria, abbassando quindi l'efficienza complessiva e aumentando il carico di solidi nella linea acque. Ciò è particolarmente problematico nel processo di biofiltrazione, in cui un impaccamento dei filtri diminuisce l'efficienza di rimozione di COD e azoto.

Fino a Ottobre compreso, la pressa a vite è stata interessata da diverse problematiche, principalmente di tipo software, che non hanno permesso un funzionamento continuo della macchina. Tali problematiche sono state gradualmente risolte e, da metà Novembre, è stato possibile programmare il funzionamento orario in automatico, permettendo l'esercizio dell'impianto anche quando non presidiato.

A differenza dell'ispessitore dinamico, la pressa a vite autoregola il proprio funzionamento in base alla pressione rilevata nella tubazione di mandata (tramite un pressostato installato in linea), intrinsecamente legata alla concentrazione di solidi presente nel fango. I parametri regolati in base alla lettura di pressione sono la portata di fango alimentata, che può essere impostata manualmente ma viene comunque modificata dalla macchina stessa, e la frequenza di rotazione della coclea. Quest'ultima si riflette direttamente nella velocità di rotazione della coclea stessa, aumentando al crescere della pressione rilevata. Di conseguenza, si riduce il tempo utile di pressatura del fango, facendo diminuire il coefficiente di cattura dei solidi ed aumentando il contenuto d'acqua nel fango disidratato. Per queste ragioni, per garantire un funzionamento ottimale del macchinario, il produttore consiglia di non superare il carico di 250 kgST/h.

Una concentrazione di solidi nel fango pressato troppo alta (superiore a 230 g ST/L) comporta invece problematiche nella diluizione del fango stesso all'interno della vasca

di diluizione ed omogeneizzazione, precedente alla digestione anaerobica. È stata infatti osservata la formazione di cumuli di fango non miscelato quando si è verificata tale condizione, rendendo quindi impossibile l'omogeneizzazione e causando problemi al miscelatore, nonché il rischio di un eccessivo sforzo per la pompa di caricamento del digestore.

Naturalmente, l'efficienza del processo di separazione è altresì influenzata dall'efficacia della flocculazione; anche in questo caso il dosaggio di polielettrolita è basato sull'impostazione di un rapporto tra portata di fango e portata di polielettrolita. Tale valore va quindi modificato in funzione del tenore di secco del fango alimentato. Un rapporto specifico compreso tra 3 g_{PA}/kg_{ST} e 3,5 g_{PA}/kg_{ST} è ottimale per il processo (con *PA* principio attivo del polielettrolita, acrilammide). Si è infatti empiricamente osservato che dosaggi superiori causano la presenza di polielettrolita residuo nel separato liquido della pressa a vite, mentre un dosaggio insufficiente si riflette in una concentrazione di solidi nel concentrato stesso non trascurabile (superiore a 2 g/L).

Sebbene anche in questo caso il dosaggio di polielettrolita vada modificato in base al fango alimentato, provenendo questo da un reattore completamente miscelato e con un HRT di diversi giorni, è necessario un controllo/modifica meno frequente rispetto a quanto esposto per l'addensatore dinamico.

L'operatività del sistema è stata limitata ad 8 ore giornaliere per 5 giorni a settimana fino a metà Novembre. Oltre alle problematiche già citate, un fattore che ha impedito una operatività maggiore è la configurazione idraulica delle tubazioni di alimentazione del digestore. Tale tubazione è unica e dotata di una sola pompa, ma le possibili alimentazioni sono la vasca di accumulo ed omogeneizzazione del fango pressato, il pre-ispessitore ed il fermentatore (Fig. 2.1). Essendo la produzione di biogas necessaria per la fornitura di calore richiesta da diverse utenze e potendo gestire l'alimentazione del digestore solo attraverso valvole manuali, quando la produzione di biogas e il funzionamento della sezione VFA sono risultati alternativi, la prima è stata privilegiata.

Questa problematica è stata risolta nel momento in cui è stata possibile la programmazione oraria di tutti i macchinari. Incrementando infatti gli orari di lavoro, oltre che a potenziare di molto la capacità produttiva del processo di fermentazione (e quindi la quantità di VFA prodotti settimanalmente, scopo di questa sezione di impianto), viene garantito il mantenimento del carico minimo al digestore anche solo attraverso la vasca di accumulo ed omogeneizzazione del fango pressato, rendendo trascurabile l'impatto della gestione manuale delle valvole.

Successivamente alla fase di collaudo, a partire dal 15/10/2019 è stato avviato un piano di monitoraggio completo dell'impianto. Il periodo compreso tra il 15/10 e il 23/12



Figura 3.1: Accumulo di materiale lipidico sulla superficie delle tubazioni

è denominato *Fase I*. Al termine di questo periodo infatti, l'impianto è stato fermato per circa due mesi a causa di problemi di intasamento delle tubazioni e di lavori strutturali volti a risolvere alcune problematiche riscontrate nel corso della fase I.

Gli intasamenti delle tubazioni sono avvenuti a causa di accumulo di materiale lipidico sulle pareti interne delle tubazioni, in particolare all'interno dello scambiatore di calore e nella tubazione di caricamento del fermentatore (dove fluisce il fango addensato), come visibile in figura 3.1. La natura organica del deposito è stata confermata ponendo un campione del materiale in muffola (la frazione inerte è risultata infatti trascurabile), mentre colore e consistenza sono indicatori empirici tipici di un accumulo di materiale lipidico.

Le cause principali di questo fenomeno sono l'uso di polielettrolita che favorisce la separazione dei grassi (Radoiu et al. (2004) riportano una riduzione consistente di oli e grassi disciolti in acqua, venendo quindi separati, usando diverse tipologie di polielettrolita), il pompaggio in discontinuo del fango addensato e la permanenza prolungata di fango ad alte temperature all'interno dello scambiatore nelle ore di fermo (ciò infatti favorisce la formazione di incrostazioni).

La temperatura del fango fermentato misurata durante la fase I è riportata in figura 3.2. Come si può osservare, la temperatura è sempre stata considerevolmente più bassa dei 31,5 °C previsti in fase progettuale e, visto il trend decrescente nel tempo, essa è stata fortemente influenzata dalla temperatura esterna con il sopraggiungere della stagione invernale ¹.

Una delle principali problematiche riguardanti l'inefficace riscaldamento è stata relativa al mancato funzionamento della pompa di ricircolo del fango fermentato, che non è quindi mai stata in funzione. Le cause probabili sono state, presumibilmente, il sottodi-

¹Si noti che il periodo analizzato è compreso tra metà Ottobre e la seconda metà di Dicembre

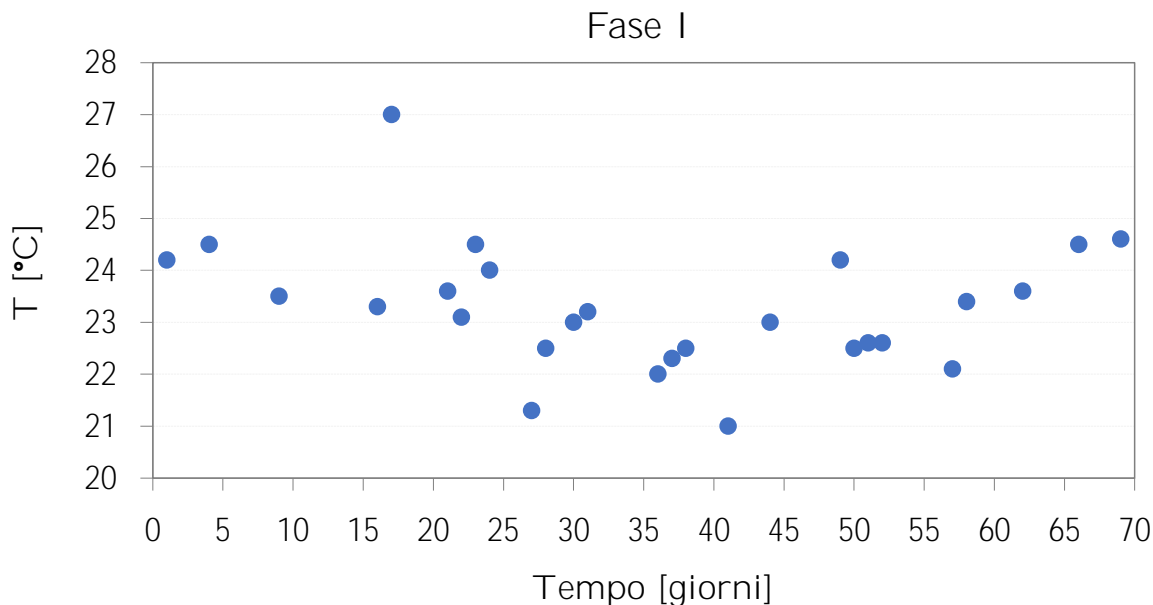


Figura 3.2: Andamento della temperatura del fango fermentato nel tempo, fase I

mensionamento della pompa stessa e delle relative tubazioni, oltre che un non ottimale posizionamento dal punto di vista idraulico.

Nel tentativo di migliorare il riscaldamento del fermentatore (per ulteriori dettagli vedasi la discussione specifica riguardante i bilanci termici) e di evitare gli intasamenti delle tubazioni, è stata effettuata una manutenzione straordinaria per permettere il caricamento diretto del fango addensato al fermentatore, riscaldando il reattore tramite una pompa di ricircolo costantemente in funzione.

Viene quindi denominata *Fase II* (a partire dal 10/02/2020) il periodo di funzionamento successivo alle modifiche strutturali.

3.1.2 Monitoraggio ed ottimizzazione del processo

In tabella 3.1 sono riportati i valori settimanali medi della portata giornaliera in ingresso ed uscita dal fermentatore, oltre che il volume di fango medio contenuto nel fermentatore stesso. In figura 3.3 sono invece riportati i grafici cumulati del volume di fango entrante e uscente dal fermentatore (per la fase I). L'andamento lineare mostrato è servito come premessa metodologica per il calcolo del tempo di residenza medio; qualora non si fosse verificato un andamento approssimativamente lineare infatti, non sarebbe stato possibile procedere nel calcolo dell'HRT come spiegato nel relativo paragrafo.

Vengono ora presentati i risultati ottenuti nell'applicazione impiantistica, attraverso una discussione dei principali parametri operativi che caratterizzano il processo.

Tabella 3.1: Portate medie giornaliere e volume medio di fango contenuto nel fermentatore dell'impianto di produzione VFA (media calcolata su base settimanale)

	Giorni	Q_{in} (m ³ /d)	V (m ³)	Q_{out} (m ³ /d)
Fase I	1-7	23		17
	8-14	29		28
	15-21	89	261	84
	22-28	54	232	83
	29-35	55	188	43
	36-42	20	123	14
	43-49	39	258	28
	50-56	46	292	56
	57-63	66	273	67
Fase II	1-7	61	195	40
	8-14	63	283	42
	15-21	101	294	109
	22-28	79	279	87
	29-35	58	289	87

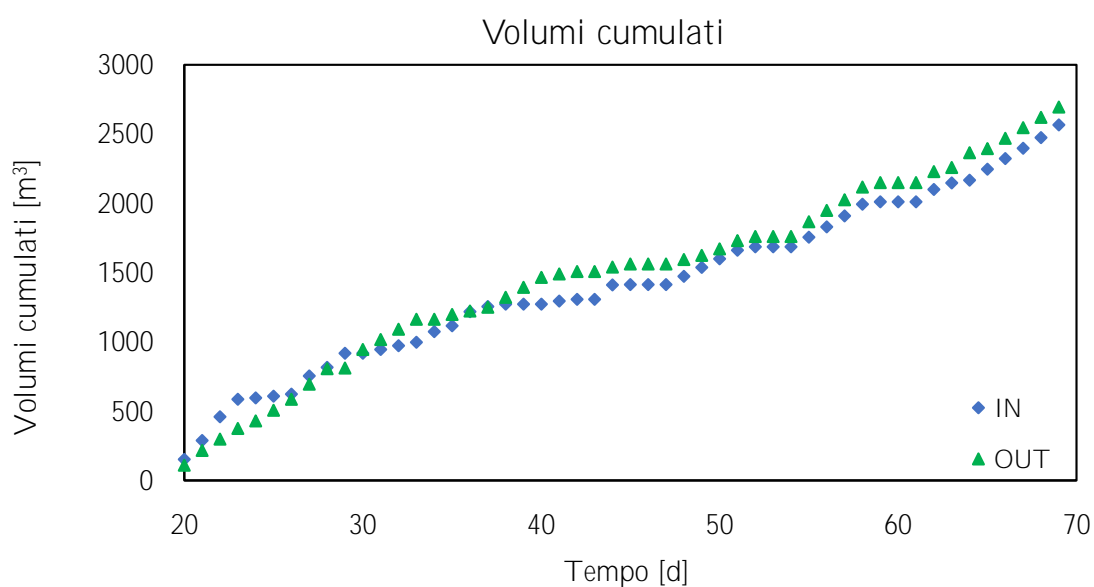


Figura 3.3: Volumi cumulati entranti (blu) e uscenti (arancione) dal fermentatore, fase I

pH e sCOD In figura 3.4 sono riportati gli andamenti di pH del fango fermentato in uscita dal reattore e della concentrazione di sCOD nel separato liquido della pressa a vite, misurati nel tempo per le due distinte fasi di funzionamento. Il COD solubile è, nei processi di fermentazione, costituito quasi esclusivamente da VFA (Leite et al. 2016); nel paragrafo relativo al frazionamento dei VFA è analizzato in dettaglio questo aspetto, da cui risulta che mediamente il 90% della concentrazione di COD solubile è dovuta al contributo dei VFA. Di seguito quindi, il parametro sCOD verrà utilizzato come indicatore di concentrazione di VFA, sebbene concettualmente siano due grandezze distinte.

Si può notare come nella fase I il periodo di attivazione dei processi biologici sia stato piuttosto lungo, anche a causa del non regolare funzionamento dell'impianto. Dopo circa 45 giorni dall'avviamento il pH del fango fermentato si è stabilizzato intorno ad un valore di 5,3. Non essendoci un controllo sul pH all'interno del reattore, tale grandezza dà un'indicazione sull'efficacia del processo di acidogenesi piuttosto che essere un fattore che direttamente ne influenza le performance.

Contemporaneamente all'abbassamento del pH, la concentrazione di COD solubile si è alzata ed attestata intorno a 10 g sCOD/L in diverse analisi consecutive.

Per quanto riguarda la fase II, il riavviamento dei processi biologici è stato sicuramente più celere per via dei due fattori di seguito descritti.

- Al momento della messa in esercizio, il reattore di fermentazione conteneva circa 100 m³ di fango, ossia un terzo del volume utile complessivo. Sebbene il fermentatore non fosse alimentato da circa 50 giorni infatti, la permanenza del fango nel reattore ha presumibilmente permesso la conservazione della comunità batterica preesistente, che si è velocemente riattivata quando del nuovo substrato è stato alimentato all'interno del fermentatore
- È stato fin da subito possibile trattare i volumi di fango desiderati, in quanto l'esperienza acquisita nella precedente fase di esercizio ha permesso un controllo ottimale dei macchinari

Solubilizzazione azoto e fosforo Nelle figure 3.6 e 3.7 sono riportati gli andamenti grafici delle concentrazioni di azoto ammoniacale e fosforo totale nel liquido fermentato, in funzione del sCOD rilevato nel medesimo campione. I dati utilizzati sono relativi ai campionamenti di cui si ha a disposizione l'analisi di tutti e tre i parametri, includendo quindi anche i periodi di funzionamento in cui il processo biologico non è stato considerato stabile (dati invece esclusi da altre elaborazioni).

Come si può notare, è individuabile una correlazione lineare tra le concentrazioni di azoto e fosforo e quella di sCOD. In particolare, sono stati ottenuti dei rapporti pari a

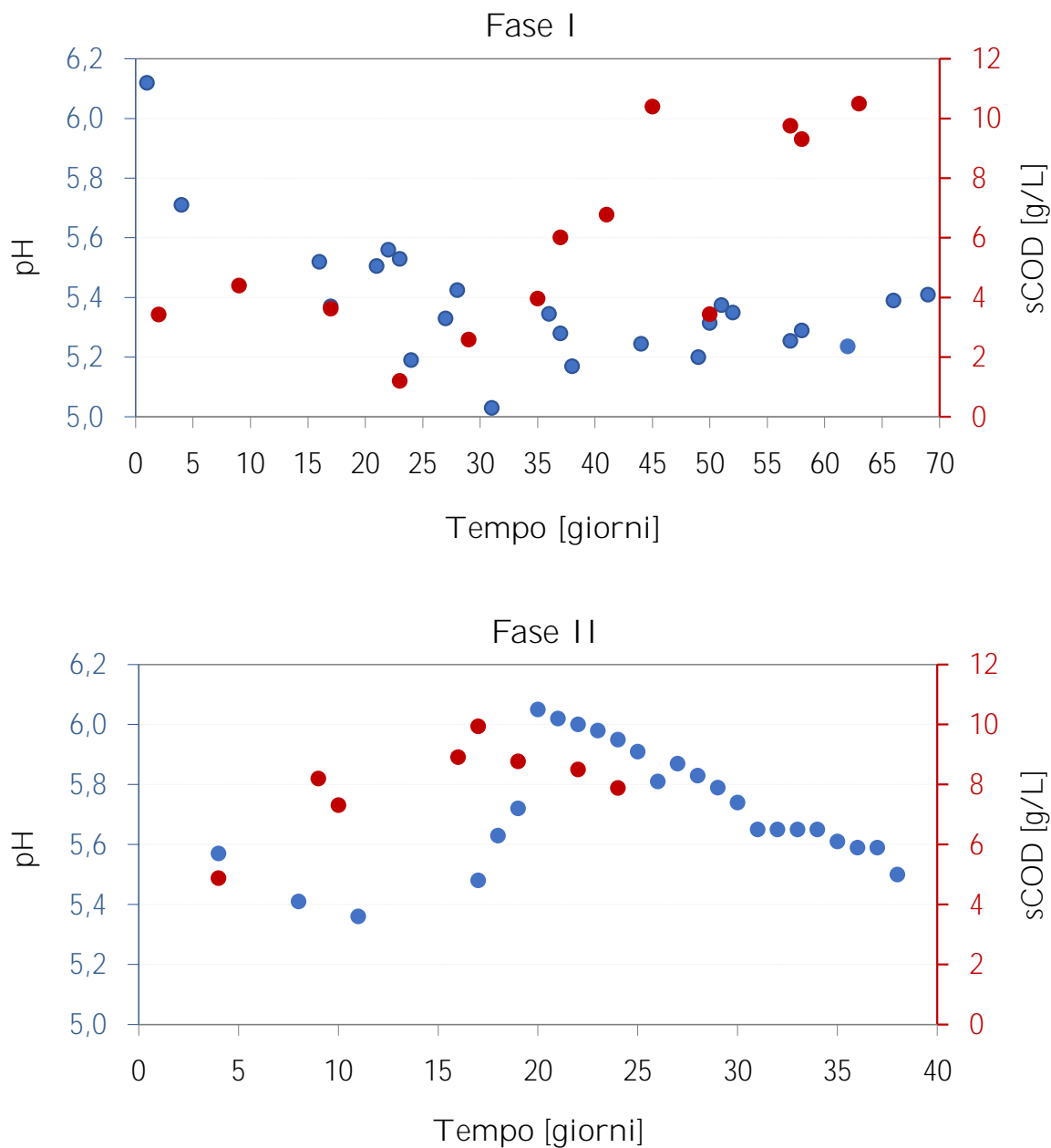


Figura 3.4: Andamenti di pH rilevato (blu) e concentrazione di sCOD (rosso, in g/L) nel tempo

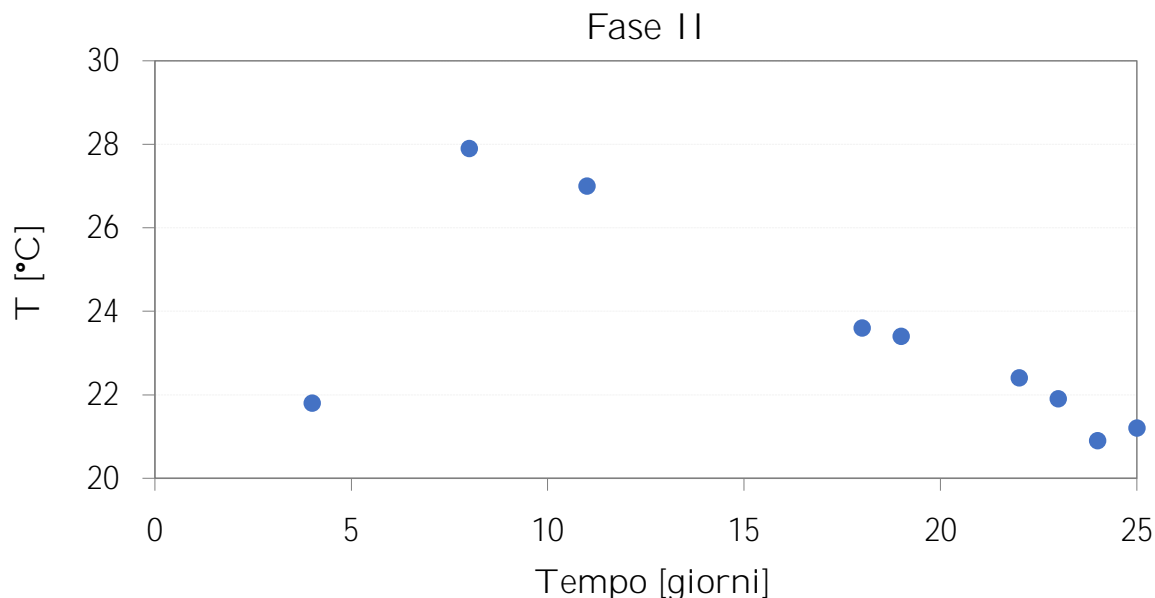


Figura 3.5: Andamento della temperatura del fango fermentato nel tempo, fase II

$6,44 \cdot 10^{-2} \frac{\text{mgN}}{\text{mgVFA-COD}}$ e $4,42 \cdot 10^{-3} \frac{\text{mgP}}{\text{mgVFA-COD}}$. I valori del coefficiente di determinazione delle due regressioni sono rispettivamente 0,9358 e 0,9051.

Per quanto riguarda il rapporto tra azoto ammoniacale e VFA (che costituiscono circa il 90% del sCOD), tale valore è compreso nel range 0,04 - 0,12 mgN/mgVFA-COD indicato da Banister e Pretorius (1998) nella comparazione dei prodotti della fermentazione di fanghi primari provenienti da quattro diversi impianti di trattamento delle acque reflue. Nel medesimo studio, il minimo rapporto ottenuto tra la concentrazione di P-PO_4^- è stato di 0,01 mgP/mgVFA-COD, pari quindi a circa il doppio del rapporto calcolato tramite la regressione lineare. L'ordine di grandezza osservato è tuttavia lo stesso, rendendo i due dati comparabili. Caratteristiche specifiche dei substrati e condizioni operative differenti possono essere responsabili della differenza osservata.

La temperatura di fermentazione registrata da Banister e Pretorius (1998) è variata tra 18 °C e 28 °C, mentre la temperatura media nel fermentatore dell'impianto di Sesto San Giovanni è pari a 23 °C. Tale fattore potrebbe quindi spiegare il differente rapporto ottenuto per il fosforo, in quanto la temperatura di fermentazione non modifica univocamente le costanti di idrolisi dei vari componenti. Come mostrato da Ahn e Speece (2006) infatti, per il medesimo fango sono stati ottenuti rapporti di finali di mg P/mg COD differenti per temperature di fermentazione diverse.

HRT Al fine di ottimizzare il processo, l'unico parametro operativo su cui è stato possibile intervenire è il tempo di ritenzione idraulico. In figura 3.8 è riportato l'andamento della concentrazione di sCOD in funzione dell'HRT. L'HRT indicato è stato ottenuto

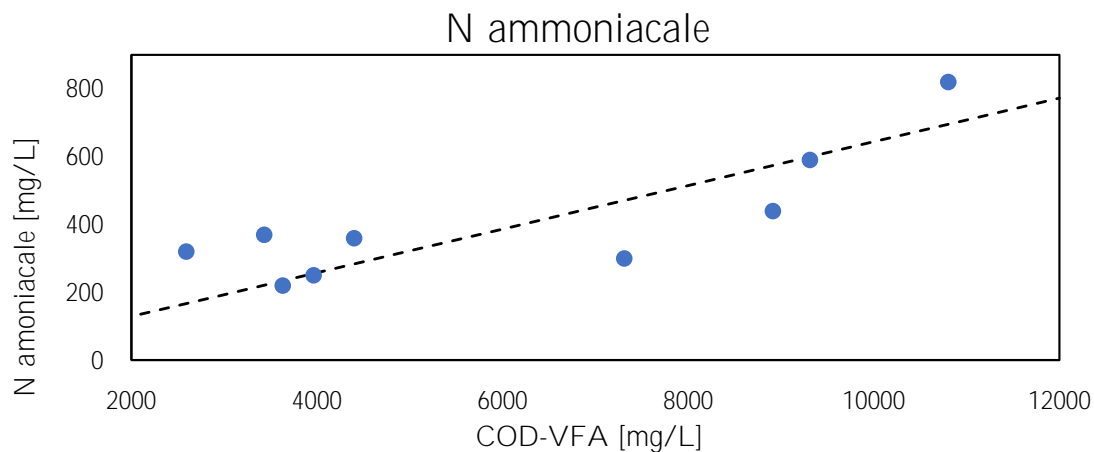


Figura 3.6: Concentrazione di azoto ammoniacale in funzione della concentrazione di sCOD nel liquido fermentato

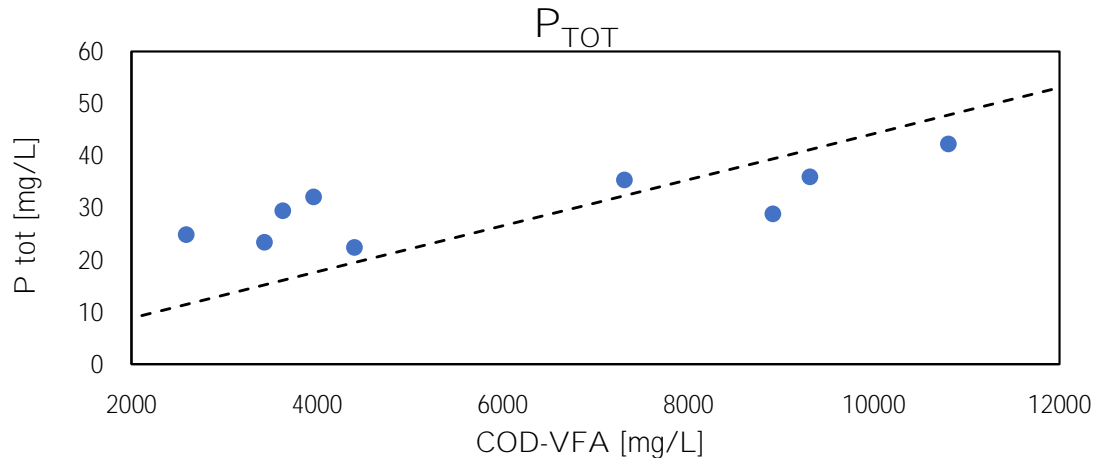


Figura 3.7: Concentrazione di fosforo totale in funzione della concentrazione di sCOD nel liquido fermentato

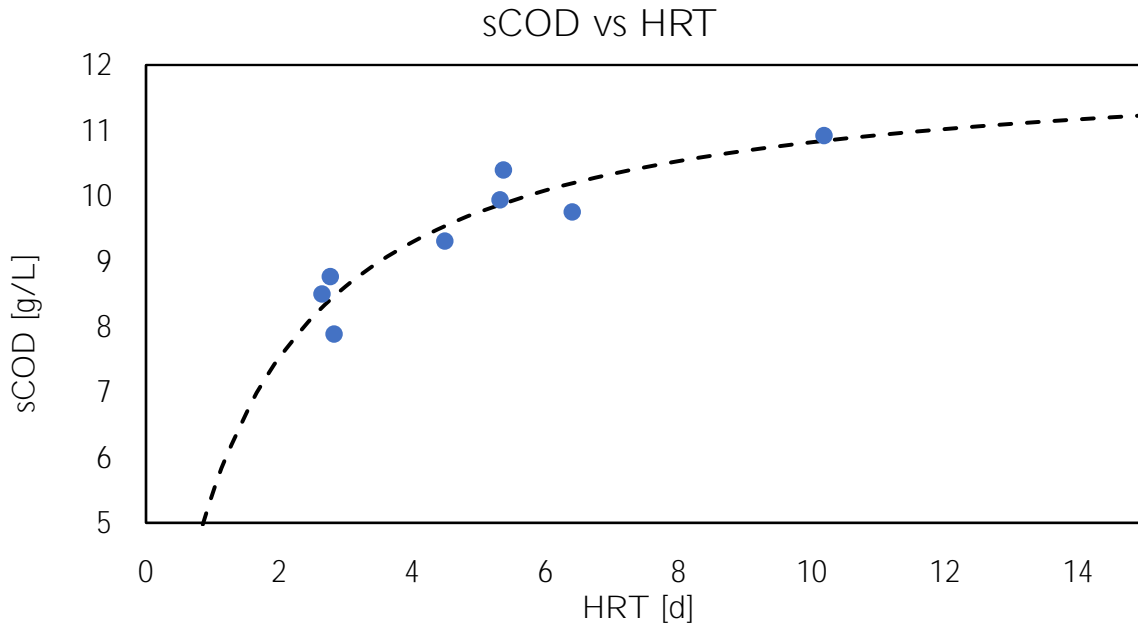


Figura 3.8: Concentrazione di sCOD (g/L) in funzione dell'HRT medio dei 4 giorni precedenti

dividendo volume di fango contenuto nel fermentatore per la portata uscente dal fermentatore stesso, con entrambe le grandezze calcolate come la media nei 4 giorni precedenti al campionamento. In questo modo l'interpretazione dei dati non è viziata da singoli valori eventualmente anomali, oltre che riflettere meglio le cinetiche tipiche dei processi di fermentazione. Inoltre, i dati di concentrazione utilizzati si riferiscono ai periodi di esercizio in cui il processo biologico è stato considerato stabile, ossia dopo il giorno 45 per la fase I e dopo il giorno 15 per la fase II.

Come si può osservare dal grafico, tra tempo di residenza e concentrazione di sCOD sussiste una proporzionalità iperbolica. Il legame di proporzionalità 'generica' era atteso essendo concorde con quanto riportato in letteratura (Jankowska et al. 2015; Bolaji e Dionisi 2017), mentre la tipologia di proporzionalità è stata ottenuta modellisticamente.

La modellazione è stata effettuata secondo il modello espresso in equazione 3.1, che esprime il bilancio di massa del fermentatore allo stato stazionario.

$$k_1 x = \frac{x_{IN} - x}{HRT} \quad (3.1)$$

con x concentrazione della sostanza particolata, e k_1 costante cinetica di idrolisi del primo ordine. Si noti come i risultati modellistici si riferiscano alla temperatura di 23 °C (temperatura media di fermentazione osservata).

La quantità $x - x_{in}$ esprime la rimozione di parte della sostanza particolata all'interno del fermentatore, dovuta al processo di idrolisi. Tale quantità, denominata S , è quindi la

quantità di sostanza particolata solubilizzata nel processo.

Riarrangiando l'equazione 3.7, si ottiene:

$$S = x_{IN} \left(1 - \frac{1}{1 + k_1 \cdot HRT} \right) \quad (3.2)$$

Dalla stima dei parametri (con R^2 pari a 0,8593) risulta una costante k_1 pari a 0,813 d^{-1} e un valore di x_{in} pari a 12,15 g/L. Tale valore esprime il risultato modellistico relativo alla massima concentrazione di sCOD solubile ottenibile nel reattore in corrispondenza di un HRT infinito (ed alla temperatura di 23 °C). Si può perciò definire una resa 'reattoristica', calcolata come rapporto tra la concentrazione di sCOD misurata e il massimo ottenibile. Facendo riferimento alle caratteristiche medie del fango in ingresso, la cui concentrazione di solidi volatili è pari a 45 gSV/L, la resa massima ottenibile risulta 0,276 gCOD/gSV.

Per un reattore semi-continuo (a 37 °C) alimentato con fango primario proveniente da 4 diversi impianti, Ucisik e Henze (2008) hanno riscontrato una resa di acidificazione compresa tra 0,17 e 0,27 gCOD/gSV. Morgan-Sagastume et al. (2011) hanno invece ottenuto una resa massima pari a 0,47 gCOD/gSV, fermentando però ad una temperatura di 42 °C un fango misto pre-trattato (con vapore ad alta pressione e temperatura). La resa reattoristica massima ottenuta per l'impianto di Sesto San Giovanni, nelle condizioni operative tipiche, è pertanto indice di un fango produttivo e di una configurazione impiantistica efficiente per la produzione di VFA.

Sebbene all'aumentare dell'HRT si assista ad un aumento di produzione di VFA, è necessario trovare un punto di equilibrio per massimizzare la quantità di VFA giornalmente prodotta. All'aumentare del tempo di residenza diminuisce infatti la portata estratta del reattore, a parità di volume.

Il modello individuato tramite la stima dei parametri farebbe coincidere l'HRT ottimo con il minimo possibile (tendente a 0) in quanto l'aumento di portata compensa ampiamente la riduzione di concentrazione dovuta al ridotto HRT. Sebbene quindi la stima sia soddisfacente per i valori di sCOD considerati (R^2 0,8593), è evidente come ci sia una sovrastima per HRT bassi, non verosimile dal punto di vista del processo biologico. Per questa ragione, il funzionamento dell'impianto è attualmente controllato al fine di garantire il tempo di residenza minimo per evitare il dilavamento della biomassa e per garantire che il processo biologico sia sufficientemente stabile; tale HRT è di circa 3 giorni.

Temperatura In figura 3.5 è riportato l'andamento della temperatura nel tempo per la seconda fase di esercizio (per la prima fase vedasi Fig. 3.2).

La diminuzione di temperatura è dovuta al fatto che nei primi giorni di avviamento si stava progressivamente riempiendo il volume del fermentatore. Per questa ragione, la

massa di fango da scaldare era inferiore rispetto al valore di funzionamento a regime, permettendo perciò un riscaldamento efficace.

Come è osservabile, nonostante i lavori effettuati non si è ottenuto un incremento della temperatura di fermentazione. Le ragioni principali sono esposte nel paragrafo relativo ai bilanci termici.

Sebbene quindi la temperatura sia un fattore chiave per la fermentazione acidogenica, il suo mancato controllo non permette di determinare la sua effettiva influenza sul processo. Ciò è visibile nel grafico di figura 3.9, che riporta l'andamento della concentrazione di sCOD (stessi punti utilizzati in Fig. 3.8 eccetto due di cui non era disponibile la misura di temperatura) in funzione della temperatura giornaliera del fango fermentato. Si può notare come la dispersione dei dati sia considerevole e l'intervallo di temperatura riportato sia molto contenuto, non permettendo di trarre conclusioni a riguardo.

In via teorica, a partire dalla costante di idrolisi stimata nel paragrafo precedente, è possibile fare una previsione circa la concentrazione di sCOD attesa con una temperatura di fermentazione pari a 31 °C. Utilizzando un coefficiente di ragguglio pari a 1,068 (Myszograj 2018), la costante k passa da un valore di 0,859 d⁻¹ a 1,454 d⁻¹. In tabella 3.2 sono riportati esempi di concentrazioni di sCOD attese in funzione dell'HRT per le due temperature.

Per una conferma sperimentale a scala di laboratorio, sono state effettuate delle prove di fermentazione in batch a diversa temperatura, i cui risultati sono riportati nel capitolo 3.4.

Resa di acidificazione e OLR Con riferimento a quanto esposto nel paragrafo inerente all'HRT, è possibile definire la resa di acidificazione ottenuta come rapporto rispetto al massimo ottenibile x_{IN} (resa di acidificazione 'reattoristica').

In tabella 3.3 sono quindi riportate le rese di acidificazione ottenute secondo questa metodologia di calcolo. É altresì riportato l'HRT medio dei quattro giorni precedenti al campionamento.

Riferendosi invece ai dati analitici ottenuti dal laboratorio interno, è stata calcolata la resa di acidificazione rispetto ai solidi volatili del fango in ingresso. Le concentrazioni

Tabella 3.2: Previsioni modellistiche sCOD in funzione di HRT e temperatura

HRT (d)	sCOD @23 °C (g/L)	sCOD @31 °C (g/L)
3	8,6	9,9
4	9,3	10,4
5	9,8	10,7
8	10,5	11,2

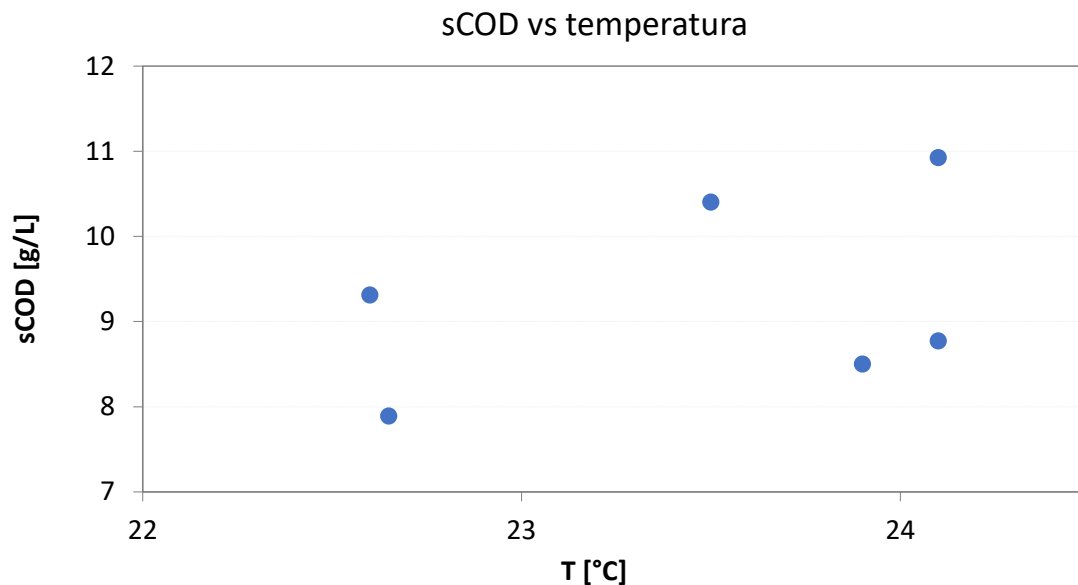


Figura 3.9: Andamento della concentrazione di sCOD in funzione della temperatura del fango fermentato

di sCOD utilizzate sono le medesime utilizzate nella stima modellistica, che si riferiscono quindi ai giorni 45-65 della fase I e ai giorni 15-25 della fase II. La concentrazione media di solidi volatili nel fango addensato è risultata, rispettivamente, pari a 48 gSV/L e 44 gSV/L. I risultati così ottenuti sono mostrati in Tab. 3.4. L'HRT medio dei quattro giorni precedenti è variato tra 2,6 d e 10,2 d (stessi valori di Tab. 3.3).

Il carico organico medio, con i valori tipici di funzionamento (portata alimentata pari a $90 \text{ m}^3/\text{d}$ e volume di fango nel fermentatore pari a 300 m^3), è pari a circa $12 \text{ kg}_{\text{SV}} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{m}^{-3}$.

Tabella 3.3: Rese di acidificazione calcolate rispetto al massimo teoricamente ottenibile

HRT (d)	sCOD (g/L)	Rese di acidificazione
2,8	7,9	65%
2,6	8,5	70%
2,8	8,8	72%
4,5	9,3	77%
6,4	9,8	80%
5,3	9,9	82%
5,4	10,4	86%
10,2	10,9	90%
Media		77%

Tabella 3.4: Rese di acidificazione sperimentali

sCOD (g/L)	Rese di acidificazione ($g_{VFA-COD}/g_{SV,in}$)
7,9	0,16
8,5	0,17
8,8	0,18
9,3	0,18
9,8	0,18
9,9	0,20
10,4	0,20
10,9	0,21
Media	0,18

Frazionamento VFA In Fig. 3.10 è riportato il frazionamento dei VFA in funzione dell'HRT medio dei 4 giorni precedenti. Le percentuali sono espresse dividendo la concentrazione del singolo acido per la concentrazione totale di VFA.

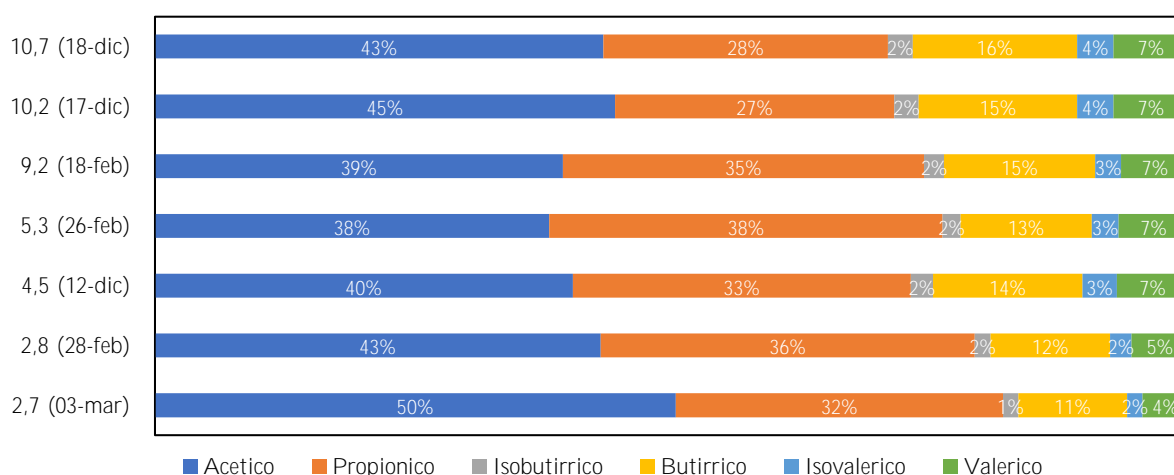


Figura 3.10: Frazionamento dei VFA in funzione dell'HRT medio dei 4 giorni precedenti

Per bassi valori di tempo di ritenzione, la concentrazione di acido acetico e propionico è significativamente maggiore rispetto agli acidi a catena più lunga. Aumentando progressivamente l'HRT, mantenendosi su valori medi, il contributo di acido acetico si riduce a vantaggio di una maggiore presenza di acido butirrico e valerico (e, in misura minore, di acido isovalerico). Ciò è consistente con quanto riportato in letteratura, in quanto le vie metaboliche responsabili della sintesi di VFA con peso molecolare maggiore sono più complesse rispetto alle vie più dirette per la sintesi di acido acetico (Zhou et al. 2018).

Per HRT intorno ai 10 giorni invece, aumenta nuovamente il contributo dell'acido acetico, oltre che, in misura minore quello degli acidi butirrico, valerico e i relativi isomeri. L'aumento di acido acetico per HRT alti è presumibilmente dovuta ad un maggior con-

Tabella 3.5: Percentuale di VFA-sCOD

sCOD (g/L)	VFA-COD (g/l)	VFA-COD (%)
9,3	8,0	86%
10,5	9,2	88%
11,4	9,6	85%
8,2	8,7	100% *
9,9	10,6	100% *
8,8	8,6	97%

tributo del processo di acetogenesi per cui, parte degli acidi precedentemente sintetizzati tramite l'acidogenesi viene convertita ad acido acetico, CO₂ e H₂.

Visto l'utilizzo del separato liquido della pressa a vite nel processo a fanghi attivi, la relazione tra la composizione di VFA e HRT è decisiva nelle scelte operative impiantistiche, rendendo preferibile un HRT ridotto (per le motivazioni vedasi il capitolo 3.2.1). La stessa conclusione è stata tratta nel paragrafo precedente relativo al tempo di ritenzione, al fine di massimizzare la produzione di VFA giornaliera.

Per quanto riguarda la concentrazione di sCOD, a partire dai risultati del frazionamento dei VFA è possibile calcolare il contributo dei VFA rispetto alla concentrazione di sCOD totale. In tabella 3.5 è riportato il calcolo di questa grandezza. In due campionamenti la concentrazione di sCOD dovuta ai soli VFA è risultata leggermente maggiore (circa il 106%) della concentrazione di sCOD totale misurata tramite kit cromatografico; per questi valori è stato quindi assunto un valore di VFA-COD pari al 100%. Mediamente quindi, si può considerare che i VFA rappresentino il 90% circa del COD solubile misurato.

Bilanci termici *Fase I*

Utilizzando l'equazione 2.1 nel capitolo 2.1, si è calcolato un fabbisogno termico di circa 203 kW nel caso peggiore invernale (temperatura del fango pari a 10 °C) e con una portata di fango entrante nello scambiatore pari a 8 m³/h. Tale è infatti la portata di fango addensato uscente dall'ispessitore dinamico.

Le perdite termiche per il solo reattore di fermentazione, calcolate tramite i coefficienti di tabella 2.1 e l'equazione 2.2 è risultata pari a 11 kW. Il fabbisogno termico complessivo quindi risulta essere pari a circa 215 kW.

Avendo a disposizione una portata di acqua calda pari a 12 m³/h ad una temperatura di circa 70 °C, è possibile calcolare l'area teorica dello scambiatore di calore necessaria per garantire lo scambio di 215 kW tramite l'equazione 3.3

$$Q = U \cdot A \cdot \delta T_{ML} \quad (3.3)$$

con U coefficiente globale di scambio (pari a $800 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{K}^{-1}$) e δT_{ML} differenza di temperatura media logaritmica tra acqua e fango.

L'area teorica risulta essere $6,4 \text{ m}^2$, inferiore a quella effettiva di $4,2 \text{ m}^2$, facendo risultare lo scambiatore sottodimensionato. Inoltre, la mancata coibentazione delle tubazioni aggiunge ulteriori perdite termiche non considerate negli 11 kW calcolati.

Per queste ragioni la temperatura effettiva di fermentazione è stata, nella fase I, significativamente minore dei $31,5 \text{ }^\circ\text{C}$ ipotizzati in fase progettuale.

Fase II

In questa fase, caricando direttamente il fango addensato nel fermentatore, e riscaldando con la pompa di ricircolo (funzionante 24 h/d), il calcolo della potenza termica necessaria viene modificato. La portata di fango da utilizzare in equazione 2.1 non è più la portata istantanea in uscita dall'addensatore dinamico, ma la portata giornaliera caricata divisa per le 24 ore . Mantenendo invariati gli altri valori, la potenza termica necessaria per scaldare il fango addensato si riduce perciò a 85 kW (96 kW conteggiano le perdite del fermentatore).

In questo modo, lo scambiatore risulta adeguato per le esigenze richieste.

Il non raggiungimento della temperatura desiderata in questa fase di esercizio è perciò imputabile alle perdite termiche nelle tubazioni non coibentate (prevista nei lavori di adeguamento ma non ancora realizzata) e al sottodimensionamento della pompa di ricircolo. Quest'ultima è stata fornita da un altro impianto poiché inutilizzata, ma sembra essere non adeguata alle performance richieste. Questa ipotesi, seppur molto probabile, non si può considerare certa per via della mancanza di un misuratore di portata installato nella tubazione di mandata della pompa stessa.

3.2 Prove di denitrificazione in manometria

Lo scopo delle prove è stimare il tasso di denitrificazione ottenuto con diverse fonti di carbonio utilizzate come substrato di crescita dai batteri denitrificanti, nonché la percentuale di nitrato rimosso a fine prova. Inoltre, è di interesse confrontare ratei di rimozione diversi, se presenti, per il medesimo substrato dovuti alla differente biodisponibilità di più composti contenuti nel substrato stesso.

Per le prove con acetato sintetico, la condizione sempre testata è quella con il nitrato come substrato limitante ($\text{COD}/\text{N} = 10$); tale condizione permette di ottenere il massimo rateo di denitrificazione. Per le altre soluzioni testate, il rapporto COD/N è stato variato, ottenendo sia prove con COD limitante che prove con nitrato limitante.

Come detto nel capitolo 2.2, le soluzioni testate sono acetato di sodio sintetico (A), frazione liquida del fango fermentato ottenuto nell'impianto di Sesto San Giovanni (F) e due soluzioni idroalcoliche fornite da *SECAM* (SCM, SCA). Nella quasi totalità delle prove è stata altresì testata la capacità denitrificante dei batteri con il solo carbonio endogeno come substrato (prove E)

Le prove con i prodotti *SECAM* hanno un forte interesse pratico, in quanto vengono impiegati nell'impianto di Sesto San Giovanni come fonte esterna di carbonio nel processo di post-denitrificazione del trattamento con biomassa adesa (biofiltrazione).

Nelle figure 3.11, 3.12 e 3.13 sono riportati gli andamenti grafici delle mmoli di N_2 sviluppate nelle prove di denitrificazione in funzione del tempo trascorso da inizio prova. Al fine di rendere i grafici leggibili, è riportato un solo grafico per tipologia di replicato; i restanti, se utilizzati nelle elaborazioni dei risultati, sono riportati in appendice.

Si sono evidenziati, all'interno dei grafici, i punti utilizzati per stimare il rateo di rimozione del nitrato, secondo un'interpolazione lineare valutata per i punti con andamento rettilineo (vedasi spiegazione successiva e tabella 3.8). Da questa valutazione sono state escluse le prove che mostravano un andamento del tutto incoerente con quello atteso da letteratura (Ficara et al. 2009) a causa di errori sperimentali quali, ad esempio, perdita di gas dalle bottiglie.

Si noti che il confronto tra i diversi substrati non può essere effettuato a partire dal solo andamento delle curve, in quanto le moli di azoto sviluppate sono intrinsecamente legate alla concentrazione iniziale di nitrato, variabile per le diverse prove (vedasi Tab. 2.2 in paragrafo 2.2).

Le tabelle 3.6 e 3.7 contengono i risultati numerici delle prove. In Tab.3.6 sono mostrati i risultati delle interpolazioni lineari effettuate per ogni prova, ossia il rateo calcolato e il coefficiente di determinazione R^2 , indice della bontà della stima effettuata. Per ottenere la stima più accurata, sono state effettuate diverse regressioni lineari per tutti i batch A, F e SC (Tab.3.8). È stata quindi selezionata la regressione con coefficiente di determinazione maggiore, evidenziata in grassetto. Come si può osservare, per le interpolazioni selezionate, il valore minimo di R^2 registrato è stato pari al 0,9447 per la prova D₆A(b). Nella maggior parte dei casi tale valore è risultato pressoché unitario; ciò indica che i dati utilizzati per l'interpolazione lineare si sono sempre dimostrati statisticamente adeguati, rendendo le premesse teoriche soddisfatte nella fase di elaborazione dei dati sperimentali.

Vengono invece riportati in Tab.3.7 il numero di replicati considerati nell'elaborazione, il COD/N impostato inizialmente, la rimozione percentuale del nitrato rispetto alla concentrazione iniziale (sia grazie alla misura di concentrazione finale che a partire dai dati di pressione come esposto in sezione 2.2), il rateo di denitrificazione calcolato (valor medio se utilizzati entrambi i replicati), il coefficiente di variazione (rapporto tra deviazio-

ne standard e media) ottenuto nel calcolo del rateo medio quando sono stati considerati entrambi i replicati e il rapporto tra il rateo ottenuto per lo specifico substrato rispetto a quello calcolato nella medesima prova utilizzando acetato di sodio come fonte di carbonio.

3.2.1 Discussione prove D

Prova D₁ Osservando il grafico riportato in figura 3.11a, viene individuato un trend lineare monotonamente crescente. Viene inoltre raggiunto un massimo per entrambe le curve, a seguito del quale la pressione² si mantiene costante, indice dell'esaurimento di uno o più substrati.

Il rateo di denitrificazione ottenuto con il liquido fermentato è leggermente superiore (102%) rispetto a quanto ottenuto con la soluzione di acetato sintetico. Una trattazione più approfondita riguardante questo confronto, comprensiva anche dei risultati ottenuti negli altri set di prove, è riportata successivamente nella discussione generale.

Sia a partire dai dati di pressione che dalle analisi tramite kit cromatografico, in entrambe le prove il nitrato è stato completamente consumato. Tale risultato era atteso per le prove A, ma non necessariamente per le prove F. Essendo infatti il liquido fermentato una miscela di diversi composti, non era noto a priori il rapporto COD/N stechiometrico per tale soluzione. In questo caso quindi, poiché è stato rimosso tutto il nitrato presente e avendo la pressione raggiunto un valore costante, il rapporto COD/N pari a 5 è risultato essere stechiometrico o sovra-stechiometrico³.

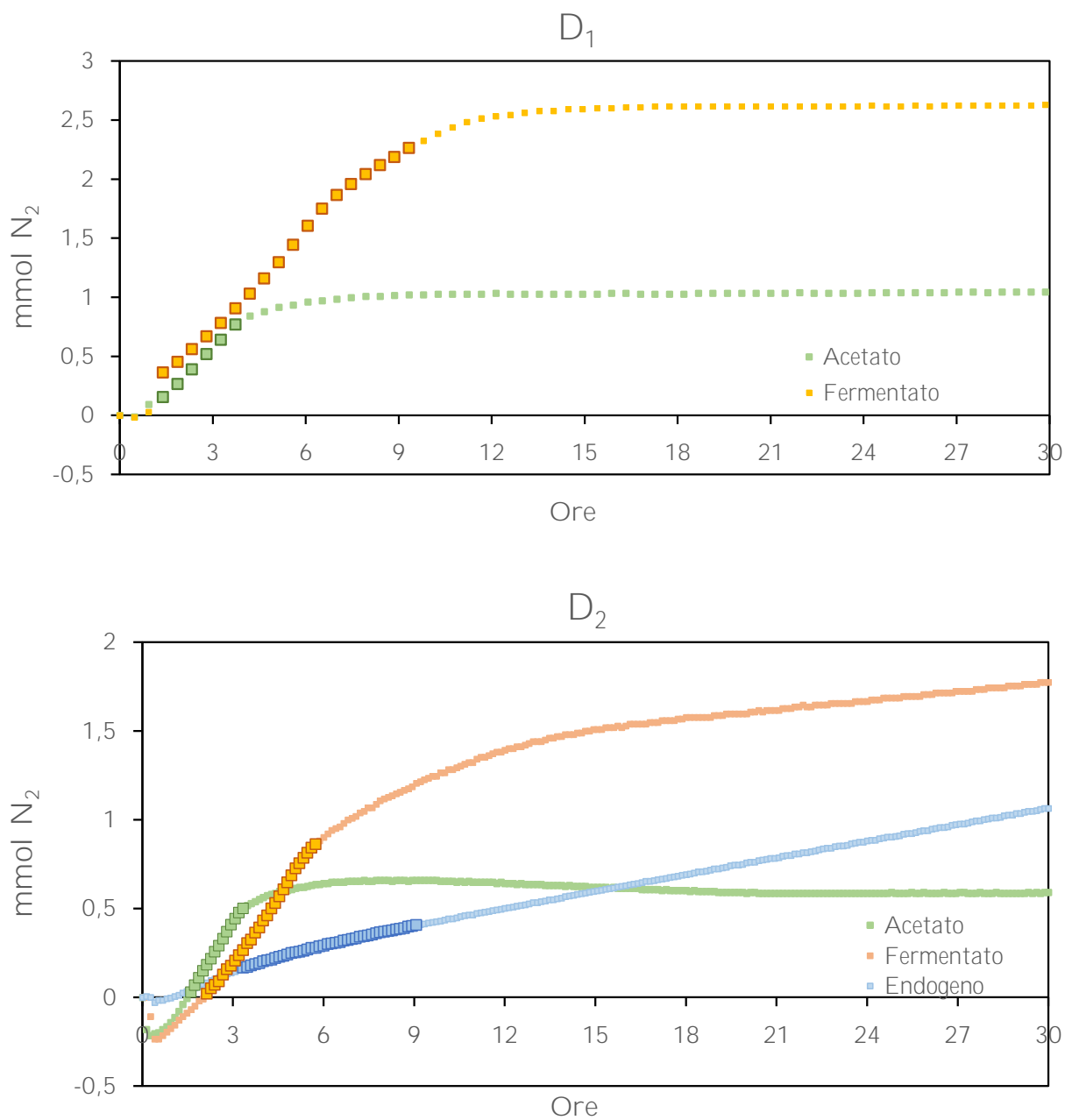
Nella prova D₁ solo un replicato per ogni substrato non è stato interessato da errori sperimentali (perdite di gas).

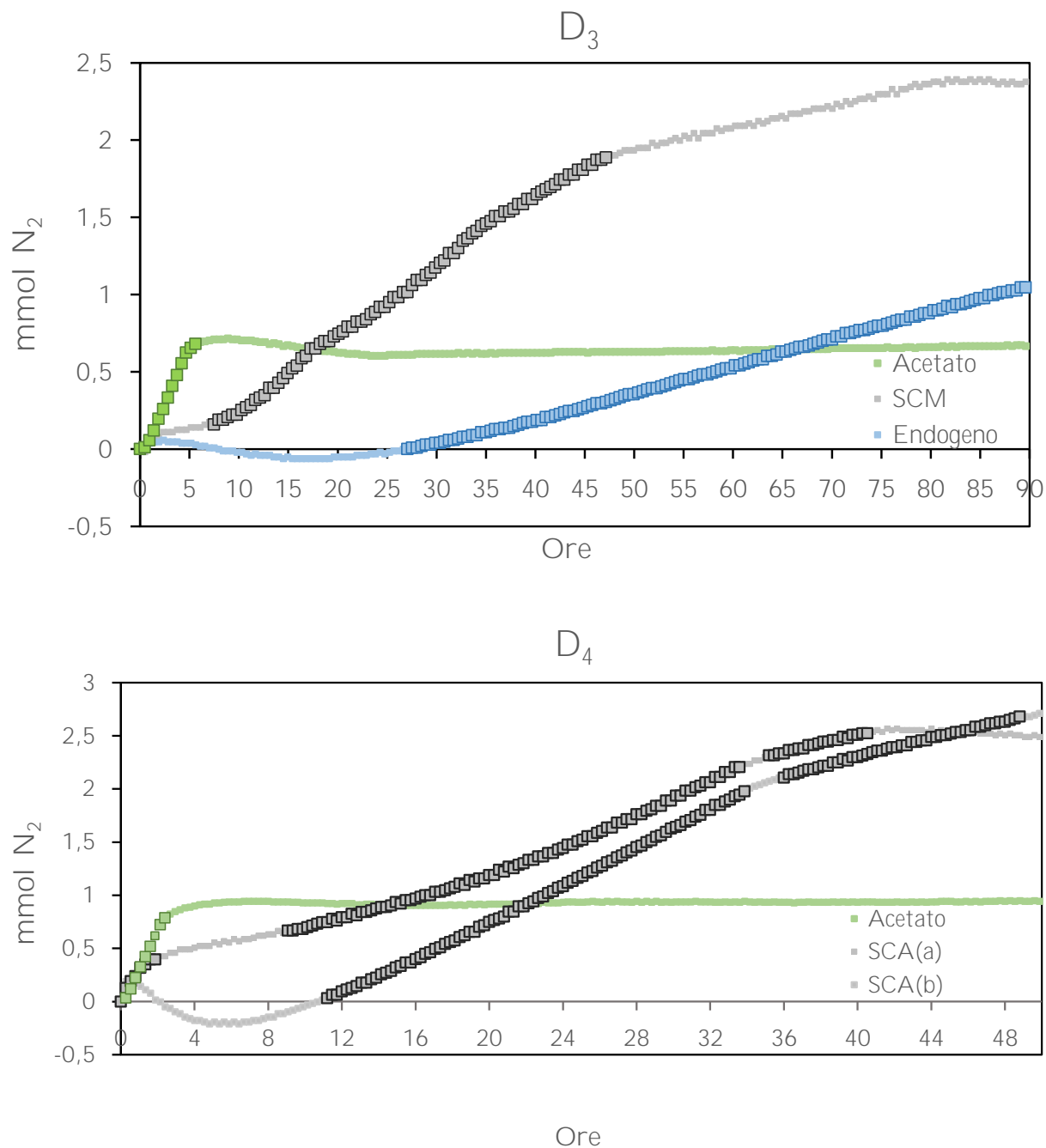
Prova D₂ In questo caso sono stati aggiunti due replicati per testare la denitrificazione con il solo carbonio endogeno, senza cioè fonti di carbonio esterne. Queste prove sono utilizzate per eliminare il contributo della denitrificazione endogena nel calcolo del potenziale di denitrificazione delle soluzioni utilizzate negli altri batch. Inoltre, per confronto con le prove E, è possibile individuare eventuali andamenti riconducibili alla denitrificazione endogena nelle prove F, SCM ed SCA nel caso in cui il COD riconducibile a tali soluzioni venga esaurito prima del nitrato.

In generale, è importante sottolineare come il contributo del carbonio endogeno non sia prevedibile a priori in quanto tale contributo deriva dall'idrolisi di parte del COD particolato della biomassa, trasferito in fase liquida, durante lo svolgimento della prova stessa.

²Nonostante nei grafici riportati in ordinata non sia presente la pressione ma le mmol di N₂ sviluppate, il rapporto che sussiste tra le due grandezze è di proporzionalità secondo la legge dei gas perfetti. Talvolta ci si riferirà quindi alla pressione nel commento dei grafici

³Per una discussione più approfondita sul rapporto COD/N vedasi il capitolo 1.1.5.2

Figura 3.11: Risultati prove denitrificazione D₁ e D₂

Figura 3.12: Risultati prove denitrificazione D₃ e D₄

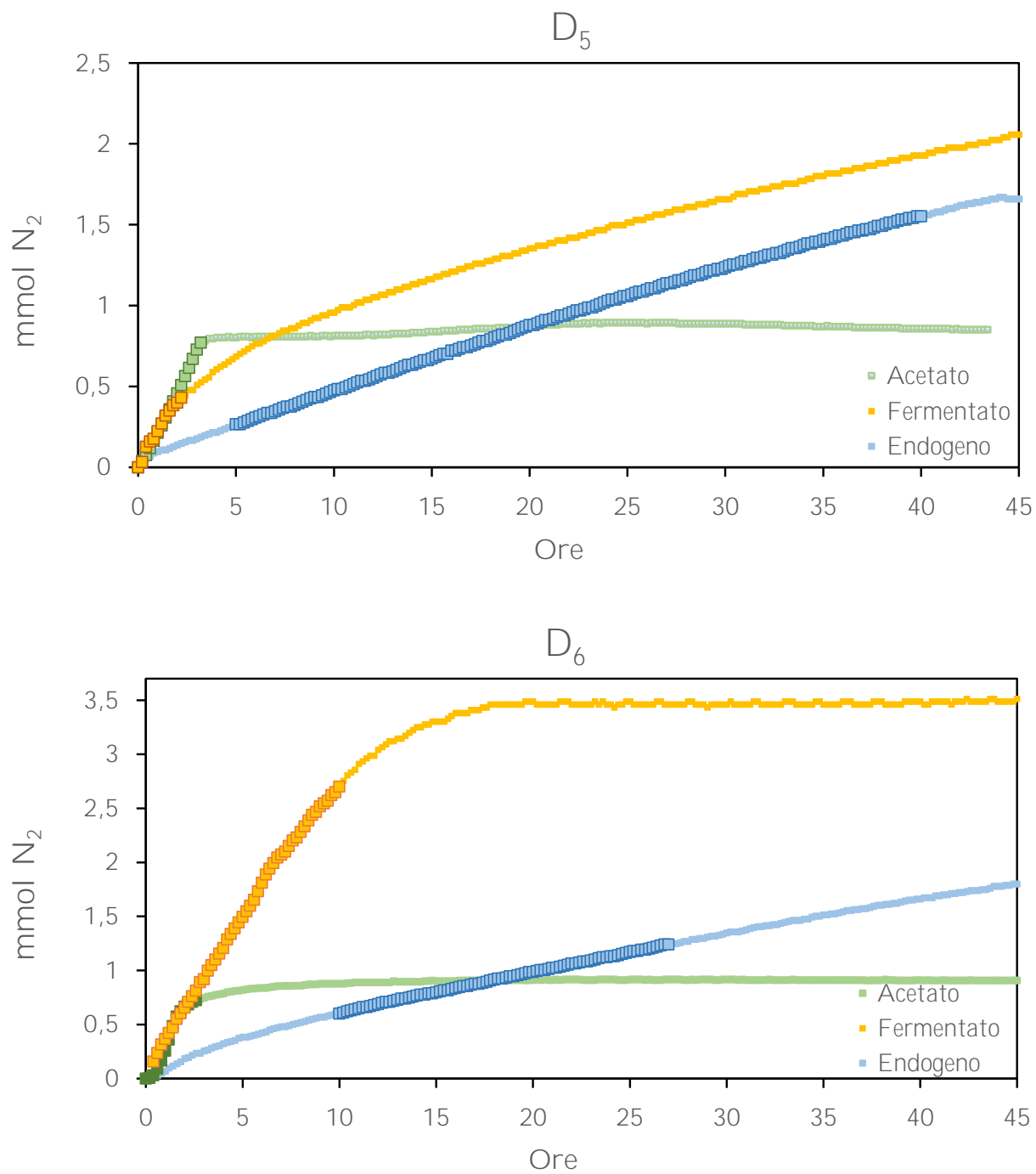
Figura 3.13: Risultati prove denitrificazione D₅ e D₆

Tabella 3.6: Risultati dell'interpolazione lineare effettuata per il calcolo del rateo di denitrificazione (N.B. per le prove D₄SCA sono stati calcolati due ratei per ogni batch)

Data campionamento	Prova	Rateo ($\text{mgNO}_3^- \cdot \text{gvss}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	R ² regressione
12-dic	<i>D</i> ₁ <i>A</i>	3,31	0,9995
	<i>D</i> ₁ <i>F</i>	3,37	0,9931
18-dic	<i>D</i> ₂ <i>A</i> (<i>a</i>)	3,46	0,9990
	<i>D</i> ₂ <i>A</i> (<i>b</i>)	3,36	0,9998
	<i>D</i> ₂ <i>F</i>	3,39	0,9968
	<i>D</i> ₂ <i>E</i> (<i>a</i>)	0,37	0,9998
	<i>D</i> ₂ <i>E</i> (<i>b</i>)	0,32	0,9998
15-gen	<i>D</i> ₃ <i>A</i> (<i>a</i>)	1,47	0,9964
	<i>D</i> ₃ <i>A</i> (<i>b</i>)	1,61	0,9914
	<i>D</i> ₃ <i>SCM</i> (<i>a</i>)	0,71	0,9977
	<i>D</i> ₃ <i>SCM</i> (<i>b</i>)	0,62	0,9966
	<i>D</i> ₃ <i>E</i> (<i>a</i>)	0,22	0,9990
	<i>D</i> ₃ <i>E</i> (<i>b</i>)	0,22	0,9989
5-feb	<i>D</i> ₄ <i>A</i>	3,20	0,9987
	<i>D</i> ₄ <i>SCA</i> (<i>a</i>)	2,46	0,9919
		0,76	0,9867
	<i>D</i> ₄ <i>SCA</i> (<i>b</i>)	-	-
28-feb	<i>D</i> ₅ <i>A</i> (<i>a</i>)	3,51	0,9970
	<i>D</i> ₅ <i>A</i> (<i>b</i>)	3,47	0,9982
	<i>D</i> ₅ <i>F</i>	3,68	0,9813
	<i>D</i> ₅ <i>E</i>	0,58	0,9977
3-mar	<i>D</i> ₆ <i>A</i> (<i>a</i>)	3,65	0,9600
	<i>D</i> ₆ <i>A</i> (<i>b</i>)	3,63	0,9447
	<i>D</i> ₆ <i>F</i> (<i>a</i>)	5,89	0,9964
	<i>D</i> ₆ <i>F</i> (<i>b</i>)	5,96	0,9963
	<i>D</i> ₆ <i>E</i> (<i>a</i>)	0,51	0,9996
	<i>D</i> ₆ <i>E</i> (<i>b</i>)	0,45	0,9995

Tabella 3.7: Risultati sperimentali prove di denitrificazione

Prova	COD/N	Replicati considerati	Nitrato rimosso (dati C)	Nitrato rimosso (dati P)	Media rateo $\text{mgNO}_3^- \cdot \text{gvss}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	Coefficiente variazione rateo	Rapporto rateo/rateo acetato
D_{1A}	10	1	100%	121%	3,31	-	-
D_{1F}	5	1	99%	103%	3,37	-	102%
D_{2A}	10	2	-	77%	3,41	1,5%	-
D_{2F}	2,5	1	-	90%	3,39	-	100%
D_{2E}	0	2	-	25%	0,35	7,2%	10%
D_{3A}	10	2	99%	79%	1,54	4,6%	-
D_{3SCM}	2,9	2	100%	54%	0,67	7,1%	43%
D_{3E}	0	2	56%	29%	0,22	0,5%	14%
D_{4A}	10	1	100%	105%	3,20	-	-
D_{4SCA}	1,8	1	100%	68%	2,46	-	77%
		2			0,89	14,6%	28%
D_{5A}	10	2	100%	93%	3,49	0,5%	-
D_{5F}	1,8	1	58%	52%	3,68	-	105%
D_{5E}	0	1	43%	35%	0,58	-	17%
D_{6A}	10	2	100%	110%	3,64	0,3%	-
D_{6F}	4	2	100%	97%	5,93	0,6%	163%
D_{6E}	0	2	58%	51%	0,48	5,9%	13%

Tabella 3.8: Coefficiente di determinazione per regressioni lineari effettuate su diversi punti

Prova	Interpolazione 1	Interpolazione 2	Interpolazione 3	Interpolazione 4
D_1A	0,9995	0,9707	0,9296	0,9626
D_1F	0,9931	0,9926	0,9795	0,9636
D_2A	0,9990	0,9125	0,9740	0,9440
D_2F	0,9952	0,9080	0,9968	0,9328
$D_3A(a)$	0,9964	0,8921	0,9707	
$D_3A(b)$	0,9914	0,9125	0,9748	
$D_3SCM(a)$	0,9977	0,9903	0,9973	
$D_3SCM(b)$	0,9966	0,9771		
D_4A	0,9987	0,9952	0,9005	
$D_4SCA(a)$	0,9861	0,9919		
$D_4SCA(b)$	0,9993	0,9959		
$D_5A(a)$	0,9968	0,9970	0,9729	
$D_5A(b)$	0,9982	0,9978	0,9903	
D_5F	0,9767	0,9813	0,9652	
$D_6A(a)$	0,9308	0,9600	0,8455	
$D_6A(b)$	0,8968	0,9447	0,8789	
$D_6F(a)$	0,9964	0,9960	0,9946	
$D_6F(b)$	0,9963	0,9958	0,9934	

Osservando le curve in figura 3.11b, si nota una importante depressione nelle curve A e F ad inizio prova. Ciò è presumibilmente dovuto ad una non efficiente deossigenazione dello spazio di testa. I batteri utilizzano l'ossigeno residuo come accettore di elettroni, preferito rispetto al nitrato, causando quindi una riduzione della pressione.

Inoltre, osservando la curva A, si nota un andamento decrescente dopo il massimo della curva. Poiché la denitrificazione con acetato si è esaurita in pochissime ore (picco a circa 6h), l'assorbimento dell'anidride carbonica grazie alle pastiglia di soda potrebbe non essere altrettanto rapido quanto il rilascio da parte del processo biologico. Inizialmente verrebbe perciò conteggiata anche l'anidride carbonica nella misura di pressione, successivamente rimossa grazie alla soda, causando una decrescita della curva. Una ulteriore causa di questa decrescita potrebbe essere l'accumulo di ossido di azoto, intermedio di reazione nel processo di denitrificazione. Essendo infatti 1:1 il rapporto molare tra l'azoto presente nell'ossido NO e l'azoto presente nel nitrato (anziché 2:1 come nel caso dell'azoto molecolare), per la legge dei gas perfetti un eventuale accumulo di ossido di azoto porterebbe ad una diminuzione della pressione registrata.

Nel batch F, dopo circa la quindicesima ora, si nota una crescita lineare con pendenza molto più contenuta rispetto ai tratti iniziali della curva. Ciò è riconducibile alla denitrificazione tramite carbonio endogeno in quanto la pendenza calcolata corrisponde ad un rateo di $0,27 \text{ mgNO}_3^- \cdot \text{gssv}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, comparabile con quanto ottenuto nelle prove E. Il rapporto COD/N pari a 2,5 ha permesso quindi di condurre questa prova in cui il carbonio del liquido fermentato è risultato essere il substrato limitante del processo.

In termini di ratei calcolati, la prova D₂ mostra risultati molto simili a quanto ottenuto nella prova D₁, sia in termini assoluti che relativi: il rateo calcolato nelle prove con liquido fermentato è pari al 100% di quello ottenuto con acetato. Il rateo di denitrificazione delle prove E è invece pari al 10% rispetto a quello delle prove A.

Inoltre, per le prove A ed E, sono stati considerati entrambi i replicati. Il rateo medio della due prove è caratterizzato da un coefficiente di variazione molto contenuto, indice della buona replicabilità delle prove condotte in doppio.

Prova D₃ Il batch A (Fig. 3.12a) mostra un andamento coerente con le prove D₁ e D₂ e, anche in questo caso, successivamente al massimo si osserva una leggera decrescita come già notato nella prova D₂.

La prova SCM mostra un non trascurabile tempo di lag, ossia un ritardo tra l'inizio della prova e l'effettivo sviluppo di gas. Come riportato in Ficara et al. (2009), ciò può essere dovuto sia al tempo necessario per la biomassa di convertire il proprio metabolismo da aerobico ad anaerobico, sia per una non completa deossigenazione dello spazio testa

(come già osservato nella prova D₂). Successivamente si nota un lungo tratto lineare, caratterizzato da un rateo di rimozione pari, mediamente, al 43% di quello ottenuto con acetato nel medesimo set di prove. Dopo circa 50 h si osserva un cambio di pendenza, con un andamento lineare più contenuto (rateo $0,22 \text{ mgNO}_3^- \cdot \text{gssv}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, non evidenziato in figura ed in tabella), indice di un utilizzo del carbonio endogeno come substrato. Un valore di COD/N pari a 2,9 è quindi sottostechiometrico per questa soluzione a base di metanolo.

La prova E mostra un lungo tempo di lag, toccando anche valori di pressioni negative. Le ragioni sono le medesime discusse per il batch SCM. Finita la fase di lag, si osserva un andamento lineare costante.

Tutti i batch delle D₃ sono stati utilizzati nelle elaborazioni; i coefficienti di variazione ottenuti nel calcolo sono contenuti, indicando anche in questo caso una buona replicabilità delle prove in doppio.

Grazie ai valori riportati in tabella 3.7, si può osservare una forte discrepanza tra la rimozione percentuale di nitrato calcolata a partire dal dato di pressione e la stessa grandezza calcolata tramite kit cromatografico. Essendo che la rimozione del nitrato è calcolata a partire dalla massima pressione registrata, quest'ultima tiene conto della diminuzione di pressione relativa al consumo di ossigeno che avviene nelle fasi iniziali del processo. È quindi attesa una differenza consistente nei due valori che indicano l'abbattimento del nitrato ogni qual volta si osservi un tempo di lag iniziale o una depressione nelle curve di denitrificazione.

Confrontando il rateo ottenuto nelle prove D₃A con le altre prove con acetato svolte in tempi differenti, si osserva una diminuzione sostanziale di tale valore. Lo stesso si può dire per le prove D₃E. Le ragioni sono presumibilmente imputabili ad un non ottimale funzionamento del processo a fanghi attivi dell'impianto di Sesto San Giovanni al momento del campionamento. Anche a scala di impianto infatti, le concentrazioni di nitrato e ammonio in uscita dal trattamento a fanghi attivi hanno mostrato un andamento anomalo rispetto ai valori tipici di impianto. La concentrazione di azoto totale in uscita dal trattamento a fanghi attivi è infatti mediamente pari a 12 mg/L, mentre in corrispondenza del campionamento tale valore è risultato essere 20 mg/L. La temperatura in vasca è sicuramente un fattore fondamentale da considerare per spiegare questo andamento, in quanto la stagione invernale è la più critica per il trattamento a fanghi attivi in quanto rallenta le cinetiche di rimozione. Ciò nonostante, la concentrazione di azoto totale media nel mese di Dicembre, paragonabile per temperatura registrate in vasca, è risultata essere

pari a 13 mg/L. Sebbene non siano presenti dati a supporto di questa ipotesi, fattori quali un'età del fango troppo alta o il verificarsi di un potenziale redox non negativo, possono aver influito sulla capacità denitrificante della biomassa.

Per questa ragione, per quanto riguarda il rateo di denitrificazione calcolato per la soluzione SCM, è utile considerare il suo rapporto rispetto all'acetato (43%) piuttosto che il valore assoluto, che dipende dall'attività denitrificante del fango di inoculo.

Prova D₄ Entrambi i batch (Fig. 3.12b) non mostrano tempo di lag nè depressioni, così come dopo i rispettivi massimi non si osservano trend decrescenti.

La prova A mostra un andamento coerente con i precedenti set di prove, così come un rateo di denitrificazione di $3,20 \text{ mgNO}_3^- \cdot \text{gssv}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, confrontabile con le prove D₁ e D₂.

La prova SCA(a), mostra tre differenti trend lineari da cui sono stati calcolati tre ratei (2,46 , 0,76 e 0,40 $\text{mgNO}_3^- \cdot \text{gssv}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$). La prova SCA(b) ha invece mostrato una sola pendenza riconducibile al soluzione idroalcolica dosata (con rateo pari a $1,02 \text{ mgNO}_3^- \cdot \text{gssv}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), mentre se ne può osservare una seconda indice di una denitrificazione con carbonio endogeno (con rateo pari a $0,51 \text{ mgNO}_3^- \cdot \text{gssv}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$).

Si può quindi assumere che il secondo rateo della prova SCA(a) sia il medesimo del primo rateo osservato nella prova SCA(b), che risulta, mediamente $0,89 \text{ mgNO}_3^- \cdot \text{gssv}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$.

É possibile pertanto ricavare due distinti ratei riconducibili a sostanze diverse presente all'interno della soluzione SCA, il cui contenuto è infatti descritto dal produttore come una soluzione a base di alcol etilico e alcol metilico. Tuttavia, a causa delle discrepanze evidenziate tra i due replicati, non è possibile trarre conclusioni univoche sul rapporto COD/N utilizzato.

Prova D₅ Come mostrato in figura 3.13(a), nessun batch mostra una fase di lag iniziale nè delle depressioni dovute al consumo di ossigeno residuo. Ciò è coerente con il calcolo del nitrato rimosso, confrontabile per entrambe le metodologie analitiche.

Le prove A ed E mostrano andamenti coerenti con quanto evidenziato nelle prove precedenti.

Il batch F mostra due distinte pendenze, la prima riconducibile al liquido fermentato mentre la seconda relativa al carbonio endogeno (a partire da circa 15h da inizio prova, non evidenziata in figura) il cui rateo di denitrificazione risulta $0,53 \text{ mgNO}_3^- \cdot \text{gssv}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Un rapporto COD/N pari a 1,8 è quindi sicuramente sotto-stechiometrico per questa soluzione. Questa conclusione è anche confermata dal fatto che solo 55% circa del nitrato è stato consumato a fine prova, in quanto la cinetica lenta della denitrificazione con carbonio endogeno richiederebbe tempi più lunghi della durata della prova stessa.

Per i batch A è stato possibile considerare entrambi i replicati, che si sono dimostrati quantitativamente identici: il coefficiente di variazione nel calcolo del rateo medio è infatti pari 0,5%.

Prova D₆ Gli andamenti grafici dei batch D₆ sono riportati in figura 3.13(b). Anche in questo caso gli andamenti sono monotoni crescenti, con il raggiungimento di un massimo per le prove A ed F.

La prova A è coerente con quanto precedentemente descritto negli altri set di prove, così come il batch F. Inoltre, la prova A non mostra alcun trend decrescente talvolta osservato nelle prove con acetato di sodio.

La prova F mostra una sola pendenza precedentemente al raggiungimento dello stato stazionario. Questo aspetto, insieme al calcolo del nitrato rimosso (sia a partire dai dati di pressione che attraverso la misura di concentrazione), indica che il rapporto COD/N pari a 4 è risultato essere stechiometrico o sovra-stechiometrico. In questo caso il rateo di denitrificazione medio calcolato ($5,93 \text{ mgNO}_3^- \cdot \text{gssv}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) è significativamente superiore a quanto ottenuto con acetato, ossia pari al 163% rispetto a quest'ultimo. Le ragioni verranno discusse nel successivo paragrafo.

Infine, sono stati considerati entrambi i batch per tutte le prove effettuate, con coefficienti di variazione molto contenuti.

Discussione riassuntiva denitrificazione Fondamentale per la discussione dei risultati delle prove con liquido fermentato è il frazionamento dei VFA contenuti nella soluzione, riportato in figura 3.14. Le percentuali riportate nel grafico si riferiscono alla concentrazione dei singoli acidi, espressa in termini di COD, rispetto alla concentrazione totale.

A scopo riassuntivo, in tabella 3.9 sono riportati i ratei di denitrificazione con fermentato rispetto a quanto ottenuto con acetato nel medesimo set di prove.

La prova D₆F ha mostrato un incremento consistente rispetto alle altre prove DF. Il frazionamento dei VFA per tale substrato mostra una percentuale di acido acetico significativamente maggiore del substrato utilizzato nelle altre prove, avvenuto principalmente a discapito degli acidi butirrico, valerico ed i rispettivi isomeri. La percentuale di acido propionico è infatti comparabile con quella degli altri set sperimentali.

Per queste ragioni, si può affermare che il rateo di denitrificazione per il mix di VFA prodotto tramite fermentazione dei fanghi di depurazione è risultato confrontabile con quello ottenuto con acetato sintetico quando le percentuali di acido acetico sono intorno al 30% e quelle di acido propionico comprese tra il 30% e 35%. Quando invece la percentuale di acido acetico aumenta fino a circa il 40%, a parità di concentrazione dell'acido propionico, il rateo è risultato significativamente maggiore. Esistono perciò diverse comunità

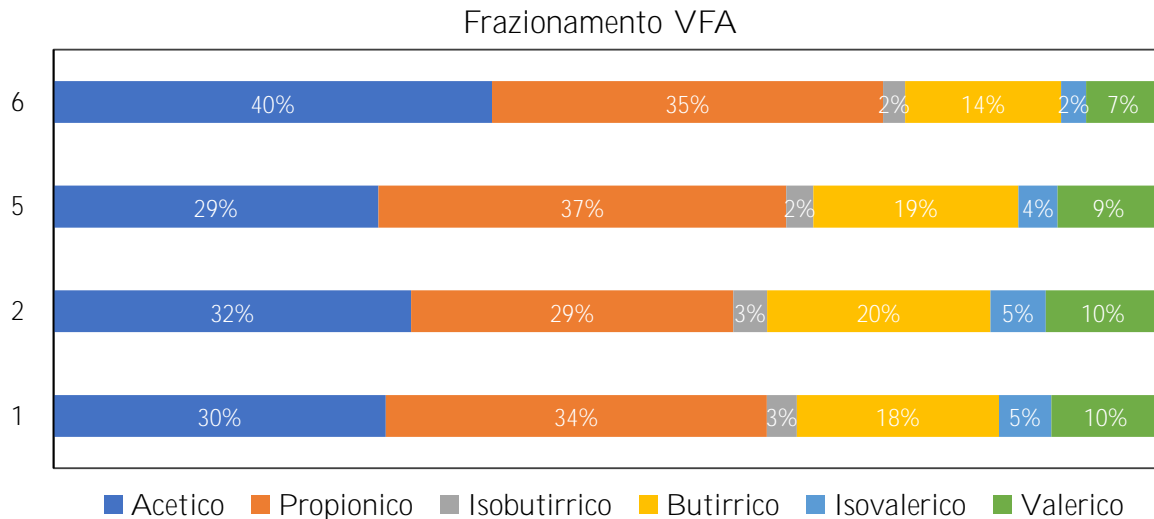


Figura 3.14: Composizione VFA (percentuali espresse in termini di COD) tramite gas cromatografo del liquido fermentato utilizzato nelle prove D_1 , D_2 , D_5 e D_6

Tabella 3.9: Riassunto ratei prove denitrificazione con liquido fermentato

Prova	Rateo relativo
D_1F	102%
D_2F	100%
D_5F	105%
D_6F	163%

batteriche in grado di sfruttare simultaneamente i diversi acidi presenti nella miscela. Il consumo non avviene in serie ma in parallelo, risultando in un rateo complessivo maggiore di quanto ottenuto con i singoli acidi (come riportato da Yatong (1996) e Argenio (2019)). In particolare, visti i dati sulla composizione di VFA appena discussi, ciò avviene per acido acetico e propionico.

Ulteriori fattori che possono aver positivamente inciso sull'incremento del rateo del fermentato nella prova D_6 sono un apporto significativo di nutrienti contenuti in esso ed un adattamento delle comunità batteriche presenti nelle vasche di denitrificazione dell'impianto ai VFA dosati. Tuttavia, anche qualora questi fattori possano aver inciso sul rateo, non ci si aspetta che il contributo sia stato consistente.

Per quanto riguarda le prove senza l'aggiunta di fonti esterne di carbonio, il rateo calcolato, relativamente alle medesime prove con acetato è variato dal 10% al 17%, con un valore medio del 14%.

In tabella 3.10 è riportato il calcolo del potenziale di denitrificazione, parametro che

Tabella 3.10: Calcolo potenziale di denitrificazione. Per le prove SCM, SCA e 6F il valore riportato è la media tra i due replicati

Prova	Potenziale denitrificazione (mg N – NO ₃ ⁻ / mgCOD)
<i>D₂F</i>	0,12
<i>D₃SCM</i>	0,12
<i>D₄SCA</i>	0,30
<i>D₅F</i>	0,11
<i>D₆F(a)</i>	0,19

esprime la potenzialità di trattamento del nitrato per il substrato considerato. Tale parametro è calcolabile dividendo la massa di nitrato rimossa per la quantità di COD presente o per il volume di liquido contenuto nel batch. Per rendere confrontabili le prove svolte in tempi diversi e con substrati differenti, il potenziale di denitrificazione viene calcolato a partire dalla concentrazione di COD presente ad inizio prova. Essendo infatti il volume di lavoro differente in ogni bottiglia, non è significativo confrontare il potenziale di denitrificazione ottenuto con questo dato.

La massa di nitrato rimossa considerata nel calcolo è stata solo quella relativa al substrato di interesse, eliminando le fasi della prova in cui tali soluzioni sono state esaurite (ed è quindi iniziato il processo di denitrificazione del carbonio endogeno). La stessa denitrificazione con carbonio endogeno, comunque presente anche nella fasi iniziali, è stata sottratta per poter ottenere il potenziale netto per il liquido fermentato e soluzioni idroalcoliche. Il calcolo è stato effettuato per via integrale, sottraendo all'area sottesa dalla porzione di curva di denitrificazione con la soluzione di interesse il contributo della denitrificazione endogena, ottenuto nello stesso modo (a partire dalla pendenza calcolata per i punti della medesima curva caratterizzati da tale pendenza).

Il potenziale più alto è stato quindi ottenuto per la soluzione idroalcolica A (a base di etanolo e metanolo). Sebbene il potenziale di denitrificazione per il fermentato sia più contenuto però, considerati i tempi di residenza nelle vasche a fanghi attivi (nell'ordine di 2-3 h), il rateo di denitrificazione continua ad essere il parametro principale da considerare nella scelta della soluzione più adatta per rendere più efficiente il processo.

A partire dal potenziale di denitrificazione è possibile ottenere il coefficiente di resa cellulare Y_H , che esprime la frazione di COD assimilata per le reazioni anaboliche, tramite l'equazione 3.4

$$DP^{-1} = \frac{2,86}{1 - Y_H} \quad (3.4)$$

con DP potenziale di denitrificazione e 2,86 rapporto stechiometrico tra C ed N-NO₃

· nella reazione di denitrificazione.

Per il fermentato si ottiene quindi un coefficiente di resa cellulare medio pari a 0,59 gVSS-COD/gCOD (intervallo 0,43 - 0,69), a fronte di un valore di 0,67 gVSS-COD/gCOD indicato come valor medio (ASM1) nella denitrificazione con il COD solubile presente nelle acque reflue.

3.3 BMP

Nella fermentazione acidogenica parte del COD presente nel fango viene convertito in VFA che, grazie alla pressa a vite, vengono separati nel liquido inviato al trattamento a fanghi attivi. Parte del COD quindi non sarebbe più disponibile per la conversione a metano nel digestore anaerobico. Tuttavia, la separazione della fase di acidogenesi da quella di metanogenesi permette di aumentare le rese complessive del processo (ad esempio del 32% per reattori mesofili, Leite et al. (2016)), a parziale compensazione della perdita di sostanza organica associata ai VFA reinviati alla linea acque. È stato pertanto effettuato un confronto dei BMP del fango ispessito e del fango fermentato, per indagare quale dei due aspetti sopracitati sia preponderante.

In figura 3.15 sono riportate le produzioni di metano nette specifiche, riferite quindi alla massa di solidi volatili del substrato presente in ogni bottiglia. Come evidente dal grafico, della prova BMP_2 si hanno a disposizione i dati solo per i primi 8 giorni, a causa dell'impossibilità di accedere, al momento, ai dati della prova.

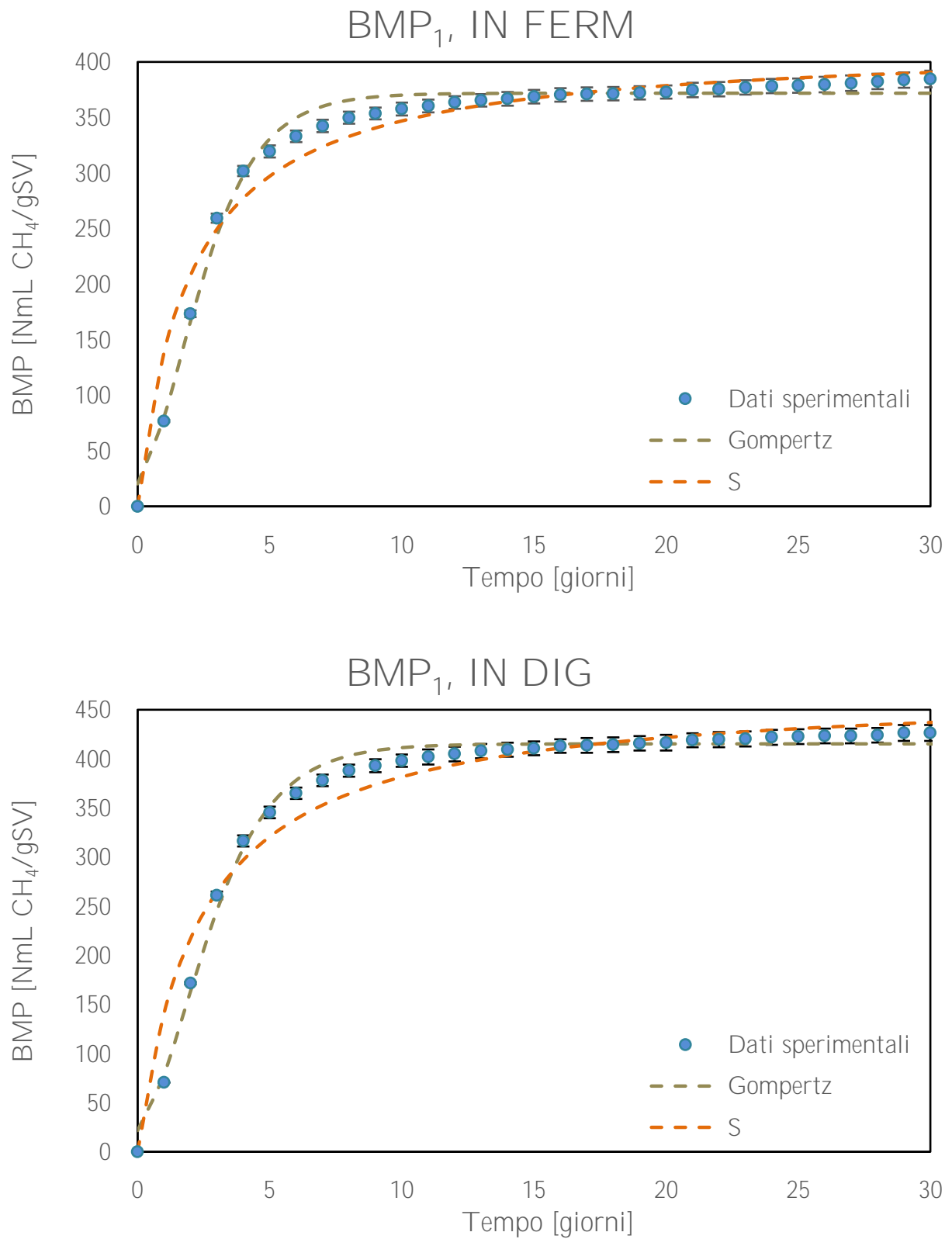
Nei medesimi grafici sono altresì riportate due possibili modellazioni del processo di digestione anaerobica, secondo l'equazione di Gompertz modificata, eq. 3.5 e secondo un andamento ad esse, eq. 3.6 (K. M. Tjørve e E. Tjørve 2017).

$$V(t) = V_{\infty} \cdot \exp\left[-\exp\left(\frac{k \cdot e}{V_{\infty}}\right) \cdot (\lambda - t) + 1\right] \quad (3.5)$$

$$V(t) = V_{\infty} \cdot \left[1 - \left(\frac{1}{1 + \frac{tb}{a}}\right)\right] \quad (3.6)$$

I risultati della stima dei parametri secondo il modello modificato di Gompertz sono illustrati in tabella 3.11. È stato riportato il dettaglio della stima dei parametri solo per l'equazione di Gompertz in quanto è risultata, rispetto alla curva ad esse, quella che meglio interpola i dati sperimentali sia qualitativamente (Fig. 3.15 e 3.16) che quantitativamente, minimizzando la somma del quadrato degli scarti.

Il parametro V_{∞} esprime la produzione massima attesa di metano (espressa come $\text{NmL CH}_4/\text{gVS}$), il parametro k il massimo rateo di produzione ($\text{NmL CH}_4 \cdot \text{gVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) e λ il tempo di lag (ritardo). Per la prova di BMP_1 quindi, il rateo massimo specifico è

Figura 3.15: Risultati modellistici prova di BMP_1

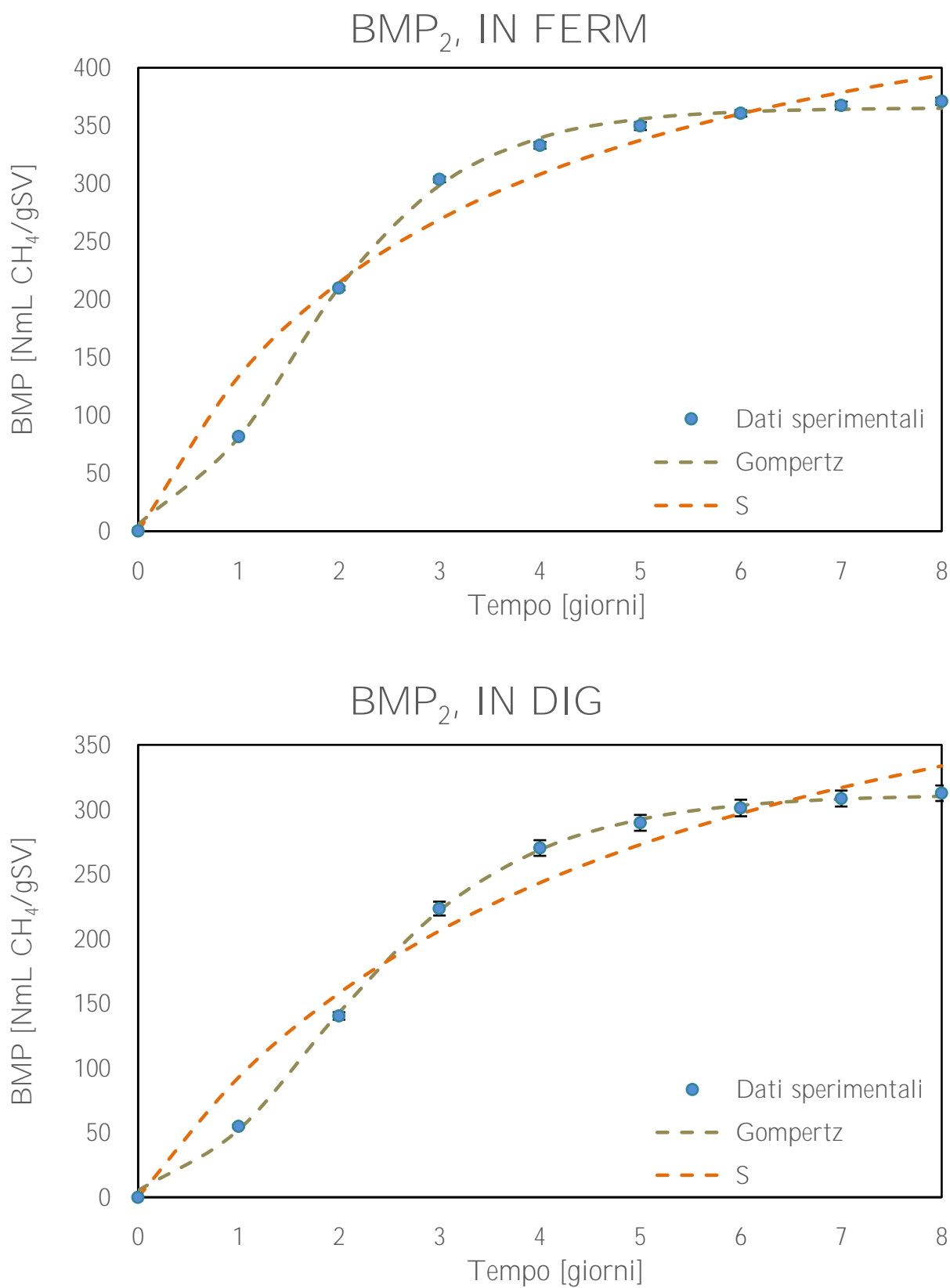
Figura 3.16: Risultati modellistici prova di BMP_2

Tabella 3.11: Risultati modellistici prove di BMP

	Prova	V_{∞} (NmL CH ₄ /gVS)	k (NmL CH ₄ · gVS ⁻¹ · d ⁻¹)	λ (d)
BMP ₁	IN FERM	372	88	0,11
	IN DIG	415	88	0,15
BMP ₂	IN FERM	365	135	0,42
	IN DIG	312	95	0,50

risultato essere lo stesso per i due fanghi, mentre la produzione massima attesa è risultata differente, confermando il trend osservato nei dati sperimentali. Per la prova BMP₂ invece, il campione *IN FERM* ha mostrato un rateo massimo specifico considerevolmente superiore rispetto a quanto ottenuto nel secondo batch.

Effettuando la medesima stima modellistica esprimendo il metano prodotto ed il substrato dosato in termini di COD, è possibile esprimere il parametro cinetico k con l'unità di misura d⁻¹. I parametri utilizzati nella conversione, ricavati dal modello ADM, sono 0,35 L_{CH₄}/gCOD e 1,5 gCOD/gSV.

Per le 4 prove, il minimo valore ottenuto è stato pari a 0,17 d⁻¹ (entrambi i campioni della prova BMP₁) mentre il massimo registrato è stato 0,26 d⁻¹ (fango in fermentazione della prova BMP₂). Tali valori sono coerenti con quanto riportato in letteratura (Elbeshbishy et al. 2012).

Analizzando invece i punti sperimentali, le prove *BMP₁ IN DIG* mostrano come il fango fermentato, dopo essere stato disidratato dalla pressa a vite e successivamente ridiluito, abbia un BMP di 430 NmL CH₄/gVS, superiore a 390 NmL CH₄/gVS ottenuto per il fango addensato dinamicamente (*IN FERM*). Ciò indicherebbe che i benefici derivanti da una più efficace fase di idrolisi nel reattore di fermentazione ed ai VFA residui nel fango disidratato siano superiori al COD perso nella separazione solido/liquido.

Viceversa, seppur il processo non sia terminato, nella prova BMP₂ si osserva il trend opposto, con il fango ispessito avente, al giorno 8, un BMP superiore (370 NmL CH₄/gVS) rispetto a quanto osservato per il fango alimentato in digestione anaerobica (310 NmL CH₄/gVS).

Confrontando i dati di impianto, la sonda pH installata in linea indicava un pH di 5,4 il giorno corrispondente al campionamento di fango utilizzato nella prova BMP₁, ed un pH pari a 5,5 in corrispondenza della prova BMP₂. Inoltre, l'analisi del laboratorio CAP sul separato liquido della pressa a vite svolte contemporaneamente alla prova BMP₁, indicano una concentrazione di sCOD pari a 9,3 g/L; la medesima analisi condotta il giorno precedente alla prova BMP₂ è risultata essere 8,9 g/L.

Per quanto pH acidi favoriscano la fase di idrolisi (Gao et al. 2011), rendendo disponibile maggiore substrato per le fasi successive del processo di digestione, una differenza

così contenuta non sembra essere in grado di spiegare il trend opposto osservato per le due prove. Allo stesso modo, un incremento pari al 5% della concentrazione sCOD nel liquido fermentato, indice di una maggiore concentrazione di VFA nel fango fermentato (e di conseguenza nel fango pressato), è da considerarsi poco rilevante.

Inoltre, poiché la caratterizzazione dei fanghi si limita alla determinazione di ST e SV, fattori esterni che possano aver influenzato il campionamento istantaneo dei fanghi, quali ad esempio variazioni nella composizione chimica del fango (ad esempio COD totale, concentrazione di carboidrati, proteine e lipidi) che possano influenzare significativamente la prova non possono essere considerati nell'interpretazione dei risultati.

Per queste ragioni, per trarre conclusioni riguardo a come il processo di fermentazione influenzi la produzione di metano, sono necessarie ulteriori prove di BMP, da eseguire inoltre previa caratterizzazione più approfondita dei substrati utilizzati.

In generale, la prova BMP₁ in cui il processo biologico è terminato, ha permesso di ottenere valori BMP elevati se confrontati con quanto riportato in letteratura (Leite et al. 2016; Jensen et al. 2014), ad indicare un fango particolarmente produttivo.

3.4 Prove di fermentazione in batch a diversa temperatura

In tabella 3.12 sono riportati i risultati analitici delle prove (espressi, eccetto che per il pH, in mg/L), mentre in Tab. 3.13 sono illustrati i dati di monitoraggio di miscelazione e temperatura.

In accordo con quanto riportato in letteratura (Sosnowski et al. 2008; Gavala et al. 2003), le fasi di idrolisi e acidificazione sono solitamente caratterizzate da una cinetica di ordine uno, del tipo illustrato in equazione 3.7.

$$C(t) = C_0 \cdot \exp(K_1 \cdot t) \quad (3.7)$$

con $C(t)$ ad indicare la concentrazione al tempo t , C_0 la concentrazione iniziale e k_1 la costante cinetica.

Le costanti cinetiche relative ai processi di acidificazione e idrolisi delle proteine vengono quindi ricavate attraverso l'interpolazione lineare dei punti riportati nei grafici di figura 3.17a e 3.17b. Le ordinate esprimono il logaritmo naturale del rapporto tra $C(t)$ e C_0 , linearizzando cioè l'equazione 3.7. $C(t)$ e C_0 si riferiscono alla concentrazione di ammonio per la stima dell'idrolisi delle proteine (il contributo dell'azoto contenuto nella biomassa del fango di supero è considerata trascurabile, in quanto la concentrazione di

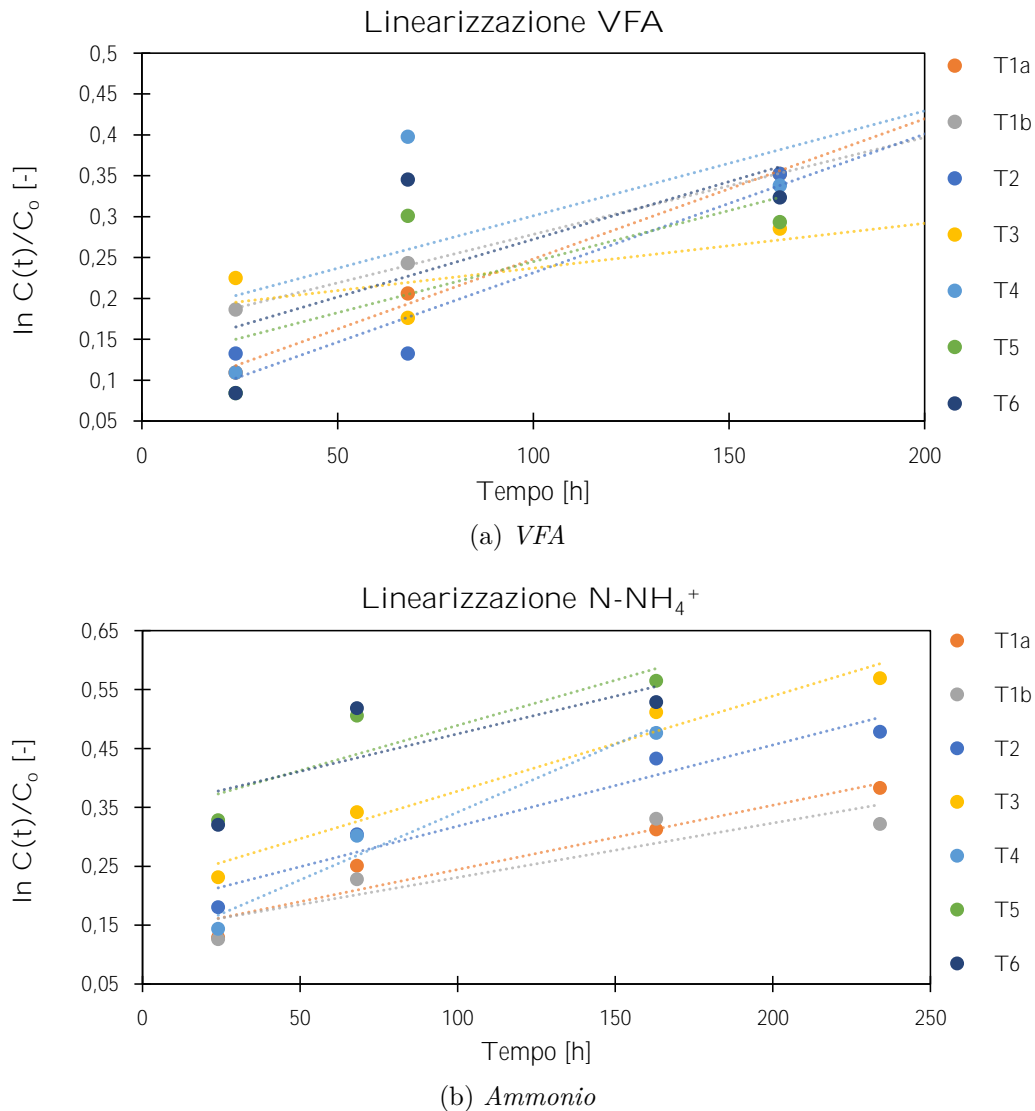


Figura 3.17: Linearizzazione dati di concentrazione

quest'ultimo nel fango misto è inferiore al 10% gST/gST) e alle concentrazioni di VFA espresse in termini di COD per la stima della k di acidificazione.

Per valutare l'effetto della temperatura sul valore delle costanti cinetiche, sono state realizzate le elaborazioni riportate in figura 3.18a e 3.18b, con in ascissa la temperatura media effettiva calcolata a partire dalle rilevazioni giornaliere, come riportato in Tab. 3.13.

Come visibile dal grafico di figura 3.18a, i risultati ottenuti a partire dalla concentrazione di VFA non sembrano indicare una relazione significativa ed evidente tra la costante del primo ordine (acidificazione) e la temperatura di fermentazione. Per valutare la bontà della stima effettuata attraverso la regressione lineare quindi, sono stati calcolati gli estremi dell'intervallo di confidenza al 95% per la stima del parametro k . In figura 3.19a, le barre di errore rappresentano gli estremi di tale intervallo. Come già deducibile dal

Tabella 3.12: Risultati analitici fermentazione in batch, valori espressi in mg/L

Prova	Parametro	0 h	24 h	68 h	163 h	234 h
T1a	N-NH ₄ ⁺	120	160	200	240	180
	sCOD	3000	3800	5000	5700	6400
	VFA-COD	2800	3600	4500	6300	4800
	pH	5,31		5,18	5,03	5,06
T1b	N-NH ₄ ⁺	120	160	200	250	240
	sCOD	3000	3900	3900	5800	6200
	VFA-COD	2800	4300	4900	6300	6000
	pH	5,31		5,13	5,03	5,02
T2	N-NH ₄ ⁺	120	180	230	310	350
	sCOD	3000	4100	5400	6800	7000
	VFA-COD	2800	3800	3800	6300	6700
	pH	5,31		5,05	5,03	5,06
T3	N-NH ₄ ⁺	120	200	250	380	430
	sCOD	3000	4500	6100	7700	7900
	VFA-COD	2800	4700	4200	5400	6500
	pH	5,31		4,97	5,07	5,12
T4	N-NH ₄ ⁺	120	160	230	350	460
	sCOD	3000	4400	6000	7200	7900
	VFA-COD	2800	3600	7000	6100	6200
	pH	5,31		4,97	5,04	5,18
T5	N-NH ₄ ⁺	120	250	370	420	
	sCOD	3000	4800	6300	8300	
	VFA-COD	2800	3400	5600	5500	
	pH	5,31		5,23	5,25	
T6	N-NH ₄ ⁺	120	240	380	390	
	sCOD	3000	4900	6600	7800	
	VFA-COD	2800	3400	6200	5900	
	pH	5,31		5,73	5,83	

Tabella 3.13: Temperatura misurata e controllo miscelazione prove fermentazione in batch

Prova		24 h	68 h	140 h	163 h	185 h	234 h	Media
T1a	T [°C]	22	22	22	22	22	22	25,5
	Miscelazione	Buona	Buona		Buona		Buona	
T1b	T [°C]	22	22	22	22	22	22	25,5
	Miscelazione	Buona	Buona		Buona		Buona	
T2	T [°C]	25	26	25	25	26	26	25,5
	Miscelazione	Buona	Buona		Buona		Buona	
T3	T [°C]	29	30	29	33	29	30	30
	Miscelazione		Buona		Buona		Buona	
T4	T [°C]	31	31		31		35	32
	Miscelazione	Pessima	Buona		Buona	Scarsa	Buona	
T5	T [°C]	36	36	35	37			36
	Miscelazione	Buona	Buona		Buona			
T6	T [°C]	42	39,5	40	40			40,4
	Miscelazione	Scarsa	Buona		Buona			

grafico di figura 3.18a quindi, non è statisticamente possibile trarre conclusioni riguardo alla dipendenza della costante cinetica relativa alla sintesi dei VFA dalla temperatura di fermentazione.

Le cause principali di queste problematiche sono:

- La non adeguata miscelazione osservata in alcuni batch (T4 e T6)
- La temperatura non costante dei bagni in cui sono state immerse le bottiglie (in particolare i batch T3 e T6)
- Il consumo di VFA nel processo di metanogenesi, specialmente per le temperatura più alte

Quest'ultimo aspetto non è stato monitorato tramite l'analisi del gas sviluppato nel processo, ma è evidente dalla diminuzione della concentrazione di VFA dopo circa 5 giorni per le prove T1 e dopo circa 3 giorni per le prove T5 e T6. Inoltre, sono presenti evidenti dati anomali quali ad esempio la diminuzione della concentrazione di VFA nella prova T3 tra il giorno 1 ed il giorno 3, oltre che numerosi casi in cui la concentrazione di VFA è risultata superiore all'analisi del COD solubile.

Per quanto riguarda l'idrolisi delle proteine, la linearizzazione effettuata per i batch T1, T2, T3 e T4 porta ad ottenere degli intervalli di confidenza contenuti (Fig. 3.19b)

rendendo la stima affidabile. Ciò è altresì visibile dall'andamento mostrato nel grafico di figura 3.18b, in cui si osserva un valore di k crescente con la temperatura. I valori di k ottenuti per le diverse prove sono compresi tra il valore di $2,22 \cdot 10^{-2} \text{ d}^{-1}$ (T1) e il valore di $5,52 \cdot 10^{-2} \text{ d}^{-1}$ (T4), valori comparabili con quanto ottenuto da G. Yang et al. (2015) per il fango primario.

Viceversa, per i batch T5 e T6 si sono osservate le medesime problematiche evidenziate per la stima della costante di acidificazione, che non permettono quindi di trarre conclusioni riguardo a tali valori di temperatura.

Essendo l'idrolisi la fase cinetica limitante per il processo di digestione anaerobica (Leite et al. 2016), è possibile fare un confronto tra la costante cinetica ottenuta per l'idrolisi delle proteine con la costante cinetica calcolata per le prove di BMP, nell'ipotesi quindi che il fango testato sia costituito per larga parte da molecole proteiche. Gli intervalli ottenuti sono, rispettivamente, $2,22-5,52 \cdot 10^{-2} \text{ d}^{-1}$ e $0,17 - 0,26 \text{ d}^{-1}$. L'ordine di grandezza che differenzia i due intervalli indica che il processo di digestione, nelle condizioni operative in cui sono stati svolti i test, è significativamente più rapido rispetto al processo di idrolisi delle proteine nella fermentazione.

Alcuni fattori che possono spiegare la discrepanza osservata sono

- Diverso rapporto F/M: 0,65-0,85 nei BMP e 1,1 nelle prove di fermentazione in batch
- Dosaggio di oligoelementi nelle prove di BMP, mancante nelle prove di fermentazione
- Miglior controllo di temperatura e miscelazione nelle prove di BMP
- Stima dei parametri secondo due modelli cinetici differenti (Gompertz e cinetica esponenziale del primo ordine)
- Diversi fanghi di inoculo utilizzati e tempo intercorso tra campionamento della biomassa ed esecuzione delle prove differente (l'inoculo utilizzato per la fermentazione è stato conservato refrigerato per 15 giorni circa)
- Possibile differenza nella frazione di biomassa effettivamente attiva rispetto ai solidi volatili presenti nei fanghi di inoculo

La ripetizione di queste prove con un migliore controllo di temperatura e miscelazione, un monitoraggio del gas prodotto nel processo e campionamenti più frequenti, era prevista ma non si è stati in grado di procedere per l'impossibilità di accedere alle strutture.

Questi risultati sono perciò da considerarsi come un'indicazione metodologica per successive sperimentazioni.

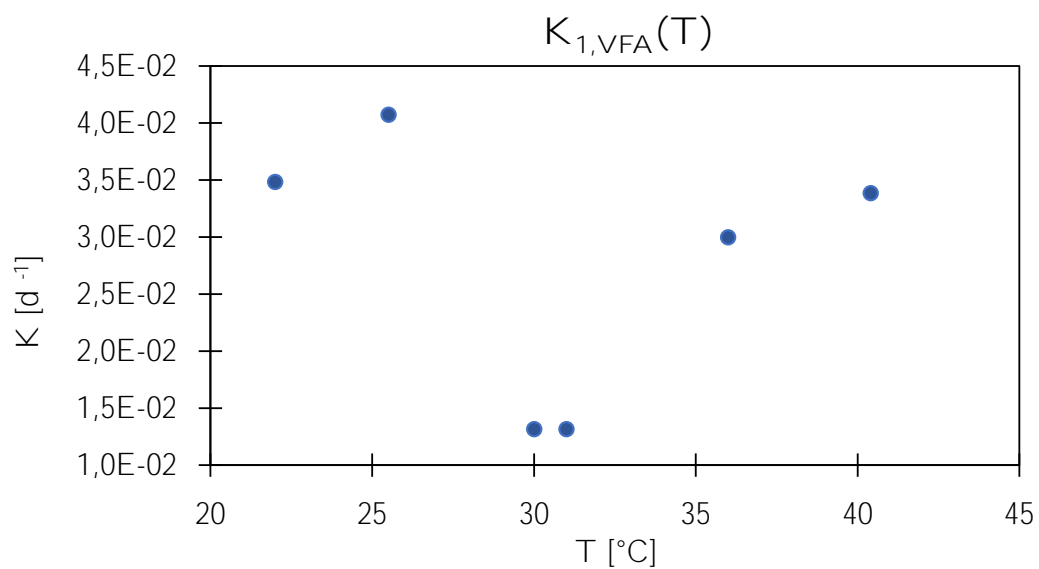
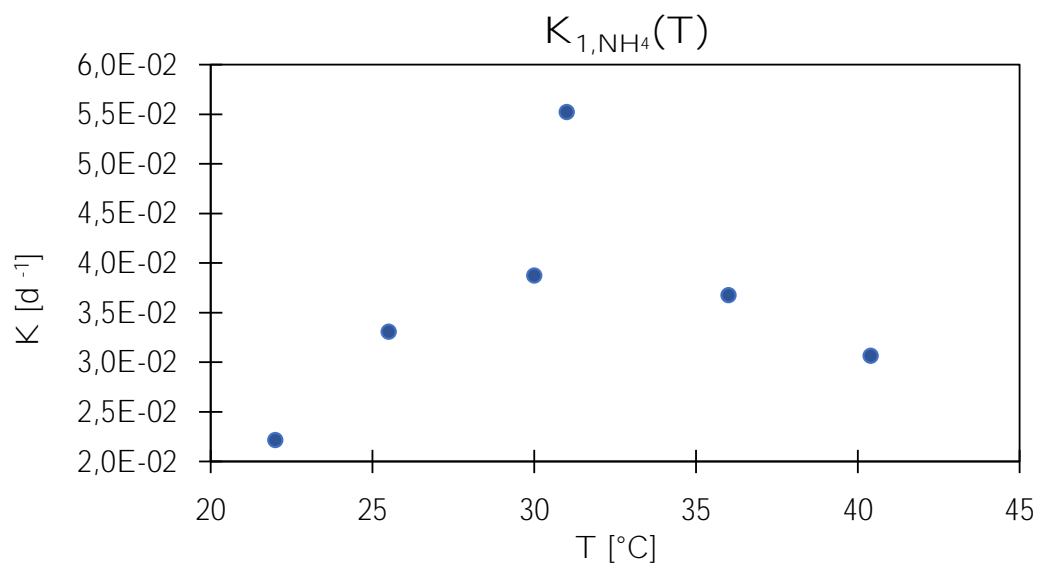
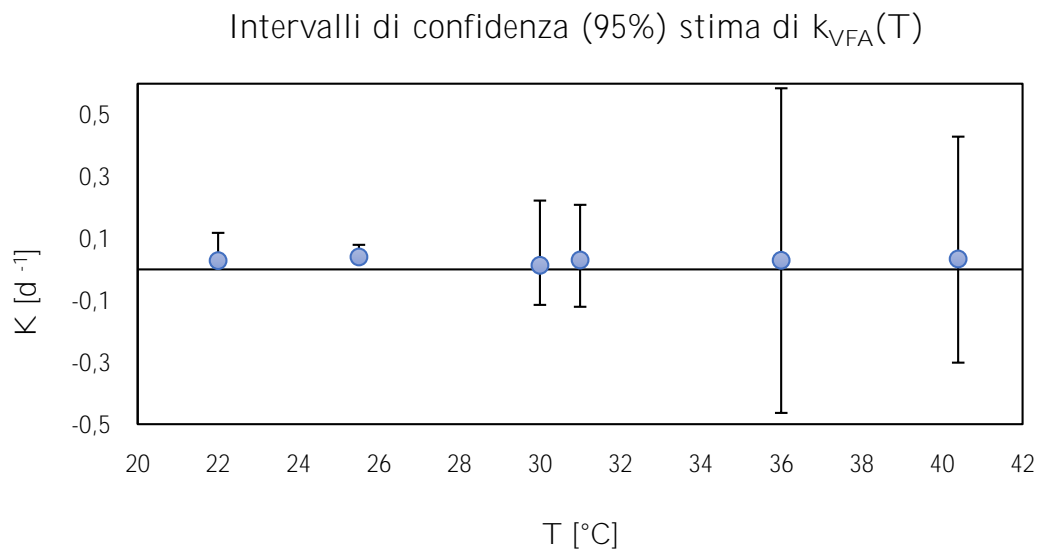
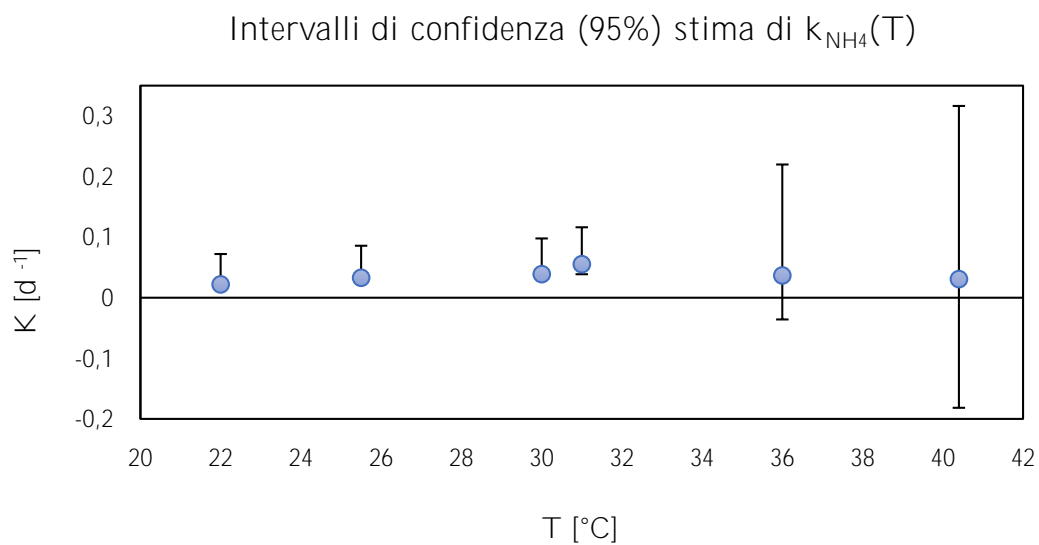
(a) *VFA*(b) *Ammonio*

Figura 3.18: Costante cinetica del primo ordine in funzione della temperatura



(a) *VFA*



(b) *Ammonio*

Figura 3.19: Estremi intervallo di confidenza al 95% per la stima delle costanti cinetiche

Capitolo 4

Conclusioni

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di seguire l'avviamento di un impianto a scala reale, progettato per la produzione di acidi grassi volatili attraverso il processo di fermentazione dei fanghi di depurazione delle acque reflue. Alla fase di avviamento è seguito un periodo di monitoraggio ed ottimizzazione del processo della durata di circa 120 giorni. Nonostante sussistano ancora alcune problematiche tecniche, i risultati ottenuti mostrano come sia stato possibile produrre mediamente $650 \text{ kg}_{\text{VFA-COD}}/\text{d}$, con una resa di acidificazione media di $0,18 \text{ g}_{\text{VFA-COD}}/\text{g}_{\text{SV,in}}$. Passando da un valore di HRT di 2,8 d ad un valore di 10 d, la resa di acidificazione è aumentata da $0,16 \text{ g}_{\text{VFA-COD}}/\text{g}_{\text{SV,in}}$ a $0,21 \text{ g}_{\text{VFA-COD}}/\text{g}_{\text{SV,in}}$. Tramite stima modellistica, è stato ottenuto un legame di proporzionalità iperbolica tra il tempo di residenza medio e la concentrazione di VFA nella frazione liquida del fango fermentato. Per massimizzare la produzione di VFA però, il valore di HRT individuato è pari a circa 3 d, ossia l'HRT minimo per non dilavare la biomassa e garantire la stabilità del processo biologico. L'aumento di portata dovuto alla riduzione del tempo di residenza del fango compensa infatti la minore resa di acidificazione ottenuta.

La temperatura all'interno del fermentatore è stata, tendenzialmente, compresa tra $22 \text{ }^\circ\text{C}$ e $24 \text{ }^\circ\text{C}$; una maggiore efficienza del processo è attesa quando verranno apportati dei miglioramenti alla fase di riscaldamento del reattore. Sono state effettuate delle previsioni modellistiche per stimare l'effetto della temperatura sulla concentrazione di sCOD attesa qualora si raggiunga la temperatura di fermentazione di progetto ($31 \text{ }^\circ\text{C}$), ottenendo incrementi fino al 15%. Nel tentativo di verificare questa ipotesi, sono state condotte delle prove di fermentazione a diversa temperatura alla scala di laboratorio. Problematiche sperimentali non hanno però permesso di trarre conclusioni definitive a riguardo.

La frazione liquida del fango fermentato è utilizzata per migliorare la fase di denitrificazione del processo a fanghi attivi. Al fine di valutare la sua effettiva efficacia, sono state condotte delle prove di denitrificazione in manometria per stimare il rateo di denitrifica-

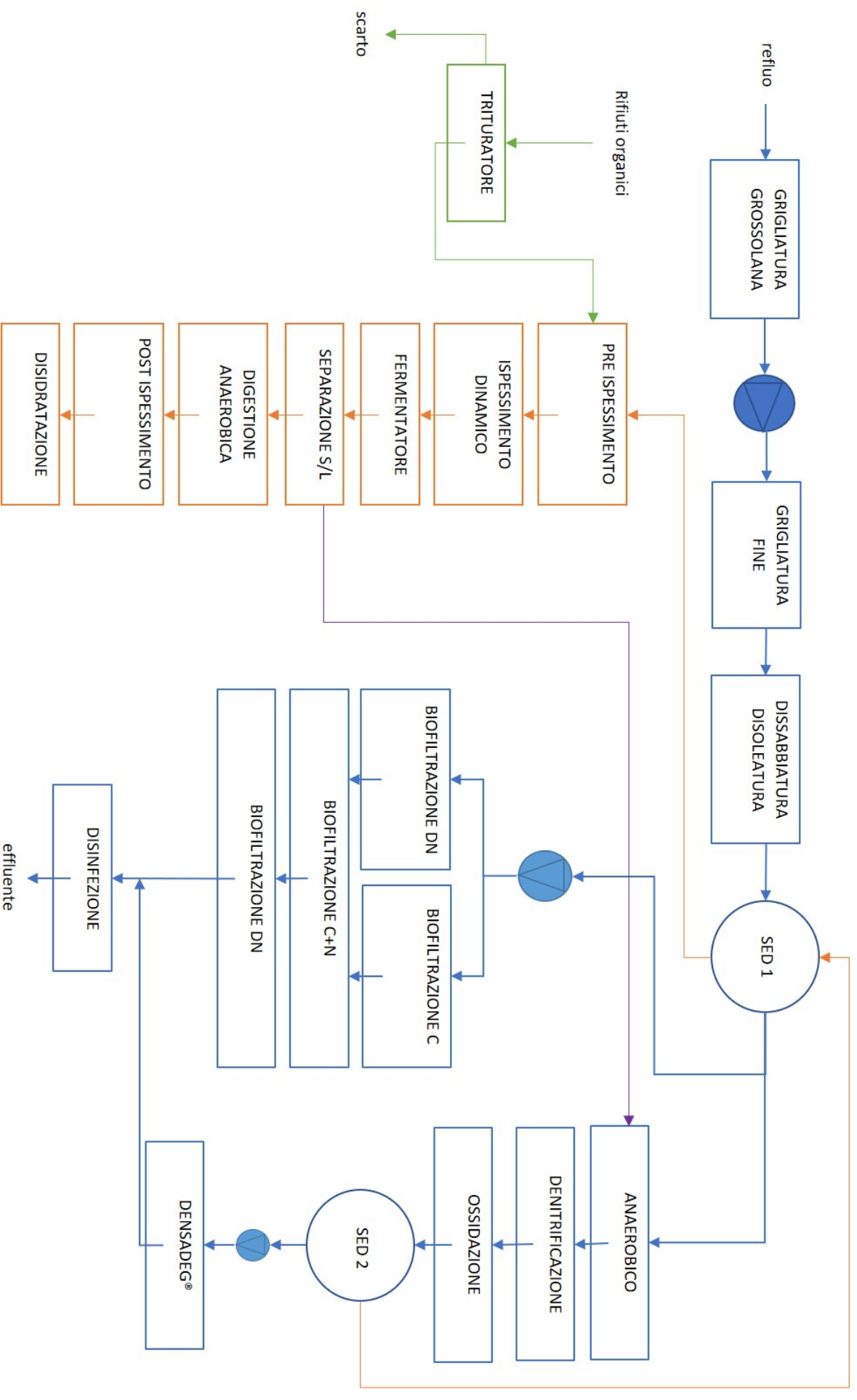
zione della soluzione prodotta. Dal confronto con quanto ottenuto con una soluzione di acetato sintetico (individuato in letteratura come uno dei migliori substrati possibili per il processo), è emerso come, nei casi peggiori, il rateo del fermentato - mediamente pari a $3,5 \text{ mgNO}_3^- \cdot \text{gssv}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ - sia il medesimo dell'acetato; nel caso migliore invece esso è risultato pari al 160% rispetto all'acetato (circa $6 \text{ mgNO}_3^- \cdot \text{gssv}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$). Tali risultati permettono quindi di ipotizzare che il dosaggio del liquido fermentato nel processo di denitrificazione a fanghi attivi impianto porti dei benefici alla resa di rimozione del nitrato.

Per valutare eventuali riduzioni nella produzione di biogas dovute alla perdita di sostanza organica nella fase di fermentazione, sono state svolte due prove di BMP per confrontare la resa del fango prima e dopo la fermentazione. Avendo tratto conclusioni opposte nelle due diverse prove effettuate, si ipotizza che i parametri specifici del processo di fermentazione così come le caratteristiche del fango non costanti nel tempo non permettano di individuare un andamento univoco, quanto piuttosto una attesa variabilità di risultati dovuta a tali fattori. In generale comunque, la produttiva del fango dell'impianto di Sesto San Giovanni è considerevole, avendo ottenuto un BMP per il fango non addensato pari a circa $400 \text{ NmL CH}_4/\text{gVS}$.

Possibili sviluppi futuri del presente lavoro sono

- L'esecuzione di analisi più frequenti nell'impianto di produzione VFA per poter trarre conclusioni più solide riguardo le rese di acidificazione ottenute
- La ripetizione di prove batch alla scala di laboratorio per valutare l'effetto della temperatura sulle cinetiche di fermentazione
- L'esecuzione di ulteriori prove di BMP per trarre conclusioni sulla differenza di resa tra fango fermentato e fango fresco
- Il monitoraggio del processo a fanghi attivi dell'impianto per valutare, anche a scala reale, l'effetto del liquido fermentato sul miglioramento della denitrificazione
- Ultimare i lavori di adeguamento del processo a fanghi attivi per promuovere la rimozione biologica del fosforo, monitorandone quindi l'efficacia

Appendice



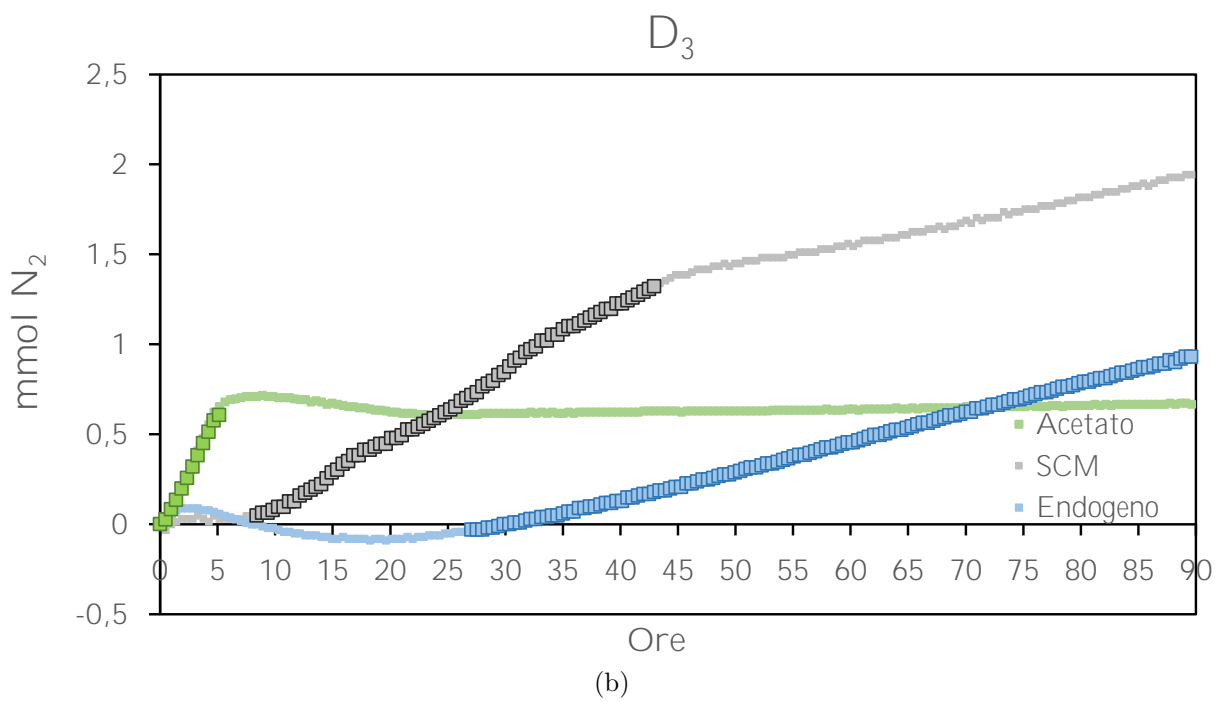
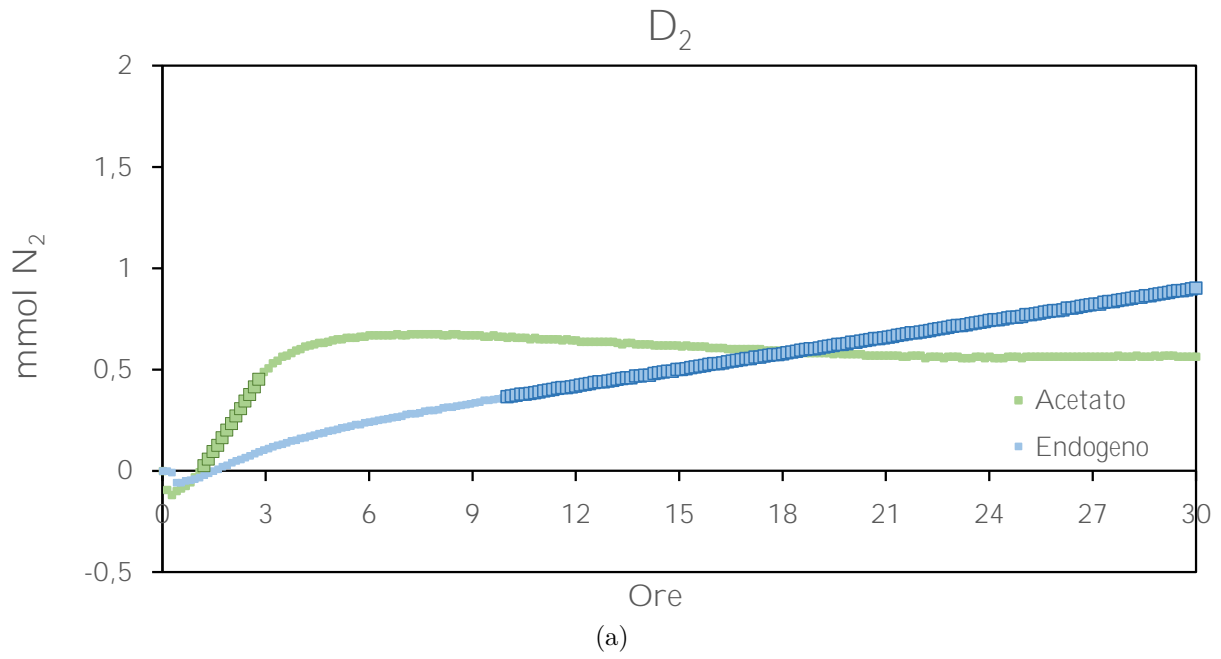


Figura 1: Risultati prove denitrificazione D₂ e D₃

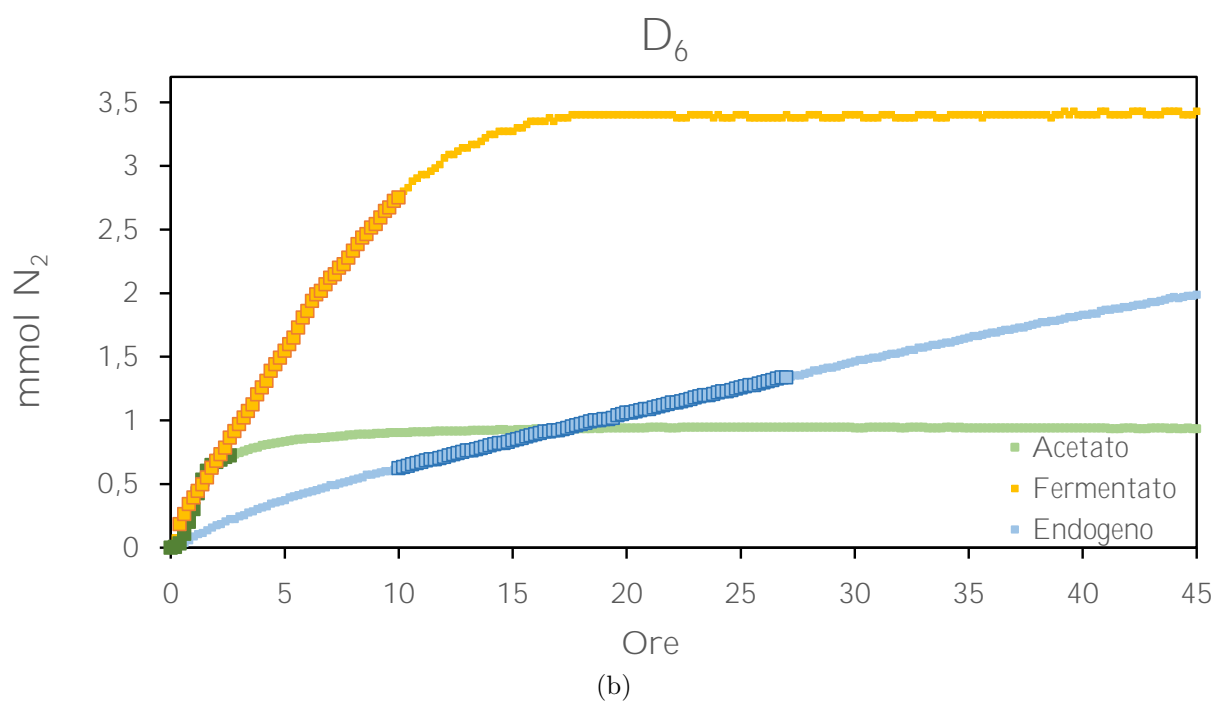
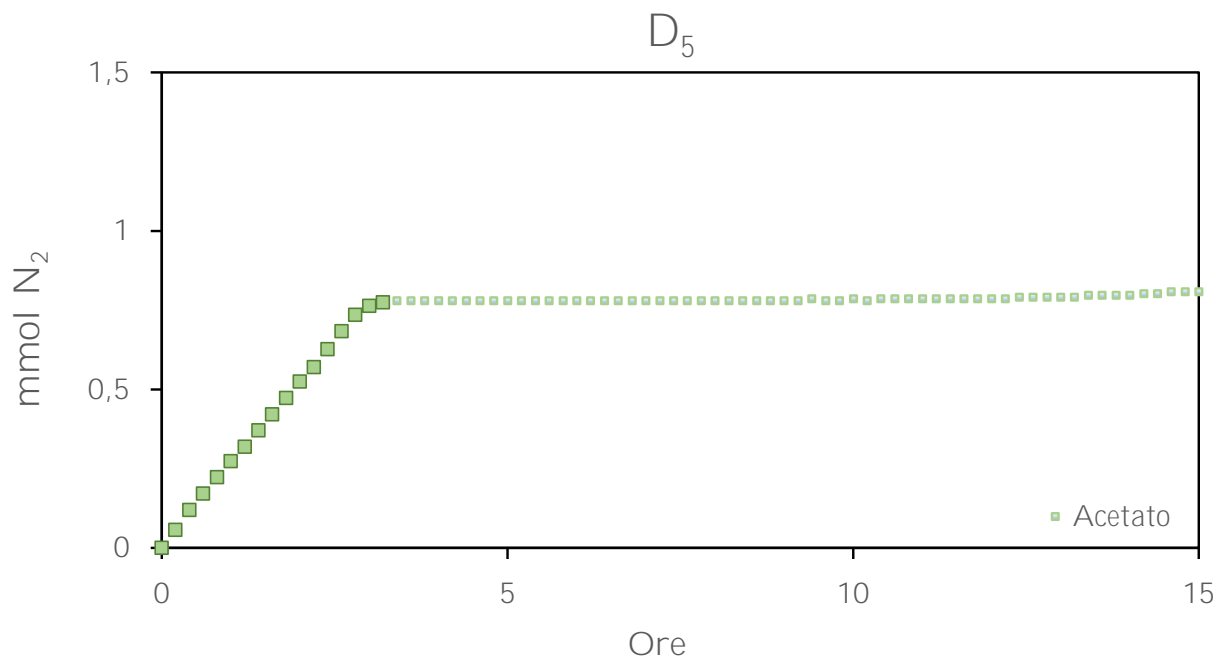


Figura 2: Risultati prove denitrificazione D₅ e D₆

Bibliografia

- Ahn, Young Ho e Richard E Speece (2006). “Elutriated acid fermentation of municipal primary sludge”. In: *Water research* 40.11, pp. 2210–2220.
- Albuquerque, MGE, V Martino, E Pollet, L Avérous e MAM Reis (2011). “Mixed culture polyhydroxyalkanoate (PHA) production from volatile fatty acid (VFA)-rich streams: effect of substrate composition and feeding regime on PHA productivity, composition and properties”. In: *Journal of Biotechnology* 151.1, pp. 66–76.
- Argenio, D (2019). “Produzione integrata di VFA nei processi di trattamento delle acque reflue: Prove di fermentazione acidogenica di fanghi e biomassa microalgale”. Politecnico di Milano.
- Atasoy, Merve, Isaac Owusu-Agyeman, Elzbieta Plaza e Zeynep Cetecioglu (2018). “Bio-based volatile fatty acid production and recovery from waste streams: Current status and future challenges”. In: *Bioresource technology* 268, pp. 773–786.
- Balamurugan, K, V Venkata Dasu e T Panda (1999). “Propionic acid production by whole cells of *Propionibacterium freudenreichii*”. In: *Bioprocess Engineering* 20.2, pp. 109–116.
- Banister, Simone Stephanie e WA Pretorius (1998). “Optimisation of primary sludge acidogenic fermentation for biological nutrient removal”. In: *WATER S. A.* 24.1, pp. 35–42.
- Begum, Sameena, Gangagni Rao Anupoju, S Sridhar, Suresh K Bhargava, Veeriah Jegatheesan e Nicky Eshtiaghi (2018). “Evaluation of single and two stage anaerobic digestion of landfill leachate: Effect of pH and initial organic loading rate on volatile fatty acid (VFA) and biogas production”. In: *Bioresource technology* 251, pp. 364–373.
- Bensaid, Samir, Bernardo Ruggeri e Guido Saracco (2015). “Development of a photosynthetic microbial electrochemical cell (PMEC) reactor coupled with dark fermentation of organic wastes: medium term perspectives”. In: *Energies* 8.1, pp. 399–429.
- Bhatia, Shashi Kant e Yang (2017). “Microbial production of volatile fatty acids: current status and future perspectives”. In: *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 16.2, pp. 327–345.

- Bolaji, Ifeoluwa O e Davide Dionisi (2017). “Acidogenic fermentation of vegetable and salad waste for chemicals production: Effect of pH buffer and retention time”. In: *Journal of Environmental Chemical Engineering* 5.6, pp. 5933–5943.
- Bolzonella, David, Paolo Pavan, Marco Zanette e Franco Cecchi (2007). “Two-phase anaerobic digestion of waste activated sludge: effect of an extreme thermophilic prefermentation”. In: *Industrial & engineering chemistry research* 46.21, pp. 6650–6655.
- Budiman, Anatta Wahyu et al. (2016). “Review of acetic acid synthesis from various feedstocks through different catalytic processes”. In: *Catalysis Surveys from Asia* 20.3, pp. 173–193.
- Cavinato, Cristina, David Bolzonella, Paolo Pavan, Francesco Fatone e Franco Cecchi (2013). “Mesophilic and thermophilic anaerobic co-digestion of waste activated sludge and source sorted biowaste in pilot-and full-scale reactors”. In: *Renewable Energy* 55, pp. 260–265.
- Chaganti, Subba Rao, Dong-Hoon Kim e Jerald A Lalman (2011). “Flux balance analysis of mixed anaerobic microbial communities: effects of linoleic acid (LA) and pH on biohydrogen production”. In: *International journal of hydrogen energy* 36.21, pp. 14141–14152.
- Chen, Yun, Xie Jiang, Keke Xiao, Nan Shen, Raymond J Zeng e Yan Zhou (2017). “Enhanced volatile fatty acids (VFAs) production in a thermophilic fermenter with stepwise pH increase—Investigation on dissolved organic matter transformation and microbial community shift”. In: *Water research* 112, pp. 261–268.
- Constantin, H e M Fick (1997). “Influence of C-sources on the denitrification rate of a high-nitrate concentrated industrial wastewater”. In: *Water Research* 31.3, pp. 583–589.
- Denniston Topping, Quirk Dorr (2019). *General, organic and biochemistry*.
- Dias, João ML et al. (2006). “Recent advances in polyhydroxyalkanoate production by mixed aerobic cultures: from the substrate to the final product”. In: *Macromolecular bioscience* 6.11, pp. 885–906.
- Dionisi, Davide, Mauro Majone, Giovanni Vallini, Simona Di Gregorio e Mario Beccari (2006). “Effect of the applied organic load rate on biodegradable polymer production by mixed microbial cultures in a sequencing batch reactor”. In: *Biotechnology and bioengineering* 93.1, pp. 76–88.
- Elbeshbishy, Elsayed, George Nakhla e Hisham Hafez (2012). “Biochemical methane potential (BMP) of food waste and primary sludge: influence of inoculum pre-incubation and inoculum source”. In: *Bioresource technology* 110, pp. 18–25.

- Elefsiniotis, P e D Li (2006). “The effect of temperature and carbon source on denitrification using volatile fatty acids”. In: *Biochemical Engineering Journal* 28.2, pp. 148–155.
- Elefsiniotis, P, DG Wareham e MO Smith (2004). “Use of volatile fatty acids from an acid-phase digester for denitrification”. In: *Journal of biotechnology* 114.3, pp. 289–297.
- Fass, S, V Ganaye, V Urbain, J Manem e JC Block (1994). “Volatile fatty acids as organic carbon sources in denitrification”. In: *Environmental technology* 15.5, pp. 459–467.
- Fei, Qiang, Ho Nam Chang, Longan Shang, NagJong Kim, JongWon Kang et al. (2011). “The effect of volatile fatty acids as a sole carbon source on lipid accumulation by *Cryptococcus albidus* for biodiesel production”. In: *Bioresource technology* 102.3, pp. 2695–2701.
- Ferrer, Iveta, Felicitas Vazquez e Xavier Font (2010). “Long term operation of a thermophilic anaerobic reactor: process stability and efficiency at decreasing sludge retention time”. In: *Bioresource technology* 101.9, pp. 2972–2980.
- Ficara, Elena, Cecilia Sambusiti e Roberto Canziani (2009). “Manometric monitoring of biological denitrification”. In: *2nd IWA Specialized Conference in Nutrients Management in Wastewater Treatment Processes*. IWA Publishing: Alliance House, 12 Caxton Street, London SW1H 0QS United . . . , pp. 61–68.
- Frison, Nicola, Evina Katsou, Simos Malamis, Adrian Oehmen e Francesco Fatone (2015). “Nutrient removal via nitrite from reject water and polyhydroxyalkanoate (PHA) storage during nitrifying conditions”. In: *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 90.10, pp. 1802–1810.
- Frison, Nicola, Silvia Lampis, David Bolzonella, Paolo Pavan e Francesco Fatone (2012). “Two-stage start-up to achieve the stable via-nitrite pathway in a demonstration SBR for anaerobic codigestate treatment”. In: *Industrial & engineering chemistry research* 51.47, pp. 15423–15430.
- Gao, Yongqing, Yongzhen Peng, Jingyu Zhang, Shuying Wang, Jianhua Guo e Liu Ye (2011). “Biological sludge reduction and enhanced nutrient removal in a pilot-scale system with 2-step sludge alkaline fermentation and A2O process”. In: *Bioresource technology* 102.5, pp. 4091–4097.
- Gavala, Hariklia N, Irini Angelidaki e Birgitte K Ahring (2003). “Kinetics and modeling of anaerobic digestion process”. In: *Biomethanation I*. Springer, pp. 57–93.
- Gerber, A, ES Mostert, CT Winter e RH De Villiers (1986). “The effect of acetate and other short-chain carbon compounds on the kinetics of biological nutrient removal”. In: *Water SA* 12.1, pp. 7–12.

- Gruhn, Marvin, Jean-Claude Frigon e Serge R Guiot (2016). “Acidogenic fermentation of *Scenedesmus* sp.-AMDD: Comparison of volatile fatty acids yields between mesophilic and thermophilic conditions”. In: *Bioresource technology* 200, pp. 624–630.
- Hamer, Henrike M, DMAE Jonkers, Koen Venema, SALW Vanhoutvin, FJ Troost e R-J Brummer (2008). “The role of butyrate on colonic function”. In: *Alimentary pharmacology & therapeutics* 27.2, pp. 104–119.
- He, Manni et al. (2012). “Influence of temperature on hydrolysis acidification of food waste”. In: *Procedia Environmental Sciences* 16, pp. 85–94.
- Holliger, Christof et al. (2016). “Towards a standardization of biomethane potential tests”. In: *Water Science and Technology* 74.11, pp. 2515–2522.
- Hsu, Sheng-Tsiung e Shang-Tian Yang (1991). “Propionic acid fermentation of lactose by *Propionibacterium acidipropionici*: effects of pH”. In: *Biotechnology and bioengineering* 38.6, pp. 571–578.
- IPCC (2011). “IPCC special report on renewable energy sources and climate change mitigation”. In:
- Jankowska, Ewelina, Joanna Chwiałkowska, Mikolaj Stodolny e Piotr Oleskowicz-Popiel (2017). “Volatile fatty acids production during mixed culture fermentation—The impact of substrate complexity and pH”. In: *Chemical Engineering Journal* 326, pp. 901–910.
- Jankowska, Ewelina, Joanna Chwiałkowska, Mikołaj Stodolny e Piotr Oleskowicz-Popiel (2015). “Effect of pH and retention time on volatile fatty acids production during mixed culture fermentation”. In: *Bioresource technology* 190, pp. 274–280.
- Jensen, PD, S Astals, Y Lu, M Devadas e DJ Batstone (2014). “Anaerobic codigestion of sewage sludge and glycerol, focusing on process kinetics, microbial dynamics and sludge dewaterability”. In: *Water research* 67, pp. 355–366.
- Jiang, Jianguo, Yujing Zhang, Kaimin Li, Quan Wang, Changxiu Gong e Menglu Li (2013). “Volatile fatty acids production from food waste: effects of pH, temperature, and organic loading rate”. In: *Bioresource technology* 143, pp. 525–530.
- Kumar, Sushil e BV Babu (2006). “A brief review on propionic acid: a renewal energy source”. In: *Proceedings of the national conference on environmental conservation (NCEC)*.
- Lee, Wee Shen, Adeline Seak May Chua, Hak Koon Yeoh e Gek Cheng Ngoh (2014). “A review of the production and applications of waste-derived volatile fatty acids”. In: *Chemical Engineering Journal* 235, pp. 83–99.
- Leite, Wanderli Rogério Moreira, Marco Gottardo, Paolo Pavan, Paulo Belli Filho e David Bolzonella (2016). “Performance and energy aspects of single and two phase thermophilic anaerobic digestion of waste activated sludge”. In: *Renewable energy* 86, pp. 1324–1331.

- Levlin, Erik (2010). “Conductivity measurements for controlling municipal waste-water treatment”. In: *Proceedings of a Polish-Swedish-Ukrainian Seminar, Utron*.
- Liu, He, Peng Han, Hongbo Liu, Guangjie Zhou, Bo Fu e Zhiyong Zheng (2018). “Full-scale production of VFAs from sewage sludge by anaerobic alkaline fermentation to improve biological nutrients removal in domestic wastewater”. In: *Bioresource technology* 260, pp. 105–114.
- Longo, S, E Katsou, S Malamis, N Frison, D Renzi e F Fatone (2015). “Recovery of volatile fatty acids from fermentation of sewage sludge in municipal wastewater treatment plants”. In: *Bioresource technology* 175, pp. 436–444.
- Lopez-Vazquez, CM et al. (2016). “Activated sludge activity test”. In:
- Lv, Wen, Floyd L Schanbacher e Zhongtang Yu (2010). “Putting microbes to work in sequence: recent advances in temperature-phased anaerobic digestion processes”. In: *Bioresource technology* 101.24, pp. 9409–9414.
- Maharaj, I e P Elefsiniotis (2001). “The role of HRT and low temperature on the acid-phase anaerobic digestion of municipal and industrial wastewaters”. In: *Bioresource technology* 76.3, pp. 191–197.
- Mahmoud, Nidal, Grietje Zeeman, Huub Gijzen e Gatze Lettinga (2004). “Anaerobic stabilisation and conversion of biopolymers in primary sludge—effect of temperature and sludge retention time”. In: *Water Research* 38.4, pp. 983–991.
- Metcalf, Leonard, Harrison P Eddy e Georg Tchobanoglous (1979). *Wastewater engineering: treatment, disposal, and reuse*. McGraw-Hill New York.
- Mohd-Zaki, Zuhaida et al. (2016). “Influence of pH regulation mode in glucose fermentation on product selection and process stability”. In: *Microorganisms* 4.1, p. 2.
- Morgan-Sagastume, F, S Pratt, A Karlsson, D Cirne, P Lant e A Werker (2011). “Production of volatile fatty acids by fermentation of waste activated sludge pre-treated in full-scale thermal hydrolysis plants”. In: *Bioresource technology* 102.3, pp. 3089–3097.
- Muller, Nicolai, Petra Worm, Bernhard Schink, Alfons JM Stams e Caroline M Plugge (2010). “Syntrophic butyrate and propionate oxidation processes: from genomes to reaction mechanisms”. In: *Environmental microbiology reports* 2.4, pp. 489–499.
- Myszograj, Sylwia (2018). “Reaction rate coefficient k_{20} and temperature coefficient Θ in organic waste thermal disintegration”. In: *ITM Web of Conferences*. Vol. 23. EDP Sciences, p. 00026.
- Oehmen, Adrian, Zhiguo Yuan, Linda L Blackall e Jurg Keller (2004). “Short-term effects of carbon source on the competition of polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms”. In: *Water Science and Technology* 50.10, pp. 139–144.

- Oktem, Yalcin Askin, Orhan Ince, Tom Donnelly, Paul Sallis e Bahar Kasapgil Ince (2006). “Determination of optimum operating conditions of an acidification reactor treating a chemical synthesis-based pharmaceutical wastewater”. In: *Process Biochemistry* 41.11, pp. 2258–2263.
- Pal, Parimal e Jayato Nayak (2017). “Acetic acid production and purification: critical review towards process intensification”. In: *Separation & Purification Reviews* 46.1, pp. 44–61.
- Park, B, J-H Ahn, J Kim e S Hwang (2004). “Use of microwave pretreatment for enhanced anaerobiosis of secondary sludge”. In: *Water Science and Technology* 50.9, pp. 17–23.
- PENG, Yong-zhen, MA Yong e Shu-ying WANG (2007). “Denitrification potential enhancement by addition of external carbon sources in a pre-denitrification process”. In: *Journal of Environmental Sciences* 19.3, pp. 284–289.
- Puig, S, Marta Coma, H Monclús, MCM Van Loosdrecht, J Colprim e MD Balaguer (2008). “Selection between alcohols and volatile fatty acids as external carbon sources for EBPR”. In: *Water research* 42.3, pp. 557–566.
- Radoiu, Marilena T, Diana I Martin, Ioan Calinescu e Horia Iovu (2004). “Preparation of polyelectrolytes for wastewater treatment”. In: *Journal of hazardous materials* 106.1, pp. 27–37.
- Saady, Noori M Cata (2013). “Homoacetogenesis during hydrogen production by mixed cultures dark fermentation: unresolved challenge”. In: *International Journal of Hydrogen Energy* 38.30, pp. 13172–13191.
- Saunders, Aaron Marc, Adrian Oehmen, Linda L Blackall, Zhiguo Yuan e Jurg Keller (2003). “The effect of GAOs (glycogen accumulating organisms) on anaerobic carbon requirements in full-scale Australian EBPR (enhanced biological phosphorus removal) plants”. In: *Water Science and Technology* 47.11, pp. 37–43.
- Siriwongrungson, Vilailuck, Raymond J Zeng e Irimi Angelidaki (2007). “Homoacetogenesis as the alternative pathway for H₂ sink during thermophilic anaerobic degradation of butyrate under suppressed methanogenesis”. In: *Water research* 41.18, pp. 4204–4210.
- Sobieszuk, P e KW Szewczyk (2006). “Estimation of (C/N) ratio for microbial denitrification”. In: *Environmental technology* 27.1, pp. 103–108.
- Sosnowski, Piotr, Anna Klepacz-Smolka, Katarzyna Kaczorek e Stanislaw Ledakowicz (2008). “Kinetic investigations of methane co-fermentation of sewage sludge and organic fraction of municipal solid wastes”. In: *Bioresource technology* 99.13, pp. 5731–5737.
- Steinbusch, Kirsten JJ, Hubertus VM Hamelers, Joris D Schaap, Christel Kampman e Cees JN Buisman (2010). “Bioelectrochemical ethanol production through mediated

- acetate reduction by mixed cultures”. In: *Environmental science & technology* 44.1, pp. 513–517.
- Suerbaev, KA, G Zh Zhaksylykova e NO Appazov (2013). “Synthesis of biological active esters of the isovaleric acid by isobutylene hydroalkoxycarbonylation”. In: *J Pet Environ Biotechnol* 4.164, p. 2.
- Tjørve, Kathleen MC e Even Tjørve (2017). “The use of Gompertz models in growth analyses, and new Gompertz-model approach: An addition to the Unified-Richards family”. In: *PloS one* 12.6.
- Todd Jr, Harold E e Daniel L Walters (apr. 1990). *Deicing compositions comprising calcium magnesium acetate double salt and processes for their production*. US Patent 4,913,831.
- Tuna, Eda, Fikret Kargi e Hidayet Argun (2009). “Hydrogen gas production by electrohydrolysis of volatile fatty acid (VFA) containing dark fermentation effluent”. In: *International journal of hydrogen energy* 34.1, pp. 262–269.
- Ucisik, Ahmed Suheyl e Mogens Henze (2008). “Biological hydrolysis and acidification of sludge under anaerobic conditions: the effect of sludge type and origin on the production and composition of volatile fatty acids”. In: *Water research* 42.14, pp. 3729–3738.
- Van Immerseel, Filip et al. (2005). “Supplementation of coated butyric acid in the feed reduces colonization and shedding of Salmonella in poultry”. In: *Poultry science* 84.12, pp. 1851–1856.
- Verardi, Christopher A, Lawrence D Meyers e William A Humphrey (gen. 1999). *Coating composition for plastic substrates and coated plastic articles*. US Patent 5,863,646.
- Visser, A, I Beeksma, F Van der Zee, AJM Stams e G Lettinga (1993). “Anaerobic degradation of volatile fatty acids at different sulphate concentrations”. In: *Applied Microbiology and Biotechnology* 40.4, pp. 549–556.
- Xu, Guihua, Shaohua Chen, Jianwen Shi, Shumei Wang e Gefu Zhu (2010). “Combination treatment of ultrasound and ozone for improving solubilization and anaerobic biodegradability of waste activated sludge”. In: *Journal of Hazardous Materials* 180.1-3, pp. 340–346.
- Yang, Guang, Panyue Zhang, Guangming Zhang, Yuanyuan Wang e Anqi Yang (2015). “Degradation properties of protein and carbohydrate during sludge anaerobic digestion”. In: *Bioresource technology* 192, pp. 126–130.
- Yatong, Xu (1996). “Volatile fatty acids carbon source for biological denitrification”. In: *J Environ Sci* 8.3, pp. 257–269.
- Yu, H-Q e HHP Fang (2002). “Acidogenesis of dairy wastewater at various pH levels”. In: *Water Science and Technology* 45.10, pp. 201–206.

- Yu, Jian (2001). “Production of PHA from starchy wastewater via organic acids”. In: *Journal of Biotechnology* 86.2, pp. 105–112.
- Yuan, Q, M Baranowski e JA Oleszkiewicz (2010). “Effect of sludge type on the fermentation products”. In: *Chemosphere* 80.4, pp. 445–449.
- Zhang, Kechun, Adam P Woodruff, Mingyong Xiong, Jun Zhou e Yogesh K Dhande (2011). “A synthetic metabolic pathway for production of the platform chemical isobutyric acid”. In: *ChemSusChem* 4.8, pp. 1068–1070.
- Zhang, Peng, Yinguang Chen e Qi Zhou (2009). “Waste activated sludge hydrolysis and short-chain fatty acids accumulation under mesophilic and thermophilic conditions: effect of pH”. In: *Water research* 43.15, pp. 3735–3742.
- Zhang, Tian Cheng e Tatsuya Noike (1994). “Influence of retention time on reactor performance and bacterial trophic populations in anaerobic digestion processes”. In: *Water Research* 28.1, pp. 27–36.
- Zhao, Jianwei et al. (2018). “Novel stepwise pH control strategy to improve short chain fatty acid production from sludge anaerobic fermentation”. In: *Bioresource technology* 249, pp. 431–438.
- Zhou, Miaomiao, Binghua Yan, Jonathan WC Wong e Yang Zhang (2018). “Enhanced volatile fatty acids production from anaerobic fermentation of food waste: a mini-review focusing on acidogenic metabolic pathways”. In: *Bioresource technology* 248, pp. 68–78.
- Zhu, Heguang et al. (2009). “Buffer requirements for enhanced hydrogen production in acidogenic digestion of food wastes”. In: *Bioresource technology* 100.21, pp. 5097–5102.
- Zigova, J e E Sturdik (2000). “Advances in biotechnological production of butyric acid”. In: *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 24.3, pp. 153–160.
- Zong, Wenming, Ruisong Yu, Peng Zhang, Meizhen Fan e Zhihua Zhou (2009). “Efficient hydrogen gas production from cassava and food waste by a two-step process of dark fermentation and photo-fermentation”. In: *Biomass and bioenergy* 33.10, pp. 1458–1463.

Ringraziamenti

La mia gratitudine a Elena Ficara e Davide Scaglione senza i quali questo progetto non sarebbe stato possibile.

Ringrazio Michele Platè, Arianna Catenacci e Damaride Argenio per il continuo supporto durante questi mesi di lavoro.

Grazie a Morena Isella, Claudio Zoccali, Daniele Menegaldo, Fabio Casari, Fabio Piazzini, Luca Mancin, Luigi Salemi e Pasquale Farina che hanno svolto un ruolo fondamentale nella buona riuscita della mia esperienza formativa presso l'impianto CAP di Sesto San Giovanni.

Esprimo inoltre la mia gratitudine alla mia famiglia, a Monica e a tutti gli amici che mi sono stati vicini in questi anni universitari.