



REGIONE AUTONOMA
FRIULI VENEZIA GIULIA

AUSIR Autorità Unica per i
Servizi Idrici e i Rifiuti



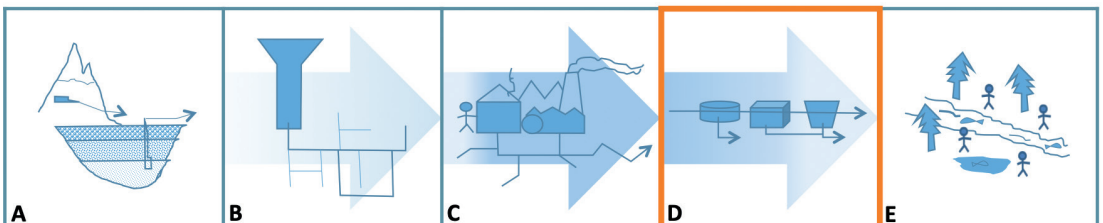
**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI UDINE**

hic sunt futura

QUADERNI AUSIR **D-2**

applicazione di tecniche respirometriche per la modellazione matematica e il miglioramento della gestione degli impianti di depurazione

a cura di
Marco Buttazoni



Stampa

Impressum, Marina di Carrara (Ms)

© **FORUM** 2023

Editrice Universitaria Udinese

FARE srl con unico socio

Società soggetta a direzione e coordinamento

dell'Università degli Studi di Udine

Via Palladio, 8 – 33100 Udine

Tel. 0432 26001 / Fax 0432 296756

www.forumeditrice.it

ISBN 978-88-3283-396-6

QUADERNI AUSIR D-2

**applicazione di tecniche respirometriche
per la modellazione matematica
e il miglioramento della gestione
degli impianti di depurazione**

**a cura di
Marco Buttazzoni**

INDICE

Prefazione	p.	7
1. Introduzione	»	9
2. Cenni biochimici	»	13
2.1. La respirazione	»	13
2.2. La respirometria	»	16
3. Attrezzatura necessaria	»	23
3.1. Reattore	»	23
3.2. Dispositivo di misura	»	24
3.3. Implementazione pratica	»	24
4. Il metodo utilizzato	»	27
4.1. Determinazione del COD rapidamente biodegradabile	»	28
4.2. Determinazione del COD lentamente biodegradabile	»	31
4.3. Determinazione del coefficiente di resa cellulare	»	34
5. Scopo del lavoro	»	37
5.1. Scelta della biomassa da utilizzare	»	37
5.2. Concentrazione di solidi	»	38
5.3. Rapporto substrato/biomassa	»	39
5.4. Soluzioni aggiuntive	»	41
6. Risultati e discussione	»	43
6.1. Determinazione dei solidi sospesi totali	»	43
6.2. Costruzione della retta di taratura	»	44
6.3. Frazionamento del COD	»	47
6.3.1. <i>Impianto di Udine</i>	»	48
6.3.2. <i>Impianto di Tolmezzo</i>	»	48
6.3.3. <i>Impianto di Codroipo</i>	»	51

Indice

6.3.4. <i>Impianto di Venzone</i>	»	52
6.4. Considerazioni sui risultati ottenuti	»	53
7. Ulteriori applicazioni della respirometria	»	55
7.1. Esecuzione della prova	»	55
7.2. Composti tossici biodegradabili	»	59
7.3. Innovazioni tecnologiche	»	61
Bibliografia	»	65
Pubblicazioni relative al progetto UNIUD-AUSIR	»	67

PREFAZIONE

Il presente scritto è da intendersi come conclusivo del percorso di ricerca sull'*Applicazione di tecniche respirometriche per la modellazione matematica ed il miglioramento della gestione degli impianti di depurazione*. Il lavoro rientra nel più ampio progetto AUSIR - *Sostenibilità del Ciclo Idrico Integrato e gestione efficiente del Servizio Idrico Integrato: reti, processi e residui*.

La ricerca si focalizza appunto sulla tecnica respirometrica, una procedura ormai consolidata (soprattutto in ambito di ricerca) capace, attraverso il monitoraggio e l'interpretazione del consumo di ossigeno da parte della biomassa, di fornire il frazionamento della domanda chimica di ossigeno (*Chemical Oxygen Demand*, COD) di una matrice. Riuscire a calcolare, a partire dal valore di COD totale, le frazioni facilmente e lentamente biodegradabili (frazionamento) è solo una delle molteplici applicazioni delle tecniche respirometriche: con questi test è infatti possibile determinare anche altri parametri come il coefficiente di resa cellulare (Y_H), la velocità massima di consumo dell'ossigeno (*Oxygen Uptake Rate Max*, OUR_{max}) o la cinetica di nitrificazione per i fanghi attivi, solo per citarne alcuni. Le grandezze sopra citate risultano di fondamentale importanza in un'ottica impiantistica (dimensionamento, gestione, modifiche all'impianto...) ma, soprattutto, rendono più affidabili e accurati i modelli di calcolo all'interno dei quali non si è più obbligati ad inserire valori e parametri 'medi' reperiti da letteratura, ma si può operare con grandezze 'reali' ed effettive per la biomassa e per le matrici in questione.

L'attività dunque ha previsto l'approfondimento, il miglioramento e l'ottimizzazione in laboratorio della procedura respirometrica: dosaggi, tempi di reazione, rapporto substrato/biomassa e condizioni operative le variabili che sono state ampiamente discusse e testate durante i mesi di ricerca. Inoltre è stata valutata anche la sensibilità e la replicabilità della procedura: infatti, se quando si opera con substrati 'sintetici' di riferimento (costruzione della retta di taratura con acetato di sodio) la sensibilità del metodo risulta elevatissima, quando vengono testati matrici reali

(reflui) l'accuratezza si riduce leggermente. Tutte queste valutazioni si sono rese possibili dopo un elevato numero di prove respirometriche effettuate, condotte anche assieme ad altri test 'complementari'; in particolare è stato determinato il valore dei solidi sospesi totali (*Total Suspended Solids*, TSS) della biomassa utilizzata (la quale è stata mantenuta costante per tutte le prove successive) in modo da avere sempre sotto controllo (ed eventualmente modificare all'occorrenza) il rapporto substrato/biomassa all'interno del respirometro. Successivamente è stata costruita la retta di taratura dosando acetato di sodio a diverse concentrazioni: ogni punto della retta (al quale corrisponde un dosaggio di acetato) è stato determinato 'in triplo' in modo da costruire una retta il più robusta e accurata possibile. A questo punto è stato possibile condurre il frazionamento del COD attraverso la tecnica respirometrica di 4 impianti di depurazione del Friuli Venezia Giulia in modo tale da applicare la procedura a matrici sensibilmente diverse fra loro: notevoli variazioni sia per quanto riguarda gli abitanti equivalenti (taglia piccola, media e grande) che per le caratteristiche chimico-fisiche del refluo prelevato (urbano e industriale).

Vista comunque la vastità del tema trattato, e consolidata ormai una procedura affidabile, robusta ma allo stesso tempo adattabile, la respirometria possiede ancora numerose applicazioni e possibilità di approfondimenti futuri: è infatti, come detto, lo strumento atto a determinare, studiare e quantificare numerosi parametri e comportamenti dei processi a fanghi attivi (ad esempio l'eventuale effetto inibente di alcune sostanze, o la tossicità di alcune molecole, sull'attività della biomassa).

1. INTRODUZIONE

Come accennato, questa tecnica di caratterizzazione avanzata permette di compiere un frazionamento dei substrati carboniosi nel refluo analizzato, nonché di determinare alcuni parametri cinetici e stechiometrici delle strutture biologiche (Gregoris, 2011).

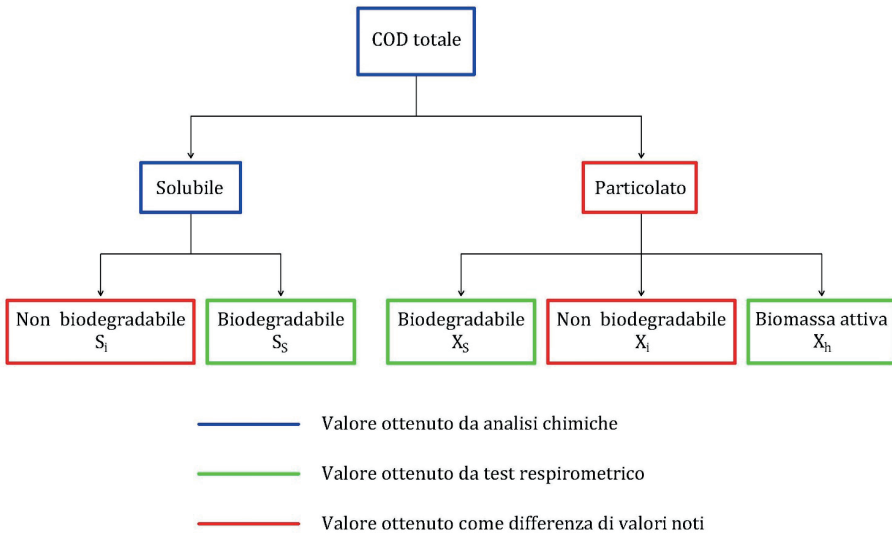
Nello specifico, nell'ambito dello studio a fanghi attivi la respirometria rappresenta la tecnica usata per misurare e interpretare i fenomeni di consumo dell'ossigeno disciolto nel mezzo extracellulare del sistema biologico, in seguito ad introduzione di un substrato esogeno oppure durante l'attività respiratoria endogena (cioè l'attività di consumo dell'ossigeno da parte della biomassa non per nutrirsi, ma soltanto per compiere le proprie funzioni vitali) (Di Giorgio, 2006).

Per comprendere a fondo la grande importanza dei risultati forniti da questi test basti pensare alla grande diffusione, vista negli ultimi anni, dei modelli di calcolo numerico per la gestione, il controllo e il dimensionamento degli impianti di depurazione biologica. Questi metodi di calcolo, utili per la risoluzione delle equazioni necessarie a studiare un sistema a fanghi attivi, dalle più semplici espressioni di Monod alle più complicate formulazioni, rappresentano uno strumento molto potente ma altrettanto delicato se manovrato con poca consapevolezza. Questo perché nell'ambito della depurazione, così come in tutte le realtà dove si utilizzano programmi di calcolo avanzati, è fondamentale controllare, gestire in modo corretto e interpretare con spirito critico i risultati ottenuti come output. Questi programmi, inoltre, tanto più sono completi e strutturati, tanto più necessitano di dati dettagliati da inserire in ingresso: anche per le più elementari equazioni usate normalmente nei dimensionamenti o per descrivere le cinetiche biologiche negli impianti a fanghi attivi, ad esempio, sono necessari parametri specifici quali la velocità massima di crescita batterica o quella di rimozione del substrato. In mancanza di indagini dirette, questi parametri vengono assunti sulla base dei valori disponibili nella letteratura scientifica: adottando valori teorici al posto di

valori sperimentali determinati per lo specifico caso, si possono ottenere risultati sostanzialmente corretti nel caso della rimozione del carbonio in impianti di depurazione che trattano reflui di origine civile, visto che i parametri cinetici non presentano una grande variabilità da impianto a impianto. Non si possono invece assumere questi valori generalizzati per la descrizione di quegli impianti che trattano reflui misti o industriali, poiché in queste realtà le caratteristiche della biomassa e del refluo sono molto specifiche e vanno studiate, determinate e contestualizzate caso per caso (Gregoris, 2011).

Per quanto riguarda modelli di calcolo più complessi, spesso non basta inserire come dati in ingresso i valori di COD totale e solubile del refluo presente; questa è una caratterizzazione veloce, ottenibile semplicemente attraverso analisi chimiche, ma spesso insufficiente a dare utili informazioni sulla biodegradabilità o meno del refluo. Per descrivere più dettagliatamente questo aspetto sarebbe infatti opportuno sapere quale parte percentuale del valore totale di COD sia solubile, e quale invece particolato, e di ognuna di esse quale frazione sia facilmente biodegradabile e quale recalcitrante (non biodegradabile). Questo si intende per caratterizzazione avanzata di una matrice e si può riassumere con la Figura 1.1.

Fig. 1.1. *Approccio per il frazionamento del COD nei reflui (Gregoris, 2011).*



L'obiettivo del frazionamento convenzionalmente adottato, ossia quello di misurare la composizione del refluo in termini di COD, azoto e fosforo nelle loro variabili di stato, è di cruciale importanza dunque per un'efficiente calibrazione dei modelli di calcolo. Il grado di frazionamento del COD richiesto dipende dal tipo di sistema a fanghi attivi che si intende simulare o progettare; alcuni software, ad esempio, caratterizzano i substrati carboniosi presenti nel refluo secondo la loro solubilità, biodegradabilità, disponibilità e secondo i tassi di biodegradazione. Il COD totale, in accordo con quanto illustrato in Figura 1.1, si divide principalmente in tre frazioni: COD biodegradabile (solubile e particolato), COD non biodegradabile o biologicamente inerte (solubile e particolato) e biomassa attiva.

Il COD biodegradabile viene suddiviso nelle frazioni rapidamente biodegradabile (S_s) e lentamente biodegradabile o idrolizzabile (X_s): il COD biodegradabile totale (rapidamente e lentamente) influenza la domanda di ossigeno nell'unità di areazione dei sistemi a fanghi attivi. La frazione S_s (rapidamente biodegradabile) si compone di molecole solubili e di piccole dimensioni come gli alcoli (metanolo ed etanolo) e gli acidi grassi volatili che riescono a passare attraverso le pareti cellulari dei microrganismi; entrano a far parte di questa componente anche i carboidrati a basso peso molecolare, considerato come il materiale organico solubile con una dimensione delle particelle inferiore a $0.45 \mu\text{m}$ (Zhang et al., 2021). I microrganismi possono utilizzare immediatamente la frazione S_s per il loro metabolismo, per la produzione di energia o per la sintesi di nuova biomassa; la frazione S_s gioca quindi un ruolo essenziale nella progettazione e nella scelta delle tecnologie di trattamento adatte negli impianti di trattamento. Nei sistemi a fanghi attivi per la rimozione biologica dei nutrienti, la quantità di S_s a disposizione nel refluo influente (in ingresso all'impianto) influenza il tasso di denitrificazione nelle successive unità anossiche, così come l'efficienza di rimozione anaerobica del fosforo. La frazione X_s comprende invece le molecole più grandi con strutture relativamente complesse che prima di essere utilizzate hanno bisogno di essere scisse in molecole più piccole attraverso numerose fasi idrolitiche enzimatiche all'interno dei fiocchi di microrganismi.

Il COD non biodegradabile presenta due sottogruppi, solubile (S_i) e particolato (X_i). La frazione S_i presenta un impatto trascurabile sulla progettazione del reattore biologico, sebbene esso abbia una notevole influenza sulla concentrazione di COD nell'effluente (refluo in uscita).

La frazione X_1 si accumula invece nei fiocchi di fango e lascia il sistema come biomassa in eccesso (fanghi di supero). X_1 impatta dunque sul tasso specifico di produzione di fango, sulla concentrazione di solidi sospesi nel liquido chiarificato e per questo anche sul volume del reattore in fase di progettazione.

Le frazioni relative alla biomassa attiva, infine, sono rappresentate dai microrganismi eterotrofi (X_{BH}) e da quelli autotrofi (X_{BA}); essi rappresentano circa il 10-20% del materiale organico totale nelle acque reflue di tipo urbano e sono in continua alternanza a causa dei processi di decadimento e crescita. Vista la mancanza di metodi facili e affidabili per quantificare queste frazioni, X_{BH} viene comunemente incluso all'interno di X_S : tale assunzione tuttavia non influenza in maniera significativa i risultati della modellazione se il coefficiente di resa degli eterotrofi (Y_H) viene aumentato del 10% (Borzooei et al., 2021).

Per molti di questi parametri sono presenti nella letteratura scientifica metodiche sperimentali, molte delle quali fanno riferimento proprio alla respirometria, che si è dimostrata particolarmente adeguata al fine di misurare le velocità specifiche di rimozione dei substrati carboniosi e le velocità di nitrificazione (Gregoris, 2011).

L'indagine respirometrica si configura come una procedura rapida, rappresentativa, in quanto coinvolge il consorzio microbico dell'impianto biologico analizzato, e versatile, poiché esistono diverse tipologie di test in funzione delle necessità. È inoltre lo strumento per eccellenza per osservare l'attitudine di un refluo, in ingresso alla fase di trattamento biologico, alla depurazione da parte del fango attivo con cui è posto in contatto (Di Giorgio, 2006).

Per contro va affermato che diversi studi comparativi, condotti negli ultimi anni, hanno dimostrato come implementando metodi sperimentali diversi possano risultare frazioni del COD notevolmente differenti: si registra, di fatto, una mancanza di accordo su quale sia il miglior metodo di caratterizzazione delle acque reflue ed è quindi ipotizzabile che la scelta dovrebbe adattarsi all'obiettivo e alle finalità che ci si pone (Borzooei et al., 2021).

2. CENNI BIOCHIMICI

2.1. La respirazione

La respirazione microbica, in termini biochimici, è il processo metabolico di generazione dell'adenosina trifosfato (ATP) nel quale sia i composti organici che quelli inorganici fungono da donatori di elettroni, mentre i soli composti inorganici rappresentano gli accettori finali di elettroni (cioè ossigeno, nitrato e solfato). Il vettore energetico universale ATP viene generato sotto forma di elettroni rimossi: inizialmente essi vengono trasferiti dal donatore, lungo la catena di trasporto, al successivo vettore metabolico e, infine, all'accettore terminale. In questo modo i microrganismi convertono l'energia dei legami interni (intramolecolari) dei donatori di elettroni in legami fosforici ad alta energia di ATP (catabolismo). L'energia così prodotta verrà successivamente utilizzata per sintetizzare i diversi composti molecolari necessari per la crescita (anabolismo), il mantenimento e la riproduzione della cellula (Spanjers e Vanrolleghem, 2016).

Durante il processo di respirazione il donatore di elettroni viene convertito alla propria forma ossidata (perde cariche negative) mentre l'accettore di elettroni si trova nella propria forma ridotta (acquista carica negativa).

Nel caso di un donatore carbonioso (composti organici) la sua forma ossidata è l'anidride carbonica (diossido di carbonio), mentre nel caso in cui l'accettore di elettroni sia l'ossigeno molecolare la sua forma ridotta è l'acqua: tale conversione di un donatore carbonioso (in cui l'ossigeno rappresenta l'accettore di elettroni) viene effettuata dai batteri eterotrofi.

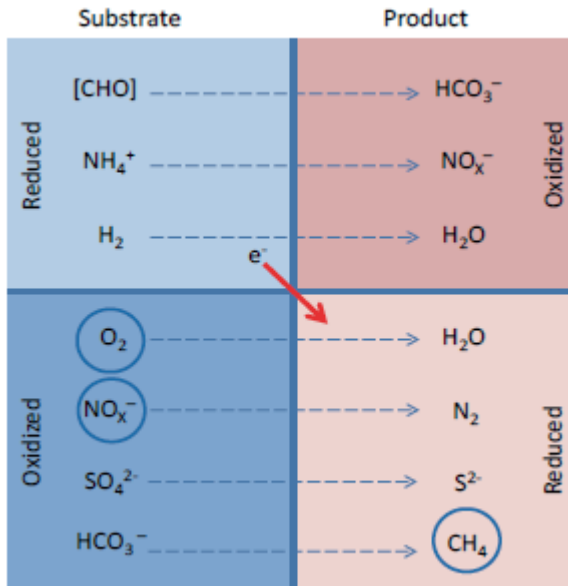
I donatori inorganici che vengono convertiti alla loro forma ossidata dai microrganismi aerobici (dove l'ossigeno funge da accettore finale di elettroni) contengono invece ammonio, nitrito, ferro bivalente e zolfo; in questi casi le conversioni vengono effettuate rispettivamente dai microrganismi nitrificanti (batteri che ossidano nitriti e ammoniaca), ferro-ossidanti e zolfo-ossidanti: in questi casi l'anidride carbonica (CO_2) co-

stituisce la fonte di carbonio e tali organismi vengono detti autotrofi. I microrganismi non aerobici, al contrario, utilizzano composti inorganici diversi dall'ossigeno come accettori finali di elettroni, come ad esempio i nitriti, i nitrati, i solfati o la stessa anidride carbonica: in questi casi si parlerà di processi anossici (nel caso vengano utilizzati nitriti o nitrati come accettori) o anaerobici (se vengono usati CO_2 o solfati).

Si fa notare come durante i trattamenti delle acque reflue, qualora i microrganismi usino vari substrati e accettori finali di elettroni o, al contrario, se competono fra di loro per le medesime sostanze, possano avvenire (anche simultaneamente) diversi processi di respirazione fra quelli riportati in precedenza.

Lo schema riportato nel seguito (Fig. 2.1) mostra una panoramica riassuntiva di alcuni esempi di conversioni metaboliche: da notare come sia il donatore che l'accettore finale di elettroni possano essere considerati come substrati, così come molti altri componenti che entrano in gioco nelle vie metaboliche.

Fig. 2.1. Esempi di conversioni metaboliche (Spanjers e Vanrolleghem, 2016).



Nella respirometria solitamente la respirazione viene considerata come il consumo di ossigeno (O_2), di nitrito (NO_2), di nitrato (NO_3) o, nel caso della respirometria anaerobica, come la produzione di metano (CH_4). In termini generali le conversioni metaboliche coinvolte nella respirazione sono reazioni cataboliche in cui diversi composti gassosi, consumati o prodotti durante tali reazioni, possono rappresentare la ‘chiave’ per esaminare le conversioni metaboliche stesse; in principio però possono venire considerate anche altre sostanze come, ad esempio, il consumo dello ione ammonio (NH_4^+), dello ione idrogeno solfuro (HS^-), di quello solfuro (S^{2-}), del solfato (SO_4^{2-}) o la produzione di azoto (N_2).

Appurato che l'energia generata durante il processo di respirazione microbica viene utilizzata per la crescita cellulare e per le funzioni di mantenimento (come la riproduzione, la mobilità cellulare, l'attività osmotica...), il tasso di respirazione è strettamente legato alla velocità di questi processi (anche se è però abbastanza difficile differenziare in maniera distinta tali processi). Si consideri, per esempio, la respirazione aerobica dei microrganismi eterotrofi, i quali utilizzano substrati carboniosi (organici) come donatori di elettroni e l'ossigeno come accettore finale di elettroni: in questo caso soltanto una porzione del substrato consumato viene ossidato per fornire energia alla crescita cellulare e al mantenimento mentre la frazione rimanente, tipicamente la metà, viene riorganizzato in nuova massa cellulare.

Nei processi a fanghi attivi la rimozione dei substrati carboniosi non è l'unico processo di consumo dell'ossigeno; oltre al consumo da parte della biomassa eterotrofa ci sono infatti altri processi biologici che possono contribuire alla respirazione dei fanghi attivi, come ad esempio l'ossidazione dei composti inorganici da parte dei batteri nitrificanti, o specifiche reazioni di ossidazione microbica catalizzate da ossidasi e mono-ossigenasi. I batteri nitrificanti includono solo una minima frazione del substrato ammoniacale come nuova biomassa, mentre la maggior parte del substrato (ammonio) viene ossidato per la produzione di energia (tali batteri autotrofi utilizzano la CO_2 disciolta come fonte di carbonio per la nuova biomassa).

Ad ogni modo, se comparati con gli eterotrofi, i batteri nitrificanti necessitano di maggior ossigeno per la loro crescita e il processo di nitrificazione si verifica in due fasi: l'ossidazione dell'ammoniaca a nitrito e l'ossidazione del nitrito a nitrato. Analogamente ai nitrificanti, anche i batteri che ossidano lo zolfo e il ferro utilizzano composti inorganici, al

posto della materia organica, per ottenere energia e sfruttano la CO_2 o il carbonato come fonte di carbonio. I batteri che ossidano lo zolfo sono infatti in grado di ossidare il solfuro di idrogeno (o altri composti sulfurei ridotti) in acido solforico, mentre quelli che ossidano il ferro riescono ad ossidare il ferro inorganico (ferroso) alla sua forma ferrica per ottenere energia. Infine, in aggiunta ai batteri, nei processi a fanghi attivi possiamo trovare anche protozoi e altri organismi superiori che rendono, inevitabilmente, ancora più elevato il consumo di ossigeno.

Tutti i processi che consumano ossigeno menzionati in precedenza contribuiscono al tasso di respirazione totale del fango attivo; in quest'ottica la respirometria viene utilizzata di solito per misurare il solo consumo biologico di ossigeno o, al più, per provare a distinguere i diversi processi biologici, come ad esempio l'ossidazione eterotrofa dalla nitrificazione anche se, in molti casi, risulta molto difficile riuscire a differenziare fra di loro i processi specifici (Spanjers e Vanrolleghem, 2016).

2.2. La respirometria

La respirometria viene definita generalmente come la misura e l'interpretazione del tasso di consumo biologico di un accettore di elettroni inorganico in condizioni sperimentali ben definite. In linea di principio tutte le sostanze descritte come 'forma ossidata del substrato' nell'immagine sopra riportata (Fig. 2.1) possono fungere da variabile misurabile (l'unica eccezione è rappresentata dalla respirometria anaerobica dove viene misurato il tasso di produzione di metano). In teoria si può anche misurare il tasso di consumo del donatore di elettroni, come NH_4^+ e H_2 ; questo aspetto però non entra generalmente nella respirometria in quanto le sostanze che donano elettroni possono venire consumate anche da processi non strettamente correlati alla generazione di energia, come ad esempio l'assorbimento di biomassa.

La respirometria implica sempre alcune tecniche per valutare la velocità con cui la biomassa assorbe l'accettore di elettroni dal liquido (come O_2 e NO_3^-) o prodotti nella propria forma ridotta (come CH_4); nel caso di accettori di elettroni come O_2 e NO_3^- tale tecnica si basa generalmente sulla misura della concentrazione dell'accettore nella fase liquida e attraverso il suo equilibrio di massa deriva il tasso di respirazione (se viene misurato il consumo di ossigeno ed è presente anche una fase gassosa, nel bilancio di massa andrà considerato anche l'ossigeno presente in tale fase).

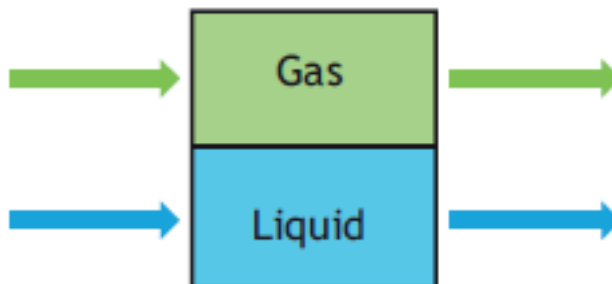
Il tasso di respirazione viene usualmente misurato tramite un respirometro: questi strumenti variano da semplici esempi azionati manualmente, realizzati con bottiglie equipaggiate con un sensore, a complicati sistemi che operano in maniera totalmente automatizzata e in alcuni casi il bioreattore dell'impianto di trattamento stesso può fungere direttamente da respirometro. Fatta eccezione per quest'ultimo, la caratteristica comune a tutti i respirometri è la presenza di un reattore all'interno del quale vengono inseriti i diversi componenti (biomassa, substrato...). Il funzionamento di tutti i respirometri implica una qualche tecnica per la valutazione della velocità di assorbimento di un componente dalla fase liquida da parte della biomassa (o la velocità di produzione di un componente nel caso della respirometria anaerobica).

Per questi scopi in passato sono state sviluppate molte tecniche finché Spanjers et al. (1998) sono riusciti a generalizzare come tutte le tecniche di misura per il tasso di respirazione possano essere classificate all'interno di otto principi base, secondo due criteri:

1. la fase all'interno della quale viene misurata la concentrazione (gassosa o liquida);
2. se è presente o meno immissione e produzione di liquidi o gas (flusso o statico).

Il funzionamento di tutti i respirometri esistenti può essere dunque spiegato in termini di questi criteri; la figura riportata nel seguito (Fig. 2.2) mostra lo schema generico, in maniera estremamente semplificata, di un respirometro: da notare come la fase gassosa includa anche le bolle disperse nella fase liquida.

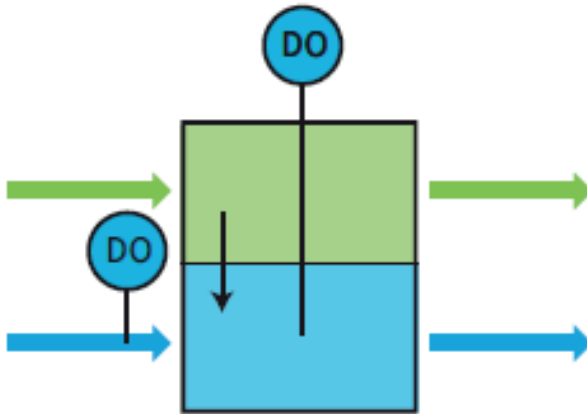
Fig. 2.2. *Schema semplificato di un respirometro (Spanjers e Vanrolleghem, 2016).*



Il respirometro utilizzato nei test condotti e descritti all'interno di questa ricerca si basa (in accordo con i criteri sopra riportati) sulla misurazione dell'ossigeno disciolto all'interno della fase liquida. La maggior parte dei sistemi basati sulla misura nella fase liquida usa un sensore o un elettrodo specifico; una misurazione affidabile del tasso di respirazione è però possibile soltanto se il sensore è correttamente calibrato e se le variabili ambientali (temperatura, pressione...) vengono tenute adeguatamente in considerazione (i sensori hanno anche un tempo di risposta che in alcuni allestimenti dev'essere adeguatamente considerato).

I respirometri che misurano la concentrazione di ossigeno disciolto nella fase liquida sfruttano, come accennato in precedenza, un bilancio di massa dell'ossigeno stesso: si consideri un sistema formato da una fase liquida, contenente la biomassa, e una fase gassosa entrambe idealmente mescolate e aventi un input ed un output come schematizzato nella figura sottostante (Fig. 2.3).

Fig. 2.3. *Schema di un respirometro considerando lo scambio d'ossigeno fra le fasi: il bilancio di massa considera tutti i termini (Spanjers e Vanrolleghem, 2016).*



Si assume che in queste condizioni si possa misurare la concentrazione di ossigeno disciolto nella fase liquida; il bilancio di massa dell'ossigeno disciolto sopra la fase liquida risulta quindi:

$$\frac{d(V_L \cdot S_{O_2})}{dt} = Q_{in} \cdot S_{O_2,in} - Q_{out} \cdot S_{O_2} + V_L \cdot kLa \cdot (S^*_{O_2} - S_{O_2}) - V_L \cdot r_{O_2}$$

dove:

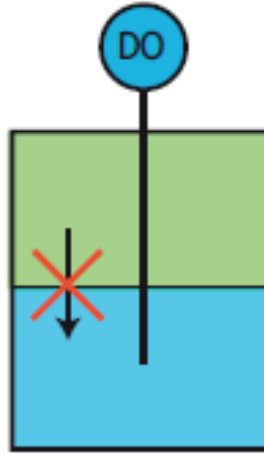
- S_{O_2} è la concentrazione di ossigeno disciolto nella fase liquida [mg/L];
- $S^*_{O_2}$ è la concentrazione di saturazione di ossigeno disciolto nella fase liquida [mg/L];
- $S_{O_2,in}$ è la concentrazione di ossigeno disciolto nella fase liquida entrante nel sistema [mg/L];
- kLa è il coefficiente di trasferimento di massa dell'ossigeno, in base al volume del liquido [1/h];
- Q_{in} è la portata del liquido entrante nel sistema [L/h];
- Q_{out} è la portata del liquido uscente dal sistema [L/h];
- r_{O_2} è il tasso di respirazione della biomassa nel liquido [mg/L·h];
- V_L è il volume della fase liquida [L].

Si noti che trattandosi di un bilancio di massa sopra la fase liquida, l'equazione precedente non contiene termini legati alle portate di gas; il primo e il secondo termine di destra rappresentano il flusso advettivo (in direzione orizzontale o prevalentemente orizzontale) di ossigeno disciolto nel flusso liquido rispettivamente in ingresso e in uscita (comunque in molti sistemi Q_{in} e Q_{out} sono uguali in modo tale da mantenere costante il volume del liquido). Il terzo termine descrive il trasferimento di massa dell'ossigeno dalla fase gassosa a quella liquida. L'ultimo termine contiene infine il tasso di respirazione, ossia l'incognita da ricavare dal bilancio. Dunque S_{O_2} dev'essere misurato e tutti gli altri coefficienti devono risultare noti o trascurabili (in quanto, per esempio, ininfluenti).

Nella pratica la determinazione di r_{O_2} può essere semplificata in numerosi modi: nel seguito della presente trattazione il volume del liquido all'interno del respirometro verrà assunto costante in modo da poter dividere i termini dell'equazione del bilancio di massa per V_L .

L'approccio utilizzato in molti test respirometrici (compresi quelli condotti nell'ambito della presente attività di ricerca) è quello di utilizzare un metodo in assenza di flusso liquido e di trasferimento di massa dell'ossigeno, ovvero quello schematizzato nell'immagine riportata di seguito (Fig. 2.4).

Fig. 2.4. Schema di un respirometro trascurando lo scambio d'ossigeno fra le fasi: il bilancio di massa si semplifica profondamente (Spanjers e Vanrolleghem, 2016).



In questo modo, con le ipotesi descritte in precedenza, i primi tre termini di destra nell'equazione del bilancio completo di massa si semplificano e il bilancio si riduce a:

$$\frac{dS_{O_2}}{dt} = -r_{O_2}$$

Per ottenere ora il tasso di respirazione è necessario determinare il solo termine differenziale; questo può essere fatto misurando la diminuzione di ossigeno disciolto, dovuta alla respirazione, in funzione del tempo. Tale consumo è (approssimativamente) equivalente al termine differenziale di sinistra e con un approccio alle differenze finite il bilancio risulterà:

$$\frac{\Delta S_{O_2}}{\Delta t} = -r_{O_2}$$

Un aspetto tipico di questo approccio è che l'ossigeno disciolto può esaurirsi dopo un po' di tempo e, in tal caso, è necessario areare il sistema in modo tale da riportare la concentrazione di ossigeno a livelli più alti, riuscendo così a misurare r_{O_2} in maniera continuativa. L'ossigeno disciolto e il substrato limitano infatti la respirazione quando le loro concentrazioni diventano troppo basse, provocando una diminuzione di ossigeno non lineare, rendendo così più complicata la valutazione del termine differenziale.

Si noti come con questo approccio, pur essendoci una fase gassosa (vedi Fig. 2.4), viene assunto che non ci sia trasferimento di massa dal gas alla fase liquida: in pratica, per impedire l'immissione di ossigeno nel liquido, la fase gassosa potrebbe anche essere assente. La procedura per la determinazione di r_{O_2} in accordo con gli *Standard Methods* (APHA et al., 2012) si basa proprio su questo principio.

3. ATTREZZATURA NECESSARIA

Per condurre un test respirometrico aerobico va innanzi tutto specificato come sia necessaria una configurazione in cui possa avvenire la respirazione aerobica: questa fondamentale consiste in una bottiglia (dotata di sistema di miscelazione) o un reattore all'interno del quale vengono inseriti la biomassa in condizioni aerobiche e il refluo (o uno specifico substrato di riferimento). È necessario inoltre avere a disposizione un sistema per misurare l'assorbimento dell'acetatore di elettroni finale (nella maggior parte dei casi l'ossigeno, ma possono essere anche nitriti o nitrati). La gestione dei dati può essere eseguita manualmente, come avviene per lo più nel caso della misura del BOD (*Biochemical Oxygen Demand* o domanda biochimica di ossigeno), oppure in forma totalmente automatica, ad esempio se i dati devono essere convertiti in tassi di respirazione con una frequenza di campionamento elevata. In alcuni respirometri sofisticati il funzionamento dell'attrezzatura è talmente complicato da richiedere addirittura un sistema di controllo automatico (Spanjers e Vanrolleghem, 2016).

3.1. Reattore

Il reattore solitamente è un contenitore con un volume variabile dai 100 mL ad alcuni litri e secondo l'applicazione (scala di laboratorio o d'impianto) può essere in vetro o in plastica; inoltre esso è spesso trasparente in modo da consentire immediatamente l'ispezione del contenuto. Secondo il principio di misura adottato il contenitore può essere completamente sigillato, in modo da impedire lo scambio di ossigeno con la fase gassosa, oppure aperto, per consentire tale trasferimento. I reattori aperti possono anche essere dotati di un'apparecchiatura di aerazione (ad esempio un diffusore) così da migliorare il trasferimento di ossigeno; va tuttavia specificato che in alcuni casi i contenitori possono operare sia in modalità 'aperta' (per l'aerazione) che 'chiusa' (per misurare il consumo di ossigeno). In tutti i casi, a prescindere da questa configurazione, i reat-

tori sono completamente miscelati, tramite una barretta magnetica, una girante, una pompa o grazie all'aerazione stessa.

In laboratorio i reattori sono termostatati; spesso infatti si usano strumenti in grado sia di riscaldare che di raffreddare, oppure elementi soltanto riscaldanti quando la temperatura viene mantenuta oltre quella dell'ambiente. In base al principio operativo adottato il reattore può avere poi diverse porte d'ingresso e d'uscita e una o più aperture per l'alloggiamento dei sensori; attrezzatura supplementare potrebbe infine includere valvole, pompe (per biomassa, refluo, substrato, aria e gas), una vasca di miscelazione, un contenitore per il substrato, un contenitore di alimentazione per l' NO_3 , un'unità di pre-trattamento del campione (seccaggio, filtro...), un generatore di ossigeno, ecc.

3.2. Dispositivo di misura

In molti casi il dispositivo di misura consiste in un sensore (per esempio una sonda con un misuratore associato collegato o meno a un sistema di acquisizione dati) per la misura della concentrazione dell'accettore di elettroni (ossigeno). L'ossigeno può essere misurato direttamente nella fase liquida attraverso una sonda galvanica, polarografica o ottica; in alternativa, in semplici prove di laboratorio (soprattutto per il test del BOD), l'ossigeno disciolto può essere determinato anche attraverso metodo titrimetrico o fotometrico.

La concentrazione nella fase gassosa può invece essere valutata direttamente con un analizzatore paramagnetico anche se variazioni della concentrazione di ossigeno possono essere misurate per mezzo di un sensore di pressione o tramite uno di spostamento del volume del gas.

I sensori possono presentare tempi di risposta anche piuttosto elevati ed è perciò fondamentale assicurarsi che il sensore sia sufficientemente veloce per seguire le cinetiche del processo biochimico: come regola generale il sensore dovrebbe risultare 10 volte più veloce rispetto alla reazione misurata.

3.3. Implementazione pratica

Nella letteratura scientifica sono state descritte numerose implementazioni pratiche e molte di queste sono state anche introdotte sui mercati. Come spiegato nel dettaglio nei paragrafi precedenti, tutte le tecniche di

misurazione del tasso di respirazione possono essere classificate secondo otto principi di base e il funzionamento di tutti i respirometri può essere spiegato in termini di tale classificazione (con i corrispondenti bilanci di massa). Tuttavia soltanto un numero limitato di respirometri è stato applicato in numero considerevole in ambito pratico, di ricerca e di produzione commerciale.

In quanto segue verrà descritto il principio del respirometro utilizzato nei test eseguiti, senza entrare nel merito di quale metodo specifico sia da preferire rispetto agli altri (ci si focalizza per approfondire e spiegare i principi di misura adottati in questa campagna di prove): la scelta di un determinato principio di misura o della sua implementazione tecnica dipende infatti dallo scopo della campagna di misure, dalle abilità degli operatori e dalle possibilità economiche a disposizione e non esiste a priori un metodo migliore di un altro.

Il principio utilizzato nei test di cui al presente scritto (misurazione dell'ossigeno nella fase liquida, senza scambi nelle due fasi *static gas - static liquid*) può essere considerato come il più semplice, in quanto l'assenza di flusso della fase liquida e gassosa implica l'assenza di materiale supplementare, come ad esempio pompe o attrezzatura di aerazione (a parte gli aeratori per portare a condizione di saturazione la biomassa all'inizio dei test). Il principio è stato infatti implementato anche in una versione semi-continua per misurare il tasso di respirazione della biomassa semi-continuamente, sia in scala di laboratorio che in impianto. In questi casi, vista l'elevata concentrazione di biomassa utilizzata, la diminuzione della concentrazione dell'ossigeno disciolto dovuta alla respirazione avviene entro pochi minuti, partendo da valori prossimi alla saturazione e raggiungendo velocemente la concentrazione limite di pochi mgO_2/L . Il tasso di respirazione viene successivamente determinato come pendenza del tratto decrescente della concentrazione di ossigeno.

Per rendere possibili misure del tasso di respirazione ripetute nel tempo la biomassa viene areata nuovamente dopo ogni misurazione, producendo in questo modo il tipico profilo dell'ossigeno disciolto a 'dente di sega'. Alcuni avanzati respirometri creano un'alternanza di areazione (spenta e accesa) in base all'effettiva concentrazione di ossigeno, ad esempio fra 4 e 6 mgO_2/L . Questi limiti superiori e inferiori di ossigeno andrebbero definiti con molta attenzione: essi infatti determinano la frequenza dei dati del tasso di respirazione e la loro accuratezza. Quando il tasso di respirazione è basso, infatti, potrebbe volerci un tempo più lungo per

passare dal limite superiore al limite inferiore (più tempo per apprezzare il tratto decrescente); tratti discendenti troppo brevi nel profilo dell'ossigeno disciolto rendono infatti il calcolo del tasso di respirazione sensibile ad errori di misura poiché si avranno a disposizione soltanto pochi punti sul ramo decrescente.

Potenziati difficoltà in questa tecnica potrebbero essere la necessità di evitare il trasferimento dell'ossigeno dalla fase gassosa alla fase liquida durante la fase decrescente dell'ossigeno disciolto, oppure l'eventuale difficoltà a riconoscere un andamento lineare nel decadimento della concentrazione di ossigeno (non è infatti sempre evidente). Quest'ultimo aspetto (riconoscimento del tratto decrescente lineare) potrebbe rivelarsi una vera sfida soprattutto quando la tecnica di misura è automatica: il passaggio dalla fase di re-aerazione a quella di decadimento dell'ossigeno può richiedere in effetti un po' di tempo (nell'ordine di grandezza delle decine di secondi) ed essere influenzato dalla rimozione delle bolle d'aria dal liquido e dalla risposta transitoria della sonda.

I respirometri che si basano su questa tecnica permettono di operare con intervalli di misura che variano tipicamente da pochi a diverse decine di minuti permettendo inoltre, soprattutto in scala di laboratorio, la generazione di respirogrammi attraverso l'aggiunta di reflui o di specifici substrati di riferimento.

4. IL METODO UTILIZZATO

L'aspetto più cruciale nei test respirometrici non è tanto la realizzazione pratica delle procedure, di fatto realizzabili agevolmente soprattutto grazie alla semplicità della strumentazione richiesta, quanto l'interpretazione dei dati ottenuti sulla base di un'approfondita comprensione dei modelli matematici che descrivono il processo biologico a fanghi attivi nella sua globalità (Di Giorgio, 2006).

Come detto la respirometria è la misura della respirazione, ovvero del consumo di ossigeno in un sistema biologico, che si misura come la quantità complessiva di ossigeno utilizzato da una biomassa in un determinato intervallo di tempo. All'interno del fango attivo il consumo è principalmente imputabile ai fenomeni di respirazione, con cui la biomassa ottiene l'energia necessaria al mantenimento delle sue funzioni vitali, e di degradazione del substrato, durante la quale l'ossigeno è consumato quale accettore di elettroni nei processi di ossidazione della materia organica e dei composti azotati, e nella sintesi di nuove cellule. Va specificato che il contributo dovuto alla respirazione è ovviamente sempre riscontrabile, anche in assenza di substrato di origine esterna, e rappresenta l'apporto endogeno del consumo. Per contro, il termine dovuto all'ossidazione di substrato esterno al sistema biologico rappresenta invece il contributo esogeno.

Il grado di consumo di ossigeno biologico è una grandezza direttamente correlabile al consumo di substrato da parte della biomassa, e quindi alla sua cinetica di crescita (Gregoris, 2011).

La velocità di consumo dell'ossigeno rappresenta invece la quantità di ossigeno utilizzata dal sistema biologico nell'unità di tempo (*Oxygen Uptake Rate* - OUR), ed è molto più elevata nel caso in cui si realizzi anche l'ossidazione di substrati esogeni. La rimozione dei substrati rapidamente biodegradabili comporta una grande richiesta di ossigeno a breve termine, mentre l'ossidazione di substrati lentamente biodegradabili comporta una velocità di consumo di ossigeno bassa, talvolta di poco

superiore a quella della sola respirazione endogena; pertanto, l'aggiunta al fango attivo di miscele di composti a diversi gradi di degradabilità comporta che, al diminuire della quantità di substrato rapidamente biodegradabile, la velocità di consumo dell'ossigeno diminuisca progressivamente fino al raggiungimento, una volta esaurito tutto il substrato esogeno disponibile ed effettivamente biodegradabile, del valore endogeno (Di Giorgio, 2006).

A questo punto risulta chiaro come, analizzando la variazione nel tempo della concentrazione di ossigeno disciolto nel respirometro, sia possibile ricavare le percentuali di COD rapidamente e lentamente biodegradabile rispetto al totale, scopo di questa parte della sperimentazione.

Come precedentemente accennato, nel COD totale di un refluo si riconoscono diverse componenti, ciascuna delle quali si caratterizza per una propria velocità di ossidazione da parte delle biomasse del fango attivo. Il COD è in primo luogo suddivisibile nelle componenti solubile e insolubile (particolato), a loro volta frazionabili nelle componenti biodegradabile e non biodegradabile.

La frazione solubile biodegradabile, alla quale appartengono piccole molecole organiche come acidi volatili, glucidi semplici, aminoacidi e altri, viene comunemente detta COD rapidamente biodegradabile (*rbCOD*), mentre la frazione insolubile biodegradabile, comprendente molecole più complesse come proteine, polisaccaridi e lipidi, è definita COD lentamente biodegradabile (*sbCOD*).

Se la distinzione fisica tra parte solubile e particolato del COD è intuitiva, quella tra biodegradabilità rapida e lenta non è così immediata e necessita di un'unità di tempo (o almeno un suo ordine di grandezza) che sia di riferimento per questa differenziazione. Si può affermare che se una quantità di substrato viene degradata entro un'ora è classificabile come facilmente e velocemente biodegradabile, mentre se per la sua assimilazione sono necessari tempi da qualche ora ad un giorno circa si può parlare di substrato lentamente o difficilmente biodegradabile (Di Giorgio, 2006).

4.1. Determinazione del COD rapidamente biodegradabile

L'ipotesi fondamentale su cui si basa il metodo per la determinazione dell'*rbCOD* (o S_s) è che la biomassa assimili la frazione facilmente biodegradabile del COD allo stesso modo in cui assimila l'acetato di sodio, che

rappresenta un composto facilmente biodegradabile 'tipo'. Questo metodo permette di determinare la concentrazione di *rbCOD* attraverso un test cosiddetto 'a singolo-OUR', poiché è sufficiente disporre di un unico tratto decrescente della concentrazione dell'ossigeno disciolto (OD).

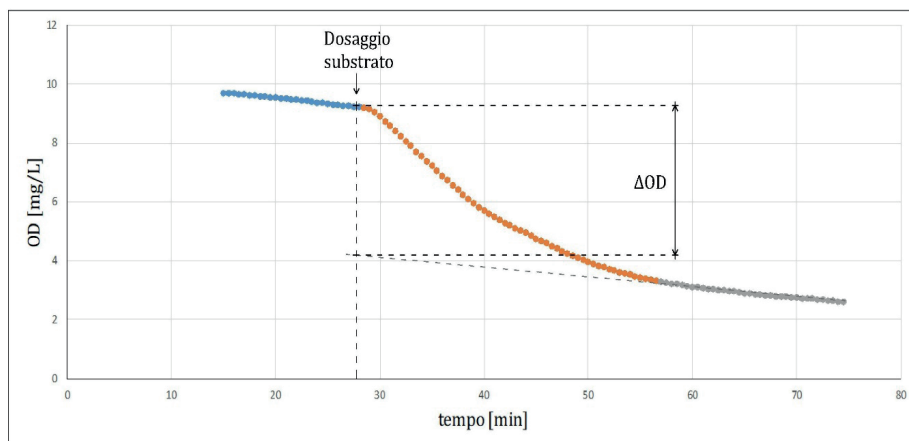
Nel metodo a singolo-OUR è necessario disporre di una curva di calibrazione che esprima la correlazione (lineare) tra il COD aggiunto (come acetato di sodio) ed il relativo consumo di ossigeno da parte del fango attivo. Per calcolare la retta di calibrazione tra OD utilizzato e COD consumato è necessario disporre di 5-6 punti, ognuno dei quali è ottenuto con un diverso dosaggio di acetato secondo il seguente procedimento (Gregoris, 2011):

1. utilizzare nel respirometro un volume di fango attivo pre-aerato con concentrazione pari a 2-3 gSSV/L;
2. portare la concentrazione di OD a saturazione continuando ad aerare la biomassa per alcuni minuti;
3. interrompere l'aerazione (una volta raggiunta la saturazione) e procedere alla misurazione del conseguente consumo endogeno di ossigeno disciolto (per non più di 10 minuti);
4. aggiungere una quantità nota di acetato di sodio (nel range 5-15 mgCOD per litro di fango attivo) in modo tale da poter misurare il decadimento di OD in seguito alla rimozione del substrato;
5. concludere il test quando l'ossigeno disciolto è prossimo all'esaurimento (valore limite di 2 mgO₂/L);
6. ripetere i passi precedenti per altre 4-5 concentrazioni diverse di acetato, sempre tenendo presente il range indicato al punto 4.

Il tipico tracciato che si ottiene con l'applicazione di questo procedimento è riportato in Figura 4.1.

La prima porzione del tracciato è rappresentata dalla fase endogena iniziale a pendenza abbastanza ridotta (in questa fase la biomassa sta solo respirando); successivamente, con l'aggiunta di acetato alle varie concentrazioni note, si può osservare il tratto a maggior pendenza dove il consumo di ossigeno nel tempo è maggiore (l'ossigeno disciolto diminuisce più velocemente) per l'ossidazione del substrato.

Fig. 4.1. Esempio dell'andamento della concentrazione di ossigeno disciolto (OD) in seguito al dosaggio di acetato di sodio.



Infine, la successiva variazione di pendenza è il segno del ritorno a una fase endogena: il substrato è terminato e la biomassa consuma nuovamente ossigeno solo per le proprie funzioni vitali (la curva ha la stessa inclinazione che aveva nella fase endogena pre-esistente all'aggiunta dell'acetato).

Interpolando linearmente i punti misurati, tramite la costruzione grafica che si osserva in figura, è possibile determinare il valore di ossigeno consumato durante il test (ΔOD) in seguito all'aggiunta di quella specifica quantità di acetato. Successivamente, i valori di ΔOD calcolati per tutti i 5-6 test a dosaggi crescenti di acetato, vengono diagrammati in funzione del rispettivo COD aggiunto: si ottiene in questo modo la retta di calibrazione (Gregoris, 2011).

La curva di regressione lineare dei punti sperimentali così ottenuta (y come mgO_2/L e x come mgCOD/L) è sempre del tipo $y=mx$, ovvero una retta uscente dall'origine degli assi (Di Giorgio, 2006).

A questo punto, si esegue lo stesso procedimento descritto finora dosando, al posto dell'acetato, il refluo oggetto dell'analisi (in genere nel range 10-100 ml per ogni litro di fango attivo); il valore di ΔOD in seguito al dosaggio del refluo si determina con la medesima procedura grafica illustrata in precedenza per il caso dell'acetato di sodio. Noto quindi il ΔOD del refluo, e ricavato il corrispondente valore di COD come aceta-

to dalla curva di calibrazione, si ottiene immediatamente la concentrazione di $rbCOD$ del refluo:

$$rbCOD = \frac{COD_{ac} \cdot (V_r + V_{fa})}{V_r}$$

dove:

COD_{ac} rappresenta il valore ottenuto dalla conversione del consumo di ossigeno provocato dal refluo in COD come acetato dalla curva di calibrazione [mgCOD/L];

V_r è il volume di refluo aggiunto durante la prova nel respirometro [L];

V_{fa} rappresenta il volume di fango attivo presente nel respirometro [L].

Per una corretta applicazione del metodo appena descritto è necessario porre particolare attenzione ad alcuni aspetti: la curva di calibrazione è indipendente dal fango attivo utilizzato. Un fango attivo con una più elevata concentrazione di SSV presenta una più elevata velocità di rimozione dell'ossigeno (in termini volumetrici), e conseguentemente un tempo di ritenzione minore, ma il valore di ΔOD non cambia. Inoltre, la curva di calibrazione non varia significativamente nel tempo per biomasse prelevate da un medesimo impianto di depurazione. Essa può essere considerata valida per diverse settimane, ma è comunque utile accertarne periodicamente la validità effettuando un test respirometrico con una sola aggiunta di acetato, per verificare se il risultato rientra nella curva di taratura (Gregoris, 2011).

4.2. Determinazione del COD lentamente biodegradabile

Dopo aver valutato l' $rbCOD$ si passa alla seconda fase della caratterizzazione: questa richiede l'esecuzione del respirogramma del refluo su una biomassa pre-aerata, la quale provenga preferibilmente dallo stesso impianto del refluo di cui si esegue il frazionamento.

La frazione lentamente biodegradabile del COD (X_s) è composta da molecole ad alto peso molecolare che richiedono una preventiva idrolisi per poter essere metabolizzate da parte dei fanghi attivi come molecole a basso peso molecolare, allo stesso modo di S_s .

Quando si effettua un test respirometrico per la misura di *sbCOD* su un'acqua reflua non è mai possibile misurare solo X_S , vista la simultanea presenza nel refluo anche di S_S . Il test, quindi, viene effettuato per misurare contestualmente sia S_S che X_S : il valore di *sbCOD* verrà poi calcolato per differenza, una volta noto S_S secondo il metodo descritto ampiamente nei paragrafi precedenti (Gregoris, 2011).

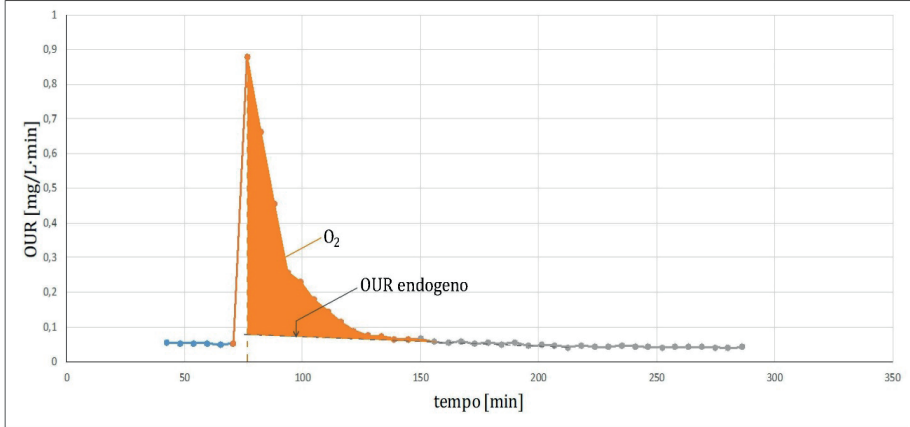
Per la misura di *sbCOD* viene effettuata una prova respirometrica aggiungendo al fango attivo, pre-areato e in condizioni endogene, un'aliquota del refluo da analizzare.

Si specifica fin d'ora che in questa prova l'elaborazione dei dati viene fatta studiando e analizzando il respirogramma che, a differenza del caso precedente, è il grafico che considera il consumo di ossigeno (OUR) e non l'ossigeno disciolto nel respirometro; le due grandezze sono ovviamente legate, e il grafico dell'OUR deriva sempre dalla misurazione, ad intervalli di tempo regolari (30 secondi), della concentrazione di ossigeno disciolto nella biomassa: quando la concentrazione di ossigeno disciolto diminuisce vuol dire che il consumo di ossigeno, l'OUR appunto, aumenta, e viceversa.

Il respirogramma (Fig. 4.2) ha un tipico andamento gradualmente decrescente, legato alla progressiva scomparsa dei substrati, dai più rapidamente ai più lentamente biodegradabili. L'OUR presenta valori elevati all'inizio del test poiché in questa fase si verifica l'ossidazione della parte facilmente biodegradabile e l'idrolisi di X_S ; la durata di questa prima fase, con valori elevati di consumo di ossigeno, dipende dalla quantità di S_S effettivamente disponibile nel refluo testato. In ogni caso con il passare del tempo la pendenza diminuisce progressivamente fino ad assumere, dopo qualche ora dall'introduzione del refluo, l'andamento debolmente decrescente tipico della fase di respirazione endogena in assenza di cibo (Di Giorgio, 2006).

Una volta costruito il respirogramma si può osservare che l'area compresa fra la curva completa e la respirazione endogena (area O_2 in Fig. 4.2), individua l'ossigeno totale consumato dalla biomassa per la completa ossidazione di tutti i componenti biodegradabili: la somma cioè di quelli facilmente biodegradabili (S_S) e quelli lentamente biodegradabili (X_S). I punti sperimentali della curva decrescente della respirazione endogena possono essere interpolati attraverso una funzione esponenziale decrescente del tipo $y = a e^{-x}$ oppure, per semplicità, attraverso un'interpolazione lineare (Gregoris, 2011).

Fig. 4.2. Esempio di respirogramma relativo all'ossidazione di un substrato biodegradabile.



L'area O_2 viene quindi calcolata dall'integrale dell' $OUR_{esogeno}$ valutato tra l'istante di dosaggio del refluo e la fine del test, ovvero:

$$O_2 = \int_{t_0}^{t_{finale}} OUR_{esogeno}(t) dt$$

L'ossigeno consumato è inoltre proporzionale al substrato consumato (cioè al substrato $S_S + X_S$ da quantificare) secondo la seguente relazione:

$$O_2 = (1 - Y_H) \cdot (S_S + X_S)$$

dove Y_H rappresenta il coefficiente di resa cellulare definito, descritto e determinato più dettagliatamente nel seguito. Uguagliando le due equazioni si perviene facilmente al risultato cercato:

$$(S_S + X_S) = \frac{1}{1 - Y_H} \cdot \int_{t_0}^{t_{finale}} OUR_{esogeno}(t) dt$$

Il punto corrispondente a t_{finale} è individuato dal momento in cui tutto il substrato è esaurito (facilmente e lentamente biodegradabile), ovvero quando il valore di OUR torna al valore di OUR_{endogeno} e cioè, più semplicemente, quando l' OUR_{esogeno} tende a zero. Infine, la concentrazione di $(S_S + X_S)$ viene calcolata considerando il rapporto in volume tra l'acqua reflua aggiunta e la miscela di refluo più fango attivo; ovvero:

$$(S_S + X_S) = \frac{1}{1 - Y_H} \cdot \frac{V_r + V_{fa}}{V_r} \cdot \int_{t_0}^{t_{\text{finale}}} OUR_{\text{esogeno}}(t) dt$$

in cui, analogamente alle formule precedenti, V_r e V_{fa} rappresentano rispettivamente il volume del refluo addizionato e il volume del fango attivo impiegato.

Una volta raggiunto questo risultato, la determinazione della sola componente lentamente biodegradabile risulta immediata, una volta noto il valore di S_S attraverso le prove descritte in precedenza:

$$X_S = (S_S + X_S) - S_S$$

Tuttavia, conoscere la concentrazione del COD biodegradabile totale di un refluo $(S_S + X_S)$, anche se non necessariamente suddiviso nelle sue frazioni *rbCOD* e *sbCOD*, costituisce già un'utile informazione per l'applicazione di accurate formule di dimensionamento degli impianti o per effettuare bilanci di massa (Gregoris, 2011).

4.3. Determinazione del coefficiente di resa cellulare

Il coefficiente di resa cellulare (Y_H) o coefficiente di produzione degli eterotrofi, esprime la frazione di COD che da substrato viene convertita in biomassa cellulare (si tratta di un parametro adimensionale essendo espresso come mgCOD/mgCOD).

Dato che Y_H è il parametro direttamente coinvolto nella sintesi di nuova biomassa, da esso dipendono molte relazioni tra cui principalmente la produzione di fanghi e il consumo di ossigeno. La determinazione di questo parametro viene effettuata mediante una prova in batch utilizzando fango attivo già acclimatato e pre-areato, al quale viene aggiunto un substrato sintetico.

La procedura è simile alle prove con acetato per la valutazione della componente facilmente biodegradabile $rbCOD$: nel respirometro contenente la biomassa pre-areata, viene introdotta una quantità nota di substrato sintetico (acetato) e si interrompe l'areazione. L'ossigeno consumato ΔOD si determina con la medesima procedura grafica illustrata in precedenza e rappresenta l'ossigeno necessario a degradare una quantità nota di COD. Questa prova per la determinazione di Y_H si effettua proprio per questo motivo su un substrato sintetico, e non sul refluo da analizzare, poiché operando in questo modo il consumo di ossigeno ΔOD viene determinato indirettamente dalle misure di ossigeno disciolto nel respirometro, e il valore di COD biodegradato è noto, essendo decisa a priori dall'operatore la dose di acetato (e quindi di COD che ne deriva) da immettere.

Si può ricavare il valore del coefficiente di crescita cellulare attraverso la seguente relazione:

$$Y_H = 1 - \frac{\Delta OD}{\Delta COD_{biodegradato}}$$

5. SCOPO DEL LAVORO

Come accennato precedentemente uno degli obiettivi del percorso di ricerca era quello di riuscire ad ottimizzare (laddove possibile) una tecnica, quella della respirometria, ormai ampiamente consolidata. In questo capitolo verranno riportate dunque le risultanze emerse durante l'attività.

5.1. Scelta della biomassa da utilizzare

Il primo aspetto preliminare da chiarire, ancora prima di iniziare a svolgere le prove in laboratorio, è quale tipologia di biomassa bisogna prelevare e, soprattutto, da quale impianto: nel caso specifico, vista la finalità del lavoro (confrontare il frazionamento di matrici provenienti da diversi impianti di depurazione) si è optato per mantenere sempre la stessa biomassa, ossia quella proveniente dall'impianto di depurazione di Udine. In questo modo si riduce una variabile ed è dunque possibile riuscire a valutare eventuali differenze fra i reflui di impianti sensibilmente diversi a parità di biomassa utilizzata.

Qualora invece la finalità dei test fosse quella, ad esempio, di testare il livello di attività del comparto biologico a fanghi attivi di svariati impianti allora bisognerà compiere il ragionamento inverso: in questo caso varieranno le biomasse utilizzate nelle prove e resterà costante il substrato da somministrare (in tal caso magari si opterà per substrati sintetici in modo tale che siano più replicabili ed il meno variabili possibile). Appare quindi subito chiaro come non esista una regola universalmente valida ma è necessario effettuare alcune considerazioni iniziali basate su quale sia lo scopo dei test che si andranno a svolgere.

In ogni caso, a prescindere da quale sia la finalità dei test, la biomassa va prelevata dal comparto biologico a fanghi attivi (direttamente dalla vasca o, in alternativa, da uno dei ricircoli presenti in impianto) e va assolutamente evitato di utilizzare fanghi sedimentati o già ispessiti: nel corso

delle prove è infatti emerso che l'eventuale utilizzo di tale biomasse (effettuato un test con fango proveniente dall'ispessitore) apporta un quantitativo di solidi sospesi totali (TSS) all'interno del respirometro troppo elevato, tale da consumare tutto l'ossigeno in un tempo ridottissimo rendendo quindi la prova del tutto irrealizzabile. Questo deriva dal fatto che gli aeratori, anche se in funzione alla massima potenza, apportano un quantitativo di ossigeno nettamente inferiore rispetto a quello consumato per la sola respirazione dalla biomassa se presenta una concentrazione di solidi così elevata (anche qualora si effettuino pesanti diluizioni). Concludendo, quindi, il primo aspetto cruciale nella progettazione di una prova respirometrica è la determinazione della finalità del test e l'accortezza di utilizzare sempre fango biologico proveniente dal comparto a fanghi attivi.

5.2. Concentrazione di solidi

Le ultime considerazioni del paragrafo precedente forniscono spunti molto importanti su un altro parametro fondamentale, che va monitorato e controllato costantemente durante i periodi di prove: i solidi sospesi totali appunto. È chiaro ormai a questo punto che bisogna evitare di apportare all'interno del respirometro concentrazioni di solidi troppo elevate: una regola generale, testata nel corso delle prove di questo lavoro e accertata come sostanzialmente sempre valida, è quella di operare con una concentrazione di solidi compresa fra i 2 e i 3 gTSS/L.

Spesso, anche se si lavora con biomasse prelevate da comparti a fanghi attivi (non fango ispessito), può capitare che questi valori di solidi vengano superati e vadano effettuate, quindi, opportune diluizioni.

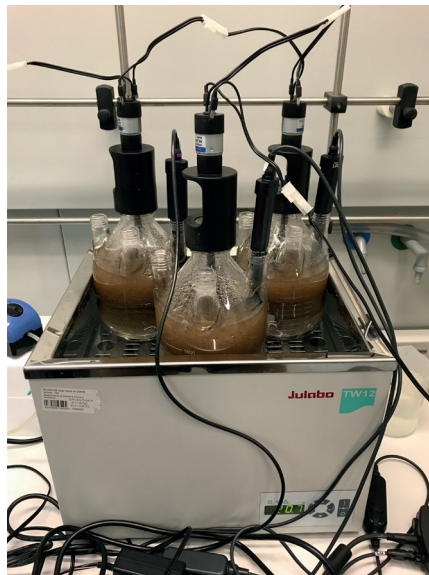
Per determinare la diluizione corretta, in modo tale cioè da avere all'interno del respirometro una concentrazione di solidi compresa nel range riportato in precedenza (2-3 gTSS/L), è fondamentale conoscere con un certo grado di precisione la concentrazione di solidi di partenza del fango prelevato: molto spesso gli impianti di depurazione possono fornire questo dato ma è sempre buona norma effettuare il test in forma preliminare anche in laboratorio in modo da determinare eventuali differenze fra i due valori (può succedere infatti che gli impianti forniscano valori mediati, o vecchi, non indicativi del fango prelevato in un determinato istante).

5.3. Rapporto substrato/biomassa

Questo è probabilmente il parametro più importante da determinare nelle prove respirometriche: capace infatti di influenzare pesantemente i test, il rapporto biomassa/substrato va attentamente valutato e determinato in maniera preliminare. A seguito delle numerose prove effettuate si può concludere come, anche per questo parametro, non ci sia un valore 'ottimale' generalmente valido e che vada sempre rispettato. Solitamente si può optare per dosaggi nel range 30-50 mgCOD/L nel caso di prove di deossigenazione (prove di durata limitata per la valutazione di S_s) e di 100 mgCOD/L per i respirogrammi (prove di 24 ore per determinare S_s+X_s) ma, come detto, le eccezioni sono piuttosto frequenti.

Bisogna considerare infatti un aspetto di carattere puramente operativo, ossia il volume del respirometro: se operiamo, come nel caso specifico di questo lavoro, con reattori di volume pari a 2.5 litri (Fig. 5.1) questo rappresenta un vincolo nella determinazione del rapporto substrato/biomassa da utilizzare. Secondariamente bisogna valutare anche il COD della matrice da aggiungere: più il COD è elevato, meno volume di substrato è necessario, e viceversa (perché il dosaggio è espresso in mgCODaggiunto/Lfango).

Fig. 5.1. Reattori utilizzati durante la sperimentazione ($V_{max} = 2.5$ L).



Esempio

In una prova si vuole effettuare un dosaggio di 50 mgCOD/Lfango.

Vol respirometro = 2.5 L

Vol fango = 2 L

Dunque nel respirometro si vogliono apportare 50 mgCOD/Lfango *2

Lfango= 100 mgCOD

Matrice 1

COD = 900 mgCOD/L

Dosaggio = 100 mgCOD / 900 mgCOD/L = 0.111 L = 111.1 mL

N.B.: COD elevato, ridotto dosaggio

Matrice 2

COD = 400 mgCOD/L

Dosaggio = 100 mgCOD / 400 mgCOD/L = 0.25 L = 250 mL

N.B.: diminuisce il COD, aumenta il dosaggio

Matrice 3

COD = 150 mgCOD/L

Dosaggio = 100 mgCOD / 150 mgCOD/L = 0.666 L = 666.7 mL

N.B.: il dosaggio necessario sarebbe troppo elevato (2 L fango + 0.666 L refluo > 2.5 L). In questo caso bisogna utilizzare un volume ridotto di fango (ad esempio 1.8 L) ed effettuare nuovamente il calcolo fino a trovare un dosaggio operativamente realizzabile.

Questi semplici esempi evidenziano come il rapporto substrato/biomassa sia un parametro molto sensibile e delicato, per il quale esistono dei valori di riferimento (range indicato in precedenza di 30-50mg/L per le deossigenazioni e di 100 mgCOD/L per i respirogrammi) ma vadano comunque effettuate attente valutazioni caso per caso una volta in possesso di una visione d'insieme sui volumi in gioco e sul COD della matrice da testare.

In maniera analoga si potrebbe anche esprimere questo parametro in mgCOD/mgVSS (invece che in mgCODaggiunto/Lfango): proprio in quest'ottica, Zhang et al. (2021) nel loro lavoro hanno proposto valori del rapporto substrato/biomassa variabili da 0.2 a 1.0 mgCOD/mgVSS

evidenziando, ancora una volta, la delicatezza di tale parametro e la necessità di considerazioni e valutazioni specifiche *ad hoc* caso per caso (Zhang et al., 2021).

5.4. Soluzioni aggiuntive

Nella maggior parte dei casi, come detto, la tecnica respirometrica viene utilizzata per determinare il frazionamento del COD_o, più in generale, per valutare le cinetiche di rimozione dei substrati organici carboniosi. Di conseguenza è spesso necessario aggiungere all'interno del respirometro adeguate soluzioni (in opportune concentrazioni) al fine di inibire le cinetiche di rimozione della sostanza azotata eventualmente presente nella matrice testata. Questo è necessario quando il consumo di ossigeno da parte della biomassa per rimuovere l'azoto andrebbe a influire e falsare il consumo di ossigeno per la rimozione del solo carbonio. Appare banale affermare che tali soluzioni non vanno aggiunte qualora le matrici testate non presentino concentrazioni apprezzabili di azoto oppure quando lo scopo della prova è quello di determinare proprio le cinetiche di rimozione della sostanza azotata (possibile campo di applicazione della respirometria).

Quando necessario, quindi, la sostanza generalmente utilizzata e accettata per questo scopo è una soluzione di allitourea (ATU): dopo numerose prove (e altrettante concentrazioni testate) si può affermare come una concentrazione valida da prendere come riferimento sia 10 g/L: una soluzione a tale concentrazione può essere preparata sciogliendo 250 mg di ATU in 25 mL di acqua. Successivamente il dosaggio della soluzione così preparata all'interno del respirometro dipende dal volume di fango presente all'interno del reattore: in analogia con l'esempio riportato in precedenza (2 litri di fango) si dovranno aggiungere 2 mL della soluzione di ATU (a 10 g/L).

Si rende noto, ancora una volta, come la concentrazione di tale soluzione dipenda dalla tipologia di biomassa adottata nei test: nel recente studio menzionato nel paragrafo precedente ad esempio, al fine di inibire l'attività di nitrificazione, in alcuni test respirometrici veniva dosata una soluzione di ATU ad una concentrazione pari a 20 mg/L, decisamente più bassa rispetto a quella adottata nella presente ricerca (Zhang et al., 2021).

6. RISULTATI E DISCUSSIONE

Come accennato in precedenza in questo lavoro è stata applicata la tecnica respirometrica al fine di valutare il frazionamento del COD di 4 reflui provenienti da altrettanti impianti del Friuli Venezia Giulia. Nel seguito del capitolo verranno spiegate brevemente le prove effettuate e illustrati i risultati ottenuti durante il periodo di ricerca.

6.1. Determinazione dei solidi sospesi totali

Come spiegato precedentemente in maniera approfondita, la determinazione della concentrazione dei TSS della biomassa utilizzata nei test è di fondamentale importanza al fine di assicurare (tramite, se necessario, una corretta diluizione) un'adeguata concentrazione di solidi all'interno del respirometro.

In questo caso si è applicata la procedura n. 2540 D illustrata negli *Standard Methods 23rd Edition* (ai quali si rimanda integralmente per le specifiche analitiche) e la prova è stata eseguita in triplo. Si riportano di seguito, in forma tabellare, i risultati delle prove effettuate (Tab. 6.1).

Si fa notare, ancora una volta, come il giorno del prelievo della biomassa la sonda d'impianto fornisse un valore di solidi pari al 4.4% (4.40 g/L), sensibilmente diverso rispetto al valore più preciso e affidabile riscontrato successivamente tramite test in laboratorio (differenze dell'ordine del 23%). Determinato quindi il valore di solidi si è deciso di operare con una diluizione 1:2 (in modo da rientrare nel range 2-3 g/L nel respirometro): per tutte le prove successive, quindi, all'interno del reattore veniva posto 1 L di biomassa tal quale e 1 L di acqua, ottenendo 2 L di fango con una concentrazione di solidi pari a $5.40/2 = 2.70$ g/L.

Tab. 6.1. Risultati della determinazione dei solidi sospesi totali (TSS) sul fango dell'impianto di depurazione di Udine.

	Peso filtro	Vol. fango utilizzato	Peso dopo essiccamento	Peso netto	TSS
	[g]	[mL]	[g]	[g]	[g/L]=[‰]
Campione 1	0.1108	2.90	0.1264	0.0156	5.38
Campione 2	0.1108	3.27	0.1286	0.0178	5.44
Campione 3	0.1108	3.12	0.1276	0.0168	5.38
				media =	5.40

6.2. Costruzione della retta di taratura

Le prime prove sono state condotte con un substrato sintetico di riferimento (acetato di sodio) al fine di costruire la retta di taratura: tale retta (specifica per ogni tipologia di biomassa) permette di determinare, nei successivi test condotti con la matrice da testare, la frazione di COD rapidamente biodegradabile.

Si specifica che in questo caso, operando sempre con la stessa biomassa (proveniente dall'impianto di Udine) e non variando in maniera significativa il contenuto di solidi nel tempo (monitorato con prove a campione periodicamente e ottenendo praticamente gli stessi risultati riportati nella tabella 6.1 a paragrafo precedente), la retta di taratura ottenuta in questa fase è stata mantenuta per tutte le prove successive con le diverse matrici. Sono state quindi condotte diverse prove respirometriche con dosaggi crescenti di acetato di sodio (6, 8, 10, 12 e 14 mgCOD/L) determinando ogni volta il quantitativo di ossigeno necessario (Δ OD) per rimuovere quel quantitativo di substrato. Si riportano di seguito, a titolo di esempio, i grafici relativi alle 3 prove (Figg. 6.1, 6.2 e 6.3) eseguite aggiungendo 10 mgCOD/L.

Fig. 6.1. *Acetato 10 - prova 1* ($\Delta OD_1 = 2.38 \text{ mg/L}$).

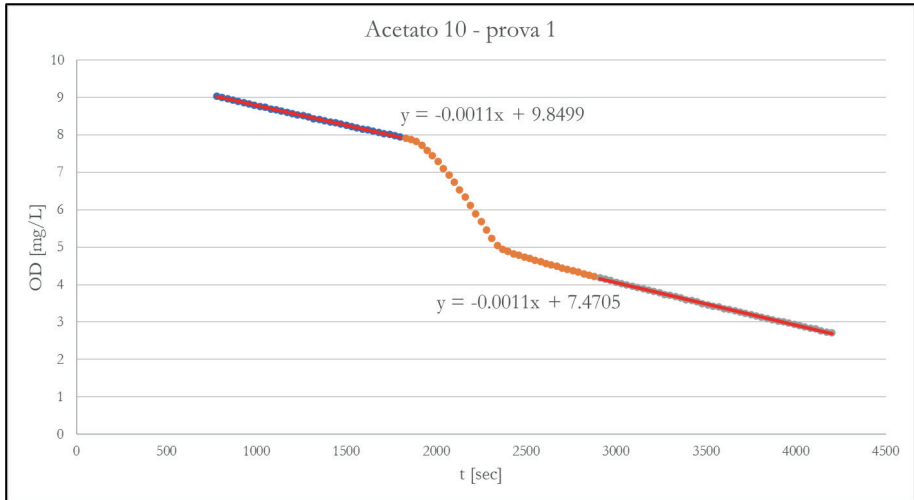


Fig. 6.2. *Acetato 10 - prova 2* ($\Delta OD_2 = 2.34 \text{ mg/L}$).

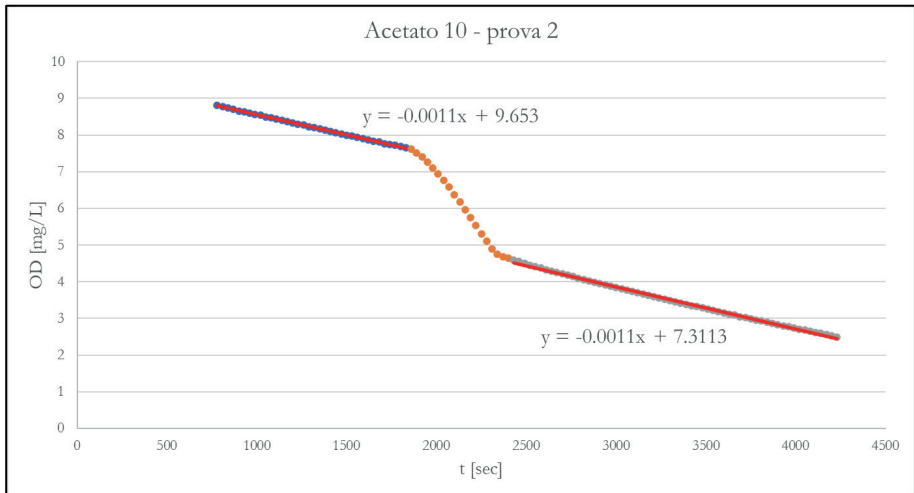
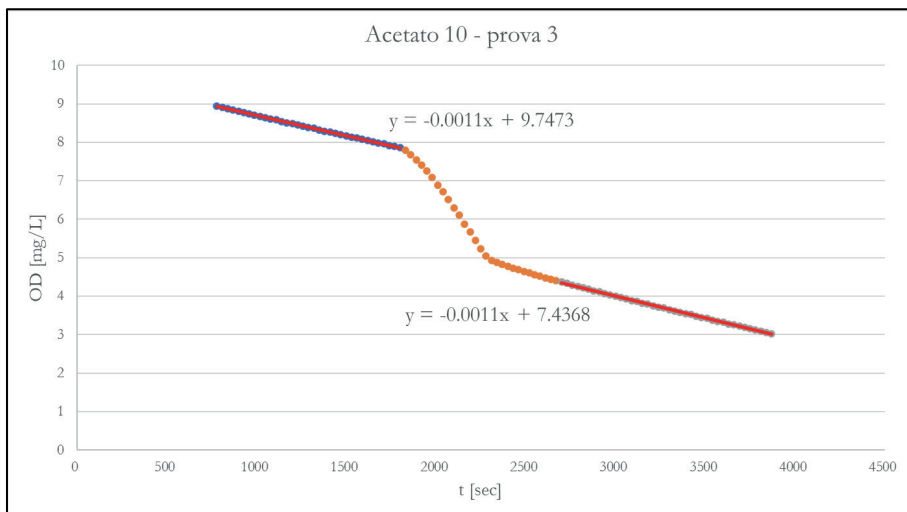


Fig. 6.3. *Acetato 10 - prova 3* ($\Delta OD_3=2.31 \text{ mg/L}$).

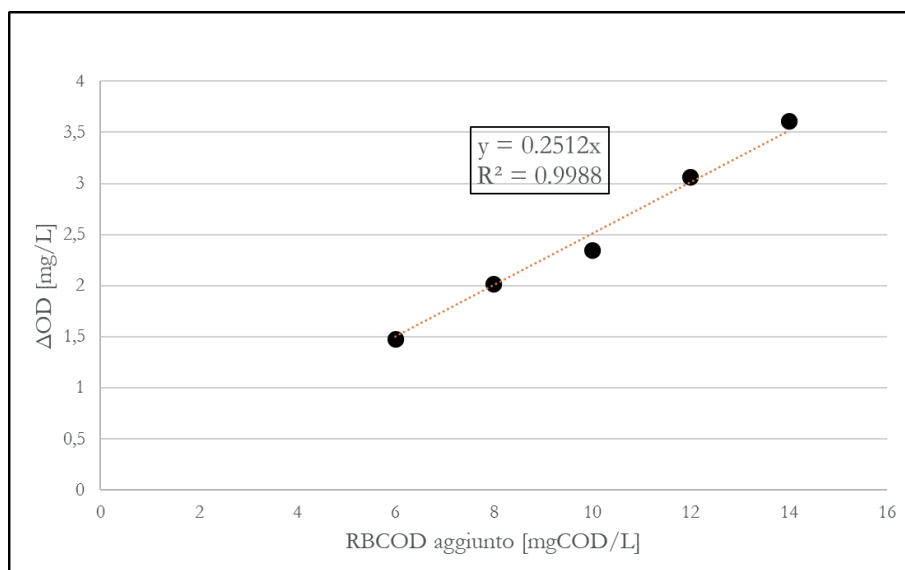


Tab. 6.2. *Risultati ottenuti dalle prove in triplo con acetato di sodio per la costruzione della retta di taratura.*

	Acetato 6	Acetato 8	Acetato 10	Acetato 12	Acetato 14
RBCOD aggiunto [mg COD /L]	6	8	10	12	14
ΔOD prova 1 [mg/L]	1.38	1.97	2.38	3.10	3.54
ΔOD prova 2 [mg/L]	1.52	1.94	2.34	3.04	3.63
ΔOD prova 3 [mg/L]	1.52	2.13	2.31	3.04	3.66
MEDIA	1.47	2.01	2.34	3.06	3.61

Si specifica come i risultati ottenuti abbiano un elevatissimo grado di accuratezza (operando con substrati sintetici non c'è quel grado di variabilità tipico delle matrici reali): le tre prove effettuate, infatti, risultano praticamente identiche e perfettamente sovrapponibili. Un ragionamento analogo è stato condotto con tutti gli altri dosaggi di acetato di sodio e si riportano i risultati e la retta di taratura ottenuta (Fig. 6.4).

Fig. 6.4. Retta di calibrazione ottenuta.



6.3. Frazionamento del COD

Una volta costruita la retta di taratura mediante il substrato di riferimento (acetato di sodio) si è potuto effettuare i test veri e propri con le matrici reali: si sono condotte prove di deossigenazione (per determinare la frazione rapidamente biodegradabile del COD) e respirogrammi completi (al fine di quantificare la somma delle frazioni velocemente e lentamente biodegradabili, $S_s + X_s$). Inoltre, per avere una visione più completa sulle caratteristiche fisico-chimiche dei reflui studiati è stata effettuata anche una caratterizzazione di carattere più generale, valutando (per ciascun caso) i contenuti in solfati, fosfati, ammoniaca, alcalinità e infine il pH. Si riportano a seguire i risultati ottenuti per ciascun impianto considerato.

6.3.1. *Impianto di Udine.* Quello di Udine è un classico impianto di depurazione di tipo urbano a fanghi attivi; situato a sud della città ha una potenzialità di progetto di 200 000 abitanti equivalenti (tagli elevata). Nel seguito vengono presentati in forma tabellare i risultati ottenuti per il refluo prelevato da questo impianto (Tab. 6.3).

Tab. 6.3. *Risultati della caratterizzazione fisico-chimica del refluo di Udine.*

	test 1	test 2	test 3	Media
Alcalinità [mgCaCO ₃ /L]	440	420	400	420
Solfati [mgSO ₄ /L]	49.7	47.1	50.9	49.2
Fosfati [mgPO ₄ /L]	6.6	5.8	3.5	5.3
Ammoniaca [mgNH ₃ /L]	35.0	36.0	36.0	35.7
pH [-]	7.67	7.58	7.59	7.60

COD = 755 mg/L

S_s = 21 %

S_s + X_s = 73 %

X_s = 52 %

6.3.2. *Impianto di Tolmezzo.* In questo caso si tratta di un impianto biologico a fanghi attivi in cui oltre il 90% delle portate totali provengono dalla vicina cartiera (le acque reflue urbane provenienti dai comuni di Tolmezzo, Amaro e Villa Santina rappresentano soltanto il 5% delle portate trattate al depuratore). Si tratta quindi, a tutti gli effetti, di un impianto di tipo industriale di taglia medio-grande (circa 140 000 abitanti equivalenti complessivi).

In questo caso si riportano, a titolo di esempio, i grafici ottenuti dalle prove di deossigenazione (Figg. 6.5, 6.6 e 6.7) e dai respirogrammi (Fig. 6.8) effettuati, nonché i risultati della caratterizzazione fisico-chimica, in forma tabellare, per il refluo prelevato in questo impianto.

Fig. 6.5. *Refluo Tolmezzo - prova 1* ($\Delta OD_1=2.82 \text{ mg/L}$).

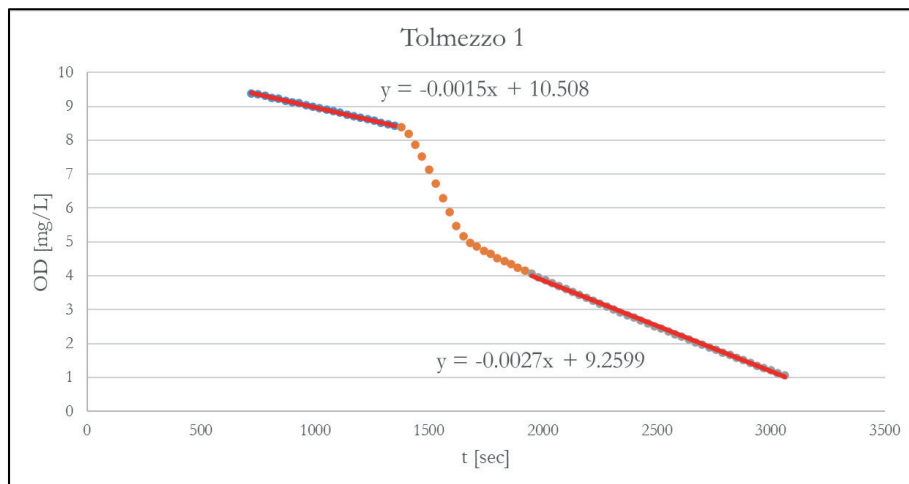


Fig. 6.6. *Refluo Tolmezzo - prova 2* ($\Delta OD_2=2.64 \text{ mg/L}$).

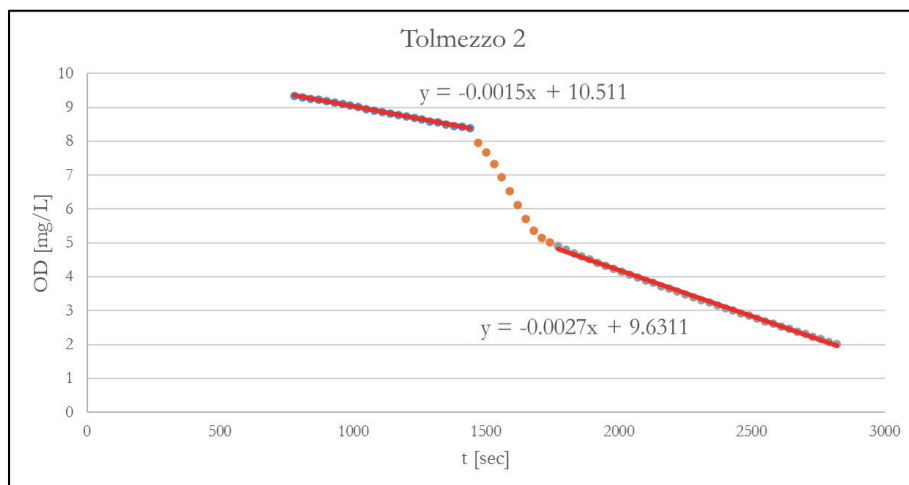


Fig. 6.7. *Refluo Tolmezzo - prova 3* ($\Delta OD_3=2.61$ mg/L).

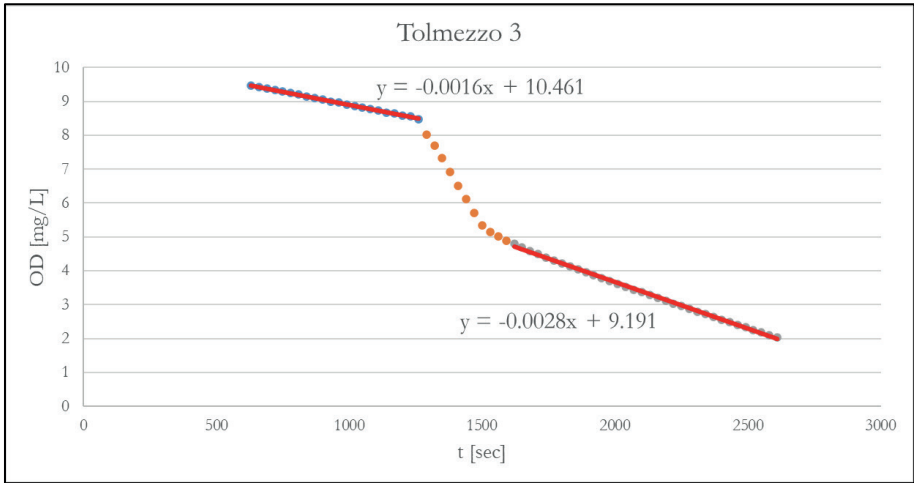
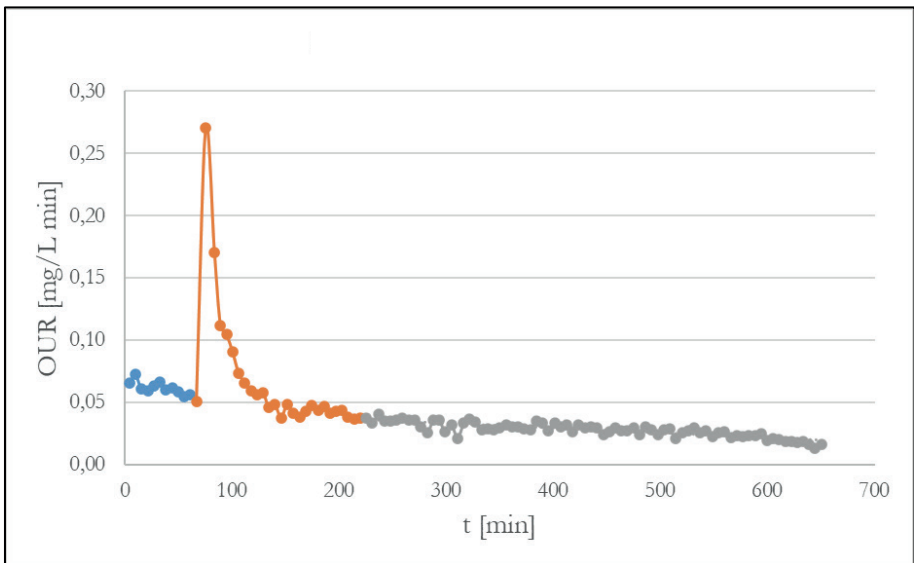


Fig. 6.8. *Refluo Tolmezzo - respirogramma (durata 24 h)*.



Quelle riportate nelle Figure 6.5, 6.6 e 6.7 rappresentano le tre prove di deossigenazione effettuate sul refluo dell'impianto di depurazione di Tolmezzo: seppur abbastanza accurate e replicabili si nota subito una sensibile differenza rispetto alle analoghe prove condotte sull'acetato per la costruzione della retta di taratura (mostrate in precedenza): in questo caso, come detto, la variabilità tipica delle matrici reali è più visibile.

In Figura 6.8, invece, il classico andamento del respirogramma effettuato sulle 24 ore con la rimozione dei diversi substrati, da quelli più facilmente a quelli più lentamente biodegradabili ($S_s + X_s$).

In conclusione, per il refluo prelevato all'impianto di depurazione di Tolmezzo, risulta quanto riportato nella Tabella 6.4:

Tab. 6.4. Risultati della caratterizzazione fisico-chimica del refluo di Tolmezzo.

	test 1	test 2	Media
Alcalinità [mgCaCO ₃ /L]	460	460	460
Solfati [mgSO ₄ /L]	489	490	489.5
Fosfati [mgPO ₄ /L]	0.20	0.13	0.17
Ammoniaca [mgNH ₃ /L]	2.9	3.7	3.3
pH [-]	6.7	6.7	6.7

COD = 916 mg/L

S_s = 23 %

S_s + X_s = 72 %

X_s = 49 %

6.3.3. Impianto di Codroipo. Questa realtà consta di un impianto di depurazione a fanghi attivi di taglia media (poco più di 18 000 abitanti equivalenti) che tratta reflui urbani; nel seguito, analogamente ai casi precedenti, vengono presentati in forma tabellare i risultati ottenuti per il refluo prelevato da questo impianto (Tab. 6.5):

Tab. 6.5. Risultati della caratterizzazione fisico-chimica del refluo di Codroipo.

	test 1	test 2	Media
Alcalinità [mgCaCO ₃ /L]	480	500	490
Solfati [mgSO ₄ /L]	76.5	78.6	77.6
Fosfati [mgPO ₄ /L]	10.3	9.0	9.65
Ammoniaca [mgNH ₃ /L]	23.5	24.5	24.0
pH [-]	7.8	7.8	7.8

COD = 649 mg/L

S_s = 10 %

S_s + X_s = 84 %

X_s = 74 %

6.3.4. *Impianto di Venzone.* A Venzone, infine, è presente un impianto di tipo urbano, a fanghi attivi, di taglia ridotta (< 3 000 abitanti equivalenti). Anche in questo caso si riportano nel seguito i risultati ottenuti in forma riassuntiva e tabellare (Tab. 6.6):

Tab. 6.6. Risultati della caratterizzazione fisico-chimica del refluo di Venzone.

	test 1	test 2	Media
Alcalinità [mgCaCO ₃ /L]	85	65	75
Solfati [mgSO ₄ /L]	17.0	17.0	17.0
Fosfati [mgPO ₄ /L]	7.5	7.6	7.55
Ammoniaca [mgNH ₃ /L]	< 0,5		\
pH [-]	7.4	7.6	7.5

COD = 126 mg/L

$S_S = 22\%$

$S_S + X_S =$ [in questo caso non è stato possibile effettuare il respirogramma di 24 ore su questa matrice per le motivazioni approfondite ampiamente in precedenza al §5.3 *Rapporto substrato/biomassa*, il refluo, infatti, presenta un COD talmente ridotto che per riuscire a dosare all'interno del respirometro 100 mgCOD/L bisognerebbe utilizzare quasi 1.5 L di matrice (operativamente impossibile in quanto i volumi in gioco sono incompatibili con la strumentazione a disposizione)].

6.4. Considerazioni sui risultati ottenuti

Concludendo si può affermare come sul frazionamento delle matrici testate si possano compiere interessanti osservazioni: in prima battuta si nota come si siano registrate differenze maggiori fra le diverse taglie d'impianto (piccola, media, medio-grande) piuttosto che sulla loro tipologia (urbano o industriale). Infatti, sebbene i valori di S_S risultino molto simili tra tutti i reflui caratterizzati, differenze sostanziali si osservano nella frazione X_S : il valore più elevato si registra con la matrice di Codroipo ($X_S=74\%$), molto simile comunque all'impianto di Udine ($X_S=73\%$). Codroipo che, al contrario, presenta la frazione facilmente biodegradabile più bassa di tutte le realtà testate ($S_S=10\%$).

Durante l'esecuzione delle prove sono stati calcolati anche altri parametri tipici della biomassa (non riportati in precedenza nella presente per brevità di trattazione) come il coefficiente di resa cellulare Y_H (pari, nel caso specifico della biomassa di Udine, a 0.7656) e la velocità massima di consumo dell'ossigeno OUR_{max} (pari, sempre per il caso in esame, a 22.8 mg/L·ora): si fa notare come l' OUR_{max} così determinato risulti leggermente inferiore ai range riportati come riferimenti in letteratura, i quali indicano come intervallo medio per la rimozione del COD rapidamente biodegradabile 30-100 mg/L·ora.

Con questi test si è potuto apprezzare, ancora una volta, la potenzialità della respirometria anche se sono ancora molte le possibili applicazioni di questa tecnica: potrebbe risultare interessante e utile, in prospettiva, valutare ad esempio l'impatto che potrebbero avere sull'attività della biomassa eventuali farmaci, sostanze di nuova produzione e molecole non ancora studiate e conosciute in maniera approfondita. Nel capitolo seguente verranno riportati dunque aspetti ed esempi applicativi proprio su alcune di queste applicazioni avanzate della tecnica respirometrica.

7. ULTERIORI APPLICAZIONI DELLA RESPIROMETRIA

Le tecniche respirometriche sono spesso utilizzate anche per la valutazione degli effetti inibitori e tossici che alcune sostanze o acque reflue possono avere sulla biomassa. Per 'inibizione' si intende la menomazione della funzione biologica e, normalmente, è reversibile, mentre la tossicità è un effetto avverso sul metabolismo biologico ossia, di solito, un'inibizione irreversibile. Nel seguito si preferirà usare i termini 'tossicità' e 'sostanza tossica' per intendere entrambi gli effetti, sia quelli reversibili che quelli irreversibili (Spanjers e Vanrolleghem, 2016).

Sebbene i risultati delle prove sulla tossicità vengano spesso espressi in termini di IC_{50} (ovvero la concentrazione di sostanza che produce il 50% di inibizione della respirazione) tale grandezza non fornisce un'indicazione completa sul potenziale effetto tossico di una determinata sostanza chimica. Per riuscire a prevedere gli effetti di un composto tossico sulla rimozione della materia organica e di nutrienti o per valutare possibili azioni mitigative sul processo di trattamento biologico, dovrebbero infatti essere quantificati gli effetti del composto in oggetto sulle cinetiche di biodegradazione.

7.1. Esecuzione della prova

La tossicità può essere valutata sia attraverso la diminuzione del tasso di respirazione endogena che di quella esogena. Qualora come indicatore di tossicità venga usato il decremento di tasso di respirazione endogena, la biomassa viene dapprima portata allo stato endogeno e successivamente viene addizionata la sostanza tossica oggetto della valutazione in modo da riuscire a determinare la riduzione di respirazione. Se però il composto o il refluo tossico da testare è biodegradabile, allora si potrebbe instaurare anche una fase di respirazione esogena (la biomassa assimila la sostanza biodegradabile, seppur tossica) interferendo così sulla valutazione della diminuzione della respirazione endogena (è stato determina-

to, inoltre, che la biomassa è meno sensibile ai composti tossici quando si trova nel suo stato endogeno).

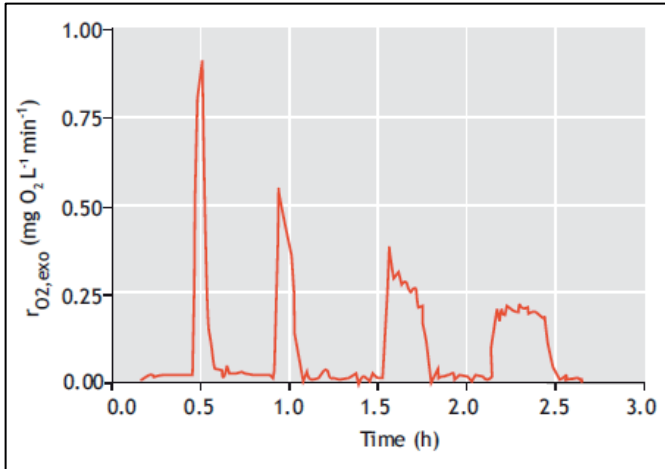
Per la valutazione della tossicità attraverso i tassi di respirazione esogena alla base ci sono senza dubbio i respirogrammi (ossia, come detto ampiamente, i grafici *tempo* [h] - *OUR* [mgO₂/L · h): in queste prove, prima del campione potenzialmente tossico oggetto di studio, viene aggiunto un substrato di riferimento (l'acetato nel caso di prove di tossicità sugli eterotrofi o ammoniaca per le prove sui nitrificanti) così da valutare la frequenza respiratoria di riferimento (per esempio l'attività della biomassa). Successivamente, come detto, viene iniettato il composto tossico e, trascorso il tempo necessario per influenzare la biomassa, un'ulteriore dose di substrato di riferimento per determinare l'attività dopo l'intossicazione' (ad esempio il massimo tasso di respirazione esogena OUR_{max}). A questo punto è possibile confrontare e valutare i due valori ottenuti rispettivamente prima e dopo l'aggiunta del composto potenzialmente tossico. Da notare come, in modo evidente, il tempo che trascorre fra il dosaggio della sostanza tossica e del substrato di riferimento potrebbe influenzare il livello di tossicità determinato visto che un'esposizione più lunga può condurre ad un effetto più forte o, al contrario, portare ad un adattamento della biomassa; non esistono tuttavia indicazioni chiare e univoche riguardo i tempi di esposizione ottimali.

In alcuni casi potrebbe addirittura verificarsi una stimolazione della respirazione, come ad esempio l'evidenza di tassi di respirazione massimi per la degradazione del substrato di riferimento più elevati dopo il dosaggio della sostanza tossica rispetto a quelli registrati in precedenza in assenza del composto: questo è dovuto in prima battuta all'aumento del fabbisogno energetico della biomassa per far fronte alla sostanza (ad esempio un disaccoppiamento energetico quando si ha la presenza di acido benzoico come composto tossico). In ogni caso è molto importante e buona pratica riportare sempre, durante l'esecuzione delle prove, il tempo trascorso fra i due dosaggi (composto tossico e substrato di riferimento).

Al termine dell'esperimento, come accennato in precedenza, è possibile dedurre il livello di tossicità attraverso il calcolo del rapporto tra i livelli di attività prima e dopo l'aggiunta del composto tossico, ossia:

$$Tossicità (\%) = \frac{OUR_{max}(prima) - OUR_{max}(dopo)}{OUR_{max}(prima)} \times 100$$

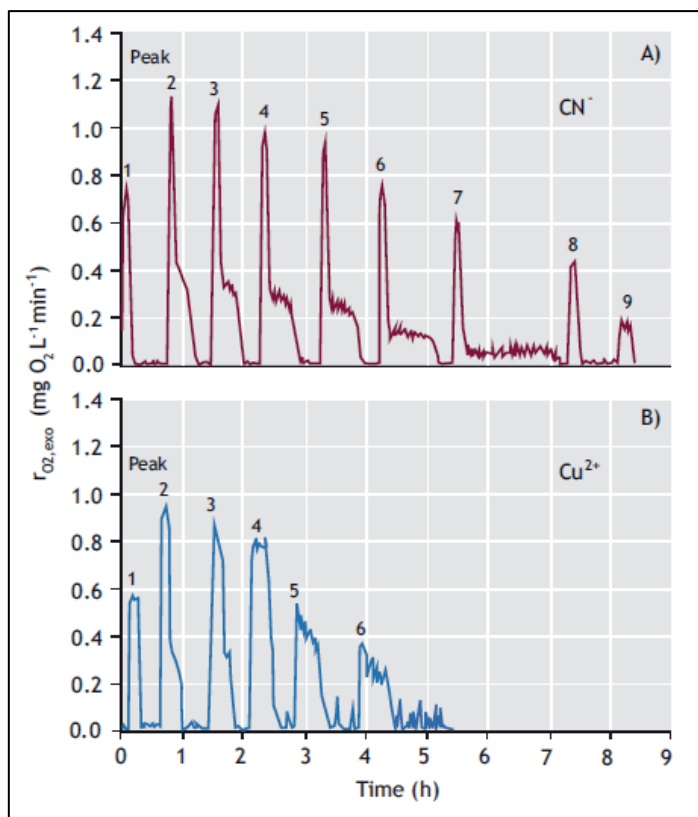
Fig. 7.1. Respirogrammi ottenuti dalle prove per la valutazione della tossicità del rame (Spanjers e Vanrolleghem, 2016).



Il grado di tossicità, ovviamente, dipenderà dalla dose di sostanza tossica applicata: in questo senso le curve dose-risposta vengono ottenute da una serie di esperimenti in cui la risposta viene misurata a diverse dosi del composto, in modo da consentire la valutazione dell'IC₅₀ (concentrazione di sostanza che produce il 50% di inibizione della respirazione). Normalmente il protocollo di prova per ottenere la relazione dose-effetto è quello di eseguire una sequenza 'substrato di riferimento - sostanza tossica - substrato di riferimento ad una dose', dopodiché sostituire la biomassa con altra 'fresca' e ripetere la stessa sequenza ad una dose più alta (tipicamente la concentrazione della dose successiva è un multiplo della dose precedente). Si continua con le sequenze substrato di riferimento - sostanza tossica - substrato di riferimento in successione' finché la biomassa non risulta totalmente inibita. Per accelerare l'esperimento può essere omessa la fase di sostituzione della biomassa da una sequenza all'altra ma in questo modo il tempo di contatto non viene tenuto sotto controllo e correttamente monitorato.

Si riporta, a titolo di esempio, una determinazione della relazione dose-effetto (Kong et al., 1994): in questo test è stata aggiunta alla biomassa una soluzione di rame a concentrazioni crescenti di 0.0, 2.5, 5.0 e 10.0 ppm. Il grafico (Fig. 7.1) mostra chiaramente come il tasso di respirazione massimo per la degradazione dell'acetato (il substrato di riferimento assunto in questa prova) diminuisse velocemente.

Fig. 7.2. *Respirogrammi esogeni ottenuti dalle prove su biomassa autotrofa ed eterotrofa (Spanjers e Vanrolleghem, 2016).*



Dall'esempio riportato può essere dedotto visivamente anche l'IC₅₀, pari approssimativamente a 7.5 ppm dal momento che la respirazione massima a tale concentrazione di rame è circa la metà di quella registrata in assenza di composto tossico (ci si riferisce al primo respirogramma, a circa 0.5 ore, confrontato con il terzo a circa 1.7 ore).

Come detto precedentemente, il respirogramma autotrofico e quello eterotrofo possono essere sovrapposti in modo da testare la tossicità sull'attività degli eterotrofi e degli autotrofi attraverso un singolo test, in cui verrà dosato come substrato di riferimento una miscela di COD ed N. Analogamente al caso precedente, si riporta un esempio (Fig. 7.2) in cui è stato valutato l'impatto di due classiche sostanze tossiche, rame e cianuro, sulla biomassa eterotrofa e autotrofa (Kong et al., 1996).

Questa serie di respirogrammi mostra ad esempio come i nitrificanti siano più sensibili al cianuro rispetto agli eterotrofi (IC_{50} è approssimativamente pari a 0.2 ppm per i nitrificanti, mentre è circa 1 ppm per gli eterotrofi). Nel caso del rame, invece, IC_{50} è approssimativamente lo stesso per le due tipologie di biomasse in quanto entrambi i respirogrammi diminuiscono allo stesso modo.

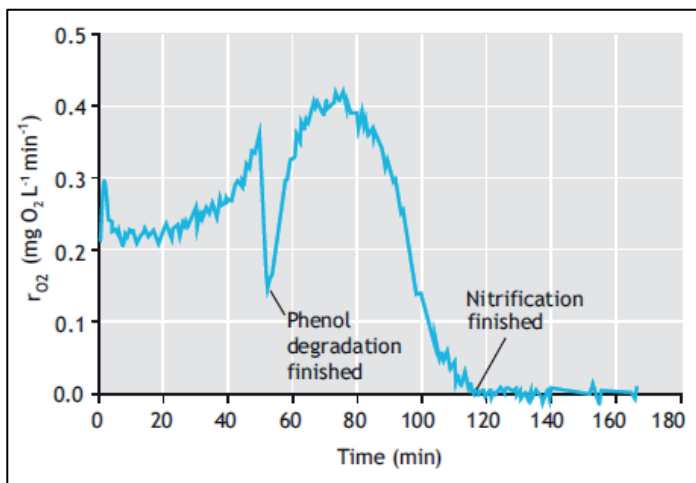
7.2. Composti tossici biodegradabili

Fino a questo punto è stata considerata soltanto la tossicità di prodotti non-biodegradabili; tuttavia, l'uso della respirometria è probabilmente più diffuso per la determinazione della tossicità di sostanze biodegradabili. In questo caso, quando si effettua la tipica sequenza substrato di riferimento – sostanza tossica biodegradabile – substrato di riferimento, spiegata in precedenza, si assisterà ad una respirazione dopo il dosaggio; tale respirazione dovrà essere conclusa prima che venga effettuata l'aggiunta successiva con il substrato di riferimento. Se l'impatto tossico è reversibile (ossia un'inibizione) potrebbe essere rilevata una non-tossicità dal momento che la sostanza tossica viene rimossa dal fango attivo; al contrario, invece, può essere valutata una tossicità duratura sempre tramite la sequenza 'substrato di riferimento - sostanza tossica biodegradabile - substrato di riferimento' esposta in precedenza.

La respirometria può risultare davvero molto utile per studiare quei prodotti tossici biodegradabili che risultano inibitori per la propria biodegradazione attraverso quello che viene chiamato 'inibizione del substrato', ovvero quel fenomeno per il quale il substrato, sul quale la biomassa sta crescendo, risulta inibente al processo di crescita della biomassa stessa; anche la nitrificazione, ad esempio, può essere auto-inibita quando la concentrazione di ammoniaca è troppo elevata. I respirogrammi di tali substrati auto-inibitori mostrano un tasso di respirazione che cresce al diminuire nel tempo della concentrazione della sostanza tossica biodegradabile, con conseguente diminuzione dell'effetto inibitorio.

Viene chiarito questo fenomeno attraverso l'esempio riportato nel seguito della trattazione (Gernaey et al., 1999): in questo caso sono stati dosati fenolo ed ammoniaca ad una miscela di biomassa costituita da batteri nitrificanti ed eterotrofi. Il fenolo è uno degli esempi più noti di composto tossico biodegradabile e tramite un esperimento precedente era già stato confermato che esso poteva essere degradato dalla biomassa utilizzata.

Fig. 7.3. *Respirogramma ottenuto in presenza del fenomeno di auto-inibizione (Spanjers e Vanrolleghem, 2016).*



Quello che si osserva nell'esperimento respirometrico (Fig. 7.3) è che la nitrificazione viene inibita dal fenolo, il quale viene gradualmente degradato dagli eterotrofi. Anche la degradazione stessa del fenolo, tuttavia, viene inibita dall'effetto tossico di questo composto sugli eterotrofi: questo è il fenomeno dell'auto-inibizione.

Nella prima fase la nitrificazione è inibita e il fenolo, anche se lentamente, viene degradato; tale degradazione accelera dopo circa 30 minuti e giunge al termine dopo circa 50 minuti, come si può osservare dalla netta e marcata diminuzione nel profilo della respirazione soprariportato. Non appena la degradazione del fenolo è completata la nitrificazione inizia ad aumentare, fino al raggiungimento dello stesso tasso che presentava prima dell'aggiunta del composto (potrebbe anche essere eseguita una prova separata, con il dosaggio di ammoniaca, per valutare l'effetto sulla sola nitrificazione).

In generale, visto che la concentrazione di inibizione dipende dall'origine e dall'acclimatamento della biomassa, potrebbe essere interessante anche studiare la tossicità di un composto sulla biomassa già acclimatata.

7.3. Innovazioni tecnologiche

Un'ulteriore applicazione della tecnica respirometrica, davvero molto specifica e ancora poco approfondita, potrebbe essere quella di valutare le cinetiche e la caratterizzazione stechiometrica di biomasse particolari, ad esempio formate da funghi e/o batteri piuttosto che dai classici microrganismi aerobici. Questo era il principale scopo di un recente lavoro di Spennati et al. (2020): in questa ricerca, infatti, si valutava l'eventuale rimozione dei tannini da parte di alcuni funghi, in quanto questi particolari composti chimici risultano inibenti sui 'tradizionali' microrganismi utilizzati negli impianti a fanghi attivi.

I tannini, a livello industriale, rappresentano gli agenti coloranti più utilizzati in tutto il mondo e di conseguenza sono una porzione del carico chimico nelle acque reflue in uscita dalle numerose fabbriche che utilizzano questi composti (ad esempio le concerie). Caratterizzati da una ridotta biodegradabilità e da una rilevante percentuale di COD solubile recalcitrante, i tannini influiscono negativamente anche sul trattamento biologico delle acque reflue a causa, come accennato, della loro azione inibente su un'ampia varietà di microrganismi.

Attualmente queste sostanze chimiche vengono rimosse dalle acque attraverso processi chimici e di conseguenza riuscire a sviluppare un trattamento biologico in grado di rimuovere efficacemente i tannini dai reflui porterebbe ad evidenti e grossi vantaggi, sia ambientali che economici. Diverse specie di funghi risultano essere abbastanza resistenti all'azione inibente dei tannini ed essi, perciò, sono i potenziali candidati per il trattamento biologico di questo particolare tipo di inquinante.

Nel lavoro menzionato in precedenza è stato costruito, azionato e testato un bioreattore basato proprio su particolari specie fungine per rimuovere un tannino in scala di laboratorio riuscendo a mantenere prestazioni di rimozione elevate e costanti nel tempo ed offrendo, contemporaneamente, la possibilità di implementare la tecnologia a piena scala (scala d'impianto). È facile intuire come un aumento di scala per questa nuova tecnologia rappresenterebbe un enorme progresso nel campo del trattamento biologico di reflui contenenti tannini; la chiave per il successo comunque, come anticipato all'inizio del paragrafo, si basa sulla disponibilità dei principali parametri inibenti durante le bio-reazioni coinvolte nel processo. Questo, in altre parole, significherebbe conoscere l'effettiva cinetica e la caratterizzazione stechiometrica della biomassa (che si ricorda essere formata da funghi, non dai classici e diffusi microrganismi)

prima di poter ‘scalare’ la nuova tecnologia biologica proposta nel lavoro di Spennati et al. (2020).

In quest’ottica ancora una volta la respirometria sembra essere uno strumento molto potente, in grado probabilmente di rispondere a tali quesiti anche se, bisogna ammetterlo, in letteratura sono presenti ancora pochissimi esempi che descrivono cinetiche ed equazioni sulla degradazione dei tannini da parte del fango attivo in impianti di trattamento industriali, e forse ancora meno nel caso di utilizzo di biomasse fungine (Spennati et al., 2020).

Altra applicazione molto promettente della respirometria è quella di sfruttare questi particolari test al fine di valutare le cinetiche microbiche all’interno di processi e meccanismi non ancora del tutto chiari e standardizzati: questo è quello che hanno evidenziato Karlikanovaite-Balikci e Yagci all’interno del lavoro svolto nel 2019 in cui è stato approfondito, valutato e riprodotto un processo OSA (*Oxic Settling Anoxic*). Il processo menzionato è una modifica del tradizionale sistema a fanghi attivi (sequenza di fasi aerobiche e anaerobiche o anossiche in base al caso specifico), utilizzato soprattutto in un’ottica di rimozione del fango prodotto (fango di supero). Riuscire a diminuire la quantità di fango prodotto da stoccare, gestire e smaltire è un aspetto davvero cruciale in un impianto di depurazione ed è proprio per questo motivo che tali processi si stanno diffondendo sempre di più; ma se da un lato le evidenze sono chiare e tangibili a tutti (minor fango di supero in uscita dal comparto biologico), dall’altro bisogna ammettere che le reazioni, le cinetiche coinvolte e il meccanismo in generale non sono ancora del tutto chiari. Riuscire, grazie appunto alle tecniche respirometriche, a valutare più nello specifico le cinetiche microbiche e gli effettivi livelli di attività della biomassa in questi processi condurrebbe, in prima battuta, a sviluppare modelli di calcolo decisamente più accurati e realistici. Lo studio citato ha infatti dimostrato come il tasso di decadimento della biomassa sia il parametro cinetico in assoluto più variabile e come esso dipenda in maniera particolare dalla configurazione del sistema: è stato trovato infatti che tale coefficiente aumentava significativamente in seguito alla modifica del sistema dalla configurazione ‘standard’ a quella ‘OSA’, mentre altri parametri cinetici si mantenevano pressoché costanti. Questo aspetto può essere dovuto, in prima battuta, ad un cambiamento della popolazione microbica o del metabolismo della comunità.

Alla luce delle evidenze emerse durante i test (anche respirometrici), lo studio ha potuto concludere che il processo 'OSA' incoraggia il decadimento endogeno e, di conseguenza, abbassa la vitalità della biomassa nel reattore: in questo modo si ottiene la riduzione dei fanghi di supero nel sistema (Karlikanovaite-Balikci e Yagci, 2019).

Ancora più nel dettaglio, la respirometria può essere utilizzata anche per valutare parametri molto specifici (come il fattore di efficacia) nell'ambito, ad esempio, dei reattori a biomasse adese. I reattori a letto sommerso, i biofiltri e i reattori a biofilm sono particolari tipologie di reattori in cui la biomassa cresce e si sviluppa su mezzi di supporto. L'utilizzo di questi supporti conduce a un ridotto tempo di residenza idraulica (che di conseguenza riduce anche il rischio di dilavamento), a un elevato tempo di permanenza microbica e ad una maggiore resistenza nei confronti delle sostanze tossiche: al contrario delle biomasse sospese, in cui il processo è controllato prevalentemente da un substrato limitante, i processi citati basati su biofilm (biomasse adese) sono governati dalle cinetiche di trasferimento della massa e dal rapporto limitante substrato/ossigeno. La crescita del biofilm sul materiale di supporto riduce progressivamente la disponibilità di substrato, di ossigeno e di nutrienti per la crescita dei microrganismi nella parte più interna del biofilm. Un'intensa ricerca in quest'ottica è stata condotta al fine di riuscire a quantificare il trasferimento di massa in questi biofilm: uno degli approcci maggiormente utilizzati è la determinazione proprio del fattore di efficacia (η), il quale viene definito come il rapporto tra il tasso di reazione con limitazione sul trasferimento di massa e quello reale (senza cioè effetti di trasferimento di massa). Il fatto di efficacia così definito viene normalmente determinato tramite metodi matematici che si basano sulla risoluzione dell'equazione di continuità del bilancio di massa: tali metodi richiedono però la stima di un gran numero di parametri (lo spessore del biofilm, la diffusività dell'ossigeno e del substrato, la concentrazione della biomassa...) nonché di molti parametri cinetici e stechiometrici (il tasso massimo di crescita specifica, la costante di affinità del substrato o il rendimento di crescita...). Appare evidente come alcuni dei parametri sopra elencati siano difficili da determinare e per questo motivo spesso vengono preferiti valori stimati (reperiti in letteratura o già utilizzati in studi precedenti) al posto dei reali valori sperimentali.

Come alternativa per riuscire a determinare il fattore di efficacia η senza dover passare obbligatoriamente per la risoluzione dell'equazione del bi-

lancio di massa, viene spesso suggerito l'uso di metodi respirometrici: Chou et al., ad esempio, hanno proposto un semplice approccio respirometrico per valutare i parametri intrinseci e apparenti (ossia con e senza limitazione sul trasferimento di massa) nel caso di una particolare tipologia di fango attivo. Concludendo, quindi, si afferma che analogamente all'esempio riportato, in letteratura esistono molti altri lavori che dimostrano il potenziale della respirometria nella determinazione del fattore di efficacia η nei biofilm (Ordaz et al., 2019).

BIBLIOGRAFIA

- S. Borzooei, M. Simonetti, G. Scibilia, M.C. Zanetti. ‘Critical evaluation of respirometric and physicochemical methods for characterization of municipal wastewater during wet-weather events’ (2021). *Journal of Environmental Chemical Engineering*.
- D. Di Giorgio. ‘Valutazione dei parametri di modello del fango attivo con tecniche respirometriche. Applicazioni a casi reali’ (2006). Università degli Studi di Udine.
- K. Gernaey, B. Petersen, J.P. Ottoy, P.A. Vanrolleghem. ‘Biosensing activated sludge’ (1999). *Water Quality Index*.
- C. Gregoris. ‘Sperimentazione a scala pilota e modellazione di un processo a fanghi attivi a sostegno della gestione di un impianto di trattamento di acque di cartiera’ (2011). Università degli Studi di Udine.
- A. Karlikanovaite-Balikci, N. Yagci. ‘Determination and evaluation of kinetic parameters of activated sludge biomass from a sludge reduction system treating real sewage by respirometry testing’ (2019). *Journal of Environmental Management*.
- Z. Kong, P.A. Vanrolleghem, W. Verstraete. ‘Automated respiration inhibition kinetics analysis (ARIKA) with a respirographic biosensor’ (1994). *Water Science and Technology*.
- Z. Kong, P.A. Vanrolleghem, P. Willems, W. Verstraete. ‘Simultaneous determination of inhibition kinetics of carbon oxidation and nitrification with a respirometer’ (1996). *Water Research*.

- A. Ordaz, R. Ramirez, G.R. Hernandez-Martinez, M. Carrión, F. Thalasso. ‘Characterization of kinetic parameters and mass transfer resistance in an aerobic fixed-bed reactor by *in-situ* respirometry’ (2019). *Biochemical Engineering Journal*.
- H. Spanjers, P.A. Vanrolleghem. ‘Experimental methods in wastewater treatment’ (2016). IWA Publishing, London, UK.
- F. Spennati, M. Mora, A. Bardi, S. Becarelli, G. Siracusa, S. Di Gregorio, D. Gabriel, G. Mori, G. Munz. ‘Respirometric techniques coupled with lab-scale tests for kinetic and stoichiometric characterization of fungal and bacterial tannin-degrading biofilms’ (2020). *Water Science and Technology*.
- R. Vitanza, I. Colussi, A. Cortesi, V. Gallo. ‘Implementing a respirometry-based model into BioWin software to simulate wastewater treatment plant operations’ (2016). *Journal of Water Process Engineering*.
- J. Zhang, Y. Shao, G. Liu, L. Qi, H. Wang, X. Xu, S. Liu. ‘Wastewater COD characterization: RBCOD and SBCOD - characterization analysis methods’ (2021). *Scientific Reports*.

PUBBLICAZIONI RELATIVE AL PROGETTO UNIUD-AUSIR

- S. Battigelli, M. Buttazzoni, M. Mainardis, R. Perin, G. Rossi. ‘Quaderni AUSIR’ (2021). Udine, Forum.
- M. Mainardis, M. Buttazzoni, M. Cottes, A. Moretti, D. Goi. ‘Respirometry tests in wastewater treatment: why and how? A critical review’ (2021). *Science of the Total Environment*.
- M. Mainardis, M. Buttazzoni, N. De Bortoli, M. Mion, D. Goi. ‘Evaluation of ozonation technical and economic applicability for pulp and paper wastewater treatment’ (2020). *Journal of Cleaner Production*.
- M. Mainardis, M. Buttazzoni, F. Gievers, C. Vance, F. Magnolo, D. Goi. ‘Environmental and economic assessment of sewage sludge pre-treatments to enhance biogas production in anaerobic digestion processes: from laboratory tests to full-scale applicability’ (2021). *Journal of Cleaner Production*.
- M. Mainardis, M. Buttazzoni, D. Goi. ‘Up-Flow Anaerobic Sludge Blanket (UASB). Technology for energy recovery: a review on state of the art and recent technological advances’ (2020). *Bioengineering*.
- M. Mainardis, M. Buttazzoni, A. Moretti, D. Goi. ‘Sewage sludge pre-treatment as a technical solution to enhance methane yield in existing anaerobic digesters’ (2020). Abstract for 5th IWA Specialized International Conference Ecotechnologies for Wastewater Treatment (EcoSTP) 2021, Milano.

I Quaderni AUSIR, nati da una convergenza di idee di Massimo Canali, Marcello Del Ben, Daniele Goi e Lorenzo Tosolini, rappresentano una forma di divulgazione dei lavori realizzati in collaborazione tra l'Università degli Studi di Udine e l'Autorità Unica per i Servizi Idrici e i Rifiuti della Regione Autonoma Friuli Venezia Giulia, sui temi della risorsa acqua e dei rifiuti. Essi riportano attività di innovazione e ricerca su tematiche relative a: captazione (A), trattamento-distribuzione (B), utilizzo-scarico (C), depurazione (D), recupero-reimmissione in ambiente (E) della risorsa idrica. Vi sono compresi anche altri temi come: la comunicazione (ç), gli aspetti economico-giuridici (€) e di gestione (@) relativi all'articolato mondo dell'acqua, dei rifiuti e non solo.

I contributi includono vari livelli di impegno: parti dei lavori di tesi degli studenti di vari corsi di laurea, sintesi descrittive di risultati ottenuti in borse di ricerca, relazioni di assegni di ricerca annuali o pluriennali, studi svolti in percorsi di dottorato di ricerca, descrizioni dei risultati raggiunti in ricerche approfondite e pubblicate in giornali dedicati di livello nazionale e internazionale.

Marco Buttazoni è laureato magistrale in Ingegneria per l'Ambiente e il Territorio, ha frequentato il Master di II livello sull'Innovazione Tecnologica e Management del Ciclo Idrico Integrato e negli ultimi anni collabora come borsista di ricerca presso il Dipartimento Politecnico di Ingegneria e Architettura (DPIA) dell'Università degli Studi di Udine.

