RIMOZIONE COMPLETAMENTE AUTOTROFA DELL'AZOTO CON BATTERI ANAMMOX: PASSATO, PRESENTE E FUTURO

Tommaso Lotti*, Davide Scaglione, Aronne Teli, Roberto Canziani, Elena Ficara, Francesca Malpei
Politecnico di Milano, Dipartimento di Ingegneria Civile e Ambientale, Sezione Ambientale

Sommario – La recente scoperta del metabolismo dei batteri anammox (dall'inglese ANaerobic AMMonium OXidation) ha rivoluzionato la comprensione del ciclo dell'azoto. A differenza della convenzionale via di nitrificazione e denitrificazione, sulla base della quale viene ad oggi operata la rimozione dell'azoto nella maggior parte dei trattamenti depurativi delle acque reflue, i batteri anammox catalizzano l'ossidazione dell'ammonio ad azoto molecolare attraverso la riduzione del nitrito. Il processo di rimozione autotrofa dell'azoto, come viene spesso identificato il processo che sfrutta il metabolismo anammox, si compone di due fasi: una prima fase di ossidazione di circa metà dell'ammonio a nitrito (nitritazione parziale, PN) ad opera di batteri aerobici ammonio ossidanti (AOB), seguita da una seconda fase in cui i batteri anammox rimuovono l'azoto attraverso la produzione di azoto molecolare liberato in atmosfera. La minor richiesta di aerazione, la natura autotrofa di questi batteri e la minor produzione di fango di supero, rendono il processo PN/anammox molto più conveniente rispetto ai metodi convenzionali, con risparmi complessivi in termini di costi di gestione superiori al 40%. Il processo PN/anammox consente inoltre di svincolare la rimozione dell'azoto dall'ossidazione della sostanza organica, consentendo quindi di recuperare l'energia chimica ad essa associata attraverso la produzione di biogas ricco in metano tramite il processo di digestione anaerobica. In questa rassegna, quindi, dopo alcuni cenni circa il metabolismo anammox e i vantaggi derivanti dal suo impiego nel trattamento delle acque reflue, saranno descritte le applicazioni tecnologiche che impiegano il processo PN/anammox a scala reale, soffermandosi sulle loro differenze, sia in termini d'implementazione impiantistica che di gestione del processo. La trattazione si conclude con una rassegna dei nuovi campi di applicazione e dei temi su cui si sta concentrando la ricerca internazionale.

COMPLETELY AUTOTROPHIC NITROGEN REMOVAL BY ANAMMOX BACTERIA: PAST, PRESENT AND FUTURE

Abstract – The recent discovery of the metabolism of anammox bacteria (ANaerobic AMMonium OXidation) has revolutionized the understanding of the nitrogen cycle. Unlike the conventional process of nitrification and denitrification, by which the nitrogen removal from wastewater is usually performed, the anammox bacteria catalyze the oxidation of ammonium to molecular nitrogen through the reduction of nitrite. The autotrophic nitrogen removal process, as often named the process that exploits the anammox metabolism, consists of two stages: a first stage of oxidation of about half of the ammonium to nitrite (Partial Nitritation, PN) by aerobic ammonium oxidizing bacteria (AOB), followed by a second phase where anammox bacteria remove nitrogen through the production of dinitrogen gas released into the atmosphere. The lower aeration demand, the autotrophic metabolism of these bacteria and the lower production of excess sludge, make the PN/anammox process much cheaper than conventional methods, with overall savings higher than 40% in terms of operational costs. Furthermore, the PN/anammox process uncouples the nitrogen removal from the oxidation of the organic matter, thus allowing the recovery of the associated chemical energy through the production of methane-rich biogas in the anaerobic digestion process. In this review, after a few hints about the anammox metabolism and the benefits arising from its implementation in wastewater treatments, the full-scale technological applications employing the PN/anammox process will be described focusing on their differences, both in terms of reactor configuration and process management. The discussion ends with a review of the new fields of application and the topics on which international research is currently focusing.

Parole chiave: *anammox, nitritazione parziale, rimozione autotrofa dell'azoto, processo PN/anammox, applicazione a scala reale*
Keywords: *anammox, partial nitritation, autotrophic nitrogen removal, PN/anammox process, full-scale application*

Ricevuto il 17-07-2014; Correzioni richieste il 12-08-2014; Accettazione finale il 28-10-2014.

1 INTRODUZIONE

Il processo di rimozione dell'ammonio in assenza di ossigeno libero (ANaerobic AMMonium OXidation, anammox) si riferisce al processo biologico di ossidazione dell'ammonio ad azoto molecolare (N_2), dove l'azoto nitroso funge da accettore di elettroni.
Partendo da considerazioni termodinamiche elaborate su basi puramente teoriche, nel 1977 un chimico austriaco, Engelbert Broda, propose una serie di reazioni Redox dalle quali microrganismi ancora sconosciuti avrebbero teoricamente potuto estrarre l'energia necessaria al loro sviluppo (Broda, 1977).

* *Piazza Leonardo da Vinci, 32 - 20133 Milano. tel.+39 02 23996419, fax +39 02 23996499. tommaso.lotti@polimi.it*

L'ossidazione anaerobica dell'ammonio era tra queste e per quasi vent'anni i microbiologi di tutto il mondo rimasero scettici sulla reale esistenza di un microrganismo in grado di ossidare la stabile molecola dell'ammonio in assenza di ossigeno. A dire il vero, erano stati osservati casi in cui i bilanci dell'azoto non tornavano (ad es.: Chick, 1906), ma fu solo nel 1995 che nei laboratori di Delft (Paesi Bassi) un'equipe guidata dal Prof. Gijs Kuenen riuscì nell'impresa di riprodurre in laboratorio un processo biologico nel quale si poteva osservare la rimozione di ammonio e nitrito insieme alla produzione di azoto molecolare (per un resoconto esaustivo della storia della scoperta si veda Kuenen, 2008). Pochi anni più tardi fu possibile coltivare il microrganismo responsabile in un reattore a sequenza di fasi (SBR) e in modo ripetibile, rendendo possibile la determinazione di alcune caratteristiche cinetiche e la definizione della stechiometria di reazione (Strous et al., 1998, 1999).

Il processo anammox è oggi studiato in tutto il mondo e la sua scoperta ha consentito di aggiungere molte informazioni essenziali per la comprensione del ciclo dell'azoto in natura. Ad esempio, il processo anammox è responsabile del 30-50% dell'azoto prodotto dagli oceani (Arrigo et al., 2005; Lam and Kuypers, 2011). Il processo anammox è attualmente applicato in circa 90 impianti a scala reale per il trattamento di acque di rifiuto caratterizzate da alta concentrazione di azoto ammoniacale come i digestati (Lackner et al., 2014) e nel trattamento di altri reflui quali quelle di industrie conciarie, alimentari, semiconduttori, produzione di lieviti, distillerie, produzioni vinicole (per una rassegna si veda Vlaeminck et al., 2012). Nelle applicazioni in scala reale i carichi giornalieri sono compresi tra 0,1 e 11 tonnellate di azoto.

Altri risultati incoraggianti sono stati documentati in installazioni a scala pilota/laboratorio per il trattamento del digestato da acque nere (per *acque nere* si intendono le deiezioni umane, collettate, separatamente dall'urina, con appositi gabinetti equipaggiati con sistemi in depressione, de Graaff et al., 2011), digestato di origine zootecnica (Villegas et al., 2011; Canziani et al., 2012; Scaglione et al., 2013a), urina (Udert et al., 2008), acque reflue di impianti petrolchimici (Milia et al., 2014) e acque di rifiuto farmaceutiche (Tang et al., 2011).

In Italia le prime sperimentazioni a scala laboratorio e pilota sul processo anammox sono state svolte dall'Università di Firenze in collaborazione con il Politecnico di Milano e Publiacqua spa a partire dal 2005 (Caffaz et al., 2005; Caffaz et al., 2006; Lotti et al., 2009; Scaglione et al., 2009; Bettazzi et al., 2010) proseguite a partire dal 2009 nell'ambito del progetto BRAIN coordinato dal Politecnico di Milano i cui risultati saranno sinteticamente riportati nel par.8.2.

L'applicazione industriale del processo anammox richiede una progettazione specifica, che tenga conto della composizione delle acque di rifiuto specifiche e degli effetti che molte caratteristiche chimico-fisiche delle acque reflue (pH, salinità, temperatura, COD, nitriti e ammonio, presenza di metalli pesanti e antibiotici) possono avere sul processo (Fernandez et al., 2009; Kartal et al., 2006; Lotti et al., 2012a, 2012b; Strous et al., 1999). In questo lavoro si espone una sintesi dei diversi processi di trattamento delle acque di rifiuto che utilizzano microrganismi anammox, delle soluzioni impiantistiche, dei sistemi di controllo e di gestione per garantire l'efficienza e la stabilità di processo. Si presenta, poi, una rassegna dei tipi di acque di rifiuto trattate e alcuni esempi di loro applicazioni a scala reale. Infine saranno discussi i nuovi campi di applicazione e le prospettive future.

2 CENNI SU FISIOLOGIA, STECHIOMETRIA E CINETICA DI CRESCITA DEI MICRORGANISMI ANAMMOX

L'appellativo anammox viene comunemente adoperato sia per il processo di ossidazione biologica autotrofa dell'ammonio in assenza di ossigeno, sia per identificare i batteri che lo catalizzano. Ad oggi, sono stati individuati batteri anammox appartenenti a cinque diversi *generi*: *Candidatus* 'Brocadia', 'Kuenenia', 'Scalindua', 'Anammoxoglobus' e 'Jettenia'. Questi cinque generi insieme formano l'ordine monofiletico e molto ramificato dei *Brocadiales* nel phylum dei *Plactomycetes* (Jetten et al., 2010). Tutte le specie conosciute presentano una compartimentalizzazione interna alla cellula denominato *anammoxosome* (van Niftrik et al. 2008). La densa membrana che racchiude questa specie di organello è costituita da lipidi unici in natura, chiamati lipidi *ladderani* (Damsté et al., 2002). Per le condizioni ambientali dove vivono normalmente, questi microrganismi hanno sviluppato la capacità di convertire i propri substrati anche quando questi siano presenti a concentrazioni molto basse (inferiori alle micro moli per litro o sub-μM, Strous et al., 1999; Yan et al., 2012). I batteri anammox hanno quindi una elevatissima affinità per i substrati ammonio e nitrito, che si traduce in valori molto bassi della costante di Michaelis-Menten (Ks, o di semi-saturazione; 0.035 mg-N L^{-1}, Lotti et al., 2014a), caratteristica che li rende molto interessanti anche da un punto di vista applicativo.

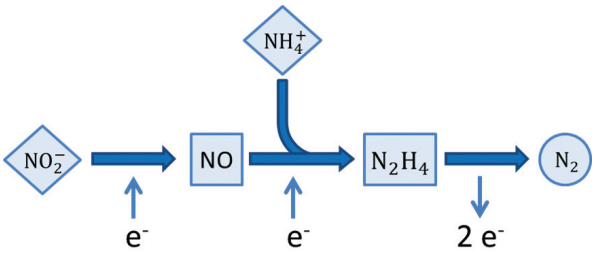

Figura 1 – Schema semplificato del catabolismo anammox. I riquadri romboidali rappresentano i substrati, i quadrati, invece, gli intermedi di reazione e, infine, i cerchi indicano i prodotti.

Come rappresentato in Fig. 1, l'ossidazione anaerobica dell'ammonio si svolge in tre fasi, con produzione di monossido di azoto (NO) ed idrazina (N_2H_4) come intermedi. Nella prima fase il nitrito si riduce a NO, successivamente l'NO prodotto reagisce con l'ammonio per formare idrazina, con una reazione catalizzata dall'enzima *idrazina sintetasi*; infine l'idrazina è ossidata ad azoto molecolare (Kartal et al., 2011a).
Le cellule anammox sono ricchissime in proteine di tipo citocromo 'c', *cyt c* (~ 30% delle proteine di complemento), tra cui gli enzimi che svolgono le principali reazioni cataboliche sopraelencate, che hanno l'effetto macroscopico di rendere le cellule anammox di un colore rosso acceso.
Nel metabolismo anammox il carbonio inorganico è usato come fonte di carbonio per produrre biomassa (metabolismo autotrofo), mentre il nitrito ha un duplice ruolo: i) come accettore di elettroni per l'ossidazione dell'ammonio e ii) come donatore di elettroni per la riduzione del carbonio inorganico durante la fase anabolica, che dà origine a produzione di azoto nitrico.
La stechiometria comunemente accettata del processo anammox (Strous et al., 1998) è la seguente:

$$NH_4^+ + 1.32NO_2 + 0.066HCO_3^- + 0.13H^+ \rightarrow \\ \rightarrow 1.02N_2 + 0.26NO_3^- + 2.03H_2O + \\ 0.066CH_2O_{0.5}N_{0.15} \quad (1)$$

La natura autotrofa del loro metabolismo, la complessità della reazione catabolica che li contraddistingue e le difficoltà associate alla loro coltivazione, hanno fatto sì che i batteri anammox siano stati sempre considerati come batteri a crescita molto lenta, con tempo di duplicazione (T_d) di circa due settimane. Recenti studi hanno invece dimostrato che, se esposti a condizioni favorevoli, i microrganismi anammox possono mostrare tassi di crescita giornalieri a 30°C pari a 0.21 d^{-1} (T_d = 3.3 d, Lotti et al., 2014a). Tale tasso di crescita non sembra comunque rappresentare un limite fisiologico ed é pertanto lecito aspettarsi che in futuro vengano riportati valori anche piú elevati. Stante la necessitá di nitrito come substrato, il processo anammox deve avvenire in combinazione con l'ossidazione aerobica dell'ammonio a nitrito (o nitritazione, Barnes e Bliss, 1983) ad opera di batteri autotrofi aerobici ammonio ossidanti (AOB). Come si osserva dall'Equazione 1, per ogni mole di azoto ammoniacale la reazione richiede 1,32 moli di nitrito, pertanto è solo questa ultima frazione, dell'azoto ammoniacale inizialmente presente nel refluo, che deve essere ossidata a nitrito. Il processo viene dunque definito come nitritazione parziale (acronimo PN, dall'inglese "partial nitritation").
La combinazione delle stechiometrie di reazione dei processi di nitritazione parziale e anammox porta alla seguente stechiometria complessiva del processo di rimozione autotrofa dell'azoto ammoniacale, dove i due termini relativi alla biomassa si riferiscono rispettivamente alla composizione media degli AOB ($CH_{1.4}O_{0.4}N_{0.2}$; Wiesmann, 1994) e anammox ($CH_2O_{0.5}N_{0.15}$; Strous et al., 1998):

$$NH_4^+ + 0.792O_2 + 0.08HCO_3^- \rightarrow \\ \rightarrow 0.435N_2 + 0.111NO_3^- + 1.029H^+ + \\ 0.052CH_{1.4}O_{0.4}N_{0.2} + 0.028CH_2O_{0.5}N_{0.15} + \\ 1.46H_2O \quad (2)$$

In base alla stechiometrica complessiva, per ogni mole di ione ammonio rimosso, si generano 0,111 moli di ione nitrico; teoricamente, dunque, il processo non è in grado di operare la rimozione dell'azoto ammoniacale con efficienza superiore all'89% circa. Tuttavia, la contestuale presenza di batteri eterotrofi e di una seppur modesta concentrazione di sostanza organica biodegradabile, rende possibile ottenere ed osservare rendimenti anche superiori a questo valore.
La crescita dei batteri anammox viene matematicamente rappresentata secondo la cinetica di Monod, con espressione della cinetica di reazione secondo la formulazione di Michaelis-Menten. I valori molto bassi della costante di semi-saturazione consentono d'altra parte, nella pratica, di assumere come costante la cinetica di reazione. In Tabella 1 si riportano i valori delle costante stechiometriche e cinetiche generalmente impiegate per la modellazione e la progettazione di sistemi biologici che sfruttano il metabolismo dei batteri anammox, ammonio ossidanti aerobici (AOB) e eterotrofi ae-

Tabella 1 – Parametri cinetici e stechiometrici di interesse: μmax: rateo massimo specifico di crescita della biomassa, KS: affinità al substrato (costante di semi-saturazione), YX/S: coefficiente di resa cellulare; S: substrato (NH_4^+-N per anammox e AOB; COD per eterotrofi); X: biomassa.

	μ^{max} a 20°C	μ^{max} a 30°C	K_S	$Y_{X/S}$
	d^{-1}	d^{-1}	mg L^{-1}	g-COD g-S^{-1}
Anammox	0.028 [a]	0.072 [b]	0.07 [b]	0.16 [b]
AOB	0.80 [c]	2.05 [d]	2.4 [d]	0.15 [d]
Eterotrofi	6.0 [c]	12.0 [e]	20.0 [c]	0.67 [c]

Note: [a] Hao et al. (2002), calcolato dal valore a 30°C considerano un coefficiente di ragguaglio (θ) per la temperatura di 1.099;[b] Strous et al. (1998);[c] Henze et al. (2000);[d] Wiesmann (1994);[e] Calcolato dal valore a 20°C considerano un coefficiente di ragguaglio per la temperatura di 1.071.

robici. Tali valori, data la variabilitá riscontrabile in letteratura, sono da considerarsi indicativi e non esaustivi. L'insieme di questi tre ceppi batterici costituisce la maggior parte dei solidi volatili nei sistemi PN/anammox (*inter alia* Xiao et al., 2009, Langone et al., 2014).

Per la misura dell'attività specifica dei batteri anammox sono stati sviluppati metodi manometrici in batch (Dapena Mora et al. 2007, Caffaz et al., 2008, Scaglione et al., 2009, Lotti et al., 2012b) che sono un potente strumento di valutazione anche per stimare inibizioni ed effetti a breve termine di diverse condizioni di processo. Inoltre sono stati effettuati test micro-calorimentrici in parallelo con test manometrici (Scaglione et al., 2009) che hanno mostrato valori confrontabili con quelli attesi dall'entalpia di reazione.

Per un approfondimento su altri aspetti microbiologici e fisiologici dei batteri anammox scoperti nell'ultimo decennio, si rimanda il lettore a testi specifici. In particolare, per una descrizione esaustiva dell'ordine dei *Brocadiales*, loro coltivazione e tassonomia, si vedano Jetten et al., 2010 e Kartal et al., 2011b; sulla biologia della cellula: van Niftrik e Jetten, 2012; sulle analisi genomiche, fisiologia e biochimica del metabolismo anammox: Kartal et al., 2013; sulla presenza e attività di batteri anammox in ecosistemi naturali: Lam e Kuypers, 2011; sulle sostanze inibenti (ad es.: ammonio, nitrito, sostanza organica, sale, metalli pesanti, solfuri, etc.) e il loro effetto sul processo anammox: Jin et al., 2012.

3 VANTAGGI DELLA RIMOZIONE AUTOTROFA DELL'AZOTO RISPETTO AI PROCESSI CONVENZIONALI DI NITRIFICAZIONE - DENITRIFICAZIONE

Il processo convenzionale di rimozione biologica dell'azoto consiste nella combinazione dei processi autotrofi di nitritazione e nitratazione (il cui accoppiamento è convenzionalmente definito nitrificazione, Barnes e Bliss, 1983), col processo eterotrofo di denitrificazione. Durante il processo di nitrificazione l'ammonio viene convertito a nitrato a spese dell'ossigeno fornito dai sistemi di aerazione. Il processo di denitrificazione avviene a spese di un composto organico (espresso in termini di COD) che funge sia da donatore di elettroni per la riduzione ad azoto molecolare del nitrato prodotto in fase di nitrificazione, sia, in minor misura, anche da fonte di carbonio per i batteri eterotrofi denitrificanti. A titolo esemplificativo, la stechiometria complessiva del processo convenzionale di nitrificazione-denitrificazione con l'impiego di metanolo come sostanza organica è la seguente (Matějů et al., 1992):

$$\begin{aligned} &NH_4^+ + 1.856O_2 + 1.058CH_2OH + \\ &0.103HCO_3^- \rightarrow \\ &\rightarrow 0.457N_2 + 0.907H^+ + 0.744CO_2 + \\ &0.421CH_{1.4}O_{0.4}N_{0.2} + 2.45H_2O \end{aligned} \quad (3)$$

L'aerazione per il trasferimento dell'ossigeno per la nitrificazione e il dosaggio di substrati organici (solitamente miscele idroalcoliche a base di metanolo ed etanolo, o altri substrati carboniosi di recupero, come borlande o melasse), necessario per la denitrificazione ogniqualvolta la presenza nel refluo inziale non sia sufficiente, fa sì che questi due processi siano caratterizzati da

1) notevole consumo di energia per l'aerazione, con conseguenti elevati costi di gestione e potenziali di emissioni di gas serra;
2) elevata produzione di fanghi di supero, con conseguenti costi di trattamento e smaltimento.

Per quanto riguarda i consumi per l'aerazione, il processo autotrofo combinato PN/anammox utilizza ossigeno solo per la conversione di parte dell'ammonio a nitrito da parte degli AOB, anziché per l'ossidazione completa a nitrato di tutto l'ammonio presente.
Il processo, inoltre, converte ammonio e nitrito in modo completamente autotrofo e non richiede sostanza organica come donatore di elettroni. La natura autotrofa dei batteri anammox e AOB al contempo, garantisce una bassa resa cellulare e, quindi, una ridotta produzione di fanghi.
Il vantaggio è facilmente quantificabile osservando le stechiometrie di reazione (2) e (3), dalle quali si può evincere come, a paragone dei sistemi convenzionali, la rimozione autotrofa dell'azoto consumi il 100% in meno di carbonio organico, produca oltre l'80% in meno di fango di supero e consumi quasi il 60% in meno di ossigeno (Mulder, 2003; Tab.2), comportando un risparmio sui costi di gestione superiore al 40% (Siegrist et al., 2008; van Dongen et al., 2001).
A differenza di altri microrganismi, gli anammox formano facilmente biofilm adesi su supporti inerti ma anche biofilm auto-aggreganti molto stabili in forma granulare, che consentono lo sviluppo di sistemi molto compatti e caratterizzati da un'alta concentrazione della biomassa (fino a 15-20 gSSV L^{-1}), alta età del fango (oltre i 30 giorni) e alti tassi di rimozione dell'azoto (5-10 kgN m^3 d^1), senza bisogno di sedimentatori esterni e pompe di ricircolo dei fanghi (van Loosdrecht, 2008).
A fronte di tutti i vantaggi sopraelencati, si deve rilevare che l'implementazione del processo PN/anammox implica la delicata coesistenza di microrganismi con esigenze ambientali diverse (ad es. AOB, aerobici, e anammox, anaerobici) e al contempo richiede l'imposizione di condizioni che scoraggino lo sviluppo di microrganismi indesiderati (ad es. batteri aerobici nitrito ossidanti, NOB). Ciò richiede quindi una puntuale verifica preliminare di trattabilità del refluo ed una attenta ed esperta gestione.
Gli aspetti più critici nel garantire un efficiente funzionamento a lungo termine dei sistemi PN/anammox sono qui di seguito elencati e verranno ripresi più dettagliatamente nei paragrafi successivi:

- soppressione del processo di ossidazione del nitrito a nitrato (nitratazione) ad opera di batteri aerobici nitrito ossidanti (NOB) la cui attività diminuirebbe l'efficienza di rimozione dell'azoto;
- gestione della concentrazione del nitrito prodotto durante la nitritazione parziale: il nitrito, oltre ad essere un substrato del metabolismo anammox, ne costituisce anche uno dei principali inibitori (Lotti et al., 2012b). Nonostante l'inibizione da nitrito sia completamente reversibile (Lotti et al., 2012b) un eccessivo accumulo di nitrito (>100 mg-N/L) porta ad una destabilizzazione del processo e va pertanto evitato;
- gestione della concentrazione dell'ossigeno disciolto: l'ossigeno é necessario per il metabolismo AOB e quindi per la produzione di nitrito, ma risulta inibente per i batteri anammox anche a concentrazione molto ridotte (Jin et al., 2012), rendendo quindi il controllo dell'aerazione un importante parametro di processo;
- competizione eterotrofa: in presenza di sostanza organica degradabile nella fase anossica del processo, i batteri eterotrofi denitrificanti competono con i batteri anammox per il nitrito. Dato il più elevato coefficiente di resa cellulare e il rateo di crescita superiore di due ordini di grandezza dei primi (si veda la Tabella1), un›eccessiva presenza di BOD comporta il rischio di un dilavamento della biomassa anammox;
- avviamento del processo: l'inoculo batterico necessario all'avviamento di un nuovo impianto anammox rappresenta un punto critico in quei paesi dove questo processo non é ancora sviluppato e dove pertanto quantità consistenti di biomassa anammox non sono facilmente accessibili. Sono comunque molteplici le esperienze di arricchimento di biomassa anammox a partire da fanghi di depurazione convenzionali (*inter alia* Scaglione et al., 2010) così come l'avviamento di reattori anammox usando come inoculo biomassa scarsamente arricchita (*inter alia* Malamis et al., 2013)

Tabella 2 – Confronto tra il processo di rimozione autotrofa dell'azoto di nitritazione parziale/anammox e il processo convenzionale di nitrificazione/denitrificazione (Nitro/Denitro). Basati sulle stechiometrie delle equazioni 2 e 3.

		PN/anammox	Nitro/Denitro
Consumo di O_2	kg-O_2/kg-N	1.81	4.24
Consumo di COD	kg-COD/kg-N	0.00	3.63
Produzione di biomassa	kg-VSS/kg-N	0.13	0.68

4 CONFIGURAZIONI DI PROCESSO

Il processo di rimozione completamente autotrofa dell'azoto può essere realizzato secondo due configurazioni reattoristiche distinte:

(i) in due reattori biologici in serie (PN/anammox), di cui il primo è aerato e il secondo anossico;
(ii) in un unico reattore dove le condizioni aerobiche si alternano a quelle anossiche.

L'alternanza può avvenire nel tempo (funzionamento discontinuo degli aeratori) o nello spazio, e cioè nello spessore del biofilm, sia esso granulare auto-aggregante, sia esso adeso a un supporto inerte. Nel caso di funzionamento continuo degli aeratori, l'ossigeno disciolto è mantenuto ad un set-point desiderato; all'interno del biofilm però, il gradiente di concentrazione dell'ossigeno che si viene a creare a causa del metabolismo aerobico dei batteri posizionati nella parte esterna del biofilm (ad es. conversione aerobica dell'ammonio da parte degli AOB o del COD da parte di batteri eterotrofi), consente la presenza di condizioni anossiche nella parte più interna del biofilm (Figura 2).

In letteratura, queste due diverse configurazioni vengono definite in molteplici modi. In questa sede si farà riferimento alle seguenti denominazioni:

(i) sistema a due stadi (o bi-stadio),
(ii) sistema mono-stadio.

Oltre al nome commerciale utilizzato per indicare le diverse tecnologie sviluppate con la configurazione mono-stadio o bi-stadio, la tipologia di aggregazione della biomassa utilizzata nei processi varia, anche in ragione della localizzazione geografica dei principali gruppi di ricerca che hanno studiato e sviluppato il processo: biomassa fioccosa (Svizzera, Austria), biomassa granulare (Paesi Bassi), biofilm adeso (Svezia, Belgio), ibrida (Austria). Una panoramica delle intersezioni tra configurazione adottata e tipologia di biomassa impiegata nelle molteplici varianti proposte é stata riportata in Tabella 3.

Non vi è uniformità di pareri sulla convenienza di sistemi mono-stadio o bi-stadio e, secondo gli autori, la configurazione migliore va individuata di volta in volta in funzione delle caratteristiche chimico-fisiche del refluo da trattare e, in caso di revamping, dalle caratteristiche dell'impianto preesistente.

I vantaggi della configurazione a doppio stadio sono così riassumibili:

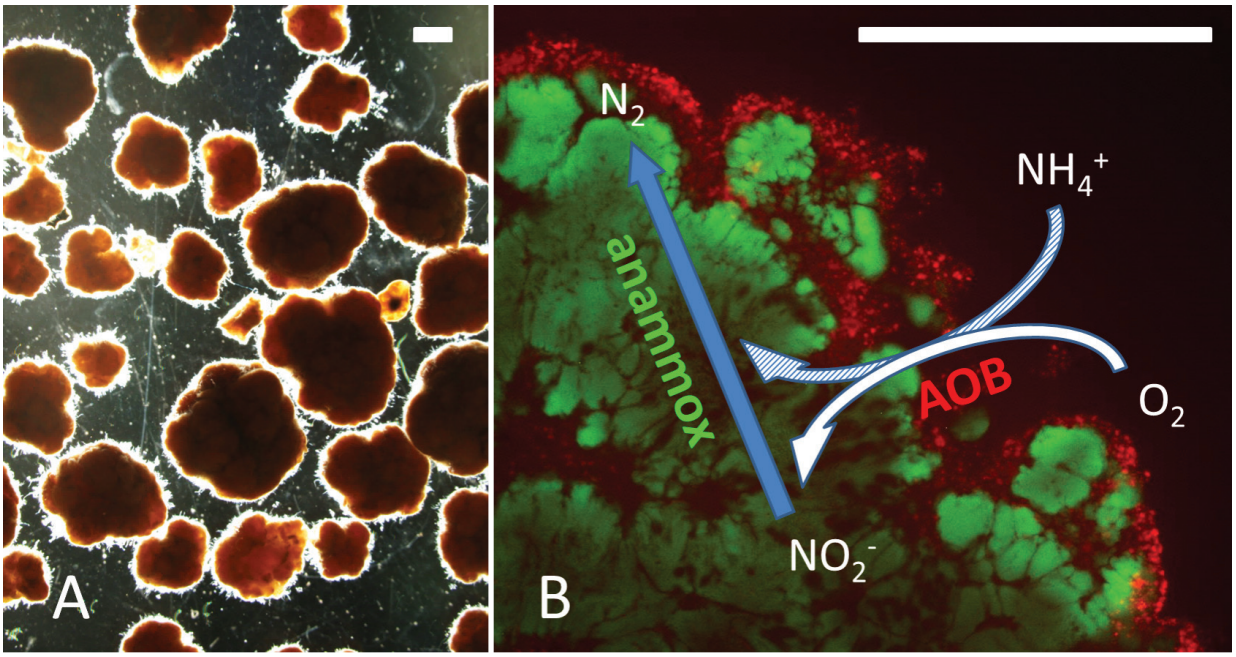

Figura 2 – A: granuli prelevati da un reattore operante il processo di PN/anammox mono-stadio; B: immagine al microscopio di una sezione (spessore 20 µm) di un granulo. Sulla sezione é stato usata la tecnica di biologia molecolare denominata FISH (acronimo dell'inglese Fluorescence In Situ Hybridization) che attraverso l'uso di sonde oligonucleotidiche specifiche, consente di colorare selettivamente alcuni ceppi batterici rispetto ad altri. In questo caso il colore verde corrisponde ai batteri anammox e il rosso agli AOB. Le reazioni biologiche sono state inserite a scopo unicamente esemplificativo. Foto di Tommaso Lotti, le barre di scala corrispondono a 200 µm.

Tabella 3 – Tipologie di processo e relativi nomi commerciali per sistemi di rimozione dell'azoto che includono il processo anammox (adattato da Hu et al., 2013a).

Tipologia di aggregazione della biomassa	Configurazione mono-stadio (1), bi-stadio (2)	Nomi	Fonte
Fioccosa	1	Single suspended-growth SBR[1]	Joss et al., 2009
	2	NAS[2]	Desloover et al., 2011
	2 (o più stadi)	PANDA[3]	Hartwig et al., 2009
Granulare	1	CANON[4]	Third et al., 2001; Abma et al., 2010
	2	SHARON[5,6]-anammox	Van Dongen et al., 2001
Biofilm adeso su supporto inerte	1	ANITA-Mox[7]	Christensson et al., 2011
	1	DeAmmon[8]	Rosenwinkel et al., 2005
	1	OLAND[9]	Kuai and Verstraete 1998
	1	Aerobic deammonification	Hippen et al., 1997
	1	SNAP[10]	Furukawa et al., 2006
Ibrida (sia fioccosa che granulare/biofilm adeso)	1	DEMON[11]	Wett 2007
	2	TERRANA®	John, 2010

Note: [1] Sviluppato da EAWAG (Zurigo, CH), non ha acronimi nè denominazione commerciale, [2] New Activated Sludge, [3] Partial Augmented Nitritation Denitritation Alkalinity Recovery, [4] Completely Autotrophic Nitrogen Removal Over Nitrite, [5] Stable High rate Ammonium Removal Over Nitrite; il nome si riferisce alla nitritazione ottenuta dilavando i batteri nitrito ossidanti grazie a ridotti tempi di permanenze e temperature sufficientemente elevate, [6] Talvolta la nitrificazione-denitrificazione arrestata a nitrito viene definite con questo termine, che, a rgore si dovrebbe riferire solo a reattori senza ricircolo della biomassa, [7] Nome commerciale usato da Veolia Water per un processo combinato monostadio realizzato in reattore a funzionamento continuo e con biofilm su supporti mobili (*moving bed biofilm reactor*, MBBR), [8] Nome commerciale usato da Purac per un processo combinato monostadio realizzato in reattore a funzionamento continuo e con biofilm su supporti mobili (MBBR), [9] Oxygen-Limited Autotrophic Nitrification Denitrification, [10] Processo di rimozione dell'azoto monostadio PN/anammox; il nome di riferisce solo al processo realizzato su biofilm adeso, [11] Il nome si riferisce solo al processo SBR con controllo del pH.

i. i processi di PN e anammox possono essere ottimizzati singolarmente, facilitando, tra l'altro, la soppressione della crescita dei batteri nitrito ossidanti (NOB);
ii. in presenza di reflui con rapporti BOD_5/N più elevati, il rischio che i batteri anammox siano dilavati dai batteri denitrificanti è più basso, poiché la maggior parte del BOD_5 viene degradato nella fase aerobica precedente (Lackner et al., 2008);
iii. sono necessari quantitativi minori di inoculo per un rapido start-up del reattore anammox (Jaroszynski e Oleszkiewicz 2011);
iv. il rischio di inibizione da ossigeno per i batteri anammox è inferiore (Jaroszynski e Oleszkiewicz, 2011).

I vantaggi del sistema mono-stadio sono invece:
i. costi di investimento notevolmente inferiori;
ii. controllo di processo meno complesso;
iii. minor rischio di inibizione da nitrito dei batteri anammox;
iv. minori emissioni di protossido di azoto: i dati finora pubblicati indicano che le emissioni di N_2O dal processo mono-stadio sono 0.4-1.3 % del carico di azoto (Joss et al., 2009; Kampschreur et al., 2009; Weissenbacher et al., 2010), mentre le quantità di emissioni del sistema a doppio-stadio sono pari a 2.3-6.6% (Kampschreur et al., 2008; Desloover et al., 2011).

5 INSTALLAZIONI PN/ANAMMOX IN SCALA REALE: STATO DELL'ARTE

Ad oggi i processi di rimozione puramente autotrofa vantano circa 90 applicazioni a scala reale e sono pertanto considerabili maturi per il trattamento di acque di rifiuto con temperature relativamente alte (> 25°C) e concentrate (> 200 mgN L^{-1}), in particolar modo per il trattamento di surnatanti della linea fanghi. Come descritto al capitolo 8, vi è d'altra parte un intensissimo sforzo di ricerca internazionale per estenderne l'applicabilità ad altri flussi contaminati da composti azotati ed anche alle acque di rifiuto urbane e su queste premesse è lecito attendersi che numerosità e tipologia delle realizzazioni a scala reale vadano rapidamente aumentando nei prossimi anni.

Oggi la maggior parte degli impianti PN/anammox si trova in Europa, anche se cresce l'interesse per questa tecnologia in America settentrionale, Cina, India e Brasile.

Per un migliore controllo del processo di nitritazione (i.e. soppressione degli NOB e ossidazione di solo metà dell'ammonio influente), le prime applicazioni del processo PN/anammox hanno utilizzato configurazioni reattoristiche a due stadi o fatto uso di sistemi di nitritazione già esistenti (ad esempio utilizzando reattori SHARON; Hellinga et al., 1998; Volcke et al., 2006).

Man mano che le esperienze a scala reale sono aumentate, l'attenzione si è spostata sui sistemi mono-stadio, che implicano minori costi di investimento e sembrano offrire maggiori garanzie di stabilità del processo rispetto a quelli a doppio stadio.. Le applicazioni a larga scala attualmente esistenti includono le seguenti configurazioni:

- sistemi con biomasse granulari (Abma et al., 2010),
- SBR con biomassa fioccosa (Joss et al., 2009) o con biomassa ibrida, sia fioccosa che granulare (Wett, 2007),
- sistemi con biofilm adeso a letto mobile (MBBR, Rosenwinkel e Cornelius, 2005),
- sisemi con biofilm adeso su dischi rotanti (RBC, Hippen et al., 1997),
- sistemi a fanghi attivi (Desloover et al., 2011).

Considerando gli impianti già esistenti e quelli in fase di costruzione/avvio, si stima che entro la fine del 2014 gli impianti a scala reale che impiegheranno il processo PN/anammox saranno più di 100 (Fig.3). Per una rassegna molto dettagliata degli impianti in scala reale attualmente esistenti si rimanda il lettore a Lackner et al. (2014).

La distribuzione delle installazioni a scala reale, divisa tra le diverse configurazioni e tecnologie (Fig. 4) rivela come la tipologia SBR sia la più diffusa (più del 50% di tutti i sistemi PN/anammox), seguita dai sistemi granulari con funzionamento continuo e dalla configurazione MBBR.

Un quadro molto diverso si delinea quando vengono messi a confronto il carico di azoto medio trattato da ciascun impianto: i sistemi granulari trattano di gran lunga la maggior parte dell'azoto, e lo stesso vale per gli impianti a servizio di siti industriali (Fig. 4). La maggior parte di tutti gli impianti è realizzata con configurazione mono-stadio (88%) e per il trattamento di reflui urbani (75%). In Tabella 4 si riportano i dati relativi a 14 impianti in scala reale. Di seguito si riporta una descrizione dei sistemi maggiormente impiegati in scala reale e descritti in Tabella 4, suddivisi in base alla tipologia di biomassa utilizzata (vedi Tab.3 per un rapido confronto).

5.1 Biomassa fioccosa (tipo fanghi attivi)

Una tecnologia SBR con biomassa sospesa, sviluppata dall'EAWAG di Zurigo (Svizzera; indicato con la lettera H nella Tabella 4 e 5), è il processo monostadio PN/anammox controllato tramite il monitoraggio dell'ammonio, il cui primo esempio in scala reale si trova all'impianto di Werdhölzli, a Zurigo (Joss et al., 2009, 2011), entrato in funzione nel 2007. In questo processo il ciclo SBR è controllato tramite un sensore dell'ammonio il cui valore stabilisce la durata del ciclo. L'alimentazione può essere effettuata all'inizio di ogni ciclo o durante la fase di aerazione. Risultati ancora non pubblicati mostrano che l'alimentazione effettuata durante la fase di aerazione favorisce la stabilità del processo; pertanto la portata dell'influente è controllata dal set-point della concentrazione di ammonio; questo dato che può essere sostituito dalla conducibilità, di più semplice misura e assai ben correlato con l'ammonio. Il controllo della portata d'aria consente simultaneamente il processo di nitritazione e anammox. La concentrazione dell'ossigeno disciolto è inferiore a 0,1 $mgO_2\ L^{-1}$. In condizioni di normale funzionamento, l'aerazione è preferibilmente continua, mentre si adotta l'aerazione intermittente durante le operazioni di avviamento e durante periodi di bassa attività della biomassa. Esistono anche processi PN/anammox a biomassa sospesa in configurazione a due o più stadi. Ne è un esempio il processo di nitritazione/denitritazione con inoculo parziale ("bioaugmentation") e recupero di alcalinità ("Partial Augmented Nitritation Denitritation Alkalinity recovery", definito con l'acronimo PANDA). Di questa tecnologia esistono due realizzazioni, a Weibenfels e Rheda Wiedenbrück (Germania), dove i presistenti impianti sono stati convertiti a PN/anammox (dunque chiamato "PANDA+") nel 2007 (Aquaconsult). Entrambi sono processi a fanghi sospesi a doppio-stadio, costituiti da un reattore aerato, un reattore misto e sedimentatori (Hartwig et al., 2009).

Un'altra tecnologia a due stadi di recente applicazione, proposta dalla società Colsen International b.v., Paesi Bassi e registrata come New Activated Sludge (NAS®) utilizza anche fanghi in sospensione in più comparti miscelati, costituiti da un'alternanza di fasi aerobiche e anossiche, e si basa su una combinazione ibrida di PN/anammox e nitrificazione/denitrificazione (N/DN), atta a raggiungere le concentrazioni standard per lo scarico, trat-

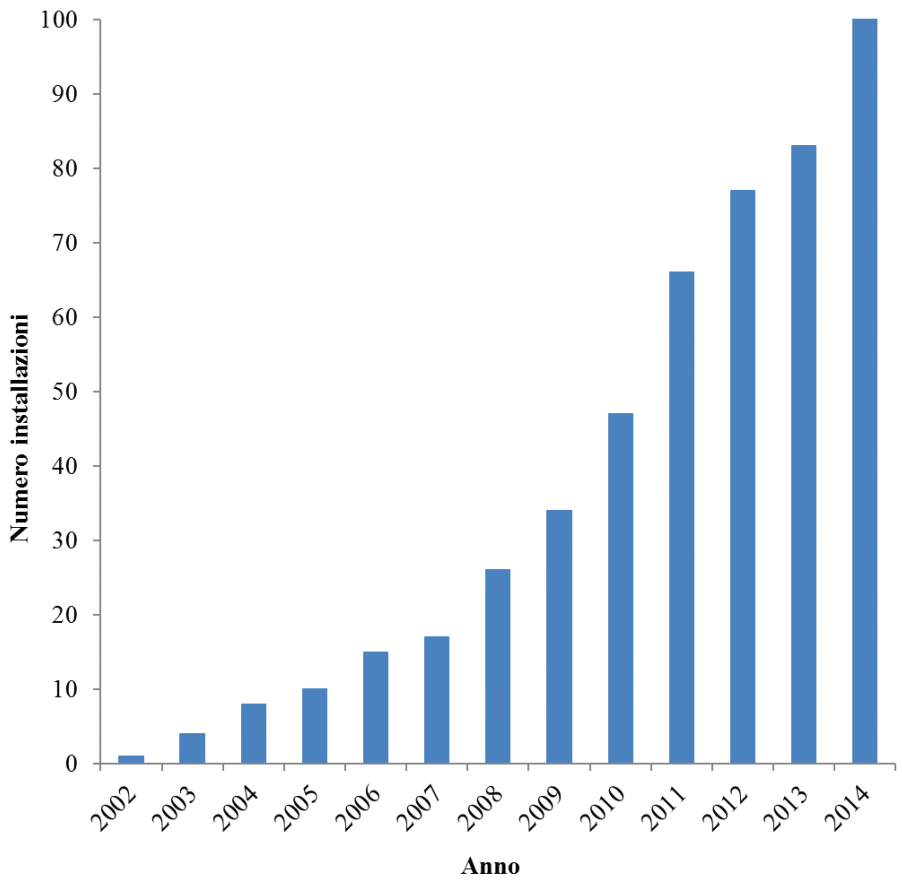

Figura 3 – Numero di installazioni di sistemi PN/anammox a scal reale realizzate nel corso degli anni (per l'hanno 2014 sono inclusi gli impianti in fase di costruzione/avvio).

tando digestato da scarti dell'industria alimentare (Desloover et al., 2011). La strategia di controllo per il sistema NAS® si basa sui livelli di ossigeno disciolto (DO, *Dissolved Oxygen*) e sull'età del fango (SRT, *Solids Retention Time*). Negli impianti NAS® implementati come revamping di installazioni N/DN multi-stadio, la separazione solido/liquido viene eseguita con i sedimentatori esistenti. Per gli impianti NAS® di nuova concezione, viene impiegato un reattore a membrana (MBR, *Membrane Bio-Reactor*), mentre la realizzazione di un SBR mono-stadio è previsto nel 2014.

Oltre ai sistemi SBR precedentemente descritti, diversi impianti di trattamento hanno sviluppato il proprio sistema PN/anammox, le cui differenze risiedono principalmente nelle tecniche di carico dell'influente (intermittente o continuo), nello stato di aggregazione della biomassa impiegata (sospesa o adesa, ovvero fioccosa o in biofilm), nelle strategie per il controllo dell'aerazione e la configurazione reattoristica già accennata (singolo o doppio stadio). Senza pretesa di esaustività, se ne riportano alcuni esempi.

Il sistema SBR dell'impianto di depurazione (WWTP) di Ingolstadt, in Germania, impiega un flusso influente intermittente (quattro volte in un ciclo di sei ore) e l'aerazione intermittente (6/9 min acceso/spento) (G, Tabella 4).

A Gütersloh, in Germania, un vecchio serbatoio di stoccaggio è stato convertito in un SBR nel 2004 con lo scopo di implementare il processo di nitritazione sul digestato. Successivamente, le analisi della comunità microbica, hanno confermato la presenza di batteri anammox nel reattore (Schröder, 2009). Il loro ciclo SBR è di 24 h con alimentazione più o meno continua durante il giorno, in base alla produzione di digestato. L'aerazione viene attivata quando la concentrazione di ammonio supera un limite superiore e si arresta quando o il pH, o la concentrazione di ammonio, scendono al di sotto di un limite inferiore. L'ossigeno disciolto è mantenuto a meno di 0,5 $mgO_2\ L^{-1}$.

Allo stesso modo anche Aqualia (ELAN®) e Degrémont (Cleargreen®) hanno sviluppato proprie tecnologie SBR per PN/anammox. La strategia Cleargreen® consiste in cicli di reazione di 8 h nei quali i sistemi di controllo agiscono secondo un procedimento brevettato. Una fase aerata di circa il 60% del tempo di reazione (controllata a

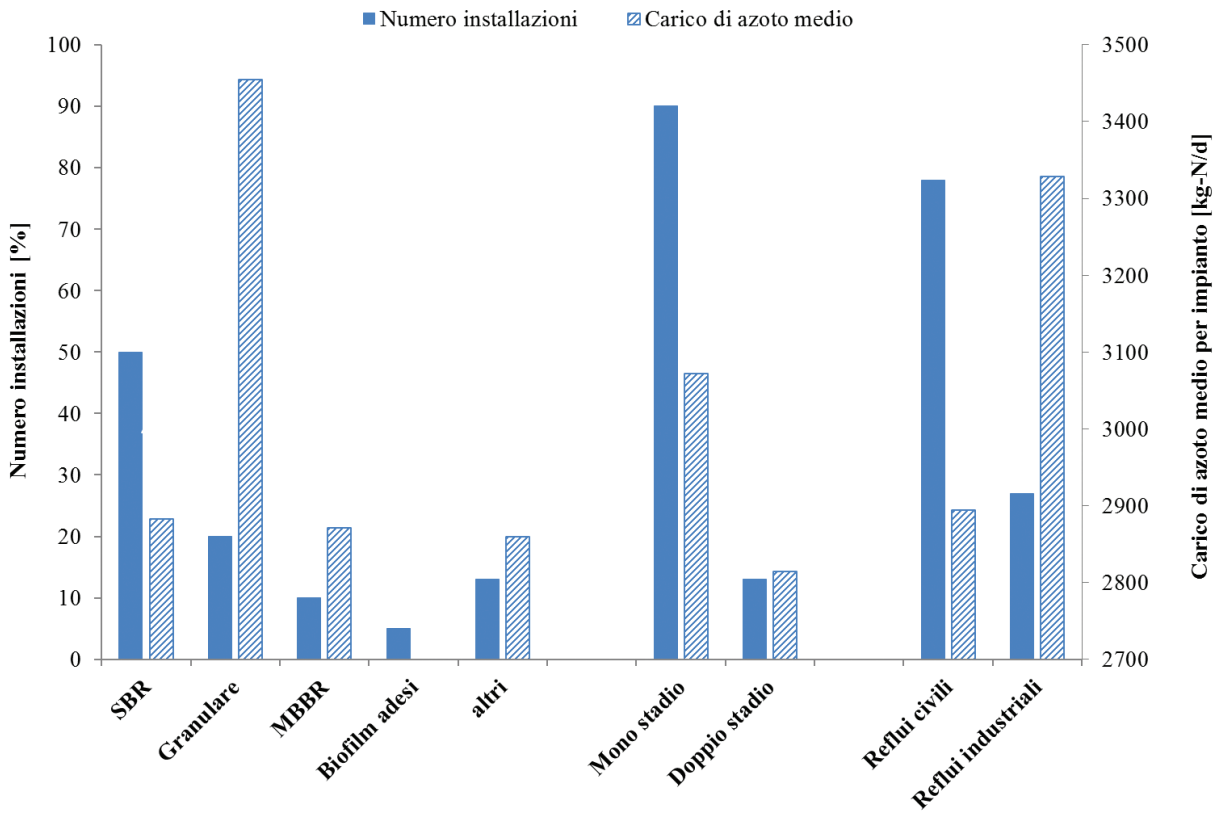

Figura 4 – Distribuzione dei diversi sistemi di PN/anammox (83 installazioni censite). Il carico di azoto medio riportato si riferisce al carico di azoto totale trattato in ciascuna categoria. Adattato da Lackner et al. (2014).

0,3-0,8 mgO_2 L^{-1}) seguita da una fase anossica con miscelazione (circa il 40% del tempo di reazione) (Jeanningros et al., 2010). La regolazione di fino per il raggiungimento del rapporto ideale tra le concentrazioni di nitrito e ammonio nell'effluente (NO_2^-/NH_4^+) è ulteriormente assistita da misurazioni on-line dell'ammonio e off-line di nitriti/nitrati. L'applicazione a scala reale di due impianti Cleargreen® è prevista per fine 2015.

5.2 Biomassa granulare

La tecnologia granulare è commercializzata solo dalla società Paques (NL), che ha realizzato a Rotterdam, il primo sistema PN/anammox applicato a scala reale, entrato in funzione nel 2002. Si tratta di un processo a doppio stadio SHARON/ANAMMOX® dove il reattore ANAMMOX® è costituito da un letto di fango granulare diviso in due compartimenti, posizionati l'uno sull'altro (van der Star et al., 2007). Dopo 3 anni e mezzo di avviamento, il secondo stadio (processo ANAMMOX®) convertiva il 90-95% del carico di azoto, pari a oltre 10 kg m^{-3} d^{-1} (Zumbrägel et al., 2006).
Successivamente, dal 2006, Paques progetta invece reattori granulari mono-stadio (Abma et al., 2010; Kormelinck, 2012), applicati soprattutto al trattamento di acque reflue industriali con tempi di avviamento ridotti a circa un mese. Come si osserva dai dati di Tabella 4, l'impianto L presenta i maggiori carichi volumetrici applicati, come intervallo, rispetto ad altri sistemi mono-stadio e, grazie all'altezza di sviluppo dei reattori, può presentare il minor ingombro planimetrico. Per contro, questa tecnologia non è utilizzabile in fase di revamping di reattori esistenti, come invece possibile per altre. Tra i vantaggi delle biomasse granulari, rispetto agli SBR a biomasse fioccose, si annovera poi l'efficiente separazione della biomassa e una maggior resilienza ad accumuli indesiderati di nitrito (Lotti et al., 2012b).

5.3 Biomassa adesa

Il processo anammox a biomassa adesa è stato studiato e viene applicato nelle due alternative impiantistiche che prevedono l'impiego di biodischi o di letti mobili. Al momento non esiste invece alcuna applicazione in scala reale a letto fisso, mentre a scala laboratorio questa configurazione è stata sperimentata nelle università giapponesi (*inter alia* Liu et al., 2009).

Alcuni dei primi reattori in cui è stata rilevata attività anammox sono stati i biodischi o RBC (*Rotating Biological Contactors*). A Mechernich, Germania (Hippen e Rosenwinkel, 1997), Kölliken, Svizzera (Siegrist et al., 1998) e Pitsea, Gran Bretagna (Schmid et al., 2003) l'iniziale osservazione di un inatteso alto tasso di rimozione dell'azoto, venne seguito dall'identificazione di batteri anammox all'interno di biodischi impiegati per il trattamento del percolato di discarica.

L'utilizzo di biodischi per il processo anammox, studiato e sviluppato all'Università di Ghent con il processo OLAND (*inter alia* Vlaeminck et al., 2009), consente bassi costi operativi, grazie alla non necessità di un sistema dedicato di fornitura dell'aria, a scapito di una limitata flessibilità nel controllo del processo. Le applicazioni ad ora realizzate trattano comunque bassi carichi e sono tipiche di piccoli impianti. La società DeSah BV (NL) ha realizzato nei Paesi Bassi, con tecnologia OLAND RBC, un impianto da 0.5 m^3 che serve 64 abitanti equivalenti (A.E.), e un reattore 6 m^3 per 464 A.E per il trattamento di digestato da acque nere. Il controllo di processo si basa sulla variazione della velocità di rotazione (1-4 rpm) al fine di raggiungere la concentrazione di ossigeno disciolto desiderata nel liquido (0.60-0.65 $mgO_2\ L^{-1}$) e sul controllo del pH a 7.0-7.5 tramite aggiunta di NaOH (Lackner et al., 2014).

Un'altra tecnologia RBC/OLAND è stata proposta dalla società AWWS (NL), per il trattamento delle acque reflue dell'industria di produzione dei fertilizzanti, con una strategia di alimentazione basata su misurazioni online di ammonio, e una strategia di controllo del OD basata sulla variazione della velocità di rotazione e il livello di sommersione dei dischi rotanti. Il pH è controllato mediante aggiunta di acido/base. La realizzazione in scala reale dell'impianto per il trattamento di 150 $kgN\ d^{-1}$ è previsto nel 2015.

Per quanto riguarda l'impiego di supporti mobili, esistono due applicazioni realizzate in scala reale: il processo ANITAMox® commercializzato da Veolia e il processso DeAmmon® commercializzato dalla Purac, entrambi i quali utilizzano i supporti AnoxKaldnes.

La prima realizzazione del sistema mono-stadio ANITAMox® è stata a Malmö (S), nel 2011. L'impianto tratta il surnatante del trattamento fanghi ed è anche utilizzato come impianto di arricchimento da dove prelevare supporti colonizzati per l'inoculazione di altri impianti simili ("BioFarm"). Vengono attualmente realizzati con materiale di supporto di tipo K5 (superficie di attecchimento di 800 $m^2\ m^{-3}$) e, a oggi, si contano otto installazioni a scala reale tra Europa e Stati Uniti. L'aerazione è controllata attraverso un metodo brevettato che sfrutta i rapporti di ammonio nell'influente e nell'effluente e la produzione di nitrato al fine di mantenere un predeterminato valore di ossigeno disciolto in vasca. Un notevole incremento delle prestazioni è stato ottenuto adottando un sistema ibrido (Integrated Fixed-film Activated Sludge, IFAS) ottenuto ricircolando la biomassa sospesa da un sedimentatore secondario. I fanghi sospesi separati dall'effluente contengono circa il 90% di AOB (batteri aerobici ammonio-ossidanti), mentre gli anammox prevalgono nel biofilm; il sistema ha consentito di rilevare tassi di rimozione fino a 8 $gN\ m^{-2}\ d^{-1}$ (Veuillet et al., 2014).

La prima realizzazione del sistema DeAmmon®, nel 2001, è stata presso l'impianto di depurazione di Hattingen, in Germania, per il trattamento del digestato (Rosenwinkel et al., 2005).

E' realizzato con un sedimentatore (a monte), tre MBBR in serie e un sistema di strippaggio (a valle). Il riempimento con supporti AnoxKaldnes K1) è stato al 40-50% in volume ed il sistema è dotato di aerazione e agitatori meccanici (Rosenwinkel et al., 2005; Szatkowska et al., 2007) con monitoraggio in continuo di ossigeno disciolto, pH e temperatura. Il secondo impianto DeAmmon® MBBR è stato costruito nell'impianto di Himmerfjärden, Svezia nel 2007 (Ling, 2009).

5.4 Biomasse ibride

Con lo scopo di favorire lo sviluppo della biomassa anammox e di svincolarlo da quello delle altre biomasse, sono stati sviluppati sistemi ibridi che contengono contemporanemanete biomasse fioccose e granulari, oppure biomasse sospese (fioccose) e adese. Sfruttando la spiccata propensione della biomassa anammox a formare biofilm infatti, la conseguente segregazione di comunità batteriche differenti in tipologie diverse di biomassa (ad es. anammox nel biofilm e NOB in sospensione) consente di agire in modo differenziale sulle rispettive età del fango fovorendo l'arricchiemnto degli uni e il dilavamento degli altri.

Tra queste rientra la configurazione DEMON®, che opera come un SBR, nel quale però un idrociclone permette di regolare l'età del fango in maniera indipendente per i batteri ammonio ossidanti (AOB, aggregati in fiocchi più leggeri) e gli anammox (aggregati in granuli più grandi e pesanti), permettendone la separazione selettiva (Wett et al., 2010). Questa è la configurazione presente in più dell'80% di tutti i sistemi SBR.

Questo processo è stato implementato per la prima volta a Strass, in Austria, in un reattore SBR

Tabella 4 – Sommario degli impianti in scala reale censiti in Lackner et al. (2014). A: Amersfort, B: Apeldoorn, C: Balingen, D: Heidelberg, E: Nieuwegein, F: Plettenberg, G: Ingolstadt, H: Zürich, I: Malmö, L: Olburgen, M: Lichtenvoorde, N: Rotterdam, O: Landshut, P: Bergen op Zoom.

	Tecnologia	Frazione liquida di digestato	Reattore	Biomassa	Volume	SST	HRT	Carico Volumetrico	Carico Specifico di progetto	Carico Specifico operativo	Consumo Energetico [d]
					m^3	g/L	h	kg-N $m^{-3}d^{-1}$	g-N kg-SST$^{-1}d^{-1}$	g-N/kg-SST$^{-1}d^{-1}$	kWh kg-$N^{-1}d^{-1}$
A	DEMON	Fanghi urbani	SBR	Ibrida	780	4.5	26	0.65	194	145	-
B	DEMON	Fanghi urbani	SBR	Ibrida	2400	3.5-4	58	0.54	161	155	1.1
C	DEMON	Fanghi urbani	SBR	Ibrida	705	1.2	94	0.04-0.11	142	35-95	0.92
D	DEMON	Fanghi urbani	SBR	Ibrida	2 × 570	1.0-2.5	114	0.2	150	119	1.67
E	DEMON	Fanghi urbani	SBR	Ibrida	450	-	42	0.61	-	-	0.8
F	DEMON	Fanghi urbani	SBR	Ibrida	134	3	40	0.45	159	149	-
G	SBR	Fanghi urbani	SBR	Fioccosa	2 × 560	2.0-4.0	75	0.18-0.20	129	71	1.92
H	SBR	Fanghi urbani	SBR	Fioccosa	2 × 1400	3.5-4.5	45	0.4	107	134	1.11
I	ANITAMox™	Fanghi urbani	MBBR	Biofilm adeso	4 × 50	16 [a]	24	1.0-1.2	64	64	1.05 1.45-1.75 [e]
L	ANAMMOX®	Fanghi urbani + Agroalimentare (patate)	CSTR-gas-lift	Granulare	600	25 [b]	5	1.0-2.33	80	93	1.86
M	CIRCOX®/ ANAMMOX®	Reflui conciari	CSTR-gas-lift	Granulare	150 + 75	25 [b]	8	0.89-1 0.78	62	71	-
N	(SHARON®) ANAMMOX®	Fanghi urbani	(CSTR) CSTR-gas-lift	(Fioccosa) Granulare	1800 + 70	0.27, 7-10 [c]	36, 6	0.27, 7.03	260	238	4.17 (compreso lo SHARON®)
O	Terrana®	Fanghi urbani	CSTR	Ibrida	288 + 495	10-12, 5-6	25, 42	1.11, 0.65	110, 118	101, 108	-
P	NAS®	Agroalimentare (patate)	CSTR	Fioccosa	7920 (2370, 1650, 1600. 2300	0.3, 5, 5, 5 (2-7.6)	80 (totale)	0.1 (media)	26 (media)	18 (media)	-

Note: [a] stimato in base a risultati a scala pilota da Lackner e Horn (2012); [b] stime basate sui dati del reattore ANAMMOX® di Rotterdam (N); [c] calcolato assumendo un rapporto g-SST/g-VSS di 0.75 (valore fornito di 20 g-VSS/L); [d] valori espressi per unitá di azoto rimosso; [e] Christensson et al. (2013).

Tabella 5 – Concentrazioni influenti ed effluenti, parametri di controllo, set-point e gamma di concentrazioni misurate online di OD e pH relative agli impianti in scala reale riportati in Lackner et al. (2014). In caso di sistemi bi-stadio sono riportate le concentrazioni di entrambi gli stadi. A: Amersfort, B: Apeldoorn, C: Balingen, D: Heidelberg, E: Nieuwegein, F: Plettenberg, G: Ingolstadt, H: Zürich, I: Malmö, L: Olburgen, M: Lichtenvoorde, N: Rotterdam, O: Landshut, P: Bergen op Zoom.

									Strategia di Controllo							
	Influente			**Effluente**					**Parametri per controllo (altri parametri misurati)**	**pH**		**OD [mg/L]**		**Aerazione [min]**		
	NH_4^+-N [mg/L]	COD/ NH_4^+-N	PO_4^{3-} [mg/L]	NH_4^+-N [mg/L]	NO_3^--N [mg/L]	NO_2^--N [mg/L]	COD [mg/L]	PO_4^{3-} [mg/L]		min	Max	min	Max	Lavoro		Pausa
A	>500	n.d.	n.d.	≈150	<25	<5	n.d.	n.d.	pH, OD, NO_2^- (NO_4^+, NO_3^-, Temp., TS)	-	-	-	0.3	-		-
B	>1000	1.8	≈200	≈100	≈50	<5	<1000	≈150	pH, OD (NO_4^+, NO_3^-, Temp.)	6.785	6.815	-	0.3	12		12
C	>500	1.6	n.d.	<100	<50	<1	n.d.	n.d.	pH, OD (ORP, Temp.)	7.0	7.1	-	0.3	8		2
D	≈1000	n.d.	n.d.	<50	≈50	<5	n.d.	n.d.	pH, OD (NO_4^+, NO_3^-, Cond., ORP, Temp.)	6.9	7.1	-	0.35	10		15
E	≈1000	0.6	≈200	≈200	<100	<20	n.d.	n.d.	pH, OD (NO_4^+, NO_2^-, NO_3^-, Temp., TS)	±0.02		-	0.2	Intermittente		
F	>500	n.d.	n.d.	<100	<50	<5	n.d.	n.d.	pH, OD (Temp.)	6.9	7.1	-	0.25	12-15		20
G	≈1000	0.7	n.d.	≈150	<100	<1	≈250	<25	OD (pH, NO_4^+, NO_3^-, Cond., ORP, Temp., TS)	-	-	0.8	1.0	6		9
H	700	0.9	<50	<50	<20	<1	n.d.	n.d.	NH_4^+, schiume (pH, DO, NO_3^-, Cond., ORP, Temp.)	-	-	-	0.05	Continua		
I	≈1000	0.7	n.d.	<100	<100	<5	n.d.	n.d.	pH, OD (NO_4^+, NO_3^-, Temp.)	-	-	0.5	1.5	Continua		
L	<500	1.1	<20	<25	<25	<25	<200	<15	pH (NO_4^+, NO_2^-, Temp.)	7.5	8.0	-	-	-		-
M	≈500	2	<5	≈25	≈25	<10	<250	<5	DO, NH_4^+ (NO_2^-)	-	-	Basato sul rapporto NH_4^+/ NO_2^-				
N	≈1000	15	<50	≈500/<50	-/<100	≈500/<5	n.d.	n.d.	NO_2^-, schiume [a] (DO, Cond., Temp.)	-	-	-	-	-		-
O	>1500	0.3	<20	≈750/≈100	≈10/≈50	>500/<1	n.d.	n.d.	pH, NO_2^- (DO, NO_4^+, NO_3^-, Cond., Temp.)	-	-	1.2 [b]	1.5 [b]	Continua [b]		
P	<500	3.7	≈50	<5	<10	n.d.	n.d.	n.d.	pH (DO, ORP, Temp.)	-	-	0.3 [c]	0.9 [c]	-		-

Note: [a] preso in considerazione solo reattore ANAMMOX®; [b] dati per il reattore di nitritazione; [c] dati per il reattore di nitritazione parziale (NAS 1); n.d.: non disponibile.

alimentato con il digestato fanghi, che prima operava la rimozione dell'azoto con un processo di nitritazione/denitritazione, controllato in base al pH. L'SBR DEMON® invece, fa affidamento su un sistema brevettato di controllo della portata di alimento, basato sul profilo del pH (Wett, 2006 e 2007). Lo spurgo della frazione leggera consente anche di eliminare selettivamente i solidi sospesi presenti nel flusso in ingresso, evitandone l'accumulo. Il controllo dell'ossigeno disciolto a valori molto bassi (intorno a 0,3 mg L^{-1}) impedisce che i batteri nitrito ossidanti (NOB) prendano il sopravvento sugli AOB.
Un'altro sistema, brevettato in Germania (TERRANA®, Südchemie), prevede il dosaggio di micelle di argilla bentonitica nei fanghi in sospensione, sia in sistemi SBR sia in processi a fanghi attivi a due stadi. Il materiale argilloso funge da supporto per la crescita di biofilm adesi, così da contribuire a mantenere i batteri anammox nel sistema, e migliora la sedimentabilità del fango (John, 2010). Grazie alle sue proprietà chimiche, serve anche come fonte di alcalinità e consente il trattamento di reflui mal tamponati (John, 2012).

6 PARAMETRI OPERATIVI E DI PROGETTO

In questa sezione saranno presi in considerazione i parametri che caratterizzano progetto e conduzione del processo di rimozione autotrofa dell'azoto nelle varie configurazioni proposte commercialmente. Tali parametri, così come riportati per 14 impiani in scala reale (Lackner et al., 2014) sono riassunti in Tabella 5.
In generale, la concentrazione di ammonio in ingresso negli impianti a scala reale PN/anammox varia da 500 a 1.500 mg-N L^{-1}, con valori più frequenti di circa 1.000 mg-N L^{-1}. Con una sola eccezione, i rapporti COD/N sono < 2 e, in gran parte, inferiori a 1. Sono disponibili pochi dati sulle concentrazioni di solidi sospesi in ingresso, con valori medi intorno a 200-300 mgSST L^{1}. A questo riguardo è opportuno segnalare che la presenza di picchi di solidi sospesi in alimento può causare problemi operativi, il più grave dei quali è il dilavamento della biomassa anammox. Infatti l'accumulo dei solidi sospesi non biodegradabili e della biomassa cresciuta a spese dei solidi sospesi biodegradabili può comportare un aumento della concentrazione di biomassa superiore a quello tecnicamente mantenibile nell'impianto. La conseguenza è la necessità di aumentare il tasso di spurgo solidi con diminuzione dell'età del fango al disotto della soglia minima per il mantenimento della biomassa anammox.
Le concentrazioni di ammonio negli effluenti variano in un ampio intervallo, da 5 a oltre 200 mgN L^{1} senza nessuna evidente correlazione rispetto alla tipologia di refluo trattato, al suo rapporto COD/N, o alla tecnologia impiegata (Tab. 4). Se il processo è applicato ad acque di ritorno della linea fanghi, l'effluente di questi sistemi di trattamento viene normalmente ricircolato (spesso dopo chiarificazione primaria) in testa all'impianto di trattamento delle acque reflue (linea acque) e viene quindi trattato ulteriormente nella linea principale, senza necessità di raggiungere valori compatibili con lo scarico in acque superficiali o in fognatura.
La tecnologia SBR offre una vasta gamma di possibili strategie operative.

Alimentazione: per sistemi discontinui quali gli SBR, l'alimentazione può essere effettuata in continuo facendo coincidere la fase di alimentazione con la fase di reazione, oppure concentrata in un breve periodo all'inizio del ciclo, oppure, ancora, con modalità intermittente controllando il dosaggio dell'influente con un sistema di controllo basato su misurazioni in continuo di pH e OD (Wett, 2007).

Aerazione: gli impianti che adottano il processo DEMON® si affidano soprattutto al sistema brevettato di controllo dell'alimentazione basato sul pH, con possibilità di aerazione intermittente; il sistema SBR di Zurigo (H in Tab. 4 e 5) utilizza preferibilmente l'aerazione continua mantenendo livelli bassissimi di DO, mentre l'aerazione intermittente con impulsi di 5-10 min e ossigeno disciolto più elevati, vengono impiegati per brevi intervalli temporali durante la fase di start-up. Per i processi in continuo (non-SBR) il sistema di aerazione é controllato con DO-setpoint e integrato, in alcuni casi, con un sistema feed-back basato sulla concentrazione di ammonio (per maggiori dettagli si veda Tab.5).

Tempo di residenza del fango (o età del fango): anche l'età del fango, il metodo di estrazione del fango di supero e i sistemi di ritenzione della biomassa, sono parametri di fondamentale importanza che caratterizzano le diverse opzioni di processo. Nella maggior parte dei sistemi DEMON® un idro-ciclone consente lo scarico delle particelle sospese di piccole dimensioni e trattiene nel sistema i granuli più grandi arricchiti in batteri anammox. Alcuni SBR non hanno un sistema automatizzato per l'estrazione del fango di supero (ad es.: Zurigo),

mentre in altri la biomassa viene estratta attraverso lo scarico dell'effluente dopo una sedimentazione più breve (ad es.: Ingolstadt). Il sistema granulare di Paques comprende un separatore a pacchi lamellari per la ritenzione dei granuli, mentre il sistema IFAS di Veolia mantiene la frazione particolata fine del fango arricchita in batteri ammonio ossidanti per mezzo di un sedimentatore convenzionale. Una elevata variabilità si osserva anche nel contenuto di solidi sospesi totali (SST) presenti negli SBR, che variano da <1 gSST L^{1}fino a più di 4,5 gSST L^{1}.

Tempo di ritenzione idraulica (HRT): varia da poche ore per sistemi a biomassa adesa o granulare (con un minimo di 5-6 ore), a qualche giorno (con un massimo di quasi 5 giorni) nel caso di biomassa fioccosa o ibrida (Tab. 4).

Carico specifico e concentrazione solidi: per sistemi a biomassa sospesa fioccosa ed SBR i carichi specifici riferiti alla biomassa variano da 71 gN $kgSST^{1}$ d^{1} fino a 155 gN $kgSST^{1}$ d^{1} mentre i carichi volumetrici variano da 0.04 a 0.65 kgN m^{-3} d^{-1} (Tab.4). Per i sistemi autotrofi con elevata età del fango come i sistemi PN/anammox la frazione inerte può variare notevolmente a seconda delle condizioni locali e ciò influenza naturalmente non solo il rapporto SSV/SST, ma anche l'attività specifica della biomassa, quando quest'ultima è espressa in termini di SST. A titolo di confronto, si consideri che i ratei specifici per le fasi di nitrificazione in impianti a fanghi attivi convenzionali, sono circa 50-100 g-N $kg\text{-}SST^{-1}$ d^{-1} (ATV, 1997).
Dai dati presenti in letteratura riguardo ai sistemi SBR, non si evince inoltre alcuna correlazione tra strategia operativa e prestazioni registrate (Tab.5). I casi in cui si registrano valori bassi del carico volumetrico sono correlati a condizioni operative di sottoutilizzo rispetto alla capacità di progetto, ad esempio a causa di una conversione a SBR di una vasca esistente con volume eccessivo rispetto al carico da trattare.
I sistemi granulari o a biomassa adesa presentano carichi volumetrici più elevati dei precedenti, in ragione della maggior concentrazione di biomassa anammox conseguibile, ma anche di una maggiore attività degli stessi. A minori concentrazioni di biomassa corrispondono ovviamente anche minori carichi volumetrici e HRT significativamente più elevati. Nei sistemi a biofilm adeso su carrier sono comuni valori di concentrazione di 1520 gSST L^{1} , mentre nei sistemi granulari si possono rilevare da 25 a 35 gSST L^{1} (Tab.4). Nel sistema a 2 stadi dell'impianto di Landshut (Baviera, Germania), che adotta il dosaggio di argilla bentonitica come materiale di supporto e stabilizzatore di pH (il già citato TERRANA®) si raggiungono concentrazioni di solidi comprese tra 5 e 12 gSST L^{1}. Nei sistemi a biofilm si possono applicare carichi di 0,1 kgN $kgSST^{1}$ d^{1} e oltre. Nell'impianto di Rotterdam (biomassa granulare) si rilevano carichi specifici di oltre 0,2 kgN $kgSST^{1}$ d^{1}, ai quali corrispondono carichi specifici volumetrici da 1 fino a 7 kgN m^{3} d^{1} (van der Star et al., 2007).

Consumi energetici: per il processo PN/anammox in SBR alimentati con acque di ritorno dalla linea fanghi, i valori di consumo riportati in letteratura variano in un ampio intervallo, compreso tra 0.8 kWh kgN^{1} e 2 kWh kgN^{1} (Tab.4), aspetto questo prevalentemente riconducibile all'efficienza di trasferimento dei dispositivi di aerazione e, probabilmente, alle necessità di miscelazione o di portata d'aria da fornire per la buona funzionalità dei sistemi.
Per sistemi DEMON®, Wett et al. (2010) riporta un valore operativo di 1,2 kWh kgN^{1}. Si tratta di valori comunque inferiori a quelli tipici dei processi convenzionali N/DN sui surnatanti della linea fanghi (ad es.: quello installato e funzionante presso l'impianto di Ingolstadt, G, in parallelo al SBR-PN/anammox descritto in precedenza) dell'ordine di circa 4,0 kWh $kg\text{-}N^{-1}$ (Wett et al., 2010). Da questi dati si conferma comunque quanto già teoricamente ricavabile dalla stechiometria, ovvero un risparmio di almeno il 50% dei consumi rispetto al processo di nitrificazione e denitrificazione convenzionale.

7 STRATEGIE DI CONTROLLO

Si riporta di seguito una breve rassegna dei diversi tipi di controllo implementati nei sistemi in scala reale.
Monitoraggio online e controllo automatizzato sono aspetti importanti nel funzionamento di qualsiasi tipo di sistema PN/anammox. Lo scopo del controllo di processo è quello di fornire all'operatore una strategia stabile, affidabile e robusta per gestire il sistema PN/anammox con il minor grado possibile di intervento manuale. La Tabella 5 riassume le modalità di controllo utilizzate negli impianti PN/anammox esaminati, indicando quale segnale viene utilizzato per scopi di monitoraggio o controllo.
Le misure più comunemente utilizzate sono il pH e la concentrazione di ossigeno disciolto, eventualmente integrate da misure di potenziale redox (in ridondanza per l'ossigeno disciolto, specie alle

bassissime concentrazioni di set-point adottate) e di conducibilità (in ridondanza o sostituzione delle misure di concentrazione di ammonio).
Un sistema di controllo basato sul solo valore dell'ossigeno disciolto può essere fuorviante, in quanto non può garantire una buona correlazione con il tasso di conversione del substrato o con il tasso di attività microbica. Pertanto, il monitoraggio della portata d'aria in combinazione con la misura delle specie azotate sembra quello che dà le maggiori garanzie per un controllo affidabile del processo (Joss et al., 2011), in particolare nei casi in cui si riscontri accumulo di azoto nitrico oltre la soglia fisiologica del processo anammox (0,11 moli di NO_3^- prodotto per mole di NH_4^+ rimosso, v. equazione 2).

7.1 Valori-soglia (setpoint) tipici per il controllo di processo

Dalla precedente Tabella 5 si è già visto che i controlli online sull'ossigeno disciolto e il pH sono i più frequenti nei sistemi PN/anammox. La Tabella 5 fornisce i set-point utilizzati per ossigeno disciolto e pH (dove previsto). I valori-soglia tipici nei sistemi SBR tipo DEMON® sono di 0,2–0,3 $mgO_2\ L^{-1}$, ma si tratta di valori e impostazioni molto simili in tutti i processi, motivati dalla necessità di garantire la predominanza degli AOB sugli NOB e di evitare l'inibizione da ossigeno dei batteri anammox.
Ciononostante, per mantenere i valori-soglia impostati, le strategie di controllo dell'aerazione possono essere molto diverse. Ad esempio, si può adottare l'aerazione intermittente temporizzata, con durata dei periodi di spegnimento che varia notevolmente, passando da 8-12 min di accensione, a 220 min di pausa. La gestione dell'impianto di Ingolstadt è basata su una rigida aerazione intermittente, con un segnale a scalino caratterizzato da 6 min acceso e 9 min spento e con limite inferiore dell'ossigeno disciolto di 0,8 $mgO_2\ L^{-1}$ e superiore di 1,0 $mgO_2\ L^{-1}$. Il sistema SBR di Zurigo segue un semplice schema di aerazione continua, con un valore-soglia di ossigeno disciolto di appena 0,05 $mgO_2\ L^{-1}$. Anche altri SBR, ad esempio quello di Gütersloh (Germania), operano con aerazione continua, ma con più alti valori-soglia dell'ossigeno disciolto (0,5 $mgO_2\ L^{-1}$). I sistemi basati su biofilm impiegano concentrazioni di OD leggermente più elevate con valori fino a 1,5 $mgO_2\ L^{1}$. A quanto emerge dai dati raccolti da Lackner et al. (2014), il controllo del pH è implementato solo nel DEMON®-SBR e in uno dei sistemi che impiegano biomassa granulare. Il controllo del pH nel sistema DEMON®, tuttavia, è in funzione principalmente per evitare il completo esaurimento dell'ammonio attraverso la regolazione dell'alimentazione e non è pensato per evitare la limitazione da CO_2 quale substrato carbonioso inorganico per la sintesi dei batteri autotrofi. La maggior parte delle strategie di gestione, infatti, si basa sul fatto che il digestato fornisca alcalinità/capacità tampone sufficiente per mantenere un pH stabile ed evitare condizioni di CO_2 limitante per la biomassa. Processi PN/anammox in cui vengano alimentati flussi con concentrazioni di azoto ammoniacale di 2-3 $g\text{-}N\ L^{-1}$, richiederanno con ogni probabilità sistemi aggiuntivi di controllo del pH.

8 NUOVI CAMPI DI APPLICAZIONE E SVILUPPI FUTURI

Negli ultimi anni diversi nuovi campi di applicazione per il processo anammox sono stati proposti da gruppi di ricerca internazionali e, in alcuni casi, incoraggianti risultati sperimentali a scala pilota fanno pensare ad una possibile applicabilità a scala reale su reflui ulteriori rispetto a quelli già trattati in impianti a scala reale. Si esaminano quindi in questo capitolo, senza pretesa di esaustività, i più recenti risultati riportati in letteratura in relazione a:

- trattamento del percolato di discarica;
- trattamento della frazione liquida di digestati di scarti agrozootecnici.

Si tratta di sperimentazioni che hanno avuto un impulso più prettamente ingegneristico nel tentativo di allargare ad altre tipologie di refluo un processo che è ormai a tutti gli effetti parte dello stato dell'arte.
Anche lo studio della rimozione dell'azoto dalla linea acque di impianti di depurazione civili riceve molto interesse nella comunità scientifica e ciò sarà trattato nel paragrafo 8.3. La depurazione civile porta infatti un contributo non trascurabile ai consumi energetici complessivi delle diverse attività antropiche e vi è pertanto l'esigenza di ripensare lo schema depurativo convenzionale, tutt'ora in uso prevalente dopo 100 anni dalla sua ideazione, al fine di ridurre significativamente i consumi energetici e relative emissioni di gas climalteranti, secondo filiere capaci di massimizzare il recupero energetico dalla sostanza organica biodegradabile e di rimuovere l'azoto per via completamente autotrofa (Alvarez et al., 2008; Jetten et al., 1997; Joss et al., 2009; Kartal et al., 2010a; Wett, 2007). Devono ancora essere affrontati e risolti problemi di natura pratica e gestionale, quali, soprattutto, le modalità per compensare la bassissima attivi-

tà batterica anammox alla temperature invernali (≤10 °C).
Vi sono infine ricerche che prendono spunto da recenti scoperte nel campo della fisiologia batterica e che ne hanno allargato lo spettro di applicazione ad altri tipi di substrati o a nuove combinazioni di processo. Pur essendo ancora alla scala di laboratorio, si sono aperte interessanti prospettive di ricerca per processi di rimozione di (si veda Hu et al., 2013a per i riferimenti bibliografici):

- ammonio e metano con riduzione del nitrito;
- nitrato con ossidazione di acidi organici;
- ossidi di azoto gassosi con ossidazione dell'ammonio.

8.1 Trattamento del percolato di discarica

Il gruppo LEQUIA dell'Università di Girona ha studiato e sviluppato a partire dal 2007 l'applicazione del processo di nitritazione parziale e anammox (in 2 reattori separati) per il trattamento di percolati di discariche vecchie, caratterizzati da bassi valori del rapporto C/N (Ganigué et al., 2007). Il processo, denominato PANAMMOX, è a due stadi: un primo stadio di nitritazione parziale in reattore SBR, seguito da un reattore Anammox granulare di tipo SBR. A scala pilota sono stati raggiunti un'efficienza di rimozione dell'azoto del 90% ed un tasso di rimozione dell'azoto di 0,78 kgN m^{-3} d^{1}. Nel successivo passaggio alla scala pilota (V = 400 L) il carico è stato gradualmente portato in 160 giorni fino a 0,4 kgN m^{-3} d^{1} raggiungendo un'efficienza di rimozione dell'azoto del 90% (Ruscalleda, 2012). Su queste basi, è in corso l'avviamento del primo impianto anammox a scala reale del volume di 40 m^3 per il trattamento di percolato presso la discarica di Corsa, vicino a Barcellona (Ruscalleda, comunicazione personale). Altre applicazioni del processo anammox a scala di laboratorio sono state svolte in Cina con simili risultati (Liu et al., 2010; Xu et al., 2010) e studi preliminari in Italia (Langone et al., 2012).

8.2 Trattamento di digestati agrozootecnici

La digestione anaerobica è un processo che si è sviluppato notevolmente negli ultimi anni per il trattamento di liquami zootecnici, biomasse e sottoprodotti agricoli, grazie a un conveniente sistema di incentivi per l'immissione in rete di energia elettrica da cogenerazione. La frazione liquida del digestato è ricca di ammonio e il suo spandimento sul suolo agricolo è regolato dalla direttiva europea sui nitrati 91/676/CEE e le conseguenti normative nazionali e regionali. In particolare in zone di allevamenti intensivi, quali la Pianura Padana, la disponibilità di SAU (Superficie Agricola Utile) è inferiore al necessario per lo spandimento. Di conseguenza è molto elevata l'attenzione verso processi più economici per la riduzione del contenuto di azoto in questo tipo di digestati quali il processo anammox (Magrì et al., 2013; Scaglione et al., 2013b).
Test a scala laboratorio con anammox su reflui zootecnici sono stati condotti negli Stati Uniti (Vanotti et al., 2007; Magrì et al., 2012), Corea (Dong e Tollner, 2003; Ahn et al., 2004; Choi et al., 2004; Hwang et al., 2005) Giappone (Yamamoto et al., 2008) e Europa (Molinuevo et al., 2009). Le sperimentazioni sono state svolte con carichi applicati tra 0,4 e 4 kgN m^{-3} d^{-1} raggiungendo efficienze di rimozione massime del 90%, ma applicando diluizioni variabili da 1:10 a 1:2 con acqua o facendo precedere il processo da intensivi pre-trattamenti.
Nel progetto BRAIN, condotto dal Politecnico di Milano e dall'Università di Firenze (Lotti et al., 2012a; Cordola et al., 2012:, Canziani et al., 2012; Scaglione et al., 2013a; Scaglione et al., 2013b) e finanziato dal Ministero delle Politiche Agricole e Forestali (Mipaaf), la frazione liquida di un digestato misto di fanghi suinicoli, pollina, e colture energetiche e di altri scarti zootecnici è stata trattata per oltre 350 giorni a scala laboratorio e pilota, su reattori a doppio stadio SBR, ottenendo un'efficienza di rimozione media dell'azoto del 93% ad un carico medio applicato di 0.5 kgN m^{-3} d^{-1} (Scaglione et al., 2013a) e dimostrando così la trattabilità di tale digestato, anche senza diluizione (oltre 100 giorni a scala laboratorio). Nel corso della stessa sperimentazione è stata inoltre dimostrata l'applicabilità sullo stesso refluo del processo di nitrificazione-denitrificazione, arrestato a nitrito (DENO2) (Canziani et al., 2012; Scaglione et al., 2013b).

8.3 Rimozione dell'azoto dalla linea acque di impianti civili di depurazione

A tutt'oggi le applicazioni alla scala reale riportate in letteratura si riferiscono a processi che operano a temperature superiori a 25°C e concentrazioni di azoto ammoniacale in ingresso superiori a 0,2 gN L^{-1}, caratteristiche dunque alquanto diverse da quelle medie tipiche dei reflui urbani (Van Hulle et al., 2010; Lackner et al., 2014).
D'altra parte, l'applicazione a scala reale del processo anammox a temperature e concentrazioni inferiori, tipiche delle acque di rifiuto urbane, aprirebbe la prospettiva di abbattere significativamente i consumi energetici degli impianti di depurazione municipali (Kartal et al., 2010a).

Il limite principale di applicabilità risiede nell'ottenere un processo ad alto tasso di rimozione specifico, che consenta di mantenere la biomassa nel sistema anche a basse concentrazioni e basse temperature (8-20°C).
Recentemente, alcuni passi importanti sono stati compiuti verso l'applicazione del processo anammox in questo intervallo di temperatura (De Clieppeleir et al., 2013; Hu et al., 2013b; Hendrickx et al., 2014; Lotti et al., 2014b, 2014c, 2014d).
In primo luogo è stato dimostrato che un SBR monostadio a scala di laboratorio su refluo sintetico, con biomassa sviluppatasi a 25°C, si è adattato in dieci giorni a operare a 12°C. Dopo oltre 300 giorni di funzionamento non si è osservato alcun accumulo di nitrito, né si è osservata alcuna significativa attività NOB, pur mantenendo, a 12°C, una efficienza di rimozione stabile del 90% dell'azoto in ingresso (Hu et al., 2013b). De Clippeleir et al. (2013) hanno gestito un biodisco alimentato con un refluo sintetico a basse concentrazioni di ammonio, fino a temperature di 15°C, ottenendo ratei di rimozione dell'azoto in ingresso di circa 0,5 kgN m^{-3} d^{-1} e dimostrando la fattibilità del processo mono-stadio a queste temperature seppur con efficienze di rimozione inferiori al 50%. Hendrickx et al. (2014) sono riusciti ad arricchire biomassa anammox a 10 °C, partendo da inoculi prelevati da comuni impianti a fanghi attivi. Lotti et al. (2014b) hanno dimostrato, in un reattore a scala laboratorio (SBR gas-lift), la fattibilità dell'applicazione di un processo mono-stadio con biomassa granulare per il trattamento di un refluo sintetico con basse concentrazioni di ammonio (60-160 mgN L^{-1}) e a temperature operative comprese tra i 10 e i 20 °C, ottenendo elevate efficienze e alti tassi di rimozione (0.44 e 0.4 g-N/L/d con efficienze del 83 e 76%, rispettivamente a 20 e 15 °C). Ulteriori sviluppi di questa ricerca, condotti usando refluo civile reale a valle di un trattamento aerobico spinto del BOD, hanno dimostrato, a scala laboratorio, la capacità della biomassa anammox di crescere e formare granuli tra i 20 e i 10 °C (Lotti et al., 2014c) e, a scala pilota (4 m^3), la fattibilità del processo PN + anammox mono-stadio alla temperatura di 20 °C (Lotti et al., 2014d). Un altro passaggio obbligato verso l'implementazione in scala reale sarà la messa a punto di una strategia di processo a lungo termine atta a controbilanciare le fluttazioni della temperatura durante l'anno. Quest'ultime infatti, in climi tipici della zona temperata, con ampia escursione termica annuale (fino a 25˚C in estate e fino ad 8˚C in inverno), potrebbero causare uno sbilanciamento delle attività dei diversi ceppi microbici (i.e. AOB e anammox) con conseguente destabilizzazione del processo (Lotti et al., 2014e).
La ricerca è ora orientata, mediante sperimentazioni su impianto pilota e a scala reale, alla definizione dei criteri di dimensionamento e di progettazione e delle modalità di conduzione e controllo del processo, per renderlo affidabile anche in condizioni invernali.

8.4 Rimozione combinata di ammonio e metano

Come visto in precedenza, molti dei sistemi PN/anammox mono-stadio in scala reale sono applicati su effluenti da digestione anaerobica (Van der Star et al., 2007; Abma et al., 2010). Benchè la frazione prevalente del metano prodotto in digestione sia raccolto come biogas ed utilizzato come combustibile, permane nell'effluente del metano disciolto. Questa rappresenta una frazione di quello prodotto, crescente al ridursi della concentrazione di COD rimosso e della temperatura di digestione. Nel trattamento anaerobico di reflui a bassa concentrazione influente (< 5 gCOD L^{-1}) e con alta resa degradativa, questa frazione può essere dell'1-2% e, rilasciata poi nell'atmosfera, portare un contributo all'effetto serra. E' recente la scoperta di batteri denominati *n-damo* (Ettwig et al., 2008), che ossidano il metano con riduzione del nitrito e due colture di arricchimento contenenti batteri n-damo e anammox, sono state segnalate per essere in grado di rimuovere contemporaneamente ammonio e metano, utilizzando il nitrito dosato esternamente come accettore di elettroni (Luesken et al., 2011; Zhu et al., 2011).

8.5 Rimozione del nitrato accoppiata all'ossidazione di acidi organici

I microrganismi anammox producono dell'azoto nitrico, come conseguenza dell'ossidazione del nitrito a nitrato, necessaria per disporre degli elettroni necessari alla sintesi del carbonio organico a partire da carbonio inorganico (reazione anabolica). Di conseguenza, come visto, il nitrato è sempre presente nell'effluente di un processo anammox, in ragione di circa 0,11 moli prodotte per mole di ammoniaca rimossa. Recentemente, è stato dimostrato che tutte le specie conosciute di microrganismi anammox, per soddisfare i propri fabbisogni energetici (reazioni cataboliche), sono anche in grado di ossidare substrati organici (ad es.: formato, ace-

tato, propionato, metilamine), con simultanea riduzione di nitrato e/o nitrito ad azoto molecolare gassoso (N_2) (Güven et al., 2005; Kartal et al., 2007a; Kartal et al., 2007b; Kartal et al., 2008; Winkler et al., 2012). Ciò implicherebbe che il processo anammox potrebbe essere sfruttato anche per rimuovere l'azoto nitrico residuo derivante da un primo processo anammox.

8.6 Rimozione autotrofa di NO con ossidazione dell'ammonio

E' stato recentemente dimostrato che i microrganismi anammox sono capaci di rimuovere il monossido di azoto disciolto (NO, Kartal et al., 2010b), non convertendolo a N_2O, come i batteri denitrificanti eterotrofi (Fux and Siegrist, 2004), ma riducendolo ad azoto gassoso (N_2), con contestuale ossidazione dello ione ammonio: una mole di NO e una mole di ammonio vengono rimossi per formare una mole di N_2.
In un reattore a scala di laboratorio, alimentando biomassa anammox con un carico di monossido di azoto pari a 300 mgN d^{-1}, il 20% dell'NO alimentato (NO gassoso dosato nello spazio di testa) è stato rimosso. In totale, il 4.5 % della concentrazione di ammonio è stata rimossa secondo questo percorso metabolico, senza formazione apprezzabile di N_2O (Kartal et al., 2010b). Questa reazione potrebbe avere un potenziale interesse per rimuovere il monossido di azoto dai gas di combustione.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

In questa rassegna si sono illustrate le principali applicazioni del processo anammox già in essere, specificamente per il trattamento dei surnatanti dei processi di trattamento dei fanghi e di altre correnti liquide caratterizzate da bassi rapporti C:N e alte concentrazioni di ammoniaca, senza necessità di aggiungere altri substrati carboniosi e con un consistente risparmio energetico.
Tutte le tecnologie citate sono in grado di operare con notevoli efficienze e tassi di rimozione, anche se ognuna può presentare problemi operativi, a causa soprattutto delle peculiarità della biomassa anammox, caratterizzata da tassi di crescita piuttosto bassi e da un'acuta sensibilità all'ossigeno disciolto. Inoltre si sa ancora poco sui fattori che ne inibiscono l'attività o sull'influenza della carenza di alcuni elementi nutritivi. La attenta caratterizzazione dell'alimento e delle condizioni locali è un fattore determinante per una efficace applicazione di queste tecnologie. Dal punto di vista ingegneristico, la ricerca applicata si rivolge all'ottimizzazione delle condizioni operative, con particolare riguardo alla concentrazione di solidi sospesi in ingresso e nel reattore e a ulteriori possibilità di automazione del controllo di processo.
Non deve neppure essere trascurata la valutazione delle emissioni di protossido di azoto, soprattutto comparandole a quelle dei trattamenti convenzionali, per valutarne l'effettiva riduzione dell'impatto ambientale, in termini di produzione di gas serra.
La chiave del successo di questa tecnologia sta soprattutto nei rilevanti risparmi nei costi operativi, resi possibili dalla drastica riduzione del fabbisogno di aerazione e dalla assenza del fabbisogno di sostanza organica, tipico della denitrificazione eterotrofa.
Entro il 2015 il processo PN/anammox sarà presente in oltre 100 impianti a scala reale; è da considerare ormai maturo in alcuni ambiti, quali il trattamento dei surnatanti da digestione fanghi, ambiti nei quali è ragionevole aspettarsi una rapida ed ulteriore crescita.
I risultati di recenti e numerose sperimentazioni a scala di laboratorio e pilota prospettano inoltre la sua potenziale diffusione, a breve, ad altre tipologie di reflui quali il percolato e le frazioni liquide di digestati da frazione organica dei rifiuti o da substrati agro-zootecnici e agro industriali, mentre scenari – quali quello della applicazione diretta ai reflui municipali – risultano di frontiera e richiedono ancora notevoli sforzi di ricerca applicata e sviluppo.
Recentissimi ed emergenti studi sui nuovi percorsi metabolici che i microrganismi anammox possono mettere in atto evidenziano la versatilità di questi straordinari attori del ciclo dell'azoto in natura e rappresentano un potenziale in gran parte inesplorato. Evidenziano poi come la comprensione della fisiologia dei microorganismi sia di grande aiuto nello sviluppo di nuovi progressi scientifici e tecnici, nel campo del trattamento delle acque di rifiuto come in molti altri. D'altra parte, la ricerca di processi di trattamento più sostenibili promuoverà a sua volta gli sforzi di ricerca negli studi della fisiologia dei microrganismi (Furukawa et al., 2006; Hippen et al., 1997; Kuai and Verstraete, 1998).

BIBLIOGRAFIA

Abma WR, Driessen W, Haarhuis R et al. (2010) Upgrading of sewage treatment plant by sustainable and cost-effective separate treatment of industrial wastewater. Water Science and Technology 61(7): 1715-1722.

Ahn YH, Hwang IS and Min KS (2004) ANAMMOX and partial denitritation in anaerobic nitrogen removal from piggery waste. Water Science Technology 49(5-6): 145-153.

Àlvarez JA, Armstrong E, Gòmez M et al. (2008) Anaerobic treatment of low-strength municipal wastewater by a two-stage pilot plant under psychrophilic conditions. Bioresource Technology 99(15): 7051-7062.

Arrigo KR (2005) Marine microorganisms and global nutrient cycles. Nature 437(7057): 349-355.

ATV (1997) Biologische und weitergehende Abwasserreinigung. Berlin: ATV.

Barnes D and Bliss PJ (1983) Biological Control of Nitrogen in Wastewater Treatment. London: E. & F.N. Spon.

Bettazzi E, Caffaz S, Vannini C et al. (2010) Nitrite inhibition and intermediates effects on Anammox bacteria: A batch-scale experimental study. Process Biochemistry 45(4): 573-580.

Broda E (1977) Two kinds of lithotrophs missing in nature. Zeitschrift für allgemeine Mikrobiologie 17(6): 491-493.

Caffaz S, Bettazzi E, Scaglione D et al. (2008) An integrated approach in a municipal WWTP: anaerobic codigestion of sludge with organic waste and nutrient removal from supernatant. Water Science and Technology 58(3): 669-676.

Caffaz S, Canziani R, Lubello C et al. (2005) Upgrading of Florence wastewater treatment plant: co-digestion and nitrogen autotrophic removal. Water Science and Technology 52(4): 9-17.

Caffaz S, Lubello C, Canziani R et al. (2006) Autotrophic nitrogen removal from anaerobic supernatant of Florence's WWTP digesters. Water Science and Technology 53(12): 129-137.

Canziani R, Ficara E, Scaglione D et al. (2012) Autotrophic nitrogen removal from digested agro-wastes. In: Proceedings of the International Symposium of Sanitary and Environmental Engineering, 9th Ed. (SIDISA 2012), Sustainable Technology for Environmental Protection, IWA International Session on "Autotrophic Nitrogen Removal: from Research to Applications", 26-29 June. Centro Congressi Fondazione CARIPLO, Milan: ANDIS.

Choi E, Eum Y, Gil KI et al. (2004) High strength nitrogen removal from nightsoil and piggery wastes. Water Science Technology 49(5-6): 97-104.

Chick H (1906) A Study of the Process of Nitrification with Reference to the Purification of Sewage. Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character 77(517): 241-266.

Christensson M, Ekstrom S, Lamaire R et al. (2011) ANITA Mox - a biofarm solution for fast start-up of deammonifying MBBRs. In: Proceedings of the 84th Annual Water Environment Federation Technical Exhibition and Conference (WEFTEC), 15-19 October. Los Angeles Convention Center, Los Angeles: WEF.

Cordola M, Caretti C, D'Aniello M et al. (2012) Feasibility of swine manure digestion effluent treatment by anammox granular gaslift reactor. In: Proceedings of the International Symposium of Sanitary and Environmental Engineering, 9th Ed. (SIDISA 2012), Sustainable Technology for Environmental Protection, International IWA Session on "Autotrophic Nitrogen Removal: from Research to Applications", 26-29 June. Centro Congressi Fondazione CARIPLO, Milan: ANDIS.

Damsté SJS, Strous M, Rijpstra WIC et al. (2002) Linearly concatenated cyclobutane lipids form a dense bacterial membrane. Nature 419(6908): 708-712.

Dapena-Mora A, Fernàndez I, Campos JL et al. (2007) Evaluation of activity and inhibition effects on Anammox process by batch tests based on the nitrogen gas production. Enzyme and Microbial Technology 40(4): 859-865.

De Clippeleir H, Vlaeminck SE, De Wilde F et al. (2013) One-stage partial nitritation/anammox at 15 °C on pretreated sewage: feasibility demonstration at lab-scale. Applied Microbiology and Biotechnology 97(23): 10199-210.

De Graaff MS, Temmink H, Zeeman G et al. (2011) Autotrophic nitrogen removal from black water: Calcium addition as a requirement for settleability. Water Research 45(1): 63-74.

Desloover J, Clippeleir HD, Boeckx P et al. (2011) Floc-based sequential partial nitritation and anammox at full scale with contrasting N_2O emissions. Water Research 45(9): 2811-2821.

Dong X, Tollner EW (2003) Evaluation of Anammox and denitrification during anaerobic digestion of poultry manure. Bioresource Technology 86(2): 139-145.

Ettwig KF, Shima S, Van De Pas-Schoonen KT et al. (2008) Denitrifying bacteria anaerobically oxidize methane in the absence of Archaea. Environmental Microbiology 10(11): 3164-3173.

Fernández I, Mosquera-Corral A, Campos JL et al. (2009) Operation of an Anammox SBR in the presence of two broad-spectrum antibiotics. Process Biochemistry 44(4): 494-498.

Furukawa K, Lieu PK, Tokitoh H et al. (2006) Development of single-stage nitrogen removal using anammox and partial nitritation (SNAP) and its treatment performances. Water Science and Technology 53(6): 83-90.

Fux C and Siegrist H (2004) Nitrogen removal from sludge digester liquids by nitrification/denitrification or partial nitritation/anammox: environmental and economical considerations. Water Science and Technology 50(10): 19-26.

Ganigué R, López H, Balaguer M D et al. (2007) Partial ammonium oxidation to nitrite of high ammonium content urban landfill leachates. Water Res. 41(15), 3317–3326.

Güven D, Dapena A, Kartal B, et al. (2005) Propionate Oxidation by and Methanol Inhibition of Anaerobic Ammonium-Oxidizing Bacteria. Applied and Environmental Microbiology 71(2): 1066-1071.

Hao X, Heijnen JJ and van Loosdrecht MCM (2002) Model-based evaluation of temperature and inflow va-

riations on a partial nitrification-ANAMMOX biofilm process. Water Research 36(19): 4839-4849.

Hartwig P, Dahlendorf F, Schneider W-U (2009) Erfahrungen mit dem PANDA-Verfahren auf den Klaranlagen RhedaWiedenbruck und Weißenfels. In: 7. Aachener Tagung. Stickstoffru¨ ckbelastung. Hannover.

Hellinga C, Schellen AAJC, Mulder JW, et al. (1998) The sharon process: An innovative method for nitrogen removal from ammonium-rich waste water. Water Science and Technology 37(9): 135-142.

Hendrickx TLG, Kampmana C, Zeeman G, et al. (2014) High specific activity for anammox bacteria enriched from activated sludge at 10 °C. Bioresource Technology 163: 214-221.

Henze M, Gujer W, Matsuo T et al. (2000) Activated Sludge Models ASM1, ASM2, ASM2d and ASM3. Scientific and Technical Reports. London: IWA Publishing.

Hippen A, Rosenwinkel K, Baumgarten G and Seyfried CF (1997) Aerobic deammonification: A new experience in the treatment of waste waters. Water Science and Technology 35(10): 111-120.

Hu Z, Lotti T, van Loosdrecht MCM and Kartal B (2013a) Nitrogen removal with the anaerobic ammonium oxidation process. Biotechnology Letters 35(8): 1145-1154.

Hu Z, Lotti T, de Kreuk M, Kleerebezem R, et al. (2013b) Nitrogen removal by a nitritation-anammox bioreactor at low temperature. Applied and Environmental Microbiology 79(8): 2807-2812.

Hwang LS, Min KS, Choi E et al. (2005) Nitrogen removal from piggery waste using the combined SHARON and ANAMMOX process. Water Science Technology 52(10–11): 487–494.

Jaroszynski LW and Oleszkiewicz JA (2011) Autotrophic ammonium removal from reject water: partial nitrification and anammox in one-reactor versus two-reactor systems. Environmental Technology 32(3-4): 289-294.

Jeanningros Y, Vlaeminck SE, Kaldate A, et al. (2010) Fast start-up of a pilot-scale deammonification sequencing batch reactor from an activated sludge inoculum. Water Science and Technology 61(6): 1393-1400.

Jetten MSM, Camp HJMOD, Kuenen JG et al. (2010) Description of the order brocadiales, in: The Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes (Mollicutes), Acidobacteria, Fibrobacteres, Fusobacteria, Dictyoglomi, Gemmatimonadetes, Lentisphaerae, Verrucomicrobia, Chlamydiae, and Planctomycetes. In: Krieg NR, Staley JT, Hedlund BP, Paster BJ, Ward N, Ludwig W et al. (eds) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Springer, 596–603.

Jetten MSM, Horn SJ and van Loosdrecht MCM (1997) Towards a more sustainable municipal wastewater treatment system. Water Science and Technology 35(9): 171-180.

Jin R-C, Yang G-F, Yu J-J, Zheng P (2012) The inhibition of the Anammox process: A review. Chemical Engineering Journal 197: 67-79.

John K (2010). Kläranlage Rinteln setzt auf SB-Reaktor mit TERRANA!. Wasserlinse, 4-5.

John K (2012) Großtechnische Anlagen zur Deammonifikation unter anderem mit Einsatz von Bentonit als Tragermaterial. In: 8. Aachener Tagung. Stickstoffru - ckbelastung.

Joss A, Derlon N, Cyprien C et al. (2011) Combined nitritation-anammox: advances in understanding process stability. Environmental Science and Technology 45(22): 9735-9742.

Joss A, Salzgeber D, Eugster J, et al. (2009) Full-scale nitrogen removal from digester liquid with partial nitritation and anammox in one SBR. Environmental Science and Technology 43(14): 5301-5306.

Kampschreur MJ, Poldermans R, Kleerebezem R, et al. (2009) Emission of nitrous oxide and nitric oxide from a full-scale single-stage nitritation-anammox reactor. Water Science and Technology 60(12): 3211-3217.

Kampschreur MJ, van der Star WRL, Wielders HA et al. (2008) Dynamics of nitric oxide and nitrous oxide emission during full-scale reject water treatment. Water Research 42(3): 812-826.

Kartal B, de Almeida NM, Maalcke WJ et al. (2013) How to make a living from anaerobic ammonium oxidation. FEMS Microbiol Reviews 37(3): 428-461.

Kartal B, Koleva M, Arsov R et al. (2006) Adaptation of a freshwater anammox population to high salinity wastewater. Journal of Biotechnology 126(4): 546-553.

Kartal B, Maalcke WJ, de Almeida NM et al. (2011a) Molecular mechanism of anaerobic ammonium oxidation. Nature 479:127–130.

Kartal B, Kuenen JG and van Loosdrecht MCM (2010a) Sewage Treatment with Anammox. Science 328(5979): 702-703.

Kartal B, Kuypers MMM, Lavik G et al. (2007a) Anammox bacteria disguised as denitrifiers: nitrate reduction to dinitrogen gas via nitrite and ammonium. Environ Microbiology 9(3): 635-642.

Kartal B, Geerts W and Jetten MSM (2011b) Cultivation, detection and ecophysiology of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria. Methods in enzymology 486: 89-108.

Kartal B, Rattray J, van Niftrik LA et al. (2007b) Candidatus „Anammoxoglobus propionicus" a new propionate oxidizing species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria. Systematic and applied microbiology 30(1): 39-49.

Kartal B, Tan NCG, Van de Biezen E et al. (2010b) Effect of nitric oxide on anammox bacteria. Applied and environmental microbiology 76: 6304–6306.

Kartal B, van Niftrik L, Rattray J et al. (2008) Candidatus ‚Brocadia fulgida': an autofluorescent anaerobic ammonium oxidizing bacterium. FEMS Microbiol Ecology 63(1): 46-55.

Kormelinck G (2012) Großtechnische Anlagen zur Deammonifikation im ANAMMOX!-Verfahren. In: 8. Aachener Tagung. Stickstoffru – ckbelastung. Heidelberg.

Kuai L and Verstraete W (1998) Ammonium Removal by the Oxygen-Limited Autotrophic Nitrification-Denitri-

fication System. Applied and Environmental Microbiology 64(11): 4500-4506.

Kuenen JG (2008) Anammox bacteria: from discovery to application. Nature Reviews Microbiology 6(4): 320-326.

Lackner S, Gilbert EM, Vlaeminck SE et al. (2014) Full-scale partial nitritation/anammox experiences-an application survey. Water Research 55 292-303.

Lackner S, Terada A and Smets BF (2008) Heterotrophic activity compromises autotrophic nitrogen removal in membrane-aerated biofilms: results of a modeling study. Water Research 42(4-5): 1102-1112.

Lam P and Kuypers MMM (2011) Microbial Nitrogen Cycling Processes in Oxygen Minimum Zones. Annual Review of Marine Science 3(1): 317-345.

Langone M and Andreottola G (2012) Application of the SNAD process to Municipal Solid Waste leachate. In: Proceedings of the International Symposium of Sanitary and Environmental Engineering, 9th Ed. (SIDISA 2012), Sustainable Technology for Environmental Protection, International IWA Session on "Autotrophic Nitrogen Removal: from Research to Applications", 26-29 June. Centro Congressi Fondazione CARIPLO, Milan: ANDIS.

Langone M, Yan J, Haaijer SCM, Op Den Camp HJM, Jetten M and Andreottola G (2014) Coexistence of nitrifying, anammox and denitrifying bacteria in a sequencing batch reactor. Frontiers in Microbiology 5(28): 1-12.

Ling D (2009) Experience from commissioning of full-scale DeAmmon plant at Himmerfja ¨rden (Sweden). In: Proceedings of the 2nd IWA Specialized Conference on Nutrient Management in Wastewater Treatment Processes, 6-9 September. Krakow: IWA.

Liu C, Yamamoto T, Nishiyama T et al. (2009) Effect of salt concentration in anammox treatment using non-woven biomass carrier. Journal of Bioscience and Bioengineering 107(5): 519-523.

Liu J, Zuo J, Yang Y et al. (2010) An autotrophic nitrogen removal process: Short-cut nitrification combined with ANAMMOX for treating diluted effluent from an UASB reactor fed by landfill leachate. Journal of Environmental Sciences 22(5): 777-783.

Lotti T, Caffaz S and Lubello C (2009) Modeling of anaerobic ammonia oxidizing and heterotrophic bacteria growth in a sequencing batch reactor. In: Proceedings of the 2nd IWA Specialized Conference on Nutrient Management in Wastewater Treatment Processes, 6-9 September. Krakow: IWA.

Lotti T, Cordola M, Kleerebezem R et al. (2012a) Inhibition effect of swine wastewater heavy metals and antibiotics on anammox activity. Water Science and Technology 66(7): 1519-1526.

Lotti T, van der Star WRL, Kleerebezem R et al. (2012b) The effect of nitrite inhibition on the anammox process. Water Research 46(8): 2559-2569.

Lotti T, Kleerebezem R, Lubello C et al. (2014a) Physiological and Kinetic Characterization of a Suspended Cell Anammox Culture. Water Res 60(14): 1-14.

Lotti T, Kleerebezem R, Hu Z, et al. (2014b) Simultaneous partial nitritation and anammox at low temperature with granular sludge. Water Research 66: 111-121.

Lotti T, Kleerebezem R, van Erp Taalman Kip C et al. (2014c) Anammox growth on pretreated municipal wastewater. Environmental Science and Technology 48 (14): 7874-7880.

Lotti T, Kleerebezem R, Hu Z, et al. (2014d) Pilot-scale evaluation of anammox based main-stream nitrogen removal from municipal wastewater. Environmental Technology. In Press.

Lotti T, Kleerebezem R, van Loosdrecht MCM (2014e) Effect of temperature change on anammox activity. Biotechnology and Bioengineering. In press. DOI 10.1002/bit.25333.

Luesken FA, Sànchez J, van Alen TA, et al. (2011) Simultaneous Nitrite-Dependent Anaerobic Methane and Ammonium Oxidation Processes. Applied and Environmental Microbiology 77(19): 6802-6807.

Magrì A, Béline F and Dabert P (2013) Feasibility and interest of the anammox process as treatment alternative for anaerobic digester supernatants in manure processing - An overview. Journal of Environment Management 131 (2013): 170-184.

Magrì A, Vanotti MB, Szögi AA (2012) Anammox sludge immobilized in polyvinyl alcohol (PVA) cryogel carriers . Bioresource Technology 114: 231-240.

Malamis S, Katsou E, Frison N et al. (2013) Start-up of the completely autotrophic nitrogen removal process using low activity anammox inoculum to treat low strength \{UASB\} effluent. Bioresource Technology 148(0): 467-473.

Mat ̈j ̈ V, ¨ižinskà S, Krej ̈ì J et al. (1992) Biological water denitrification--A review. Enzyme and Microbial Technology 14(3): 170-183.

Milia S, Perra M, Muntoni A et al. (2014) Partial nitritation of nitrogen-rich refinery wastewater (sour water) with different Ci/N molar ratios. Desalination and Water Treatment (in press).

Molinuevo B, Garcia MC, Karakashev D et al. (2009) Anammox for ammonia removal from pig manure effluents: Effect of organic matter content on process performance. Bioresource Technology 100(7): 2171-2175.

Mulder A (2003) The quest for sustainable nitrogen removal technologies. Water Science and Technology 48(1): 67-75.

Rosenwinkel K and Cornelius A (2005) Deammonification in the Moving-Bed Process for the Treatment of Wastewater with High Ammonia Content. Chemical Engineering and Technology 28(1): 49-52.

Rosenwinkel K-H, Cornelius A and Thöle D (2005) Full scale application of the deammonification process for the treatment of sludge water. In: Proceedings of the 2nd IWA Specialized Conference on Nutrient Management in Wastewater Treatment Processes, 6-9 September. Krakow: IWA, 483–491.

Ruscalleda BM (2012) Treatment of mature urban landfill leachates by anammox process. Doctoral dissertation, University of Girona.

Scaglione D, Caffaz S, Bettazzi E et al. (2009) Experimental determination of Anammox decay coefficient. Journal of Chemical Technology and Biotechnology 84(8): 1250-1254.

Scaglione D, Lotti T, Ficara E et al. (2010) Anammox enrichment in conventional sludge samples via a simple semi-batch procedure with activity measures. In: Proceedings of the IWA World Water Congress and Exhibition, 19-24 September. Montreal: IWA.

Scaglione D, Tornotti G, Teli A et al. (2013a) Advanced bioprocesses for N removal from the liquid fraction of co-digestated piggery/poultry manure and agro-wastes. In: Proceedings of the 13th World Congress on Anerobic Digestion: Recoverying (bio) Resources for the World, 25-28 June. Santiago de Compostela: IWA.

Scaglione D, Tornotti G, Teli A et al. (2013b) Nitrification denitrification via nitrite in a pilot-scale SBR treating the liquid fraction of co-digested piggery/poultry manure and agro-wastes. Chemical Engineering Journal 228(0): 935-943.

Schmid M, Walsh K, Webb R et al. (2003) Candidatus *Scalindua brodae*, sp. nov., Candidatus *Scalindua wagneri*, sp. nov., Two New Species of Anaerobic Ammonium Oxidizing Bacteria. Systematic and Applied Microbiology 26(4): 529-538.

Schröder KH (2009) Umrüstung eines Schlammstapelbehälters zur Nitrifikation von Prozesswasser auf der Kläranlage Gutersloh-Putzhagen. In: 7. Aachener Tagung. Stickstoffrückbelastung, Hannover.

Siegrist H, Reithaar S, Koch G et al. (1998) Nitrogen loss in a nitrifying rotating contactor treating ammonium-rich wastewater without organic carbon. Water Science and Technology 38(8-9): 241-248.

Siegrist H, Salzgeber D, Eugster J et al. (2008) Anammox brings WWTP closer to energy autarky due to increased biogas production and reduced aeration energy for N-removal. Water Science and Technology 57(3): 383-388.

Strous M, Fuerst JA, Kramer EHM et al. (1999) Missing lithotroph identified as new planctomycete. Nature 400(6743): 446-449.

Strous M, Heijnen JJ, Kuenen JG et al. (1998) The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms. Applied Microbiology and Biotechnology 50(5): 589-596.

Szatkowska B, Cema G, Plaza E et al. (2007) A one-stage system with partial nitritation and anammox processes in the moving-bed biofilm reactor. Water Science and Technology 55(8-9): 19-26.

Tang C, Zheng P, Chen T et al. (2011) Enhanced nitrogen removal from pharmaceutical wastewater using SBA-ANAMMOX process. Water Research 45(1): 201-210.

Third KA, Sliekers AO, Kuenen JG et al. (2001) The CANON System (Completely Autotrophic Nitrogen-removal Over Nitrite) under Ammonium Limitation: Interaction and Competition between Three Groups of Bacteria. Systematic and Applied Microbiology 24(4): 588-596.

Udert KM, Kind E, Teunissen M et al. (2008) Effect of heterotrophic growth on nitritation/anammox in a single sequencing batch reactor. Water Science and Technology 58(2): 277-284.

van der Star WRL, Abma WR, Blommers D et al. (2007) Startup of reactors for anoxic ammonium oxidation: Experiences from the first full-scale anammox reactor in Rotterdam. Water Research 41(18): 4149-4163.

van Dongen U, Jetten MS and van Loosdrecht MC (2001) The SHARON-Anammox process for treatment of ammonium rich wastewater. Water Science and Technology 44(1): 153-160.

van Hulle SWH, Vandeweyer HJP, Meesschaert BD et al. (2010) Engineering aspects and practical application of autotrophic nitrogen removal from nitrogen rich streams. Chemical Engineering Journal 162(1): 1-20.

van Loosdrecht MCM (2008) Innovative nitrogen removal. In: Henze M, van Loosdrecht MCM, Ekama GA and Brdjanovic D (eds) Biological wastewater treatment: principles, modelling and design. London: IWA Publishing, 139-155.

van Niftrik L and Jetten MSM (2012) Anaerobic ammonium-oxidizing bacteria: unique microorganisms with exceptional properties. Microbiology and molecular biology reviews 76(3): 585-596.

van Niftrik L, Geerts WJC, van Donselaar EG et al. (2008) Linking Ultrastructure and Function in Four Genera of Anaerobic Ammonium-Oxidizing Bacteria: Cell Plan, Glycogen Storage and Localization of Cytochrome c Proteins. Journal of Bacteriology 190(2): 708-717.

Vanotti MB, Szogi AA, Hunt PG et al. (2007) Development of environmentally superior treatment system to replace anaerobic swine lagoons in the USA. Bioresource Technology 98: 3184–3194.

Veuillet F, Lacroix S, Bausseron A, Gonidec E, Ochoa J, Christensson M, Lemaire (2013) IFAS ANITA™ Mox process - A new perspective for advanced N-removal. 9th IWA conference on Biofilm Reactors, Paris, France, May 2013.

Villegas JD, de Laclos HF, Dovat J et al. (2011) Nitrogen removal from digested manure in a simple one-stage process. Water Science and Technology 63(9): 1991-1996.

Vlaeminck SE, De Clippeleir H and Verstraete W (2012) Microbial resource management of one-stage partial nitritation/anammox. Microbial Biotechnology 5(3): 433-448.

Vlaeminck SE, Terada A, Smets BF et al. (2009) Nitrogen Removal from Digested Black Water by One-Stage Partial Nitritation and Anammox. Environmental Science & Technology 43(13): 5035-5041.

Volcke EIP, van Loosdrecht MCM and Vanrolleghem PA (2006) Controlling the nitrite:ammonium ratio in a SHARON reactor in view of its coupling with an Anammox process. Water science and technology 53(4-5): 45-54.

Weissenbacher N, Takacs I, Murthy S et al. (2010) Gaseous nitrogen and carbon emissions from a full-scale

deammonification plant. Water Environ Research 82(2): 169-175.

Wett B (2006) Solved upscaling problems for implementing deammonification of rejection water. Water Science and Technology 53(12): 121-128.

Wett B (2007) Development and implementation of a robust deammonification process. Water Science and Technology 56(7): 81-88.

Wett B, Hell M, Nyhuis G et al. (2010) Syntrophy of aerobic and anaerobic ammonia oxidisers. Water Science and Technology 61(8): 1915-1922.

Wiesmann U (1994) Biological nitrogen removal from wastewater. In: Fiechter A (ed) Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology, volume 5. Berlin: Springer-Verlag, 113-154.

Winkler MKH, Yang J, Kleerebezem R et al. (2012) Nitrate reduction by organotrophic Anammox bacteria in a nitritation/anammox granular sludge and a moving bed biofilm reactor. Bioresource Technology 114 217-223.

Xiao Y, Zeng GM, Yang ZH et al. (2009) Coexistence of nitrifiers, denitrifiers and Anammox bacteria in a sequencing batch biofilm reactor as revealed by PCR-DGGE. Journal of Applied Microbiology 106(2): 496-505.

Xu ZY, Zeng GM, Yang ZH et al. (2010) Biological Treatment of landfill leachate with the integration of partial nitrification, anaerobic ammonium oxidation and heterotrofic denitrification. Bioresource Technology 101(1): 79-86.

Yamamoto T, Takaki K, Koyama T et al. (2008) Long-term stability of partial nitritation of swine wastewater digester liquor and its subsequent treatment by Anammox. Bioresource Technology 99(14): 6419-6425.

Yan J, Haaijer SCM, Op den Camp HJM et al. (2012) Mimicking the oxygen minimum zones: stimulating interaction of aerobic archaeal and anaerobic bacterial ammonia oxidizers in a laboratory-scale model system. Environmental Microbiology 14(12): 3146-3158.

Zhu B, Sanchez J, van Alen TA et al. (2011) Combined anaerobic ammonium and methane oxidation for nitrogen and methane removal. Biochemical Society Transactions 39(6): 1822-1825.

Zumbrägel M, Abma WR, Schultz CE et al. (2006) Full scale granular sludge ANAMMOX process. In: 6. Aachener Tagung. Stickstoffrückbelastung. Aachen.

Ingeneria dell' Ambiente per il 2015 è sostenuta da: