

**DOTTORATO DI RICERCA IN
INGEGNERIA IDRAULICA E AMBIENTALE
XXIV Ciclo**



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI
PALERMO
Dipartimento di Ingegneria Civile,
Ambientale, Aerospaziale, dei
Materiali

Tutor:
Prof. Gaspare Viviani

Coordinatore del dottorato:
Prof. Enrico Napoli

Tesi per il conseguimento del titolo di
Dottore di Ricerca

**TECNICHE DI
BIORISANAMENTO DELLE
ACQUE DI FALDA
CONTAMINATE DA NITRATI**

Claudia Morici

Palermo, Gennaio 2014

Ringraziamenti

Giunta al termine di questo corso di Dottorato, sento di ringraziare i Professori, i Colleghi e gli amici che ho sentito al mio fianco nel percorso.

Un grazie speciale al mio Tutor, Prof. Gaspare Viviani, che mi ha dato questa grande opportunità e che con la forza della semplicità mi ha guidato alla redazione di questo lavoro finale.

Esprimo la mia riconoscenza al Prof. Michele Torregrossa che è stato per me un solidissimo punto di riferimento, nonché una presenza disponibile e affettuosa sempre.

Un grazie dal profondo del cuore a Marco, che anche in un momento così totalizzante della sua vita, ha trovato il tempo e il modo per darmi opportune indicazioni e preziosi consigli.

Grazie a te Daniele, hai sopportato paturnie, sconforto, hai trasformato in sorrisi e scherzi paure e incertezze.

Ringrazio il Centro Tecnologico di Manresa per avermi accolto e permesso di condurre un lavoro utile per il mio Dottorato di Ricerca. Grazie a Montse per avermi seguita con competenza e gentilezza. Grazie a te Maria Rosa per avermi fatto sentire in famiglia durante i week end passati insieme.

Alla mamma, al mio papà e a Filippo con cui condivido la mia vita rivolgo un grazie per ogni cosa bella che la vita mi offre.

Indice

1 Inquadramento generale

1.1 Introduzione	5
1.2 Inquadramento normativo	9

2 Nitrati in falda e tecniche di risanamento

2.1 Ciclo dell'azoto	15
2.2 Nitrati	19
2.3 Tossicità dei nitrati	27
2.4 Tecniche di risanamento delle falde	29
2.4.1 Pump and Treat	29
2.4.2 Interventi biologici di risanamento delle falde contaminate da nitrati.....	30
2.4.2.1 Denitrificazione Biologica	31
2.4.2.2 Denitrificazione Eterotrofa.....	33
2.4.2.3 Influenza dei parametri ambientali	35
2.4.2.4 Cinetica di reazione	37
2.4.2.5 DNRA	38
2.4.2.6 Denitrificazione Autotrofa	39

3 Interventi di Biorisanamento

3.1 Introduzione	42
3.2 Biobarriera di denitrificazione	43
3.2.1 Materiali di riempimento.....	46
3.2.2 Quantificazione della rimozione dei nitrati e cinetica di reazione.....	50
3.2.3 Longevità di una Biobarriera	53
3.2.4 Dimensionamento di una Biobarriera	55
3.2.5 Configurazione di una Biobarriera.....	59
3.3 Zone umide.....	66

4 Attività sperimentale Biobarriera:Analisi batch

4.1 Introduzione	72
4.2 Materiali Utilizzati	73

4.3 Test di cessione del carbonio.....	78
4.4 Prove di microcosmo.....	81
4.5 Analisi dei risultati dei test di microcosmo	84
4.5 Cinetica di denitrificazione	89
5 Attività sperimentale Biobarriera: prove in colonna	
5.1 Introduzione.....	92
5.2 Struttura dell'impianto: costruzione e riempimento	93
5.3 Descrizione della sperimentazione in colonna	99
5.4 Analisi dei risultati.....	101
5.4.1 Rimozione dei nitrati	105
5.4.2 Evoluzione dei nitriti	111
5.4.3 Evoluzione dello ione ammonio.....	112
5.4.4 Evoluzione dei parametri geochimici.....	113
5.4.5 Evoluzione del COD	116
5.4.6 Influenza del TDI sul processo.....	118
5.4.7 Cinetica di denitrificazione	122
6 I processi di denitrificazione nelle zone umide:attività sperimentale	
6.1 Introduzione	129
6.2 Area di studio	131
6.3 Procedura di analisi	132
6.4 Analisi dei Risultati	138
6.5 Cinetica di denitrificazione	142
6.6 Confronto tra la cinetica di denitrificazione delle zone umide e delle biobarriere	146
7 Conclusioni	147
Bibliografia.....	151
Appendici	168

Capitolo 1

Inquadramento generale

1.1 Introduzione

Le acque sotterranee costituiscono la maggioritaria risorsa di acque dolci nel nostro pianeta. In molte parti del mondo sono diventate la risorsa primaria per i processi industriali, di irrigazione e di consumo umani. Tuttavia, nelle ultime decadi, la massiccia industrializzazione e l'agricoltura intensiva hanno causato una graduale contaminazione che ne ha limitato l'utilizzo in molte parti del mondo.

Una delle principali forme di contaminazione delle acque di falda è legata alla presenza di composti azotati. Negli anni, i crescenti fabbisogni di azoto da parte della popolazione umana per la produzione di cibo e di energia, hanno determinato l'incremento della produzione di azoto in forma reattiva (ovvero tutte le forme ad eccezione dello stato molecolare N_2). Si stima che l'input di azoto reattivo da parte di attività umane, in primo luogo i processi industriali e l'utilizzo di fertilizzanti, sia cresciuto dal 1970 al 2000 del 225% (Galloway et al., 2004) e che questo rappresenti il 45% dell'azoto complessivamente fissato sulla Terra (Canfield et al. 2010) (fig.1.1).

Se la produzione di azoto è superiore rispetto ai reali fabbisogni, inevitabilmente questo viene disperso nell'ambiente; qui a seconda della forma in cui si ritrova può seguire differenti percorsi, ad esempio lo ione ammonio può essere immobilizzato, per adsorbimento, sulle superfici del terreno, generalmente caricate negativamente; lo ione nitrato può invece subire processi di denitrificazione, che lo trasformano in azoto gas (N_2). Il quantitativo di azoto che non viene rimosso e/o immobilizzato dal terreno, può lisciviare fino a raggiungere le acque sotterranee e i corpi idrici superficiali, causando diversi effetti negativi sia nell'ambiente che nell'uomo.

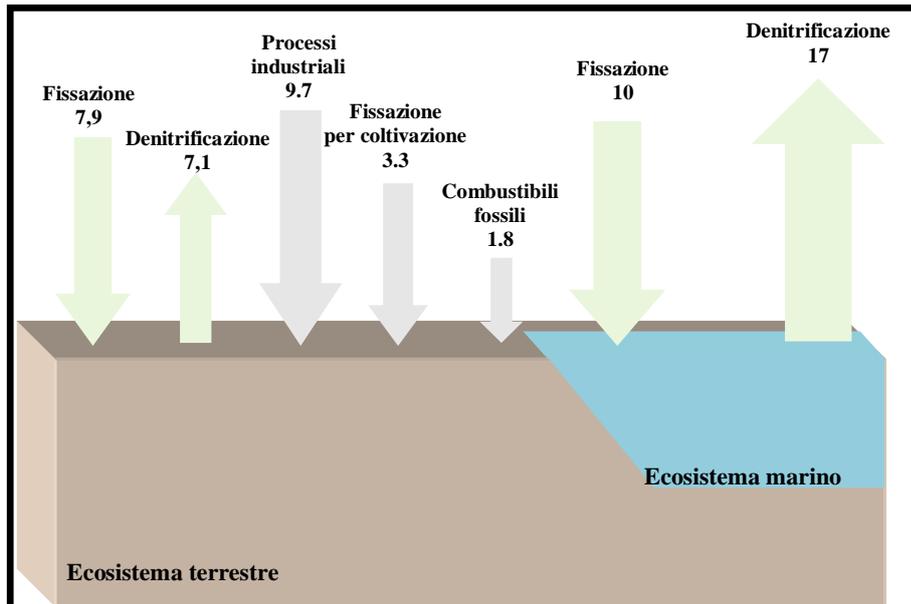


Fig.1.1 Flussi di azoto espressi in $\times 10^{12}$ mol anno⁻¹. Le frecce verdi indicano i flussi naturali, le frecce grigie i flussi dovuti ad attività antropiche (Canfield et al., 2010)

In particolar modo, i nitrati costituiscono la forma di azoto più comunemente riscontrata nelle acque di falda e quella che più frequentemente supera i valori limite di concentrazione fissati per le acque destinate al consumo umano in molte parti del mondo.

Pertanto negli ultimi tempi la necessità di ridurre l'accumulo non desiderato di nitrati ha stimolato lo studio di tecniche e strategie di intervento a ciò mirate. In modo specifico, la ricerca verso tecniche di risanamento in grado di conseguire gli obiettivi di bonifica prefissati, a costi contenuti e modificando il meno possibile le aree di intervento, ha mosso l'interesse scientifico verso gli interventi di "biorisanamento" in situ. Si tratta sostanzialmente di processi ingegnerizzati che ricreano le condizioni ottimali affinché si sviluppino i naturali processi biologici degradativi.

Oggetto principale della tesi è stato lo studio delle Barriere Reattive Permeabili (PRB) biologiche, o Biobarriere, le quali consistono in tecnologie in situ, poco invasive nei confronti dell'ecosistema da bonificare, di semplice applicazione e la cui installazione e gestione

richiedono costi contenuti quando confrontati con sistemi alternativi di risanamento delle falde.

Nella sua forma più semplice, una PRB è costituita da una trincea drenante realizzata ortogonalmente al flusso di falda, il quale la attraversa spinto dal naturale gradiente idrico. Il passaggio del plume contaminato attraverso la barriera genera il contatto tra il contaminante e il materiale reagente con cui la barriera viene riempita e quindi la reazione di degradazione. Nel caso dell'inquinamento da nitrati, le biobarriere sostanzialmente devono ricreare un ambiente ricco di carbonio organico, che fornisca l'energia necessaria alla biomassa per compiere il naturale processo di denitrificazione. Alla base di una progettazione di biobarriera vi è quindi la scelta del più opportuno materiale "reattivo" di riempimento.

La sperimentazione condotta nel corso della tesi è stata volta alla selezione di substrati organici in grado di supportare il processo biologico. La scelta dei substrati è ricaduta su quattro diversi materiali di scarto, pertanto facilmente reperibili a costi trascurabili, e caratterizzati da una struttura lignocellulosica.

Lo studio ha previsto una prima fase di indagine dedicata alla valutazione preliminare delle capacità denitrificanti dei differenti substrati in modalità di analisi batch, seguita da una seconda fase in cui il processo di denitrificazione è stato analizzato mediante un impianto pilota in colonna appositamente ricreato. L'osservazione del processo, condotta per un periodo di circa 200 giorni, ha consentito di estrapolare le informazioni necessarie a valutare l'applicabilità del processo in situazioni di reale contaminazione delle acque sotterranee.

Negli ultimi anni, è diventato inoltre frequente il ricorso alla capacità depurativa dei terreni umidi naturali che si sviluppano adiacenti ai corpi idrici superficiali; si sono infatti mostrati efficienti sistemi naturali nella riduzione dei carichi di azoto che si originano nei terreni, per via delle attività antropiche, e che confluirebbero nei corpi idrici ricettori.

In essi l'azione biologica di denitrificazione è supportata dalla presenza di specie vegetali che forniscono alla biomassa il necessario quantitativo di sostanza organica.

Nell'ambito del progetto AQUAREHAB finanziato dall'Unione Europea, ci si è occupati di valutare la capacità di denitrificazione intrinseca di terreni umidi costituenti la zona ripariale del bacino Odense in Danimarca. È stata a tal fine condotta una sperimentazione in modalità

batch di analisi, durata circa 40 giorni, presso i laboratori del Centro Tecnologico di Manresa (CTM), in provincia di Barcellona. Sui campioni, prelevati fino a 3 metri di profondità dal piano campagna, è stata in particolar modo valutata la velocità con cui i nitrati vengono rimossi e la variazione della cinetica di denitrificazione in relazione alla profondità di ciascun campione analizzato.

Le sperimentazioni condotte hanno consentito una analisi comparata delle cinetiche di denitrificazione supportate da sistemi artificiali di rilascio di carbonio organico, quali le biobarriere, e i sistemi naturali, quali le aree umide, in cui il processo di rimozione dei nitrati avviene grazie al contributo della vegetazione in esso presente.

1.2 Inquadramento normativo

La sempre più diffusa presenza di nitrati in elevate concentrazioni nelle acque di falda e le conseguenze nocive che questa porta sia sugli ecosistemi naturali, sia sugli uomini, ha indotto molti Paesi ad adottare limiti stringenti per le acque destinate al consumo umano, generalmente convergenti intorno al valore di $50 \text{ mgNO}_3\text{L}^{-1}$ (tab.1.1). Come si evince dalla tabella, per i nitriti sono stati fissati valori soglia ben più restrittivi, in relazione al fatto che la pericolosità dei nitrati è legata principalmente alla sua riduzione che avviene all'interno del corpo umano in nitrito, che costituisce un composto molto tossico e reattivo (come si vedrà al capitolo 2).

		Nitrite (mg l)	Nitrate (mg l)	
USA	MCLG ^a	3.28	44.43	^a Guide maximum contaminant level.
	MCL ^b	3.28	44.43	
EEC (1998)	MCL ^c	0.5	50	^b Maximum contaminant level.
	EDWTP ^d	0.1		^c Must be respected according to equation of
WHO (2003) ^e		3	50	$\frac{\text{NO}_3}{50} + \frac{\text{NO}_2}{3} \leq 1$
Pakistan		—	45	
Australia		0.01	45	^d Effluent of drinking water treatment plant.
Morocco ^f		0.1	50	^e Guideline limit (GL).
Argentina		0.1	45	^f Guide limit applied by ONEP, Rabat Drinking Water
Korea		—	44.43	Treatment Plant Authority.
Malaysia		0.005	45	^g 45 mg/l is referred to the sum between nitrate and nitrite
Canada ^g		3.2	45	when nitrite cannot overcome 3.2 mg/l.
Congo		—	—	^h International Bottled Water Association.
Ethiopia		3	50	
IBWA ^h		1	10	

Tab. 1.1 Limiti per le acque destinate al consumo umano previsti per Nitriti e Nitrati. (Della Rocca et al., 2007)

La Comunità Europea ha emanato il primo strumento legislativo per contrastare l'inquinamento da nitrati nel 1991 con la Direttiva 676/91, comunemente definita "Direttiva Nitrati".

Preso atto che i nitrati di origine agricola sono la causa principale dell'inquinamento proveniente da fonti diffuse, gli obiettivi posti in essere dalla Direttiva sono:

- ridurre lo scarico effettuato direttamente o direttamente nell'ambiente idrico di composti azotati di origine agricola;

- ridurre l'inquinamento idrico risultante dallo spargimento e dallo scarico di deiezioni del bestiame o dall'uso eccessivo di fertilizzanti;
- prevenire qualsiasi ulteriore inquinamento di questo tipo.

L'entrata in vigore della Direttiva Nitrati, pertanto, ha obbligato gli Stati Membri a eseguire controlli in merito alla concentrazione dei nitrati nelle acque dolci, a designare le "zone vulnerabili" e stabilirne i programmi d'azione, a fissare i codici di buona pratica agricola, a predisporre programmi per la formazione e l'informazione degli agricoltori. Vengono definite "zone vulnerabili" le zone già colpite dall'inquinamento da nitrati o che potrebbero diventare inquinate in futuro.

Il monitoraggio della concentrazione di nitrati nelle acque deve essere effettuato al fine di individuare le acque inquinate e di designare le aree vulnerabili. I criteri per l'identificazione delle acque inquinate sono:

- contenuto di nitrati superiore a 50 mg/l nelle acque dolci superficiali, in particolare quelle destinate alla produzione di acqua potabile o possibilità di superamento di tale limite se non si adottino programmi d'azione;
- eutrofizzazione a carico di laghi naturali di acqua dolce di altre acque dolci, degli estuari, delle acque costiere e marine o possibilità di eutrofizzazione se non si intervenga.

Il legislatore comunitario, pertanto, pone quale obbligo dei singoli stati l'individuazione di zone vulnerabili nelle quali progettare ed attuare programmi d'azione per ridurre l'inquinamento idrico causato da composti azotati. I Programmi d'Azione sono un insieme di norme aventi la finalità di tutelare e risanare le acque dall'inquinamento causato da nitrati di origine agricola. In particolare, i programmi dovranno assicurare un impiego limitato di fertilizzanti e stabilire prescrizioni restrittive nell'utilizzo di concimi organici animali.

Gli Stati Membri sono tenuti ad elaborare il "Codice di Buona Pratica Agricola", costituito da un insieme di norme emanate con la finalità di realizzare la maggior protezione di tutte le acque dall'inquinamento da nitrati, riducendo l'impatto ambientale dell'attività agricola attraverso una più attenta gestione del bilancio dell'azoto.

Lo Stato italiano ha recepito la Direttiva Nitrati con il D.Lgs. 152/1999 e successivamente con il D.Lgs. 152/06. Viene fatto così obbligo alla Regioni di individuare le Zone Vulnerabili da Nitrati (ZVN) di origine agricola, di formulare un “Codice di Buona Pratica Agricola” e di redigere il Piano di Azione Obbligatorio. Quest’ultimo costituisce l’insieme di regole che le aziende agricole ricadenti all’interno delle ZVN devono rispettare.

A livello regionale, la Sicilia ha approvato la delimitazione delle ZVN e il Piano di Azione Obbligatorio con il D.D.G. 121 del 24/2/2005.

Le figure 1.2 e 1.3 raffigurano la delimitazione delle Zone Vulnerabili rispettivamente nell’intero territorio nazionale e nella Regione Sicilia.

Come si evince dalla figura 1.2, la contaminazione da nitrati è un fenomeno diffuso su tutto il territorio nazionale, ma trova maggiore rilevanze nelle Regioni dell’area nord e nord-orientale. Si tratta infatti di Regioni caratterizzate da un tessuto rurale ricco di attività zootecniche e di agricoltura intensiva.

In Sicilia le zone con più alto rischio di vulnerabilità alla contaminazione da nitrati sono localizzate nella piana di Catania, nella piana di Marsala - Mazara del Vallo e nella piana di Castelvetro - Campobello di Mazara. In relazione a tali aree, nell’ambito del Piano di Tutela delle Acque (PTA) della Regione Sicilia, sono state redatte delle mappe di isoconcentrazione di nitrati, mostrate nelle figure 1.4-1.6, dalle quali si evince l’importanza di una tale contaminazione che in talune zone raggiunge valori superiori a $100 \text{ mgNO}_3\text{L}^{-1}$.

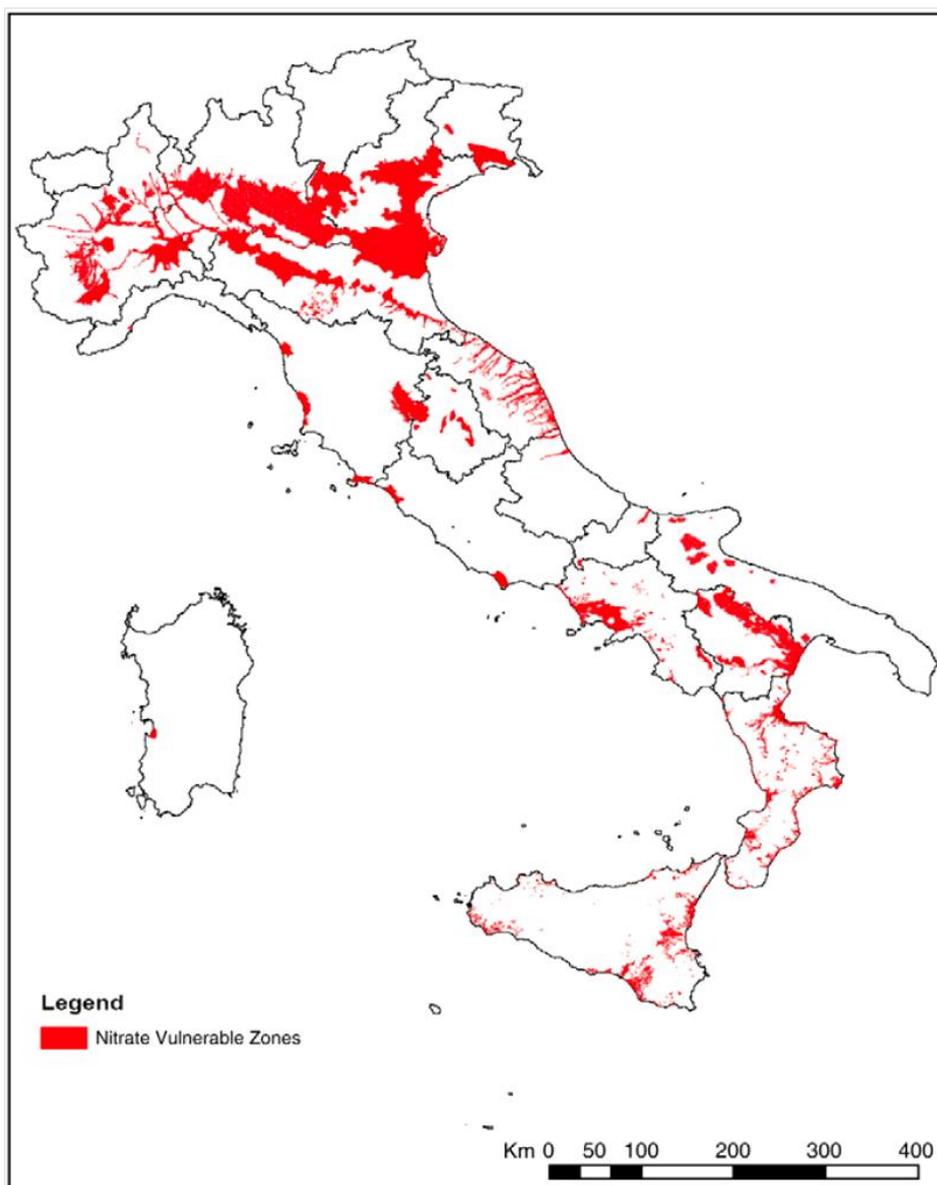


Fig. 1.2 Delimitazione della ZVN nel territorio nazionale (Capri et al., 2009)

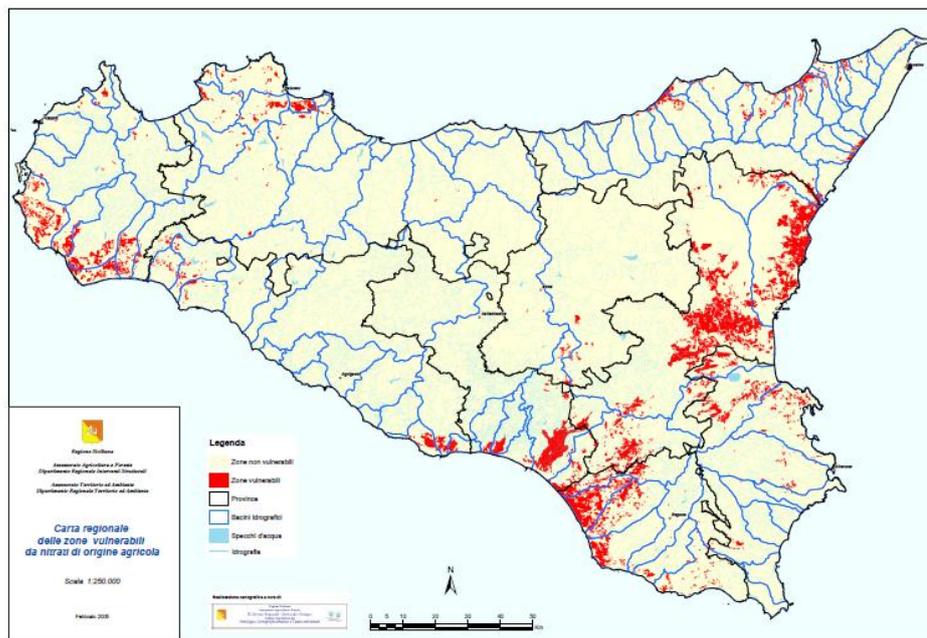


Fig. 1.3 Mappa regionale di vulnerabilità ai nitrati (P.T.A. Regione Sicilia, 2005)

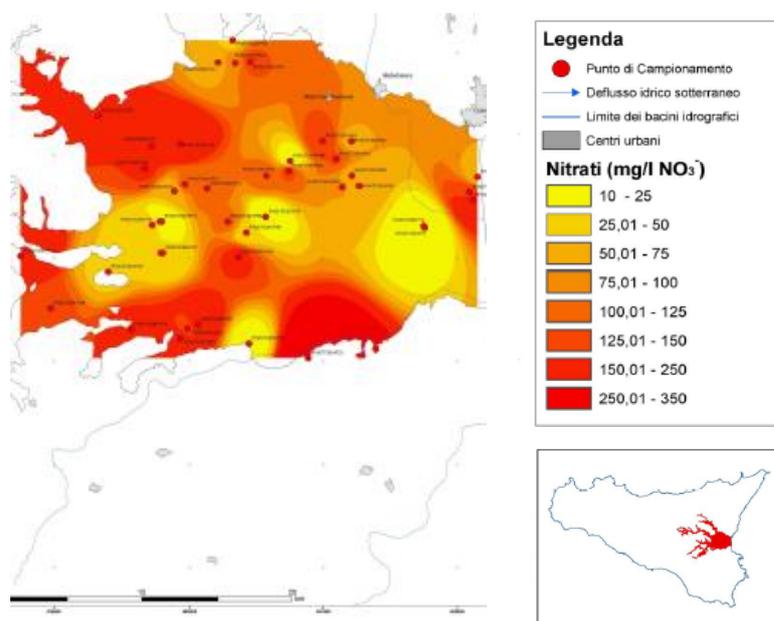


Fig. 1.4 Contaminazione da nitrati rilevata nella Piana di Catania (P.T.A. Regione Sicilia, 2005)

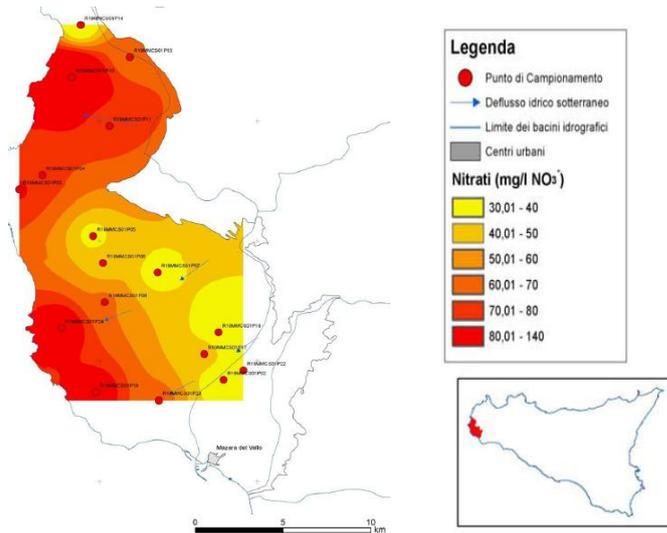


Fig. 1.5 Contaminazione da nitrati rilevata nella Piana di Marsala – Mazara del Vallo (P.T.A. Regione Sicilia, 2005)

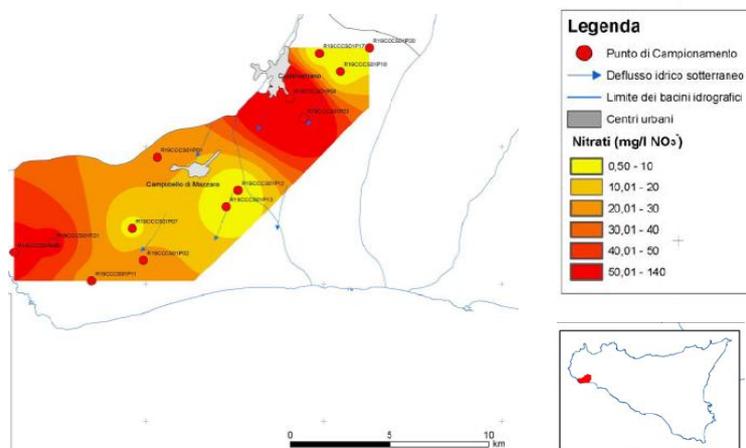


Fig. 1.6 Contaminazione da nitrati rilevata nella zona di Castelvetrano – Campobello di Mazara (P.T.A. Regione Sicilia, 2005)

Capitolo 2

Nitrati in falda e tecniche di risanamento

2.1 Ciclo dell'azoto

L'azoto è un elemento essenziale per la vita sulla Terra, è un costituente del DNA, delle proteine, della clorofilla e di molte altre strutture biologiche. Più del 99% dell'azoto è presente in natura sottoforma di azoto molecolare N_2 . Si trova principalmente in atmosfera, di cui ne costituisce circa il 79% ed in parte negli oceani.

L'azoto molecolare è tuttavia non direttamente utilizzabile dalla maggior parte degli organismi viventi. La conversione da questa forma non reattiva alle altre definite reattive (intendendo tutte le forme dell'azoto ad eccezione dell' N_2) è mediata principalmente dall'azione dei microrganismi, chiamati per l'appunto azoto fissatori. La conversione (o fissazione) dell'azoto è quel processo per cui il triplo legame N-N viene spezzato e l'atomo di azoto può quindi combinarsi con altri elementi, formando composti, come NH_4^+ ed NO_3^- che possono essere assimilati da piante e animali.

Oltre all'azione dei microrganismi azoto fissatori, in minor misura il processo di conversione avviene per mezzo di fenomeni naturali ad alta energia, come fulmini e scariche elettriche.

La naturale trasformazione e il movimento dei composti azotati all'interno della biosfera costituisce il ciclo dell'azoto, di cui si riporta uno schema generale in figura 2.1. In figura 2.2 sono riportate invece le reazioni che regolano il ciclo dell'azoto.

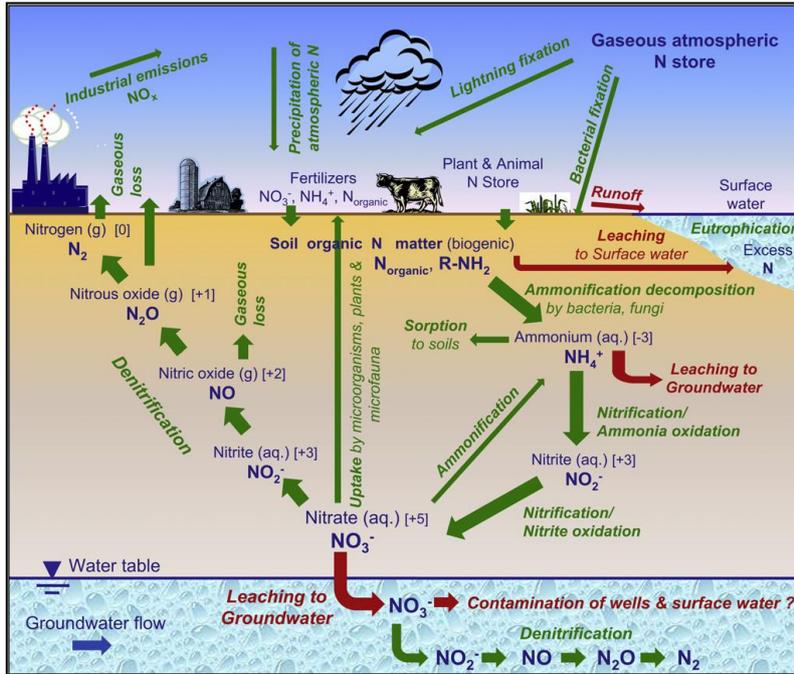


Fig.2.1 Schema del ciclo dell'azoto e sua influenza sull'ambiente.
(Rivett et al., 2008)

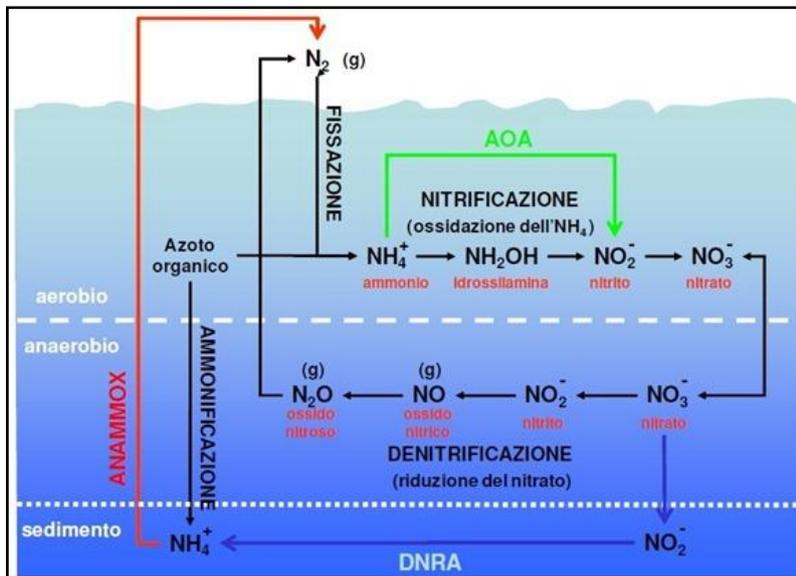
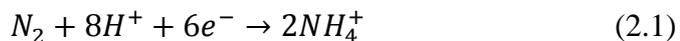


Fig.2.2 Reazioni chimiche del ciclo naturale dell'azoto (Colasanti, 2011)

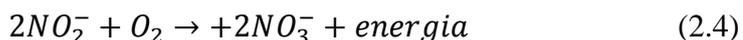
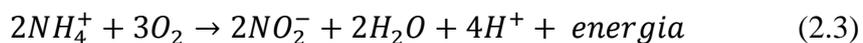
L'azoto atmosferico (N_2) viene ridotto a ione ammonio (NH_4^+) secondo una sequenza di reazioni mediate in ambiente aerobico da batteri azotofissatori, tra cui i *Rhizobacterium* contenuti nei tubercoli radicali delle piante leguminose e gli *Azotobacter* presenti liberi nel suolo. Il processo avviene secondo la generica equazione 2.1:



Una seconda fonte di ione ammonio nel terreno è legata all'ammonificazione o mineralizzazione (equazione 2.2), si tratta di un processo di decomposizione dell'azoto amminico, contenuto nelle sostanze organiche (proteine e amminoacidi), mediato da funghi e batteri decompositori che lavorano in ambiente sia aerobico che anaerobico.



Lo ione ammonio, liberato nel suolo, subisce un processo di nitrificazione in condizioni aerobiche che si sviluppa in due fasi, la prima ad opera dei *Nitrosomonas* che ossidano l' NH_4^+ in nitrito NO_2^- , la seconda mediata dai *Nitrobacter* che ossidano i nitriti per formare nitrati NO_3^- (equazioni 2.3 e 2.4).



I nitrati, caratterizzati da elevata solubilità e mobilità, potendo quindi facilmente migrare nel sottosuolo e disperdersi successivamente in falda. Una volta formati, i nitrati agiscono come accettori di elettroni per diversi processi riduttivi, tra cui l'Anammox, la riduzione dissimilativa in NH_4^+ (DNRA), la riduzione assimilativa e la denitrificazione (Warneke, 2011).

Il processo Anammox avviene in condizioni anaerobiche ad opera di batteri autotrofi (*Candidatus Brocadia*, *Candidatus Kuenenia* e *Candidatus Scalindua*) che utilizzano il nitrito come accettore di elettroni per convertire lo ione ammonio in azoto gas.

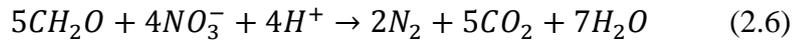
La riduzione dissimilativa dei nitrati a ione ammonio (DNRA) avviene per mezzo di batteri anaerobi facoltativi in presenza di un substrato

organico (CH_2O), secondo la reazione 2.5. Questa reazione, competitiva rispetto alla denitrificazione, risulta favorita quando il nitrato è un fattore limitante (Gibert et al., 2008).



La riduzione assimilativa dei nitrati avviene per mezzo di microrganismi che riducono i nitrati a ione ammonio (è una reazione differente dalla DNRA), affinché l'azoto possa essere assimilato dalle piante. Si tratta di un processo di adattamento evolutivo, giacchè le piante utilizzano preferenzialmente l'azoto in forma ridotta per le reazioni di biosintesi; tuttavia, essendo il nitrato la forma solubile maggiormente presente nel suolo, le piante hanno sviluppato la capacità di utilizzare quest'ultimo, mediante l'assimilazione riduttiva (Erisman et al., 2007).

Infine chiude il ciclo dell'azoto il processo biologico di denitrificazione, che converte l' NO_3^- in N_2 gas in condizioni anossiche in presenza di substrato organico (equazione 2.6).



Sebbene la reazione di denitrificazione abbia come prodotto ultimo l'azoto gas, se le condizioni ambientali non sono tali da consentire che il processo proceda in modo completo, essa può arrestarsi a ciascuno degli step intermedi di processo (come descritto dalla figura 2.1). Questo comporta che nell'ambiente vengono potenzialmente immessi nitriti, che sono più tossici dei nitrati, e gli NO_x che costituiscono potenti gas serra (Rivett et al., 2008).

Tuttavia nelle normali condizioni che si instaurano nell'ambiente sotterraneo, raramente la concentrazione di nitriti è comparabile con quella dei nitrati e altrettanto raramente il processo di denitrificazione si arresta alla formazione degli NO_x (Rivett et al., 2008).

In un sistema dove gli input di azoto sono regolati principalmente dal naturale ciclo dell'azoto appena descritto, come è stato fino a qualche decennio fa, la domanda di azoto in forma biodisponibile da parte delle piante è maggiore rispetto alla velocità con cui l'azoto non reattivo viene fissato. Conseguentemente, l'azoto reattivo rappresenta un elemento limitante che da sempre regola e supporta la biodiversità delle specie (Tartowski et al., 2001).

Negli anni, l'incremento dei fabbisogni dell'uomo non più soddisfabili dai soli apporti naturali, ha spinto verso la ricerca di sistemi antropici per produrre azoto in forma assimilabile dagli organismi (Erisman et al., 2007; Schipper et al., 2010).

Il principale processo industriale che fissa l'azoto atmosferico in ammoniaca è il processo Haber-Bosh (Erisman et al., 2007).

L'incremento delle attività antropiche negli ultimi decenni ha però enormemente alterato il ciclo dell'azoto, associando così, al certamente positivo effetto di dare risposta ai sempre maggiori fabbisogni umani, effetti deleteri principalmente nei confronti degli ecosistemi naturali.

Vi è infatti un abbondante sproporzione tra la produzione di azoto reattivo e la richiesta da parte degli esseri viventi, (Schipper et al., 2010). Conseguentemente il surplus che si genera viene disperso nell'ambiente dove esso è causa di numerosi impatti negativi sull'ambiente stesso e a cascata anche sull'uomo. Tra gli effetti conseguenti all'eccessiva presenza di azoto reattivo vi sono: riduzione della biodiversità, piogge acide, riduzione dello strato di ozono stratosferico, eutrofizzazione, etc. (Leach et al., 2011).

2.2 Nitrati

In molte parti del mondo lo ione nitrato è tra i contaminanti che più frequentemente eccedono gli standard di qualità fissati per le acque sotterranee dalle norme nazionali e internazionali che ne regolano l'uso (Schipper et al., 2010). L'Unione Europea e la World Health Organization hanno entrambe fissato una soglia di contaminazione pari a 50 mg/l (11,3 mg N/l) (Liu et al., 2013).

Lo ione nitrato, naturalmente presente nel suolo, si forma a partire dalla dissociazione completa dell'acido nitrico HNO_3 che è un acido forte e di cui ne costituisce la base coniugata. I nitrati rappresentano l'ultimo stadio di ossidazione dell'azoto (numero di ossidazione +5).

Sono ioni inerti rispetto alla matrice solida, presentano un coefficiente di ritardo (R) pressochè unitario, e perciò mostrano un'elevata mobilità nel terreno, connessa principalmente alla loro solubilità e alla carica elettrica negativa. Solo in caso di suoli acidi caolinitici o amorfi, come i terreni vulcanici, possono essere adsorbiti. Il loro tempo di permanenza nel

fronte non saturo può essere calcolato mediante l'equazione seguente (Gorla, 2012):

$$t_p = (z \cdot S) / V_i \quad (2.7)$$

con:

z soggiacenza della falda (m);

S grado di saturazione del terreno (-);

V_i volume idrico d'infiltrazione per unità di superficie (m/anno).

Le sorgenti naturali di nitrati sono costituite dai processi biologici di mineralizzazione e di fissazione dell'azoto atmosferico. I nitrati che così si producono possono poi lisciviare, veicolati dalle acque piovane o di irrigazione, raggiungere la falda e quindi in essa migrare grazie ai fenomeni di advezione e dispersione idrodinamica.

Ulteriori fonti naturali di nitrati possono essere i depositi o le incrostazioni calcaree, a rocce ignee (sotto forma di composti d'ammonio) e a sedimenti lacustri (Gorla, 2012).

Mediamente si può ritenere che le concentrazioni in falda dovute a fenomeni naturali siano modeste, dell'ordine di 3-10 mg/l (Smith *et al.* 1987). La denitrificazione naturale aiuta infatti a mantenere relativamente basse le concentrazioni di nitrati nelle acque superficiali e sotterranee.

Concentrazioni superiori di nitrati sono da attribuire a sorgenti di origine antropica, principalmente legate all'utilizzo in agricoltura di fertilizzanti azotati, sia organici naturali (letame) che inorganici e/o organici chimici.

Le normative comunitarie tendono a imporre una graduale diminuzione dei fertilizzanti in agricoltura, soprattutto di quelli contenenti azoto che, tra tutti, risultano essere quelli che più arrecano danni all'ambiente e contribuiscono all'inquinamento delle falde acquifere.

Per avere un'idea del quantitativo di fertilizzanti utilizzati, il grafico di figura 2.3 riporta i consumi in campo agricolo relativi all'anno 2010 nei Paesi Europei. I dati in essa riportati evidenziano che la Francia è il Paese europeo in cui si ha il maggiore utilizzo di fertilizzanti (più di 4,1 milioni di tonnellate), seguita da Germania, Polonia, Spagna e Regno Unito. L'Italia è sesta con un valore di circa 1,1 t/anno. Gli altri Paesi Europei presentano consumi decisamente più contenuti.

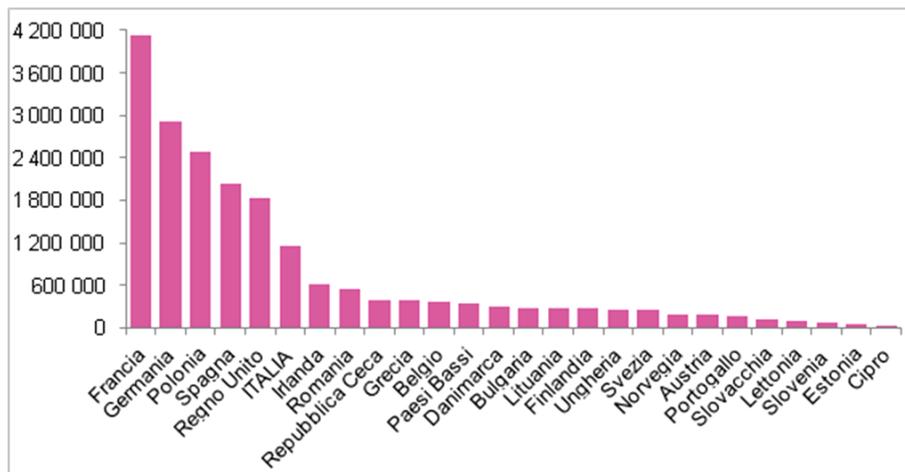


Fig.2.3 Consumo di fertilizzanti nei Paesi UE, anno 2010. (Istat, 2013)

I fertilizzanti si possono classificare come semplici o composti, in base alla presenza di uno o più elementi essenziali alla nutrizione minerale delle piante.

Tra i fertilizzanti semplici si distinguono quelli a base di azoto, di fosforo e di potassio. In base ai dati Istat relativi al consumo italiano nell'anno 2008, risulta che maggiormente utilizzati sono quelli a base di azoto (Fig. 2.4).

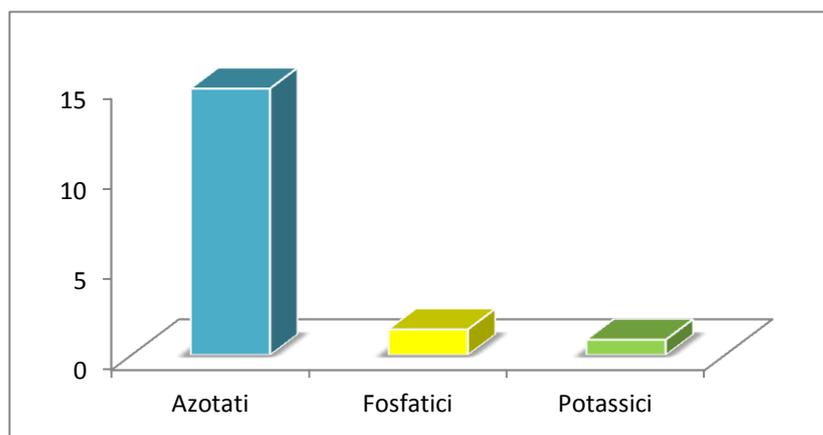


Fig. 2.4 Distribuzione fertilizzanti semplici in Italia, anno 2008 (in 10^3 t). (Istat, 2013)

Per le piante l'azoto è un elemento essenziale, pertanto il livello produttivo della coltura è primariamente condizionato dalla disponibilità d'azoto nel suolo, in quanto stimola l'accrescimento delle piante e determina una presenza abbondante di clorofilla nelle foglie.

I fertilizzanti semplici a base azotata possono contenere azoto sotto forma nitrica, ammoniacale, nitrico-ammoniacale e organica.

I concimi ad azoto nitrico sono direttamente e prontamente assorbiti dalle piante, mentre quelli ad azoto ammoniacale, pur avendo ugual valore fisiologico, sono assorbiti per via diretta più lentamente, ma per lo più sono utilizzati indirettamente subendo nel terreno, la trasformazione in azoto nitrico a opera dei batteri nitrificanti. I fertilizzanti a base di azoto organico esplicano la loro azione molto lentamente, dovendo subire nel terreno le successive trasformazioni in azoto ammoniacale e poi nitrico.

I principali fertilizzanti ad azoto nitrico sono il nitrato di sodio (NaNO_3) e di calcio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$). Quest'ultimo agisce anche da correttivo per terreni privi o poveri di calcio. Tra i fertilizzanti a base di azoto vi sono il solfato di ammonio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) e il carbonato di ammonio ($(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$). Un nitrato ad azione doppia, contenendo in parti uguali azoto sia nitrico sia ammoniacale, è il nitrato di ammonio (NH_4NO_3). Esso costituisce il composto più impiegato in quasi tutti i Paesi produttori di fertilizzanti, ma ha l'inconveniente di una elevata igroscopicità che rende difficile lo stoccaggio. Inoltre, il nitrato d'ammonio è suscettibile di detonazione per la sua sensibilità al calore e agli urti, per cui viene diluito con sostanze inerti come carbonato di calcio, farina fossile o argilla.

I fertilizzanti ad azoto organico sono principalmente l'urea e la calciocianammide. L'urea, $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, è il fertilizzante solido a più elevato titolo di azoto, circa il 46%; la sua azione fisiologico-agrafia è paragonabile a quella dell'azoto ammoniacale, dato che nel suolo facilmente si idrolizza trasformandosi in carbonato di ammonio. La calciocianammide, CaCN_2 , oltre che essere un buon concime azotato (15-20% N), ha azione correttiva sui terreni acidi per la presenza di calce e funge anche da erbicida e insettifuga; esso nel terreno si comporta come i fertilizzanti ammoniacali dato che viene trasformato in urea e carbonato di ammonio.

In Italia, le Regioni con più elevata distribuzione di fertilizzanti semplici in agricoltura sono concentrate principalmente nel Nord (fig.2.5), essendo caratterizzate da agricoltura intensiva.

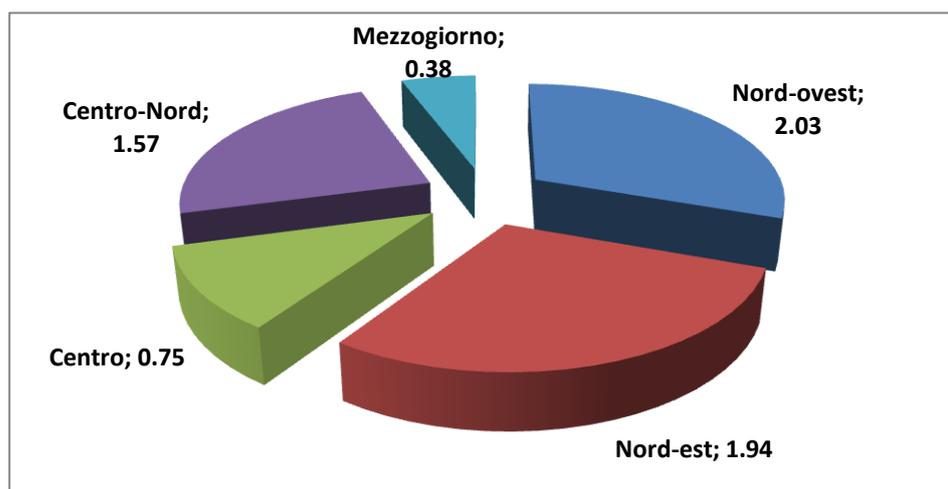


Fig.2.5 Fertilizzanti semplici distribuiti in agricoltura per Regione rilevati nel 2011, espressi in qha⁻¹_{Sau} (Sau:superficie agricola utilizzata). (Istat, 2013)

Dall'andamento della serie storica dei dati sull'utilizzo dei fertilizzanti nel decennio 2001-2011 (dati Istat) emerge che l'impiego di elementi fertilizzanti distribuiti per uso agricolo è andato crescendo fino al 2004, per poi segnare una flessione in tutte le ripartizioni. La dinamica distributiva dei fertilizzanti è coerente con le direttive di politica agricola dell'Unione Europea, tendenti a ridurre l'impiego di prodotti minerali di sintesi, a favore invece di ammendanti organici, al fine di migliorare la qualità produttiva, la salvaguardia della salute e il rispetto dell'ambiente. Nelle figure 2.6 e 2.7 si riportano i quantitativi (espressi in qha⁻¹_{Sau}) consumati in ciascuna Regione italiana relativi rispettivamente agli anni 2004 e 2011.

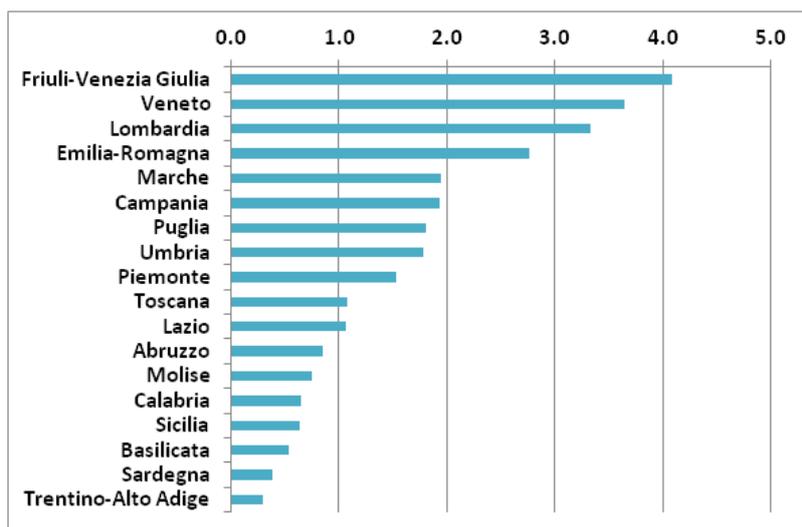


Fig. 2.6 Distribuzione fertilizzanti semplici in Italia, anno 2004, espressi in $\text{qha}^{-1}_{\text{Sau}}$ (Istat, 2013)

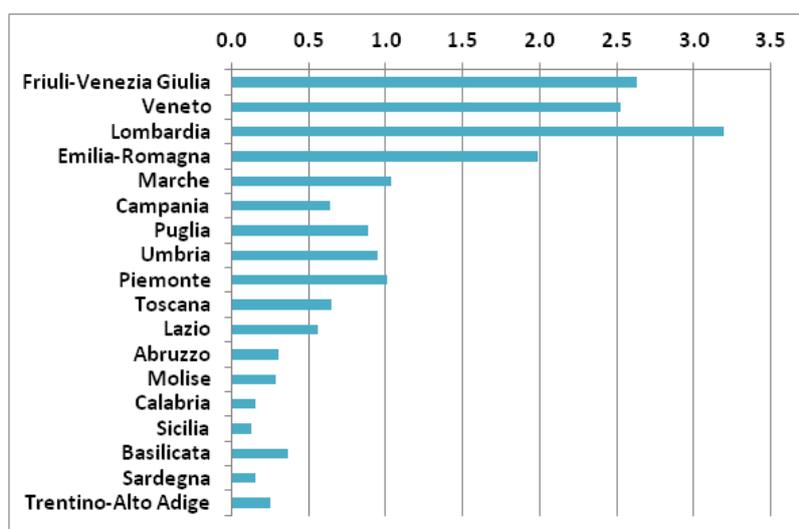


Fig. 2.7 Distribuzione fertilizzanti semplici in Italia, anno 2011, espressi in $\text{qha}^{-1}_{\text{Sau}}$ (Istat, 2013)

Oltre ai fertilizzanti semplici, altrettanto abbondantemente utilizzati sono quelli classificati come complessi, ovvero che contengono due o tre elementi attivi nello stesso composto. In dettaglio, si distinguono quelli binari (costituiti da miscele azoto-fosfato, azoto-potassio, potassio-

fosfato) e quelli ternari. Anche in questo caso, i fertilizzanti maggiormente utilizzati sono le miscele a base azotata.

L'utilizzo dei fertilizzanti chimici nasce per sopperire al fabbisogno di elementi nutritivi delle piante per il loro sviluppo, d'altro canto però una cattiva gestione nell'utilizzo dei fertilizzanti è stata causa del massiccio inquinamento da nitrati nelle acque sotterranee. Diversi studi hanno evidenziato come i fertilizzanti vengano spesso somministrati in un'unica soluzione, superando così la capacità di assorbimento delle piante. Le piante necessitano invece di somministrazioni multiple durante le diverse stagioni. Ma soprattutto è stato rilevato che i fertilizzanti vengono forniti in quantità eccessive rispetto ai reali fabbisogni delle colture.

La Relazione sullo Stato dell'Ambiente presentata dal Ministero dell'Ambiente al Parlamento nel 2001 (RSA, 2001), riferisce di un uso di più di 4.600.000 t di concimi contenenti N, P e K cui corrispondono circa 890.000 t d'azoto, con un impiego medio intorno ai 53 kg/ha di azoto. La distribuzione geografica di tali apporti di nutrienti è molto diversificata giungendo in certe Province ad apporti tali da generale un surplus di più di 200 kg/ha.

Quando si verifica tale eccesso di concimazione, i nitrati presenti nei fertilizzanti sono facilmente soggetti a dilavamento per via di precipitazioni e di irrigazioni. In questo modo, nelle falde sottostanti, può verificare la formazione di plume inquinati ad alta concentrazione da nitrati.

Altra fonte antropica di contaminazione da nitrati è costituita dagli scarichi prodotti dagli insediamenti civili soprattutto relativi a piccoli centri o abitazioni isolate, dove spesso il trattamento dei reflui è affidato a sistemi di smaltimento come le fosse settiche. Tali impianti possono generare un effluente con concentrazione di azoto variabile tra 30 e 100 mgNO₃-N/l (Robertson et al., 2008).

Le acque reflue prodotte da insediamenti più grandi vengono di norma convogliate in impianti biologici di depurazione. Se non vi sono apporti industriali, generalmente il refluo in ingresso ad un impianto di depurazione, è caratterizzato da una concentrazione di azoto ammoniacale di 12÷45 mg/l (Metcalf & Eddy, 2006). I normali impianti di depurazione, basati sui processi a fanghi attivi per la rimozione del BOD (Biochemical Oxygen Demand), riescono a rimuovere l'azoto con rendimenti non superiori al 12-20%.

Nel caso in cui gli impianti scaricano in aree sensibili (come in corpi idrici a lento ricambio), la normativa italiana richiede il rispetto di limiti restrittivi (15 mg/l o 10 mg/l di azoto totale, rispettivamente per impianti a servizio di centri urbani con potenzialità da 10.000 a 100.000 AE e superiori a 100.000 AE); tali limiti possono essere raggiunti solo prevedendo impianti dotati di specifici trattamenti di rimozione dell'azoto.

Altro apporto significativo è dovuto alla zootecnia; uno studio dell'università del Nebraska ha stimato che i rifiuti prodotti da queste attività contengono circa 100÷400 gN/Kg di peso animale, determinando una concentrazione nelle acque reflue di 150÷500 mg/l (Naser, 2011).

Nella tabella 2.1 si riporta una sintesi delle sorgenti e delle attività da cui possono originarsi i nitrati presenti nel sottosuolo.

Tab. 2.1 Sorgenti di contaminazione da nitrati

Attività d'origine	Sorgenti puntuali	Sorgenti diffuse
Attività agricole	- Scarichi acque di lavaggio attrezzature agricole - Depositi di contenitori prodotti agricoli	- Fertilizzanti organici (letame, compost) - Fertilizzanti inorganici
Attività zootecniche	Raccolta deiezioni animali (cumuli, pozzi neri, vasche)	
Insedimenti civili	- Fognature - Fosse settiche	Smaltimento rifiuti
Attività industriali (principalmente produzione di insaccati e coloranti)	- Stoccaggio materie prime - Scarichi liquidi senza trattamento - Immissione nel terreno di rifiuti liquidi - Serbatoi interrati e fuori terra	
Fonti naturali e antropogeniche		Deposizioni atmosferiche

La figura 2.8 mostra uno schema integrato relativo alle sorgenti di nitrati, alle reazioni biochimiche di trasformazione che i composti azotati subiscono nel sottosuolo e ai percorsi di migrazione in falda.

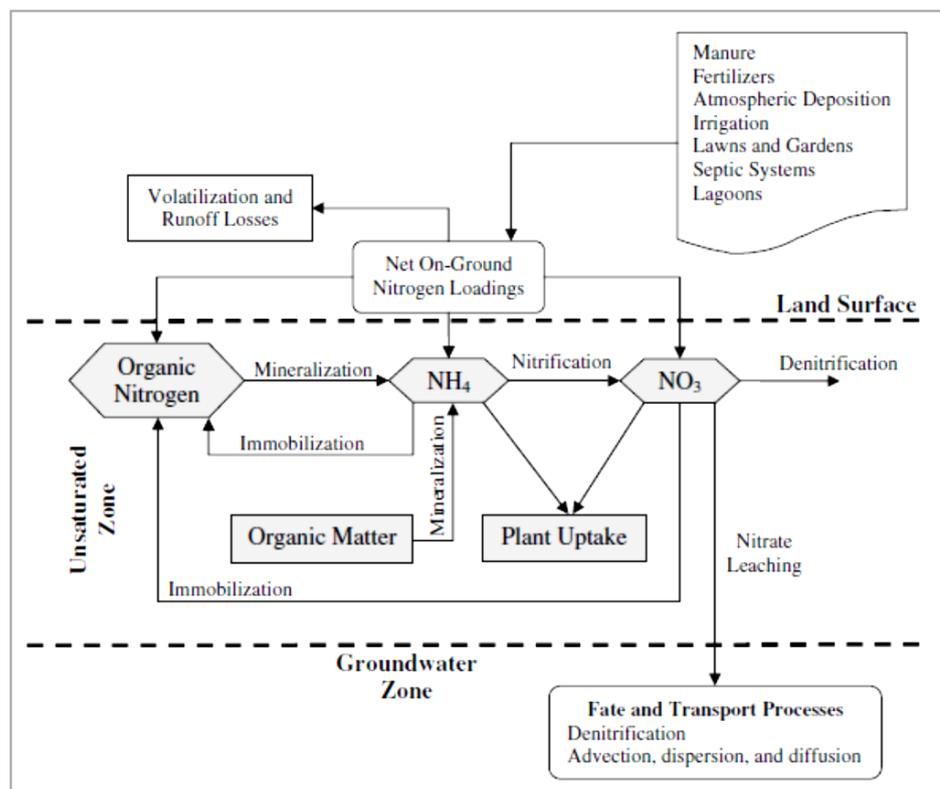


Fig. 2.8 Schema integrato del destino dei nitrati nel sottosuolo (Almasri et al., 2007).

2.3 Tossicità dei nitrati

Le principali fonti di assunzione di nitrati da parte dell'uomo sono l'acqua, gli ortaggi e la carne. In particolare modo gli ortaggi costituiscono la maggiore fonte di nitrati; infatti, è stato stimato che gli ortaggi, soprattutto se coltivati in serra, possono avere un contenuto di nitrati anche superiore a 2500 mg/kg (FAO/WHO 1995). Tuttavia, nei casi di particolare contaminazione dell'acqua, in cui le concentrazioni in essa superano 50 mgL^{-1} , questa può diventare la maggiore fonte per l'uomo. L'Autorità Europea per la sicurezza alimentare afferma che un consumo di nitrati moderato da parte di un individuo adulto, identificato in 157 mg/giorno (dedotto dal contenuto nei cibi e nell'acqua considerando l'assunzione media degli stessi), non risulta pericoloso in virtù dei valori

di pH dello stomaco e dell'alta solubilità dei nitrati stessi, che pertanto vengono eliminati con l'urina. Infatti il valore dell'esposizione media a nitrati di 157 mg/giorno, stimata prudenzialmente, si colloca al di sotto dell'ADI (Acceptable Daily Intake – Dose giornaliera accettabile) pari a 222 mg/giorno per un soggetto di 60 kg.

Dosi superiori possono essere causa di tossicità. La pericolosità dei nitrati consiste nella loro riduzione in nitriti già nella bocca con la saliva e poi nello stomaco. Il nitrato come tale è infatti altamente stabile e poco tossico, il nitrito invece è molto reattivo e ha numerosi effetti tossici.

Dopo l'ingestione, i nitrati vengono convertiti in nitriti dalla flora batterica e rapidamente assorbiti dall'intestino per diffusione passiva, raggiungendo il torrente ematico senza essere metabolizzati a livello epatico. I nitriti sono potenti agenti ossidanti dell'emoglobina e trasformano il ferro emoglobinico in ione ferrico. Il ferro emoglobinico, infatti, fisiologicamente in stato ridotto (Fe^{2+}), viene trasformato in ione ferrico (Fe^{3+}) e diventa incapace di trasportare l'ossigeno ai tessuti. Questa forma non funzionale di emoglobina contenente ione ferrico si chiama metaemoglobina e la relativa patologia che ne deriva è la metemoglobinemia.

L'intossicazione da nitrati può colpire qualsiasi fascia di età, ma i soggetti a maggiore rischio sono i bambini piccoli, in particolare i lattanti di età inferiore ai 6 mesi. Ciò avviene a causa del pH gastrico elevato che favorisce la crescita di batteri intestinali nitro riducenti, che metabolizzano i nitrati in nitriti. L'intossicazione si manifesta con la sindrome del cosiddetto "bambino azzurro" anziché con una vera e propria cianosi. I livelli fisiologici di metemoglobina sono uguali al 2% nei nati a termine (3% nei prematuri) e inferiori al 2% nell'adulto. Se i livelli di metemoglobinemia superano il 10% ha formazione di cianosi; oltre il 20% possono insorgere cefalea, irritabilità e letargia; oltre il 45% vi è possibilità di tachicardia, convulsioni, shock e coma. Valori superiori al 60% possono essere letali.

In genere le forme con metemoglobinemia < 20% non richiedono altro trattamento che l'identificazione della fonte di contaminazione e la sua eliminazione dalla dieta. Il trattamento può limitarsi alla somministrazione di ossigeno.

Inoltre la combinazione nello stomaco dei nitrati con le ammine (termine generico per indicare composti organici particolarmente presenti in alimenti proteici, come carne, salumi e formaggi), può comportare la

formazione nitrosammine, che sono potenzialmente causa o concausa d'insorgenza di tumori a carico del sistema gastrointestinale. In generale la capacità degli organismi adulti di risentire di queste tossicità è abbastanza limitata: il maggior pericolo sussiste per quegli individui il cui patrimonio enzimatico a causa della giovane età o di malattie debilitanti risulta immaturo o compromesso.

2.4 Tecniche di risanamento delle falde contaminate da nitrati

A differenza dei casi di contaminazione da inquinanti “storici”, quali solventi clorurati, BTEX, Cr VI, il trattamento delle acque di falda interessate da contaminazione da nitrati ha assunto rilevanza solo negli ultimi decenni, coerentemente con le emanazioni politiche comunitarie in materia. Stante che il problema della contaminazione da nitrati è diventato sempre più esteso, negli ultimi decenni diverse tecniche di risanamento sono state proposte. Molte di esse però consentono di garantire solo una parziale riduzione della concentrazione dei nitrati e risultano spesso non sostenibili economicamente.

Le opzioni di intervento più applicate riguardano l'estrazione mediante pozzi di pompaggio del plume contaminato e il suo successivo trattamento ex situ, e l'applicazione di processi biologici.

2.4.1 Pump and Treat

Il Pump and Treat rappresenta ancora oggi uno dei principali sistemi di bonifica degli acquiferi degradati o comunque di riduzione della contaminazione. L'intervento consta nella realizzazione di una batteria di pozzi di estrazione allineati, che collocata trasversalmente al deflusso idrico sotterraneo drena la falda, capta il plume contaminato e ne impedisce la propagazione nell'ambiente circostante. L'intervento di prelievo dai pozzi è accoppiato al trattamento on/off site dell'acqua estratta.

L'acqua contaminata estratta, può quindi essere inviata a impianti di depurazione idonei per la rimozione dei nitrati, oppure si può prevedere la costruzione di un impianto apposito on o off site. In entrambi i casi si tratta di soluzioni onerose e inoltre gli impianti già esistenti potrebbero

non essere capaci di accogliere ingenti incrementi del volume di acqua in ingresso all'impianto.

Più di frequente, vengono individuati come processi idonei al trattamento dei nitrati, trattamenti di natura chimico-fisica:

- lo scambio ionico, prevede di trattare l'acqua estratta mediante resina anionica forte, specialmente in forma di Cl^- , che scambia gli ioni nitrato con ioni cloruro;
- l'osmosi inversa, nel quale i nitrati sono trattenuti da una membrana semipermeabile tramite la quale viene invece fatta passare l'acqua spinta da una forte pressione applicata;
- l'elettrodialisi, prevede la separazione degli ioni per mezzo dell'applicazione di un potenziale elettrico, tramite il quale gli ioni attraversano selettivamente le membrane cationiche o anioniche.

Le tre tecnologie indicate, sono identificate dall'Agenzia per la Protezione dell'Ambiente (USEPA) come le migliori tecnologie disponibili (Best Available Technologies) per la rimozione dei nitrati (Della Rocca et al., 2005).

Tuttavia, quando utilizzate su ampia scala, tali tecnologie comportano il problema non indifferente che l'inquinante non viene trasformato in un composto innocuo, ma viene separato dal flusso principale d'acqua e concentrato in una soluzione che ha bisogno di essere appositamente smaltita implicando nella gestione del processo anche i costi legati allo smaltimento (Soares, 2000).

2.4.2 Interventi biologici di risanamento delle falde contaminate da nitrati

Negli ultimi decenni l'attenzione scientifica si è spostata verso tecniche di intervento ecologicamente sostenibili basate sui naturali processi biologici di denitrificazione. Questi infatti consentono di perseguire l'obiettivo di risanamento a costi contenuti e con tecnologie relativamente semplici, che richiedono ridotte attività di gestione (Schipper et al., 2010).

Gli interventi di tipo biologico possono essere conseguiti mediante trattamenti ex situ e in situ. I primi consistono in bioreattori all'interno

dei quali vengono posti substrato organico, nutrienti e biomassa (Hunter, 2008); tra i substrati utilizzati vi sono: etanolo, acido acetico (Green e Shelef, 1994), metanolo (MacDonald, 1990), tiosolfato (Trouve e Chazal, 1999). Poiché l'effluente, depurato dalla presenza dei nitrati, può contenere tuttavia elevati contenuti di carbonio organico, biomassa e di solidi sospesi, è spesso necessario prevedere, a valle dei bioreattori, trattamenti secondari mirati a raggiungere una buona qualità delle acque prima di un eventuale consumo. In Europa il primo impianto pilota è stato installato in Francia nel 1983, successive installazioni sono state in Germania e Italia; si tratta di reattori a letto fisso o fluidizzato (Green and Shelef, 1994).

Sempre più frequentemente si fa ricorso ai sistemi in situ di trattamento biologico delle falde contaminate da nitrati, in quanto più economici e di più facile realizzazione.

Nelle matrici ambientali sotterranee la biomassa denitrificante è presente in modo ubiquitario (Gamble et al., 1977; Zumft, 1992), i fattori che invece possono essere limitanti il processo sono il contenuto di ossigeno e la disponibilità dei donatori di elettroni. Pertanto gli interventi di bonifica in oggetto consistono nello stimolare in situ il processo metabolico garantendo le condizioni ambientali ottimali per l'innescarsi del processo di denitrificazione, ovvero si tratta di creare zone anossiche e ricche di sostanze che fungano da donatori di elettroni, i quali possono essere di tipo organico o inorganico.

Nell'ambito di questo lavoro di tesi ci si è occupati di studiare l'applicabilità del processo biologico sfruttando la tecnologia in situ delle Barriere Reattive. Successivamente è stata valutata la capacità intrinseca delle zone umide naturali di supportare il processo di denitrificazione.

Prima di passare alla trattazione degli interventi di risanamento, oggetto del prossimo capitolo, nei paragrafi che seguono verranno discussi i principali processi e fattori che regolano la rimozione biologica dei nitrati.

2.4.2.1 Denitrificazione Biologica

Il processo di denitrificazione costituisce la fase conclusiva del naturale ciclo dell'azoto; esso avviene sfruttando la capacità delle popolazioni batteriche di ridurre lo ione nitrato in azoto molecolare tramite

l'ossidazione di specie organiche o inorganiche utilizzate come donatori di elettroni.

I batteri "denitrificanti" sono batteri facoltativi che svolgono il processo in assenza di ossigeno libero nell'ambiente, utilizzando quello contenuto nel nitrato (condizioni anossiche). Le condizioni di anossia sono differenti dalle condizioni di anaerobiosi, in quanto le vie biochimiche del trasporto di elettroni nei batteri denitrificanti sono pressoché le stesse rispetto a quelle per l'O₂; quindi questi batteri possono usare indistintamente O₂ o NO₃⁻ come accettore di elettroni a seconda dell'ambiente in cui si trovano senza difficoltà critiche di acclimatazione. In caso di presenza contemporanea di entrambi gli accettori, viene comunque preferito un metabolismo aerobico, più favorevole in termini energetici. Solo quando tutto l'ossigeno libero viene consumato, i batteri iniziano ad utilizzare il nitrato, che rappresenta il successivo accettore di elettroni più favorevole energeticamente. L'ordine con cui i batteri scelgono l'accettore di elettroni è schematizzato nella figura 2.8 relativa ad una reazione di ossidazione di un generico composto organico. Come inoltre mostra la figura, una volta consumati anche i nitrati, l'ossidazione del generico composto organico prosegue utilizzando manganese, ossidi di ferro, solfati, metano e infine biossido di carbonio.

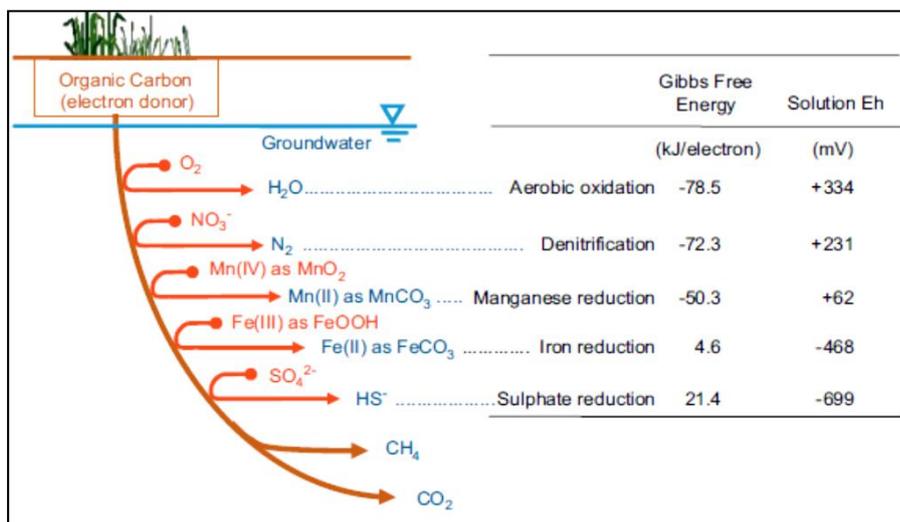
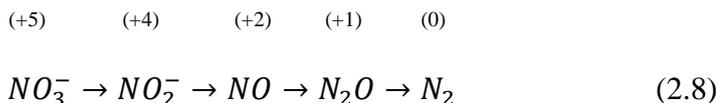


Fig.2.8 Accettori di elettroni ordinati in funzione della vantaggiosità energetica (Rivett et al., 2008)

Il processo di denitrificazione è l'insieme di più trasformazioni biochimiche sequenziali, schematizzabili come nell'equazione 2.8:



La sequenza di trasformazioni mostra la progressiva riduzione del nitrato fino ad azoto molecolare (N_2), passando dal massimo stato di ossidazione (+5) allo stato molecolare a numero di ossidazione nullo. I composti intermedi che si formano sono nell'ordine: nitrito, monossido di azoto e protossido d'azoto.

Il processo metabolico si compone di una fase di sintesi di nuova materia cellulare, con consumo di energia, e di una di respirazione, in cui avviene la degradazione delle sostanze assimilate con produzione di molecole semplici e liberazione di energia necessaria per il processo di sintesi.

In base al tipo di carbonio utilizzato dai batteri per il loro metabolismo, il processo di denitrificazione biologica si può suddividere in due principali categorie:

- processo eterotrofo, in cui i batteri sfruttano il carbonio organico come fonte sia per la sintesi cellulare che di energia;
- processo autotrofo, in cui i batteri sfruttano il carbonio inorganico per la sintesi cellulare ed una generica sostanza inorganica funge da fonte di energia.

Tra i processi di rimozione dei nitrati dalle acque di falda quelli che sfruttano la denitrificazione eterotrofa sono i più studiati e hanno trovato più ampia applicazione in pieno campo (Soares, 2000).

2.4.2.2 Denitrificazione eterotrofa

Il processo eterotrofo di denitrificazione sono i più studiati in installazioni di pieno campo (Soares, 2000).

Gli elettroni necessari per la denitrificazione si originano dalla ossidazione della sostanza organica ad opera della biomassa.

I ceppi batterici in grado di operare il processo di denitrificazione sono ubiquitari e molteplici, di cui i più abbondanti appartengono alla famiglia dei *Pseudomonas*. In tabella 2.2 vengono elencati i principali:

Tab. 2.2 Principali specie batteriche eterotrofe denitrificanti (Payne, 1973)

Nitrate respiring (NO ₃ ⁻ → NO ₂ ⁻)		Denitrifying (NO ₃ ⁻ → NO ₂ ⁻ → NO → N ₂ O → N ₂)
<i>Achromobacter</i> (24)	<i>Haemophilus</i> (308)	<i>Achromobacter</i> (140)
<i>Actinobacillus</i> (24)	<i>Halobacterium</i> (24)	<i>Alcaligenes</i> ^a (200)
<i>Aeromonas</i> (24)	<i>Leptothrix</i> (24)	<i>Bacillus</i> (69, 377)
<i>Agrobacterium</i> (24)	<i>Micrococcus</i> (24)	<i>Chromobacterium</i> (24)
<i>Agrobacterium</i> (24)	<i>Micromonospora</i> (24)	<i>Corynebacterium</i> ^b (285)
<i>Alginomonas</i> (24)	<i>Mycobacterium</i> (92, 175, 280)	<i>Halobacterium</i> (24)
<i>Arizona</i> (263)	<i>Nocardia</i> (24)	<i>Hyphomicrobium</i> (322)
<i>Arthrobacter</i> (24)	<i>Pasteurella</i> (24)	<i>Micrococcus</i> (255, 262)
<i>Bacillus</i> (239, 302)	<i>Propionibacterium</i> (24)	<i>Moraxella</i> (131)
<i>Beneckea</i> (24)	<i>Proteus</i> (56)	<i>Nitrosomonas</i> ^b (133, 390) (Not known if observed nitrite reduction to nitric oxide and nitrous oxide serves respi- ratory function)
<i>Brevibacterium</i> (24)	<i>Providencia</i> (263)	<i>Propionibacterium</i> (24)
<i>Cellulomonas</i> (24)	<i>Pseudomonas</i> (24)	<i>Pseudomonas</i> ^b (82, 110, 268)
<i>Chromobacterium</i> (24)	<i>Rettgerella</i> (83)	<i>Spirillum</i> (379)
<i>Citrobacter</i> (263)	<i>Rhizobium</i> (53)	<i>Thiobacillus</i> (1, 137)
<i>Corynebacterium</i> (153)	<i>Salmonella</i> (332)	<i>Xanthomonas</i> (379)
<i>Cytophaga</i> (24)	<i>Sarcina</i> (24)	
<i>Enterobacter</i> (<i>Aerobacter</i> or <i>Klebsiella</i>) (265, 334, 369)	<i>Selenomonas</i> (24)	
<i>Erwinia</i> (24)	<i>Serratia</i> (239)	
<i>Escherichia</i> (305)	<i>Shigella</i> (263)	
<i>Eubacterium</i> (24)	<i>Spirillum</i> (38)	
<i>Flavobacterium</i> (24)	<i>Staphylococcus</i> (174, 391)	
	<i>Streptomyces</i> (176)	
	<i>Vibrio</i> (24)	
	<i>Xanthomonas</i> (24)	

La presenza dei batteri eterotrofi in natura non è mai limitante il processo di denitrificazione; al contrario la disponibilità di carbonio organico è identificato come il maggior fattore limitante la cinetica di processo (Smith et al., 1988; Gillham, 1993; Rivett et al., 2008).

In particolare la cinetica di denitrificazione è correlata al contenuto di carbonio organico disciolto negli spazi interstiziali del sottosuolo e nelle acque di falda (Cannavo et al., 2004), più che alla frazione di carbonio organico del terreno (f_{OC}). Tipicamente negli acquiferi si riscontrano concentrazioni di DOC minori di 5 mgL⁻¹ (Rivett et al., 2007). Valori di questa entità risultano limitanti il processo denitrificativo, che si esplica secondo la reazione stechiometrica illustrata dall'equazione 2.9 (Robertson et al., 2000; Su e Puls, 2006), nella quale un generico composto organico è rappresentato dal termine CH₂O:



La relazione stechiometrica sopra riportata indica che per convertire 0.98 mgL⁻¹ di nitrati, è necessario 1 mgL⁻¹ di DOC.

Prima di poter essere consumato per il processo di denitrificazione, il carbonio organico viene ossidato dall'eventuale ossigeno presente nel sistema, secondo una reazione stechiometrica che richiede 1 mg C L⁻¹ di

DOC per convertire 2.7 mg L^{-1} di O_2 . Allora se si considera un acquifero saturo di ossigeno ($\sim 10.3 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ a una temperatura di 12°C), saranno necessari 3.8 mg C L^{-1} di DOC. Tale valore di DOC può pertanto essere considerato come valore soglia al di sotto del quale il processo di denitrificazione non può innescarsi.

Convenzionalmente gli studi sulla denitrificazione eterotrofa si sono basati sull'utilizzo di sostanze organiche solubili e a basso peso molecolare come acetato, metanolo, glucosio e etanolo (Gómez *et al.*, 2000; Chou *et al.*, 2003; Calderer, 2010). Recentemente invece la ricerca si è spostata verso substrati organici solidi, tra cui: segatura di legno, fibre di cotone, granoturco, carta da giornali. Tali substrati, oltre a cedere carbonio organico, hanno la particolarità di fungere da materiale di supporto per la crescita del biofilm all'interno di un reattore di denitrificazione.

Come fin qui espresso, il principale fattore che influenza il processo è la disponibilità di carbonio organico, tuttavia vi sono importanti parametri ambientali che condizionano l'evolversi della denitrificazione biologica; tra questi i principali sono il contenuto di ossigeno disciolto, la disponibilità di nutrienti, il pH e la temperatura nel sistema (Gibert *et al.*, 2008)

2.4.2.3 Influenza dei parametri ambientali

La presenza di ossigeno disciolto in un sistema in cui vi sono contemporaneamente nitrati rende la denitrificazione energeticamente meno vantaggiosa, ovvero la biomassa facoltativa eterotrofa tenderà a ridurre l'ossigeno disciolto piuttosto che i nitrati.

Vi è un generale consenso nel considerare una concentrazione di $1\text{-}2 \text{ mg L}^{-1}$ di ossigeno come soglia al di sotto della quale può avere luogo la denitrificazione (Rivett *et al.*, 2008). La tabella 2.3 riassume i valori soglia ottenuti nell'ambito di diversi studi sperimentali.

Tab. 2.3 Concentrazione di ossigeno nel sottosuolo al di sotto della quale è stata osservata denitrificazione (Rivett et al., 2008)

Ossigeno disciolto [mgO ₂ L ⁻¹]	Origine della contaminazione	Riferimento
2-3	Plume da fertilizzanti	Tang and Sakura (2005)
2	Plume da fossa settica	Gillham (1991)
1.2	Plume da fertilizzanti	Gallardo and Tase (2005)
1	Plume da fertilizzanti	Puckett and Cowdery (2002)
1	Plume da fertilizzanti	Bölke et al. (2002)
1	Plume da discarica	Christensen et al. (2000)
1	Plume naturale	Vogel et al. (1981)
1	Plume da fossa settica	DeSimone and Howes (1998)
1	Plume da fossa settica	Starr and Gillham (1993)

Alcuni studi hanno inoltre evidenziato la presenza di denitrificazione anche per concentrazioni di ossigeno disciolto fino a 4,5 mg/l (Gómez et al., 2002; Foglar et al., 2005).

Un altro importante parametro che influenza la denitrificazione biologica è la temperatura.

Usualmente i valori ottimali di temperatura per il processo sono compresi tra 25 e 35 °C (Ovez, 2006), tuttavia è stato osservato che la denitrificazione si sviluppa anche nel range ben più ampio 2-50°C (Brady e Weil, 2002).

Bisogna inoltre considerare che l'aumento di temperatura diminuisce la solubilità dell'ossigeno, con conseguente crescita dei processi di denitrificazione. In generale si può affermare che per ogni incremento della temperatura di 10°C si ha un raddoppio della velocità di denitrificazione (Gauntlett e Craft, 1979).

Robertson et al., (2000) hanno osservato che tra 2 e 5 °C la velocità di denitrificazione, all'interno di una barriera reattiva permeabile, era pari ad un valore medio di 5 mg-N L⁻¹ d⁻¹; per valori di temperatura invece compresi tra 10 e 20°C la cinetica è incrementata fino a 15-30 mg-N L⁻¹ d⁻¹.

L'attività biologica di denitrificazione trova sviluppo nel range ottimale di valori del pH compresi tra 5.5 e 8 (Gibert et al., 2008; Rivett et al., 2008). Valori troppo bassi o troppo alti possono condizionare il processo rallentandolo o addirittura inibendolo.

Ad esempio, valori inferiori a 5 inibiscono il processo sequenziale di denitrificazione, che può così interrompersi alla formazione dei prodotti intermedi NO_2^- e N_2O (Brady e Weil, 2002).

Infine la denitrificazione si sviluppa in ambiente riducente a partire da un potenziale redox di +300mV (Brettar et al., 2002; Chung et al., 2004); tuttavia, esistono studi che innalzano tale soglia fino a 750 mV (Hemond e Fechner-Levy, 2000).

2.4.2.4 Cinetica di reazione

La molteplicità dei fattori che governa il processo di denitrificazione nelle matrici sotterranee, quanto la mancata conoscenza dei corretti parametri cinetici e stechiometrici, hanno determinato un modesto sviluppo della modellazione del processo rispetto a quello relativo al trattamento delle acque reflue (Calderer et al., 2010).

L'approccio più comune per descrivere questi processi è stato quello legato all'uso delle cinetiche di Monod (Environment Agency, 2005).

Bowman e Focht nel 1974 stabilirono che la cinetica di denitrificazione andava correlata alla disponibilità sia di carbonio, che di nitrati. Va poi considerato il fatto che ci sono dei fattori in grado di inibire il processo, come la presenza di ossigeno ed il fatto che non tutti i batteri eterotrofi sono in grado, passando ad un metabolismo anossico, di operare la denitrificazione (Batchelor, 1982).

Alla luce di quanto detto, utilizzando una multi cinetica alla Monod, possiamo esprimere la velocità di crescita dei batteri eterotrofi in condizioni anossiche mediante la seguente equazione (Fahrner, 2002; Calderer et al., 2010) :

$$\mu_H = \mu_{max}^{den} X_H \frac{\text{NO}_3^-}{\text{NO}_3^- + K_{\text{NO}_3}} \frac{\text{OC}}{\text{OC} + K_{\text{OC}}} \frac{K_{\text{I},\text{O}_2}}{\text{O}_2 + K_{\text{I},\text{O}_2}} * \eta \quad (2.10)$$

Dove:

μ_H : velocità di crescita dei batteri eterotrofi;

μ_{max}^{den} : massima velocità di crescita dei batteri eterotrofi;

X_H : concentrazione biomassa eterotrofa;

NO_3^- : concentrazione di nitrati;

K_{NO_3} : costante di semi-saturazione per i nitrati;
 OC: concentrazione di carbonio organico
 K_{OC} : costante di semi-saturazione del carbonio organico;
 K_{I,O_2} : coefficiente di inibizione per l'ossigeno;
 O_2 : concentrazione di ossigeno disciolto;
 η : coefficiente di inibizione dovuto alle condizioni anossiche.

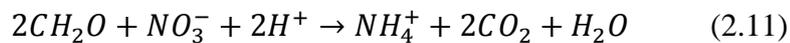
In tabella 2.4 sono riportati i parametri della cinetica di Monod ricavati da diversi studi di letteratura.

Tab. 2.4 Parametri della cinetica di Monod ricavati dalla letteratura di riferimento

Parametro	Valore	Riferimento
μ_{max}^{den} [d ⁻¹]	1.5-2	Kinzelbach <i>et al.</i> , 1991
	0.65	Killingstad <i>et al.</i> , 2002
	1.4	Killingstad <i>et al.</i> , 2002
K_{NO_3} [mgNO ₃ L ⁻¹]	2.2	Henze <i>et al.</i> , 2000
	0.9	Killingstad <i>et al.</i> , 2002
K_{OC} [mgCODL ⁻¹]	20	Henze <i>et al.</i> , 2000
	343	Pala and Bolukbas, 2005
K_{I,O_2} [mgO ₂ L ⁻¹]	0.62	Schäfer <i>et al.</i> , 1998
	0.001	Doussan <i>et al.</i> , 19
η [-]	0.8	Henze <i>et al.</i> , 2000

2.4.2.5 DNRA

Sotto certe condizioni ambientali, può innescarsi un processo concorrenziale alla denitrificazione eterotrofa, nel quale i nitrati vengono ridotti in condizioni anaerobiche per produrre ione ammonio; tale processo è detto “*Dissimilatory Nitrate Reduction to Ammonia*”(DNRA). La reazione avviene secondo l'equazione 2.11 (Rivett *et al.*,2008):



Il processo fermentativo di DNRA è promosso da diverse specie microbiche tra cui *Clostridia*, *Desulfovibrio*, *Vibrio* e *Pseudomonas*. Le condizioni in cui si sviluppano i due processi di rimozione dei nitrati

sono simili, ma è stato osservato che la DNRA è favorita in ambienti con un elevato rapporto carbonio:azoto (Gibert et al., 2008). La presenza di alta disponibilità di carbonio organico favorisce gli organismi che usano più efficientemente gli accettori di elettroni; la DNRA avviene con il trasferimento di otto elettroni per mole di nitrati ridotto, mentre per la denitrificazione vengono trasferiti solo cinque elettroni (Burgin e Hamilton, 2007).

Mentre i prodotti finali del processo di denitrificazione sono gassosi e non contribuiscono all'eutrofizzazione, l' NH_4^+ che si forma per DNRA non viene rimosso dal sistema e può successivamente mineralizzare o nitrificare producendo NO_3^- (Greenan et al., 2006).

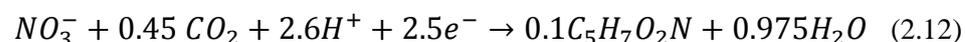
2.4.2.6 Denitrificazione autotrofa

In alternativa alle specie batteriche eterotrofe che utilizzano come substrato carbonioso composti organici è possibile utilizzare biomasse autotrofe che sfruttano carbonio inorganico (CO_2) come fonte di carbonio per la sintesi cellulare. La denitrificazione avviene sfruttando l'ossigeno dei nitrati per ossidare il donatore di elettroni, che può essere ferro, idrogeno o composti dello zolfo.

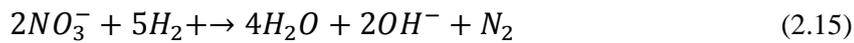
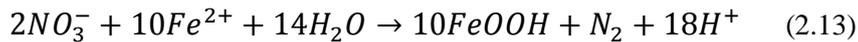
Le più comuni biomasse autotrofe sono *Thiobacillus denitrificans* e *Thiomicrospira denitrificans*.

La denitrificazione autotrofa, dunque, ha l'importante vantaggio di non richiedere una fonte organica di carbonio, riducendo fino a quasi annullare il rischio di un rilascio di inquinante organico nell'effluente trattato.

Di seguito viene riportata l'equazione stechiometrica per la sintesi di cellule batteriche, nella quale gli elettroni sono forniti dal substrato donatore, che cambia a seconda della tipologia di processo considerata (Ghafari et al., 2009; Metcalf e Eddy, 2004):



In funzione del composto utilizzato come donatore di elettroni, si possono avere le seguenti reazioni di processo (Rivett et al., 2008; Nicosia e Lanza, 2010):



In relazione allo zolfo è stata utilizzata l'equazione 2.13 dove lo zolfo compare sottoforma di disolfuro di ferro. Ciò è dovuto al fatto che nelle tipiche condizioni che si instaurano all'interno di un acquifero, lo zolfo è presente in questa forma (Rivett et al., 2008).

Va precisato che contestualmente alle reazioni di respirazione (2.13÷2.15), avvengono anche quelle di sintesi che utilizzano la CO₂. In generale tutti i processi di denitrificazione autotrofa sono limitati dalla disponibilità di CO₂ (Darbi et al., 2003); vi sono però anche dei limiti specifici in funzione del tipo di donatore di elettroni coinvolto.

L'inconveniente maggiore legato all'utilizzo di idrogeno come donatore di elettroni (2.15) è dovuto al fatto che questo può formare con l'ossigeno miscele infiammabili ed esplosive ed inoltre che la sua solubilità in acqua è molto bassa (1.6 mg/l a 20°C) (Soares, 2000). Va però messo in evidenza il fatto che l'idrogeno gassoso è il substrato ideale per la denitrificazione, specialmente se il trattamento è finalizzato alla potabilizzazione.

Questo infatti è perfettamente innocuo se presente in acqua e quindi non sono necessari successivi trattamenti per rimuovere sostanze in eccesso o eventuali derivati (Soares, 2000).

Nel caso dell'equazione 2.14, la problematica maggiore è legata al fatto che durante la denitrificazione lo zolfo o le sue specie ridotte che vengono ossidate fino a solfato, si verifica un arricchimento delle acque in solfati che può generare inconvenienti. Alte concentrazioni possono infatti provocare effetti dannosi sulla salute umana: specialmente se combinati con magnesio i solfati possono produrre effetti lassativi sull'uomo; inoltre si possono verificare alterazioni del sapore delle acque, a soglie di concentrazioni variabili in funzione dei sali che si formano (Soares, 2000). In ogni caso va comunque tenuto presente che il limite massimo raccomandato per i solfati nelle acque potabili è di 400 mg/l (WHO, 1984).

Diversi studi finalizzati all'applicazione in pieno campo dello zolfo, dei suoi composti, e dell'idrogeno, come substrati possibili per operare la denitrificazione delle acque di falda, sono riportati nella letteratura scientifica (Lee et al. 2003; Wana et al., 2009; Park et al. 2009; Tang et al., 2011; Zhou et al., 2011).

Capitolo 3

Interventi di biorisanamento

3.1 Introduzione

I trattamenti di biorisanamento costituiscono una delle più promettenti tecnologie di risanamento in situ delle acque di falda (Calderer, 2010). Essi si basano sulla stimolazione dei naturali processi biologici degradativi e hanno dimostrato in molte applicazioni ottimi rendimenti di rimozione dei contaminanti. La figura 3.1 rappresenta le principali sorgenti, diffuse e concentrate, di una contaminazione da nitrati e i possibili interventi di risanamento biologico applicabili a valle di ciascuna sorgente individuata.

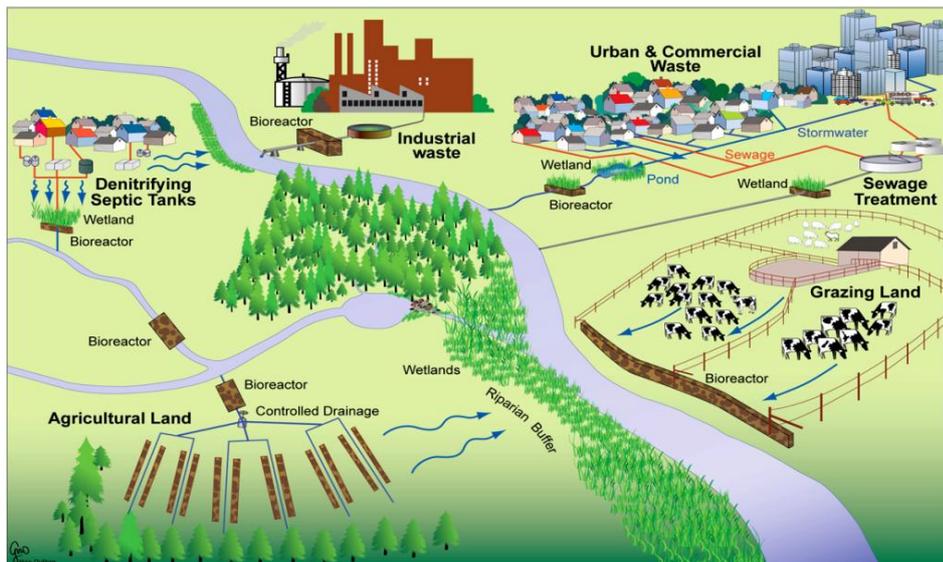


Fig.3.1 Schema di applicazione di interventi di biorisanamento (Schipper et al., 2010)

Le possibili strategie di intervento riguardano l'installazione di diverse configurazioni di bioreattori di denitrificazione (letto di denitrificazione,

barriera permeabile, terreni umidi artificialmente ricostruiti), e il ricorso alla capacità auto depurativa dei terreni umidi naturali delle zone ripariali.

In questo lavoro di tesi l'attenzione è stata rivolta allo studio del processo biologico di denitrificazione sfruttando i principi processistici della tecnologia delle barriere reattive permeabili biologiche (biobarriere) e all'osservazione dell'evoluzione spontanea del fenomeno biologico all'interno dei terreni umidi naturali.

3.2 Biobarriere di Denitrificazione

Le Biobarriere (o barriere biologiche) rappresentano un trattamento in situ di risanamento degli acquiferi contaminati da nitrati, che sfrutta il processo di denitrificazione eterotrofa; sono costituite, nella loro forma più semplice, da trincee riempite di materiale "reattivo" con caratteristiche di permeabilità tali da lasciarsi attraversare dal flusso di falda. Quest'ultimo infatti attraversa la barriera, installata ortogonalmente alla direzione principale di flusso, spinto dal naturale gradiente di falda. Si tratta pertanto di un sistema che lavora passivamente, senza necessità quindi di sistemi attivi di sollevamento.

Il materiale reattivo con cui viene riempita una barriera biologica consiste di un substrato solido in grado di rilasciare carbonio organico. Si crea in questo modo una zona ricca di carbonio organico che viene ossidato dalla biomassa eterotrofa quando la barriera viene attraversata dal plume contaminato da nitrati, che viene a sua volta ridotto in azoto gas. Come detto, affinché il processo di denitrificazione possa avvenire, è necessario che vi sia la compresenza del carbonio organico, della biomassa e delle condizioni geochimiche ottimali, di cui la principale è il basso livello di ossigeno disciolto. Il primo, è fornito appositamente introducendo il materiale "reattivo"; la presenza della biomassa è invece garantita dalle condizioni usualmente riscontrabili in falda (Gamble et al., 1977; Zumft, 1992), così come l'assenza di ossigeno disciolto, o almeno un tenore di quest'ultimo inferiore alla soglia di 4,5 mg/l (Gómez et al., 2002).

Una schematica rappresentazione di una biobarriera di denitrificazione è riportata in figura 3.2.

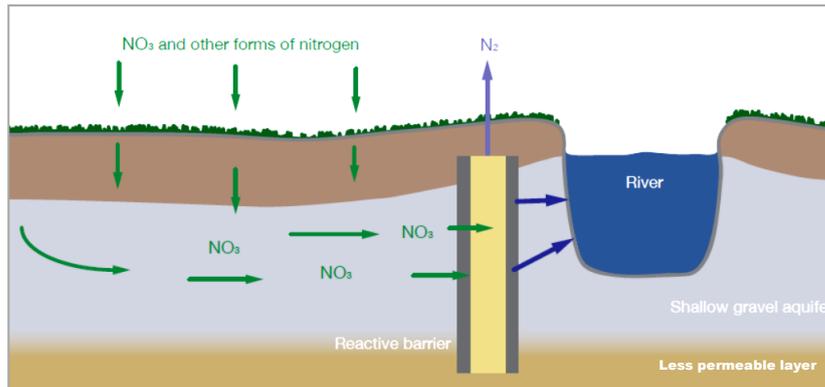


Fig.3.2 Schema di biobarriera di denitrificazione

È fondamentale che il materiale “reattivo” di riempimento abbia caratteristiche di permeabilità tali da lasciarsi attraversare dal flusso di falda e garantire un tempo di residenza sufficiente allo svolgimento delle reazioni chimiche.

Le biobarriere costituiscono un particolare tipo di Barriera Reattiva Permeabile (PRB). Si tratta di una tecnologia di bonifica verso la quale l’interesse scientifico si è rivolto nei primi anni ’90 vedendo in essa una valida ed efficace alternativa ai tradizionali metodi impiegati nella bonifica delle falde, quali in particolare il sistema Pump and Treat.

L’applicazione delle barriere reattive permeabili infatti offre diversi vantaggi rispetto alle altre tecnologie, tra cui i principali sono:

- agire passivamente, sfruttando il gradiente naturale della falda (diversamente ad esempio dal Pump and Treat, in cui è richiesto un pompaggio continuo, che vincola a sostenere dei costi energetici continui nel tempo);
- essere un intervento in situ con bassi costi di gestione;
- poter utilizzare il sito contaminato durante la bonifica, per svolgere le operazioni di ripristino ambientale e di riqualificazione dell’area;
- essere caratterizzata da limiti progettuali poco restrittivi (25-30 m massima profondità della PRB; 0,5-5 m range tipico degli spessori di una PRB); va però aggiunto che nel caso in cui il substrato impermeabile si trovi a notevole profondità si possono riscontrare difficoltà per quanto riguarda la possibilità tecnico-economica di sostenere lo scavo realizzato;

- essere realizzata al di sotto della superficie e di non presentare quindi problemi di impatto visivo, quali quelli causati da presenza di impianti, pompe, etc.

Stante la dimostrata efficacia di rimozione e i vantaggi relativi alla sua applicazione, prima elencati, sono numerose le realizzazioni di PRB, soprattutto negli Stati Uniti, in Canada e in misura minore Europa.

La PRB presenta inoltre il vantaggio di poter essere utilizzata per la rimozione di numerosi inquinanti, diversificando i meccanismi di rimozione in funzione del materiale reattivo utilizzato. Ad oggi, indubbiamente il materiale reattivo più frequentemente utilizzato è il ferro zero-valente, impiegato per rimuovere composti organici (solventi clorurati, idrocarburi non aromatici, etc.) e inorganici (cromo, uranio, ecc.)

Nella tabella 3.1 sono riportati i principali inquinanti che possono essere trattati mediante PRB, i relativi meccanismi di rimozione e i materiali reattivi utilizzabili.

Tab. 3.1 Contaminanti trattabili mediante PRB (Di Molfetta, 2002)

Contaminante	Tipo di Meccanismo	Mezzo reattivo
Organico DCE, TCE, PCE BTEX Nitrobenzene DCA, TCA PCBs, PAHs	Degradazione	Ferro zerovalente Microrganismi Composti a rilascio di ossigeno Ditionite
	Adsorbimento	Zeolite Silicati tensioattivi Bentonite organica Carboni attivi
Inorganico Metalli pesanti (Ni,Pb,Cd,Cr,V,Hg) Elementi radioattivi (U,Ra,Sr,Cs,Tc) Nitrati	Adsorbimento	Torba Idrossido di ferro Bentonite Zeolite Chetina di perla
	Precipitazione	Idrossidi di fosforo Ferro zerovalente Ditionite Calce e calcare
	Degradazione	Sostanze organiche

Quindi reazioni di tipo chimico, fisico e biologico consentono di ridurre la concentrazione del contaminante in falda secondo i tre meccanismi riportati nella tabella e di seguito descritti:

- a) *degradazione*: è il meccanismo più interessante in quanto modifica la costituzione del contaminante rendendolo meno tossico e più biodegradabile;
- b) *adsorbimento*: consente di trattenere il contaminante sulla superficie dei costituenti della barriera. La capacità adsorbente dipende sia dalla superficie di contatto, che potrebbe essere limitata da fenomeni di sporcamento della barriera, che dalle concentrazioni della sostanza in fase solida e liquida, e ciò può comportare l'esaurimento del materiale reattivo; ciò comporta la necessità di un'estrazione del materiale reattivo per essere sostituito;
- c) *precipitazione*: la reazione chimica che avviene fa sì che il contaminante precipiti e si depositi all'interno della barriera stessa. Anche in questo caso l'estrazione del precipitato può rendersi necessaria per la sua eventuale pericolosità o per ripristinare i complessi reattivi della barriera.

Tra le diverse tipologie di PRB, le biobarriere costituiscono quella più economica in forza del materiale reattivo che viene utilizzato.

3.2.1 Materiali di riempimento

La scelta del materiale di riempimento in una PRB in genere e nelle biobarriere in particolare è un aspetto di primaria importanza. Rappresenta infatti l'elemento "reattivo". In una biobarriera, il substrato scelto deve essere capace di cedere in soluzione acquosa il carbonio organico, che agisce sia da nutriente che da donatore di elettroni nel processo di denitrificazione. Il rilascio deve essere abbondante, in modo che il carbonio organico nel sistema non sia un fattore limitante il processo di denitrificazione, e deve inoltre avvenire lentamente e in modo continuo nel tempo. Quest'ultimo fattore risulta essenziale poiché serve a garantire che la barriera conservi la sua reattività per un tempo significativamente lungo; in generale è sicuramente da preferire un substrato che rilascia moderate quantità di carbonio organico ma per lungo tempo, piuttosto che un substrato che rilascia elevate quantità per un tempo modesto.

In laboratorio sono stati analizzati diversi substrati carboniosi solidi, i quali, oltre a rilasciare carbonio organico, fungono da supporto per la crescita del biofilm all'interno del reattore.

Nelle applicazioni in piena scala ad oggi esistenti sono stati utilizzati esclusivamente materiali di scarto provenienti dal legno (segatura e trucioli di legno). Tale scelta è giustificata da molteplici fattori, tra cui: il legno è generalmente disponibile a basso costo, è facilmente reperibile e in abbondanti quantità, garantisce una buona permeabilità, è caratterizzato da elevati rapporti C/N (variabile da 30:1 a 300:1 a seconda del tipo di legno utilizzato; Gibert et al., 2008; Schipper et al., 2010) e inoltre la sua "reattività" è stabile nel tempo (Schipper et al., 2005; Robertson et al., 2009; Moorman et al., 2010).

Tuttavia su scala di laboratorio sono stati analizzati molti altri tipi di materiali carboniosi (Tab. 2.2) tra cui: compost, foglie (Gibert et al., 2008), amido (Ayyasamy et al., 2007), paglia (Vogan, 1993; Blowes et al., 1994), gusci di noci (Strietelmeier et al., 2001), cotone (Della Rocca et al., 2005, 2006), carta da giornale (Vlokita et al., 1996), olio vegetale (Hunter et al., 2001), semi di oliva (Salem et al. 2007).

Alcuni di questi materiali hanno mostrato cinetiche di rimozione talvolta ben più elevate dei materiali legnosi. Ad esempio le pannocchie di mais durante una sperimentazione durata 24 mesi hanno mostrato valori in media sei volte superiori (Cameron e Schipper 2010); contestualmente è stata però osservata una significativa degradazione del carbonio organico, richiedendo pertanto sostituzioni più frequenti del mezzo reattivo. Alla luce di questa considerazione i materiali legnosi, come prima detto, sono finora gli unici ad essere stati utilizzati nelle applicazioni in piena scala.

Tab. 3.2 Substrati carboniosi analizzati mediante test in laboratorio

Substrato	Tipo di prova effettuata	Riferimento
Truciolli di legno	Batch	Greenan et al. (2006); Gibert et al. (2008);
Truciolli di legno	Colonna	Shipper et al. (2010); Healy et al. (2012)
Paglia d'orzo	Colonna	Healy et al. (2012)
Cartone	Batch	Greenan et al. (2006)
Cartone	Colonna	Healy et al. (2012)
Carta di Giornale	Colonna	Volokita et al.(1996a,b)
Paglia di grano	Colonna	Vogan (1993); Soares and Abeliovich (1998); Shipper et al. (2010)
Granoturco	Batch	Greenan et al. (2006)
Chicchi di mais	Batch	Shipper et al. (2010)
Terreno naturale	Batch	Gibert et al. (2008)
Terreno e segatura	Colonna	Healy et al. (2006); Gibert et al. (2008)
Fibra di Cotone	Colonna	Della Rocca et al. (2005, 2006)
Compost	Batch	Gibert et al. (2008); Shipper et al. (2010)
Alghe	Batch	Ovez et al (2006)
Olio vegetale	Colonna	Hunter et al. (2001)
Trebbie di birra	Colonna	Benyoucef et al. (2013)

Una delle caratteristiche fondamentali dei materiali solidi studiati e ritenuti idonei per supportare il processo è la struttura lignocellulosica.

La lignocellulosa è il materiale rinnovabile più abbondante al mondo, essendo il costituente fondamentale dei tessuti vegetali. La lignocellulosa è costituita fondamentalmente da lignina e da polisaccaridi, ovvero cellulosa e emicellulosa.

La lignina è un polimero tridimensionale aromatico a elevato peso molecolare, elevata idrofobicità e dalla morfologia molto articolata, costituita da legami di varia natura difficilmente idrolizzabili. L'emicellulosa è un polisaccaride non strutturale a basso peso

molecolare, costituita da un gruppo limitato di zuccheri tra cui il D-glucosio e il D-galattosio. Si trova legata alla cellulosa tramite legami idrogeno, e alla lignina tramite legami covalenti. A causa della minore lunghezza delle catene polimeriche, lineari o ramificate, e delle caratteristiche non cristalline, le emicellulose sono più solubili in acqua della cellulosa. Risultano quindi più reattive e più velocemente idrolizzabili; in generale sono più facilmente attaccabili dagli stessi microrganismi che attaccano la cellulosa causandone la degradazione. Pur non conoscendo l'effettiva tipologia dei legami, l'emicellulosa costituisce il legame tra cellulosa e lignina.

La cellulosa è in assoluto il composto organico più abbondante in natura. È una macromolecola polimerica costituita dalla sequenza lineare di unità monosaccaridiche di glucosio, unite tra loro tramite legami idrogeno (Soares, 2000). La struttura della cellulosa è abbastanza stabile, cristallina, per cui solo le zone amorfe, poco ordinate, sono inizialmente suscettibili di reattività.

In conclusione, l'ordine con cui la struttura lignocellulosica viene degradata è il seguente: emicellulosa, cellulosa (prima la parte amorfa e dopo quella cristallina) e lignina (Ahmad et al., 2007).

In generale, un alto contenuto di cellulosa è molto favorevole per le applicazioni delle biobarriere, mentre non lo sono alti contenuti di lignina; il contenuto di emicellulosa indica la quantità di legami incrociati tra cellulosa e lignina, e conseguentemente influenza il lento rilascio di TOC. Pertanto dove il contenuto di emicellulosa è basso, la cellulosa è subito disponibile per essere degradata; in questo modo si ha un elevato rilascio di TOC seguito però da una rapida riduzione.

In media i materiali legnosi contengono 15-40 % di lignina, 35-55% di cellulosa e 5-25% di emicellulosa.

Sintetizzando, i materiali utilizzati per il riempimento devono garantire alcune caratteristiche fondamentali per il funzionamento del processo:

- reattività, ovvero capacità di rilasciare carbonio organico;
- stabilità, cioè durata del mezzo reattivo con mantenimento delle caratteristiche che consentano la reattività;
- disponibilità; da un punto di vista economico le PRB godono del fatto di non prevedere costi di esercizio, tale vantaggio economico può essere ulteriormente rafforzato dall'uso di materiali reattivi facilmente reperibili sul mercato e a costo contenuto;

- buona conducibilità idraulica, che deve essere maggiore di quella del suolo contaminato; la barriera non deve infatti rappresentare un “ostacolo” al normale deflusso della corrente filtrante, bensì deve essere in grado di "attirare" le linee di flusso della falda offrendo una via di passaggio energeticamente conveniente.

3.2.2 Quantificazione della rimozione dei nitrati e cinetica di reazione

L'analisi bibliografica relativa agli interventi di biorisanamento, evidenzia che non vi è un consenso univoco sul modello cinetico che meglio descrive il processo di denitrificazione che si esplica all'interno delle biobarriere. Posto che la rimozione dei nitrati può essere rappresentata con l'equazione di Michaelis Menten, gli autori si dividono nel descrivere il processo secondo una cinetica di ordine zero, per la quale la velocità di denitrificazione è indipendente dalla concentrazione di nitrati in ingresso, o di primo ordine, per la quale invece la rimozione dei nitrati è proporzionale alla concentrazione degli stessi.

Gli studi sperimentali condotti da Chun et al. (2006) e da Leverenz et al. (2010) riportano un migliore accordo del processo con una cinetica di primo ordine, in relazione a carichi di nitrati in ingresso al bioreattore considerati. Al contrario, molti studi tra cui Schipper et al. (2010) e Robertson (2010), ritengono che una cinetica di ordine zero sia maggiormente aderente al processo di denitrificazione; ciò in accordo con la considerazione che i bioreattori ricevono carichi di nitrati in concentrazione ben superiore rispetto al coefficiente di semisaturazione. Ad esempio Henze et al. (2000) riporta un valore di coefficiente di semisaturazione per i nitrati pari a $2.2 \text{ mgNO}_3\text{-NL}^{-1}$. A conferma di quanto sostenuto, Robertson (2010) presenta i risultati di una serie di prove in colonna utilizzando trucioli di legno, condotti con concentrazione di nitrati in ingresso variabile tra 3.1 e $49 \text{ mgNO}_3\text{-NL}^{-1}$; dalle osservazioni sperimentali non è emersa nessuna variazione della capacità di rimozione ad opera della biomassa.

Pertanto, si può affermare che per bassi valori di nitrati è possibile descrivere il fenomeno con una cinetica di primo ordine; ma nella maggior parte delle situazioni in cui si prevede l'installazione di bioreattori, può risultare più idoneo far ricorso a una cinetica di ordine zero.

I valori cinetici riportati in letteratura sono spesso molto differenti tra loro e non comparabili; ciò è dovuto dal un lato alle differenti condizioni operative con cui si esegue la sperimentazione (concentrazione di NO_3 in ingresso, massa di materiale reattivo, temperatura di esercizio, portata idraulica, etc.), dall'altro dai diversi modi con cui la cinetica viene calcolata.

Per il calcolo della cinetica nei bioreattori in pieno campo, assumendo un decadimento lineare della concentrazione dei nitrati, Schipper e Vojvodic-Vukovic (2000) suggeriscono di calcolare tale parametro in relazione al volume del mezzo reattivo (NR_{BV}), secondo l'equazione 3.1:

$$\text{NR}_{\text{BV}} = \frac{q \cdot A \cdot \Delta[\text{NO}_3\text{-N}]}{\text{media volume}} \quad (\text{g NO}_3\text{-N m}^{-3} \text{ d}^{-1}) \quad (3.1)$$

con:

- q velocità darciana (md^{-1});
- A sezione trasversale della biobarriera (m^2);

La rimozione dei nitrati ($\Delta\text{NO}_3\text{-N}$), viene calcolata al netto della produzione di ione ammonio e degli eventuali altri composti azotati prodotti diversi dall'azoto molecolare (N_2).

Altresì, introducendo la porosità efficace, l'equazione 3.2 può essere riscritta come segue (Schipper et al., 2010):

$$\text{NR}_{\text{EP}} = \frac{\text{NR}_{\text{BV}}}{n_e} \quad (\text{g NO}_3\text{-N m}^{-3} \text{ d}^{-1}) \quad (3.2)$$

Nella tabella 3.3 sono riportati alcuni dei valori di letteratura relativi a bioreattori in pieno campo, espressi tutti come da equazione 3.1, facilitando così una lettura comparata tra i diversi studi.

Tab 3.3 Cinetica di rimozione per applicazioni di pieno campo

Studio	Dimensione del bioreattore [m ³]	NO ₃ -N in ingresso [gN m ⁻³]	Velocità di rimozione media [g NO ₃ -N m ⁻³ d ⁻¹]
Schipper et al. (2005)	78	5-15	1.4
Fahrner (2002)	160	>60	15
Robertson et al. (2005a,b)	9	17	1.8
Robertson et al. (2005a,b)	360	14	1.5
Robertson et al. (2009)	17	10	3.4
Schipper et al. (2010)	83	53	1.4
Schipper et al. (2010)	294	5.5	0-11
Schipper et al. (2010)	1320	250	9.7

Le cinetiche caratteristiche degli studi in colonna, dove i volumi in gioco sono di ordini di grandezza inferiori rispetto ai bioreattori in piena scala, posso essere calcolate secondo l'espressione (Eq. 3.3) suggerita da Gibert et al. (2008):

$$\frac{\Delta[NO_3-N]}{HRT * massa\ substrato} \text{ (mgNO}_3\text{-N dm}^{-3}\text{ d}^{-1}\text{ g}^{-1}_{\text{sub}}) \quad (3.3)$$

Nella quale HRT è il tempo di residenza idraulico all'interno della colonna.

Anche in questo caso, la rimozione dei nitrati (ΔNO_3-N) viene espressa al netto dei valori di ione ammonio prodotto.

In tabella 3.4 si riporta una sintesi di lavori sperimentali in colonna riportati in letteratura.

Tab 3.4 Cinetiche di rimozione rilevate in studi in colonna

Substrato	NO₃-N in ingresso [mg dm⁻³]	Velocità di rimozione [mgNO₃-N dm⁻³ d⁻¹ g⁻¹_{sub}]
Carta di Giornale	20-22.6	n.r
Paglia di grano (Soares and Abeliovich, 1998)	22.6	0.52
Segatura (Gibert et al., 2008)	50	0.034
Segatura (Gibert et al., 2008)	50	0.022
Fibra di Cotone (Della Rocca et al., 2005, 2006)	19	0.064
Fibra di Cotone (Della Rocca et al., 2006)	24.8	0.5
Fibra di Cotone+ Fe ^o (Della Rocca et al., 2005, 2006)	24.8	0.62-0.73

3.2.3 Longevità di una biobarriera

Determinare la longevità della biobarriera risulta molto importante per progettare al meglio i sistemi di gestione, monitoraggio e prevedere i costi legati alla vita utile del sistema.

La durata dipende principalmente dalla capacità del materiale di riempimento di continuare a rilasciare carbonio organico e dal mantenimento di una buona conducibilità idraulica del mezzo.

Non vi sono ancora dati certi sulla durata delle biobarriere, stante l'origine relativamente recente di tale applicazione.

Ad oggi la barriera biologica più longeva è quella di Robertson e Cherry, costruita nel 1992 per trattare un plume di nitrati originatosi da fosse settiche in Ontario e riempita con un miscela di sabbia e segatura in rapporto volumetrico 80:20 %.

I dati di monitoraggio riportati in Robertson et al. (2008) rivelano che la biobarriera dopo 15 anni di processo in continuo ha mostrato una capacità di rimozione di circa $4 \text{ gNO}_3\text{-Nm}^{-3} \text{ d}^{-1}$, valore che se confrontato

con quello relativo al primo anno di funzionamento appare appena dimezzato.

Moorman et al. (2010) hanno stimato il tempo di emivita del materiale di riempimento di un bioreattore installato nel Settembre 1999 a Ames (Iowa, USA), per risanare le falde sotterranee compromesse da attività agricole intensive. Sono stati analizzati campioni di materiale reattivo (trucioli di legno) prelevati a differenti profondità dalla superficie. Il tempo di emivita è stato calcolato determinando la perdita di peso del substrato dovuta alla degradazione del legno. È emerso che gli strati più superficiali, a 90-100 cm di profondità, erano caratterizzati da una perdita in peso del 75%, in relazione alla quale è stato calcolato un tempo di emivita di 4,6 anni. I campioni di substrato prelevato a profondità di 155-170 cm hanno mostrato una perdita in peso pari appena al 20% ed un tempo di emivita calcolato di 36,6 anni. Tale differenza è stata attribuita al fatto che gli strati più superficiali erano verosimilmente soggetti a degradazione aerobica, con cinetica più spinta di quella anossica che invece ha caratterizzato gli strati più profondi.

La degradazione del substrato reattivo può causare la riduzione di permeabilità del mezzo, con conseguente ulteriore attenuazione della capacità reattiva della biobarriera. L'unico studio effettuato sull'evoluzione della conducibilità idraulica relativa a differenti substrati (Cameron e Schipper, 2010), ha evidenziato che la riduzione di conducibilità durante uno studio sperimentale durato due anni era dovuto alla formazione di bolle di gas e non alla degradazione del substrato organico. La riduzione della permeabilità causata dalla formazione di bolle di gas è stata riportata anche da Soares et al. (2000). La bassa solubilità in acqua dell'azoto gas può infatti condurre all'intasamento del mezzo filtrante; al fine di evitare tale forma di intasamento si può intervenire incrementando la velocità di attraversamento del flusso attraverso la barriera (Soares, 2000).

3.2.4 Dimensionamento di una biobarriera

La progettazione di un intervento di bonifica deve essere sempre preceduta da una fase di caratterizzazione, finalizzata a definire in dettaglio le caratteristiche della contaminazione e del sito in esame. In particolare, la corretta progettazione di una PRB richiede l'esecuzione di un accurato studio geologico e idrogeologico di dettaglio, finalizzato a ricostruire con precisione l'assetto litostratigrafico e piezometrico dell'area in esame, oltre che a fornire le proprietà idrodispersive dell'acquifero. È necessario inoltre disporre dei risultati di una campagna di indagini che consentano di caratterizzare le sostanze presenti dal punto di vista delle proprietà chimico-fisiche, della tossicità, della mobilità e della persistenza nelle diverse matrici ambientali oltre che la distribuzione spaziale delle concentrazioni. Si dovrà, in questa fase, effettuare una previsione dell'evoluzione della geometria e delle caratteristiche del plume inquinante nel tempo; tali valutazioni saranno utili per una corretta ubicazione della barriera e per il suo dimensionamento.

La fase di caratterizzazione deve essere seguita dalla realizzazione di una serie di prove di laboratorio, finalizzate a determinare il materiale reattivo ideale per la realizzazione della cella di trattamento, le costanti di degradazione relative alle reazioni di rimozione dei contaminanti e la possibile durata nel tempo della barriera reattiva.

Lo studio di questi aspetti può essere eseguito in laboratorio mediante due tipologie di prove:

- prove batch;
- prove in colonna.

In generale, le prove di laboratorio ritenute maggiormente affidabili per determinare le cinetiche di degradazione dei contaminanti, nonché per valutare le prestazioni a lungo termine del sistema, sono quelle eseguite in colonna; le condizioni così riprodotte risultano infatti più simili quelle reali, rispetto a quanto si otterrebbe con prove batch.

La modalità batch costituisce la fase preliminare dello studio della cinetica di degradazione (Zanetti, 2004). L'andamento della reazione viene valutato in un reattore chiuso e agitato, in cui vengono inizialmente posti a contatto la soluzione contaminata e, in un rapporto opportuno, il materiale reattivo scelto.

In tal modo si valuta come varia la concentrazione del contaminante nel tempo rispetto al valore iniziale, per verificare innanzitutto se il reagente sia in grado di degradarlo. In seconda istanza si determina il tempo di emivita, cosicché se si stanno analizzando differenti substrati, si può valutare quali tra questi sia più efficiente e quindi più idoneo al processo. Durante la sperimentazione in batch si ipotizza, per definizione, che i cambiamenti chimici e/o fisici che all'interno reattore avvengano in funzione del tempo, ovvero il reattore è spazialmente omogeneo.

L'apparecchiatura necessaria per eseguire le prove batch è tra le più semplici: consiste infatti in un recipiente in cui sono introdotti tutti i reagenti all'inizio della prova ($t=0$). Il recipiente viene quindi chiuso e agitato, in modo da consentire un ottimale contatto tra soluzione contaminata e reagente. Periodicamente sono prelevati campioni di liquido, così da monitorare l'evoluzione nel tempo del processo.

Tuttavia, poiché le condizioni che si instaurano nel reattore batch sono molto diverse da quelle reali di trasporto in falda, il tempo di processo dedotto dai batch test non può essere utilizzato per procedere al calcolo dello spessore della barriera. Pertanto l'utilità dei batch test risiede nella possibilità di estrapolare considerazioni di screening sulla capacità reattiva dei substrati analizzati e di comparazione sugli stessi.

Una volta acquisite le informazioni preliminari sulle caratteristiche dei reagenti, il processo degradativo può essere esaminato in modo più approfondito mediante la successiva fase di sperimentazione in colonna. Le misure e i risultati ottenuti da tale sperimentazione servono per il dimensionamento della PRB a scala reale. Infatti le modalità di contatto contaminante-reagente che si realizzano nel reattore simulano bene il comportamento reale di una PRB.

Nel reattore in colonna, a differenza di quello batch, l'alimentazione della soluzione contaminata avviene in continuo, così come lo scarico dell'effluente, per cui l'analisi del processo può essere condotta oltre che in funzione del tempo (come per i batch test), anche dello spazio; in particolare, nell'ipotesi di processo monodimensionale, questo coincide con la dimensione assiale della colonna, coincidente in pieno campo con la direzione di moto della falda.

L'installazione di laboratorio necessaria per eseguire la prova in colonna è mostrata in figura 3.3.

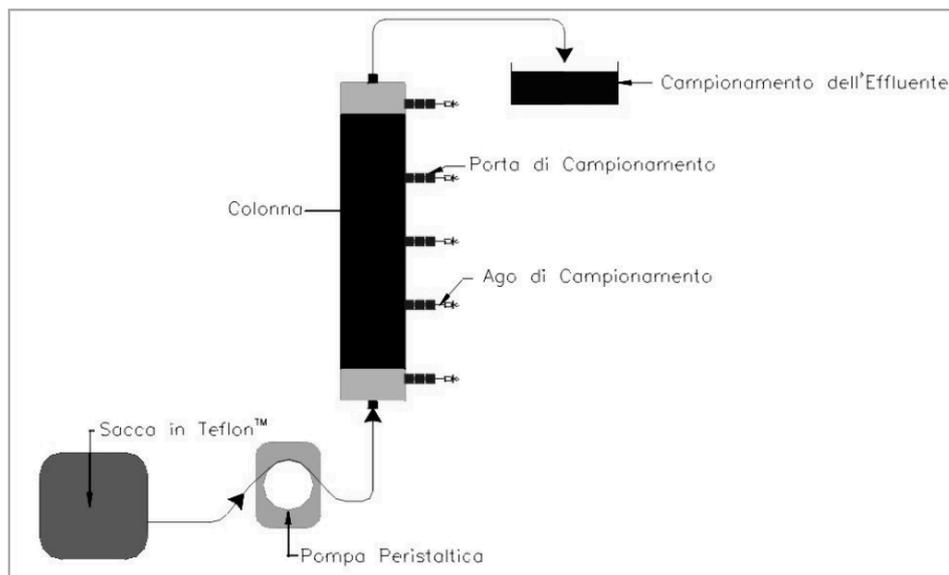


Fig.3.3 Schema di installazione per l'esecuzione di prove in colonna (Zanetti, 2004)

La soluzione inquinata, contenuta in una sacca in teflon, viene alimentata, mediante pompa peristaltica, nella sezione di ingresso della colonna, posta alla base della stessa. La colonna è costituita da un tubo in plexiglass con diametro compreso tra 5-10 cm e lunghezza variabile da 50 cm a 1 m. La colonna viene riempita con il materiale reattivo per tutta la sua estensione, tranne che alla base (tra la flangia di ingresso e l'inizio del riempimento) e all'estremità finale (tra la fine del riempimento e la flangia di uscita), dove viene posto del materiale inerte drenante al fine di rendere omogeneo il passaggio del flusso.

Lungo tutta la colonna sono realizzate delle prese di campionamento realizzate in modo tale da consentire il campionamento assiale lungo la stessa. Il campionamento avviene a intervalli di tempo corrispondenti al passaggio di volumi multipli della porosità della colonna (PV: pore volume).

La portata in uscita viene raccolta in apposito serbatoio, per consentire l'analisi.

L'installazione in colonna simula un moto di filtrazione monodimensionale, nel quale il contaminante si propaga secondo un flusso a pistone (Gavaskar et al., 1998).

Conoscendo la portata e la porosità, le distanze lungo la colonna, in corrispondenza delle quali sono poste le porte di campionamento, possono essere facilmente calcolati i tempi di residenza specifici per ogni porta con l'equazione 3.4:

$$t = \frac{\pi r^2 h n}{q} \quad (3.4)$$

dove t è il tempo di residenza associato alla generica quota h a partire dalla sezione iniziale della colonna, q è la portata che transita lungo la colonna ed n è la porosità della colonna.

In questo modo è possibile ricavare il profilo di concentrazione, relativo al PV al quale è stato eseguito il campionamento.

Ipotizzando una cinetica di primo ordine, la variazione nel tempo della concentrazione del contaminante può essere espressa mediante la seguente equazione:

$$\frac{dC}{dt} = -kC \quad (3.5)$$

Dalla quale risolvendo, si ricava facilmente il valore della costante di degradazione k :

$$C = C_0 e^{-kt} \quad (3.6)$$

Imponendo $C=C_0/2$, per integrazione della precedente 3.6, k risulta pari a:

$$k = \frac{\ln(2)}{t_{1/2}} \quad (3.7)$$

Dove $t_{1/2}$ rappresenta il tempo di emivita.

Noto k , è possibile calcolare il tempo di permanenza nella barriera T , cioè il tempo necessario per abbattere la sostanza inquinante dal valore iniziale C_0 fino al valore limite fissato dalla normativa di riferimento C_u :

$$T = \frac{1}{k} \ln \left(\frac{C_u}{C_0} \right) \quad (3.8)$$

Determinati il tempo di permanenza e la velocità effettiva dell'acqua di falda, lo spessore della PRB risulta:

$$s = T * v_e \quad (3.9)$$

Poiché alcune condizioni in pieno campo possono essere differenti da quelle di laboratorio, il tempo di permanenza calcolato viene maggiorato moltiplicandolo per un coefficiente di sicurezza.

Il dimensionamento può altresì effettuarsi considerando una cinetica di ordine zero rispetto alla concentrazione di nitrati. Diversi Autori ritengono infatti che l'evoluzione dei nitrati all'interno di una biobarriera risponde bene ad un modello cinetico di ordine zero, in quanto la concentrazione dei nitrati risulta generalmente superiore alla costante di semisaturazione K_m (Robertson, 2010).

3.2.5 Configurazioni di una PRB

Le configurazioni più comuni di una PRB sono:

- trincea continua: la trincea ha uno sviluppo longitudinale in direzione ortogonale a quello del flusso di falda, tale da intercettare l'intero plume contaminato senza che si verifichi una sostanziale alterazione del campo di flusso naturale;
- funnel and gate (F&G): prevede l'utilizzo di una barriera a bassa permeabilità a forma di imbuto (funnel), per indirizzare il flusso di acqua dalla regione contaminata ad una zona di trattamento permeabile contenente il materiale reattivo (gate);

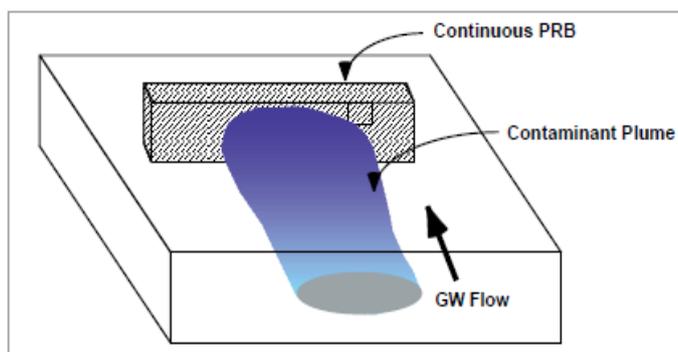
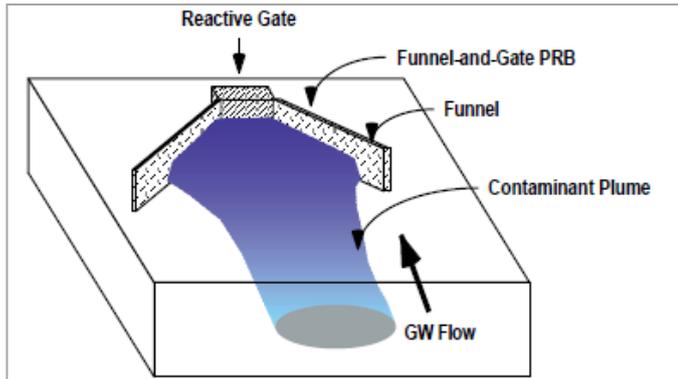


Fig.3.4 Configurazione di una PRB a trincea continua
(Di Molfetta, 2002)



**Fig.3.5 Configurazione di PRB a funnel and gate
(Di Molfetta, 2002)**

In figura 3.6 si riporta l'immagine di una biobarriera a trincea continua in fase di riempimento con segatura di legno.



Fig.3.6 Riempimento con segatura di legno di una PRB a trincea continua installata in Iowa (www.iasoybeans.com).

In linea generale, l'estensione e la geometria della barriera devono essere tali da garantire, al variare delle condizioni di flusso e anche in presenza

di oscillazioni esterne (oscillazioni della tavola d'acqua, fenomeni di ricarica, pompaggio, etc.), di intercettare completamente il pennacchio inquinante. Nei casi particolari in cui non tutto lo spessore saturo sia interessato dal fenomeno di inquinamento è possibile intervenire con una barriera "sospesa" limitando, in questo modo, le profondità degli scavi alla parte più superficiale dell'acquifero. Se la contaminazione è distribuita su tutto lo spessore saturo dell'acquifero, o nel caso in cui coinvolga gli strati più profondi, è necessario realizzare una barriera che raggiunga il basamento impermeabile dell'acquifero (fig.3.7). Una corretta localizzazione della cella reagente ed un adeguato immersionamento nel substrato impermeabile servono ad evitare l'instaurarsi di fenomeni di overflow e di underflow (fig.3.8). Risulta evidente che, all'aumentare della profondità della barriera, aumentano le difficoltà tecniche per la realizzazione ed il sostentamento dello scavo e, quindi, anche i costi di intervento.

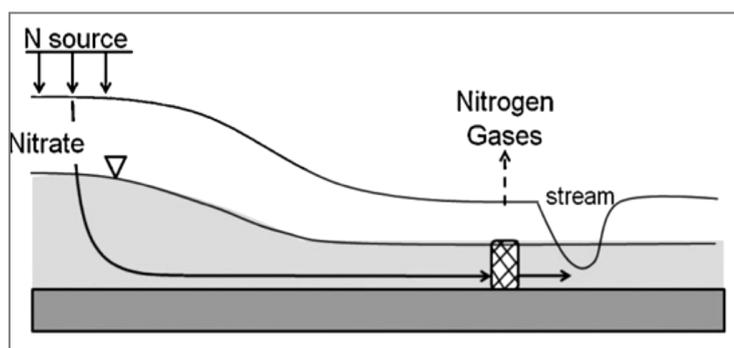


Fig.3.7 Immersionamento biobarriera nello strato impermeabile (Schipper et al. 2010)

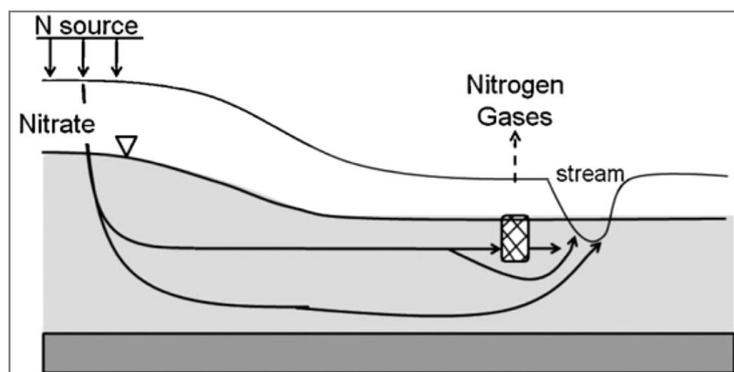


Fig.3.8 Fenomeni di under flow di una PRB (Schipper et al. 2010)

Fahrner (2002) ha presentato lo studio condotto su una installazione di pieno campo realizzata nel 2001 in Australia Occidentale all'interno della Geopraphe Bay. Si tratta di una barriera a trincea continua di 170 m lunghezza e 1,5 m di spessore, scavata all'interno di un acquifero sabbioso e immersata nel sottostante strato di argilla. Come rappresentato in figura 3.9, essa è posizionata a valle di un allevamento bovino, che costituisce la sorgente di contaminazione, e a monte di un corpo idrico ricettore. La figura consente inoltre di rilevare che è stata installata una rete di monitoraggio costituita da tre gruppi allineati di piezometri posti a monte, all'interno e a valle della barriera.

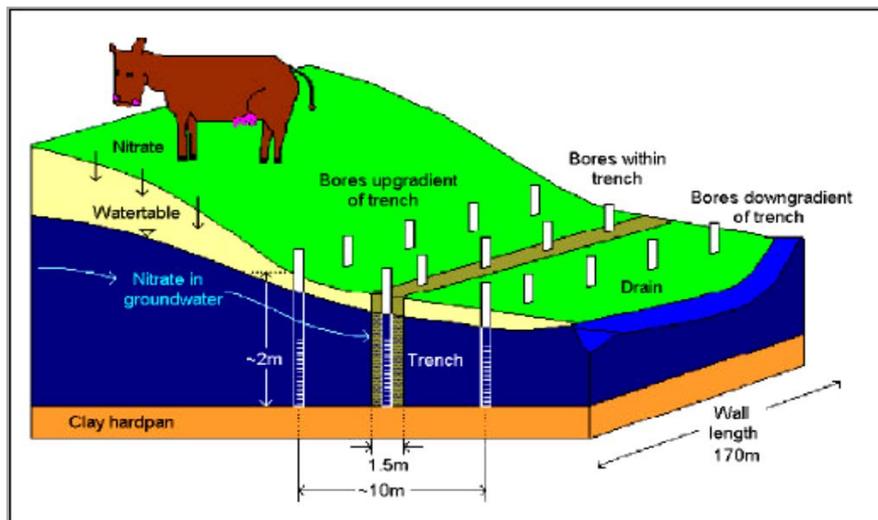


Fig. 3.9 Rappresentazione schematica della biobarriera di Fahrner (2002)

La barriera è stata riempita con una miscela costituita da terreno di scavo e 160 m^3 di segatura da *Pinus Radiata* di dimensione $<5\text{mm}$, in rapporto volumetrico pari a 30:70. La barriera è stata realizzata durante il periodo primaverile, quando il livello della superficie piezometrica era sufficientemente bassa da agevolare le operazioni di costruzione. La figura 3.8 mostra una immagine della barriera realizzata.



Fig. 3.10 Immagine della biobarriera riempita con segatura (Fahrner, 2002)

La barriera ha trattato un plume contaminato caratterizzato da concentrazioni di nitrati comprese tra 2,1 e 180 mgNL⁻¹. Dai risultati ottenuti, ricavati dal programma di monitoraggio messo in atto, si è rilevato un rendimento medio di rimozione del 71% ed una velocità di denitrificazione pari a 15 mgNL⁻¹d⁻¹; tale valore costituisce il maggiore tra quelli riportati in letteratura (tabella 3.3). Fahrner ha inoltre condotto una stima riguardo la longevità della barriera e quindi la reattività del substrato organico. In dettaglio, tramite bilanci di massa è stato possibile affermare che la segatura utilizzata, è in grado di garantire rilasci di carbonio organico per circa 20 anni.

In generale, una biobarriera, che abbia una configurazione a trincea continua o a funnel and gate, costituisce un'installazione volta a trattare la contaminazione diffusa delle acque di falda. Quando invece la contaminazione è legata a sorgenti concentrate, come lo sono ad esempio i drenaggi agricoli dell'acqua di irrigazione in eccesso (fig.3.11), è possibile utilizzare una configurazione differente, denominata "letto di denitrificazione" (Fig.3.12). Esso consiste in un reattore riempito con segatura o trucioli di legno prevalentemente, in cui l'acqua contaminata viene alimentata in esso per mezzo di condutture e di pozzetto di controllo che consente di by-passare il reattore nel caso di portata in

eccesso rispetto a quella massima alimentabile. Inoltre un secondo pozzetto posto a valle del reattore consente di regolare il flusso di uscita, modulando così i tempi di detenzione all'interno del reattore e quindi garantendo alla biomassa di completare il processo di denitrificazione.

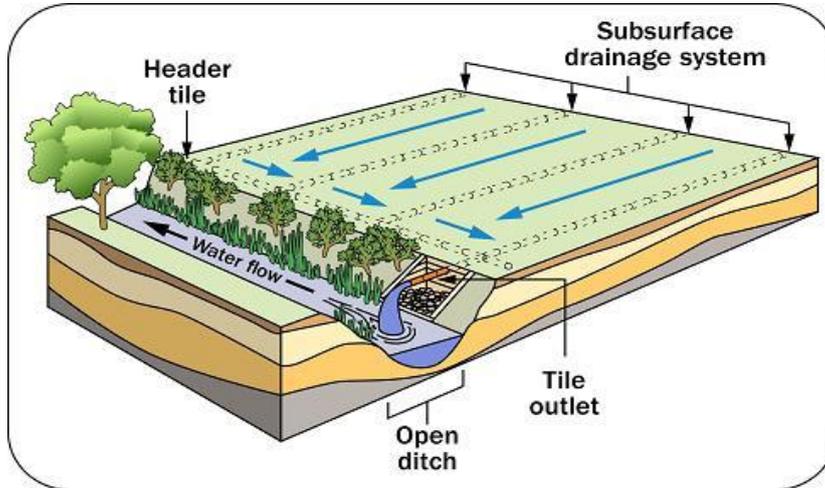


Fig.3.11 Esempio di drenaggio agricolo

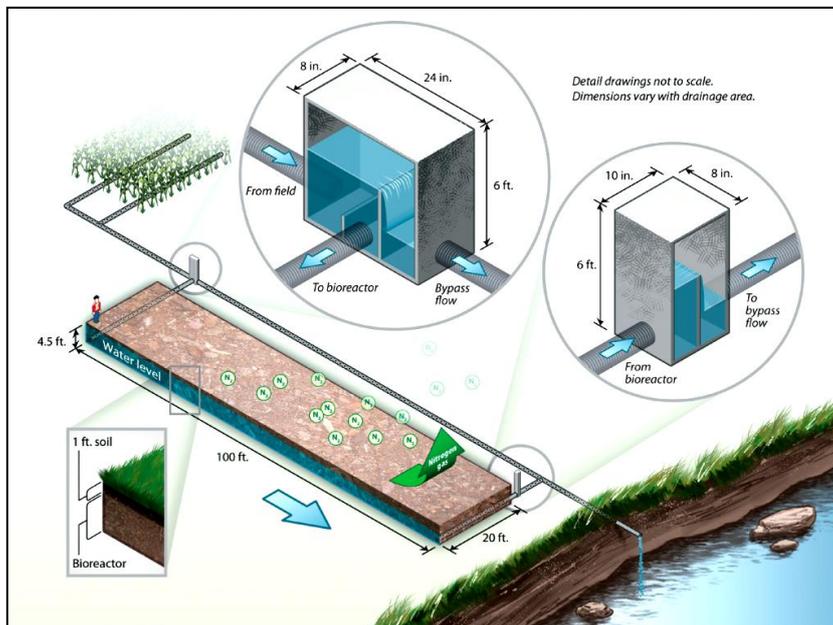


Fig.3.12 Schema Letto di Denitrificazione (Università IOWA, 2011)

In tabella 3.5 si riportano esempi di bioreattori (biobarriere e letti di denitrificazione) installati in pieno campo.

Tabella 3.5 Esempi di bioreattori installati in pieno campo

Configurazione	Riferimento	Dimensione (m³)	Paese
Biobarriera	Robertson et al. (2000)	1	Ontario (Canada)
	Schipper et al. (2005)	78	Cambridge (Nuova Zelanda)
	Jaynes et al. (2008)	79	Iowa (USA)
	Fahrner (2002)	160	Dunsborough (Australia)
Letto	Robertson et al. (2000)	2	Ontario (Canada)
	Robertson et al. (2005 a, b)	9	Ontario (Canada)
		108	Ontario (Canada)
		120	Ontario (Canada)
		360	Ontario (Canada)
		40	Ontario (Canada)
	Schipper et al. (2010b)	78	Dargaville (Nuova Zelanda)

3.3 Zone umide

Le zone umide sono ambienti costituiti da ecosistemi le cui caratteristiche naturali, condizionate dall'altitudine, dal clima, dalla geologia, e dall'idrologia sono estremamente variabili, tali da rendere difficile una descrizione univoca.

Negli anni sono state elaborate diverse definizioni, di cui se ne riportano alcune tra le principali:

- "...sono terre di transizione tra sistemi terrestri e acquatici ove la falda è usualmente in superficie o vicino ad essa e il terreno è coperto da acque basse. I terreni umidi devono avere uno o più dei seguenti attributi:
 1. Terre prevalentemente occupate da idrofite, almeno periodicamente la terra supporta prevalentemente le idrofite;
 2. Il substrato è costituito prevalentemente da suoli idromorfi non drenati;
 3. Il substrato è "non suolo" e ogni anno è saturato con acqua o coperto da acque basse durante il periodo vegetativo" (U.S. Scientific Definition-Fish and Wildlife Service, 1979).
- "Aree ove prevalgono i suoli umidi, caratterizzate da livello di falda prossimo o sovrastante il suolo minerale per la maggior parte della stagione del disgelo e che supportano idrofite" (Canadian National Wetlands Working Group, 1979).
- Terre che presentano il livello di falda vicino, sopra o al livello del terreno, terreno che si presenta saturo per un periodo sufficientemente lungo da consentire processi acquatici o palustri tipici di suoli idrici, della vegetazione acquatica e di vari tipi di attività biologiche che si sono adattate ad ambienti umidi" (Canadian Wetland Registry, 1979).
- "Le zone umide sono sistemi eterogenei ma con caratteristiche distintive, dipendenti da inondazioni di acque dolci, salmastre o salate a bassa profondità, costanti o ricorrenti, o da saturazione a livello del substrato o in sua profondità" (Gruppo di lavoro "Wetlands", 2003).

Quindi non esiste una definizione precisa e ognuna appare generica se confrontata con i caratteri specifici dei diversi ambienti acquatici a cui si applica. Tuttavia, sulla base delle definizioni sopra riportate, si possono individuare tre elementi comuni caratterizzanti:

- la persistenza stagionale o permanente di acque superficiali o di scarsa profondità;
- le peculiari proprietà fisiche e chimiche del suolo;
- la presenza di specie vegetali adatte all'ambiente umido (idrofiti) e l'assenza di vegetazione che non tollera elevata umidità;
- essere zone di transizione tra ambienti acquatici e terreni.

Lo schema di figura 3.13, proposto da Mitsch (2013), rappresenta le caratteristiche peculiari delle zone umide.

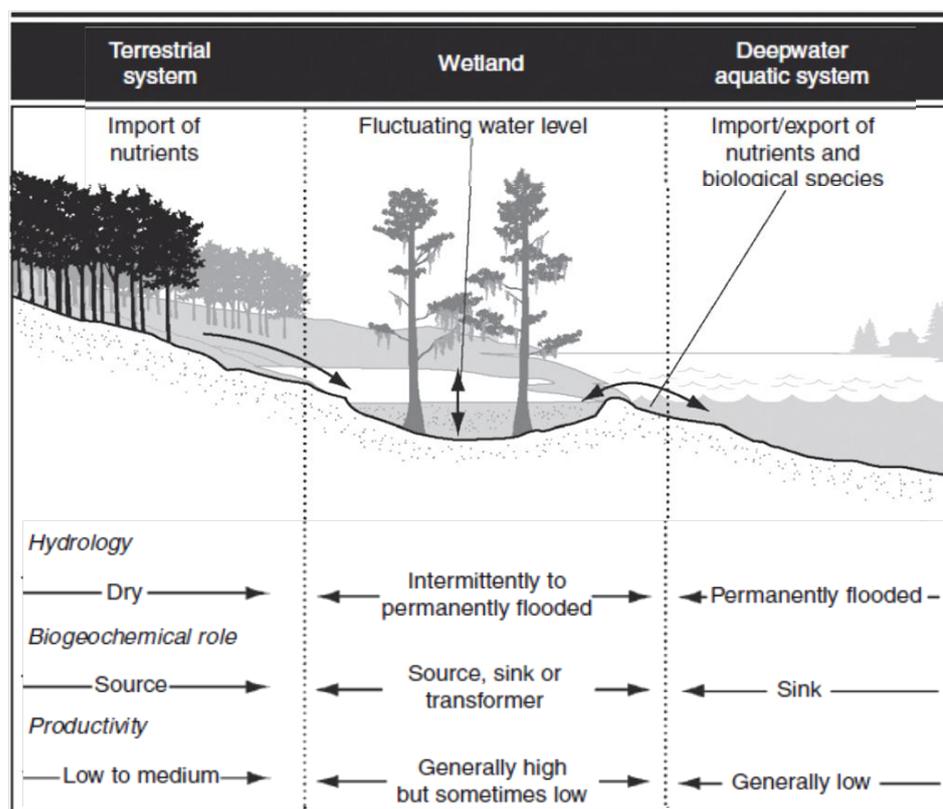


Fig. 3.13 Zone umide: zone di transizione tra ecosistemi terrestri e acquatici (Mitsch, 2013)

L'essere un ecosistema di transizione tra uno acquatico e uno terrestre, comporta che le zone umide sono soggette ad una idrogeologia intermedia e sono capaci di supportare un'elevata biodiversità, costituita da specie acquatiche quanto terrestri. Inoltre da un punto di vista biogeochimico, agiscono sia come sorgenti che come serbatoi di sostanze chimiche.

Storicamente e per molti secoli, le zone umide naturali sono state utilizzate per il trattamento delle acque di scarico prodotte dagli insediamenti abitativi e da alcune attività produttive. Nella maggior parte dei casi però le paludi venivano utilizzate come una sorta di bacino di accumulo prima dello sversamento nel corpo idrico recettore finale e non come veri e propri sistemi di trattamento, con la conseguenza di ottenere irreversibili degradazioni della loro qualità, con scarichi incontrollati ed inesistenti valutazioni sull'impatto provocato su di esse dalle acque inquinate. Culturalmente, infatti, le zone umide sono state storicamente considerate come malsane e inadatte alla vita umana.

Negli ultimi trent'anni si è invece assistito a un netto aumento di interesse e a un radicale cambiamento nella loro considerazione (Williams, 1990). Mitsch e Gosselink (2007) ad esempio, definiscono i terreni umidi come "supermercati ecologici" per via della elevata biodiversità che supportano. In essi sono presenti gli habitat ottimali per innumerevoli specie vegetali e animali.

Soprattutto i terreni umidi vengono descritti come importanti ecosistemi in grado di mantenere o risanare la qualità delle acque, come sistemi di mitigazione degli alluvioni e serbatoi naturali di carbonio organico (Mitsch, 2013).

Stante tali caratteristiche, a partire dagli anni '70 sono state condotte svariate esperienze di utilizzo controllato delle zone umide naturali al fine di valutare il loro potere autodepurativo.

In particolar modo, è stato osservato un buon attecchimento del processo di denitrificazione biologica, legato alla compresenza dei fenomeni assimilativi da parte delle piante, di zone a basso contenuto di ossigeno e di carbonio organico proveniente dalla decomposizione vegetale.

Ciò ha spinto sempre più a considerare i terreni umidi come interessanti "reattori" naturali di denitrificazione, sia per il trattamento delle acque reflue sia per il risanamento delle acque sotterranee.

Molteplici sono inoltre le ricostruzioni dei sistemi umidi naturali (*Constructed Wetland*), ovvero sistemi ingegnerizzati progettati e costruiti per riprodurre i naturali processi di degradazione dei nitrati in un ambiente maggiormente controllabile. Oltre a ciò, le zone umide artificiali offrono vantaggi aggiuntivi rispetto a quelle naturali, come ad esempio la scelta del sito, la flessibilità nelle scelte di dimensionamento e nelle geometrie, e, più importante di tutto, il controllo dei flussi idraulici e dei tempi di ritenzione. Uno schema di zona umida artificiale è riportato in figura 3.14.

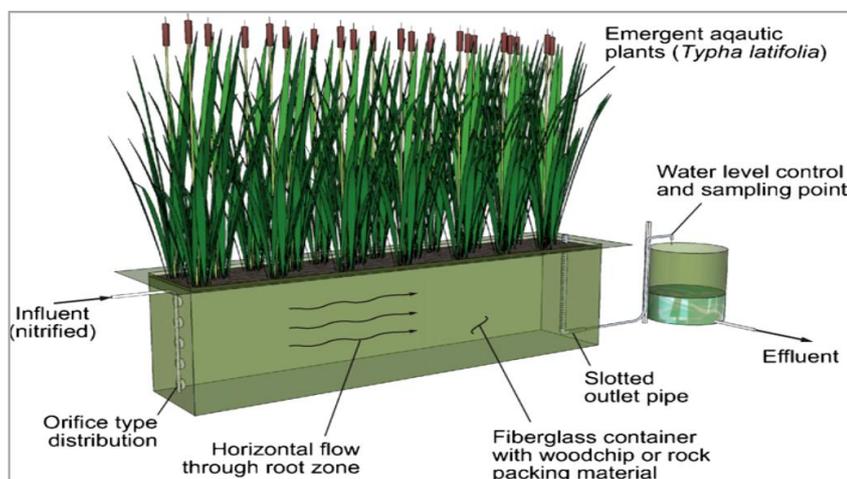


Fig.3.14 Zone umide artificiali (Leverenz et al., 2010)

All'interno dei sistemi umidi, come già detto, il carbonio organico è fornito principalmente dalle piante in esso presenti ed è utilizzato dalla biomassa eterotrofa come fonte sia di energia per la riduzione dei nitrati, sia di carbonio per la sintesi cellulare. Inoltre le piante agiscono positivamente sul processo biologico, in quanto forniscono alla biomassa estese superfici di attecchimento, fattore importante poiché i batteri crescono meglio se adesi a superfici piuttosto che sospesi in acqua (Bastviken et al., 2005). Di contro in alcuni casi, specie nei sistemi a idrofite sommerse, le piante possono sfavorire la denitrificazione in quanto i processi fotosintetici in acqua incrementano le concentrazioni di ossigeno nel terreno. Pertanto l'effetto netto della vegetazione dipende dalla tipologia delle piante considerate.

Diversi studi hanno mostrato che vi sono molte specie in grado di promuovere il processo; tra queste vi sono: *Lemna spp*, *Scirpus spp*, *Typha spp*, *Pennisetum purpureum*, *Phragmites australis*, *Commelina communis*, *T.latifolia*, *Ipomoea aquatica* e *Pistia stratiotes* (Bachand e Horne, 2000; Lin et al. 2002; Bastviken et al., 2005).

Il processo di denitrificazione all'interno dei terreni umidi è inoltre regolato da altri fattori, come il contenuto di ossigeno disciolto e di carbonio organico, la temperatura, la concentrazione di nitrati e la tessitura del suolo (Pfenning et al., 1997; Hefting et al., 2004; Hernandez et al., 2007; Song et al., 2012). L'importanza relativa di ciascun fattore nell'influenza che questo esercita sul processo, dipende naturalmente dalla sua magnitudo. Tra questi, uno dei più importanti è stato osservato essere la temperatura (Song et al., 2012).

La temperatura nei processi biologici costituisce indubbiamente uno dei principali fattori limitanti, come riportato al capitolo 2; si ritiene che il range ottimale per il quale il processo biologico di denitrificazione ben si sviluppa è compreso tra 25 e 35 °C (Ovez et al., 2006). Inoltre il legame di inversa proporzionalità che vi è con la solubilità in acqua dell'ossigeno rende la temperatura un parametro fortemente condizionante il processo. L'influenza esercitata dalla temperatura in terreni umidi è stata recentemente studiata da Song et al. (2012). In particolar modo è stata ricavata la seguente relazione con la cinetica di denitrificazione e la temperatura di processo:

$$y = 46.6N + 5.8T + 66.7 \quad (3.10)$$

con,

- y velocità di denitrificazione ($\mu\text{gN}_2\text{O m}^{-2} \text{h}^{-1}$);
- N concentrazione in ingresso di nitrati espressa come azoto ($\text{mgNO}_3\text{-N L}^{-1}$);
- T temperatura dell'acqua ($^{\circ}\text{C}$).

In accordo con questa relazione, sono stati determinati valori cinetici molto diversi durante l'alternarsi delle stagioni: $66 \div 224$ ($\mu\text{gN}_2\text{O m}^{-2} \text{h}^{-1}$) nel periodo Gennaio-Aprile, $186 \div 430$ ($\mu\text{gN}_2\text{O m}^{-2} \text{h}^{-1}$) durante la stagione estiva.

Anche Ribas et al. (2013) hanno analizzato il fenomeno; mediante batch test, sono state simulate tre diverse condizioni termiche: 20, 10 e 5°C.

Sono stati ricavati valori cinetici pari a $3.8 \text{ mg NO}_3^- \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ a 20°C , $3.0 \text{ mg NO}_3^- \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ a 10°C , and $2.9 \text{ mg NO}_3^- \text{ L}^{-1}$ a 5°C .

L'attività biologica di denitrificazione nei terreni umidi è inoltre condizionata dal susseguirsi di fenomeni stagionali, come l'alternanza di fenomeni di "drying and rewetting". La perdita di umidità del terreno favorisce l'infiltrazione di aria e quindi l'instaurarsi delle condizioni aerobiche; i processi di lisi cellulare e di mineralizzazione determinano una immissione nel terreno di carbonio organico e di ione ammonio (Qiu e McComb, 1996). Durante la successiva fase di riumidificazione lo ione ammonio può essere trasformato in nitrato consumando l'ossigeno presente nel sistema, ristabilendo così le condizioni anaerobiche necessarie per il metabolismo di denitrificazione, il quale è stato osservato procedere con maggiore velocità rispetto alla fase precedente (Austin e Strauss, 2011).

Capitolo 4

Attività sperimentale Biobarriere: prove batch

4.1 Introduzione

Oggetto di questo capitolo è lo studio in modalità batch del processo di denitrificazione eterotrofa. In particolar modo si vuole analizzare la capacità di quattro differenti substrati cellulosici di supportare il processo biologico, al fine di poter valutare la eventuale idoneità a costituire materiali di riempimento di biobarriere di denitrificazione.

Le analisi batch sono prove effettuate in discontinuo e costituiscono la fase preliminare dello studio sperimentale di fattibilità, consentendo di confrontare tra loro i diversi materiali reagenti e ottenere valutazioni di massima sulle cinetiche di processo.

Lo studio in batch è stato sviluppato in due fasi. La prima riguarda la valutazione della capacità dei substrati, posti in contatto con acqua, di cedere carbonio organico. Successivamente è stato analizzato l'evolversi nel tempo del processo di denitrificazione mediante test di microcosmo, dove la miscela substrato organico-terreno è stata posta in contatto con acqua artificialmente contaminata da nitrati.

Infine, i dati rilevati dai test di microcosmo sono stati elaborati per ricavare le costanti cinetiche relative al processo studiato e di confrontarle con studi analoghi.

La sperimentazione è stata svolta presso il laboratorio di Ingegneria Sanitaria Ambientale "Prof. Luigi Gagliardi" del Dipartimento di Ingegneria Civile, Ambientale, Aerospaziale, dei Materiali (DICAM) dell'Università degli Studi di Palermo.

4.2 Materiali Utilizzati

Il processo biologico di denitrificazione portato avanti dalla biomassa eterotrofa richiede, come già descritto al capitolo 2, la compresenza di nitrati, che agiscono come accettori di elettroni, e di carbonio organico, che funge sia da fonte di carbonio per la sintesi cellulare, sia da donatore di elettroni per la riduzione dei nitrati.

Pertanto il primo passo della attività di sperimentazione è stato quello di selezionare il substrato organico capace di supportare il processo.

Si è deciso di studiare la “reattività” di quattro diversi materiali, e quindi valutare e comparare la loro idoneità ad essere utilizzati come materiali di riempimento di una biobarriera.

La selezione dei materiali è stata effettuata sulla base dei criteri e delle caratteristiche discusse nel paragrafo 3.1.1 e dedotte dalla letteratura scientifica di riferimento. Non di meno la scelta dei substrati è stata fortemente guidata da considerazioni di carattere pratico ed economico, ossia:

- abbondante disponibilità
- basso costo di reperimento

In quest’ottica, sono stati ricercati materiali di scarto, reperibili in grande quantità a costi trascurabili. Trattandosi di scarti, l’individuazione di possibili forme di riutilizzo porterebbe anche a ridurre i costi legati alla filiera dello smaltimento. In dettaglio, la scelta è ricaduta sui seguenti materiali:

- segatura di legno;
- corteccia di pino (*Pinus pinea*);
- sansa di olive essicata;
- sughero (ricavato da tappi di bottiglie di vino).

Si tratta di materiali lignocellulosici, fattore di primaria importanza poiché la capacità di rilascio del carbonio organico, così come la velocità con cui questo viene rilasciato, dipende dal contenuto di cellulosa e di emicellulosa (vedi paragrafo 3.1.1).

Le segatura di legno è uno dei materiali maggiormente utilizzati sia nelle applicazioni in piena scala, sia in sperimentazioni su scala di laboratorio

(Gibert et al., 2008; Robertson e Merkley, 2009; Capodici, 2012; Cameron et al., 2012;).

Per contro, modesti sono gli studi riportati in letteratura scientifica relativi alle applicazioni dei rimanenti tre materiali come riempimenti “reattivi” di barriere biologiche.

La segatura di legno utilizzata è stata approvvigionata da un opificio locale. Si tratta di scarto della lavorazione di varie tipologie di legno non trattate con nessuna resina, vernice o altri additivi chimici. Originariamente di dimensioni grossolane (in alcuni casi anche superiori a 5 cm), è stata omogeneizzata mediante una triturazione meccanica eseguita con un triturratore a 4 lame modello Waring LB20E (Fig. 4.1), ottenendo una pezzatura compresa tra 1 e 5 mm.



Fig. 4.1 Triturratore Waring LB20E

In generale il legno è costituito da valori percentuali di lignina, cellulosa ed emicellulosa pari rispettivamente a: 15-40, 35-55, 5-25 (Ahmad et al., 2007).

La corteccia di pino (*Pinus Pinea*) utilizzata è stata ricavata da rifiuti domestici di giardinaggio prodotti in terreni ricadenti nella Provincia di Palermo.

Trois et al. (2010) in uno studio condotto su percolato di discarica, riporta ottime performance del processo di denitrificazione supportato dalla corteccia di pino come fonte di carbonio organico.

La struttura lignocellulosica della corteccia di pino è costituita da 37.84% di lignina, 38.05% di cellulosa e 4.13% di emicellulosa (Ahmad et al., 2007).

La riduzione di pezzatura della corteccia è stata ottenuta mediante un biotrituratore per rifiuti da giardino modello Bio 50 (Fig.4.2), messo a disposizione dalla ditta Ing. Agrò & C. Srl di Palermo. Infatti, stante le dimensioni originarie e la durezza del materiale, non è stato possibile utilizzare il trituratore a 4 lame disponibile in laboratorio (capienza 1 litro).

A seguito della triturazione, si è ottenuta una pezzatura variegata compresa tra 1 e 9 mm.



Fig.4.2 Biotrituratore Bio 50

Il sughero è stato reperito raccogliendo tappi di bottiglie nelle locali enoteche. Pur trattandosi di materiale di pregio, i tappi di sughero rappresentano scarti destinati a smaltimento in discarica. Le filiere di riutilizzo e riciclo sono ad oggi ridotte a piccole realtà non strutturate.

La struttura chimica del sughero, come riportato da Silva et al. (2005) e da Şen et al.(2010) è costituita da: 14÷27% di lignina e 6÷25% di polissaccaridi (cellulosa ed emicellulosa). Inoltre la struttura del sughero è caratterizzata dall'elevato contenuto di suberina, pari a 33÷45 %; si

tratta di un biopoliestere costituito da acidi organici, come l'acido fellonico e suberinico, uniti a composti aromatici.

Mediante l'utilizzo del biotrituratore Bio 50 (Fig.4.2), si è raggiunta una pezzatura varia compresa tra 2 e 9 mm.

La sansa di olive utilizzata è stata reperita presso un frantoio locale; essa è costituita da residui di polpa e frammenti di nocciolo.

La struttura lignocellulosica della sansa risulta definita dalle seguenti proporzioni: 33÷42% cellulosa; 35÷43% emicellulosa e 15÷23% lignina (Salem et al., 2007).

Stante la friabilità della sansa essiccata, la frantumazione è stata effettuata manualmente. Si sono ottenute frazioni granulometriche comprese tra 1 e 9 mm.

Utilizzando una batteria di otto vibrovagli, messa a disposizione dal laboratorio di Geotecnica dell'Università degli studi di Palermo, sono state ricavate le curve granulometriche dei materiali utilizzati ad eccezione della segatura di legno, la cui sofficità ha reso impossibile questa operazione (Fig.4.2 a, b).

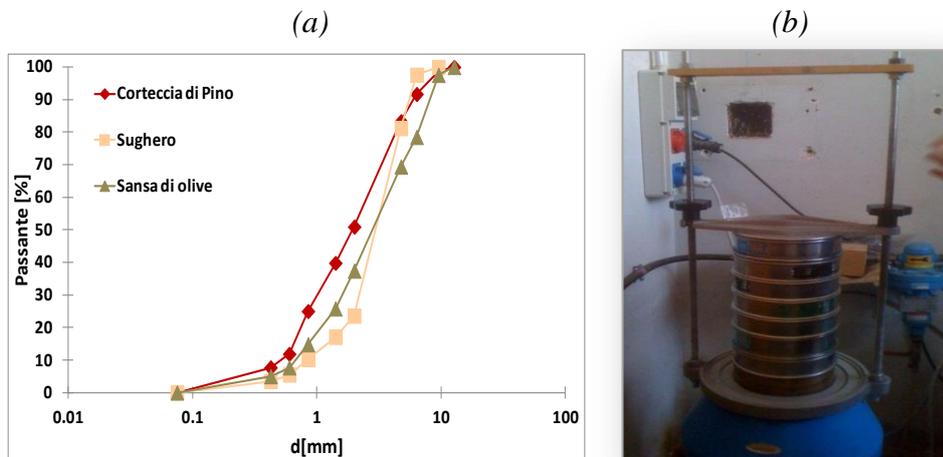


Fig.4.2 Curve granulometriche (a) e batteria di vibrovagli (b)

La biomassa attiva è stata inoculata, miscelando al substrato organico terreno agrario nella quale la stessa è naturalmente presente. Il terreno utilizzato è stato prelevato entro i primi 50 cm a partire dal piano di campagna in una zona boschiva nei dintorni di Erice (TP).

Dei quattro substrati organici e del terreno è stata calcolata l'umidità lasciando essiccare campioni di peso noto in stufa a 105° per 24 ore. Calcolando la variazione di peso rispetto al valore iniziale, è stato determinato il valore di umidità dei materiali. Successivamente è stata determinata la composizione iniziale di carbonio secondo le prescrizioni della norma UNI10780:1998. I risultati sono riportati in tabella 4.1 in cui è pure riportato il contenuto di azoto ricavato da dati di letteratura.

Tab.4.1 Umidità e Composizione elementare dei substrati

Substrato	Umidità (%)	C (%)	N (%)	C:N
Sughero	3.2	53.46	0.4 (Şen et al., 2010)	133.65
Corteccia di Pino	13.26	36.96	0.62 (Trois et al.,2010)	59.6
Segatura di legno	9.2	39.76	0.19 (Capodici, 2012)	209.2
Sansa di olive	13.4	43.03	0.97 (D'Angelo,2010) 2007)	44.36
Terreno	15	14.01	0.59 (Capodici, 2012)	25.47

Per l'esecuzione delle prove in colonna, il substrato organico ed il terreno agrario sono stati miscelati a sabbia fine di natura quarzosa. La sabbia, inerte, ha la duplice funzione di mantenere nel tempo la permeabilità nel mezzo e di fungere da supporto per lo sviluppo della biomassa adesiva.

La sabbia utilizzata è stata fornita dall' Azienda municipalizzata AMAP Spa di Palermo, che la utilizza nei filtri degli impianti di potabilizzazione da questi gestiti.

Inoltre, al fine di agire da supporto e di rendere omogeneo il passaggio del flusso all'interno della colonna, è stata inserita una sabbia media sia alla base, ovvero tra la flangia di ingresso e l'inizio del riempimento reattivo, sia all'estremità finale, tra la fine del riempimento e la flangia di uscita. Questa sabbia, di dimensioni granulometriche superiori alla prima è stata reperita presso il fiume Ticino.

In figura 4.3 sono riportate le curve granulometriche relative alle due tipologie di sabbie.

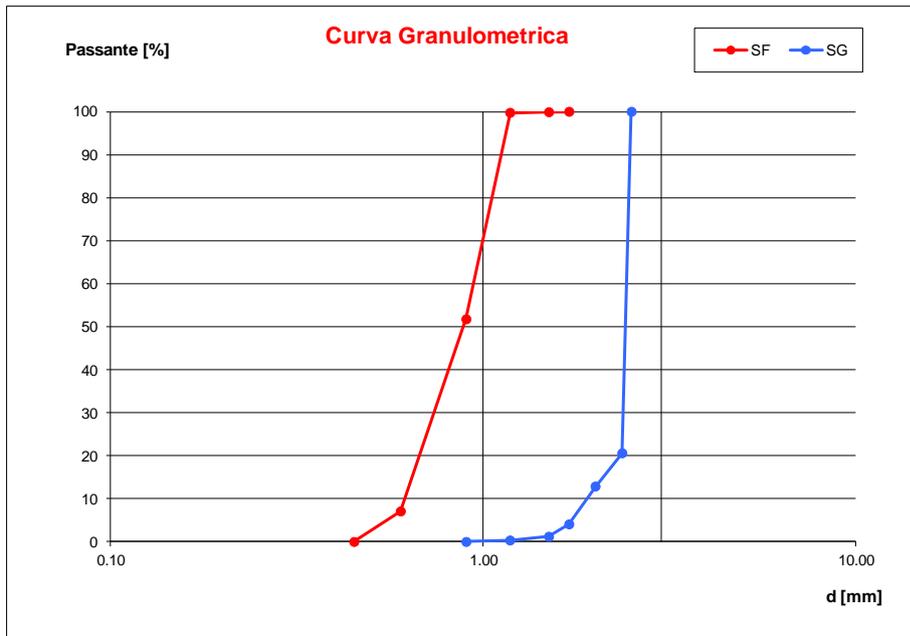


Fig.4.3 Curva granulometrica di Sabbia fine (SF) e sabbia media (SG)

4.3 Test di cessione del carbonio

La prova è stata condotta ponendo in contatto all'interno di un recipiente 15 gr di substrato con 500 ml di acqua deionizzata. I recipienti sono stati chiusi e mantenuti costantemente in blanda agitazione mediante agitatore a scuotimento con movimento orbitale (fig.4.4a).

L'indicatore utilizzato per seguire l'evolversi del rilascio di carbonio organico da parte dei substrati, è stato il Carbonio Organico Totale (TOC), misurato mediante la strumentazione Shimadzu TOC-V Analyser (fig.4.4b).

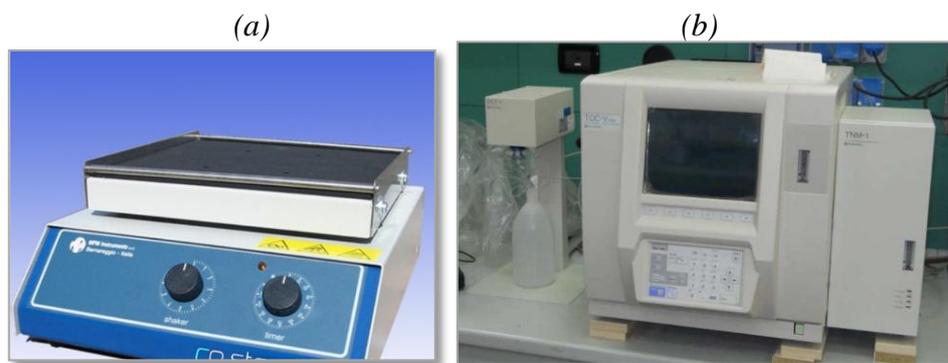


Fig. 4.5: agitatore orbitale a scuotimento (a) e analizzatore Shimadzu TOC-V Analyser (b)

Giornalmente sono stati prelevati campioni per un periodo complessivo di prova pari a dieci giorni. Più precisamente, considerando che la fase più interessante per lo studio della dinamica del processo è quella iniziale, il primo giorno sono stati prelevati più campioni. Ovvero, a partire dall'istante iniziale ($t=0$) sono stati estratti campioni agli istanti temporali: 2, 4, 6 e 24 ore. Nei giorni successivi, il campionamento è stato eseguito con una frequenza minore, precisamente a 2, 3, 6 e 10 giorni.

In tabella 4.2 sono riassunte le condizioni operative con cui sono state eseguite le prove di cessione del carbonio organico.

Tab.4.2 Condizioni operative dei test di rilascio

Substrato carbonioso [gr]	Acqua deionizzata [ml]	Durata della prova [d]	Numero campioni analizzati
15	500	10	9

La figura 4.6 mostra gli andamenti del rilascio di carbonio organico ottenuti durante l'intera durata della prova:

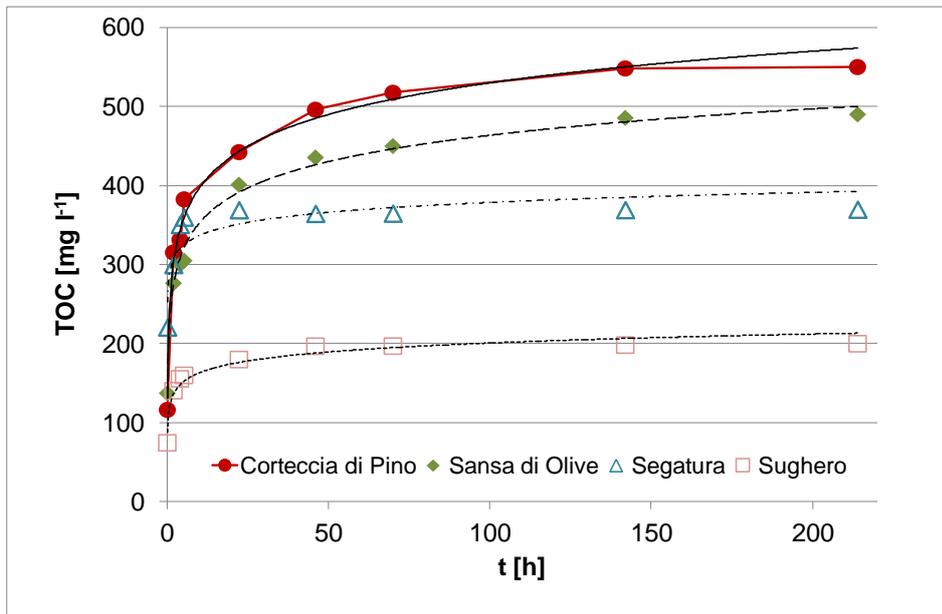


Fig. 4.6 Risultati del test di rilascio

Come si può notare, la maggiore velocità di rilascio si registra durante le prime 24 ore di contatto solido-liquido; successivamente il rilascio avanza più lentamente, raggiungendo dopo circa 72 ore un andamento pressoché stazionario per tutti i substrati.

Si può inoltre osservare che i valori di TOC misurati sembrano seguire un andamento di tipo logaritmico (rappresentato dalle curve nere in figura).

Dall'esame dei valori ottenuti si evince come la corteccia di pino mostra i valori più elevati di rilascio durante l'intera durata della prova. Dopo circa 50 ore, è stata raggiunta infatti una concentrazione di TOC pari a 550 mg/l. La corteccia ha inoltre mostrato un forte rilascio di pigmentazione rossa, che è indicativa proprio dell'elevata cessione di TOC, come osservato da Healy et al. (2012).

Al sughero invece è associato il più basso rilascio di carbonio organico, con concentrazioni che si assestano, dopo circa 24 ore di contatto, al valore pressoché costante di 200 mg/l (ovvero circa metà del rilascio della corteccia).

Questa differenza può essere attribuita alla differente struttura lignocellulosica dei substrati. In effetti, il sughero è il materiale

caratterizzato dal più basso contenuto di polisaccaridi (cellulosa ed emicellulosa), a favore invece del contenuto di lignina e suberina. Come discusso al paragrafo 3.1.1, il rilascio di TOC è principalmente legato al contenuto di cellulosa (polimero costituito prevalentemente da glucosio) e dalla emicellulosa, che può essere intesa come indicativa della velocità con cui il TOC viene ceduto.

In generale però i valori di carbonio organico rilasciato sono tali da ritenere in questa prima fase tutti i quattro substrati idonei per supportare il processo di denitrificazione eterotrofa.

4.4 Prove di microcosmo

Una volta accertata la capacità dei substrati di rilasciare carbonio organico, si è proceduto alla valutazione del processo di denitrificazione all'interno di reattori batch.

Sono pertanto stati messi in contatto i tre elementi fondamentali del processo: substrato organico, biomassa e acqua contaminata da nitrati.

Nella sperimentazione è stata utilizzata acqua deionizzata artificialmente contaminata da nitrati. La biomassa eterotrofa, che nelle applicazioni di piena scala è naturalmente presente nelle acque di falda, è stata inoculata mediante miscelazione con il terreno agrario in cui la popolazione batterica è naturalmente presente.

L'apparecchiatura batch utilizzata è molto semplice. Essa consiste in recipienti da 1 dm³, all'interno dei quali sono stati inseriti substrato, terreno e acqua contaminata. In dettaglio, sono state utilizzate delle normali bottiglie in polietilene con cannucce reperibili in commercio (figura 4.7a). Questo tipo di apparecchiatura ha consentito di effettuare i prelievi dei campioni senza svitare di volta in volta il tappo del reattore, procedura che avrebbe certamente richiamato aria dall'esterno. L'estrazione del campione avveniva infatti attraverso la cannucchia regolando l'apertura delle pinze di Mohr, con le quali durante il processo è stata garantita la completa sigillatura del reattore.

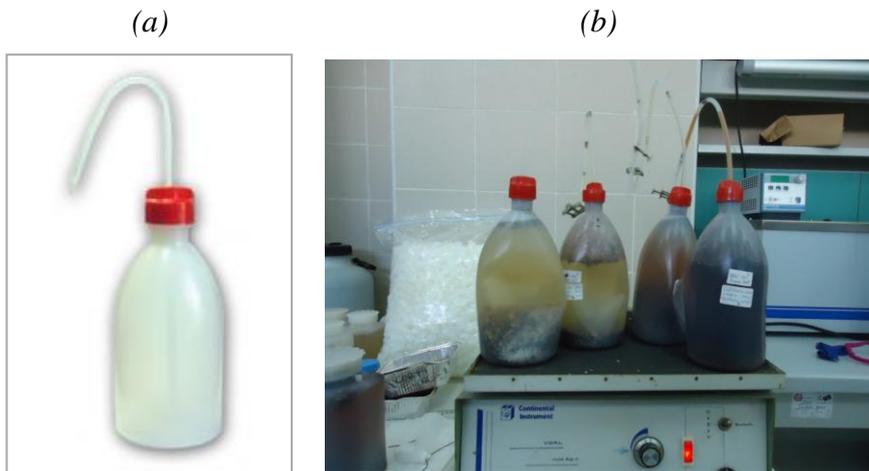


Fig. 4.7 Immagine (a) e foto dei reattori batch utilizzati (b)

All'interno dei reattori è stata inserita la miscela solida costituita da 250 cm^3 di substrato organico e 50 cm^3 di terreno agrario. La miscela è poi stata saturata con 850 cm^3 di acqua contaminata da nitrati in concentrazione pari a 60 mg/l come azoto ($\text{NO}_3\text{-N}$). In questo modo si è ottenuto un rapporto volumetrico solido:liquido pari circa a 1:3, valore per il quale si ha un contatto ottimale solido/liquido (Zanetti, 2004)

I reattori sono stati chiusi in modo da garantire il più possibile le condizioni anaerobiche (l'ossigeno presente nello spazio di testa è stato rapidamente consumato dai batteri) e mantenuti in costante agitazione durante tutto il periodo di prova durato 12 giorni. Schematicamente, il reattore utilizzato può essere rappresentato come in figura 4.8.

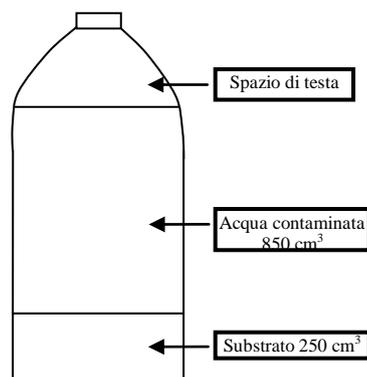


Fig.4.8 Schema del reattore batch

L'azoto è stato fornito al sistema mediante dosaggio di nitrato di potassio (KNO_3); inoltre, al fine di evitare limitazioni dei processi biochimici dovute a carenza di fosforo, è stato dosato un quantitativo di idrogenofosfato di potassio (K_2HPO_4) tale da garantire una concentrazione di 3 mg/l di fosforo nel sistema.

I test sono stati realizzati a temperatura ambiente ($22 \pm 1.5^\circ\text{C}$) per ricreare condizioni più prossime a quelle reali, dove la temperatura non è un parametro controllabile.

L'evoluzione del processo è stata monitorata analizzando periodicamente i seguenti parametri:

- $\text{NO}_3\text{-N}$, parametro principale del processo;
- $\text{NO}_2\text{-N}$, parametro analizzato per verificare che la rimozione dei nitrati avvenisse senza accumulo di nitriti, i quali costituiscono un prodotto intermedio di reazione;
- $\text{NH}_4\text{-N}$, monitorato per verificare l'eventuale insorgenza del processo concorrenziale di riduzione anaerobica dei nitrati a ione ammonio (DNRA);
- TOC, utilizzato come indicatore della disponibilità di carbonio organico nel sistema a favore della biomassa eterotrofa;
- pH, OD e ORP, monitorati costantemente per valutare se l'ambiente geochimico nel sistema fosse ottimale per lo sviluppo del processo biologico in atto.

Le analisi sono state eseguite su campioni prelevati all'istante iniziale e dopo agli istanti di tempo coincidenti con 2, 4, 6, 24 ore e ancora a 2, 4, 7 e 12 giorni.

Poiché le soluzioni acquose nei reattori presentavano tutte una certa pigmentazione e le metodiche di analisi adottate sono state di tipo colorimetrico, al fine di non alterare i risultati è stato necessario sottoporre i campioni a decolorazione mediante carbonio attivo per un tempo pari a 24 ore. Durante questo periodo il campione veniva conservato a 4°C così da arrestare ulteriori processi biologici. Successivamente il campione decolorato veniva centrifugato e infine filtrato a vuoto per separare il carbone attivo dal campione ormai trasparente. terminate queste operazioni si poteva quindi procedere alle analisi dei parametri di processo, secondo le metodiche standard previste dalle norme di riferimento.

In dettaglio, nitrati, nitriti e azoto ammoniacale sono stati analizzati utilizzando i kit per analisi colorimetriche in cuvetta della MERCK di seguito indicati:

- NO₃: 1.09713.0001 range 0,1-25 mg/l NO₃-N;
- NO₂: 1.147776.0001 range 0,002-1 mg/l NO₂-N;
- NH₄: 1.147752.0001 range 0,01-3 mg/l NH₄-N;

Le letture delle cuvette sono state eseguite utilizzando uno spettrofotometro MERCK Spectroquant NOVA 60.

Il carbonio organico totale è stato misurato mediante analizzatore TOC-Vcsn Shimadzu Total Organic carbon Analyzer (Fig.4.6).

Le misure di pH, temperatura e conducibilità sono state ottenute utilizzando le seguenti sonde dedicate WTW:

- ORP: WTW Sentix ORP;
- pH e temperatura: WTW pH-electrode Sentix 41-3.

Le sonde sono state interfacciate allo strumento dedicato WTW Multi 340i- pH/Dissolved Oxygen/Conductivity Measuring Instrument.

4.5 Analisi dei risultati dei test di microcosmo

L'osservazione del processo di denitrificazione all'interno dei reattori batch ha mostrato risultati soddisfacenti per ciascuno dei substrati analizzati.

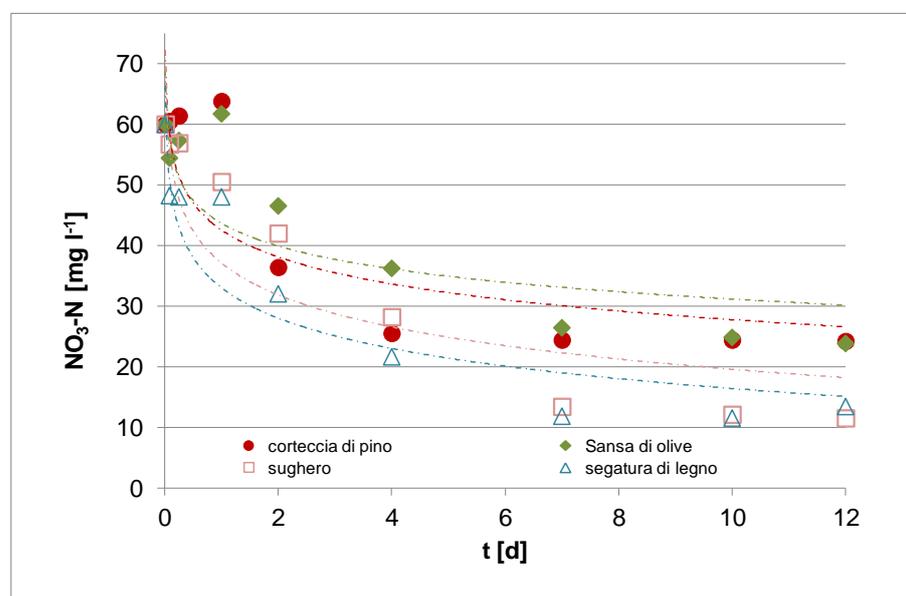
Nelle tabelle 4.3 e 4.4 sono riportati riassunti i valori assunti dai parametri agli istanti iniziale e finale della prova. In figura 4.9 sono invece riportati gli andamenti nel tempo delle concentrazioni di nitrati per ciascun reattore.

Tab. 4.3 Parametri di processo all'inizio della prova (T = 0)

Substrato	NO ₃ ⁻ -N [mg/l]	NO ₂ ⁻ -N [mg/l]	NH ₄ ⁺ -N [mg/l]	DO [mg/l]	pH	ORP [mV]
Sansa di olive	60	0.17	1.6	8.25	5.67	191
Sughero	60	0.04	1.12	8.4	6.38	52
Corteccia di pino	60	0.02	0.82	8.48	6.4	52
Segatura di legno	60	0.02	0.5	8.24	7.11	40

Tab. 4.4 Parametri di processo al termine della prova (T = 12 giorni)

Substrato	NO ₃ ⁻ -N [mg/l]	NO ₂ ⁻ -N [mg/l]	NH ₄ ⁺ -N [mg/l]	DO [mg/l]	pH	ORP [mV]
Sansa di olive	23.8	0.05	0.27	0.35	5.7	48
Sughero	11.5	0.01	1.23	0.4	6.67	34
Corteccia di pino	24.2	0.03	1.08	0.28	6.06	51
Segatura di legno	13.4	0.01	0.55	0.5	6.63	53

**Fig. 4.9 Concentrazione dei nitrati nelle prove di microcosmo**

Dall'esame della figura 4.9 si evince che durante le prime ore di processo è stato misurato un incremento della concentrazione dei nitrati nei reattori corrispondenti a corteccia di pino e sansa di olive. Ovvero, a partire da un valore iniziale di 60 mg/l come azoto, la concentrazione è aumentata fino a 61,7 e 63,8 mg/l, rispettivamente per sansa di olive e corteccia di pino. Questo fenomeno è quasi certamente attribuibile al rilascio dell'azoto da parte dei substrati stessi. Infatti, D'Angelo (2010) ha misurato nelle sansa di oliva essiccate una percentuale volumetrica di azoto pari a 0,96; mentre Trois et al. (2010) riportano per la corteccia un valore percentuale di 0,62. Si tratta in entrambi i casi di valori più elevati rispetto a quelli riscontrati in letteratura per segatura di legno e sughero (Tab.4.1).

Pertanto, durante le prime ore di processo è possibile che l'azoto rilasciato dai substrati sia stato ossidato utilizzando l'ossigeno presente nello spazio di testa.

Tale fenomeno è stato osservato anche in altri studi di letteratura; in particolare Gibert et al. (2008) riportano un incremento iniziale della concentrazione di nitrati, relativo ai substrati compost e terreno.

Gli andamenti mostrano inoltre che segatura di legno e sughero hanno garantito una più veloce e spinta rimozione dei nitrati, raggiungendo al termine della prova quasi il valore limite fissato dalla Direttiva Nitrati, pari a $11,3 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$.

Al contrario, corteccia di pino e sansa di olive non hanno avuto la stessa performance; al termine della prova infatti la concentrazione di nitrati è risultata rispettivamente pari a 24,2 e 23,8 $\text{mgNO}_3\text{-NL}^{-1}$. Tale circostanza risulta interessante quanto curiosa, poiché nei test di cessione (di cui al paragrafo 4.2.2) tali substrati si erano dimostrati i più capaci nel rilasciare carbonio organico.

Ancora una volta la spiegazione potrebbe essere legata al contenuto di azoto nei substrati stessi, che fa sì che nei reattori coesistono due processi contrastanti: da un lato la denitrificazione biologica, dall'altro il rilascio di azoto.

Ulteriore giustificazione potrebbe essere ricercata sulla differente biodegradabilità del carbonio organico immesso nel sistema per i vari substrati.

Si può tuttavia affermare che, seppur in misura differente, i substrati utilizzati hanno supportato bene il processo di denitrificazione, conseguendo le efficienze di rimozione riportate nella tabella 4.5.

Tab. 4.5 Efficienze di rimozione ottenute nelle prove di microcosmo

Substrato	NO ₃ ⁻ -N _{in} [mg/l]	NO ₃ ⁻ -N _{fin} [mg/l]	Efficienza rimozione [%]
Sansa di olive	60	23.8	61
Sughero	60	11.5	80
Corteccia di pino	60	24.2	60
Segatura di legno	60	13.4	78

L'analisi dell'andamento dei nitriti ha consentito di escludere che vi fosse un accumulo degli stessi. La figura 4.10 mostra infatti profili di concentrazione che sono tipici del processo sequenziale di denitrificazione biologica (Eq.4.1) che si conclude con la completa trasformazione dei nitrati in azoto gas (Soares, 2000).

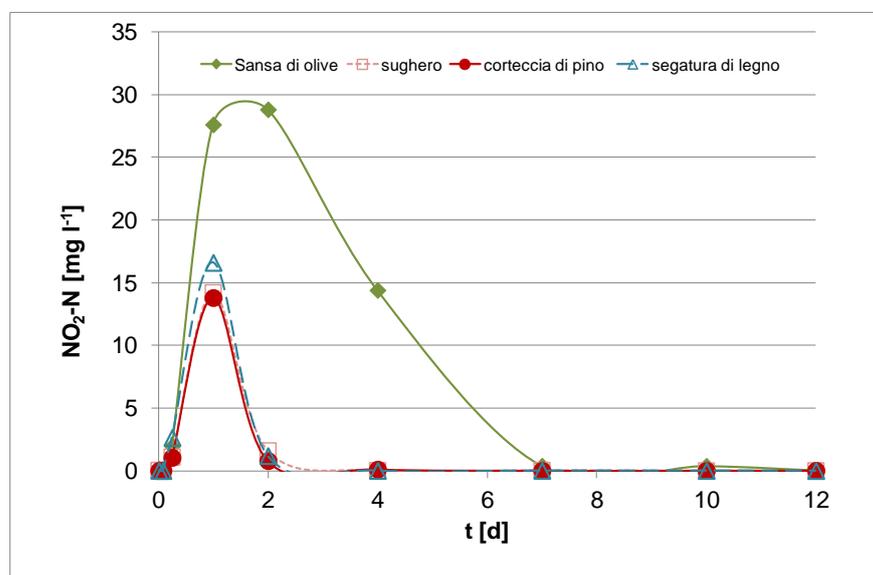
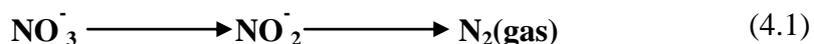


Fig. 4.10 Profili concentrazione NO₂⁻-N

In accordo con la 4.1, vi è un accumulo iniziale di nitriti, seguito da una loro completa riduzione, raggiungendo al termine della prova valori di concentrazione pressoché trascurabili.

Il monitoraggio dello ione ammonio è stato ritenuto fondamentale poiché, sebbene il processo di denitrificazione eterotrofa costituisca sicuramente il maggiore contributo alla rimozione dei nitrati, talvolta può essere accompagnato dall' indesiderato meccanismo di riduzione anaerobica dei nitrati a ione ammonio (DNRA).

Dalle analisi eseguite sono stati rilevati per tutti i substrati concentrazioni oscillanti nel ristretto range di valori compresi tra 0.1 e 1.5 mg/l, che risultano essere sempre inferiori al 3% dei nitrati rimossi. Questo risultato è conforme ad altri studi, dove è stata rilevata una presenza di ione ammonio in misura sempre inferiore al 5% dei nitrati rimossi (Greenan et al. 2006; Gibert et al. 2008).

Si può pertanto concludere che durante l'esecuzione delle prove di microcosmo fin qui discusse, il meccanismo principale di rimozione dei nitrati sia stata la denitrificazione eterotrofa, che non vi è stato alcun accumulo di nitriti e che la DNRA abbia influito nel processo in misura trascurabile, come riportato nella tabella seguente:

Tab.4.6 Destino dei nitrati all'interno dei reattori batch

Substrato	NO₃-N iniziale [mg/l]	NO₃-N rimossi [mg/l]	NO₃-N rimossi per denitrificazione eterotrofa [mg/l]	NO₃-N rimossi per DNRA [mg/l]
Sansa di olive	60	36.2	35.93	0.27
Sughero	60	48.5	47.27	1.23
Corteccia di pino	60	35.8	34.72	1.08
Segatura di legno	60	46.6	46.05	0.55

Il monitoraggio dei parametri geochimici ha confermato la formazione dell'ambiente anossico, ottimale per l'instaurarsi del processo biologico. Sono infatti stati rilevati valori di ossigeno disciolto inferiori a 1 mg L^{-1} , di ORP compreso tra -30 e 50 mV e di pH prossimi alla neutralità.

4.5 Cinetica di denitrificazione

Per studiare la cinetica di denitrificazione, i dati relativi all'evoluzione della concentrazione di nitrati nel tempo sono stati correlati mediante una regressione lineare e logaritmica. In generale, un fitting lineare si considera appropriato per una cinetica di ordine zero, per la quale la rimozione dei nitrati è indipendente dalla concentrazione degli stessi. Al contrario un fitting logaritmico risulta appropriato per una cinetica di primo ordine, per la quale la cinetica di rimozione è influenzata dalla concentrazione dei nitrati (Robertson, 2010). La tabella 4.7 sintetizza i parametri cinetici relativi ad entrambe le cinetiche.

Tab.4.7 Cinetica di rimozione

Substrato	Cinetica primo ordine			Cinetica ordine zero		
	k (d^{-1})	$t_{1/2}$ (d^{-1})	r^2	Velocità di rimozione [$\text{mg NO}_3\text{-N L}^{-1}\text{d}^{-1}$]	Velocità di rimozione [$\text{mg NO}_3\text{-N L}^{-1}\text{h}^{-1}$]	r^2
Sughero	0.15	4.6	0.94	4.04	0.17	0.90
Segatura di legno	0.13	5.3	0.86	3.88	0.16	0.80
Sansa di olive	0.086	8.6	0.92	3.01	0.126	0.87
Corteccia di pino	0.083	8.6	0.75	2.98	0.124	0.71

Come si può osservare, entrambi i modelli cinetici si mostrano appropriati nella descrizione del processo, il coefficiente di regressione r^2 assume infatti valori superiori al 70%. In entrambi i casi, in funzione della maggiore cinetica di rimozione, i substrati possono essere riportati nell'ordine: sughero-segatura di legno-sansa di olive-corteccia di pino. Tuttavia, si è ritenuto più opportuno considerare il processo regolato da una cinetica di ordine zero in forza del fatto che normalmente i

bioreattori ricevono alimentazioni di nitrati tali da non essere limitanti il processo (Robertson et al., 2000; Schipper et al., 2005; Schipper et al., 2010).

Infine, per facilitare il confronto con le cinetiche ottenute in altri studi, la velocità di rimozione così calcolata è stata normalizzata rispetto alla massa di substrato presente nel reattore. Si specifica che la velocità di denitrificazione è stata calcolata al netto dei nitrati convertiti in ione ammonio per mezzo della DNRA. I valori ottenuti sono riportati in tabella 4.8. Come si può notare, l'operazione di normalizzazione rispetto alla massa di substrato reattivo ha modificato il ranking dei substrati definito in tabella 4.7; si ottiene infatti che la segatura di legno garantisce la maggiore cinetica di denitrificazione, mentre quella più lenta è relativa alla sansa di olive.

Tab. 4.8 Cinetica di denitrificazione ottenuta nel corso della prova

Substrato	Massa di substrato nel reattore [g]	Vel. Denitrificazione [$\text{mgNO}_3\text{-N dm}^{-3} \text{d}^{-1} \text{g}^{-1}_{\text{sub}}$]
Segatura di legno	15.8	0.24
Sughero	22	0.18
Corteccia di Pino	54	0.05
Sansa di olive	93	0.03

I risultati così ottenuti sono stati confrontati con quelli reperiti nella letteratura scientifica di riferimento (tabella 4.9).

Tab. 4.9 Cinetica di denitrificazione misurate in batch riportate in letteratura

Substrato	Vel. Denitrificazione [$\text{mgNO}_3\text{-N dm}^{-3} \text{d}^{-1} \text{g}^{-1}_{\text{sub}}$]	Riferimento
Truciolini di legno	0.45	Greenan et al. (2006); Gibert et al. (2008);
Cartone	1.05	Greenan et al. (2006)
Granoturco	2.88	Greenan et al. (2006)
Terreno naturale	0.001	Gibert et al. (2008)
Segatura	0.067	Gibert et al. (2008)
Fibra di Cotone	0.5	Della Rocca et al. (2005, 2006)
Compost	0.026	Gibert et al. (2008); Shipper et al. (2010)
Foglie	0.217	Ovez et al (2006)
Legno di conifere	0.048	Gibert et al. (2008)

La notevole variabilità dei valori riportati è molto probabilmente attribuibile alle diverse condizioni operative in cui ciascun lavoro di sperimentazione è stato eseguito. Tra queste vi sono: il tipo di substrato organico utilizzato, l'inoculo batterico (se effettuato o meno), la somministrazione o meno di carbonio organico prontamente biodegradabile, il rapporto solido:liquido, la concentrazione iniziale di nitrati e la temperatura di esercizio. Inoltre alcuni Autori hanno calcolato la velocità di denitrificazione facendo riferimento al periodo di massimo decadimento dei nitrati, ottenendo così cinetiche superiori.

Capitolo 5

Studio del processo di denitrificazione mediante prove in colonna

5.1 Introduzione

Le prove in colonna rappresentano uno studio di laboratorio più approfondito del processo, rispetto allo studio mediante batch test, il quale tuttavia fornisce in breve tempo indicazioni preliminari sul livello di efficienza dei materiali reattivi che si vuole analizzare. Le prove in colonna permettono di monitorare l'evoluzione del processo reattivo nel tempo e nello spazio, cercando di riprodurre condizioni chimico fisiche più vicine alla situazione reale.

Per poter analizzare in continuo i substrati reattivi oggetto della presente sperimentazione, è stato costruito un impianto pilota costituito da colonne di analoghe struttura e geometria e operanti in parallelo. Ognuna di queste colonne è stata riempita con uno dei materiali carboniosi prescelti.

5.2 Struttura dell'impianto: costruzione e riempimento

Le colonne utilizzate costituite da tubi in plexiglass, presentano un diametro interno di 10 cm e lunghezza di 1 m. Il rapporto lunghezza: diametro pari a 10 definisce una geometria di tipo monodimensionale, nella quale è possibile trascurare le dispersioni trasversali rispetto a quella longitudinale.

Le colonne pertanto hanno le seguenti caratteristiche geometriche:

- sezione trasversale A : 78.5 cm^2 ;
- volume interno V : 7.85 dm^3 .

Ciascuna colonna è stata riempita con la miscela reattiva, ad eccezione dei tratti iniziale e finale. Infatti, la base la colonna è stata collegata ad un divergente $\Phi_{40}-\Phi_{100}$ mm con all'interno una corona in PVC del diametro di 100 mm, su cui poggia la colonna. Il divergente è stato riempito nella sua sezione più ristretta (diametro 40 mm) e per tutto il tratto a sezione variabile con sabbia a granulometria media; il tratto a sezione costante, avente diametro pari a 100 mm, nel quale è stata inserita la corona in PVC, è stato riempito con sabbia a granulometria più fine che ha fatto da letto di posa per il materiale reattivo (fig.5.1).

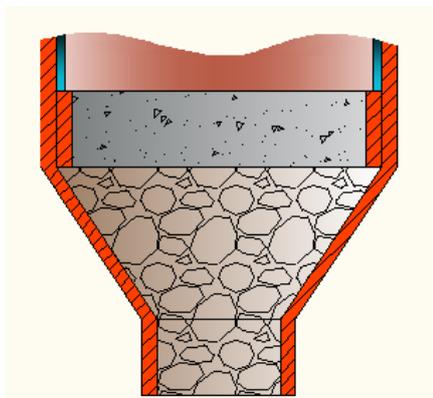


Fig. 5.1 Divergente alla base della colonna

La sezione finale della colonna è stata collegata ad un'altra corona in PVC del diametro di 100 mm dove è stato posto uno strato di sabbia fine sul materiale di riempimento necessario per evitare eventuali fenomeni di trascinarsi del materiale reattivo.

La saturazione della colonna è stata garantita dalla formazione di un battente idrico, visibile nel tratto terminale della colonna (figura 5.2).

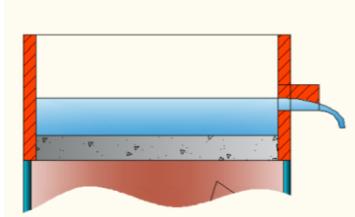


Fig. 5.2 Sezione d'uscita della colonna

Il mantenimento costante del livello idrico è stato ottenuto mediante la realizzazione di una luce sulla parete della corona che consente lo sfioro della portata effluente.

Ogni colonna è stata provvista di porte di campionamento distribuite lungo una generatrice di questa, dalle quali era possibile il prelievo di campioni da sottoporre ad analisi al fine di ricostruire i profili di concentrazione lungo la direzione di deflusso dell'acqua. L'ubicazione delle porte di campionamento è mostrata in tabella 5.1; in figura 5.3 è riportata la sezione verticale di una colonna.

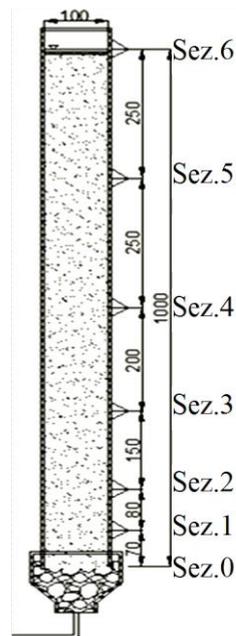


Fig. 5.3 Sezione verticale di una colonna

Tab.5.1 Ubicazione delle porte di campionamento

Sezione	0	1	2	3	4	5	6
Quota [m]	0	0.07	0.15	0.3	0.5	0.75	1

In ciascuna porta di campionamento è inserito un ago di 5 cm, la cui punta si trova al centro della colonna. Gli aghi restano fissi nella colonna grazie ad un rivestimento in silicone, e in ognuno di essi viene poi inserito un tappo in modo che faccia da tenuta ed eviti l'ingresso di aria e la fuoriuscita del liquido fluente.

La portata è stata alimentata in ciascuna colonna mediante pompe peristaltiche a velocità variabile (ETATRON BV 3-3). La portata da alimentare è stata sollevata fino a una vasca di carico appositamente realizzata.

Nella vasca di carico sono state realizzate due prese: una a sfioro, realizzata per mantenere fisso il livello idrico e collegata al sistema di stoccaggio, e l'altra realizzata sotto battente per l'alimentazione della colonna. In questo modo il carico piezometrico con cui è stata alimentata ogni colonna è stato sempre pari alla differenza di quota tra il livello nella vasca di carico e quello dello sfioro nella sezione terminale delle colonne (Fig. 5.4); la foto in figura 5.5 mostra il carico applicato durante una giornata tipo di prova, in particolare la foto mostra la vasca di carico e i piezometri collegati alle prese di una colonna.

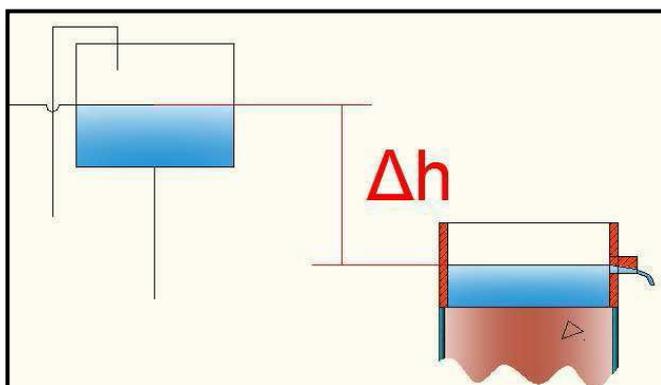
**Fig. 5.4 Schema di vaschetta di carico e carico piezometrico**



Fig. 5.5 Carico applicato durante una giornata tipo di prova

L'acqua contaminata di alimentazione alla colonne è stata stoccata in sacche di plastica sigillate, in modo che non vi fosse richiamo di aria esterna. Sono state utilizzate comuni sacche per docce da campeggio del volume massimo di 20 litri, dotate di una porta di ingresso da cui, tramite un raccordo a "T", si consentiva sia l'alimentazione continua della portata ricircolata dallo sfioro della vasca di carico, sia quella discontinua di ricarica del volume da trattare. Nella parte inferiore della sacca, un tubo di uscita è stato collegato al sistema di sollevamento che confluiva l'acqua nella vaschetta di carico.

Ciascuna colonna è stata alimentata con due sacche, collegate in parallelo a monte del sollevamento, per un volume totale massimo disponibile di 40 litri per colonna.

La struttura dell'impianto e una foto dello stesso sono riportate rispettivamente in figura 5.6 e 5.7.

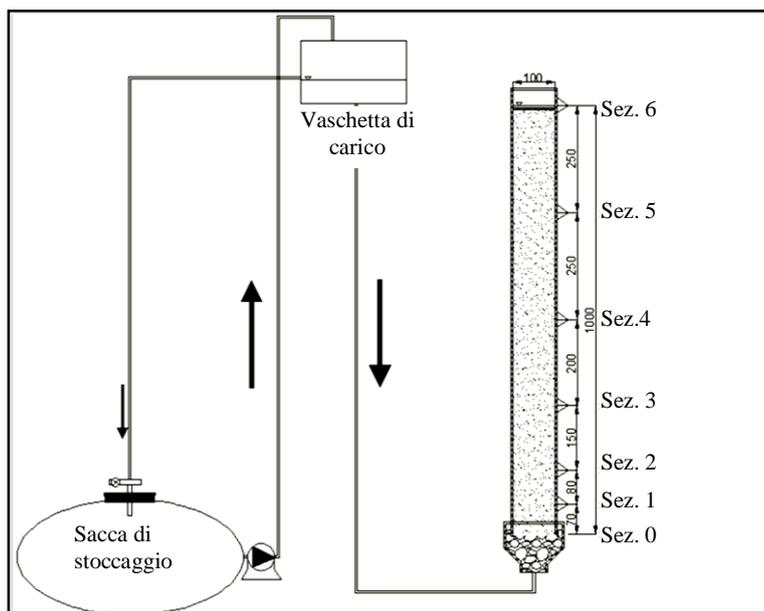


Fig. 5.6 Schema del sistema di alimentazione della colonna



Fig. 5.7 Foto dell'impianto in colonna

Le quattro colonne sono state riempite con miscele caratterizzate dalle medesime percentuali in peso dei materiali carboniosi, del terreno e della sabbia. Si è scelto un rapporto substrato:sabbia:terreno pari a 20:65:15, commutando in peso gli usuali rapporti volumetrici scelti in studi analoghi ricavati dalla letteratura scientifica (Fahrner, 2002; Gibert et al., 2008, Capodici, 2012).

Come già detto, il terreno è stato utilizzato come inoculo batterico, mentre la sabbia è stata introdotta nella miscela al fine sia di mantenere buone caratteristiche di permeabilità idraulica nel reattore, sia di fornire il supporto necessario allo sviluppo della biomassa adesa.

Per ottenere un riempimento omogeneo della colonna, il materiale miscelato è stato inserito nella colonna un litro per volta.

La composizione del materiale di riempimento adottato per ciascuna colonna è riportato in tabella 5.2

Tab. 5.2 Composizione delle miscele di riempimento di ciascuna colonna

Colonna 1	γ [g/l]	m/m	Massa [g]	V [l]
Sughero	110	20	608	5.53
Sabbia	1400	65	1976	1.41
Terreno	700	15	456	0.65
miscela	414.7		3040	
Colonna 2	γ [g/l]	m/m	Massa [g]	V [l]
Corteccia di pino	270	20	1100	4
Sabbia	1400	65	3600	2.57
Terreno	700	15	800	1.14
miscela	718.5		5540	
Colonna 3	γ [g/l]	m/m	Massa [g]	V [l]
Segatura di legno	79	20	478.6	6
Sabbia	1400	65	1555.45	1.17
Terreno	700	15	358.95	0.47
miscela	311.5		2380	
Colonna 4	γ [g/l]	m/m	Massa [g]	V [l]
Sansa di olive	465	20	1300	2.79
Sabbia	1400	65	4225	3.02
Terreno	700	15	975	1.4
miscela	901.5		6500	

Si è proceduti alla caratterizzazione idraulica delle colonne, intesa come misura del Pore Volume (PV) e della porosità n .

Per fare ciò, le colonne sono state alimentate, mediante le pompe peristaltiche, con volumi noti di acqua fino a saturazione delle stesse.

Pesando l'acqua residua, è stata calcolata per differenza il volume di acqua necessario per saturare le colonne. Tale valore è stato ridotto per tenere conto dell'acqua che ha saturato il divergente, alla base della colonna, e la corona in PVC al termine della colonna.

Il peso di acqua così ottenuto, rappresenta il Pore Volume. Infine a partire dal valore di Pore Volume è stata determinata la porosità caratteristica di ciascuna colonna.

I valori così ottenuti sono riportati nella tabella 5.3.

Tab.5.3 Pore Volume e Porosità caratteristici di ciascuna colonna

Colonna	PV [l]	n
Sughero	2.98	0.39
Corteccia di pino	3.71	0.47
Segatura	5.75	0.73
Sansa di olive	2.52	0.32

5.3 Descrizione della sperimentazione in colonna

Le colonne sono state alimentate in continuo con acqua artificialmente contaminata da nitrati in concentrazioni comprese tra 20 e 30 mg/l, espresse come azoto ($\text{NO}_3\text{-N}$). La soluzione contaminata è stata ottenuta dosando nitrato di potassio, inoltre in soluzione è stata garantita la presenza di 1 mg/l di fosforo (come K_2PO_4) affinché lo stesso non fosse limitante per la crescita della biomassa eterotrofa.

La sperimentazione è stata svolta per un tempo pari a 20 giorni, durante la quale il processo è stato monitorato analizzando i parametri di interesse riportati nella tabella 5.4.

Le metodiche di analisi adottate per la misura dei composti azotati e dei parametri geochimici sono le medesime di quelle utilizzate per le prove batch, riportate nel capitolo 4.

Il carbonio organico è stato misurato tramite la misura delle concentrazioni di COD utilizzando il kit 1.14540.0001 (range 10-150 mg/l) per analisi colorimetriche in cuvetta della MERCK.

Non è stata eseguita la misura dell'ossigeno disciolto, poiché facilmente alterabile dalle metodologie di campionamento.

5.4 Analisi dei risultati

Nei successivi paragrafi verranno riportati e discussi i risultati relativi all'osservazione del processo di denitrificazione sviluppatosi nei singoli reattori, mettendo in risalto il differente comportamento rilevato per ciascuno dei substrati utilizzati per il loro riempimento.

Va precisato che la discussione dei risultati sarà limitata solo alle colonne riempite con sughero, corteccia di pino e sansa di olive. Si è omessa la trattazione relativa alla colonna riempita con segatura di legno, nella quale si sono verificati nel corso della sperimentazione fenomeni di intasamento e occlusione del mezzo filtrante tali da rendere non significativi i risultati ottenuti.

La sperimentazione è stata condotta alimentando in continuo le colonne per un periodo di 230 giorni. Si sono distinte due fasi:

- Fase 1 (1-42 giorni): fase di avviamento;
- Fase 2 (43-230 giorni): fase a regime di studio del processo biologico di rimozione dei nitrati, con concentrazione di alimentazione pari ad un valore medio di $25 \text{ mgNO}_3\text{-N L}^{-1}$.

L'avviamento iniziale è stato eseguito alimentando le colonne con sola acqua. Il dilavamento dei substrati organici ha avuto lo scopo di favorire il rilascio di carbonio e azoto disciolti (Gibert et al., 2008; Schipper et al., 2010; Cameron and Schipper, 2010; Haley et al., 2012). Ciò ha consentito sia di abbattere gli eventuali rilasci eccessivi di carbonio organico, sia di studiare, nella successiva fase, l'evoluzione dei composti azotati considerando come input di azoto la sola soluzione contaminata, al netto quindi dell'azoto contenuto e rilasciato dai materiali stessi.

In effetti, le misure effettuate sull'effluente hanno evidenziato la presenza di concentrazioni iniziali non trascurabili di nitrati disciolti, in quantità pari a $22,8 \text{ mgL}^{-1}$ per il sughero, $24,7 \text{ mgL}^{-1}$ per la corteccia di pino e $25,5 \text{ mgL}^{-1}$ per la sansa di olive. Dopo 20 giorni di alimentazione continua di acqua le concentrazioni si sono ridotte a valori inferiori alla soglia di rilevabilità dello strumento di analisi.

Questo primo periodo di avviamento ha avuto inoltre la funzione di consentire lo studio dell'idrodinamica del sistema; sono stati infatti determinati i principali parametri caratteristici di ciascuna colonna: porosità, pore volume (i cui valori sono riportati al precedente paragrafo), conducibilità e portata idraulica. Quest'ultima è stata regolata, variando la differenza di carico tra monte e valle di ciascuna colonna, al fine di

garantire un tempo di detenzione idraulica ritenuto ottimale per il processo, pari a 2-6 giorni (Gibert et al., 2008). Infine questi primi giorni di sperimentazione hanno consentito l'acclimatazione della biomassa presente nel terreno.

La tabella 5.5 riporta i parametri medi caratteristici di ciascuna colonna relativi ai parametri portata alimentata, TDI e conducibilità determinati durante la fase di avviamento.

Tab.5.5 Portata alimentata, TDI e conducibilità (fase di avviamento)

Colonna	Q [l/h]	TDI [d]	k [cm/s]
Sughero	0.07±0.1	3.7	0.03
Corteccia di pino	0.07±0.02	3.4	0.05
Sansa di olive	0.1±0.05	2	0.09

Terminata la fase di avviamento, si è proceduto all'alimentazione di ciascuna colonna con acqua contaminata da nitrati, tale da garantire una concentrazione media nel tempo di $25 \text{ mgNO}_3\text{-N L}^{-1}$. Misure periodiche del carico piezometrico applicato al sistema e della portata in uscita da ogni singola colonna, hanno consentito di ricostruire le caratteristiche idrodinamiche che in esse si sono verificate. I risultati sono mostrati nelle figure 5.8÷5.10.

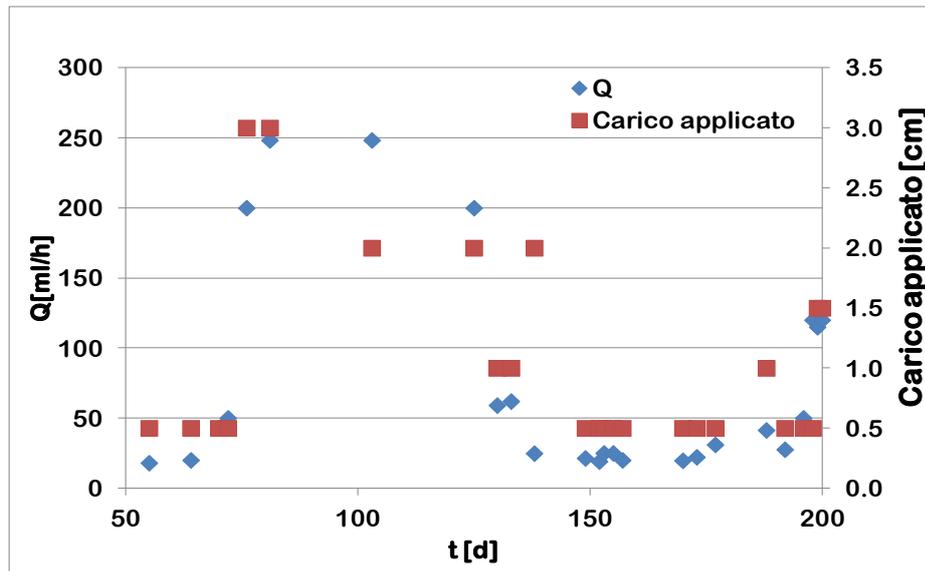


Fig. 5.8 Caratteristiche idrodinamiche della colonna riempita con sughero

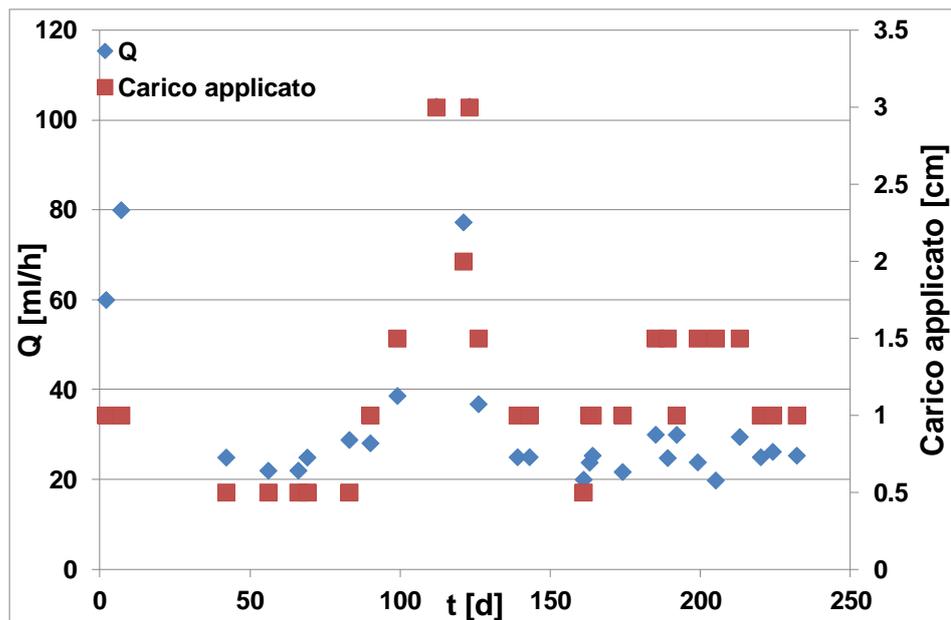


Fig. 5.9 Caratteristiche idrodinamiche della colonna riempita con corteccia di pino

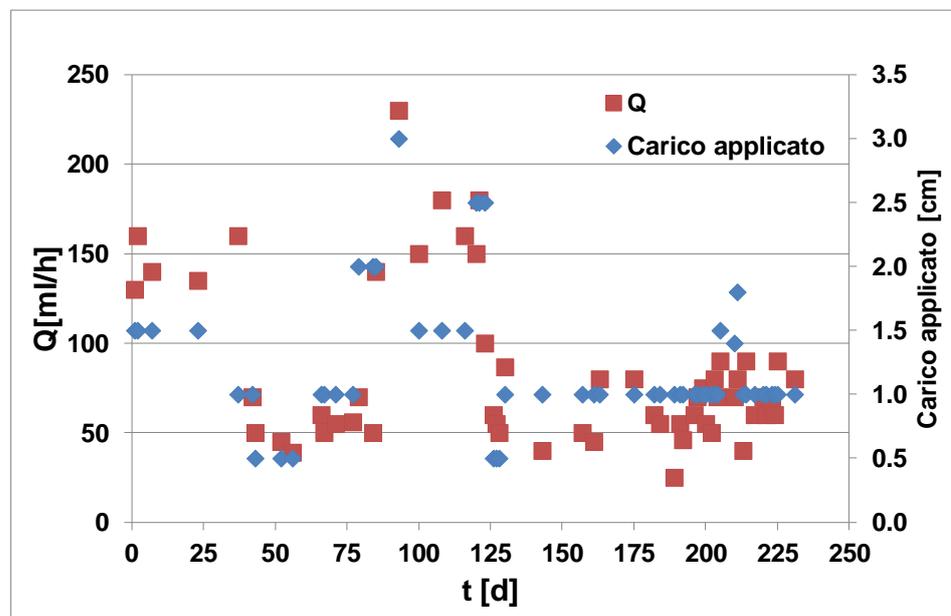


Fig. 5.10 Caratteristiche idrodinamiche della colonna riempita con sansa di olive

Le variazioni di portata e carichi evidenziati nelle figure sono giustificabili dalle modifiche che nel corso della sperimentazione hanno subito i riempimenti delle colonne per via del progressivo consolidamento di questi, sia di possibili fenomeni di canali di flusso preferenziali. Ulteriore contributo alla variazione delle caratteristiche idrodinamiche può essere dovuto pure alla crescita della biomassa, per quanto questo processo appare meno incisivo rispetto a quelli prima citati, per via della velocità di crescita relativamente modesta riscontrata anche in letteratura per tale tipo di processo. Infine, come si vedrà in seguito, in precisi periodi della sperimentazione sono stati intenzionalmente incrementati i carichi, in modo significativo, con l'obiettivo di valutare la risposta del sistema a tale variazione.

5.4.1 Rimozione dei nitrati

La sperimentazione condotta ha mostrato una significativa rimozione dei nitrati conseguita nel tempo in ciascuna colonna. Le figure 5.11-5.13 mostrano le concentrazioni dei nitrati (esprese come azoto) in ingresso e in uscita dalle colonne; nei grafici è inoltre riportata la concentrazione massima ammissibile prevista dalla “Direttiva Nitrati” per le acque destinate al consumo umano.

Si specifica che la variabilità della concentrazione in ingresso è causata da una poca precisione dovuta all’utilizzo della soluzione madre di nitrato di potassio (KNO_3), molto concentrata, e all’elevata frequenza di ricariche delle sacche di stoccaggio a servizio di ciascuna colonna.

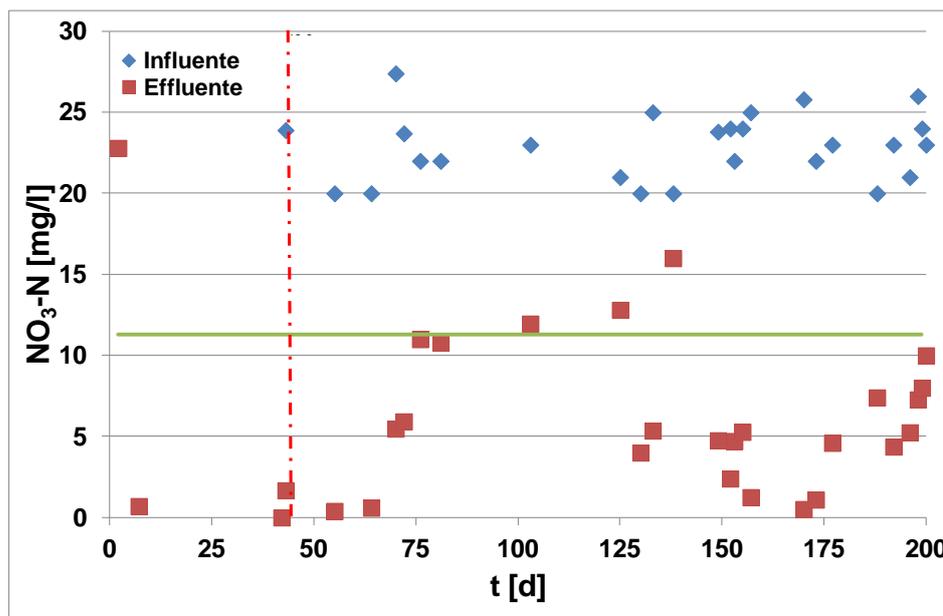


Fig. 5.11 Concentrazione di NO_3-N in ingresso e uscita dalla colonna riempita con sughero

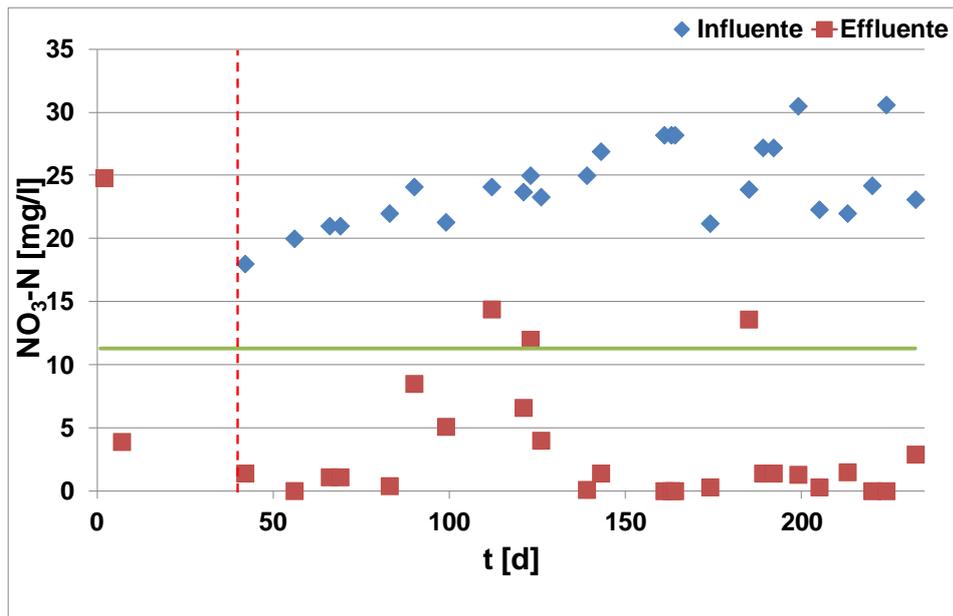


Fig. 5.12 Concentrazione di $\text{NO}_3\text{-N}$ in ingresso e uscita dalla colonna riempita con corteccia di pino

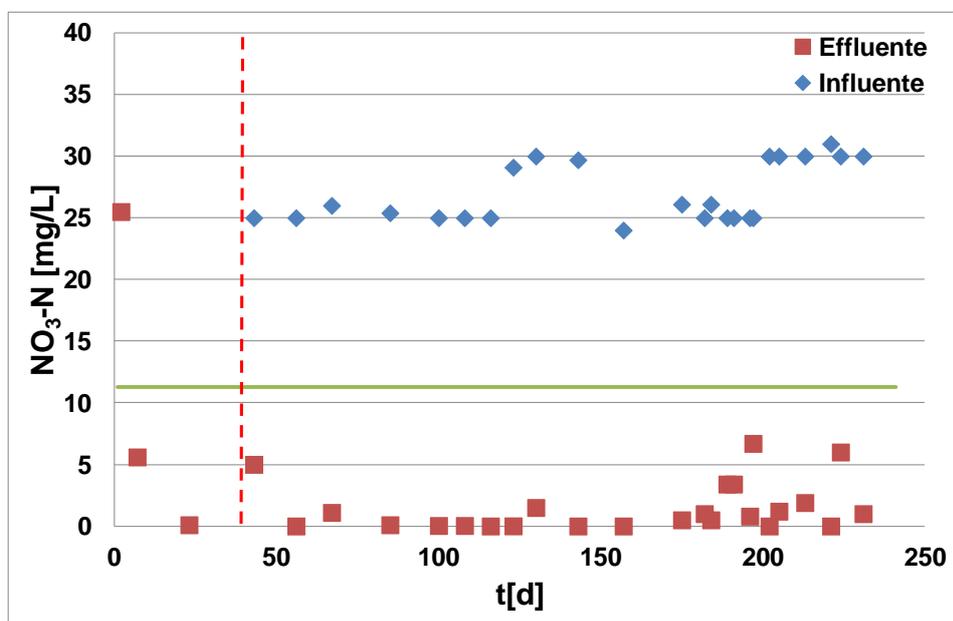


Fig. 5.13 Concentrazione di $\text{NO}_3\text{-N}$ in ingresso e uscita dalla colonna riempita con sansa di olive

I grafici consentono di notare che i tre substrati supportano bene il processo di rimozione dei nitrati, ottenendo ottimi rendimenti di rimozione fin dai primi giorni di alimentazione. Questo indica che la popolazione batterica si è ben formata durante la prima fase di avviamento dell'impianto.

Tuttavia si possono rilevare differenti comportamenti dei tre substrati. In particolare, si evince che la sansa di olive consente di ottenere concentrazioni di nitrati all'effluente sempre prossime a zero, senza superamenti del limite normativo. Sughero e corteccia di pino più volte hanno mostrato invece concentrazioni in uscita superiori e alcuni superamenti di tale limite.

La tabella 5.6 riporta in forma sintetica i rendimenti di rimozione ($\Delta\text{NO}_3\text{-N}$) minimi e massimi conseguiti dalle colonne; gli andamenti dei rendimenti nel corso di tutto il periodo di sperimentazione sono riportati nelle figure 5.14-5.16.

Tab. 5.6 Range di variazione dei rendimenti di denitrificazione delle colonne

Colonna	$\Delta\text{NO}_3\text{-N}$ minimo	$\Delta\text{NO}_3\text{-N}$ massimo
Sughero	20	98
Corteccia di pino	40	99.99
Sansa di olive	73.2	99.99

Bisogna precisare che i rendimenti pressoché unitari riportati in tabella, fanno riferimento a giornate di campionamento in cui si sono rilevate concentrazioni sull'effluente inferiori al limite di rilevabilità del lettore ottico utilizzato; in tali casi, il rendimento è stato calcolato assegnando alla sezione d'uscita una concentrazione pari a $0,1 \text{ mg NO}_3\text{-NL}^{-1}$, valore corrispondente all'estremo inferiore del range di misura del kit analitico utilizzato.

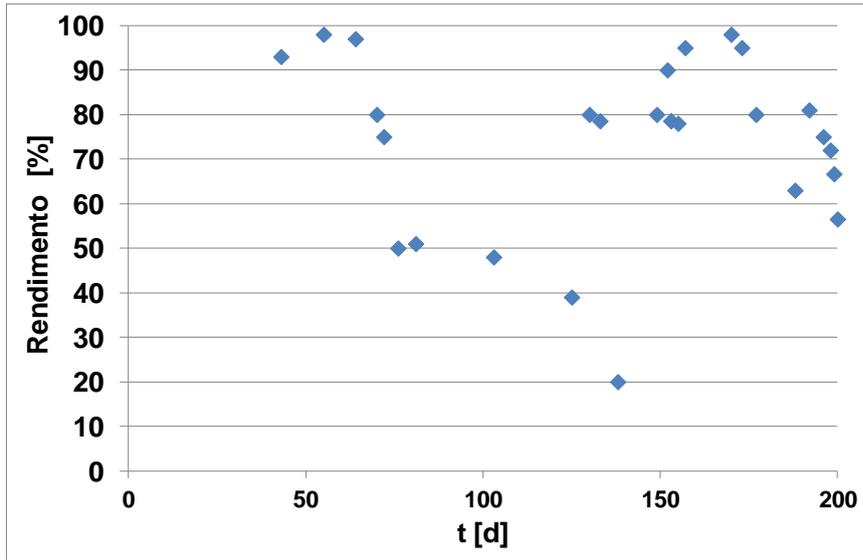


Fig 5.14 Rendimento di rimozione colonna riempita con sughero

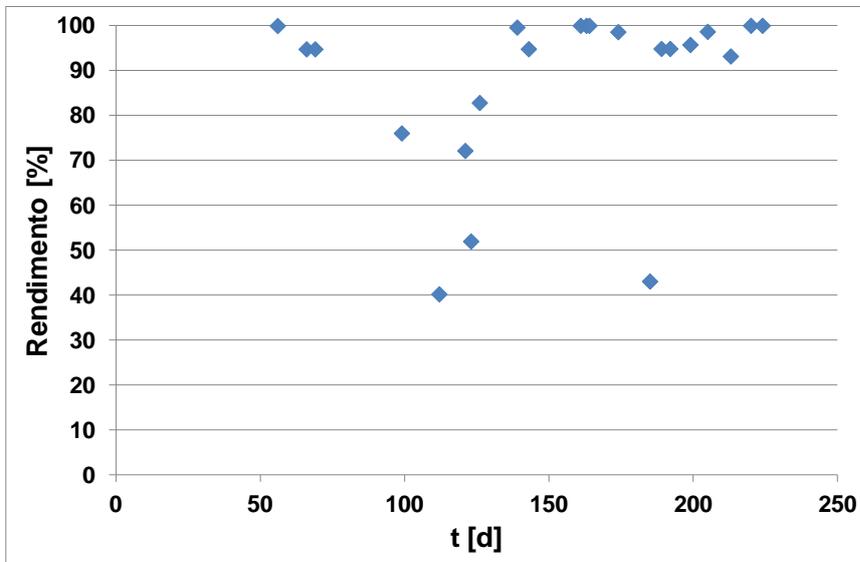


Fig 5.15 Rendimento di rimozione colonna riempita con corteccia di pino

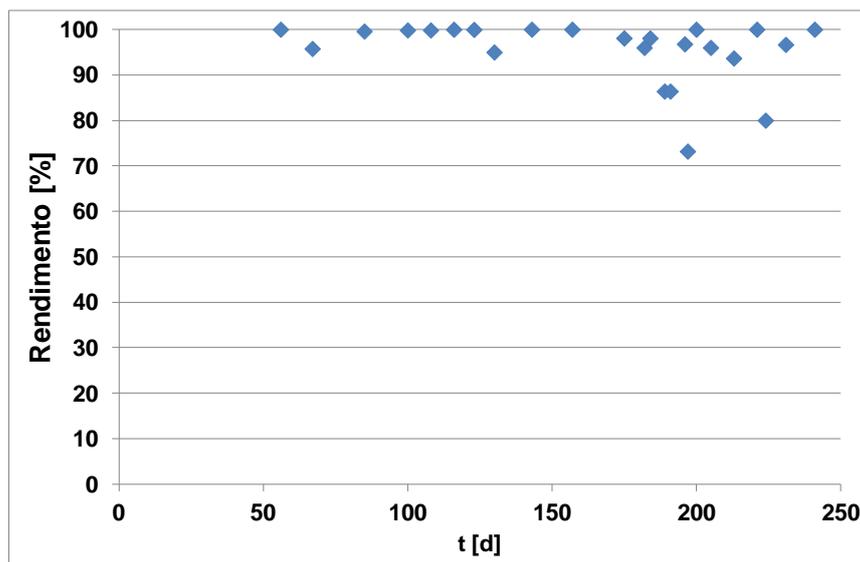


Fig 5.16 Rendimento di rimozione colonna riempita con sansa di olive

Le figure consentono di notare in modo più chiaro, il differente comportamento delle tre colonne. Il sughero mostra una capacità di denitrificazione non costante durante tutto il periodo di sperimentazione e mediamente compresa tra 50 e 80%, con concentrazione di nitrati all'effluente più elevata rispetto al caso degli altri due reattori. Di contro la sansa di olive ha mostrato una performance costante, con un rendimento medio di denitrificazione pari al 94%.

Molto differente risulta inoltre la velocità con cui le tre colonne conseguono la rimozione dei nitrati con riferimento ai casi in cui si conseguono rimozioni elevate. La figura 5.17 mette a confronto gli andamenti di concentrazione lungo le colonne in corrispondenza di giornate di campionamento in cui si è riscontrato un rendimento di rimozione pressoché unitario e un TDI pari a 6 giorni.

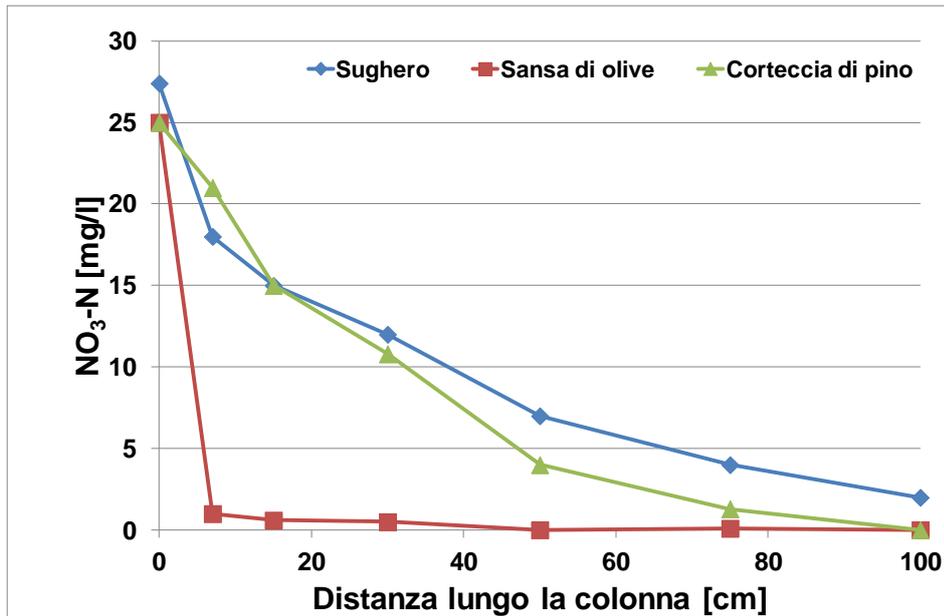


Fig 5.17 Profili di concentrazione di $\text{NO}_3\text{-N}$ a confronto

Risulta evidente che all'interno del reattore dove è presente la sansa di olive, la biomassa riesce a denitrificare completamente nei primi 7 cm dall'ingresso della colonna. Invece la corteccia di pino e il sughero consentono di raggiungere l'obiettivo di bonifica solo ad una distanza dalla sezione di ingresso di 30 cm e una pressoché completa denitrificazione nell'ultima sezione della colonna. Tale circostanza, come verrà meglio discusso nel seguito, è probabilmente da attribuire a un differente comportamento dei tre materiali in fase di rilascio del carbonio; infatti, a parità di tutte le altre condizioni, l'unico fattore che può limitare il processo nei vari sistemi risulta la disponibilità di carbonio organico. La sansa di olive, come già mostrato nei batch test, appare in grado di fornire fin dai primi istanti tutto il carbonio necessario per consentire alle biomasse di portare a termine il processo di denitrificazione; al contrario, negli altri due sistemi la cinetica più lenta può essere attribuibile a una limitazione dovuta alla disponibilità di carbonio.

5.4.2 Evoluzione dei nitriti

Il nitrito rappresenta il primo composto che si forma nella reazione sequenziale di denitrificazione, che termina con la piena trasformazione del nitrato in azoto gas. Il monitoraggio di questo parametro ha lo scopo di verificare che non vi fosse una denitrificazione incompleta, con un accumulo di nitriti.

Durante tutte le giornate di campionamento, è stato osservato un andamento dei nitriti coerente con un processo completo di denitrificazione, ovvero con il procedere della rimozione dei nitrati; in particolare è stato rilevato in un primo momento un incremento di concentrazione, a seguito del quale i nitriti vengono consumati dalla biomassa fino alla completa trasformazione in N_2 . A titolo di esempio si riporta l'andamento dei nitriti e nitrati durante una giornata tipo relativamente alla colonna riempita con sughero. Tale andamento è stato riscontrato in tutte le giornate di campionamento e in tutti i reattori.

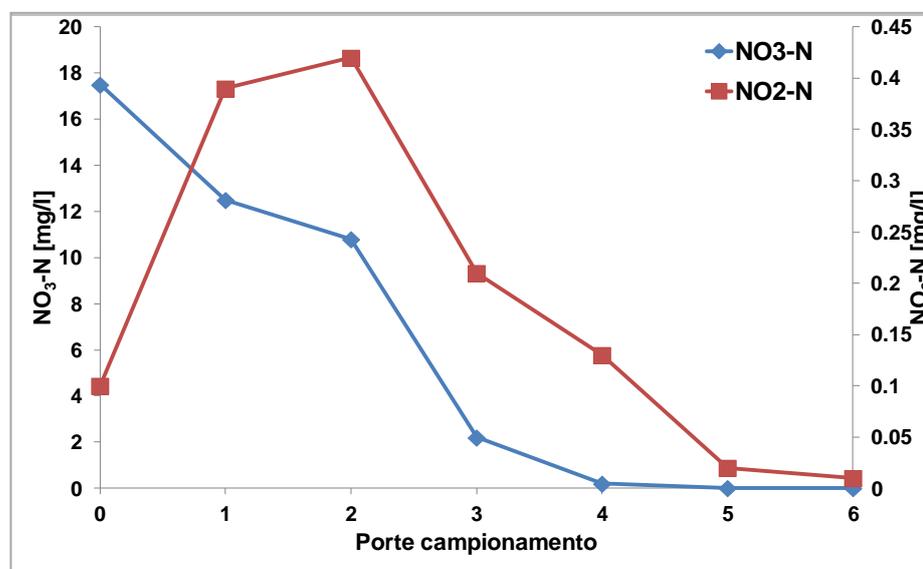


Fig.5.18 Andamento di NO₂-N e NO₃-N in una generica giornata di campionamento (colonna riempita con sughero)

In ogni caso, la concentrazione dei nitriti all'effluente è sempre risultata prossima a zero.

5.4.3 Evoluzione dello ione ammonio

Le analisi condotte sugli effluenti hanno mostrato una produzione di ione ammonio sempre inferiore a 1 mg L^{-1} nelle colonne relative ai substrati sughero e corteccia di pino. Sono state invece rilevate concentrazioni in genere più elevate (fino a 3 mg L^{-1}) per la sansa di olive, seppur confrontabili con i valori riscontrati in letteratura per sperimentazioni analoghe.

La figura 5.19 mostra l'evoluzione della concentrazione di ione ammonio misurata all'effluente durante il periodo di osservazione.

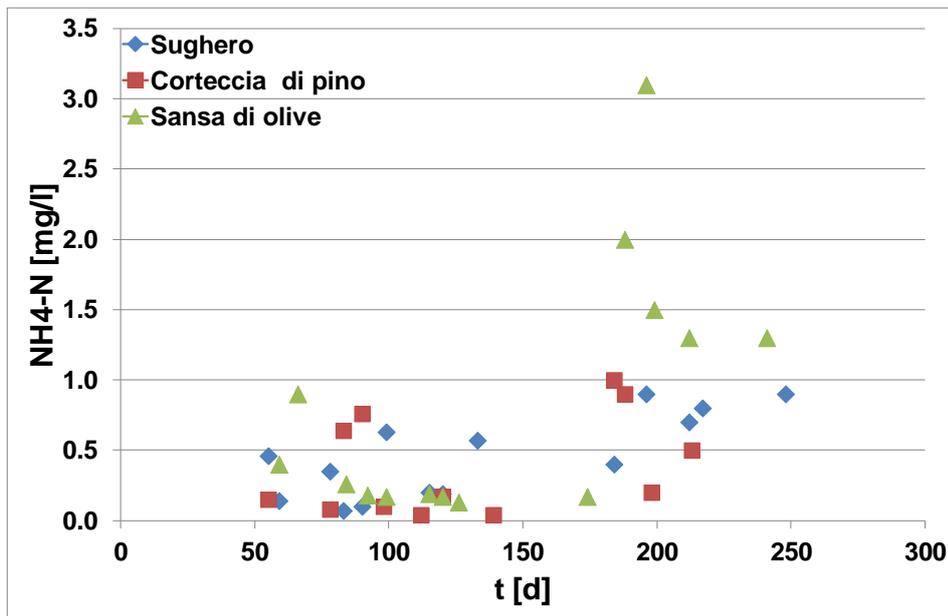


Fig.5.19 Concentrazione di $\text{NH}_4\text{-N}$ in uscita dalle colonne

Come rilevabile in figura 5.17, la sansa di olive consente una rimozione dei nitrati pressoché completa appena a sette centimetri di distanza dalla sezione di ingresso. Al contempo questa elevata efficienza di rimozione può essere la causa della produzione di ione ammonio. Infatti elevate concentrazioni di carbonio organico e bassi valori di nitrati sono condizione favorevole perché si inneschi la riduzione dissimilativa dei nitrati in ione ammonio (DNRA), secondo la reazione riportata nell'equazione 2.11.

Tuttavia i modesti valori di ione ammonio così misurati consentono di affermare che il processo principale di rimozione dei nitrati, come già osservato nelle prove batch, è da attribuire al processo biologico di denitrificazione.

Infatti, per i substrati sughero e corteccia di pino la DNRA contribuisce al processo denitrificativo in misura pari a meno del 5% dei nitrati rimossi, mentre per la sansa di olive assume un valore massimo del 10%. Questi risultati sono in accordo con gli studi condotti da Schipper e Vjvodic-Vukovic (2000), Greenan et al. (2006) e Gibert et al. (2008).

5.4.4 Evoluzione dei parametri geochimici

Durante tutta la sperimentazione il pH all'interno dei reattori ha mantenuto valori prossimi alla neutralità e compresi nel range 5.8÷7.54. Tale variazione di pH ricade nel range ottimale per il processo di denitrificazione, così come suggerito da Gibert et al. (2008). Precisamente, per ciascuna colonna i valori riscontrati i valori riscontrati sono stati:

- 6 ÷ 7.4 per il sughero;
- 5.9÷6.8 per la corteccia di pino;
- 5.88÷7.54 per la sansa di olive.

In generale non è stata notata nessuna variazione significativa del pH durante i giorni di sperimentazione. In particolare, si è osservata una debole alcalinizzazione mediante misure puntuali eseguite lungo le porte di campionamento. A titolo di esempio, in figura 5.20 si riporta l'andamento del pH lungo la colonna relativa alla corteccia di pino durante una giornata tipo di campionamento. Come mostrato in figura, il pH del sistema è cresciuta col procedere del processo di denitrificazione.

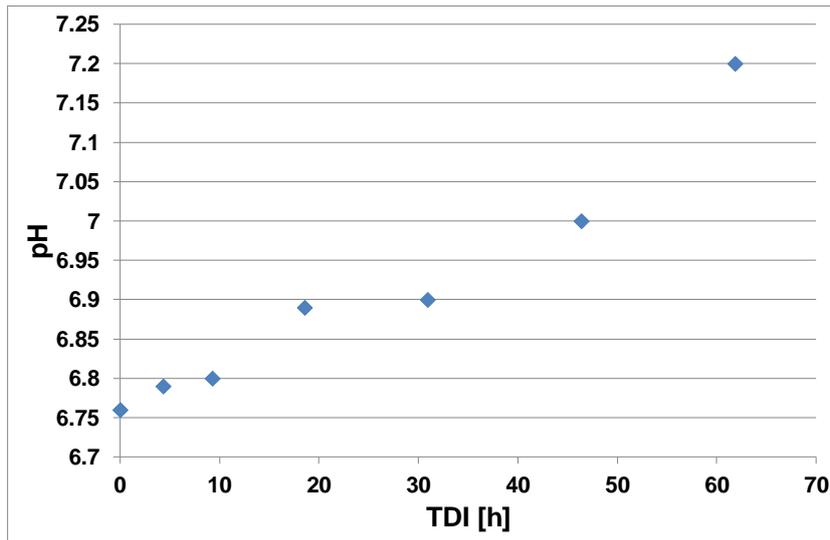


Fig.5.20 Andamento del pH lungo la colonna riempita con corteccia di pino

Le misure del potenziale redox hanno confermato l'instaurarsi delle condizioni favorevoli alla denitrificazione. Sono stati misurati infatti valori medi per sughero e corteccia di pino rispettivamente pari a $+162 \pm 60$ e $+141 \pm 69$ mV; tali valori sono in linea con il limite di $+300$ mV, riportato in letteratura (Brettar et al., 2002; Chung et al., 2004) (Fig. 5.21).

Per la sansa di olive, spesso sono invece stati osservati valori di potenziale redox anche inferiori a -50 mV, caratteristici di un metabolismo anaerobico.

In questo caso, l'elevata velocità con cui la biomassa consegue la rimozione dei nitrati, comporta che fin dalle prime sezioni della colonna vi sia una totale assenza di ossigeno legato ai nitrati. In tale ambiente, si possono innescare reazioni di fermentazione a spese di ossigeno legato ad altri accettori di elettroni, come manganese, ferro e solfati, con relativa formazione dei composti metabolici.

Lungo tutte le colonne, è stato osservato un andamento generale decrescente dei valori di ORP con il procedere della reazione riduttiva. Le figure che seguono mostrano tale andamento lungo le diverse colonne; in particolar modo in figura 5.22, relativa alla sansa di olive, si riportano gli andamenti dei nitrati e dell'ORP, che evidenziano come l'instaurarsi di ORP negativi sia legato ad una immediata e completa

rimozione dei nitrati. L'asse delle ascisse segna il tempo di detenzione relativo a ciascuna porta di campionamento.

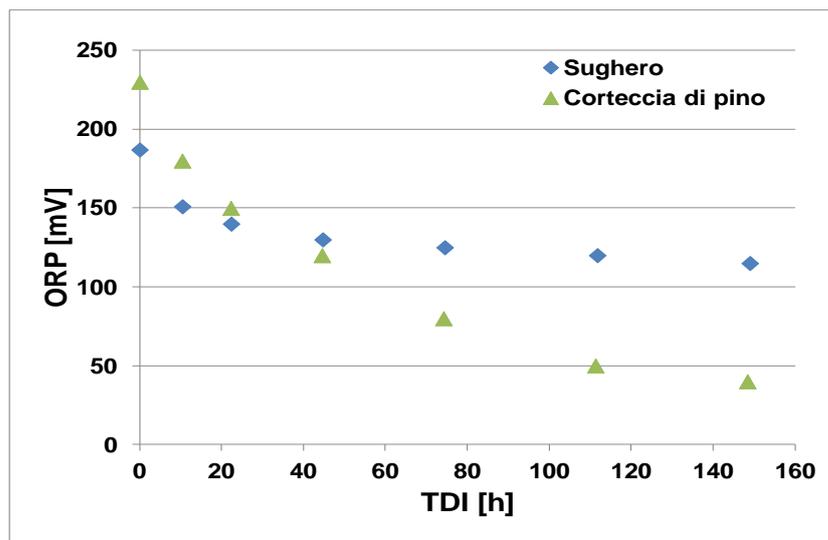


Fig.5.21 Andamento decrescente di ORP lungo le colonne riempite con sughero e corteccia di pino

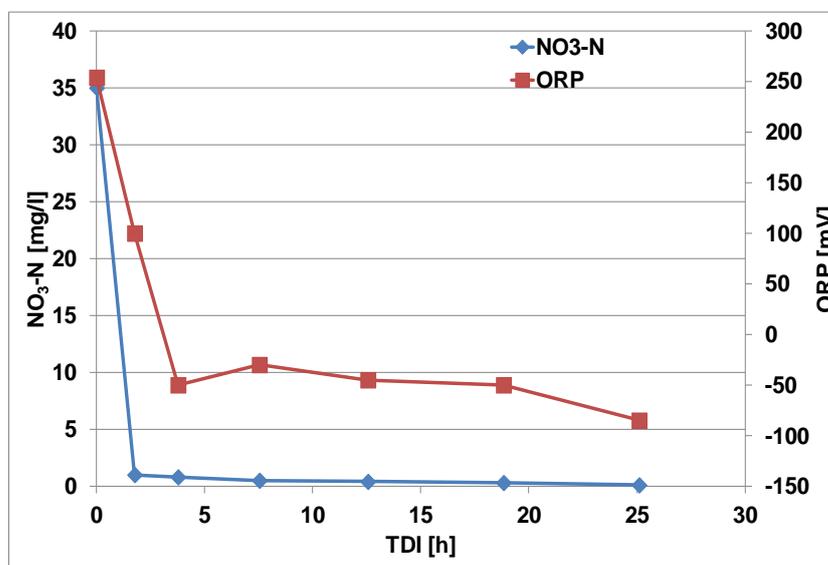


Fig.5.22 Andamento comparato di ORP e dei nitrati lungo la colonna riempita con sansa di olive

5.4.5 Evoluzione del COD

Le concentrazioni di COD sono state utilizzate come indicatori del carbonio organico rilasciato nel sistema.

Le misure negli effluenti dalle colonne hanno evidenziato valori medi pari a 48.8 ± 25.2 , 85.8 ± 72.9 mgCODL⁻¹ rispettivamente per sughero e corteccia di pino, mentre valori nettamente più elevati si sono rilevati per la sansa di olive, pari a 378.2 ± 93 mgCODL⁻¹. In figura 5.23 si riportano le concentrazioni del COD misurate in uscita dalle tre colonne.

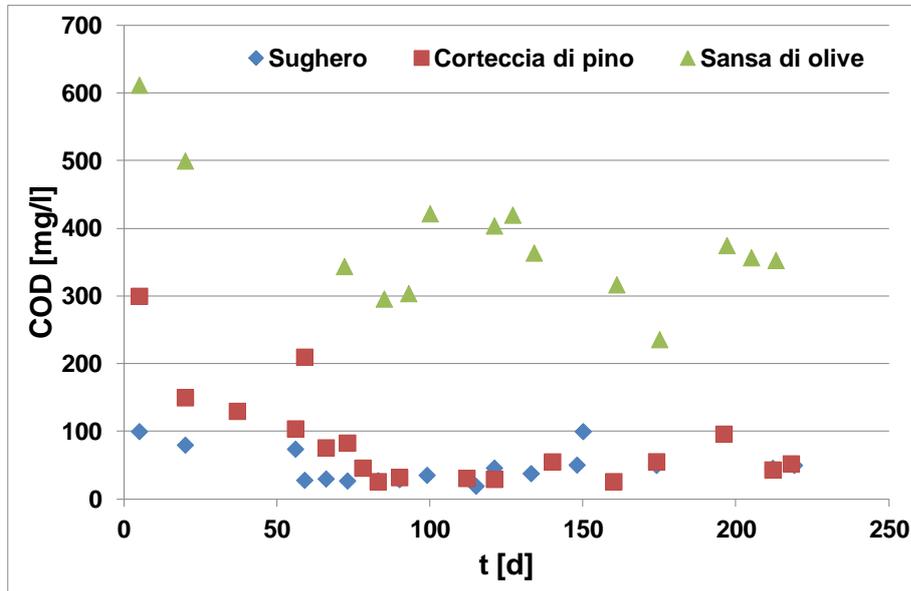


Fig. 5.23 Concentrazioni di COD misurate in uscita dalle colonne

Nel caso della sansa di olive, i valori medi indicati non tengono conto della fase di avviamento dell'impianto, durante la quale sono stati osservati valori quasi doppi (~ 600 mg COD L⁻¹); tali valori così elevati giustificano proprio l'aver svolto una fase di start up mirata a dilavare e a ridurre gli elevati valori di COD rilasciati dai substrati (Healy et al., 2012).

Osservando l'andamento del COD nel tempo, si nota che non vi è stato un trend decrescente delle concentrazioni caratteristiche per ciascuna colonna; questo starebbe a indicare che il substrato organico non si è

degradato nel tempo e continua ad essere capace di supportare il processo biologico di denitrificazione.

In realtà questa considerazione non è corretta per il sughero. Infatti, sebbene questo mostri valori pressoché equiparabili a quelli della corteccia fino al termine della sperimentazione (230 giorni), si è constatata una perdita irreversibile di efficacia dopo circa 200 giorni di funzionamento (valori non mostrati). Tale discrepanza di funzionamento è da attribuire alla differente biodegradabilità del carbonio rilasciato. Per tale motivo sono state condotte misure della concentrazione di BOD₅, che certamente fornisce una indicazione più precisa in merito alla biodisponibilità del carbonio organico presente nel sistema. È stato riscontrato infatti un BOD₅ di 3 mg/l, a fronte di un COD medio di 48.8 mg/l, determinando un rapporto BOD/COD di 0,06. Assumendo che un substrato viene considerato idoneo a un trattamento biologico convenzionale per valori BOD/COD non inferiori a 0,3 (Metcalf & Eddy, 2006), si può concludere che il sughero dopo 200 giorni di processo in continuo ha perso la sua idoneità come supporto di un processo biologico di denitrificazione.

Tale comportamento è coerente con le considerazioni in merito alla struttura lignocellulosica del sughero, caratterizzata da valori più bassi di emicellulosa e cellulosa rispetto agli altri materiali. Come discusso al capitolo 3, è proprio la percentuale dei due polisaccaridi che determina il rilascio di carbonio organico facilmente ossidabile dalla biomassa e la stabilità del rilascio nel tempo.

A differenza del sughero, per sansa di olive e corteccia di pino la capacità delle miscele reattive di supportare la denitrificazione biologica non si è attenuata nel tempo e il carbonio organico rilasciato è sempre stato superiore ai fabbisogni della biomassa e pertanto non limitante il processo.

Appare superfluo sottolineare che l'importanza di queste considerazioni risiede nel fatto che la selezione del substrato più idoneo ad essere utilizzato come riempimento di una biobarriera è imprescindibilmente legato alla capacità di mantenere a lungo la sua reattività.

Ad oggi gli unici materiali utilizzati nelle applicazioni di piena scala sono trucioli e segatura di legno, i quali hanno mostrato anche dopo 15 anni di processo di mantenere elevata la propria capacità reattiva (Robertson et al., 2008).

5.4.6 Influenza del TDI sul processo

Il tempo di detenzione idraulica (TDI) è risultato il parametro che maggiormente ha condizionato la resa di denitrificazione nelle colonne riempite con sughero e corteccia di pino.

Il TDI è stato regolato modificando la differenza di carico tra monte e valle delle colonne; bisogna tuttavia specificare che le colonne sono talvolta state interessate da fenomeni transitori di intasamento o parziale occlusione dei pori, tali da rendere la gestione dei TDI alquanto difficoltosa. In ogni caso, è stato possibile distinguere tre differenti periodi di alimentazione.

Durante il primo periodo di processo, il TDI è stato generalmente mantenuto nel range compreso tra 2.5 e 6 giorni, ritenuto da Gibert et al. (2008) ottimale per lo sviluppo completo del processo di denitrificazione. Successivamente sono stati incrementati i carichi di monte, ottenendo tempi di detenzione più bassi e complessivamente compresi tra 3.4 ore e 3 giorni.

L'ultimo periodo della sperimentazione è stato condotto ripristinando il TDI a valori più elevati, analoghi al primo periodo.

Contestualmente alla variazione del tempo di detenzione in colonna sono state osservate significative differenze nelle rese di denitrificazione delle colonne. In particolar modo è stato osservato che la diminuzione di TDI nel secondo periodo ha determinato per il sughero una riduzione dei rendimenti fino ad un valore medio pari al $45.3 \pm 4\%$. Analogo trend è stato osservato per la corteccia di pino, la quale ha tuttavia garantito migliori performance di denitrificazione definite da un valore medio di $51 \pm 16\%$.

Le tabelle e le figure che seguono riportano, per entrambe le colonne, i valori assunti dal TDI e dall'efficienza di rimozione dei nitrati durante i tre periodi individuati.

Tab. 5.7 Valori di TDI e di rendimento di denitrificazione

	Periodo	Giorni	TDI [d]	Rendimenti di denitrificazione [%]
Sughero	1	42÷75	2.48÷6.9	90÷98
Corteccia di pino	1	42÷89	5.36÷7.1	66.7÷98
Sughero	2	76÷125	0.17÷0.6 2	39÷50
Corteccia di pino	2	90÷125	0.42÷3	37.3÷76.1
Sughero	3	126÷200	2.5÷6.3	20÷98
Corteccia di pino	3	126÷230	5.1÷7.8	43÷99.9

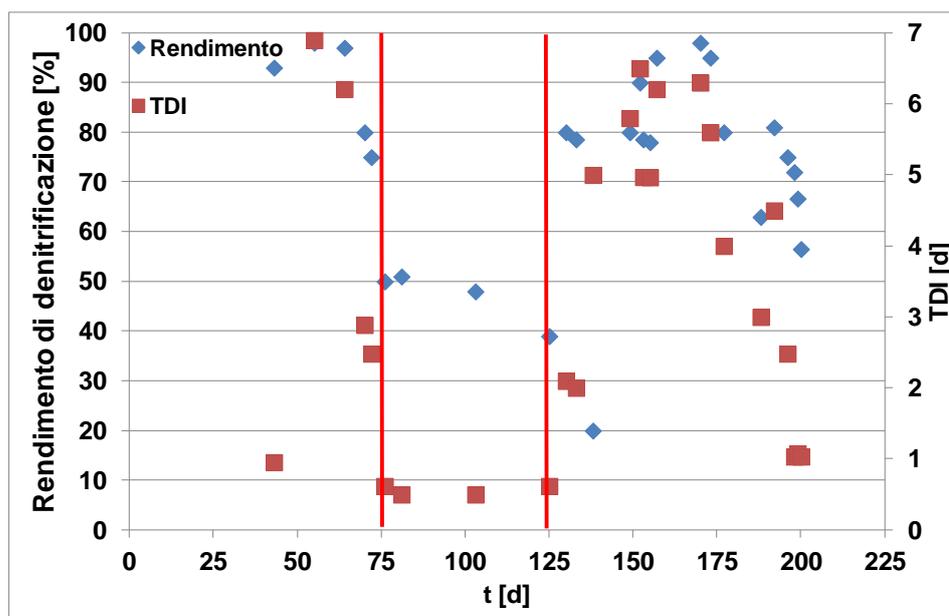


Fig. 5.24 Tempi di detenzione e rendimenti di denitrificazione per la colonna riempita con sughero

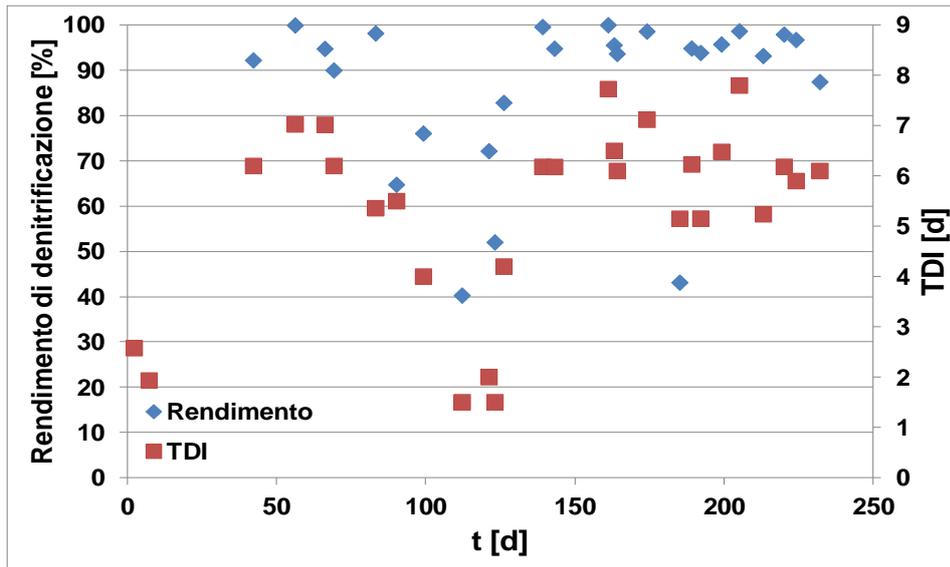


Fig. 5.25 Tempi di detenzione e rendimenti di denitrificazione per la colonna riempita con corteccia di pino

Alla luce di queste osservazioni, è stato estrapolato il legame diretto tra il TDI e il rendimento di denitrificazione. La figure 5.25 e 5.26 riportano i rendimenti di rimozione di entrambe le colonne in funzione del TDI e la relativa retta interpolante.

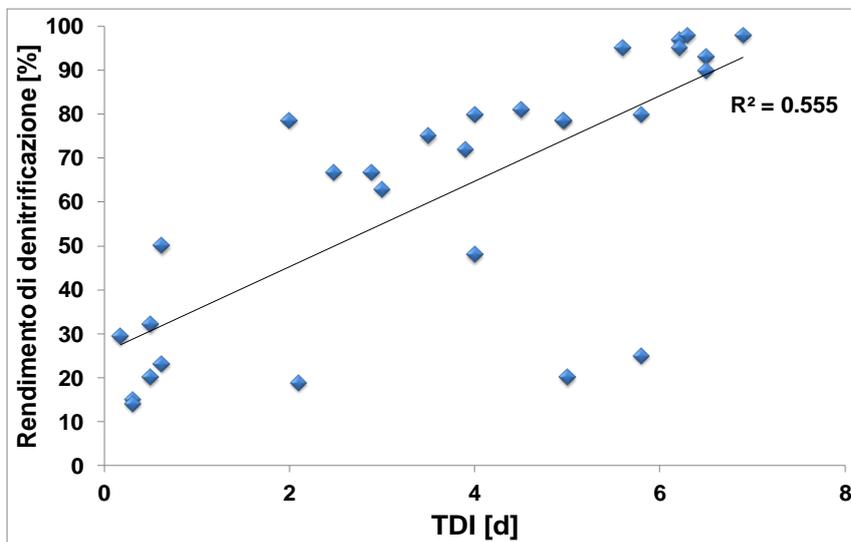


Fig.5.26 Legame tra rendimento di denitrificazione e TDI per la colonna riempita con sughero

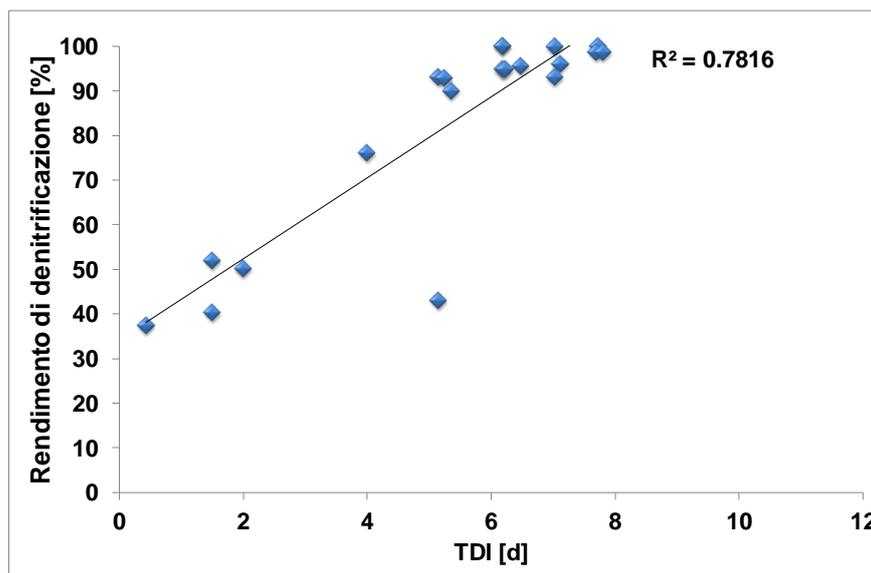


Fig.5.27 Legame tra rendimento di denitrificazione e TDI per la colonna riempita con corteccia di pino

Dai grafici è possibile riscontrare una maggiore correlazione nel caso della corteccia di pino. Il sughero ha infatti risentito maggiormente dei fenomeni di intasamento del mezzo, che ne hanno ridotto l'efficienza anche in corrispondenza di elevati valori di TDI. Questi fenomeni possono essere legati sia alla formazione della pellicola biologica, caratteristico dei sistemi a biomassa adesa, sia agli accumuli di gas prodotti dal metabolismo batterico all'interno della porosità del mezzo poroso. In generale questi fenomeni di corto circuito idraulico causano una minore efficienza di denitrificazione poiché si riduce l'effettivo volume reattivo del reattore (Cameron e Schipper, 2012).

È possibile che tali fenomeni di intasamento siano stati più frequenti nel sughero in quanto caratterizzato da granulometria mediamente superiore rispetto agli altri substrati (come si rileva nelle curve granulometriche). Ovvero, la forma e le superfici maggiori dei grani più grossolani creano più frequentemente fenomeni di intrappolamento delle bolle di gas prodotte, mentre i grani più fini creano canali preferenziali che agevolano la liberazione delle stesse (Cameron e Schipper, 2012).

Nessuna correlazione significativa è stata osservata nel caso della sansa di olive (figura 5.27). Si può ritenere che l'abbondante surplus di

carbonio organico, misurato come COD, rispetto ai fabbisogni della biomassa, abbia permesso alla biomassa di denitrificare in modo pressoché completo non risentendo di nessuna variazione delle condizioni operative. Pertanto si può ritenere che il tempo di contatto tra substrato reattivo e contaminante è determinante nell'esito del processo quando il rilascio di carbonio organico da parte del reagente avviene lentamente. Al contrario, risulta non influenzare il processo quando il rilascio è veloce e abbondante, come appunto nel caso della sansa di olive.

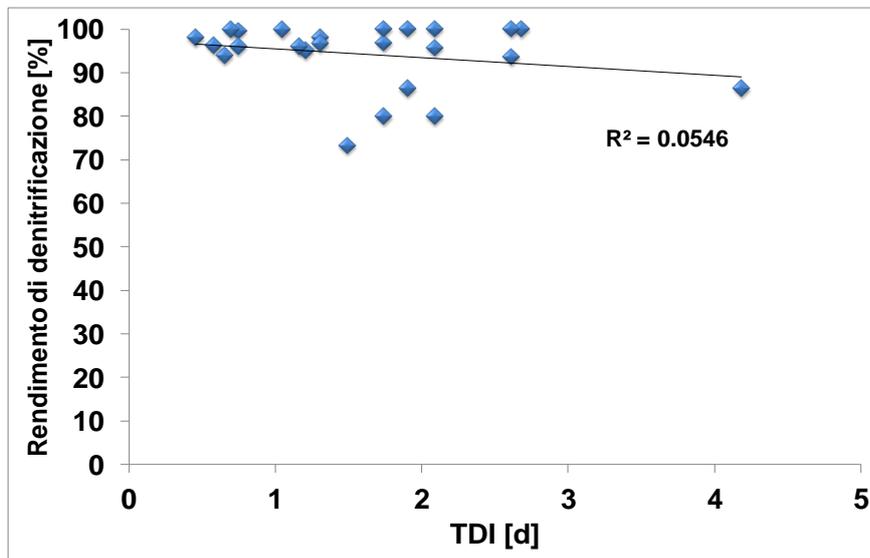


Fig.5.28 Legame tra rendimento di denitrificazione e TDI per la colonna riempita con sansa di olive

5.4.7 Cinetica di denitrificazione

Per calcolare la cinetica di denitrificazione relativa a ciascuna colonna, l'andamento della concentrazione dei nitrati lungo le stesse è stato messo in relazione col tempo di detenzione relativo a ciascuna porta di campionamento, ricavato con l'equazione 3.4.

È stato osservato che il profilo di nitrati lungo le colonne relative al sughero e la corteccia di pino, generalmente ben risponde ad una cinetica di ordine zero rispetto alla concentrazione dei nitrati stessi, analogamente a quanto riportato in diversi studi di letteratura (Robertson, 2010;

Schipper et al., 2010). All'interno della colonna riempita con sansa di olive, invece, il decadimento dei nitrati è meglio descritto da un profilo non lineare, più idoneo ad una cinetica di primo ordine. Il veloce decadimento della concentrazione di nitrati sin dalle prime sezioni della colonna, infatti, fa sì che la presenza dei nitrati stessi diventi un fattore limitante il processo.

Nelle figure che seguono si riportano i profili di concentrazione dei nitrati per giornate di campionamento tipo relative alle tre colonne.

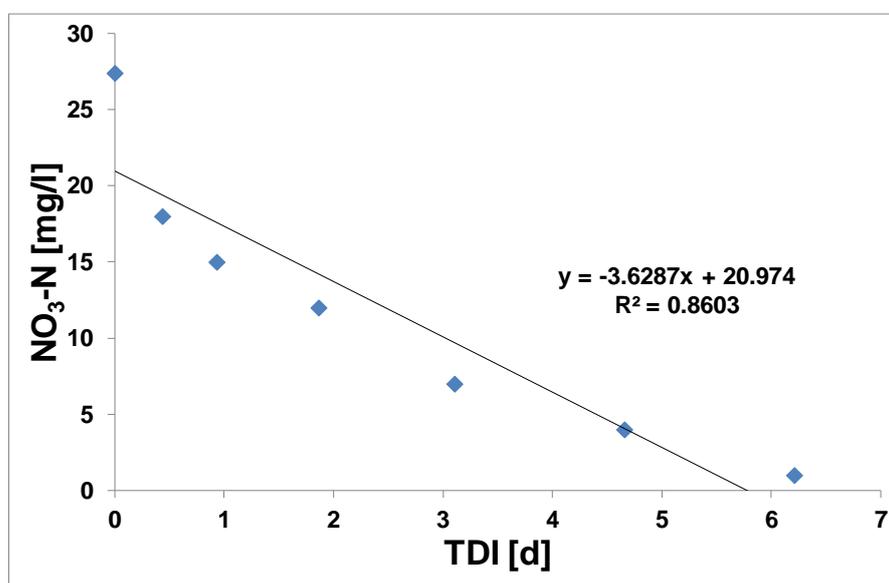


Fig.5.29 Profilo di concentrazione NO₃-N rispetto al TDI per la colonna riempita con sughero

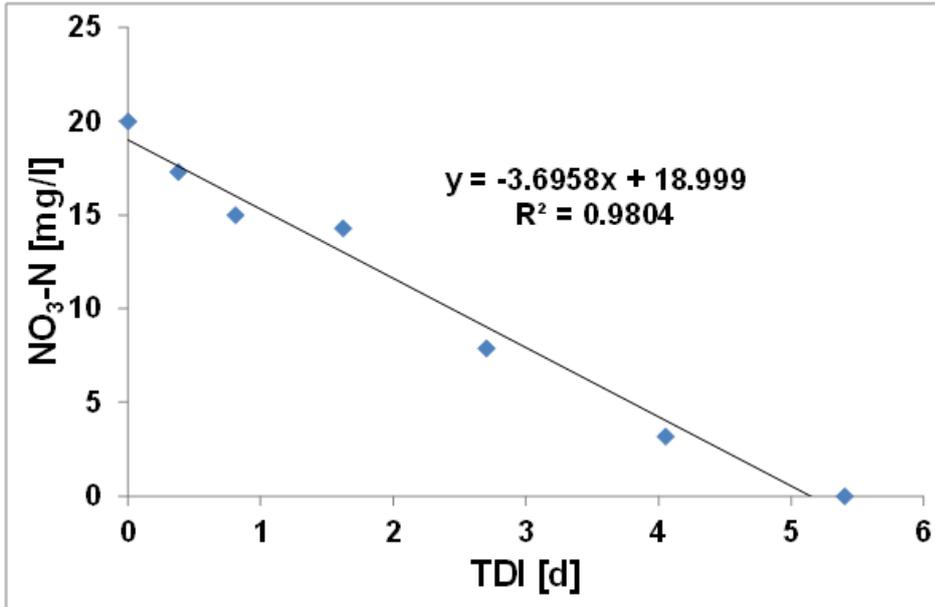


Fig.5.30 Profilo di concentrazione NO₃-N rispetto al TDI per la colonna riempita con corteccia di pino

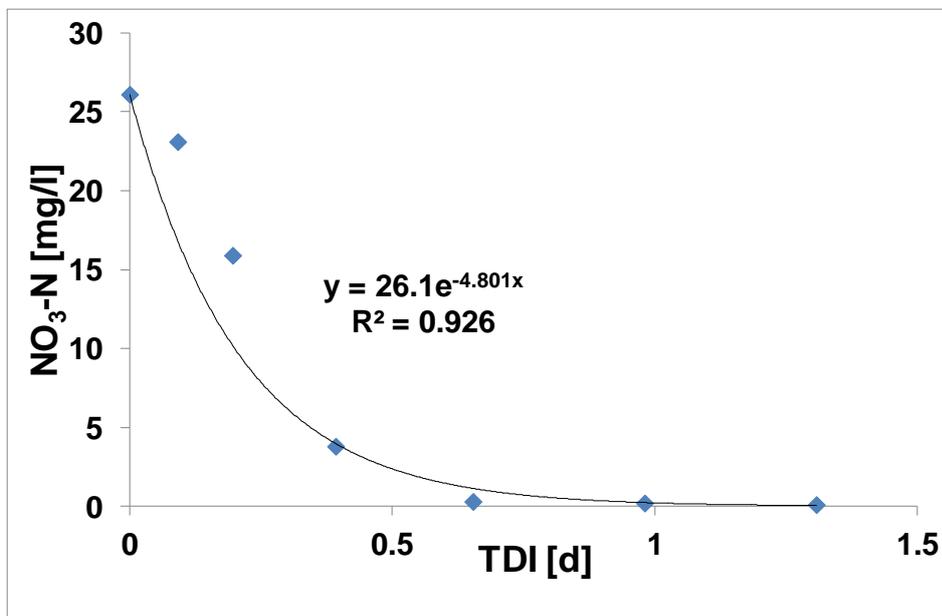


Fig.5.31 Profilo di concentrazione NO₃-N rispetto al TDI per la colonna riempita con sansa di olive

La tabella 5.8 riporta i parametri medi ricavati da un modello cinetico di ordine zero per sughero e corteccia di pino e da un modello cinetico di primo ordine per la sansa di olive.

Tab. 5.8 Parametri cinetici medi per ciascuna colonna

Colonna	Ordine zero		Primo ordine		
	V_D [mgNO ₃ -NL ⁻¹ d ⁻¹]	r ²	k (d ⁻¹)	t _{1/2}	r ²
Sughero	4.88±3.12	0.78	-	-	-
Corteccia di pino	5.7±5.3	0.94	-	-	-
Sansa di olive	-	-	3.01±1.8	-	0.91

Successivamente sono stati calcolati i massimi valori di velocità di rimozione dei nitrati, considerando la variazione di concentrazione relativa alle sezioni in cui si è raggiunto l'obiettivo di bonifica di 11,3 mgL⁻¹, generalmente per le colonne sughero e corteccia di pino questo avviene in corrispondenza della quarta porta di campionamento (a 50 cm dall'ingresso), mentre per la sansa di olive la rimozione pressoché completa è stata spesso osservata fin dalla prima sezione di campionamento. La tabella 5.9 riporta i valori di velocità massima così ricavati considerando una regressione lineare lungo le sezioni delle colonne considerate.

Tab 5.9 Velocità di denitrificazione massima

Colonna	V_{Dmax} [mgNO ₃ -NL ⁻¹ d ⁻¹]
Sughero	12±7
Corteccia di pino	10.04±14.06
Sansa di olive	50.4±30.6

Le figure che seguono, mostrano i valori puntuali delle velocità massime di denitrificazione misurate in corrispondenza delle giornate più rappresentative di campionamento.

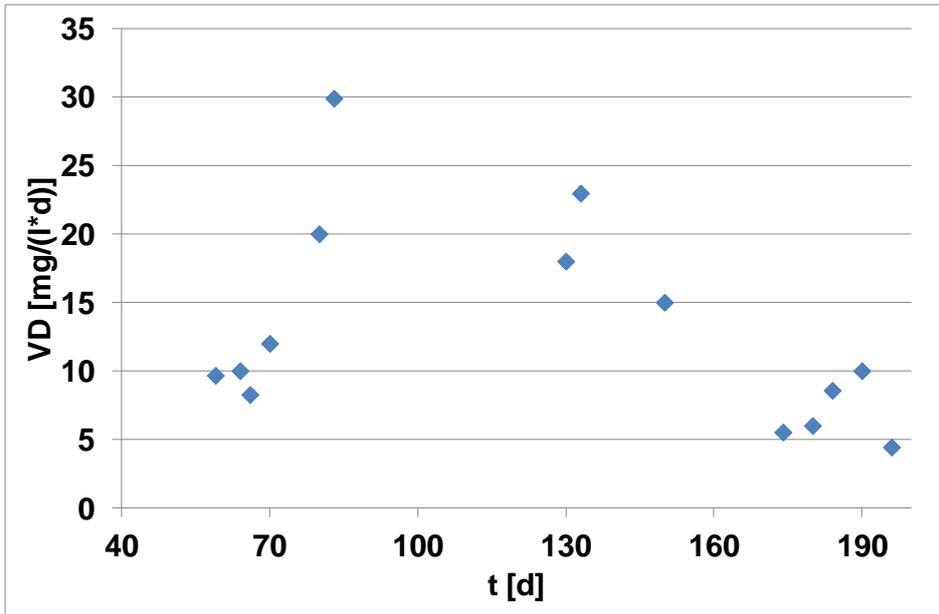


Fig.5.32 Velocità di denitrificazione massima per la colonna riempita con sughero

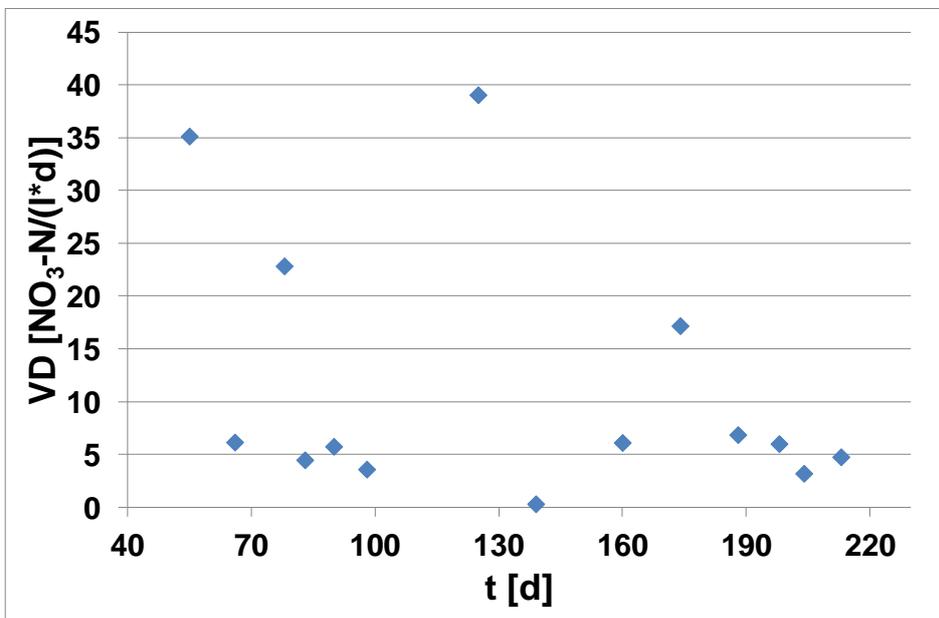


Fig.5.33 Velocità di denitrificazione massima per la colonna riempita con corteccia di pino

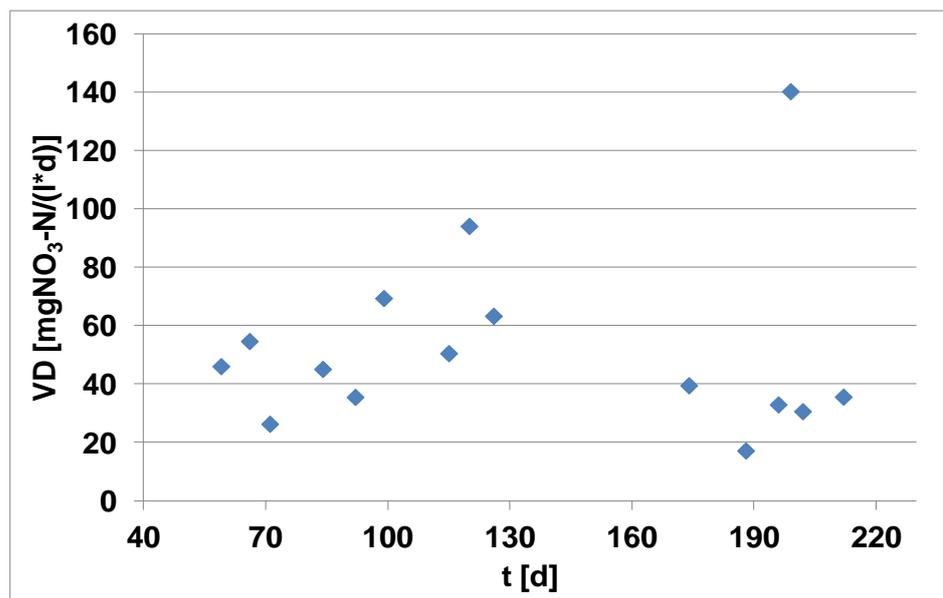


Fig.5.34 Velocità di denitrificazione massima per la colonna riempita con sansa di olive

I valori così calcolati sono stati confrontati con quelli reperiti nella letteratura scientifica di riferimento (tabella 5.10) relativi a studi in colonna svolti con obiettivi analoghi a quelli del presente studio.

Tab 5.10 Velocità di denitrificazione riportate in letteratura

Substrato	NO ₃ -N influente [mg/l]	V _D [mgNO ₃ -NL ⁻¹ h ⁻¹]	Riferimento
Olio vegetale	20	36	Hunter (2001)
Giornali	20-22	79.2	Volokita et al.(1996)
Cotone	20	24	Della Rocca et al.(2005)
Segatura	50	11.52	Gibert et al.(2008)
Segatura	40	9.36	Fahrner (2012)
Segatura	12	6.96	Fahrner (2012)

Come si può notare i valori calcolati appaiono in linea con quelli riportati in letteratura. Appare inoltre evidente come la sansa di olive risulti quella che garantisce tra le maggiori velocità di denitrificazione.

Analogamente a quanto discusso al capitolo 3, è possibile osservare dalla tabella 5.10 che in generale la segatura mostra valori più bassi della velocità di denitrificazione rispetto agli altri materiali. Nonostante ciò la segatura ad oggi è il materiale più utilizzato per le applicazioni in piena scala in quanto, seppur con cinetiche più ridotte, riesce a garantire la sua capacità reattiva in modo stabile nel tempo.

I processi di denitrificazione nelle zone umide: attività sperimentale

6.1 Introduzione

L'attività di sperimentazione condotta è stata volta a valutare la capacità di denitrificazione delle zone umide del bacino fluviale Odense in Danimarca, interessate da attività agricole e zootecniche.

La sperimentazione rientra negli obiettivi del progetto AQUAREHAB, finanziato dall'Unione Europea e relativo al topic "Rehabilitation technologies for degraded water systems presenting quantity and quality problems". Il coordinamento del progetto è affidato al Flemish Institute for Technological Research (VITO-MPT).

Il progetto prevede lo studio di tecnologie di intervento che possano agire sinergicamente per risanare aree fortemente compromesse da flussi vari di contaminazione. Questo è il caso di aree dei bacini fluviali, bersagli di flussi contaminanti provenienti da sorgenti molteplici che in esse ricadono: insediamenti urbani, aree industriali e attività agricole e zootecniche (fig. 6.1).

La sperimentazione condotta si inserisce nell'ambito del work package 1 del progetto relativo alla contaminazione diffusa da nitrati e pesticidi nelle aree interessate da agricoltura intensiva. Al work package partecipano i seguenti istituti:

- Geological Survey of Denmark and Greenland (GEUS) che si occupa del monitoraggio ambientale;
- Catholic University of Leuven (KULeuven) che si occupa dell'attività sperimentale relativa alla rimozione dei pesticidi;
- CTM Centre Technologic che si occupa dell'attività sperimentale relativa alla rimozione dei nitrati;

- University of Copenhagen (UCPH) che si occupa della modellizzazione del destino e trasporto dei pesticidi e nitrati nelle aree analizzate.

Complessivamente il progetto affronta lo studio delle strategie di intervento nei confronti delle diverse forme di inquinamento in 8 work packages, come descritto dalla figura 6.2.

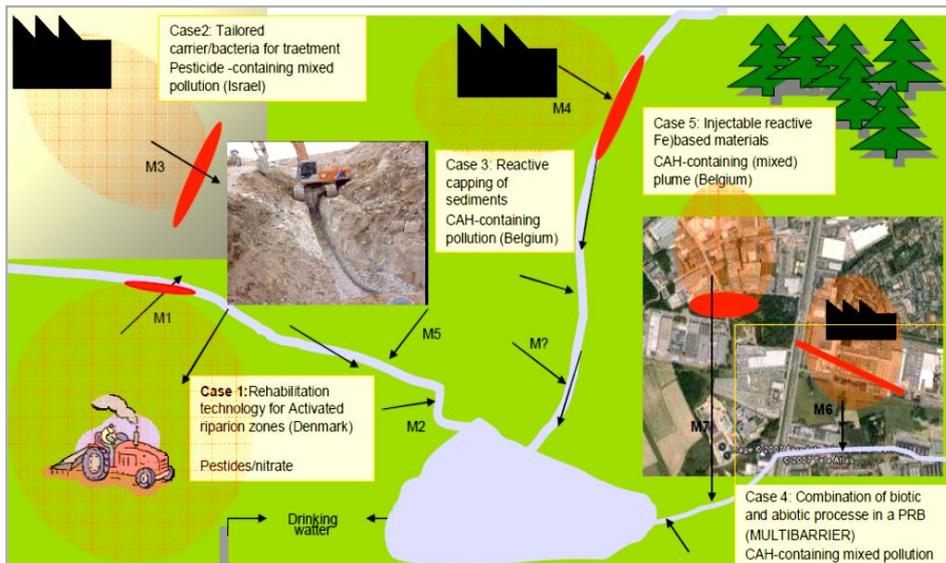


Fig.6.1 Rappresentazione schematica dei diversi flussi contaminanti insistenti su un generico bacino fluviale

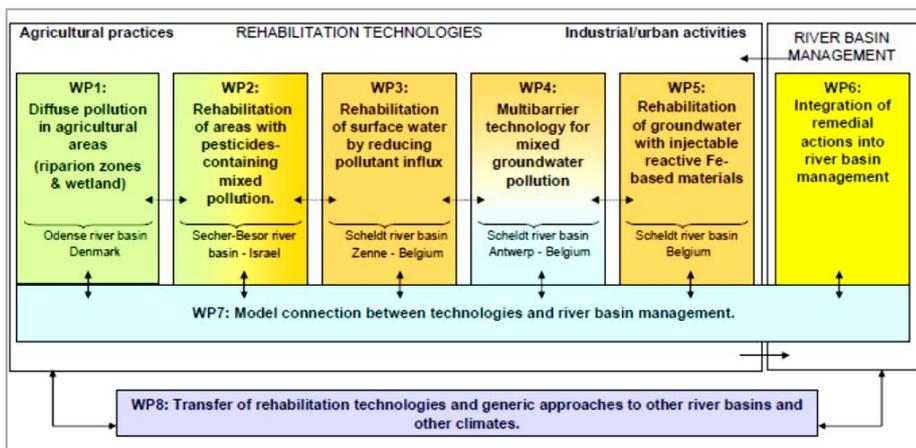


Fig.6.2 Work packages del progetto AQUAREHAB

L'attività di sperimentazione oggetto del presente capitolo è stata condotta presso i laboratori del Centro Tecnologico di Manresa (Barcellona), durante il periodo Maggio-Agosto 2013. Il lavoro è stato svolto sotto la guida della Dott. M. Calderer e del Prof. V. Martí dell'Università Tecnica della Catalogna (UPC).

6.2 Area di studio

Il bacino fluviale di Odense si estende per un'area di circa 1.100 km² ed include 1.100 km di corsi d'acqua.

L'area è occupata da terreni adibiti ad agricoltura intensiva, la quale interessa circa un terzo dell'intera area, vi sono poi praterie e foreste che costituiscono un quarto dell'area e estese zone umide. Il fiume Odense costituisce il recettore finale del bacino, fortemente inquinato a causa dei flussi di nitrati e pesticidi provenienti dalle attività agricole.

L'area costituisce pertanto un ideale sito per lo studio della capacità offerta dalle zone umide naturali di ridurre la contaminazione da attività agricole.

Il sito inoltre costituisce uno dei 15 bacini Europei che formano il "Pilot River Basins", istituito a seguito dell'emanazione della Direttiva 2000/60/EC (Quadro per l'azione comunitaria in materia di acque), al fine di studiare e definire strategie comuni di intervento volte alla salvaguardia della risorsa idrica. La figura 6.3 riporta, evidenziati in rosso, i 15 Pilot River Basins presenti in Europea.

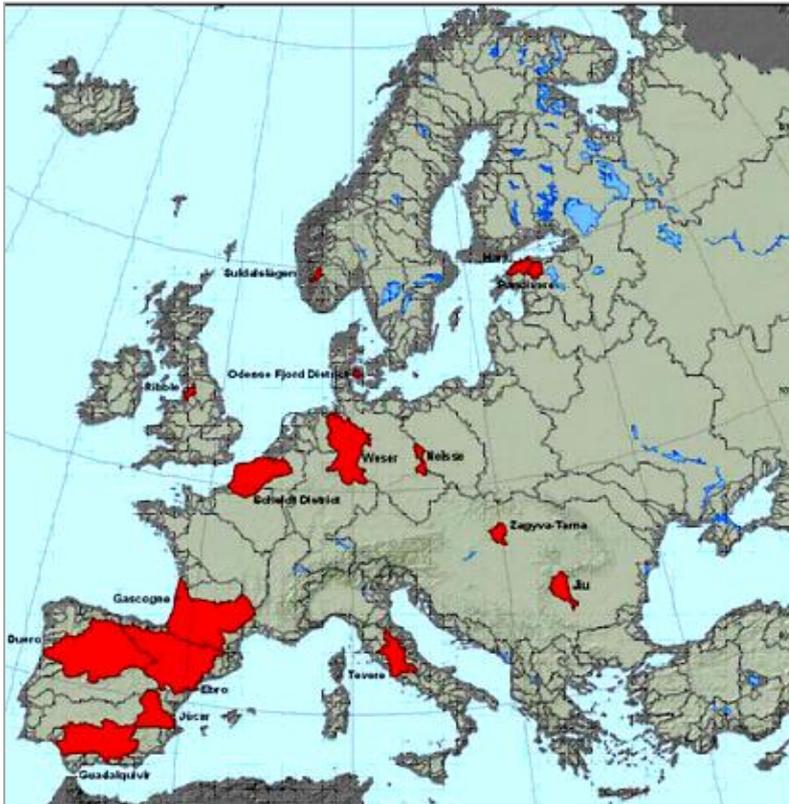


Fig.6.3 Pilot River Basins Europei

6.3 Procedura di analisi

La capacità di denitrificazione offerta dalle zone umide, mediante fornitura di carbonio organico alla biomassa, è stato studiato tramite l'esecuzione di batch test.

La campagna di analisi è stata condotta su carote di terreni estratti, nel maggio 2013, dal bacino Odense mediante sondaggi spinti fino a 3 m dal piano campagna (fig. 6.4a). In particolar modo, le carote di terreno estratte sono state suddivise in sezioni da 10 cm di spessore e infine dall'asse centrale di ciascuna di esse sono stati estratti i campioni (rappresentativi di ciascuna sezione) su cui eseguire le analisi in

laboratorio. Sono stati ricavati complessivamente 30 campioni, ciascuno dei quali relativo a una singola sezione, denominati con le sigle da C-05 a C-295), in cui il numero indica la profondità del campione dal p.c. (Fig. 6.4b).

I campioni sono stati sigillati in vial da 50 ml e conservati in barattoli in vetro a temperatura di 10°C, fino a che non sono pervenuti nelle strutture del laboratorio.

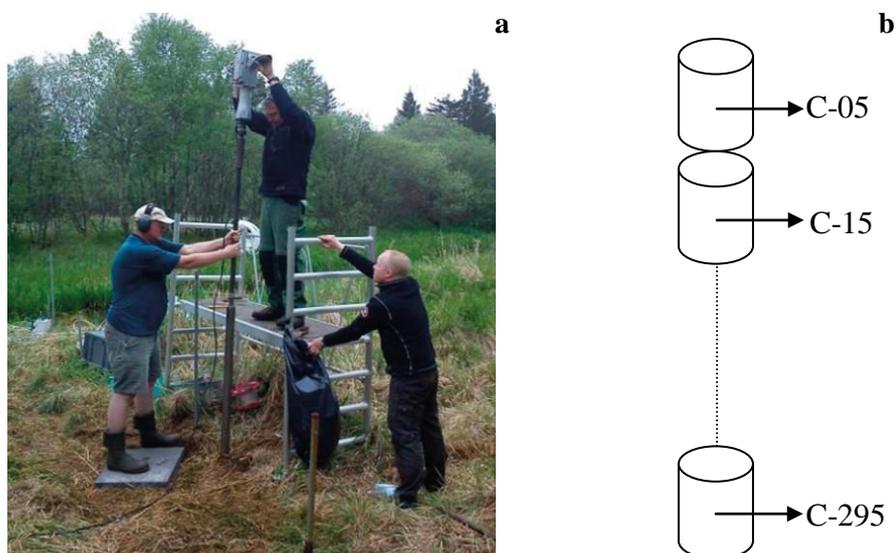


Fig.6.4 Foto scattata durante il prelievo dei campioni presso il bacino Odense (a) e struttura campioni di terreno (b)

La sperimentazione è stata interamente condotta all'interno di una camera a guanti (fig.6.5) satura di azoto gas e priva di ossigeno. In questo modo è stato possibile garantire le condizioni anossiche durante il processo, evitando le infiltrazioni di aria anche durante i prelievi dei campioni liquidi da analizzare, che costituisce la fase in cui vi è maggiore probabilità di richiamo esterno di aria.

Il primo passo è costituito nella misura di due parametri caratteristici del terreno: umidità e LOI (loss of ignition), come indicatore del contenuto di sostanza organica nel terreno. Un peso noto di campione è stato posto in stufa a 105°C fino al raggiungimento di un peso stabile, per differenza

con il peso iniziale è stata determinata l'umidità, in accordo con la norma ISO 11465:1993. Successivamente lo stesso campione è stato posto in forno a muffola a temperatura di 400°C per un tempo pari a 16 ore. Il LOI è stato determinato ancora una volta come differenza di peso.

I valori ricavati sono riportati in figura 6.6, dalla quale si evince che il terreno presenta valori di umidità e LOI molto bassi, caratterizzati da andamento degradante con la profondità. Tali valori modesti di umidità e conseguentemente di LOI, sono dovuti alle tipiche escursioni stagionali del livello idrico all'interno dei terreni umidi.



Fig. 6.5 Camera a guanti

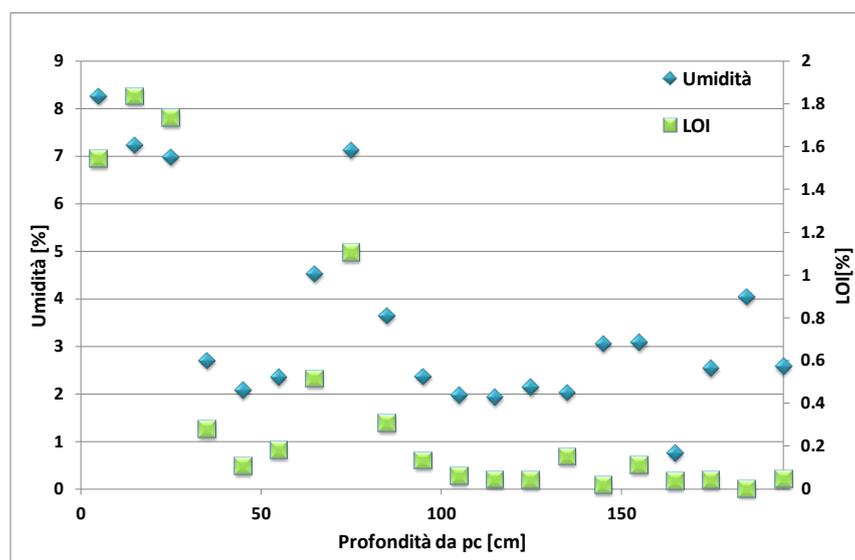


Fig. 6.6 Valori percentuali di umidità e LOI

Il protocollo di analisi utilizzato per l'esecuzione dei batch test consiste nel porre in contatto solido e liquido in un rapporto 1:10. Per fare ciò, 10 grammi di terreno e 100 ml di acqua ultrapura (MilliQ) sono stati inseriti in vial di vetro da 100 ml. A essi è stata aggiunta una soluzione di nitrato di sodio, che ha garantito una concentrazione di nitrati nei reattori pari a $25 \text{ mgNO}_3\text{-N L}^{-1}$.

I reattori sono poi stati chiusi ermeticamente con un setto di gomma posto all'interno di una ghiera di alluminio che viene posta sul vial per poterla crimpare. La particolarità di questi setti è quella di essere auto sigillanti e quindi di poter essere più volte forati con aghi di campionamento senza che ciò comporti la fuoriuscita dei componenti presenti all'interno del vial.

L'acqua ultrapura veniva fatta prima gorgogliare con N_2 , in modo da strappare l'ossigeno in essa presente.

Periodicamente venivano prelevati campioni mediante siringa sterile e sottoposti a filtrazione con filtri in nylon di porosità pari a $0,2 \mu\text{m}$ (Fig.6.7 a,b), assicurando così che nel tempo intercorrente tra il prelievo e l'analisi dei parametri di interesse non proseguisse l'attività batterica.

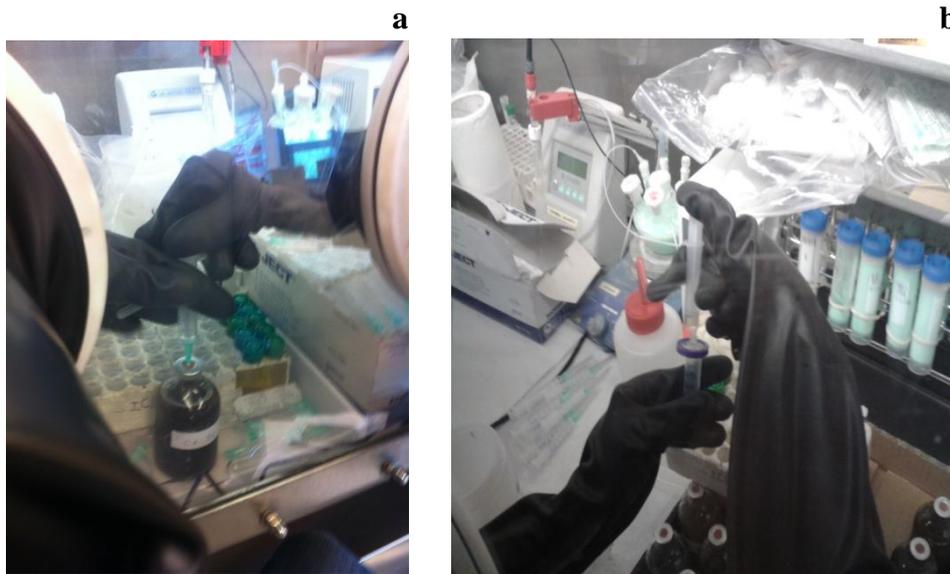


Fig. 6.7 Prelievo (a) e filtrazione del campione liquido (b)

L'evoluzione del processo di rimozione dei nitrati è stata studiata misurando la concentrazione di nitrati, nitriti e ione ammonio mediante il cromatografo ionico Dionex ICS-2100 (Fig 6.8).

Il carbonio organico rilasciato dal terreno è stato determinato all'inizio della prova mediante misure di TOC per mezzo dell'analizzatore Multi N/C 3100 (Fig. 6.9).

Il monitoraggio del processo si è svolto per 35 giorni, durante i quali i prelievi dei campioni sono stati effettuati con frequenza circa giornaliera la prima settimana e più dilazionati successivamente. Complessivamente sono stati estratti e analizzati 12 campioni liquidi per ciascun reattore batch.



Fig. 6.8 Dionex ICS-2100



Fig. 6.9 Multi N/C 3100

6.4 Analisi dei risultati

Il grafico 6.10 mostra i valori assunti dal TOC per ciascun campione. Sono riportati i valori relativi agli istanti iniziali e finali della sperimentazione.

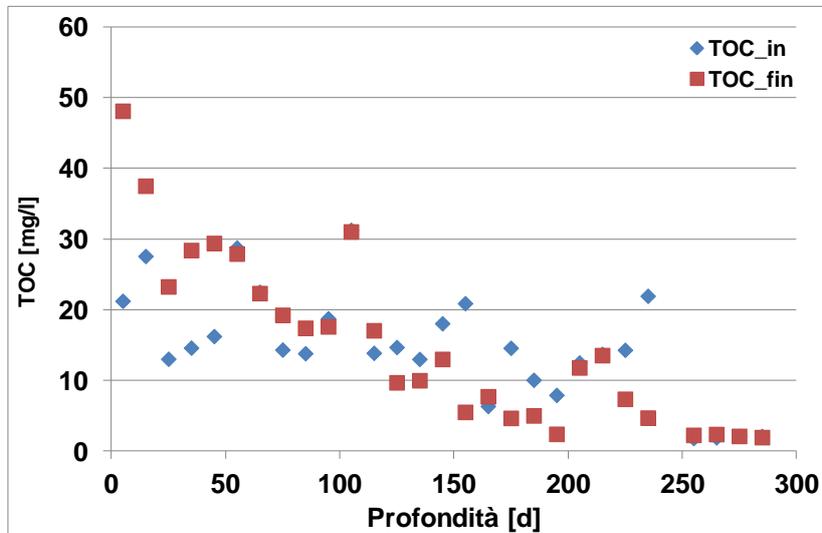


Fig. 6.10 Concentrazioni di TOC all'inizio e alla fine della prova

Come si può notare i campioni relativi al primo metro di profondità rilasciano concentrazioni di carbonio organico superiori rispetto agli strati più profondi. I primi (C05÷105) sono infatti caratterizzati da un rilascio medio di $20 \pm 6.3 \text{ mgL}^{-1}$, mentre i campioni C115÷295 presentano un valore medio di $10.6 \pm 6.7 \text{ mgL}^{-1}$.

I valori più elevati che si riscontrano nei primi strati sono generalmente dovuti alla maggiore presenza di tessuti vegetali dai quali i batteri ricavano il carbonio organico necessario per l'attività metabolica. Negli strati più profondi invece, il carbonio organico è principalmente dovuto alla lisciviazione dagli strati superiori.

Inoltre si evince che negli strati più superficiali, le concentrazioni assunte dal TOC alla fine della prova sono maggiori rispetto a quelle iniziali, questo indica che il carbonio organico rilasciato dal terreno è maggiore rispetto al fabbisogno metabolico della biomassa.

In accordo con i contenuti di carbonio organico dei differenti campioni,

il monitoraggio dei nitrati ha consentito di distinguere due comportamenti diversi in relazione alla profondità dei campioni. È stato infatti osservato che il processo di denitrificazione si è sviluppato in modo completo solo in corrispondenza dei campioni prelevati fino a un metro di profondità. Nei campioni più profondi al contrario, non vi è stata rimozione significativa e in alcuni casi è stata pressoché nulla. Le figure 6.11 e 6.12 mostrano tali andamenti.

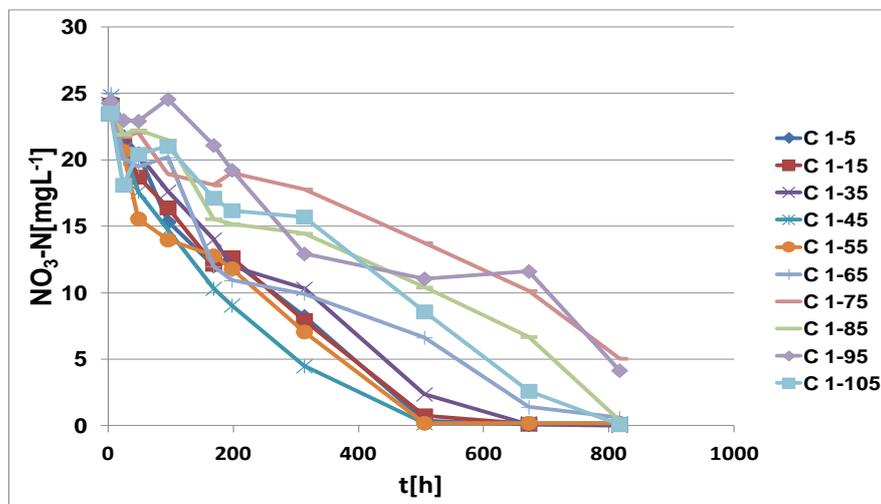


Fig. 6.11 Concentrazione dei nitrati nei reattori relativi ai campioni C-05÷105

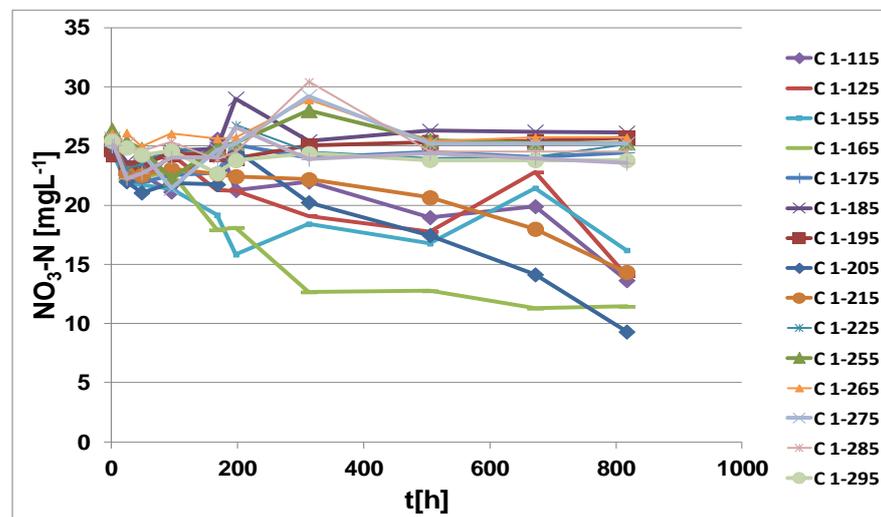


Fig. 6.12 Concentrazione dei nitrati nei reattori relativi ai campioni C-115÷295

La differente capacità di denitrificazione la si può esprimere più chiaramente riportando il rendimento di rimozione in funzione della profondità dei campioni.

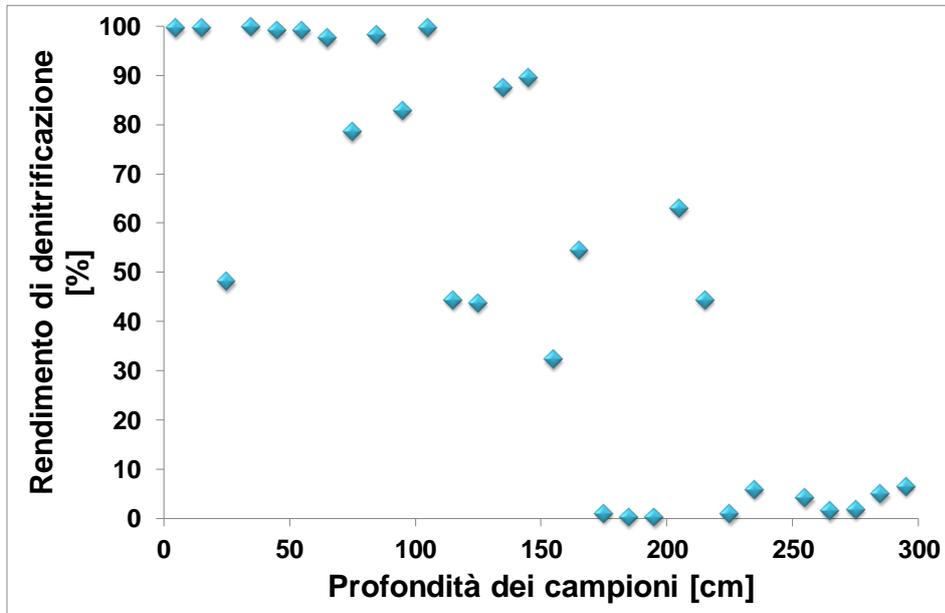


Fig. 6.13 Rendimento di denitrificazione relativo a ciascun campione

L'analisi dell'andamento dei nitriti ha consentito di escludere che vi fosse un accumulo degli stessi. La figura 6.14 mostra infatti profili di concentrazione che sono tipici del processo sequenziale di denitrificazione biologica, che si conclude con la completa trasformazione dei nitrati in azoto gas (Soares, 2000). A titolo di esempio si riportano gli andamenti relativi ai campioni C05, C55 e C135.

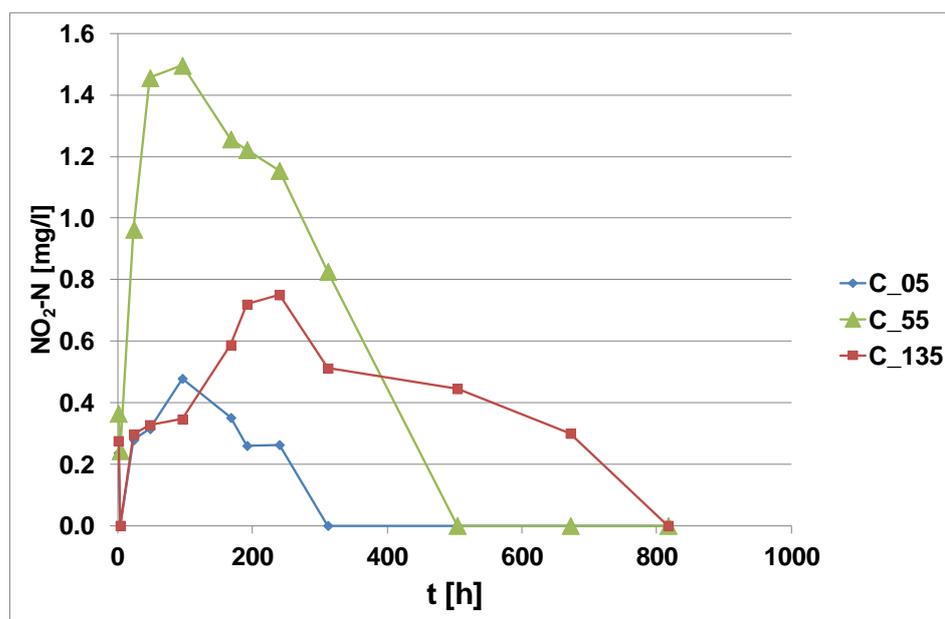


Fig. 6.14 Concentrazione di nitriti per alcuni campioni

La figura 6.15 riporta le concentrazioni di ione ammonio misurate all'inizio e al termine della prova all'interno di ciascun reattore. Come si può osservare, nei reattori relativi agli strati più superficiali (C05÷C105) sono state rilevate concentrazioni comprese tra 0,2 e 0,9 mgNL⁻¹, in tutti gli altri reattori invece i valori erano inferiori al limite di rilevabilità dello strumento.

Stante i valori modesti osservati, si può affermare che il principale meccanismo di rimozione dei nitrati sia la denitrificazione eterotrofa. Tuttavia non è da escludere l'instaurarsi del processo di DNRA nei campioni C05÷C105, dove la produzione di ione ammonio (assumendo che sia dovuta interamente al processo di DNRA) contribuisce alla rimozione dei nitrati in misura pari al 1,2÷7%.

In questi reattori infatti la migliore resa di denitrificazione ricrea le condizioni favorevoli all'instaurarsi del fenomeno competitivo, costituito da alti rapporti C:N (Gibert et al., 2008).

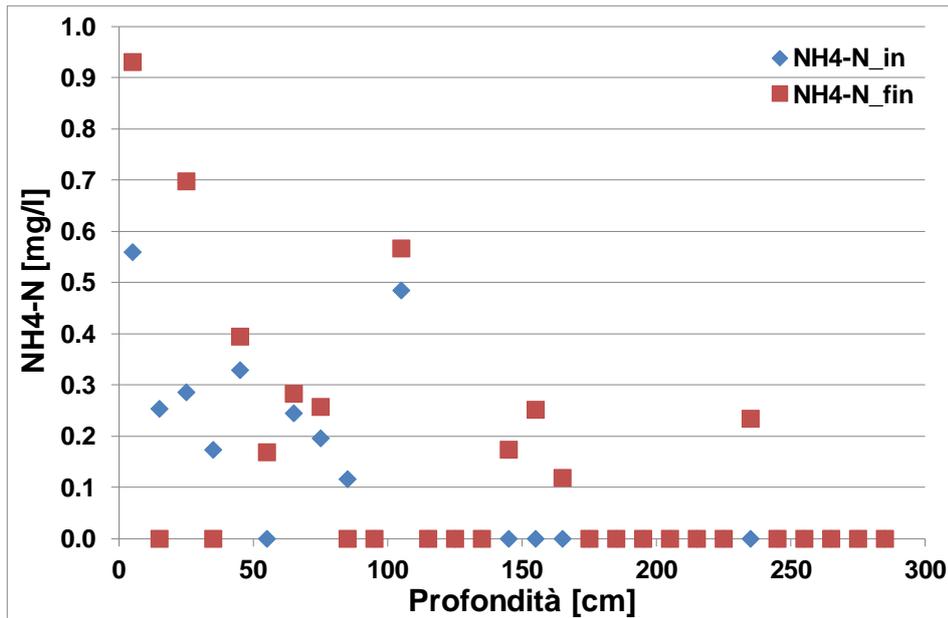


Fig. 6.15 Concentrazione di ione ammonio all'inizio e al termine della prova

6.5 Cinetica di denitrificazione

L'andamento dei nitrati nel tempo è stato studiato, analogamente a quanto riportato al capitolo 4, adottando sia un modello cinetico di ordine zero, sia uno di primo ordine. Entrambi i modelli si sono mostrati appropriati nella descrizione del fenomeno; tuttavia anche in questo caso, si è ritenuto più opportuno descrivere il processo applicando un modello cinetico di ordine zero in forza del fatto che normalmente i bioreattori ricevono alimentazioni di nitrati tali da non essere limitanti il processo (Robertson et al., 2000; Schipper et al., 2005; Schipper et al., 2010; Healy et al., 2012).

La velocità di denitrificazione è stata quindi determinata come rapporto tra la variazione di concentrazione di nitrati, iniziale e finale, e la durata della prova. Il grafico di figura 6.16 riporta i valori ricavati per ciascun campione analizzato.

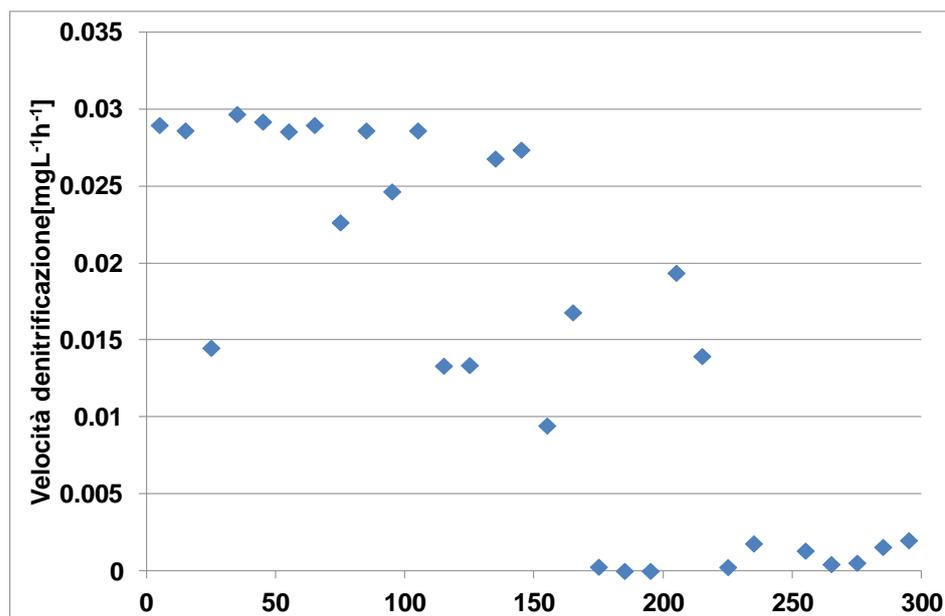


Fig. 6.16 Velocità di denitrificazione

Nel dettaglio, nei vial C05-C105 è stata osservata una cinetica di denitrificazione mediamente pari a $0.026 \pm 0.004 \text{ mgNO}_3\text{-NL}^{-1}\text{h}^{-1}$; i vial C115-C205 sono caratterizzati da una cinetica pari a $0.012 \pm 0.01 \text{ mgNO}_3\text{-NL}^{-1}\text{h}^{-1}$; infine per i vial C215-C295 la velocità osservata era di un ordine di grandezza inferiore e pari a $0.0011 \pm 0.0007 \text{ mgNO}_3\text{-NL}^{-1}\text{h}^{-1}$.

I valori dei coefficienti angolari k relativi agli andamenti di concentrazione dei nitrati nel tempo in ciascun reattore, sono stati assunti come costanti di biodegradazione, considerando il processo descrivibile con un modello cinetico di ordine zero. La figura 6.17 mette in evidenza il legame tra questo parametro con la profondità del campione analizzato.

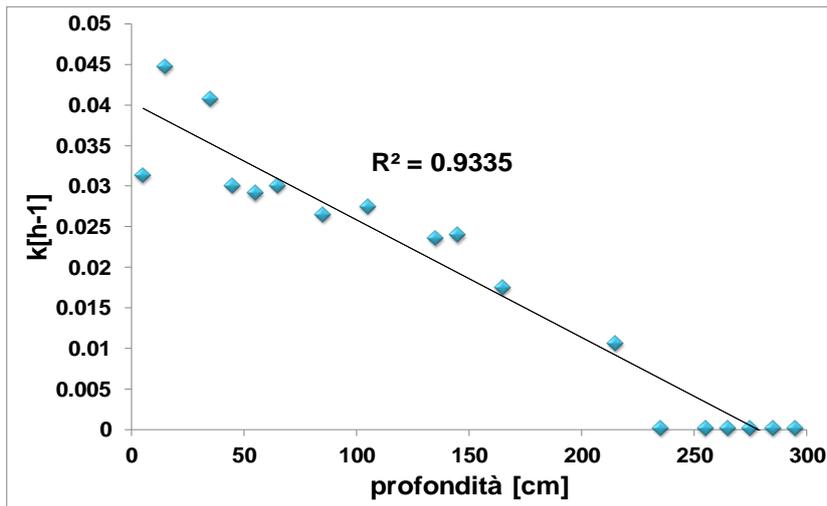


Fig. 6.17 Valori di k nei singoli reattori

Poiché la diversa velocità di denitrificazione riscontrata nei vari campioni è principalmente dovuta al contenuto di carbonio organico, è stato estrapolato il legame diretto tra questi due parametri, correlando i valori della velocità di denitrificazione con le concentrazioni di TOC residui al termine della prova. I risultati sono riportati in figura 6.18.

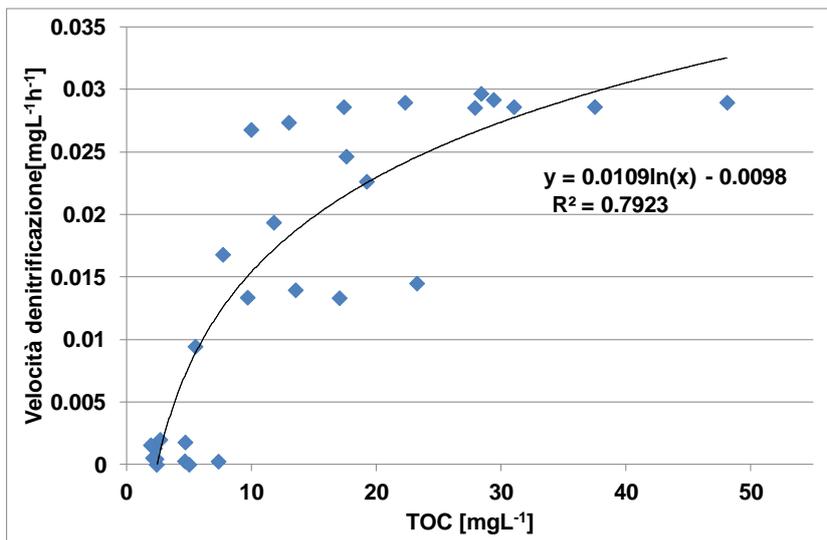


Fig. 6.18 Correlazione tra velocità di denitrificazione e TOC.

L'esame della figura 6.18 evidenzia un buon accordo tra velocità di denitrificazione e TOC; in particolare, è interessante notare che la correlazione osservata segue un modello logaritmico, piuttosto che lineare. Tale circostanza è coerente con il fatto che il TOC all'interno delle zone umide naturali risulta essere un fattore limitante il processo e pertanto la velocità di denitrificazione è legata ad esso mediante una cinetica di primo ordine, descritta da una legge logaritmica. Al contrario in condizioni non limitanti, si sarebbe avuto un fitting lineare (Robertson, 2008).

Tale osservazione è stata verificata anche correlando i valori di rendimento di denitrificazione con i valori di TOC misurati al termine della prova (figura 6.19).

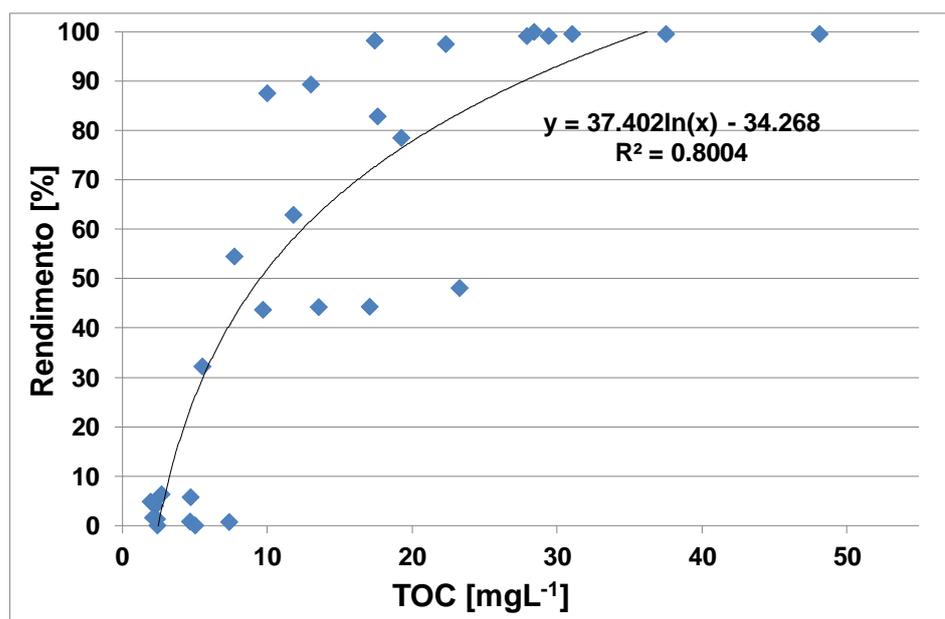


Fig. 6.19 Correlazione tra rendimento di rimozione e TOC.

Risulta pertanto evidente che la denitrificazione nelle zone umide è fortemente variabile con la profondità degli stessi e che tale circostanza è dovuta al diverso contenuto di carbonio organico disponibile per la biomassa denitrificante.

Alla luce delle osservazioni relative alla capacità autodepurativa delle zone umide, si può concludere che, sebbene gli strati superficiali di tali zone siano in grado di far fronte a elevati carichi di azoto, questa capacità viene a mancare negli strati più profondi; la massima velocità di denitrificazione, relativa al campione C-45, si riduce infatti del 50% già a partire da una profondità di 125 cm per ridursi ancora più sensibilmente a profondità superiori.

6.6 Confronto tra la cinetica di denitrificazione delle zone umide e delle biobarriere

I risultati derivanti dall'attività svolta relativamente alle zone umide, sono stati confrontati con l'attività di laboratorio svolta mediante test batch ed in colonna. Tale confronto ha avuto l'obiettivo di evidenziare la necessità di un intervento esterno finalizzato a condizionare il processo per ottimizzarlo. Se infatti si facesse riferimento alla sola capacità di autodepurazione dei suoli, nei confronti delle falde contaminate da nitrati, questa non sarebbe sufficiente a garantire, al crescere della profondità di falda, la stessa qualità conseguibile con un intervento esterno quale quello delle barriere biologiche simulate in laboratorio.

In tal senso, sono state comparate le cinetiche relative alle prove discusse in questo capitolo, e quelle relativi alla sperimentazione condotta su segatura, sughero, corteccia di pino e sansa di olive riportate nel capitolo 4 (figura 6.20).

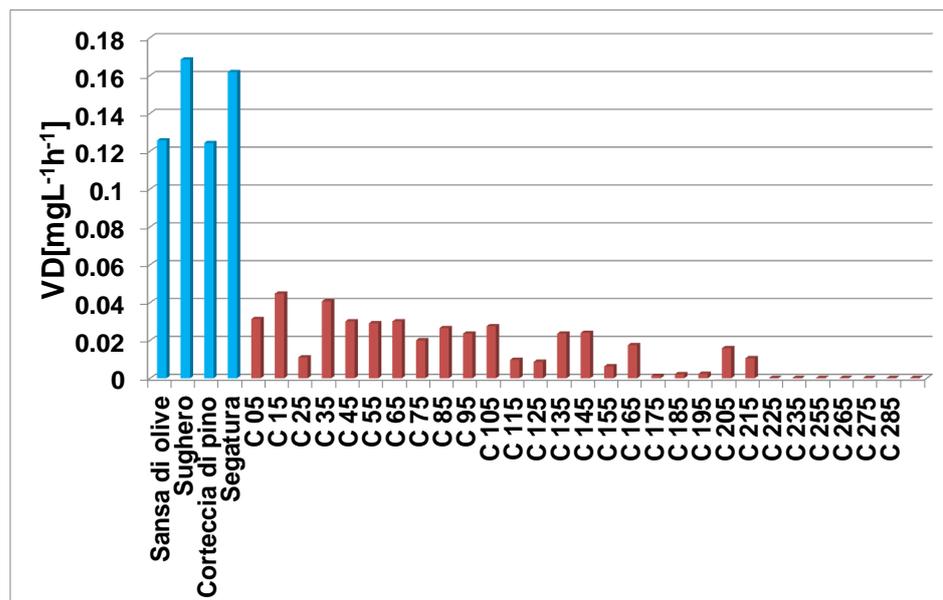


Fig. 6.20 Cinetica di denitrificazione a confronto

Appare evidente come i substrati organici analizzati forniscano carbonio organico in modo non limitante, tale da rendere la cinetica di denitrificazione di almeno un ordine di grandezza superiore rispetto a quella osservata nei terreni umidi naturali.

Ciò porta a concludere che i terreni naturali si possono configurare come importanti reattori di denitrificazione, quando però non sia necessaria una risposta immediata in termini di risanamento. Inoltre la reattività nei confronti dei nitrati è limitata agli strati più superficiali, caratterizzati dalla presenza di tessuti vegetali in grado di rilasciare carbonio organico.

Capitolo 7

Conclusioni

Il tema affrontato nella tesi si inserisce all'interno delle strategie di risanamento biologico in situ delle falde contaminate da nitrati. In particolare, la ricerca ha avuto come oggetto lo studio del processo di denitrificazione biologica supportato sia da sistemi artificiali di rilascio di carbonio organico, quali le biobarriere, sia da sistemi naturali quali le zone umide, dove il carbonio organico necessario alla biomassa denitrificante è fornito dalla vegetazione in esse presente.

Il primo passo per valutare l'applicabilità delle biobarriere ha riguardato l'analisi del comportamento di quattro differenti substrati capaci di rilasciare il carbonio organico necessario al processo biologico. I materiali selezionati sono tutti caratterizzati dall'essere materiali di scarto e pertanto reperibili in grandi quantità e a costi limitati; inoltre la natura degli stessi consentirebbe di individuare percorsi di recupero alternativi al mero smaltimento.

Le modalità batch di analisi hanno consentito la caratterizzazione di tali substrati e una preliminare valutazione della loro capacità di supportare la denitrificazione eterotrofa. In dettaglio, i test di cessione hanno evidenziato una significativa capacità dei materiali di rilasciare carbonio organico in soluzione; in particolare si è visto che, le maggiori velocità di rilascio di carbonio si verificano durante le prime 72 ore del contatto solido-liquido.

Successivamente i test di microcosmo hanno consentito di valutare la capacità della biomassa, presente nel terreno, di utilizzare il carbonio organico rilasciato dai quattro substrati per svolgere il processo di rimozione dei nitrati, a partire da una concentrazione iniziale di $60 \text{ mgNO}_3\text{-NL}^{-1}$. La segatura di legno e il sughero hanno rimosso, al termine della prova, circa l'80% dei nitrati inizialmente presenti nei reattori batch; mentre corteccia di pino e sansa di olive hanno raggiunto un rendimento minore, pari al 60% circa. Tale differenza di rendimento è

stata addebitata al probabile contestuale rilascio di azoto contenuto in sansa di olive e corteccia di pino.

Le osservazioni sperimentali condotte hanno permesso di escludere l'accumulo indesiderato di nitriti e di ione ammonio. In particolare, la presenza di quest'ultimo, legata all'instaurarsi della reazione competitiva di DNRA, conta per meno del 3% dei nitrati rimossi, coerentemente con analoghi studi sperimentali.

La velocità di rimozione rilevata varia da $0.24 \text{ mgNO}_3\text{-Ndm}^{-3}\text{d}^{-1}\text{g}^{-1}_{\text{sub}}$ per la segatura a $0.03 \text{ mgNO}_3\text{-Ndm}^{-3}\text{d}^{-1}\text{g}^{-1}_{\text{sub}}$ per la sansa.

La fase successiva dello studio ha riguardato l'analisi in continuo del processo di denitrificazione, mediante impianto pilota costituito da colonne operanti in parallelo, ciascuna riempita con miscela omogenea di substrato organico, terreno agrario e sabbia in percentuali in peso pari a 20:15:65.

La sperimentazione, condotta per 230 giorni, ha permesso di osservare il processo di denitrificazione mediante l'analisi degli indicatori di processo prescelti. Nel corso della sperimentazione, problemi di esercizio delle colonne hanno purtroppo reso necessario escludere la colonna con riempimento in segatura di legno.

In generale sono stati osservati rendimenti di denitrificazione molto alti, in alcuni casi anche superiori al 99%; in particolare, la sansa di olive ha garantito i più elevati rendimenti di denitrificazione rispetto alle due rimanenti matrici; tuttavia la quasi istantanea rimozione dei nitrati nel tratto iniziale della colonna ha determinato all'interno di questa, in conseguenza degli elevati valori del rapporto C:N, l'instaurarsi di condizioni anaerobiche favorevoli allo sviluppo della DNRA e quindi alla formazione di ione ammonio. Pur tuttavia, la DNRA anche nella colonna riempita con sansa di olive contribuisce in misura marginale alla rimozione dei nitrati, che pertanto è principalmente dovuta alla denitrificazione eterotrofa.

Il principale parametro di controllo evidenziato è stato il TDI, che gioca un ruolo fondamentale nel rilascio carbonio organico da parte dei substrati utilizzati; in particolar modo, è stato riscontrato che per TDI inferiori alle 72 ore sono stati conseguiti rendimenti medi pari al 45% per il sughero e al 51% per la corteccia di pino.

Tale legame non è stato evidenziato per la sansa che, rilasciando velocemente elevate quantità di carbonio, ha fatto sì che il processo non fosse limitato dalla disponibilità di substrato organico.

I profili di concentrazione dei nitrati lungo le colonne hanno seguito prevalentemente una cinetica di decadimento di ordine zero nel caso delle colonne riempite con sughero e corteccia di pino; la sansa di olive ha invece supportato un decadimento meglio descrivibile con una cinetica di primo ordine.

Le osservazioni sperimentali ricavate hanno permesso di evidenziare alcune criticità riconducibili alle caratteristiche dei substrati utilizzati e/o a quelle delle configurazioni degli impianti pilota in cui le prove sono state condotte:

- difficoltà riscontrate nella gestione idrodinamica del sistema, evidenziate dalla variabilità di portata, spesso legate ai fenomeni di intasamento del mezzo poroso per via della formazione di bolle di gas quanto della crescita della biomassa adesa;
- elevati rilasci di COD, specialmente nella fase di start up, da parte della sansa di olive. Come suggerito da Schipper et al. (2010), nei casi in cui tali rilasci siano eccessivi, si possono prevedere misure di mitigazione come: un pre-lavaggio del materiale reattivo; il collettamento delle acque di start up a valle della PRB per inviarle a sistemi di trattamento ex situ; la previsione a valle della PRB di un ulteriore sistema di trattamento, quale ad esempio un filtro a sabbia;
- perdita di reattività da parte del sughero dopo 200 giorni di processo in continuo, attribuibile al basso contenuto di cellulosa e emicellulosa del materiale.

Lo studio del processo di denitrificazione che si sviluppa nelle zone umide, senza l'aggiunta di una fonte esterna di carbonio organico, è stato condotto sperimentalmente su terreni prelevati dal bacino del fiume Odense, presso i laboratori del Centro Tecnologico di Manresa (Spagna) nell'ambito del progetto SQUAREHAB finanziato dall'Unione Europea. I risultati delle prove batch eseguite, hanno evidenziato che solo i campioni di terreno prelevati dagli strati più superficiali hanno consentito il conseguimento di elevati rendimenti di rimozione dei nitrati. In essi, infatti, la biomassa denitrificante ritrova valori di carbonio organico relativamente elevati, dovuti alla presenza di specie vegetali. Gli strati più profondi (al di sotto di 1 m dal p.c.) sono risultati invece caratterizzati da bassi valori di TOC, tali in alcuni casi da non rendere attuabile il processo di denitrificazione biologico.

A differenza delle biobarriere, nelle zone umide naturali il processo di denitrificazione risulta pertanto limitato dalla presenza di carbonio organico, che a sua volta è fortemente condizionato dalla profondità del suolo.

Anche in questo caso, sono stati calcolati i valori delle velocità di denitrificazione adottando un modello cinetico di ordine zero; i risultati ottenuti sono stati confrontati con quelli relativi ai substrati organici analizzati nella prima parte dello studio. È emerso che questi ultimi supportano il processo di denitrificazione con un cinetica di almeno un ordine di grandezza superiore rispetto a quanto garantito dalle zone umide.

Ciò porta a concludere che le zone umide sono sì importanti ecosistemi per la salvaguardia della qualità delle acque sotterranee, ma non possono sostituire i sistemi artificiali di risanamento, come le biobarriere, quando è richiesta un'azione di intervento rapida e mirata al trattamento di acque profonde.

Bibliografia

- Ahmad. F., McGuire. T.M., Lee. R.S., Becvar.E. 2007. Considerations for the Design of Organic Mulch Permeable Reactive Barriers. *Remediation Journal* 18 (1), 59–72.
- Amadori. M., 2006 “Alcune osservazioni sulla relazione tra inquinamento da nitrati e vulnerabilità della risorsa idrica nel comune di Cecina (Livorno)”. 2006. *Atti Soc. tosc. Sci. Nat., Mem., Serie A* 111, 45 - 55.
- Abdelouas. A., Deng. L., Nuttall. E., Lutze. W., Fritz. B., Crovisier. J.L. 1999. Réduction in situ des ions nitrate dans des eaux par les bactéries indigènes. *C.R. Acad. Sci. II A*, 328, 161–166.
- Almasri. M.N, Kaluarachchi. J.J. 2007. Modeling nitrate contamination of groundwater in agricultural watersheds. *Journal of Hydrology* 343, 211– 229.
- AQUAREHAB, Development of rehabilitation technologies and approaches for multipressured degraded waters and the integration of their impact in river basin management. Newsletter September 2011.
- AQUAREHAB, Development of rehabilitation technologies and approaches for multipressured degraded waters and the integration of their impact in river basin management. Newsletter June 2013.
- AQUAREHAB, Development of rehabilitation technologies and approaches for multipressured degraded waters and the integration of their impact in river basin management. Newsletter October 2013.
- Aslan. S., Turkman. A., 2005. Combined biological removal of nitrate and pesticides using wheat straw as substrates. *Process Biochem.* 40, 935–943.
- Akunna. J.C., Bizeau. C., and Moletta. R. 1993. Nitrate and nitrite reductions with anaerobic sludge using various carbon-sources – glucose, glycerol, acetic-acid, lacticacid and methanol, *Water Res.* 27, 1303–1312.
- Ayyasamy. P.M., Shanthi. K., Lakshmanaperumalsamy. P., Lee. S.J., Choi. N.C., Kim. D.J. 2007. Two-stage Removal of Nitrate from

Groundwater Using Biological and Chemical Treatments. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. Vol. 104 (2), 129 – 134.

- Austin. B.J., Strauss. E.A. 2011. Nitrification and denitrification response to varying periods of desiccation and inundation in a western Kansas stream, *Hydrobiologia* 658, 183-195.
- Bae. B.U., Jung. Y.H., Han. W.W., Shin. H.S. 2002. Improved brine recycling during nitrate removal using ion exchange. *Water Res* 36, 3330–3340.
- Batchelor. B. 1982. Kinetic-analysis of alternative configurations for single-sludge nitrification denitrification. *J. Water Pollut. Control Fed.* 54 (11), 1493–1504.
- Beccari. M., Passino. R., Ramadori. R., Vismara. R. 1993. Rimozione di azoto e fosforo dai liquami. *Biblioteca tecnica Hoepli*. ISBN: 88-203-1968-3.
- Bedessem. M.E., Edgar. T.V., Roll. R. 2005. Nitrogen removal in laboratory model leachfields with organic-rich layers. *J. Environ. Qual.* 34, 936–942.
- Benyoucef. N., Cheikh. A., Drouiche. N., Lounici. H., Mameri. N., Abdi. N. 2013. Denitrification of groundwater using Brewer's spent grain as biofilter media. *Ecological Engineering* 52, 70– 74.
- Blowes. D.W., Robertson. W.D., Ptacek. C.J., Merkley. C., 1994. Removal of agricultural nitrate from tile-drainage effluent water using in-line bioreactors. *J. Contam. Hydrol.* 15, 207–221.
- Blowes. D.W., Ptacek. C.J., Benner. S.G., McRae. C.W.T., Bennett. T.A., Puls. R.W. 2000. Treatment of inorganic contaminants using permeable reactive barriers. *J. Contam. Hydrol.* 45, 123–137.
- Bonomo. L., Nurizzo. C., Vismara. R., 1987. I nitrati nelle acque potabili: situazione in Lombardia e possibilità di intervento. *Atti del convegno SEP-Pollution, Padova*.
- Boumediene. M. and Achour. D. 2004. Denitrification of the underground waters by specific resin exchange of ion. *Desalination*, 168, 187–194.
- Bowman. R.A. and Focht. D.D. 1974. The influence of glucose and nitrate concentrations upon denitrification rates in sandy soils. *Soil Biology and Biochemistry* 6, 297-301.
- Brady. N.C., Weil. R.R. 2002. *The Nature and Properties of Soils*, 13th ed. Prentice Hall, New Jersey.

- Bastviken. S. K., Eriksson. P.G., Premrove. A., Tonderski. K. 2005. Potential denitrification in wetland sediments with different plant species detritus. *Ecological Engineering* 25 (2), 183–190.
- Brettar. I., Sanchez-Perez. J.M., Tremolières. M. 2002. Nitrate elimination by denitrification in hardwood forest soils of the Upper Rhine floodplain—correlation with redox potential and organic matter. *Hydrobiologia* 469, 11–21.
- Burgin. A.J, Hamilton. S.K. 2007. Have we overemphasized the role of denitrification in aquatic ecosystems? A review of nitrate removal pathways. *Ecol Environ* 5(2), 89–96.
- Calderer. M. 2010. Study of denitrification and reductive dechlorination processes applied to groundwater bioremediation. PhD Thesis. Universitat Politècnica de Catalunya.
- Calderer. M., Gibert. O., Martí. V., Rovira. M., de Pablo. J., Jordana. S., Duro. L., Guimerà. J., Bruno. J. 2010. Denitrification in presence of acetate and glucose for bioremediation of nitrate-contaminated groundwater. *Environmental Technology* Vol. 31, No. 7, 799–814.
- Calderer, M., Jubany, R., Perez, R., Martí, V., de Pablo, J. 2010. Modelling enhanced groundwater denitrification in batch microcosm tests. *Chemical Engineering Journal* 165, 2–9.
- Cameron. S.C., Schipper. L.A. 2010. Nitrate removal and hydraulic performance of carbon substrates for potential use in denitrification beds. *Ecol. Eng.* 36, 1588–1595.
- Cameron. S.C., Schipper. L.A. 2012. Hydraulic properties, hydraulic efficiency and nitrate removal of organic carbon media for use in denitrification beds. *Ecological Engineering* 41, 1–7.
- Canter. L.W., “Nitrates in Groundwater”. CRC Press, Boca Raton, 1997.
- Canfield, D.E., Glazer, A.N., Falkowski, P.G. 2010. The Evolution and Future of Earth’s Nitrogen Cycle. *Science* 330: 192-196.
- Cannavo. P., Richaume. A., Lafolie. F. 2004. Fate of nitrose and carbon in the vadose zone: in situ and laboratory measurements of seasonal variations in aerobic respiratory and denitrifying activities. *Soil Biol. Biochem.* 36 (3), 463–478.
- Capodici. M. 2012 “Denitrificazione biologica delle acque di falda mediante l’uso di barriere reattive permeabili”. PhD Thesis-Università degli Studi di Palermo-Dipartimento di Ingegneria Civile, Ambientale, Aerospaziale, dei Materiali.

- Capri. E., Civita. M., Corniello. A., Cusimano. G., De Maio. M., Ducci. D., Fait. G., Fiorucci. A., Hauser. S., Pisciotta. A., Pranzini. G., Trevisan. M., Delgado Huertas. A., Ferrari. F., Frullini. R., Nisi. B., Offi. M., Vaselli. O., Vassallo. M. 2009. Assessment of nitrate contamination risk: The Italian experience”. *Journal of Geochemical Exploration* 102, 71–86.
- Chabani. M., Bensmaili. A. 2005. Kinetic modelling of the retention of nitrates by Amberlite IRA 410. *Desalination* 185, 509–515.
- Champ. D.R., Gulens. J. and Jackson. R.E. 1979. ‘Oxidation-reduction sequences in groundwater flow systems’, *Canadian Journal of Earth Sciences* 16, 12-23.
- Chou. Y.J., Ouyang. C.F., Kuo. W.L. and Huang. H.L. 2003. Denitrifying characteristics of the multiple stages enhanced biological nutrient removal process with external carbon sources. *J. Environ. Sci. Heal. A* 38, 339–352.
- Colasanti. M. 2011. *Aquarium Chemistry: The Nitrogen Cycle: New Developments and New Prospects*. *Advanced Aquarist X (IV)*, online magazine.
- Dahab. F. M. 1987. *J. Environ. Syst.* 17, 65-74.
- Darbi. A., Viraraghavan. T., Butler, R., and Corkal, D. 2003. Column studies on nitrate removal from potable water. *Water, Air, Soil Poll.* 150, 235–254.
- D’Angelo. G. 2010. “Caratterizzazione chimico-nutrizionale della sansa di oliva mediante tecnica non invasiva nirs (near infrared reflectance spectroscopy) nell’ottica del suo utilizzo in alimentazione animale. PhD Thesis, Università degli Studi di Sassari.
- Decreto Legislativo 2 febbraio 2001, n. 31 "Attuazione della direttiva 98/83/CE relativa alla qualità delle acque destinate al consumo umano".
- Della Rocca. C., Belgiorno. V., Meriç. S., 2005. Cotton-supported heterotrophic denitrification of nitrate-rich drinking water with a sand filtration post-treatment. *Water SA.* 31, 229–236.
- Della Rocca. C., Belgiorno. V., Meriç. S., 2006. An heterotrophic/autotrophic denitrification (HAD) approach for nitrate removal from drinking water. *Process Biochem.* 41, 1022–1028.
- Della Rocca. C., Belgiorno. V., Sureyya. M. 2007. Overview of in-situ applicable nitrate removal processes. *Desalination* 204, 46-62.

- Di Molfetta. A. 2002. “Ingegneria degli acquiferi” Politeko Edizioni ISBN: 88-87380-31-7.
- Di Molfetta. A., Sethi. R., 2003. Barriere reattive permeabili. Siti Contaminati: Tecnologie di risanamento. 57° Corso di aggiornamento in Ingegneria Sanitaria-Ambientale. Politecnico di Milano. Milano, 17 – 21 Febbraio 2003.
- Di Molfetta. A., Sethi. R. 2005a. Progettazione e realizzazione di barriere reattive permeabili. In: Gestione di siti contaminati. A cura di Studio Aglietto s.r.l. Edizioni “Osservatorio Siti Contaminati”.
- Di Molfetta. A., Sethi. R. 2005 – b. Barriere Reattive Permeabili. In: Bonifica di Siti Contaminati: Caratterizzazione e tecnologie di risanamento. A cura di Luca Bonomo, McGraw-Hill, New York. ISBN: 88-386-6278-9.
- Di Molfetta. A., Sethi. R. 2006 Clamshell excavation of a permeable reactive barrier. *Environ. Geol.* 50, 361 – 369.
- D.Lgs. 152/99. “Disposizioni sulla tutela delle acque dall'inquinamento e recepimento della direttiva 91/271/CEE concernente il trattamento delle acque reflue urbane e della direttiva 91/676/CEE relativa alla protezione delle acque dall'inquinamento provocato dai nitrati provenienti da fonti agricole”.
- D.Lgs. 152/06. “Norme in materia ambientale”.
- Direttiva 75/440/CEE del Consiglio del 16 giugno 1975 Concernente la qualità delle acque superficiali destinate alla produzione di acqua potabile negli Stati Membri.
- Direttiva 91/676/CEE del Consiglio, del 12 dicembre 1991, relativa alla protezione delle acque dell'inquinamento provocato dai nitrati provenienti da fonti agricole.
- Directive 2006/118/EC of the European Parliament and of the Council of 12 December 2006 on the protection of groundwater against pollution and deterioration.
- Dinçer. A.R., Kargı. F., 2000. Kinetics of sequential nitrification and denitrification processes. *Enzyme Microb. Technol.* 27, 37–42.
- Deng. L., Nuttall. H.E., Abdelouas. A., Lu. Y.M. and Lutze. W. 1998. “In Situ Biological Denitrification of Groundwater” Conference on the Environment Proceedings, 31-36.
- dos Santos. S.G., Varesche. M.B.A., Zaiat. M., Foresti. E. 2004. Comparison of methanol, ethanol, and methane as electron donors for denitrification. *Environ. Eng. Sci.* 21, 313–320.

- Doussan. C., Poitevin. G., Ledoux. E., Detay, M. 1997. River bank filtration: Modelling of the changes in water chemistry with emphasis on nitrogen species. *Journal of Contaminant Hydrology*, 25, 129-156.
- EEC. Implementation of Council Directive 91/676/EEC concerning the protection of waters against pollution caused by nitrates from agricultural sources, Report from the Commission. COM 407 Final. Brussels, 2002.
- Ekama. G.A., Siebritz. I.P., Marais. G.R. 1983. Considerations in the process design of nutrient removal activated sludge processes. *Wat. Sci. Tech.* 15 (3-4), 283 – 318.
- Environment Agency. Attenuation of nitrate in the sub-surface environment. In: Science Report SC030155/SR2, 2005.
- Erisman. J.W., Galloway. J., Seitzinger. S., Bleeker. A., Butterbach-Bahl. K. 2011. Reactive nitrogen in the environment and its effect on climate change. *Environmental Sustainability* 3, 281–290.
- Fahrner. S. 2002. “Groundwater Nitrate Removal Using a Bioremediation Trench” Honours Thesis – University of Western Australia – Departement of Environmental Engineering.
- Firestone. M. K., 1982. Biological denitrification, 289–326 in: *Nitrogen in Agricultural Soils*, edited by: Stevenson, F. J., Agron. Monogr., 22, ASA, CSSA and SSSA, Madison, WI.
- Flury. B., Frommer. J., Eggenberger. U., Mäder. U., Nachttegaal. M., Kretzschmar. R. 2009. Assessment of long-term performance and chromate reduction mechanisms in a field scale permeable reactive barrier. *Environ. Sci. Technol.* 43, 6786–6792.
- Foglar. L., Briski. F., Sipos. L., Vukovic. M., 2005. High nitrate removal from synthetic wastewater with the mixed bacterial culture. *Bioresour. Technol.* 96, 879–888.
- Galloway. J.N., Aber. J.D., Erisman. J.W., Seitzinger. S.P., Howarth. R.W., Cowling. E.B., Cosby. B.J., 2003. The nitrogen cascade. *Biosc.* 53(4), 341-356.
- Galloway. J.N., Dentener. F.J., Capone. D.G., Boyer. E.W., Howarth. R.W., Seitzinger. S.P., Asner. G.P., Cleveland. C.C., Green. P.A., Holland. E.A., Karl. D.M., Michaels. A.F., Porter. J.H., Townsend. A.R., Vorosmarty. C.J. 2004. Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochem.* 70, 153–226.

- Gamble. T. N., Betlach. M. R., Tiedje. J. M. 1977. Numerically dominant denitrifying bacteria from world soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 33, 926-939.
- Gauntlett. R.B. and Craft. D.G. 1979. Biological removal of nitrate from river water. cited in Hiscock. K.M. Lloyd. J.W. and Lerner. D.N. (1991). *Water Research*, 25(9):1099-1111.
- Gavaskar. A.R., Gupta. N., Sass. B.M., Janosy. R.J., O'Sullivan. D., 1998. *Permeable Barriers for Groundwater Remediation; Design Construction and Monitoring*. Battelle Press, Columbus, OH.
- Gavaskar. A. R., 1999. Design and construction techniques for permeable reactive barriers. *Journal of Hazardous Materials* 68, 41–71.
- Ghafari. S., Hasan. M., Aroua. M.K. 2009. Bio-electrochemical removal of nitrate from water and wastewater-A review. *Bioresource Technology* 99, 3965-3974.
- Gibert. O., Pomierny, S., Rowe, I., Kalin, R. M. 2008. Selection of organic substrates as potential reactive materials for use in a denitrification permeable reactive barrier (PRB) *Bioresource Technology* 99, 7587–7596.
- Goering. J.J. and Dugdale. V.A. 1966. Estimates of rates of denitrification in a subarctic lake. *Limnology and Oceanography*, 15:306-309.
- Gómez. M.A., Hontoria. E., González-López. J. 2002. Effect of dissolved oxygen concentration on nitrate removal from groundwater using a denitrifying submerged filter. *J. Hazard. Mater. B* 90, 267–278.
- Gorla. M., "Pozzi per Acqua" Dario Flaccovio Editore 2010 ISBN: 978-88-579-0044-5.
- Gorla. M., "Siti contaminati" Dario Flaccovio Editore 2012 ISBN: 978-88-579-0136-7.
- Green. M., G. Shelef. 1994. Treatment of nitrate contaminated groundwater for drinking purposes, pp. 587-606. *In* U. Zoller (ed.) *Groundwater contamination and control*, Marcel Dekker Publishers, New York.
- Greenan. C.M., Moorman. T.B., Kaspar. T.C., Parkin. T.B., Jaynes. D.B. 2006. Comparing carbon substrates for denitrification of subsurface drainage water. *J. Environ. Qual.* 35, 824–829.

- Hall. T., Walker. R. A. and Zabel. T. F.: 1985, Proceedings of the Conference "Nitrates in Water", Paris, October 1985.
- Haugen. K.S., Semmens. M.J., Novak. P.J. 2002. "A novel in-situ technology for the treatment of nitrate contaminate groundwater". *Water Res.* 36, 3497-3506.
- Healy. M.G., Ibrahim. T.G., Lanigan. G.J., Serrenho. A.J, Fenton.O. 2012. Nitrate removal rate, efficiency and pollution swapping potential of different organic carbon media in laboratory denitrification bioreactors. *Ecological Engineering* 40, 198– 209.
- Hefting. M., Clément. J.C., Dowrick. D., Cosadney. A.C., Bernal. S., Cimpian. C., Tatur. A., Burt. T.P., Pinay. G. 2004. Water table elevation controls on soil nitrogen cycling in riparian wetlands along a European climatic gradient, *Biogeochemistry* 67, 113-134.
- Hemond. H.F. and Fechner-Levy. E.J. 2000. *Chemical Fate and Transport in the Environment*, (2nd. Ed.) Academic Press, California.
- Henze. M., Gujer. W., Mino. T., van Loosdrecht. M. 2000. *Activated sludge models ASM1, ASM2, ASM2D and ASM3*. Scientific and technical report no.9. London: IWA Publishing.
- Hernandez. M.E., Mitsch. W.J. 2007. Denitrification in created riverine wetlands: Influence of hydrology and season. *Ecol. Eng.* 30, 78-88.
- Howarth. R.W., Anderson. D., Cloern. J., Elfring. C., Hopkinson. C., Lapointe. B., Malone. T., Marcus. N., McGlathery. K., Sharpley. A., Walker. D., 2000. Nutrient pullution of coastal rivers, bays and seas. *Iss. Ecol.* 7, 1-15.
- Huang. C., Wang. H. and Chiu P. 1998. Nitrate reduction by metallic iron. *Wat. Res.*, 32, 2257–2264.
- Huang. Y.H. and Zhang. T.C. 2004. Effect of low pH on nitrate reduction by iron powder. *Water Res.*, 38, 2631-2642.
- Hunter. W.J. 2001. Use of vegetable oil in a pilot-scale denitrifying barrier. *J. Contaminant Hydrol.*, 53, 119-131.
- Hunter. W.J. 2003. Accumulation of nitrite in denitrifying barriers when phosphate is limiting. *J. Contam. Hydrol.* 66, 79–91.
- Hunter. W.J. 2008. Chapter 19: Remediation of Drinking Water for Rural Populations. USDA-ARS / UNL Faculty.

- Israel. S. 2007. “In situ denitrification of nitrate rich groundwater in Marydale, Northern Cape”. M.Sc. thesis, Faculty of Agriculture, Department of Soil Science, Stellenbosch University.
- Israel. S., Engelbrecht. P., Tredoux. G., Fey. M.V. 2009. In situ Batch Denitrification of Nitrate-Rich Groundwater Using Sawdust as a Carbon Source – Marydale, South Africa. *Water Air Soil Pollut.* (2009) 204: 177 – 194.
- ITRC 2000. Emerging Technologies for Enhanced In Situ Biotenitrification of Nitrate-Contaminated Ground Water. Technology Overview prepared by Interstate Technology and Regulatory Cooperation Work Group (ITRC), June 2002.
- Khan. I.A. and Spalding. R.F. 2004. Enhanced in situ denitrification for a municipal well. *Water Res.* 38, pp. 3382–3388.
- Killingstad. M.W., Widdowson. M.A., Smith. R.L. 2002. Modeling enhanced in situ denitrification in groundwater. *Journal of Environmental Engineering-Asce*, 128, 491-504.
- Kinzelbach. W., Schäfer. W., Herzer, J. 1991. Numerical modeling of natural and enhanced denitrification processes in aquifers. *Water Resources Research* 27, 1123-1135.
- Konishi. Y. 1969. Nitrite forming bacteria in Yamahaimoto. IV. Temperature sensitive nitrite reductase formation in psychrophilic nitrate respiring bacteria. cited in National Research Council. *Nitrates: An Environmental Assessment*, National Academy of Sciences, Washington D.C.
- Leach.A.M., Galloway.J.N., Bleeke.A., Erisman J.W., Kohn.R., Kitzes. J. 2011. A nitrogen footprint model to help consumers understand their role in nitrogen losses to the environment. *Environmental Development* 1, 40–66.
- Lee. K.C., Rittmann. B.E., 2003. Effects of pH and precipitation on autohydrogenotrophic denitrification using the hollow-fiber membrane-biofilm reactor. *Water Research* 37, 1551 - 1556.
- Leverenz. H.L., Haunschild. K., Hopes. G., Tchobanoglous. G., Darby. J.L. 2010. Anoxic treatment wetlands for denitrification. *Ecological Engineering* 36, 1544-1551.
- Liu. S.J., Zhao. Z.Y, Li J., Wang.J., Qi. Y. 2013. An anaerobic two-layer permeable reactive biobarrier for the remediation of nitrate contaminated groundwater. *Water Research* 47, 5977-5985.

- Luk. G.K. and Au-Yeung. W.C. 2002. Experimental investigation on the chemical reduction of nitrate from groundwater. *Adv. Environ. Res.*, 6, 441–453.
- MacDonald. D.V. 1990. Denitrification by fluidized biofilm reactor. *Wat. Sci. Tech.* 22, 451-461.
- McQuillan. D. 1995. High groundwater nitrate in Tijeras Arroyo, Hells Canyon and Abo Arroyo: Evidence for a natural geologic origin. *New Mexico Geology*, 17(2):May.
- Metcalf & Eddy. “Ingegneria delle acque reflue” quarta edizione 2006. McGraw-Hill. ISBN: 88-386-6188-X.
- Ministero dell’Ambiente. Relazione sullo Stato dell’Ambiente. 2001.
- Mitsch. W.J., Gosselink. J.G. 1993. *Wetlands*. VNB Editore. ISBN:0-442-00805-8.
- Mitsch. W.J. 2013. Wetland Creation and Restoration. *Encyclopedia of Biodiversity* 7, 367-383.
- Mohseni-Bandpi. A., Elliott. D.J. 1998. Groundwater denitrification with alternative carbon sources. *Wat Sci Tech* 38:237–243.
- Moorman.T.B., Parkin. T. B., Kaspar. T.C., Jaynes. D.B. 2010. Denitrification activity, wood loss, and N₂O emissions over 9 years from a wood chip bioreactor. *Ecological Engineering* 36, 1567–1574.
- Naser. O.Z.M. 2011. Kinetics Of Groundwater Nitrate in Soil Leachate In Tulkarem City Using Soil Columns. Honour thesis- An-Najah National University.
- National Research Council. 1978. *Nitrates: An Environmental Assessment*, National Academy of Sciences, Washington D.C.
- National Research Council. 1994. *Alternatives for Ground Water Clean Up*. National Academy Press, Washington DC.
- NITRABAR Recommendations Report. July 2009. A Novel Tool to Assist in the Reduction of Agricultural Diffuse Nitrate Pollution in Europe. NITRABAR EC LIFE Environment Project (LIFE05 ENV/UK/000137).
- NITRABAR Field Report. 2009. “Remediation of agricultural diffuse nitrate polluted waters through the implementation of a permeable reactive barrier (NITRABAR)”. EC LIFE Environment Project. (LIFE05 ENV/UK/000137) D16 and D17 – Period One and Two Monitoring Report.

- Nikolaeva. S., Sanchez. E., Borja. R., Travieso. L., Weiland. P., Milan. Z. 2002. Treatment of piggery waste by anaerobic fixed bed reactor and zeolite bed filter in a tropical climate, a pilot scale study. *Process Biochem* 38, 405–409.
- Nkotagu. H. 1996. Origins of high nitrate in groundwater in Tanzania. *Journal of African Earth Sciences*. Vol. 21. No. 4. pp. 471-478.
- Nommik. H. 1956. Investigations on denitrification in soil. *Acta agriculturae Scandinavica* 6,195-228.
- Ovez. B., 2006. Batch biological denitrification using *Arundo donax*, *Glycyrrhiza glabra*, and *Gracilaria verrucosa* as carbon source. *Process Biochem*. 41, 1289–1295.
- Öztürk. N., and Bektas. T.N. 2004 Nitrate removal from aqueous solution by adsorption onto various materials. *J. Haz. Mat.*, B112 155–162.
- Pala. A., Bolukbas, O. 2005. Evaluation of kinetic parameters for biological CNP removal from a municipal wastewater through batch tests. *Process Biochemistry* 40, 629-635.
- Park. J., Byun. I., Park. S., Lee. J., Park. S., Park. T., Lee. T. 2009. Use of spent sulfidic caustic for autotrophic denitrification in the biological nitrogen removal processes: Lab-scale and pilot-scale experiments. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 15, 316–322.
- Patterson. B.M., Grassi. M.E., Davis. G.B., Robertson. B.S., McKinley. A.J. 2002. Use of polymer mats in series for sequential reactive barrier remediation of ammonium-contaminated groundwater: laboratory column evaluation. *Environ. Sci. Technol.* 36, 3439–3445.
- Payne. W.J. 1973. Reduction of nitrogenous oxides by microorganisms. *Bacteriological Reviews*, 37, 409-452.
- Perry. R.H., Green. D. W., 1999. *Perry's Chemical Engineers' Handbook*. Seventh Edition. McGraw-Hill.
- Pfenning. K.S., McMahon. P.B. 1997. Effect of nitrate, organic carbon, and temperature on potential denitrification rates in nitrate-rich riverbed sediments. *J. Hydrol.* 187, 283-295.
- Piano di Tutela delle Acque in Sicilia. Dicembre 2005.
- Pintar. A. and Batista. J. 1999 Catalytic hydrogenation of aqueous nitrate solutions in fixed-bed reactors. *Catalysis Today* 53, 35-50.

- Powell. R. M. and Powell. P. D., 1998. "Iron Metal for Subsurface Remediation". The Encyclopedia of Environmental Analysis and Remediation. Robert A. Myers, ed. John Wiley & Sons, Inc., New York. 8:4729-4761.
- Powell. R. M. and R. W. Puls. July 1997. Permeable Reactive Subsurface Barriers for the Interception and Remediation of Chlorinated Hydrocarbon and Chromium (VI) Plumes in Ground Water. U.S. EPA Remedial Technology Fact Sheet. EPA/600/F-97/008.
- Phoenix. G.K., Hicks. W.K., Cinderby. S., Kuylenstierna. J.C.I., Stock. W.D., Dentener. F.J., Giller. K.E., Austin. A.T., Lefroy. R.D.B., Gimeno. B.S., Ashmore. M.R., Ineson. P. 2006. Atmospheric nitrogen deposition in world biodiversity hotspots: The need for a greater global perspective in assessing N deposition impacts. *Global Change Biol.* 12(3), 470-476.
- Prüsse. U. and Vorlop. K. Supported bimetallic palladium catalysts for water-phase nitrate reduction. *J. Mol. Catalysis A: Chem.*, 173 313–328.
- [Qiu. S., McComb. A.J. 1996. Drying-induced stimulation of ammonium release and nitrification in reflooded lake sediment.](#) *Marine and Freshwater Research*, 47 (3), 531-536.
- Rabalais. N.N., 2002. Nitrogen in aquatic ecosystems. *Ambio* 31(2), 102-112.
- Ribas. D., Calderer. M., Martí. V., Rovir. M. 2013. Effect of different seasonal conditions on the potential of wetland soils for groundwater denitrification. *Desalination and Water Treatment*.
- Rivett. M.O., Buss. S.R., Morgan. P., Smith. J.W.N., Bement. C.D. 2008. Nitrate attenuation in groundwater: A review of biogeochemical controlling processes. *Water Research* 42, 4215-4232.
- Roberts. A.L., Totten. L.A., Arnold. W.A., Burris. D.R., Campbell. T.J. 1996. Reductive elimination of chlorinated ethylenes by zero-valent metals. *Environ. Sci. Technol.* 30(9). 1996. 2654–2659.
- Robertson. W.D., Blowes. D.W., Ptacek. C.J., Cherry. J.A. 2000. Longterm performance of in situ reactive barriers for nitrate remediation. *Ground Water* 38, 689–695.

- Robertson. W.D., and J.A. Cherry. 1995. In situ denitrification of septic system nitrate using reactive porous media barriers: Field trials. *Ground Water* 33, no. 1: 99–111.
- Robertson. W.D., Ford. G.I., Lombardo. P.S. 2005a. Wood-based filter for nitrate removal in septic systems. *Trans. ASAE* 48, 121–128.
- Robertson. W.D., Yeung. N., van Driel. P.W., Lombardo. P.S., 2005b. High permeability layers for remediation of ground water; go wide, not deep. *Ground Water* 43, 574–581.
- Robertson. W. D., Vogan. J. L., Lombardo. P. S. 2008. Nitrate Removal Rates in a 15-Year-Old Permeable Reactive Barrier Treating Septic System Nitrate. *GroundWater Monitoring & Remediation* 28, 65–72.
- Robertson. W.D., Merkley. L.C. 2009. In-stream bioreactor for agricultural nitrate treatment. *J. Environ. Qual.* 38, 230–237.
- Robertson. W.D. 2010. Nitrate removal rates in woodchip media of varying age. *Ecological Engineering* 36, 1581–1587.
- Roehl. K.E., Meggyes. T., Simon. F.G., Stewart. D.I. 2005. *Long-term Performance of Permeable Reactive Barriers*. Elsevier Publishers, 2005.
- Schäfer. D., Schäfer, W., Kinzelbach. W. 1998. Simulation of reactive processes related to biodegradation in aquifers - 2. Model application to a column study on organic carbon degradation. *Journal of Contaminant Hydrology* 31, 187–209.
- Schipper. L.A., Vojvodic´-Vukovic´. M. 2000. Nitrate removal from groundwater and denitrification rates in a porous treatment wall amended with sawdust. *Ecol. Eng.* 14, 269–278.
- Schipper. L.A., Vojvodic´-Vukovic´. M. 2001. Five years of nitrate removal, denitrification and carbon dynamics in a denitrification wall. *Water Res.* 35, 3473–3477.
- Schipper. L.A., Barkle. G.F., Vojvodic-Vukovic. M., Hadfield. J.C., and Burgess. C.P. 2004. Hydraulic constraints on the performance of a groundwater denitrification wall for nitrate removal from shallow groundwater. *J. Contam. Hydrol.* 69, 263–279.
- Schipper. A., Barkle. G.F., and Vojvodic-Vukovic M. 2005. Maximum Rates of Nitrate Removal in a Denitrification Wall. *J. Environ. Qual.* 34, 1270–1276.

- Schipper. L.A., Robertson. W.D., Gold. A.J., Jaynes. D.B., Cameron. S.C. 2010a. Denitrifying bioreactors - An approach for reducing nitrate loads to receiving waters. *Ecol. Eng.* 36, 1532–1543.
- Schipper. L.A., Cameron. S.C., Warneke. S. 2010b. Nitrate removal from three different effluents using large-scale denitrification beds. *Ecol. Eng.* 36, 1552–1557.
- Schmidt. E. L. 1982. Nitrification in agricultural soils. Nitrogen in agricultural soils, edited by: Stevenson, F. J., American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, 253-288.
- Salem. Z., Lebig. H., Cherafa. W.K., Allia. K. 2007. Valorisation of olive pits using biological denitrification. *Desalination* 204, 72–78.
- Şen. A., Miranda. I., Santos. S., Graca. J., Pereira. H. 2010. *Industrial Crops and Products* 31, 417–422.
- Silva. S.P., Sabino. M.A., Fernandes. E.M., Correlo. V.M., Boesel. L.F., Reis. R.L., 2005. Cork: properties, capabilities and applications. *Int. Mater. Rev.* 50 (6), 345–365.
- Smith. R.A., Alexander. R.B., and Wolman. M.G. 1987. Water quality trends in the nation's rivers, *Science* 235, 1607-1615.
- Soares. M.I.M., 2000. Biological denitrification of groundwater. *Water, Air Soil Poll.*, 123, 183-193.
- Soares. M.I.M., Abeliovich. A., 1998. Wheat straw as substrate for water Denitrification. *Water Res.* 32, 3790–3794.
- Song. K., Kang. H., Li Zhanga., Mitsch.W.J. 2012. Seasonal and spatial variations of denitrification and denitrifying bacterial community structure in created riverine wetlands. *Ecological Engineering* 38, 130–134.
- Spalding. R.F., Exner. M.E., 1993. Occurrence of nitrate in groundwater – A review. *Journal of Environmental Quality* 22 (3) 392-402.
- Strietelmeier. B.A., Espinosa. M.L., Jones. M.W., Adams. J.D., Hodge. E.M., Ware. S.D., Leonard. P.A., Longmire. P., Kaszuba. J.P. and Conca. J.L. 2001. Remediation of Nitrate-contaminated Groundwater using a Biobarrier. WM'01 Conference, February 25-March 1, 2001, Tucson, AZ.
- Su. C., Puls. R.W., 2006. Removal of added nitrate in cotton burr compost, mulch compost, and peat: mechanisms and potential use for groundwater nitrate remediation. *Chemosphere* 66, 91–98.

- Tang, Y., Zhou, C., Ziv-El, M., Rittmann, B.E. 2011. A pH-control model for heterotrophic and hydrogen-based autotrophic denitrification. *Water Research* 45, 232 – 240.
- Thiruvengkatachari, R., Vigneswaran, S., Naidu, R. 2008. Permeable reactive barrier for groundwater remediation. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 14, 145–156.
- Titus, F.B. 1980. Groundwater in the Sandia and Northern Manzano Mountains, New Mexico Bureau of Mines and Mineral Resources Hydrologic Report 5, 1980.
- Trois, C., Pisano, G., Oxarango, L. 2010. Alternative solutions for the bio-denitrification of landfill leachates using pine bark and compost. *Journal of Hazardous Materials* 178, 1100–1105.
- Trouve, C., P.M. Chazal. 1999. Autotrophic denitrification by *Thiobacillus denitrificans* with thiosulphate as sole energy source. Pilot scale experiments at low temperature. *Env. Tech.* 20, 387-395.
- USEPA (1998) “Permeable Reactive Barrier Technologies for Contaminant Remediation” EPA/600/R-98/125.
- UNI 10780:98.
- van der Hoek, J.P., Latour, P.J.M., Klapwijk, A. 1987. Denitrification with methanol in presence of high salt concentrations and at high pH levels. *Appl Microbiol Biotechnol* 27:199–205.
- van Rijn, J., Tal Y., Schreier, H.J. 2006. Denitrification in recirculating systems. Theory and applications. *Aquacult Eng* 34, 364–376.
- Viotti, P. 2003 - Dispense del corso “Dinamica degli inquinanti”. Università di Roma La Sapienza.
- Viviani, G., 2005. Trattamenti Biologici. Dispense del corso di Ingegneria Sanitaria Ambientale. Università degli Studi di Palermo, Facoltà di Ingegneria, Dipartimento di Ingegneria Idraulica ed Applicazioni Ambientali.
- Vogan, J.L., 1993. The use of emplaced denitrifying layers to promote nitrate removal from septic effluent. MS thesis, University of Waterloo, Waterloo, Ont., Canada.
- Volokita, M., Belkin, S., Abeliovich, A., Soares, M.I.M., 1996. Biological denitrification of drinking water using newspaper. *Water Res.* 30, 965–971.
- Wana, D., Liu, H., Qua, J., Lei, P., Xiao, S., Hou, Y. 2009. Using the combined bioelectrochemical and sulfur autotrophic denitrification

system for groundwater denitrification. *Bioresource Technology* 100, 142–148.

- Wang. D.H., Huang. Q.H., Wang. C.X., Ma. M., and Wang. Z.J. 2007. The effects of different electron donors on anaerobic nitrogen transformations and denitrification processes in Lake Taihu sediments. *Hydrobiologia* 581, 71–77.
- Warner. S.D., Longino. B.L., Zhang. M., Bennett. P., Szerdy. F.S., Hamilton. L.A., 2005. The first commercial permeable reactive barrier composed of granular iron: hydraulic and chemical performance at 10 years of operation. In: Boshoff, G.A., Bone, B.D. (Eds.), *Permeable Reactive Barriers*. Proc. International Symposium, March 2004, Belfast, Northern Ireland, IAHS Publ. no. 298, 32–42.
- Wilkin. R.T., Puls. R.W., Sewell. G.W. 2003. Long-term performance of permeable reactive barriers using zero-valent iron: geochemical and microbiological effects. *Ground Water* 41, 493–503.
- Wilkin. R.T., Su. C., Ford. R.G., Paul. C.J., 2005. Chromium-removal processes during groundwater remediation by a zerovalent iron permeable reactive barrier. *Environ. Sci. Technol.* 39, 4599–4605.
- Wilkin. R.T., Acree. S.D., Ross. R.R., Beak. D.G., Lee. T.R., 2009. Performance of a zerovalent iron reactive barrier for the treatment of arsenic in groundwater: Part 1 Hydrogeochemical studies. *J. Contam. Hydrol.* 106, 1–14.
- WHO: *Guidelines for Drinking Water Quality*, 3rd ed., World Health Organization, Geneva, 2003.
- WHO: 1984, *Guidelines for drinking water quality*, World Health Organization, Geneva, Vol. 2, 290-292.
- Zanetti. M. C. 2004 – “Prove di laboratorio per la valutazione dell’efficienza delle barriere reattive” Seminario di aggiornamento professionale – Tecnologie di bonifica: la corretta esecuzione dei test pilota. Milano 4 marzo 2004.
- Zhou. W., Sun. Y., Wu. B., Zhang. Y., Huang. M., Miyanaga. T., Zhang. Z. 2011 Autotrophic denitrification for nitrate and nitrite removal using sulfur-limestone. *Journal of Environmental Sciences.* 23(11) 1761–1769.

- Zumft. W. 1992. The dentrifying prokaryotes, in A. Balows, H.G. Truper, M. Dworkin, W. Harder and K.- H. Schleifer (eds), *The Prokaryotes*, Springer-Verlag, New York, USA, pp. 554-582.

APPENDICE

A1:Report sintetico Colonna “Sughero”

A1.1 Parametri idraulici

Giorno	Data	Q[ml/h]	TDI [d]	Δh [cm]	k[cm/s]	V [cm/s]	V_{eff} [cm/s]
2	02/08/2012	150.00	0.83	1.00	0.05308	0.00053	0.00140
7	07/08/2012	145.00	0.86	1.00	0.05131	0.00051	0.00135
42	11/09/2012	125.00	0.99	0.50	0.08846	0.00044	0.00116
43	12/09/2012	130.00	0.96	0.50	0.09200	0.00046	0.00121
55	24/09/2012	18.00	6.90	0.50	0.01274	0.00006	0.00017
64	03/10/2012	20.00	6.21	0.50	0.01415	0.00007	0.00019
70	09/10/2012	43.00	2.89	0.50	0.03043	0.00015	0.00040
72	11/10/2012	50.00	2.48	0.50	0.03539	0.00018	0.00047
76	15/10/2012	200.00	0.62	3.00	0.02359	0.00071	0.00186
81	20/10/2012	248.33	0.50	3.00	0.02929	0.00088	0.00231
92	31/10/2012	400.54	0.31	1.50	0.09449	0.00142	0.00373
103	11/11/2012	248.33	0.50	2.00	0.04394	0.00088	0.00231
115	23/11/2012	400.54	0.31	2.00	0.07087	0.00142	0.00373
120	28/11/2012	720.00	0.17	2.00	0.12739	0.00255	0.00670
125	03/12/2012	200.00	0.62	2.00	0.03539	0.00071	0.00186
130	08/12/2012	59.13	2.10	1.00	0.02092	0.00021	0.00055
138	16/12/2012	24.83	5.00	2.00	0.00439	0.00009	0.00023
146	24/12/2012	31.04	4.00	2.00	0.00549	0.00011	0.00029
149	27/12/2012	21.41	5.80	0.50	0.01515	0.00008	0.00020
152	30/12/2012	19.10	6.50	0.50	0.01352	0.00007	0.00018
157	04/01/2013	20.00	6.21	0.50	0.01415	0.00007	0.00019
165	12/01/2013	21.41	5.80	2.00	0.00379	0.00008	0.00020
170	17/01/2013	19.71	6.30	0.50	0.01395	0.00007	0.00018
177	24/01/2013	31.04	4.00	0.50	0.02197	0.00011	0.00029
188	04/02/2013	41.39	3.00	1.00	0.00527	0.00005	0.00014
192	08/02/2013	27.59	4.50	0.50	0.00176	0.00001	0.00002
200	16/02/2013	120.00	1.03	1.50	0.02293	0.00034	0.00091

A1.2 Parametri chimici e fisici

Giorno	Data	NO3-N_in [mg/l]	NO3-N_out[mg/l]	h[%]	NH4-N_out[mg/l]	COD [mg/l]	ORP [mV]	pH
2	02/08/2012		22.8			100		
7	07/08/2012		0.7					
42	11/09/2012		0			55		
43	12/09/2012	23.9	1.673	93.0	0.5		146	6.50
55	24/09/2012	20	0.4	98.0	0.46	74.00	101	6.50
64	03/10/2012	20	0.6	97.0	0.14	28.00	140	6.40
70	09/10/2012	27.4	5.48	80.0	0.21	30.00	48	6.50
72	11/10/2012	23.7	5.93	75.0	0.3	27.00	100	6.50
76	15/10/2012	22	11	50.0	0.35		180	6.50
81	20/10/2012	22	10.78	51.0	0.07	27.40	180	6.50
92	31/10/2012	20	11	45.0	0.1	29.00	146	6.50
103	11/11/2012	23	11.96	48.0	0.63	35.40	180	6.28
115	23/11/2012	25.8	22.1	45.0		19.30	280	6.26
120	28/11/2012	22	13.2	40.0	0.2	46.00	253	6.29
125	03/12/2012	21	12.8	39.0	0.19		245	6.32
130	08/12/2012	20	4.0	80.0	0.23	37.9	230	6.35
138	16/12/2012	20	16	20.0	0.64		187	6.76
146	24/12/2012	20	10.4	48.0	0.39		151	6.09
149	27/12/2012	23.8	4.76	80.0	0.78	50.50	134	6.09
152	30/12/2012	24	2.4	90.0	0.4	100	126	6.03
157	04/01/2013	25	1.25	95.0	0.63		120	6.29
165	12/01/2013	24	18	25.0	0.9		154	6.35
170	17/01/2013	25.8	0.516	98.0	0.4	50	174	6.74
177	24/01/2013	23	4.6	80.0	0.8		187	7.40
188	04/02/2013	20	7.404	63.0	0.4		151	7.34
192	08/02/2013	23	4.37	81.0	0.6	45.70	134	7.25
200	16/02/2013	23	10	56.5	0.5	50.00	132	6.90

A2:Report sintetico Colonna “Corteccia di pino”

A2.1 Parametri idraulici

Giorno	Data	Q[ml/h]	TDI [d]	Δh [cm]	k[cm/s]	V [cm/s]	V _{eff} [cm/s]
2	02/08/2012	60	2.58	0.5	0.04246	2.12E-04	0.000452
7	07/08/2012	80	1.93	0.5	0.05662	2.83E-04	0.000602
42	11/09/2012	24.9	6.2	0.5	0.01765	8.82E-05	0.000188
56	25/09/2012	22.0	7.0	0.5	0.01557	7.78E-05	0.000166
66	05/10/2012	22.0	7.0	0.5	0.01558	7.79E-05	0.000166
69	08/10/2012	24.9	6.2	0.5	0.01765	8.82E-05	0.000188
83	22/10/2012	28.8	5.4	0.5	0.02041	1.02E-04	0.000217
90	29/10/2012	28.1	5.5	1	0.00995	9.95E-05	0.000212
99	07/11/2012	38.6	4.0	1.5	0.00912	1.37E-04	0.000291
112	20/11/2012	103.1	1.5	3	0.01216	3.65E-04	0.000776
121	29/11/2012	77.3	2.0	2	0.01368	2.74E-04	0.000582
123	01/12/2012	103.1	1.5	3	0.01216	3.65E-04	0.000776
126	04/12/2012	36.8	4.2	1.5	0.00868	1.30E-04	0.000277
139	17/12/2012	25.0	6.2	1	0.00885	8.85E-05	0.000188
143	21/12/2012	25.0	6.2	1	0.00885	8.85E-05	0.000188
161	08/01/2013	20	7.7	0.5	0.01415	7.08E-05	0.000151
163	10/01/2013	23.8	6.5	1	0.00842	8.42E-05	0.000179
164	11/01/2013	25.3	6.1	1	0.00897	8.97E-05	0.000191
174	21/01/2013	21.7	7.12	1	0.00768	7.68E-05	0.000163
185	01/02/2013	30.0	5.15	1.5	0.00708	1.06E-04	0.000226
189	05/02/2013	24.8	6.23	1.5	0.00585	8.78E-05	0.000187
192	08/02/2013	30.0	5.152778	2	0.00531	1.06E-04	0.000226
199	15/02/2013	23.9	6.48	1.5	0.00563	8.44E-05	0.000180
205	21/02/2013	19.8	7.8	1.5	0.00468	7.01E-05	0.000149
213	01/03/2013	29.5	5.24	1.5	0.00696	1.04E-04	0.000222
220	08/03/2013	25.0	6.183333	1	0.00885	8.85E-05	0.000188
224	12/03/2013	26.2	5.9	2	0.00464	9.27E-05	0.000197
232	20/03/2013	25.3	6.1	2	0.00448	8.97E-05	0.000191

A2.2 Parametri chimici e fisici

Giorno	Data	NO3- N_in [mg/l]	NO3- N_out[mg/l]	η [%]	NH4- N_out[mg/l]	COD [mg/l]	ORP [mV]	pH
2	02/08/2012		24.8			6.6	128	300
7	07/08/2012		3.9			6.1	50	210
42	11/09/2012	18	1.4	92.22	0.1	6.4	45	46
56	25/09/2012	20	0.01	99.95	0.15	6.5	30	104
66	05/10/2012	21	1.1	94.76	0.3	6.5	139	76
69	08/10/2012	21	2.1	90.00	0.08	6.4	140	83
83	22/10/2012	22	0.4	98.18	0.64	6.76	138	26
90	29/10/2012	24.1	8.5	64.73	0.76	6.58	135	32
99	07/11/2012	21.3	5.1	76.06	0.1	6.52	230	30.8
112	20/11/2012	24.1	14.4	40.25	0.04	6.76	180	29.4
121	29/11/2012	23.7	6.6	72.15	0.17	5.92	150	35
123	01/12/2012	25	12	52.00	0.2	5.69	120	46
126	04/12/2012	23.3	4	82.83	0.15	5.8	80	41
139	17/12/2012	25	0.1	99.60	0.04	6.16	50	55.2
143	21/12/2012	26.9	1.4	94.80	0.24	6.27	40	38
161	08/01/2013	28.2	0	100.00	0.34	6.35	60	26
163	10/01/2013	27	1.2	95.56	0.41	6.6	120	39
164	11/01/2013	25.2	1.6	93.65	0.3	7.02	145	59
174	21/01/2013	21.2	0.3	98.58	1	6.89	89	55.4
185	01/02/2013	23.9	13.6	43.10	0.5	7.01	36	47
189	05/02/2013	27.2	1.4	94.85	0.9	6.97	45	69
192	08/02/2013	26.1	1.6	93.87	0.16	6.76	85	96.2
199	15/02/2013	30.5	1.3	95.74	0.2	7.41	114	52
205	21/02/2013	22.3	0.3	98.65	0.4	7.35	163	47
213	01/03/2013	22	1.5	93.18	0.5	6.96	142	43.3
220	08/03/2013	24.2	0.5	97.93	0.32	6.5	110	52.3
224	12/03/2013	30.6	1	96.73	0.17	6.8	36	51
232	20/03/2013	23.1	2.9	87.45	0.3	6.9	47	56

A3:Report sintetico Colonna “Sansa di olive”

A3.1 Parametri idraulici

Giorno	Data	Q[ml/h]	TDI [d]	Δh [cm]	k[cm/s]	V [cm/s]	V_{eff} [cm/s]
2	02/08/2012	160.00	0.65	1.50	0.037745	0.000566	0.001769
7	07/08/2012	140.00	0.75	1.50	0.033027	0.000495	0.001548
23	23/08/2012	135.00	0.77	1.50	0.031847	0.000478	0.001493
43	12/09/2012	50.00	2.09	1.00	0.017693	0.000177	0.000553
56	25/09/2012	39.00	2.68	0.50	0.027601	0.000138	0.000431
67	06/10/2012	50.00	2.09	1.00	0.017693	0.000177	0.000553
85	24/10/2012	140.00	0.75	2.00	0.02477	0.000495	0.001548
100	08/11/2012	150.00	0.70	1.50	0.035386	0.000531	0.001659
108	16/11/2012	180.00	0.58	1.50	0.042463	0.000637	0.00199
116	24/11/2012	160.00	0.65	1.50	0.037745	0.000566	0.001769
123	01/12/2012	100.00	1.05	2.50	0.014154	0.000354	0.001106
130	08/12/2012	86.70	1.21	1.00	0.030679	0.000307	0.000959
143	21/12/2012	40.00	2.61	2.50	0.005662	0.000142	0.000442
157	04/01/2013	50.00	2.09	2.00	0.008846	0.000177	0.000553
175	22/01/2013	80.00	1.31	2.00	0.014154	0.000283	0.000885
182	29/01/2013	60.00	1.74	5.00	0.004246	0.000212	0.000663
184	31/01/2013	55.00	1.90	5.50	0.003539	0.000195	0.000608
189	05/02/2013	25.00	4.18	1.50	0.005898	8.85E-05	0.000276
191	07/02/2013	55.00	1.90	2.00	0.009731	0.000195	0.000608
196	12/02/2013	60.00	1.74	2.00	0.010616	0.000212	0.000663
202	18/02/2013	50.00	2.09	1.00	0.017693	0.000177	0.000553
205	21/02/2013	90.00	1.16	2.00	0.015924	0.000318	0.000995
213	01/03/2013	40.00	2.61	2.00	0.007077	0.000142	0.000442
224	12/03/2013	60.00	1.74	1.50	0.014154	0.000212	0.000663
231	19/03/2013	80.00	1.31	2.00	0.014154	0.000283	0.000885

A3.2 Parametri chimici e fisici

Giorno	Data	NO3- N_in [mg/l]	NO3- N_out[mg/l]	η [%]	NH4- N_out[mg/l]	COD [mg/l]	ORP [mV]	pH
2	02/08/2012		25.50			612		
7	07/08/2012		5.60			500		
23	23/08/2012		0.10			300		
43	12/09/2012	25.00	5.00	80.00				
56	25/09/2012	25.00	0.00	100.00	0.4			
67	06/10/2012	26.00	1.10	95.77	0.9	296	-70	6
85	24/10/2012	25.40	0.10	99.61	0.26	422		6.96
100	08/11/2012	25.00	0.04	99.84	0.18	304	-75	
108	16/11/2012	26.00	1.00	96.15	0.17			
116	24/11/2012	25.00	1.50	94.00	0.19	404		6.49
123	01/12/2012	29.10	0.01	99.97	0.17	420	225	7.06
130	08/12/2012	30.00	1.50	95.00	0.13		32	6.44
143	21/12/2012	29.70	0.00	100.00		364		5.88
157	04/01/2013	24.00	0.00	100.00		236	-35	5.88
175	22/01/2013	26.10	0.50	98.08	0.17			
182	29/01/2013	25.00	1.00	96.00				
184	31/01/2013	26.10	0.50	98.08			-50	6.19
189	05/02/2013	25.00	3.40	86.40	2			6.22
191	07/02/2013	25.00	3.40	86.40				6.67
196	12/02/2013	25.00	0.80	96.80	3.1	375		7.16
202	18/02/2013	30.00	0.00	100.00		357	-85	6
205	21/02/2013	30.00	1.20	96.00		353	52	7.15
213	01/03/2013	30.00	1.90	93.67	1.3			7.09
224	12/03/2013	30.00	6.00	80.00	1.3	250		6.8
231	19/03/2013	30.00	1.00	96.67	1.9		-15	6.5