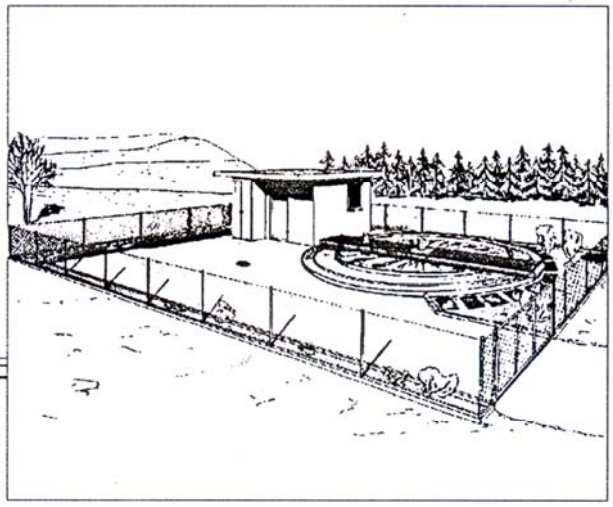
DEPURAZIONE



# Non-filamentous bulking nel trattamento dei reflui di rendering mediante sistemi biologici SBR (Sequencing Batch Reactor).

Sergio Facchini[2] e Piergiacomo Sarra[1]


## Riassunto

**Viene descritto un caso di non-filamentous bulking su un sistema SBR aerobico-anossico per il trattamento dei reflui di rendering in scala reale. Supponendo che l'eccessiva produzione dei polimeri extracellulari fosse causata da carenze nutrizionali, si è provveduto a correggere il refluo da trattare con ferro e fosforo ottenendo la scomparsa pressoché totale dei microrganismi *Zoogloea*-like.**

**Il miglioramento dei valori di SVI da 200-300 ml/g a 75-120 ml/g ha consentito il raggiungimento di alte età del fango e quindi una elevata stabilità della nitrificazione biologica.**


1 Centro Ricerche Biotecnologiche, Università Cattolica, Cremona.
2 Collaborators esterno.

## Introduzione

Uno dei presupposti per la riuscita del trattamento biologico delle acque reflue mediante il processo a fanghi attivi è rappresentato dalle buone caratteristiche strutturali del fiocco, che influenzano direttamente la torbidità dell'effluente ed il grado di sedimentabilità ed ispessibilità del fango stesso. Il rigonfiamento o bulking dei fanghi è in genere dovuto alla eccessiva proliferazione di microrganismi filamentosi (filamentous bulking) e le cause più frequenti di tale anomalia sono da ricondurre a carenze di ossigeno o nutrienti, presenza di solfuri nel refluo, basso pH o bassa concentrazione del substrato solubile biodegradabile come avviene ad esempio nei sistemi di trattamento a flusso continuo completamente miscelati in assenza di selettori[1,5,6,7]. In alcuni casi un elevato SVI (Sludge Volume Index) risulta non correlato con un alto livello di microrganismi filamentosi mentre si osserva una eccessiva presenza di polimeri extracellulari nella

biomassa. Il fango assume una consistenza gelatinosa e le caratteristiche di sedimentabilità e di ispessibilità vengono seriamente compromesse (Viscous bulking o non-filamentous bulking)[1].

Per evitare la perdita di solidi sospesi con l'effluente è necessario quindi abbassare la concentrazione dei fanghi in vasca di aerazione, con innalzamento dei valori di carico sul fango e diminuzione dell'età del fango, innescando problemi relativi alla corretta conduzione dei processi di rimozione dell'azoto per nitrificazione e denitrificazione.

Questa disfunzione può essere definita come una microstruttura del fiocco non ideale in cui il materiale polimerico che contribuisce alla bioflocculazione è prodotto in modo eccessivo da parte dei microrganismi, i quali si trovano "dispersi" in una massa extracellulare gelatinosa con un elevato grado di idratazione. All'estremo opposto, per ragioni diverse, una scarsa produzione di polimeri extracellulari può portare al fenomeno della crescita dispersa, in cui non si ha bioflocculazione oppure questa non è sufficiente per il mantenimento di una adeguata struttura ed il surnatante del fango presenta alti livelli di cellule batteriche disperse.

La presenza di viscous bulking è evidenziabile dagli alti valori dello SVI (oltre 150 ml/g), dalla consistenza gelatinosa del fango e soprattutto, attraverso l'esame microscopico a contrasto di fase, dalla presenza di estese strutture *Zoogloea*-like di tipo amorfo o digitato con le cellule batteriche disperse in una abbondante massa extracellulare. La definizione dei contorni del fiocco viscoso è possibile con colorazione negativa mediante India Ink Test, in cui si osserva la diffusione delle particelle di carbonio che, essendo incapaci di penetrare lo strato extracellulare, ne indicano orientativamente l'estensione.

In alcune circostanze è possibile il verificarsi di un bulking misto, in cui i microrganismi filamentosi e le strutture *Zoogloea*-like contribuiscono entrambi al deterioramento della struttura. In presenza di viscous bulking è anche possibile avere una intensa formazione di schiuma biologica anche senza microrganismi foam-forming quali *Nocardia* spp. o *Microthrix parvicella*. La matrice extracellulare prodotta dai batteri *Zoogloea*-like è probabilmente da considerare assimilabile a materiale capsulare. Attraverso tecniche che prevedono trattamenti termici e precipitazione con acetone o etanolo è possibile studiare la natura chimica dei polimeri, dalla cui idrolisi si forma glucosio, galattosio, fucosio, mannosio, arabinosio, ramnosio, ribosio, acido galatturonico, acido glucuronico ed altri ancora[12]. Gli estratti da colture pure di *Zoogloea ramigera* e da diversi fanghi attivi contengono uno o più dei composti prima elencati.

Per analogia anche la composizione della capsula batterica è piuttosto semplice, essendo in genere costituita da un unico polisaccaride oppure da un polipeptide formato da un solo tipo di aminoacidi, mentre occasionalmente si formano capsule "miste" contenenti due costituenti polimerici diversi[11].

Sono note alcune cause in grado di favorire lo sviluppo del non-filamentous bulking, tuttavia le conoscenze su questo fenomeno sono ancora fortemente incomplete in quanto quasi tutti gli studi sul rigonfiamento del fango attivo si riferiscono al filamentous bulking[3]. La composizione chimica dei reflui ha una sua importanza in quanto la presenza di acidi organici, grassi ed olii permette la crescita dei microrganismi zoogleali[3].

Altre possibili cause sono da ricercarsi nell'elevata cinetica di rimozione del substrato organico solubile biodegradabile che favorisce i microrganismi floc-forming rispetto ai filamentosi. Quindi un eccessivo carico sul fango oppure un troppo spinto effetto selettore, nei sistemi che prevedono un selettore aerobico, possono portare a problemi di questo tipo. Inoltre un influente contenente un insufficiente apporto di alcuni nutrienti oppure una eccessiva crescita di poly-P batteria (clusters di *Acinetobacter*-like) nei trattamenti per la rimozione biologica del fosforo possono innescare una produzione eccessiva di materiale extracellulare.

Le caratteristiche negative del fiocco viscoso sulla sedimentabilità e sulla ispessibilità dei fanghi non si controllano agevolmente con dosaggi di polimeri, cloro o $H_2O_2$, contrariamente a quanto in genere avviene con molti tipi di filamentous bulking[1]. Un risultato positivo sul controllo del fango viscoso mediante ozono al dosaggio di 1 g/(Kg MLSS · d) è stato ottenuto su impianto per il trattamento di reflui petrolchimici, ottenendo una riduzione della crescita zoogleale[9].

Considerando la scarsità di informazioni esistente sul fenomeno, soprattutto relativamente allo studio dei problemi in piena scala, si è ritenuto utile descrivere un caso di non-filamentous bulking, seguito per un periodo di oltre tre anni, su di un sistema SBR (Sequencing Batch Reactor) utilizzante un processo aerobico-anossico per il trattamento dei reflui di rendering in scala reale.

## Descrizione del sistema SBR

### Materiali e metodi

Il trattamento SBR oggetto di studio è costituito da due vasche di equalizzazione miscelate in cui confluiscono i reflui del condensatore ed alcune acque di lavaggio e da un bacino di 650 $m^3$ utili dove avvengono sequenzialmente, sotto controllo di microprocessore, le fasi aerobiche ed anossiche in cui si ha rispettivamente la nitrificazione ed il metabolismo aerobico eterotrofo nelle prime ed il metabolismo anossico eterotrofo nelle seconde, utilizzando il carbonio interno del refluo da trattare per la denitrificazione dell'azoto nitrico.

Il pH viene controllato mediante pHmetro da processo e dosaggio automatico di NaOH per compensare la perdita di alcalinità dovuta alla nitrificazione e solo in parte coperta dalla produzione di alcalinità dovuta alla denitrificazione e dalla presenza di bicarbonati nel refluo. La temperatura è controllata nel bacino SBR mediante l'utilizzo di scambiatori di calore con recupero dell'energia proveniente dalla condensazione del vapore. In questo modo si mantengono, anche nelle condizioni invernali, temperature di 16-18 °C necessarie per una rimozione spinta dell'azoto. Le metodiche analitiche relative ai parametri chimico-fisici delle acque sono quelle dell'I.R.S.A.-C.N.R.[10] mentre per la determinazione degli acidi volatili è stato seguito il procedimento di Anderson e Yang[13].

L'identificazione dei microrganismi filamentosi, la definizione delle classi di abbondanza e la diagnosi del viscous bulking fanno riferimento al manuale di D. Jenkins[1] mentre per l'analisi della microfauna sono state utilizzate le tabelle di P. Madoni[2]. La determinazione della biomassa attiva eterotrofa mediante l'utilizzo di metodi respirometrici è stata effettuata secondo le indicazioni di Young[14, 15].

### Risultati e discussione

Le caratteristiche delle acque reflue in ingresso, il carico giornaliero da trattare ed i principali parametri di processo sono riportati nella tab. I. Il COD è presente soprattutto in forma solubile e risulta costituito in buona parte da acidi volatili. L'azoto si trova quasi interamente nella forma ammoniacale mentre il fosforo ed il ferro indicano forti carenze.

Durante la prima fase dello studio si avevano alti valori di SVI (Fig. 1) dovuti all'eccessiva produzione di materiali extracellulari. Supponendo che questo fosse causato principalmente da carenze nutrizionali, si è provveduto a correggere il refluo da trattare con acido ortofosforico. Il dosaggio è stato iniziato secondo un rapporto COD:P = 100:0,3 (punto A, Fig. 1), immettendo il nutriente in equalizzazione per ottenere

**Tab. I** - Caratteristiche medie dei reflui da trattare, carico inquinante e parametri di processo.

| *Caratteristiche delle acque da trattare (valori medi)* | | |
|---|---|---|
| COD | mg/l | 4.480 |
| $BOD_5$ | mg/l | 2.720 |
| Solidi sospesi | mg/l | 220 |
| Azoto ammoniacale | mg/l | 800 |
| Azoto totale (TKN ) | mg/l | 810 |
| Azoto nitroso | mg/l | 0 |
| Azoto nitrico | mg/l | 0 |
| Fosforo totale | mg/l | 0,3 |
| Cloruri | mg/l | 30 |
| pH | | 8,5-9,0 |
| Estratto etereo | mg/l | 110 |
| Ferro | mg/l | < 0,1 |
| Acidi volatili | 70-80% COD | |
| *Portata idraulica media* | $m^3$/d | 48 |
| *Carico organico giornaliero* | Kg COD /d | 215 |
| *Carico in azoto giornaliero* | Kg TKN /d | 39 |
| *Carico fango (Cf)* | Kg COD/(Kg MLSS·d) | 0,12-0,025 |
| *Conc. MLSS* | g/l | 2,8-13 |
| *pH (miscela aerata)* | | 7,0-7,5 |
| *$O_2$ disciolto (fase aerobica)* | mg/l | 1-4 |
| *$O_2$ disciolto (fase anossica)* | mg/l | 0 |
| *Temper. (misc. aerata) esc. annuale* | °C | 16-26 |

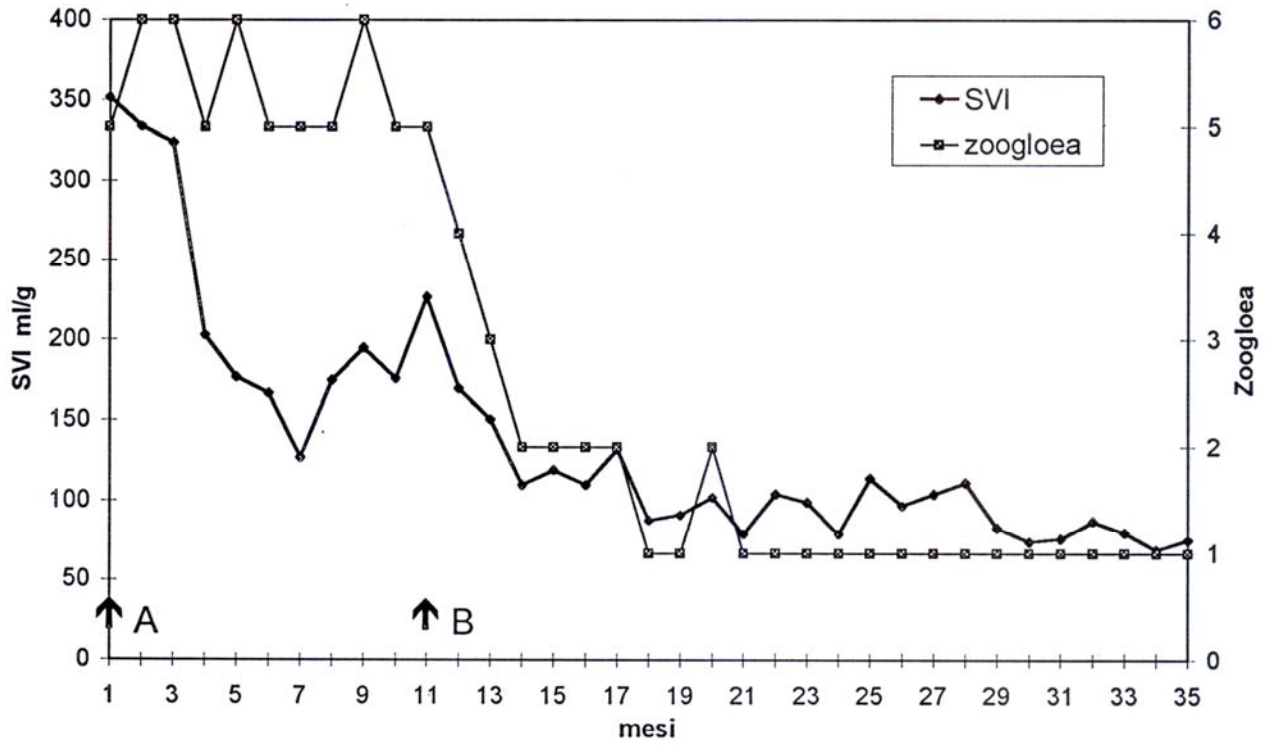



**Fig. 1** - Andamento del SVI (Sludge Volume Index, ml/g) e dei microrganismi *Zoogloea*-like durante la sperimentazione (classi di abbondanza: 0. Assenti; 1. Scarse; 2. Alcune; 3. Comuni ; 4. Molto comuni ; 5. Abbondanti; 6. Eccessive. **A**. Inizio dosaggio fosforo. **B**. Inizio dosaggio ferro e fosforo.

una composizione costante del refluo in alimentazione e favorire una crescita bilanciata della biomassa[1].

Nel primo periodo di osservazione l'azoto ammoniacale indicava spesso valori elevati (Fig. 2) a causa delle basse concentrazioni di MLSS (Mixed Liquor Suspended Solids) che si riuscivano ad ottenere. In questo periodo è risultato utile anche l'inoculo di fanghi nitrificanti con buone caratteristiche di sedimentabilità. Dopo circa 11 mesi di sperimentazione con il solo dosaggio del fosforo, i valori di SVI erano prossimi a 200 ml/g ed il livello di strutture *Zoogloea*-like molto alto.

Si è quindi iniziato il dosaggio di ferro (punto B. Fig. 1) secondo un rapporto COD:Fe = 100:0,4 ed è stato aumentato il fosforo a COD:P = 100:0,5. Lo SVI si è progressivamente ridotto da valori di circa 200 ml/g a meno di 100 ml/g, con la scomparsa delle caratteristiche viscose del fango ed in parallelo l'esame microscopico ha indicato una continua diminuzione delle strutture *Zoogloea*-like fino alla loro quasi totale eliminazione. Sono stati necessari alcuni mesi per osservare cambiamenti radicali nella microstruttura del fiocco, per effetto degli alti valori dell'età del fango e quindi del lento ricambio della biomassa, tuttavia i risultati raggiunti sembrano presentare una stabilità elevata in quanto si sono mantenuti costanti per un periodo di controllo di quasi due anni nei quali i nutrienti sono stati dosati regolarmente.

I bassi valori di SVI hanno permesso alte concentrazioni di MLSS e bassi carichi sul fango, consentendo efficienza e stabilità nella rimozione dell'azoto. I batteri filamentosi presenti nella biocenosi sono stati identificati con preparati a fresco mediante microscopia a contrasto di fase e con colorazioni Gram , Neisser ed S-test[1].

Durante tutto il periodo di osservazione è stato possibile evidenziare la costante presenza di Type 0092 mentre Type 0041, Type 0675 e *Nostocoida limicola* sono apparsi nettamente secondari. I microrganismi filamentosi rientravano normalmente nella

classe II di frequenza[1] e non hanno mai creato bulking dovuto ad una loro crescita eccessiva. La presenza di Type 0092 può essere spiegata considerando la presenza nel processo di fasi anossiche, condizioni che stimolano lo sviluppo di tale microrganismo.

La microfauna non ha mostrato variazioni di rilievo tra il periodo con alto SVI e le fasi successive. Si possono indicare come dominanti i Ciliati Ipotrichi (*Aspidisca cicada*) e nettamente secondari i Ciliati Olotrichi (*Trachelophyllum pusillum, Plagiocampa metabolica, Chilodonella uncinata* e sporadici *Cyclidium glaucoma*), i Ciliati Tentacoliferi (*Acineta* sp.), i Ciliati Peritrichi (*Epistylis* sp.) e scarsi Flagellati. Tra i Metazoi sono sempre risultati abbondanti i Rotiferi.

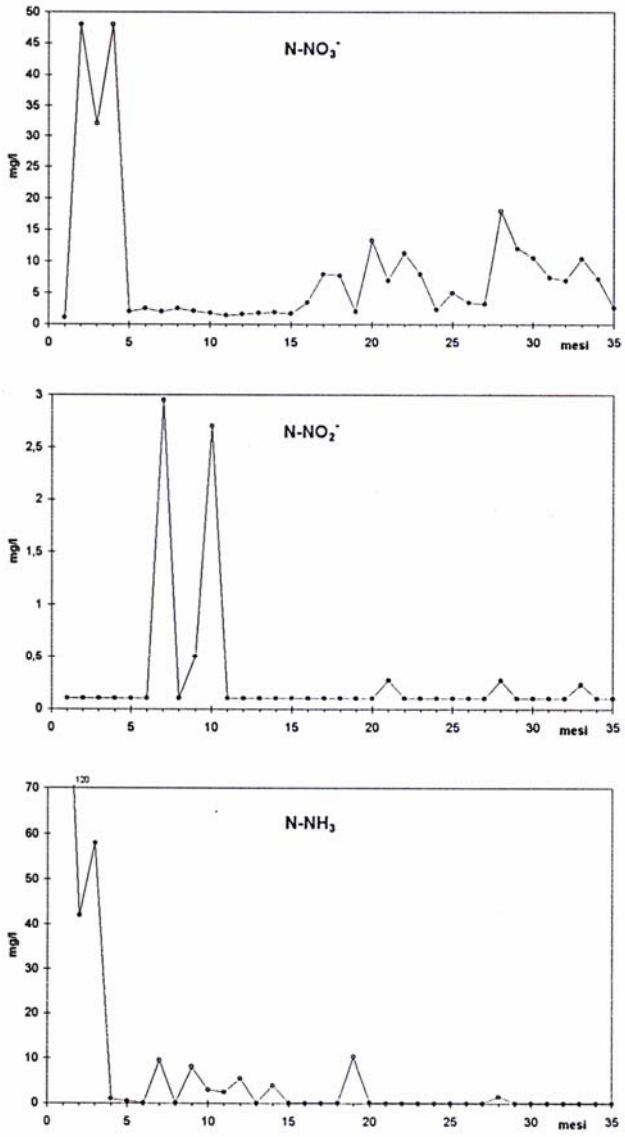



**Fig. 2** - Concentrazione dell'azoto ammoniacale, nitroso e nitrico durante la sperimentazione (mg/l).

La microfauna indica quindi una elevata età del fango con condizioni di ossigenazione mediamente buone, parametri del tutto confermati dalla rilevazione diretta dei parametri di processo.

La biomassa attiva eterotrofa è risultata il 9% dei VMLSS (Volatile Mixed Liquor Suspended Solids) (VMLSS = 81-85% MLSS). Le cinetiche di nitrificazione hanno fornito valori medi di 1,30 mg $N\text{-}NH_3$ ox/(g VMLSS · h) a 20°C e pH 8,0 con $N\text{-}NH_3$ e $O_2$ non limitanti. Le cinetiche di denitrificazione 1,54 mg $N\text{-}NO_3$ rid./(g VMLSS · h) a 20°C, pH 8,0 ed $N\text{-}NO_3$ e substrato organico non limitanti. I rendimenti depurativi medi relativi agli ultimi due anni di controllo sono risultati del 98,7% per il COD, del 99,9% per l'azoto ammoniacale e del 98,9% per l'azoto complessivo.

In conclusione si ritiene che la causa del non-filamentous bulking osservato sia rappresentata dalla composizione chimica del refluo da trattare, in particolare dalle carenze in ferro e fosforo.

Le caratteristiche della frazione carboniosa, ricca in acidi volatili, non hanno avuto in questo caso effetto determinante quando non associate a carenze nutrizionali. *Zoogloea ramigera* è una specie in grado di accumulare sostanze organiche sotto forma di granuli intracellulari di poli-β-idrossibutirrato[11].

È probabile che i microrganismi *Zoogloea*-like, durante la crescita limitata da scarsità di nutrienti, utilizzino parte del substrato organico in eccesso per la biosintesi di polimeri extracellulari oltre che per il deposito intracellulare di PHB. La correzione dei fattori limitanti aumenta inoltre la competitività di altri gruppi microbici portando ad un nuovo equilibrio nella composizione biocenotica dei fanghi.

## BIBLIOGRAFIA

1. Jenkins D., Richard M.G., Daigger G.T. (1986). Manual on the causes and control of activated sludge bulking and foaming. *Water Research Commission*, Pretoria.

2. MADONI P. (1988). I Protozoi Ciliati nel controllo di efficienza dei fanghi attivi. *Centro Italiano Studi di Biologia Ambientale*, Reggio Emilia.

3. NOVAK L., LARREA L., WANNER J., GARCIA-HERAS J.L. (1993). Non-filamentous activated sludge bulking in a laboratory scale system. *Water Res.*, **27** (8): 1339-1346.

4. PIPES W.O. (1969). Types of activated sludge which separate poorly. *J. Wat. Poll. Control Fed.*, **41**: 714-728.

5. VAN NIEKERK A.M., JENKINS D., RICHARD M.G.(1987). The competitive growth of *Zoogloea ramigera* and Type 021N in activated sludge and pure culture. A model for low F:M bulking. *J. Wat. Poll. Control Fed.*, **59** (5): 262-273.

6. CHIESA S.C., IRVINE R.L. (1985). Growth and control of filamentous microbes in activated sludge: an integrated hypothesis. *Water Res.*, **19** (4): 471-479.

7. SHAO Y.-J., JENKINS D. (1989). The use of anoxic selectors for the control of low F/M activated sludge bulking. *Wat. Sci. Tech.*, **21**: 609-619.

8. CHUDOBA J. (1991). Operational experience with an anoxic selector treating rendering-plant wastewaters. *Wat. Sci. Tech.*, **24** (7): 1-7.

9. VAN LEEUWEN J.(1989). Ozonation for non-filamentous bulking control in an activated sludge trating fuel synthesis wastewater. *Water SA*, **15**: 127-132.

10. I.R.S.A. (1976). Metodi analitici per le acque. Vol. I-II. C.N.R., Roma.

11. STANIER R.Y., DOUDOROFF M., ADELBERG E.A. (1975). Il mondo dei microrganismi. *Zanichelli*, Bologna.

12. PIKE E.B.(1975). Aerobic Bacteria. In "Ecological aspects of used-water treatment", Curds C.R., Hawkes H.A., *Academic Press*, London.

13. ANDERSON G.K., YANG G. (1992). Determination of bicarbonate and total volatile acid concentration in anaerobic digesters using a simple titration. *Wat. Environ. Res.*, **64**: 53-59.

14. VISMARA R. , BUTELLI P. , COMOLLI P. (1991). La regolazione dei processi biologici per impianti a fanghi attivi. *Quad. Ing. Amb.*, N° 13, Milano.

15. YOUNG J.C. (1981). Specific oxygen demand as an operating parameter for activated sludge process. *Wat. Sci. Technol.*, **13**: 397-403.