

*E. Ficara, C. Sambusiti,  
R. Canziani -  
Diar - Politecnico di Milano.*

L'adozione di limiti normativi sempre più restrittivi sulla qualità dell'effluente dagli impianti di depurazione civili e, conseguentemente, la necessità di avere un processo di trattamento delle acque reflue efficiente e di elevata qualità a costi contenuti, richiede l'impiego di sistemi di verifica e controllo delle diverse unità di trattamento sempre più accurati. Pertanto, una migliore comprensione dei meccanismi del processo e, soprattutto, la disponibilità di strumenti in linea affidabili che forniscano una misura in continuo delle variabili chiave del meccanismo di depurazione consentono di ottenere considerevoli benefici in termini di risparmio energetico, minor uso dei reagenti chimici e un miglioramento della qualità dell'effluente. In particolare, negli impianti di depurazione che recapitano in aree sensibili l'ottimizzazione del processo di denitrificazione è necessaria per garantire il rispetto delle concentrazioni di azoto totale effluente, ai sensi della Direttiva Nitrati (91/676/Cee).

Tuttavia, la stechiometria e la cinetica del processo di denitrificazione non sono facilmente misurabili, in quanto dipendono in larga misura dalla composizione del substrato organico. Pertanto si è ritenuto necessa-

rio sviluppare metodiche semplici, rapide e affidabili per misurare le grandezze cinetiche e stechiometriche, che si sostituiscano al classico test di valutazione del NUR (Nitrogen Uptake Rate). Quest'ultimo con-



# DENITRIFICAZIONE MEDIANTE MISURE MANOMETRICHE

Lo studio ha previsto l'utilizzo del metodo manometrico, allo scopo di determinare i principali parametri stechiometrici e cinetici del processo di denitrificazione. L'esperimento consiste in una bottiglia chiusa dotata di un sistema automatico manometrico che registra la sovrappressione causata dall'azoto gassoso generato dal processo, in presenza di un sistema di assorbimento della  $CO_2$ .

*A simple, automated manometric method is here discussed and applied to perform batch experiments for the stoichiometric and kinetic characterization of biological denitrification. The experimental set up consists of a glass bottle, a mixing and thermostated system and a manometric bottle-head which can measure and log the overpressure that is caused by denitrified  $N_2$  in the presence of a  $CO_2$  adsorbent.*

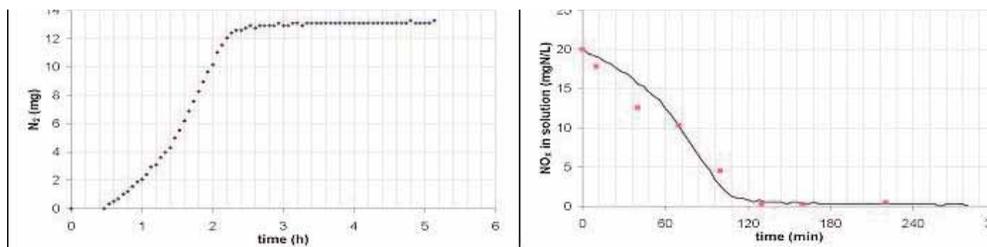


Figura 1a - Andamento di  $N_2$  a seguito di un test manometrico.

Figura 1b - Confronto degli andamenti della concentrazione di azoto nitrico o nitroso, misurati tramite il sistema di controllo Oxitop-C e valutati mediante determinazione fotometrica.

sente di stimare numerosi parametri d'interesse pratico, come il tasso di utilizzo dei nitrati, il fattore di correzione per la crescita anossica e il coefficiente di resa cellulare dei batteri eterotrofi denitrificanti, richiedendo tuttavia un notevole sforzo analitico ed economico legato alle analisi da effettuare. Questo studio ha invece previsto l'utilizzo del metodo manometrico, tipicamente impiegato per la determinazione del BOD dei reflui, allo scopo di determinare i principali parametri stechiometrici e cinetici del processo di denitrificazione.

L'applicabilità dei metodi manometrici alla valutazione del tasso di denitrificazione è stata precedentemente suggerita in letteratura, sebbene finora ne sono state riportate poche esperienze [1]. L'idea di base della sperimentazione è il monitoraggio del processo di denitrificazione, attraverso esperimenti eseguiti in un reattore batch. Esso consiste in una bottiglia chiusa dotata di un sistema automatico manometrico (Oxitop-C) che registra la sovrappressione causata dall'azoto gassoso ( $N_2$ ) generato dal processo e rilasciato in fase gassosa, in presenza di un efficiente sistema di assorbimento della  $CO_2$  (pastiglie di NaOH).

## Materiali e metodi

### Principi del metodo

I metodi manometrici consistono nella valutazione della variazione di pressione, dovuta allo sviluppo di prodotti gassosi a seguito dei processi biologici che avvengono all'interno di un reattore batch a tenuta e a volume costante. La relazione tra la sovrappressione generata dal processo,  $P(t)$ , e il tasso di denitrificazione (rd mgN/L h), può essere ottenuta assumendo che l'azoto gassoso  $N_2$  non rimane in soluzione in quanto è

un gas poco solubile (la costante di Henry per l'azoto in  $H_2O$  a  $0^\circ C$  è pari a  $6,786 \cdot 10^{-4}$  mol/L atm) e che il trasferimento dell'azoto gassoso dalla matrice (fango attivo) allo spazio di testa non è cineticamente limitante, essendo favorito da una continua miscelazione del fango, che permette un efficiente trasferimento di fase dell'azoto gassoso. In base alla legge dei gas perfetti:

$$P(t) = n_{N_2}(t) \cdot \frac{R \cdot T}{V_{HS}}$$

$V_{HS}$  = volume dello spazio di testa della bottiglia [L];

$n_{N_2}$  = moli di azoto gassoso rilasciate nello spazio di testa [moli];

L'andamento dell' $N_2$  prodotto durante il corso della prova rappresenta pertanto il risultato principale, dal quale si ricavano importanti informazioni riguardo la cinetica e la stechiometria del processo di denitrificazione.

### Metodi analitici

I solidi sospesi volatili e totali sono stati determinati in accordo con i metodi standard [2]. Le concentrazioni di nitriti e

nitriti sono state determinate in accordo con il metodo spettrofotometrico (Apat, Irsa-Cnr, 2003).

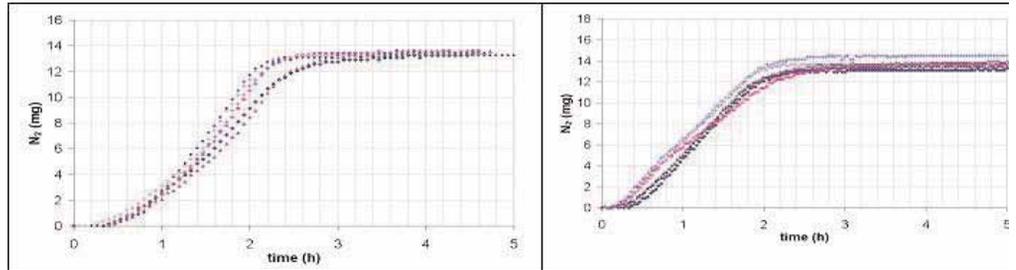
### Procedura di conduzione delle prove di denitrificazione

I campioni di fango sono stati prelevati a valle della vasca di aerazione dell'impianto di depurazione di Nosedo ( $3,7 \cdot 10^5$  m<sup>3</sup>/d, il refluo in ingresso all'impianto è di origine civile) e nel circuito di ricircolo dell'impianto di Bulgarograsso ( $2,7 \cdot 10^5$  m<sup>3</sup>/d, circa l'80% del refluo è di origine industriale). Una volta raccolti, i campioni di fango venivano trasportati in laboratorio e conservati in frigorifero a  $4^\circ C$  per non più di una settimana (in genere 24 h), in attesa delle prove sperimentali.

Le prove di denitrificazione sono state eseguite impiegando il sistema di controllo Oxitop (OxiTop Control WTW), un dispositivo manometrico, caratterizzato da una testa di misura che consente di registrare i dati di pressione durante l'esecuzione della prova. La testa di misura viene avvitata alla filettatura



*Figura 2 - Ripetizioni di alcune prove condotte in presenza di due tipi di substrato.*



del tappo principale della bottiglia che è provvista di due aperture laterali, dotate anch'esse di un tappo ermetico con setto poroso. Quest'ultimo è costituito da una membrana perforabile, che risulta utile per l'iniezione di reagenti (substrato organico, nitriti e nitrati) e durante le operazioni di sfiato. L'apertura centrale (principale) è identica per tutti i tipi di bottiglia. Il tappo ermetico principale è standard per ogni contenitore e comprende un "porta soda" per l'alloggiamento delle pastiglie di soda (NaOH), per l'assorbimento della CO<sub>2</sub>, così che la misura della sovrappressione è dovuta al solo sviluppo di N<sub>2</sub> gassoso.

Ogni bottiglia è stata preparata in accordo con la seguente procedura. (1) Un campione viene prelevato dal frigorifero, aerato per 12 h, diluito fino alla concentrazione desiderata con una soluzione fisiologica di lavaggio [Soluzione di Winogradsky senza micronutrienti [3]]; successivamente al campione viene dosata allitiourea (10 mg/L) con lo scopo di inibire i batteri ammonio ossidanti. (2) Un volume noto di fango viene

trasferito nella bottiglia di prova, dove viene insufflato N<sub>2</sub> gassoso per qualche minuto, in modo da garantire l'assenza di ossigeno disciolto sia nella sospensione di fango sia nello spazio di testa; le aperture della bottiglia vengono chiuse ermeticamente, applicando un film di teflon sulle filettature; la bottiglia viene posizionata nel termostato sull'agitatore magnetico e viene attivata la miscelazione. (3) Dopo circa 30 min viene avviata la prova. (4) Viene dosato il substrato [nitrito e/o substrato organico] iniettando un volume noto di una soluzione concentrata attraverso il setto perforabile, per ottenerne la concentrazione desiderata nel campione di fango. Al termine della prova, si elaborano i dati di pressione, al fine di valutare la quantità di N<sub>2</sub> rilasciato in fase gas durante il corso dell'esperimento. Ad inizio e fine prova si misura il pH con la cartina tornasole, per verificare che esso rimanga nell'intervallo 6,5-9 [valore ottimale indicato in letteratura per un corretto svolgimento del processo [4]].

**Risultati**

**Test a basso rapporto F/M**

Durante questa fase della sperimentazione, l'attenzione si è focalizzata sul calcolo della velocità specifica di denitrificazione ( $v_d$  mgN/gSSV h, dove SSV sta per solidi sospesi volatili) e sulla valutazione della ripetibilità e accuratezza del metodo. Ogni bottiglia è stata preparata in accordo con la procedura descritta precedentemente. Le prove sono state condotte mantenendo una concentrazione di fango di 2÷5 gSSV/L, un volume di fango nella bottiglia pari a 1 L, una concentrazione iniziale di azoto (sia nitrico sia nitroso) di 15÷30 mgN/L e una concentrazione iniziale di carbonio organico tale da mantenere un rapporto in g di COD/N pari a 10÷15.

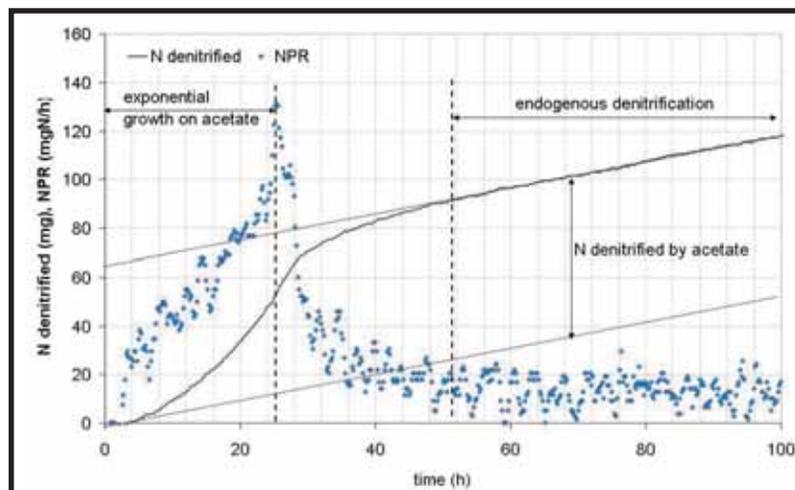
In Figura 1a viene rappresentato l'andamento di N<sub>2</sub> a seguito di un test manometrico. L'andamento dell'azoto gassoso è stato impiegato per stimare il profilo di concentrazione dell'azoto rimasto in soluzione.

Sempre ai fini della validazione del metodo, è stata effettuata una determinazione fotometrica dell'azoto nitrico e nitroso

all'interno del campione di fango sottoposto a sperimentazione.

In Figura 1b sono stati confrontati gli andamenti della concentrazione di azoto nitrico o nitroso, misurati tramite il sistema di controllo Oxitop-C e valutati mediante determinazione fotometrica. Come si può osservare dalla Figura 1b, esiste una somiglianza tra i due andamenti, a

*Figura 3 - La biomassa cresce in modo significativo e il tasso di produzione di N<sub>2</sub> mostra una fase di crescita esponenziale.*



Donatore di elettroni	Accettore di elettroni	Fango di Nosedo				Fango di Bulgarograsso			
		media	dev.st.	CV [%]	# ripetizioni	media	dev.st.	CV [%]	# ripetizioni
Acetato	N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	5,00	0,46	9	6	2,18	0,72	33	29
	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	2,61	0,77	29	9	1,76	0,48	28	47
Carbonio organico endogeno	N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	1,58	0,28	17	7	n.a.	n.a.	n.a.	5
	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1,70	0,13	8	9	0,66	0,21	31	6

n.a.: dato non disponibile

dimostrare il sufficiente grado di accuratezza del metodo impiegato per la stima dell'azoto denitrificato.

La Figura 2 mostra le ripetizioni di alcune prove condotte in presenza di due tipi di substrato. A causa del basso rapporto F/M (pari a 0,1), il tempo richiesto per il completamento del processo di denitrificazione è risultato pari a 2-4 h. Inoltre ad inizio prova è stata osservata una fase di assestamento ("lag"). Quest'ultima potrebbe essere attribuita a:

- la presenza di ossigeno residuo nell'atmosfera della bottiglia dovuta ad un'imperfetta deossigenazione per insufflazione di N<sub>2</sub>; l'ossigeno potenzialmente presente verrebbe utilizzato come accettore di elettroni preferenziale rispetto a NO<sub>3</sub> o NO<sub>2</sub>, causando ad inizio prova, una riduzione della pressione letta; questo aspetto necessiterebbe comunque di un ulteriore approfondimento;

- il tempo richiesto alla biomassa di convertire il proprio metabolismo da aerobico a anossico, dopo un lungo periodo di aerazione ("diauxic growth" [5]);

- il tempo di trasferimento dell'azoto gassoso prodotto dalla fase liquida alla fase gassosa. La fase di assestamento iniziale non è stata considerata nella stima della velocità specifica di denitrificazione.

Il quantitativo di azoto prodotto ottenuto sperimentalmente è stato confrontato con quello teorico, valutato a partire dal quantitativo di azoto misurato nella soluzione presente nella bottiglia all'inizio della prova. Nella maggior parte dei casi, il valore cumulato di azoto gassoso (N<sub>2</sub>) prodotto è risultato inferiore a quello teorico, aggiunto all'inizio della prova (mediamente l'errore è risultato intorno al -22%). Questo è probabilmente dovuto alla presenza residuale di ossigeno nello spazio di testa; l'ossigeno potenzialmente presente verrebbe utilizzato come accettore di elettroni preferenziale rispetto a NO<sub>3</sub>/NO<sub>2</sub>, causando ad inizio prova una riduzione della pressione letta, corrispondente alla fase di "lag" precedentemente descritta. La riduzione della pressione letta potrebbe mascherare la concomitante produzione di N<sub>2</sub>, cau-

sando una sottostima della sovrappressione totale dovuta alla produzione di N<sub>2</sub>. Pertanto una presenza residuale di ossigeno nello spazio di testa può causare un errore di sottostima anche rilevante. Infatti, se si considerano le seguenti condizioni sperimentali (volume dello spazio di testa = 160 mL, volume di fango = 1 L; concentrazione iniziale di nitrati = 20 mgN/L; temperatura della prova = 20°C): l'errore medio osservato di -22% potrebbe essere causato da una residuale pressione parziale di ossigeno nello spazio di testa pari a 2-3%, che risulta compatibile con l'ipotesi di un'imperfetta deossigenazione per insufflazione di N<sub>2</sub>. Pertanto sarebbe necessario agire con maggiore attenzione durante la fase di insufflazione.

Dalla Figura 2 si nota come tutte le prove seguano lo stesso andamento, indice di un alto grado di ripetibilità dei risultati e di conseguenza del metodo di misura. In Tabella 1 sono riportate le stime della velocità specifica di denitrificazione. I dati sono stati raggruppati e analiz-

Donatore di elettroni	Accettore di elettroni	Fango di Nosedo			Fango di Bulgarograsso		
		media	dev. st	CV [%]	media	dev. st	CV [%]
Acetato	N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	5,00	0,46	0,09	2,18	0,72	0,33
	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	2,61	0,77	0,29	1,76	0,48	0,28
Substrato	N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	1,58	0,28	0,17	n.a.	n.a.	n.a.
Endogeno	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1,70	0,13	0,08	0,66	0,21	0,31
Etanolo	N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	n.a.	n.a.	n.a.	1,74	0,31	0,18
	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	n.a.	n.a.	n.a.	1,45	0,39	0,27
COD idrolizzato	N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	n.a.	n.a.	n.a.	2,29	1,12	0,49
	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	n.a.	n.a.	n.a.	1,56	0,13	0,08

n.a.: dato non disponibile

Parametri	Fango di Nosedo				Fango di Bulgarograsso			
	media	dev.st.	CV (%)	# ripetizioni	media	dev.st.	CV (%)	# ripetizioni
$\mu_{HD} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	2,26	0,03	2	8	2,74	0,21	8	8
$Y_{HD} \text{ (gCOD/gCOD)}$	0,56	0,03	6	4	0,66	0,02	3	4
$X_{BH}/X_T \text{ (gCOD/gCOD in SSV)}$	0,15	0,01	6	8	0,16	0,06	36	8
$b_{HD} \text{ (d}^{-1}\text{)}$	0,76	0,06	9	6	0,67	0,02	3	2

zati in funzione dell'origine del campione di fango, oltre che della fonte di azoto e di substrato organico. La riproducibilità delle stime della velocità specifica di denitrificazione risulta soddisfacente, come è dimostrato dai valori assunti dal coefficiente di variazione, compresi tra 8-33%.

Le velocità specifiche di denitrificazione in presenza di acetato sono risultate significativamente superiori per i campioni di fango prelevati dall'impianto di depurazione di Nosedo. Inoltre si può osservare che, a parità di carbonio organico esterno, le velocità specifiche di denitrificazione in presenza di azoto nitroso sono leggermente superiori a quelle ottenute in presenza di azoto nitrico, ciò attesta che non vi è accumulo di nitriti nelle vasche anossiche di entrambi gli impianti di trattamento (Tabella 1).

In Tabella 2 si riportano le stime delle velocità specifiche di denitrificazione [mgN/gSSV h], raggruppate in funzione del tipo di fango analizzato, oltre che della fonte di azoto e di substrato organico.

**Test ad alto rapporto F/M**

Questa fase sperimentale è simile a quella utilizzata durante le prove respirometriche per stimare il massimo tasso di crescita [6]. Le prove sono state condotte impiegando un volume di fango inferiore, un maggiore volume di spazio di testa e una maggiore concentrazione di nitrati, rispetto a quella impiegata durante l'esecuzione delle prove precedenti. Inoltre il rapporto COD/N è inferiore così che l'intero appor-

to di COD solubile è stato impiegato durante il corso della prova e, esaurito questo, il tasso di denitrificazione si assesta su valori endogeni. Durante queste prove, la biomassa cresce in modo significativo e il tasso di produzione di N<sub>2</sub> mostra una fase di crescita esponenziale (Figura 3).

Con riferimento alla tipica notazione Asm1 [7], è possibile scrivere la seguente equazione che descrive il tasso di produzione di N<sub>2</sub> (NPR – Nitrogen Production Rates):

$$NPR(mgN/h) = \frac{1 - Y_{HD}}{2,86 \cdot Y_{HD}} \cdot \mu_{HD} \cdot X_{BH,t=0} \cdot e^{(\mu_{HD} - b_{HD})t}$$

L'andamento mostrato in Figura 3 è paragonabile a quello dell'Our (Oxygen Uptake Rate) in caso di degradazione aerobica dell'acetato. La fase iniziale di crescita esponenziale è seguita da un lento decadimento fino a raggiungere la fase di crescita endogena, durante la quale il substrato organico interno viene utilizzato per un'ulteriore fase di crescita; ciò concorda con quanto riportato in letteratura riguardo la capacità di stoccaggio dei batteri denitrificanti [8, 9].

Rielaborando i dati di queste prove, è possibile ricavare le seguenti informazioni.

Il tasso di crescita netto ( $\mu_{HD} - b_{HD}$ ): calcolato rappresentando l'andamento del tasso di produzione dell'N<sub>2</sub> durante la fase esponenziale, in un grafico semilogaritmico (ln(NPR/NPR<sub>0</sub>) vs. tempo); la pendenza della retta interpolante, consente di stimare il tasso

di crescita netto.

Il coefficiente di resa cellulare: viene stimato valutando la quantità di azoto denitrificato (N<sub>denitrificato</sub>), nota la quantità di COD aggiunto ad inizio prova sottoforma di acetato (COD<sub>0</sub>).

$$Y_{HD} = 1 - \frac{N_{denitrificato} \cdot 2,86}{COD_0}$$

La frazione di biomassa attiva nel fango: calcolata in base all'equazione 2 e considerando il NPR misurato all'inizio del test (NPR<sub>0</sub>):

$$X_{BH,t=0} = NPR_0 \cdot \frac{2,86 \cdot Y_{HD}}{\mu_{HD} \cdot (1 - Y_{HD})}$$

I risultati sono riportati in Tabella 3.

**Le prove di decadimento**

Durante l'esecuzione di queste prove è stata mantenuta una concentrazione di biomassa nel fango superiore, non è stata dosata nessuna fonte di carbonio esterno e l'acquisizione dei dati di pressione è durata circa 3-5 giorni. Il lento decadimento del NPR è stato in seguito rappresentato in un grafico semilogaritmico, ottenendo il tasso di decadimento apparente ( $b'_{HD}$ ). Questo valore è stato successivamente corretto per ottenere il tasso di decadimento netto ( $b_{HD}$ ), in base alla seguente espressione:

$$b_{HD} = \frac{b'_{HD}}{1 - Y_H(1 - f_p)}$$

dove  $f_p$  rappresenta la frazione della biomassa convertita in materiale particolato inerte.

I risultati sono riportati in Tabella 3.

Le stime del massimo tasso di crescita, concordano con l'in-

tervallo di valori riportato in letteratura (e.g.: 4 d<sup>-1</sup> a 20°C, [10]) e i valori di Y<sub>H</sub> cadono all'interno dell'intervallo di valori riportato frequentemente in letteratura di COD/COD in grammi 0,5-0,7 [11, 12, 13]. Le stime del tasso di decadimento si avvicinano al valore riportato dall'ASM1 di 0,62 d<sup>-1</sup>.

I risultati sono simili per entrambi gli impianti. I campioni di fango provenienti dall'impianto di depurazione di Bulgarograsso, mostrano un tasso di crescita leggermente superiore e un tasso di decadimento leggermente inferiore a quello dell'impianto di depurazione di Nosedo, mentre la frazione di biomassa attiva risulta mediamente bassa in entrambi i casi; questo fatto è in accordo con gli alti valori di età del fango (che variano tra 29 e 44 d nel caso dell'impianto di Nosedo e intorno a 25 d nel caso dell'impianto di Bulgarograsso). I dati riportati in Tabella 3 possono essere impiegati anche per calcolare la velocità specifica di denitrificazione (SDR):

$$SDR \left( \frac{mgN}{gSSV \cdot h} \right) = \frac{\mu_{HD} \cdot (1 - Y_{HD})}{2,86 \cdot Y_{HD}} \cdot \frac{1.000}{24} \cdot \left( \frac{X_{BH}}{X_T} \cdot 1,42 \right)$$

dove 1,42 = rapporto di conversione tra COD e SSV in g COD/SSV [7].

La deviazione standard riportata in Tabella 3 per ogni parametro (massimo tasso di crescita, coefficiente di resa cellulare, coefficiente di decadimento cellulare e frazione di biomassa attiva) è stata propagata in accordo con la teoria di propagazione degli errori [14], assumendo che tutte le stime siano statisticamente indipendenti. Sono stati ottenuti i seguenti risultati: SDR<sub>Nosedo</sub> = 5,5 ± 0,9 mgN/gSSV h; SDR<sub>Bulgarograsso</sub> = 4,8 ± 1,8 mgN/gSSV h. Entrambi i valori sono superiori a quelli stimati

con acetato e nitrato durante le prove a basso F/M (pari a 0,1) e riportati in Tabella 1. Si può dunque concludere che la stima della velocità specifica di denitrificazione è fortemente influenzata dalla concentrazione di biomassa attiva presente nel fango e, conseguentemente, dal rapporto F/M. In particolare, al diminuire della concentrazione di biomassa attiva, la stima della velocità specifica di denitrificazione tende ad aumentare. Questo fenomeno è stato osservato da alcuni studiosi ed è documentato in letteratura [1, 15].

### Conclusioni

Il metodo proposto appare decisamente promettente come alternativa semplice, affidabile ed economica per il monitoraggio del processo di denitrificazione eterotrofa, in quanto permette in breve tempo di determinare i parametri cinetici e stechiometrici che lo caratterizzano.

Le prove di denitrificazione eseguite mantenendo un basso rapporto F/M (pari a 0,1), permettono di stimare la velocità specifica di denitrificazione in poche ore; è stata riscontrata una soddisfacente ripetibilità del metodo (i valori di deviazione standard risultano compresi tra 8-33%). Migliori risultati potrebbero essere ottenuti assicurando l'assenza di ossigeno residuale nello spazio di testa.

Le prove eseguite mantenendo un alto rapporto F/M (pari a 0,8) sono meno affette dalle interferenze causate dalla fase di assetamento iniziale. L'elaborazione dei dati di queste prove, consente di stimare il massimo tasso di crescita, il coefficiente di decadimento, il coefficiente di resa cellulare e la frazione di biomassa attiva in condizioni anossiche. Le stime ottenute concordano con i tipici intervalli di letteratura.

### BIBLIOGRAFIA

- [1] M. Sanchez *et al.*, *Bioresource Technology*, 2000, **75(1-6)**, 1-6.
- [2] Apat, Irsa-Cnr; "Metodi analitici per le acque", in Italian. 2003, Vol. 2.
- [3] J. Pochon, P. Tardieux, "Techniques d'analyse en Microbiologie du sol". Ed. de La Tourelle, St.Mandé, France, 1962.
- [4] A. Beaubien *et al.*, *Water Research*, 1995, **29(10)**, 2269.
- [5] R. Hamilton *et al.*, "Structured Model for Denitrifier Diauxic Growth". Wiley Periodicals, 2005.
- [6] J. Kappeler, W. Gujer, *Water Science and Technology*, 1992, **25(6)**, 125.
- [7] M. Henze *et al.*, "Activated sludge Model No. 1". lawprc Scientific and Technical Report n° 1, lawq, London, 1987.
- [8] J. J. Beun *et al.*, *Biotechnology and Bioengineering*, 2000, **68**, 496.
- [9] D. Dionisi *et al.*, *Water Research*, 2001, **35**, 2661.
- [10] Y. Mokhayeri *et al.*, *Water Science Technology*, 2006, **54(8)**, 155.
- [11] K. Kujawa A. Klapwijk, "A method to estimate denitrification potential for pre-denitrification systems using Nur batch test", 1999.
- [12] A. Muller *et al.*, *Water Research*, 2003, **37**, 2435.
- [13] A. De Lucas *et al.*, *Water Research*, 2005, **39**, 3715.
- [14] A. M. Mood *et al.*, "Introduction to the theory of Statistics", 3rd Ed., McGraw Hill, 1974, Chapter 5.
- [15] M. Roš, *Water Science Technology*, 1996, **32(9/10)**, 323.
- [16] Apha, Awwa, Wef, "Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th edition". American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, Washington, DC, 1998.
- [17] L. H. Larsen *et al.*, *Water Research*, 2000, **34**, 2463.
- [18] S. Pratt *et al.*, *Biotechnology and Bioengineering*, 2003, **81**, 482.