

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA

INGEGNERIA IDRAULICA: SCIENZE E TECNOLOGIE DELL'ACQUA

Ciclo XXII

Settore/i scientifico disciplinari di afferenza: ICAR 03

TITOLO TESI

OTTIMIZZAZIONE DEI PROCESSI DEPURATIVI DI REFLUI AD ELEVATO CARICO ORGANICO A FINI DI RECUPERO ENERGETICO.

Presentata da: DOTT. ING. ABA ALDROVANDI

Coordinatore Dottorato

Alberto Camferli

Relatore

Camferli

Esame finale anno 2009

## SOMMARIO

### Introduzione

<b>1.1 TRATTAMENTO BIOLOGICO DEI REFLUI</b> .....	<b>1</b>
1.1.1 I processi biologici aerobici .....	2
Processi per la rimozione della sostanza organica - Crescita, idrolisi e decadimento .....	2
Rimozione dell'azoto .....	6
Rimozione del fosforo .....	9
1.1.2 I processi biologici anaerobici .....	10
Metabolismo anaerobico .....	11
<b>1.2 SISTEMI DI TRATTAMENTO BIOLOGICO</b> .....	<b>18</b>
1.2.1 Sistemi aerobici a colture sospese .....	19
Impianti a fanghi attivi convenzionali .....	19
Impianti ad aerazione prolungata .....	22
Impianti con stabilizzazione e contatto .....	23
Impianti ad ossigeno puro .....	24
Sistemi Sequencing Batch Reactor (SBR) o a cicli alternati .....	24
1.2.2 Sistemi aerobici a colture adese .....	26
Impianti a letti percolatori .....	26
Sistemi a rotori biologici (biodischi) .....	29
Letti biologici sommersi .....	30
1.2.3 Sistemi aerobici combinati a colture adese e sospese .....	32
Biofiltri Attivati .....	32
Biofiltri seguiti da un processo a fanghi attivi .....	32
Letti percolatori seguiti da una vasca di contatto .....	33
1.2.4 Sistemi anaerobici .....	34
Trattamenti a colture sospese .....	35
Trattamenti a colture adese .....	42
<b>2 EFFICIENZA ENERGETICA DEGLI IMPIANTI DI TRATTAMENTO</b> ..	<b>44</b>
2.1 Considerazioni generali sull'utilizzo dell'energia elettrica negli impianti di trattamento delle acque reflue .....	45
2.2 Strategie per migliorare l'efficienza energetica .....	50
2.3 Recupero energetico (biogas e corrente elettrica): Indagine sperimentale sui consumi energetici di impianti in piena scala .....	52
2.3.1 Caso studio: Impianto di trattamento di liquami domestici che utilizza la tecnologia a membrana (MBR, membrane biological reactor) – HERA Bologna S.r.l., Calderara di Reno (BO) .....	54

2.3.2	Caso studio: Impianto di trattamento di liquami industriali che utilizza la tecnologia SBR (sequencing batch reactor) e recupero energetico mediante digestione anaerobica – I.C.V. S.p.A. provincia di Padova.....	56
2.3.3	Caso studio: Impianto di trattamento di liquami suinicoli che utilizza la tecnologia SBR (sequencing batch reactor) - S. Anna, provincia di Modena.....	59
2.3.4	Efficienza energetica di impianti a fanghi attivi convenzionali di piccola scala (Hu H.Y. et al., 2000).....	62
<b>3</b>	<b>PRODUZIONE BIOLOGICA DI ELETTRICITÀ MEDIANTE UNA MICROBIAL FUEL CELL .....</b>	<b>67</b>
	<b>Generalità .....</b>	<b>67</b>
<b>3.1</b>	<b>Principi di funzionamento.....</b>	<b>69</b>
3.1.1	Substrato.....	70
3.1.2	Comparto anodico.....	72
3.1.3	Membrana di scambio ionico.....	73
3.1.4	Metabolismo in una Microbial Fuel Cell.....	73
3.1.5	Metodi di trasferimento degli elettroni.....	74
3.1.6	Comunità microbica.....	80
3.1.7	Comparto catodico.....	83
<b>3.2</b>	<b>Fattori limitanti .....</b>	<b>88</b>
<b>4</b>	<b>STATO DELL'ARTE.....</b>	<b>90</b>
<b>4.1</b>	<b>Generalità .....</b>	<b>90</b>
<b>4.3</b>	<b>Principali elementi costituenti.....</b>	<b>91</b>
<b>4.3</b>	<b>Microbial Fuel Cells a due comparti.....</b>	<b>94</b>
<b>4.4</b>	<b>Microbial Fuel Cells a singolo comparto .....</b>	<b>122</b>
<b>4.5</b>	<b>Utilizzo di Microbial Fuel Cell come biosensori.....</b>	<b>133</b>
<b>4.6</b>	<b>Altri tipi di Microbial Fuel Cell, utilizzi specifici.....</b>	<b>137</b>
<b>4.7</b>	<b>Microbial Fuel Cells in serie e in parallelo.....</b>	<b>145</b>
<b>5</b>	<b>DESCRIZIONE DELL'IMPIANTO E DELLE ATTIVITÀ SPERIMENTALI.....</b>	<b>149</b>
	<b>Introduzione.....</b>	<b>149</b>
<b>5.1</b>	<b>Descrizione dell'impianto sperimentale.....</b>	<b>152</b>
5.1.1	Configurazione adottata all'avviamento e durante le Fasi di lavoro I-II-III-IV. ....	152
5.1.2	Configurazione adottata durante la Fase V.....	160
5.1.3	Configurazione adottata durante la Fase VI.....	164
5.1.4	Configurazione adottata durante la Fase VII.....	166
5.1.5	Confronto con le configurazioni "convenzionali".....	169
<b>5.2</b>	<b>Determinazioni analitiche.....</b>	<b>174</b>
<b>5.3</b>	<b>Analisi microbiologiche.....</b>	<b>179</b>
5.3.1.	Prelievo dei campioni.....	179
5.3.2.	Preparazione e osservazione dei campioni.....	181

5.3.3.	Tassonomia.....	184
5.3.4.	Analisi d'immagine.....	185
5.3.5.	Analisi microbiologica e Filogenetica realizzata con tecnica DGGE.....	187
<b>5.4</b>	<b>Elaborazione dei dati.....</b>	<b>189</b>
5.4.1.	Valutazione della potenza sostenibile.....	189
5.4.2.	Valutazione della conversione di substrato organico in intensità di corrente.....	193

## **6 REFLUO SINTETICO ED ELETTRODI IN GRAFITE VETROSA - ANALISI E COMMENTO DEI DATI SPERIMENTALI - FASI I-II-III-IV...194**

<b>Introduzione.....</b>	<b>194</b>
<b>Generalità: Prestazioni depurative.....</b>	<b>196</b>
<b>6.1 Risultati delle misure volte a stabilire le prestazioni depurative.....</b>	<b>198</b>
6.1.1 Acclimatazione e fasi di incremento di carico (Fase I Step 1-2-3-4).....	199
6.1.2 Alimentazione in assenza di carico organico (Fase II, step 5).....	207
6.1.3 Rialimentazione del carico organico (Fase III, step 6).....	207
6.1.4 Colonizzazione di un catodo pulito (Fase III, step 7).....	213
6.1.5 Rimozione dell'azoto ammoniacale.....	217
<b>Generalità: Prestazioni elettriche.....</b>	<b>219</b>
<b>6.2 Risultati delle misure volte a stabilire le prestazioni elettriche.....</b>	<b>222</b>
6.2.1 Acclimatazione e fasi di incremento di carico (Fase I, step 1-2-3-4).....	222
6.2.2 Alimentazione in assenza di carico organico (Fase II, step 5).....	227
6.2.3 Rialimentazione dell'impianto (Fase III, step 6).....	230
6.2.4 Colonizzazione di un catodo pulito (Fase III, step 7).....	235
6.2.5 Fattori limitanti la produzione di potenza - Analisi di sostenibilità (Fase IV).....	239
6.2.6 Stima della resistenza interna alla Microbial Fuel Cell.....	244
6.2.7 Bilancio energetico.....	244
<b>6.3 Caratterizzazione della biomassa presente nella MFC.....</b>	<b>247</b>
6.3.1 Immagini del comparto anodico.....	248
6.3.2 Immagini del comparto catodico.....	251
6.3.3 Analisi filogenetica mediante DGGE e ruolo della biomassa catodica presente nella MFC	253

## **7 REFLUO SINTETICO ED ELETTRODI IN GRAFITE GRANULARE - ANALISI E COMMENTO DEI DATI SPERIMENTALI - FASE V.....259**

<b>Introduzione.....</b>	<b>259</b>
<b>Generalità: Prestazioni depurative.....</b>	<b>261</b>
<b>7.1 Risultati delle misure volte a stabilire le prestazioni depurative.....</b>	<b>264</b>
7.1.1 Step 12 e 13: avviamento e pieno regime della grafite granulare.....	264
7.1.2 Step 14 e 15: spegnimento della sonda scaldante, prestazioni depurative.....	270
<b>7.2 Risultati delle misure volte a stabilire le prestazioni elettriche.....</b>	<b>276</b>
7.2.1 Step 12 e 13: avviamento e pieno regime della grafite granulare.....	276

## **8 REFLUO REALE E GRAFITE GRANULARE - ANALISI E COMMENTO DEI DATI SPERIMENTALI – FASE VI.....292**

**Generalità .....292**

**8.1 Prestazioni depurative dell'impianto .....295**

8.1.1 Rimozione della sostanza organica (COD) .....295

8.1.2 Produzione di metano .....299

8.1.3 Rimozione del contenuto di azoto.....302

8.1.4 Altri parametri monitorati.....307

**8.2 Prestazioni elettriche dell'impianto .....310**

8.2.1 Andamento di tensione, corrente e potenza prodotte dalla MFC.....310

8.2.2 Ulteriori parametri elettrici determinati.....313

## **9 UTILIZZO DELLA MFC PER IL MONITORAGGIO ON-LINE DEL PROCESSO DI DIGESTIONE ANAEROBICA.....318**

**Introduzione.....318**

**9.1 Condizioni operative di funzionamento della MFC.....319**

**9.2 Elaborazione dei risultati.....320**

**9.3 Costruzione e analisi delle curve di correlazione .....322**

**9.4 Evidenze sperimentali.....324**

## **10 REFLUO REALE ED ELETTRODI IN PARALLELO - ANALISI E COMMENTO DEI DATI SPERIMENTALI – FASE VII.....326**

**Generalità .....326**

**10.1 Prestazioni depurative dell'impianto.....330**

10.1.1 Rimozione della sostanza organica (COD) .....330

10.1.2 Produzione di metano .....333

10.1.3 Rimozione del contenuto di azoto.....335

10.1.4 Altri parametri monitorati.....338

**10.2 Prestazioni elettriche dell'impianto.....338**

10.2.1 Andamento di tensione, corrente e potenza prodotte dalla MFC.....339

10.2.2 Ulteriori parametri elettrici determinati.....348

**Conclusioni**

**Bibliografia**

# Introduzione

L'attuale condizione che caratterizza il settore energetico richiede un necessario processo di riconversione che, oltre a favorire il risparmio energetico, riduca la dipendenza dai combustibili fossili ed accresca l'impiego di fonti energetiche rinnovabili, dando un contributo fondamentale alla riduzione delle emissioni di gas serra come diversi accordi internazionali richiedono. Ne rappresentano un esempio la Direttiva europea CE/2003/87 ed il protocollo di Kyoto, nonché il recente accordo stipulato il 19/10/2006 (IP/06/1434) nel quale i 27 Paesi membri dell'UE si impegnano a conseguire contestualmente tre obiettivi entro il 2020:

- ✚ riduzione del 20% delle emissioni di gas serra;
- ✚ raggiungimento della quota del 20% di energia da fonti rinnovabili rispetto al totale consumato;
- ✚ miglioramento del 20% dell'efficienza energetica.

Si rende pertanto necessario accelerare i processi che da alcuni anni stanno favorendo l'utilizzo di energia da fonti rinnovabili. Tra queste, le fonti legate ai processi di trattamento biologico dei reflui stanno avendo un interessante sviluppo.

Esistono numerosi processi biologici che consentono la produzione di energia in maniera indiretta, quali ad esempio i processi di digestione anaerobica finalizzati alla produzione di biogas e/o produzione biologica di idrogeno. In tale contesto si inserisce la tecnologia delle Microbial Fuel Cell, che consente la produzione diretta di energia elettrica, finalizzata al recupero energetico inteso al miglioramento dell'efficienza energetica e alla riduzione dei costi d'esercizio di impianti di trattamento biologico dei reflui.

La tecnologia delle MFC, seppure sia ancora in una fase di ricerca, sembra avere interessanti prospettive per garantire una produzione di energia sostenibile dal punto di vista ambientale. Le Microbial Fuel Cell sono, infatti, dei dispositivi in grado di convertire energia chimica in energia elettrica, ed il loro sviluppo riveste un notevole interesse poiché, teoricamente, ogni substrato organico biodegradabile può essere convertito in elettricità, ed inoltre, per realizzare questo processo, non sono necessari particolari ceppi batterici né particolari composti chimici.

La produzione di energia si basa sul processo di ossidazione della sostanza organica (rimozione di elettroni) collegata alla riduzione di un ossidante (tipicamente ossigeno). Allo stato attuale, le MFC non producono ancora molta elettricità e non si possono considerare un metodo economico di produzione di energia, tuttavia, la densità di corrente elettrica prodotta da parte di tale tecnologia è cresciuta rapidamente negli ultimi anni.

Inoltre è possibile utilizzare le MFC come biosensori per il monitoraggio di parametri biochimici, come il BOD ed il COD, in quanto, grazie al loro principio di funzionamento, permettono di ottenere indicazioni sul processo di trattamento di reflui organici grazie all'acquisizione di grandezze di tipo elettrico, quali corrente, tensione e potenza ottenute.

In letteratura sono riportate numerose configurazioni di MFC; tra queste riveste un particolare interesse il sistema proposto dall'ENEA (Fig. i.1) che intende coniugare la depurazione di reflui organici con la produzione di energia elettrica. Tale impianto può considerarsi come un sistema di trattamento a doppio stadio biologico: il primo, in ambiente anaerobico, è condotto in un ABR (acronimo di Anaerobic Baffled Reactor) costituito da due comparti attraversati in serie dal liquame in trattamento; il secondo, alimentato con l'effluente del primo stadio, è composto da un'unità di aerazione ed una di sedimentazione, utilizzate per sviluppare un processo

a fanghi attivi mirato all'ossidazione combinata dell'azoto ammoniacale e del substrato organico residuo. L'anodo ed il catodo che costituiscono la Microbial Fuel Cell sono sistemati rispettivamente nella seconda camera anaerobica e nel bacino di aerazione.

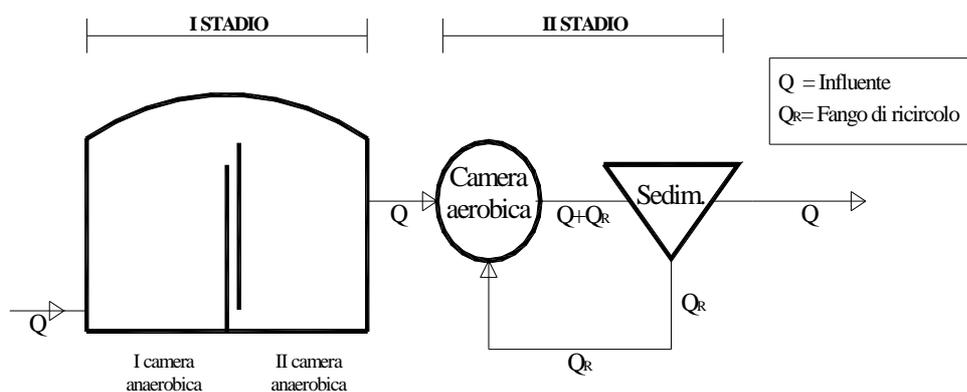


Fig. i.1 Schema di trattamento della MFC proposta.

Tale MFC è stata oggetto di una estesa campagna sperimentale, sviluppata nella presente Tesi di Dottorato, che ne ha fornito indicazioni sulle prestazioni in termini di abbattimento del carico organico in ingresso e sulle prestazioni elettriche, espresse come valori di grandezze elettriche specifiche (potenza, tensione e corrente) che sono producibili in funzione delle caratteristiche del substrato in ingresso (portata, composizione, carico organico). Sono state inoltre verificate le suddette prestazioni variando la tipologia degli elettrodi: in una prima fase sono state utilizzate piastre di grafite vetrosa, che sono state sostituite in una seconda fase con grafite granulare, contenuta in un'apposita rete di contenimento, allo scopo di aumentare la superficie disponibile per gli scambi di elettroni, mentre una terza fase è stata sviluppata utilizzando elettrodi in grafite vetrosa collegati fra loro secondo uno schema elettrico in parallelo.

Durante le attività sperimentali, l'impianto è stato dapprima alimentato un refluo di tipo sintetico, caratterizzato dalla presenza di un substrato facilmente biodegradabile (glucosio), mentre successivamente si è inteso

valutare le prestazioni dell'impianto sottoponendo alla degradazione un refluo reale a matrice zuccherina.

Il lavoro di Tesi di Dottorato è stato strutturato in 11 capitoli:

nel Capitolo 1 è stato fornito un quadro generale delle principali tipologie di processi biologici di trattamento dei reflui e dei sistemi di trattamento biologico;

nel Capitolo 2 sono state presentate considerazioni generali sull'efficienza energetica degli impianti di trattamento delle acque reflue, e alcuni casi-studio oggetto di un'indagine sperimentale mirata alla valutazione dei consumi energetici di impianti in piena scala;

nel Capitolo 3 è stata affrontata la descrizione dei principi di funzionamento relativi alla produzione biologica di elettricità nelle Microbial Fuel Cell allo stato attuale delle conoscenze, evidenziando i principali fattori alla base di tale tecnologia e che ne influenzano l'efficienza;

il Capitolo 4 riguarda la classificazione delle differenti configurazioni impiantistiche di MFC riportate in letteratura, suddividendo le Microbial Fuel Cell in quattro diverse classi: a due comparti, a singolo comparto, impiego come biosensori e altri utilizzi specifici, MFC poste in serie e in parallelo;

nel Capitolo 5 è stato descritto l'impianto oggetto di sperimentazione, con particolare riferimento alle differenti configurazioni adottate, nonché le determinazioni analitiche e le attività sperimentali svolte;

il Capitolo 6 riporta i risultati ottenuti durante le prime 4 Fasi di sperimentazione (Fasi I-II-III-IV –Refluo sintetico ed elettrodi in grafite vetrosa), espressi sia in termini di efficienze depurative che in termini di produzione di energia elettrica. Sono inoltre stati individuati gli effetti dei

fattori limitanti la potenza prodotta dalla MFC mediante un'analisi di sostenibilità e l'elaborazione di un bilancio energetico relativo all'impianto oggetto di studio. Sono stati infine riportati i risultati della caratterizzazione della biomassa presente nella MFC mediante osservazione di immagini al microscopio e analisi filogenetica DGGE;

nel Capitolo 7 sono riportati i risultati ottenuti durante la *Fase V* di sperimentazione (*Refluo sintetico ed elettrodi in grafite granulare*), espressi sia in termini di efficienze depurative che in termini di produzione di energia elettrica, nonché i risultati della caratterizzazione della biomassa presente nella MFC mediante osservazione di immagini al microscopio;

il Capitolo 8 presenta i risultati ottenuti durante la *Fase VI* di sperimentazione (*Refluo reale ed elettrodi in grafite granulare*), espressi sia in termini di efficienze depurative che in termini di produzione di energia elettrica;

nel Capitolo 9 viene focalizzata l'attenzione sulla possibilità di utilizzare la MFC oggetto di studio come sistema per il monitoraggio on-line del processo di digestione anaerobica, introducendo in tal modo forti semplificazioni rispetto ai metodi analitici attuali ed eliminando la necessità di ricorrere a competenze e strumentazioni specifiche. A tale scopo si è cercata una correlazione tra le prestazioni elettriche dell'impianto e i valori di COD e di VFA del comparto anaerobico;

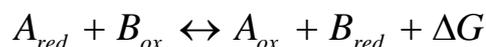
nel Capitolo 10 sono riassunti i risultati ottenuti durante la *Fase VII* di sperimentazione (*Refluo reale ed elettrodi in parallelo*), espressi sia in termini di efficienze depurative che in termini di produzione di energia elettrica;

infine, nel Capitolo 11 sono presentate le conclusioni cui si è giunti con il presente lavoro.

## 1.1 *Trattamento biologico dei reflui*

La depurazione biologica delle acque di scarico consiste nell'azione combinata di popolazioni microbiche diverse (in modo particolare, batteri) che, per il loro metabolismo, trasformano le sostanze organiche biodegradabili (substrato) secondo due differenti meccanismi: una parte è convertita in composti semplici (acqua, anidride carbonica, azoto), che rientrano nel ciclo naturale, attraverso reazioni dissimilatorie (o cataboliche) che comportano anche la produzione di energia; un'altra parte è invece interessata da reazioni assimilatorie (o anaboliche) per la formazione di nuovi organismi che, insieme ai detriti cellulari e ai materiali inerti dello scarico, dovranno essere allontanati per sedimentazione e costituiranno i fanghi di supero.

Alla base del processo vi sono reazioni biologiche di ossidoriduzione del tipo:



dove  $A_{red}$  e  $B_{ox}$  sono, rispettivamente, un donatore ed un accettore di elettroni, mentre  $\Delta G$  rappresenta l'energia libera che viene utilizzata dai batteri per lo svolgimento delle attività vitali e, unitamente ad una fonte di carbonio, per la biosintesi di materiale cellulare.

Pertanto, l'attività biologica dei microrganismi risulta estremamente funzionale ai fini della depurazione delle acque reflue, caratterizzate da una consistente presenza di substrati biodegradabili. Un impianto di depurazione si configura così come un ecosistema artificiale, in cui la demolizione delle sostanze organiche ad opera dei microrganismi avviene secondo meccanismi analoghi a quelli di auto depurazione di un corso

d'acqua, ma in sistemi in cui le reazioni biochimiche vengono condotte con velocità e rese molto maggiori.

Nei paragrafi successivi sono riportate sinteticamente le principali caratteristiche dei processi utilizzati nell'ambito della depurazione biologica delle acque di scarico, con particolare riferimento ai processi biologici aerobici, anaerobici e anossici, ed al trattamento di nutrienti quali azoto e fosforo. Successivamente, nella seconda parte del capitolo, sono illustrate le principali tipologie di sistemi di trattamento biologico, raggruppate in base al processo utilizzato (aerobico o anaerobico) e distinti per tipo di coltura (adesa, sospesa o combinata).

### ***1.1.1 I processi biologici aerobici***

I processi biologici coinvolti nella depurazione delle acque reflue si possono sviluppare sia in ambiente aerobico che in ambiente anaerobico; di seguito viene effettuata la descrizione dei principali processi biologici, di tipo aerobico.

#### **Processi per la rimozione della sostanza organica - Crescita, idrolisi e decadimento**

Negli impianti per il trattamento dei reflui, i processi per la rimozione degli inquinanti sono mediati dalle reazioni biologiche di crescita, idrolisi e decadimento. Assieme a queste, deve essere aggiunto l'adsorbimento che, se anche non costituisce una reazione biologica vera e propria, ha un ruolo considerevole nella rimozione degli inquinanti, soprattutto particolati.

Una rappresentazione semplificata dell'azione dei processi biologici nella degradazione della sostanza organica è rappresentata in Figura 1.1.

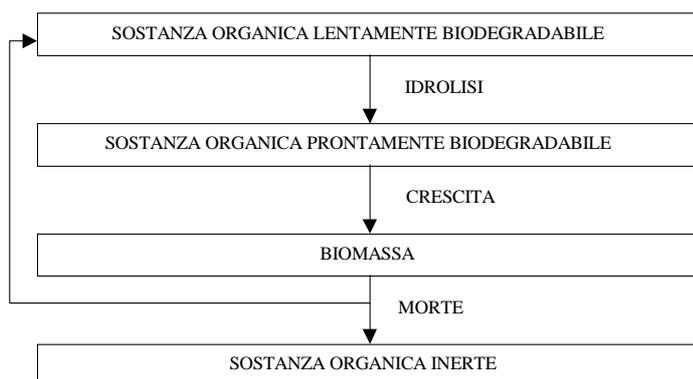
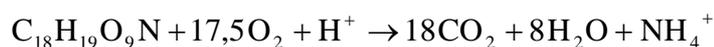


Figura 1.1 Rappresentazione semplificata dei processi biologici in un impianto di depurazione

Pertanto, la sostanza organica che arriva ad un impianto di depurazione può subire differenti destini:

- ✚ ossidazione ad anidride carbonica ed acqua;
- ✚ assimilazione e formazione di nuova biomassa;
- ✚ passaggio attraverso il sistema senza subire alcuna modifica (sostanza organica non biodegradabile);
- ✚ trasformazione in altri composti organici.

Assumendo per la sostanza organica la composizione approssimativa  $C_{18}H_{19}O_9N$  (Henze et al., 1997), la sua degradazione per via aerobica da parte di batteri eterotrofi comporta la produzione di anidride carbonica ed acqua, mentre l'ossigeno si riduce e funge da accettore di elettroni, secondo la reazione:



Da tale equazione, si deduce che per ossidare 1 g di sostanza organica occorrono 1,42 g di  $O_2$ , che andrà fornito appositamente con sistemi di aerazione artificiale.

Per quanto riguarda la crescita, nei processi biologici della depurazione viene assunto che i batteri siano in grado di utilizzare (direttamente) solo molecole semplici di piccole dimensioni (Henze et al., 1997).

La cinetica più frequentemente utilizzata per la variazione temporale della concentrazione di biomassa  $X_B$  è quella descritta da Monod; sulla base di tale cinetica, ipotizzando che l'attività biologica sia influenzata dalla sola concentrazione di substrato, il consumo di substrato per la crescita viene descritto dall'equazione seguente (Legge di Michaelis-Menten):

$$\frac{dS}{dt} = \frac{\mu_{\max}}{Y} \cdot \frac{S}{S + K_S} \cdot X_B = v \cdot X_B$$

dove:

$\mu_{\max}$  = tasso massimo della crescita batterica [ $d^{-1}$ ];

$Y$  = frazione di substrato che produce biomassa (yield);  $\left[ \frac{KgCOD(biom.)}{KgCOD(substr.)} \right]$

$S$  = concentrazione del substrato (supposto come unico fattore limitante la crescita);

$K_S$  = costante di semisaturazione (è una concentrazione di substrato);

$X_B$  = concentrazione della biomassa;

$v$  = velocità di rimozione del substrato  $\left[ \frac{KgCOD(substr.)}{KgCOD(biom.) \cdot d} \right]$

Il processo di idrolisi, a sua volta, riguarda la conversione di grosse molecole in molecole più piccole, direttamente utilizzabili dai batteri. Il processo, fino a qualche tempo fa sempre trascurato, ha suscitato, di recente, notevole interesse, in quanto risulta di estrema importanza nella

determinazione delle cinetiche di rimozione dei substrati carboniosi e, quindi, nella progettazione. Infatti, l'idrolisi è una reazione più lenta rispetto alla degradazione dei substrati disciolti e la sostanza idrolizzabile costituisce spesso, la frazione presente in maggiori quantità nelle acque reflue (Tabella 1.1). Di conseguenza, essa limita i tassi nei processi biologici di trattamento dei reflui, pur rimanendo attualmente la meno conosciuta tra le reazioni coinvolte nella depurazione.

Tabella 1.1 Intervalli tipici della frazione organica di reflui urbani (Henze et al. 1997)

	Componente	Frazione (%) del COD
S <sub>S</sub>	S.O. prontamente biodegradabile	12-30
X <sub>S</sub>	S.O. lentamente biodegradabile	30-60
S <sub>I</sub>	S.O. solubile inerte	5-10
X <sub>I</sub>	S.O. particellata inerte	10-15
X <sub>B</sub>	Biomassa	5-15

L'idrolisi viene spesso espressa mediante una cinetica del primo ordine nei confronti dei composti idrolizzabili:

$$\frac{dX_S}{dt} = k_h \cdot X_S$$

dove X<sub>S</sub> è la concentrazione di sostanza organica idrolizzabile (lentamente biodegradabile) e k<sub>h</sub> il tasso di idrolisi [d<sup>-1</sup>] (Sollfrank e Gujer, 1991; Brouwer et al., 1998).

In altri casi viene ipotizzata una cinetica di saturazione nei confronti della biomassa:

$$\frac{dX_S}{dt} = k_h \cdot \frac{X_S / X_B}{K_X + X_S / X_B} X_B$$

dove  $K_x$  rappresenta la costante di semisaturazione

$$\left[ \frac{KgCOD(substr.l.b)}{KgCOD(biom.)} \right] \text{ (Henze et al., 1986).}$$

Fra i processi biologici, va altresì considerato il tasso di decadimento dei batteri, da cui deriva la produzione di nuovo substrato lentamente biodegradabile e sostanza organica inerte. Anche se il tasso di decadimento non è molto elevato rispetto alle reazioni di crescita, le alte concentrazioni di biomassa determinano, comunque, la formazione di ingenti quantità di sostanza organica di origine endogena (Droste, 1998).

Il tasso di decadimento viene modellato mediante una cinetica di primo ordine nei confronti della biomassa:

$$\frac{dX_B}{dt} = -b \cdot X_B$$

dove  $b$  rappresenta il tasso di decadimento [ $d^{-1}$ ].

### **Rimozione dell'azoto**

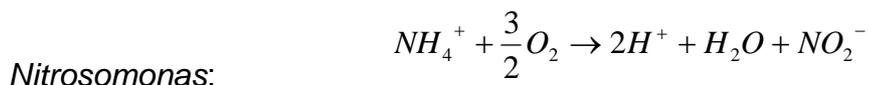
Nelle acque di scarico l'azoto è presente essenzialmente in forma organica (urea, proteine) ed in forma ammoniacale ( $NH_4^+$ ). La sua rimozione per via biologica avviene attraverso i processi di: ammonificazione e idrolisi dell'azoto organico in azoto ammoniacale; successiva nitrificazione, con trasformazione dell'ammoniaca prima a nitrito ( $NO_2^-$ ) e poi a nitrato ( $NO_3^-$ ); denitrificazione, con la riduzione del nitrato in azoto molecolare ( $N_2$ ), che si libera dal sistema.

#### *Processo di nitrificazione biologica*

La nitrificazione consiste nell'ossidazione biologica dell'azoto ammoniacale a nitrito e successivamente a nitrato. Entrambe le reazioni

biochimiche sono svolte da batteri autotrofi, in grado di utilizzare per la sintesi carbonio inorganico ( $\text{CO}_2$ ) e che traggono l'energia da reazioni di ossido-riduzione in cui i donatori di elettroni sono l'azoto ammoniacale e i nitriti (che si ossidano) mentre l'accettore di elettroni è l'ossigeno libero (che si riduce), che va fornito dall'esterno. Il processo, pertanto, si svolge in ambiente aerobico.

Va notato che il processo di nitrificazione è un fenomeno specialistico, affidato a relativamente poche specie batteriche autotrofe: la trasformazione dell'ammoniaca a nitriti avviene soprattutto ad opera dei *Nitrosomonas*, mentre la successiva ossidazione a nitrati è effettuata dal genere *Nitrobacter*. La stechiometria della conversione dell'azoto dalla forma ammoniacale a quella nitrica si articola su almeno due reazioni successive:



che si possono riassumere nella reazione globale:



Dalla reazione complessiva si nota, da un lato, che la nitrificazione comporta un abbassamento dell'alcalinità a seguito della produzione di  $\text{H}^+$ , con rischio d'inibizione del processo; dall'altro, che è richiesta un'elevata concentrazione di ossigeno libero (c'è un consumo di 4,25 mg di  $\text{O}_2$  per mg di  $\text{NH}_4^+$  ossidato).

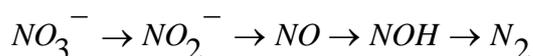
Si osserva poi che la sintesi di microrganismi nitrificanti è piuttosto limitata, essendo i microrganismi coinvolti nella nitrificazione caratterizzati

da una ridotta yield (definita come la quantità di biomassa prodotta per unità di azoto ossidato). Ne deriva che negli impianti con nitrificazione è necessario assicurare un elevato tempo di detenzione dei batteri che ad essa provvedono, al fine di evitare il loro wash-out.

La cinetica delle reazioni di nitrificazione viene descritta correttamente dal modello di Monod; ciò che cambia rispetto alla rimozione della sostanza organica è, come si avrà modo di precisare più avanti, l'influenza dai parametri ambientali.

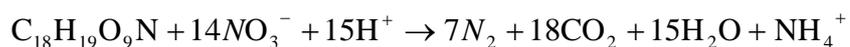
### *Denitrificazione*

La denitrificazione consiste nella riduzione biologica dei nitrati in azoto gassoso passando attraverso diversi stadi:



Tale trasformazione viene condotta, a differenza della nitrificazione, da diverse specie batteriche di tipo eterotrofe facoltative: esse utilizzano per la sintesi il carbonio del substrato organico (che pertanto va reso disponibile) e traggono l'energia da reazioni di ossido-riduzione in cui il donatore di elettroni è il substrato carbonioso (che si ossida), mentre come accettore di elettroni possono utilizzare alternativamente l'ossigeno (condizioni aerobiche) ed i nitrati (condizioni anossiche). La presenza contemporanea di ossigeno disciolto e nitrati porta all'utilizzo preferenziale dell'ossigeno per motivi energetici: pertanto la denitrificazione deve svolgersi in ambiente rigorosamente anossico.

Assumendo la composizione approssimativa  $C_{18}H_{19}O_9N$  per la sostanza organica contenuta in un refluo civile (Henze et al., 1997), le denitrificazione è rappresentata dalla seguente espressione:



La cinetica della reazione di denitrificazione è ancora esprimibile con il modello di Monod, tenendo conto che in questo caso il substrato donatore di elettroni è rappresentato dalla sostanza organica, mentre il substrato accettore è costituito dai nitrati.

### **Rimozione del fosforo**

Nelle tecnologie della depurazione delle acque reflue la rimozione del fosforo viene operata sia con processi chimici che biologici. I processi chimici sfruttano la capacità del fosfato di formare sali poco solubili. In tal senso, il dosaggio di sali di metalli quali calcio, ferro III, o alluminio determina la precipitazione del fosfato, che viene separato per sedimentazione assieme ai solidi di supero.

Se da un lato il processo chimico offre numerosi vantaggi, quali buone efficienza e sedimentabilità del fango, mancata necessità di provvedere ad una fase di avviamento, esso presenta, di contro, l'inconveniente di dar luogo ad un incremento dei costi dovuti all'acquisto del reagente ed all'aumentata produzione di fango chimico.

In alternativa, la rimozione del fosforo può essere condotta per via biologica, attraverso l'azione di batteri, denominati poli-P o Phosphorus Accumulating Organisms (PAO), in grado di accumulare in eccesso alle proprie esigenze metaboliche di crescita (luxury uptake) tale elemento. La selezione di tali organismi è favorita dall'alternarsi di condizioni anaerobiche ed aerobiche. La capacità selettiva di tali popolazioni di microrganismi è determinata dalla possibilità di accumulare sostanza organica prontamente biodegradabile (preferibilmente acidi grassi volatili) in condizioni anaerobiche, utilizzandola successivamente in condizioni aerobiche dove il metabolismo energetico è maggiormente favorevole

(Figura 1.2). Le condizioni ambientali favorevoli (aerobiosi) permettono la sintesi di polifosfato, una molecola ad elevato contenuto energetico, la cui energia viene utilizzata per la sintesi di poli-idrossialcanoati (molecole organiche di riserva) in anaerobiosi. Il poli-idrossialcanoato principalmente sintetizzato è l'acido poli-idrossibutirrico (PHB).

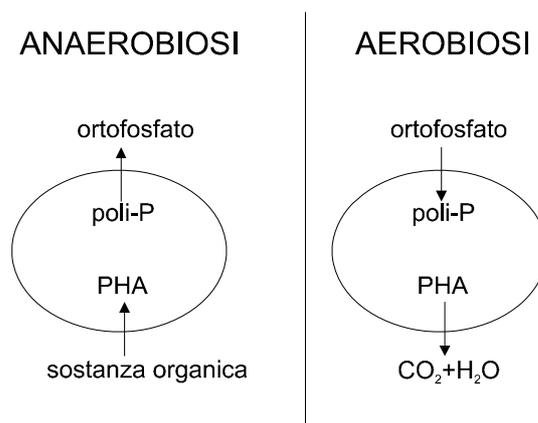


Figura 1.2 Schematizzazione del processo di rimozione biologica del fosforo

### 1.1.2 I processi biologici anaerobici

I processi anaerobici vengono solitamente impiegati per la stabilizzazione dei fanghi della depurazione, realizzando un sensibile abbattimento dei SSV (almeno il 50%) e conseguendo un miglioramento delle caratteristiche igieniche (con l'abbattimento degli agenti patogeni presenti) e delle caratteristiche di disidratabilità del fango.

Solo negli ultimi anni i processi anaerobici stanno trovando impiego anche per il trattamento dei liquami: ai vantaggi di ridotti consumi energetici, di un possibile recupero di biogas e di una bassa produzione di fango di supero si contrappongono rendimenti ridotti rispetto ai processi aerobici, minore velocità di reazione ed elevata sensibilità alla temperatura, il che ha comportato un utilizzo dei processi anaerobici soprattutto come fase di pretrattamento di liquami ad alta forza (reflui industriali, percolati di discarica, ecc.).

Dal punto di vista biologico il processo anaerobico si svolge in tre fasi, tra cui deve stabilirsi una condizione di equilibrio dinamico. Le tre fasi, ciascuna a carico di diversi ceppi batterici anaerobici, sono:

- ✚ fase idrolitica, con la solubilizzazione del materiale sospeso e la formazione di zuccheri semplici, acidi grassi, glicerolo e aminoacidi.
- ✚ fase di fermentazione acida, con la trasformazione dei composti disciolti in acidi semplici,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ .
- ✚ fase metanigena, con la trasformazione degli acidi semplici in  $\text{CH}_4$  e  $\text{CO}_2$ .

I batteri metanigeni costituiscono fattore limitante nello sviluppo generale delle reazioni biologiche essendo caratterizzati dal più basso tasso di crescita; ciò fa sì che, per conseguire il richiesto grado di stabilizzazione, siano richieste elevate età del fango.

### **Metabolismo anaerobico**

Anche nei trattamenti biologici anaerobici la degradazione di materiale organico viene realizzata da microrganismi, in gran parte batteri, per ottenere energia e sintetizzare componenti cellulari.

Ci sono due fenomeni principali nel metabolismo anaerobico: la respirazione e la fermentazione, che si differenziano a seconda delle caratteristiche del composto accettore di elettroni nelle reazioni di ossido riduzione; nella respirazione anaerobica l'accettore terminale di elettroni è una molecola inorganica quale ad esempio quella dei solfati e dell'anidride carbonica; nella fermentazione invece l'accettore finale di elettroni è costituito da molecole organiche.

Il processo anaerobico può essere suddiviso in tre fasi (come riportato nella Figura 1.3):

- ☞ fase idrolitica fermentativa;
- ☞ acetogenesi;
- ☞ metanogenesi.

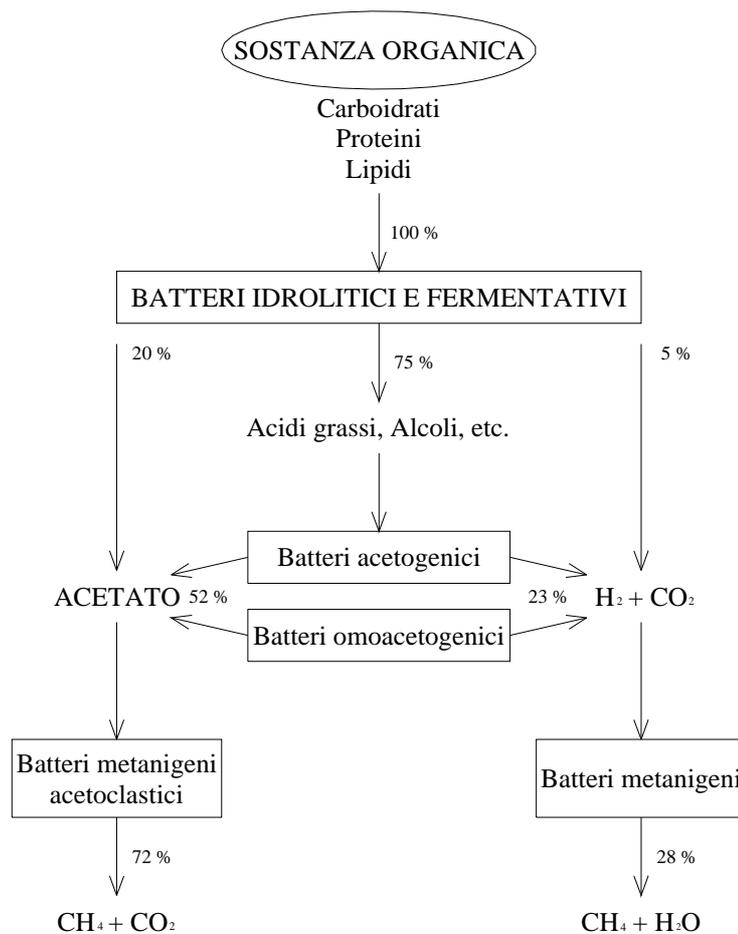


Figura 1.3 Schema semplificato del processo anaerobico

### Fase idrolitica fermentativa

Questa fase rappresenta la tappa iniziale, durante la quale i composti organici complessi vengono idrolizzati a composti solubili quali acidi grassi e alcoli. Tale scissione risulta necessaria in quanto i substrati complessi

non possono essere assunti e quindi metabolizzati. L'idrolisi dei composti è operata dai batteri idrolitici mediante la produzione di esoenzimi specifici (lipasi, idrolasi, proteasi).

La successiva fermentazione degli oligomeri e dei monomeri, che vede coinvolti sia i batteri che li hanno prodotti che i batteri fermentatori acidogeni, conduce alla formazione di acetato, anidride carbonica e acidi grassi a basso peso molecolare (AGV o più comunemente nell'acronimo inglese VFA).

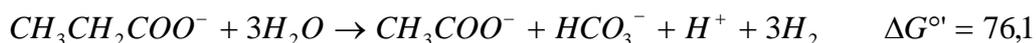
### *Acetogenesis*

La produzione di acido acetico costituisce una tappa obbligata nel processo; tale composto rappresenta il principale intermedio metabolico nella digestione anaerobica. Le diverse modalità con cui l'acetato è prodotto dipendono dal coinvolgimento di differenti specie microbiche. I gruppi di batteri cui si attribuisce un ruolo primario sono: batteri acetogeni produttori obbligati di idrogeno (OHPA), batteri solfato-riduttori, batteri omoacetogeni.

I microrganismi OHPA producono acido acetico a partire da acidi volatili saturi con il meccanismo della  $\beta$ -ossidazione. Se i substrati hanno un numero di carbonio pari, il prodotto è l'acetato; diversamente nel caso in cui i VFA abbiano un numero di atomi di carbonio dispari, oltre all'acido acetico si forma propionato. Quest'ultimo viene successivamente decarbossilato ad acetato e  $\text{CO}_2$  (Boone, 1980).

Di seguito vengono riportate come esempio la reazione globale di ossidazione del butirrato e la decarbossilazione del piruvato:





L'utilizzo di idrogeno coinvolge anche i batteri solfatoriduttori che usano l' $H_2$  nella riduzione dei composti solfato-riducibili.

In presenza di solfati, che rappresentano i donatori fisiologici di elettroni, i batteri solfato riduttori (SRB) sono in grado di utilizzare substrati organici quali lattato e piruvato. L'ossidazione di questi composti porta alla formazione di acetato e solfuri. I batteri solfato-riduttori sono un gruppo di microrganismi anaerobi stretti caratterizzati da una grande versatilità.

Alcuni SRB sono in grado di utilizzare l'acido acetico come donatore di elettroni. In assenza di solfati questi microrganismi si comportano genericamente da fermentatori o OHPA.

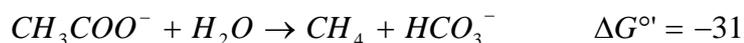
Gli omoacetogeni possono fermentare molti composti ad uno o più atomi di carbonio e sintetizzare acetato a partire da idrogeno ed anidride carbonica.

### *Metanogenesi*

La produzione di metano ha luogo nell'ultima tappa della degradazione anaerobica della sostanza organica. I batteri coinvolti in questo processo appartengono tutti al phylum degli *Archeobatteri*. Il metano può svilupparsi a partire da  $CO_2$  e  $H_2$  oppure da acido acetico. Sulla base dei composti utilizzati per sintetizzare  $CH_4$ , i metanigeni sono distinti in idrogenotrofici ed acetotrofici. I primi traggono l'energia mediante la riduzione della  $CO_2$ , utilizzando l'idrogeno come donatore di elettroni. Di seguito sono riportate le reazioni di sintesi con i due possibili substrati:



La produzione di metano da parte degli acetoclastici può essere così schematizzata:



Come è possibile osservare, il meccanismo acetoclastico comporta un rendimento energetico inferiore; tuttavia è ad esso riconducibile gran parte del metano prodotto (circa il 70%). Sono inoltre substrati metanogenici anche composti come metanolo, metilammina, dimetilsolfuro.

Poiché nei processi di trattamento delle acque, per semplicità, è prassi consolidata esprimere la massa biologica in termini di SSV, essendo questi in gran parte costituiti da microrganismi, il coefficiente di resa cellulare viene espresso in termini di gSSV g<sup>-1</sup> di substrato.

Così sia per l'acetogenesi che per la metanogenesi si può adottare il modello di Michaelis-Menten:

$$\text{Acidogenesi} \quad r = \frac{\mu_s}{Y_s} \cdot \frac{S}{K_{S,s} + S}$$

$$\text{Metanogenesi} \quad r = \frac{\mu_M}{Y_M} \cdot \frac{S}{K_{S,M} + S}$$

Nell'equazione relativa all'acidogenesi S rappresenta la concentrazione di sostanza organica sotto forma di molecole a catena corta disciolte, e in quella relativa alla metanogenesi la concentrazione di acetato.

Nella Tabella 1.2 che segue sono riportati gli intervalli tipici entro cui possono variare le costanti cinetiche per il processo anaerobico.

*Tabella 1.2 Valori delle costanti cinetiche nel processo anaerobico*

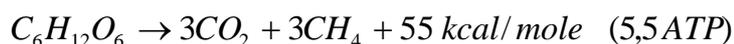
	Simbolo	Unità di misura	Intervallo di variabilità
Massimo tasso specifico di crescita (acetogenesi)	$\mu_s$	$d^{-1}$	1-3
Massimo tasso specifico di crescita (metanogenesi)	$\mu_M$	$d^{-1}$	0,3-0,5
Coefficiente di resa cellulare (batteri acido-produttori)	$Y_s$	$kg\ VSS\ Kg\ COD^{-1}$	0,15-0,20
Coefficiente di resa cellulare (batteri metano-produttori)	$Y_M$	$kg\ VSS\ Kg\ COD^{-1}$	0,04-0,05
Costante di semisaturazione per il substrato (acetogenesi)	$K_{s,s}$	$kg\ COD\ m^{-3}$	0,03-0,15
Costante di semisaturazione per il substrato (metanogenesi)	$K_{s,M}$	$kg\ COD\ m^{-3}$	0,03-0,10

I valori del massimo tasso specifico di crescita e del coefficiente di resa cellulare della biomassa anaerobica sono sensibilmente più bassi di quelli relativi ai batteri aerobici riportati nella Tabella 1.2: ciò significa che la velocità di crescita dei batteri anaerobici è molto più bassa e che la biomassa anaerobica che si forma per unità di substrato rimosso (COD) è molto più ridotta se confrontata con quella aerobica. Per questo motivo in un processo di depurazione anaerobica si ha meno produzione di fanghi di supero rispetto ad un sistema aerobico.

#### *Relazione tra COD abbattuto e metano prodotto*

Per valutare la relazione esistente tra il COD consumato e il metano prodotto durante il processo anaerobico, per semplicità si considera come substrato il glucosio.

La digestione anaerobica del glucosio può essere schematizzata come:



mentre in aerobiosi si ha:

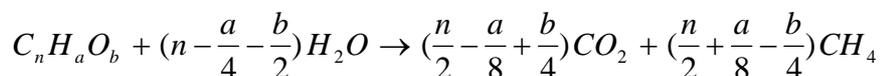


(tra parentesi sono riportati i pesi molecolari moltiplicati per i loro coefficienti stechiometrici).

Dalla prima espressione si deduce che il COD consumato per la degradazione di una mole di glucosio è 192 mentre dalla seconda risulta che la produzione di metano per mole di glucosio è 48. Ciò significa che la produzione di metano per unità (kg) di COD è  $48/192 = 0,25$  kg di  $CH_4$ . In termini di volume, dato che il peso molecolare del metano è  $16 \text{ g mole}^{-1}$  e una mole di gas a pressione e temperatura standard (una atmosfera e  $0^\circ\text{C}$ ) occupa 22,4 litri, si ha:

$$V_{CH_4} / \text{kgCOD}_{\text{distrutto}} = \frac{250(\text{gCH}_4 / \text{kgCOD}_d)}{16(\text{g} / \text{mole})} \cdot 22,4(\text{l} / \text{mole}) = 350 \text{ lCH}_4 / \text{kgCOD}_d$$

Perciò dalla rimozione di un chilogrammo di COD sono prodotti in media 350 litri di metano. E' inoltre possibile predire teoricamente, per ogni substrato, la percentuale di metano e anidride carbonica nel biogas applicando la formula di Buswell:



Si stima che se il substrato è costituito prevalentemente da carboidrati la percentuale di metano nel biogas si attesta attorno al 50%. Se però nel liquame prevalgono grassi e proteine si può superare il 70% di  $CH_4$ .

In realtà la percentuale di CO<sub>2</sub> di solito inferiore a quella calcolata teoricamente in quanto partecipa al sistema carbonati/bicarbonati ed è abbastanza solubile in acqua.

La relazione che si è determinata in precedenza tra COD abbattuto e metano prodotto non è applicabile se il substrato contiene composti ridotti diversi dal carbonio che danno luogo a COD (es. solfuri) in quanto in questo caso a fronte del consumo di ossigeno non si ha produzione di metano.

### *1.2 Sistemi di trattamento biologico*

I sistemi depurativi per via biologica vengono solitamente impiegati come trattamenti secondari finalizzati alla rimozione delle sostanze organiche biodegradabili; tali trattamenti consentono altresì la rimozione dei solidi in forma colloidale, non sedimentabili e quindi non separabili con trattamenti di tipo fisico. Per via biologica possono essere rimossi anche l'azoto (tramite i processi di nitrificazione-denitrificazione) e il fosforo.

Un'unità di trattamento biologico dei reflui deve essere progettata in modo che alle popolazioni batteriche di interesse siano assicurate condizioni ambientali adeguate e tempo di ritenzione sufficiente a garantire la crescita e la conservazione della biomassa dentro il sistema. In particolare nella scelta del tempo di ritenzione della biomassa all'interno del sistema è necessario tener conto del possibile intervallo di temperature di esercizio, per la rilevante influenza che la temperatura esercita sulla velocità delle reazioni biologiche. I principali sistemi di trattamento biologico dei reflui possono essere raggruppati, in base alla tipologia di processo utilizzata, in processi aerobici e processi anaerobici. Nell'ambito di ciascun gruppo è poi possibile distinguere tra processi a colture sospese, a colture adese o combinati a colture adese e sospese.

### **1.2.1 Sistemi aerobici a colture sospese**

I principali sistemi di trattamento biologico di tipo aerobico a colture sospese utilizzati per la rimozione della sostanza organica e, se richiesto, anche per l'ossidazione dell'azoto ammoniacale, possono essere raggruppati nei seguenti gruppi: sistemi a fanghi attivi convenzionali, sistemi a fanghi attivi ad aerazione prolungata, sistemi con stabilizzazione e contatto, sistemi ad ossigeno puro, sistemi SBR (Sequencing Batch Reactors).

#### ***Impianti a fanghi attivi convenzionali***

Nel trattamento di acque reflue, ha avuto larga diffusione il sistema a fanghi attivi che, inizialmente proposto per la rimozione della frazione carboniosa, è stato successivamente applicato con successo anche per la rimozione dei composti dell'azoto e del fosforo.

In questi impianti, di gran lunga i più utilizzati per il trattamento di reflui urbani (soprattutto in impianti di media o grande potenzialità), si favorisce lo sviluppo all'interno del reattore di una biomassa (il fango attivo) in grado di biodegradare in condizioni aerobiche il refluo in ingresso che viene ad essa miscelato dando luogo alla cosiddetta miscela aerata. L'ambiente aerobico viene assicurato da opportuni sistemi di aerazione, che devono anche garantire la miscelazione in vasca, onde evitare fenomeni di sedimentazione. All'uscita dal reattore biologico la miscela aerata viene inviata allo stadio di sedimentazione dove il fango attivo viene separato dal refluo trattato; una porzione di fango sedimentato viene ricircolata nel reattore per mantenere la desiderata concentrazione di microrganismi, mentre la rimanente parte viene inviata alla linea trattamento fanghi, ove si provvede alla sua stabilizzazione.

I principali parametri da usare per il progetto e il controllo del processo a fanghi attivi sono:

$$F_c = \text{Fattore di Carico} = \frac{S_o}{VX} \quad Q = \frac{S_o}{\theta X}$$

dove:

$S_o$  = Concentrazione di BOD<sub>5</sub> influente [kg m<sup>-3</sup>]

$\theta$  = Tempo di ritenzione idraulico della vasca di aerazione [d]

$X$  = Concentrazione di VSS nella vasca di aerazione [kg m<sup>-3</sup>]

$Q$  = Portata volumetrica media giornaliera [m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup>]

$V$  = Volume del reattore [m<sup>3</sup>]

$F_c$  (kgBOD<sub>5</sub>/kgVSS d) rappresenta il carico di sostanze organiche biodegradabili che viene applicato al giorno, riferito alla massa di solidi sospesi presenti nella vasca di aerazione. I microrganismi vengono rappresentati dai Solidi Sospesi Volatili (VSS), quali indicatore della biomassa presente in vasca.

Il prodotto  $U = F_{C\eta} = \frac{S_o - S}{\theta X}$  rappresenta il tasso di utilizzo specifico del substrato, dove

$H = \frac{(S_o - S)}{S_o}$  è il rendimento del processo biologico, essendo  $S$  la concentrazione di BOD<sub>5</sub> in uscita della vasca di aerazione.

A diversi valori del fattore di carico  $F_c$  corrispondono diversi tipi di impianti a fanghi attivi, e quanto più basso sarà scelto  $F_c$ , tanto più elevati

risulteranno i rendimenti di rimozione della sostanza organica ed il grado di nitrificazione dell'effluente, mentre il fango di supero risulterà ben stabilizzato ed in quantità ridotte; devono preferirsi invece alti fattori di carico quando interessa soprattutto la massima economia nella realizzazione dell'impianto. In testa alle vasche di aerazione vengono talvolta realizzati comparti separati (detti "selettori") caratterizzati da valori elevati del fattore di carico  $F_C$  che favoriscono l'assorbimento della sostanza organica da parte dei microrganismi fiocco-formatori, sfavorendo così quelli filamentosi ed evitando in tal modo l'insorgere del bulking. La volumetria dei selettori viene determinata assumendo tempi di ritenzione di 10-30 minuti.

$$\theta_C = \text{Età del fango} = \frac{V X}{Q_r X_r + Q_e X_e} \text{ dove:}$$

$V$  = Volume della vasca di aerazione [ $\text{m}^3$ ]

$Q_r$  = Portata del fango di supero [ $\text{m}^3 \text{d}^{-1}$ ]

$X_r$  = Concentrazione di VSS nel fango di supero [ $\text{kg m}^{-3}$ ]

$Q_e$  = Portata di liquame effluente [ $\text{m}^3 \text{d}^{-1}$ ]

$X_e$  = Concentrazione di VSS nel liquame effluente dal sedimentatore secondario [ $\text{kg m}^{-3}$ ].

$\theta_C$  è quindi il tempo medio di residenza dei microrganismi nel sistema (con riferimento alla vasca di aerazione), dato dal rapporto tra la massa di fango presente nel sistema e la quantità di fango prodotta giornalmente (in condizioni stazionarie). La produzione giornaliera di fango dai processi biologici è calcolabile con la relazione

$$P_x = \frac{Y}{1 + K_d \theta_c} Q(S_0 - S)$$

Dove:

Y = rendimento di crescita (kg VSS kg<sup>-1</sup> BOD<sub>5</sub> rimosso)

k<sub>d</sub> = coefficiente di respirazione endogena

Come già detto, i rendimenti depurativi dei sistemi a fanghi attivi, in termini di rimozione del BOD<sub>5</sub> risultano tanto maggiori quanto minore è il fattore di carico organico F<sub>C</sub>. Occorre considerare, peraltro, che i rendimenti del processo sono intrinsecamente limitati dalla fase di sedimentazione a valle, a causa di un inevitabile rilascio nell'effluente di un certo quantitativo di solidi sospesi. In ogni caso, fino a valori di F<sub>C</sub> di circa 0,5, il rendimento nell'abbattimento del BOD<sub>5</sub> si mantiene su valori superiori al 90%.

Per quanto riguarda l'efficienza energetica dei dispositivi di aerazione, è preferibile adottare aeratori superficiali di elevata qualità e diffusori a bolle fini, che assicurino rendimenti di 0,7 - 0,8 kWh kg<sup>-1</sup>O<sub>2</sub> trasferito.

### ***Impianti ad aerazione prolungata***

Negli impianti ad aerazione prolungata al comparto di aerazione devono essere attribuiti valori del fattore di carico F<sub>C</sub> molto bassi (generalmente nell'intervallo 0,05-0,10 kg BOD<sub>5</sub> kg<sup>-1</sup>VSS d) cosicché il fango biologico subisca una stabilizzazione elevata. La concentrazione del fango nella miscela aerata deve di solito risultare pari a 4-6 kg VSS m<sup>-3</sup>. I volumi richiesti per fase di aerazione risultano maggiori che negli altri impianti, ma insieme al conseguente incremento dei costi d'impianto occorre considerare i vantaggi collegati ad una linea fanghi molto semplificata e ad un ridotto quantitativo di fango di supero. Inoltre, attese le elevate età del

fango, l'effluente di un impianto ad aerazione prolungata risulta, anche se non specificamente voluto, sempre fortemente nitrificato e ciò costituisce un indubbio vantaggio nei confronti delle altre tipologie di impianto. Di ciò occorre tenere conto nel dimensionamento dei sistemi di aerazione. Gli impianti ad aerazione prolungata sono particolarmente adatti per piccole e medie comunità, a partire da poche decine di A.E. fino a 5.000 - 10.000 A.E. Il grande volume delle vasche di aerazione conferisce a tali impianti una notevole capacità di tollerare punte di carico idraulico ed organico anche elevate.

### ***Impianti con stabilizzazione e contatto***

Lo schema di un impianto con stabilizzazione e contatto manca di sedimentazione primaria e prevede:

- ✚ una vasca di contatto, dove, in condizioni aerate, avviene una breve e intima miscelazione tra fango attivo e liquame e dove si sfrutta la capacità di adsorbimento da parte dei fiocchi di fango dei solidi sospesi presenti nei liquami; la concentrazione dei solidi sospesi nella miscela aerata deve, di solito, essere compresa tra 2 e 4 kgSS m<sup>-3</sup>;
- ✚ uno stadio di sedimentazione;
- ✚ un comparto di "riaerazione" del fango dove viene inviato il fango sedimentato e dove è effettuata una seconda ossidazione per consentire l'assimilazione da parte dei microrganismi delle sostanze adsorbite; la concentrazione del fango in questo stadio deve essere mantenuta su 6-9 kgSS m<sup>-3</sup>.

Il fango viene quindi reimpresso nel comparto di contatto, chiudendo così il ciclo. La separazione dell'aerazione nei due stadi di contatto e riaerazione (stabilizzazione) consente di operare con concentrazioni mediamente superiori rispetto ad un impianto a fanghi attivi

convenzionale, ottenendosi così una riduzione dei volumi fino al 50%. Notevole inoltre risulta la resistenza nei confronti di eventuali scarichi tossici inibenti. Lo svantaggio di questo tipo di impianti consiste in un funzionamento più complesso per l'aggiunta di una fase di trattamento nel ciclo: ciò rende tali impianti inadatti per piccole comunità, al di sotto di 1.000 - 2.000 A.E.

### ***Impianti ad ossigeno puro***

Negli impianti ad ossigeno puro l'aerazione viene realizzata con correnti gassose ad elevato tenore di ossigeno (92 - 99%); in questo modo il quantitativo di ossigeno trasferito in vasca risulta 4 - 5 volte maggiore rispetto a quanto è possibile fornire mediamente con sistemi di aerazione convenzionali. Le usuali concentrazioni di ossigeno disciolto in vasca devono risultare pari a 6 - 8 mg l<sup>-1</sup>, con una conseguente migliore penetrazione dell'ossigeno all'interno dei fiocchi di fango anche con elevate concentrazioni di solidi sospesi.

Per il rifornimento di ossigeno è possibile una delle seguenti alternative: allacciamento ad un eventuale ossigenodotto presente nelle vicinanze dell'impianto; produzione in loco con un impianto criogenico (a causa dei costi energetici elevati questa soluzione appare conveniente per potenzialità > 200.000 - 300.000 A.E.); produzione in loco con impianti utilizzanti setacci molecolari (il grado di purezza è del 90 - 94% ed i consumi energetici risultano più contenuti del sistema precedente).

### ***Sistemi Sequencing Batch Reactor (SBR) o a cicli alternati***

Sono dei sistemi a fanghi attivi costituiti da un bacino in cui, variando ciclicamente le condizioni di funzionamento, si realizzano i processi di ossidazione biologica, di sedimentazione e di estrazione dell'effluente depurato e dei fanghi di supero. Si tratta quindi di un processo a fanghi

attivi nel quale le diverse fasi di processo si susseguono in sequenza temporale invece che spaziale (SBR). L'alimentazione è di norma costituita da liquame grezzo, in genere grigliato e se necessario disoleato, o più raramente da liquame chiarificato. Solitamente a monte dell'SBR deve essere prevista anche una vasca di equalizzazione che consenta la laminazione del liquame influente e la regolazione del ciclo di carico desiderato. In un impianto SBR si possono distinguere cinque diverse fasi di processo:

- ✚ alimentazione, durante la quale l'influente viene mescolato con la biomassa residua dal ciclo precedente, in una proporzione variabile tra il 25% ed il 70% del volume totale. Tempi brevi di alimentazione sono opportuni in quanto favoriscono la crescita di batteri fioccoformatori, mentre sono preferibili tempi più lunghi in presenza di sostanze tossiche nel liquame influente. L'alimentazione può avvenire in condizioni operative diverse: calma, miscelazione o miscelazione con aerazione;
- ✚ reazione, durante la quale hanno luogo le trasformazioni biologiche in condizioni aerobiche. La durata del periodo di reazione può raggiungere il 50% della durata totale del ciclo;
- ✚ sedimentazione, che ha luogo in condizioni di assoluta quiescenza, con una durata che deve essere generalmente compresa tra 0,5 e 1,5 ore. Alla fine del periodo si procede allo scarico del liquame chiarificato e anche a quello del fango di supero;
- ✚ scarico dell'effluente, che deve essere realizzato in modo da evitare il trascinamento e la fuoriuscita dei solidi sospesi con il liquame chiarificato, al fine di garantire una buona qualità dell'effluente. Il tempo previsto per la fase di scarico deve variare in genere dal 5% al 30% della durata complessiva del ciclo.

Ovviamente, la schematizzazione tra le diverse fasi non va interpretata in maniera rigida, potendosi talvolta verificare che due o più fasi si svolgano contemporaneamente oppure che si segua una sequenza differente da quella sopra indicata. Ad es., operando opportunamente sul sistema di aerazione, la fase di reazione può essere ulteriormente suddivisa in fasi anossiche, anaerobiche e aerobiche al fine di operare la rimozione biologica di azoto e/o fosforo.

Il sistema a cicli alternati utilizza lo stesso principio del reattore unico ma mantiene la sequenza spaziale degli impianti più tradizionali (alimentazione continua). Con appropriati sistemi di controllo si può anche evitare il ricorso al bacino di equalizzazione ed attuare una gestione con controllo remoto (questo per impianti di limitate potenzialità).

### **1.2.2 Sistemi aerobici a colture adese**

I sistemi di trattamento biologici di tipo aerobico a colture adese sono impiegati sia per la rimozione della sostanza organica sia per la nitrificazione. I principali sistemi a colture adese sono i letti percolatori, i rotor biologici e i letti biologici sommersi.

#### ***Impianti a letti percolatori***

I letti percolatori consistono in un letto di materiale sciolto altamente permeabile a cui i microrganismi sono adesi in forma di pellicola biologica (biofilm) e attraverso cui viene fatto percolare il refluo da trattare, distribuito sulla superficie attraverso appositi dispositivi. Onde evitare l'intasamento del letto è sempre opportuno che ai letti percolatori pervengano liquami chiarificati, precedentemente sottoposti alle fasi di pretrattamento e di sedimentazione primaria. Solitamente si deve provvedere al ricircolo dell'effluente della sedimentazione finale o dello stesso percolatore, al fine non solo di diluire il liquame influente, ma anche

di mantenere la bagnatura ottimale della pellicola biologica, e ciò vale soprattutto nel caso di riempimenti in materiale plastico. A differenza dei sistemi a colture sospese, la fase di sedimentazione a valle dei letti percolatori non prevede ricircolo dei fanghi e tutto il fango sedimentato viene allontanato come fango di supero. Altra differenza consiste nell'assenza di dispositivi per la raccolta di schiume, oli e grassi, che normalmente sono assenti nel liquame dopo il passaggio attraverso il filtro percolatore. Inoltre, nei letti percolatori la nitrificazione è "terziaria" e si innesca solo dopo che il BOD<sub>5</sub> si è ridotto a valori compatibili con la crescita dei batteri autotrofi nitrificanti. La crescita della biomassa nitrificante richiede infatti la completa penetrazione del biofilm da parte dell'ossigeno; questa condizione non può essere soddisfatta quando la concentrazione di sostanze organiche nel film liquido aderente al biofilm è tale da abbassare notevolmente la concentrazione di ossigeno disciolto e limitarne pertanto la penetrazione dentro il biofilm. Per la progettazione dei letti percolatori per la rimozione del substrato carbonioso sono disponibili numerose equazioni tratte prevalentemente da osservazioni sperimentali su impianti in piena scala. Tali equazioni consentono di determinare la superficie di riempimento necessaria per ottenere una predeterminata efficienza di rimozione. Per quanto riguarda la nitrificazione, il dimensionamento avviene considerando una cinetica di ordine zero, che, formalmente, corrisponde ad un carico di azoto per unità di superficie e di tempo. Alla cinetica di ordine zero si sostituisce una cinetica di primo ordine quando la concentrazione dell'azoto scende al di sotto di 3 - 4 mg/l. Usualmente gli impianti a letti percolatori si classificano sulla base del

$$F_{cv} = \text{Fattore di Carico Volumetrico} \left[ \frac{\text{Kg BOD}_5}{\text{m}^3 \text{ d}} \right]$$

che esprime il rapporto fra il carico organico giornaliero ed il volume della massa di contatto.

$$C_{is} = \text{Carico Idraulico Superficiale } [m^3 m^{-2} d^{-1}]$$

che rappresenta la portata volumetrica, incluso il ricircolo, per unità di superficie del letto. In base ai valori del fattore di carico volumetrico, i letti percolatori si classificano in letti a basso carico, letti a medio carico, letti ad alto carico, letti ad altissimo carico.

Nei letti percolatori a basso carico solo nello strato superiore del filtro (0,6 - 1,2 m) si sviluppa un'apprezzabile pellicola biologica eterotrofa, mentre negli strati inferiori possono crescere popolazioni batteriche autotrofe che provvedono alla nitrificazione dell'effluente. Nel caso di nitrificazione è consigliato il ricircolo per evitare inibizione da bassi pH. Nei letti percolatori a medio e ad alto carico, essendo elevata la produzione di biomassa, occorre avere valori elevati anche del carico idraulico per facilitare il distacco della biomassa dal materiale di supporto ed evitare così intasamenti. E' previsto, pertanto, il continuo ricircolo dell'effluente dal filtro o dalla sedimentazione posta a valle. La portata ricircolata deve di solito essere pari a 2 - 3 volte la portata media in arrivo. I fanghi di supero che si ottengono risultano altamente putrescibili e devono essere rapidamente stabilizzati. I letti percolatori ad altissimo carico lavorano con valori molto alti del carico idraulico e si distinguono da quelli ad alto carico soprattutto per le maggiori altezze dello strato filtrante, possibili grazie all'utilizzo di materiale plastico. Per quanto riguarda i rendimenti depurativi, con i letti percolatori non si riescono a raggiungere gli stessi risultati degli impianti a fanghi attivi, soprattutto a causa del minore tempo di contatto tra la sostanza organica ed i microrganismi. In maniera ancora più sensibile che negli impianti a fanghi attivi, il rendimento depurativo di rimozione del BOD<sub>5</sub> decresce all'aumentare del fattore di carico volumetrico. Rispetto agli impianti a fanghi attivi i letti percolatori presentano il vantaggio di consumi energetici molto più ridotti, dovuti al fatto che l'aerazione avviene per effetto di un tiraggio naturale. I consumi

diventano praticamente nulli se l'impianto può funzionare per caduta naturale senza alcun sollevamento: in tal caso si hanno consumi massimi di 4 - 12 kWh ab<sup>-1</sup> anno<sup>-1</sup> contro i 10 - 40 kWh ab<sup>-1</sup> anno<sup>-1</sup> degli impianti a fanghi attivi. In taluni casi occorre valutare la necessità di introdurre la ventilazione forzata, di norma nel caso si voglia ottenere una sufficiente nitrificazione.

### **Sistemi a rotori biologici (biodischi)**

Un sistema a rotori biologici (o biodischi) è costituito da una vasca semicilindrica orizzontale all'interno della quale un albero centrale sostiene una serie di dischi sui quali si sviluppa il film biologico. L'albero viene posto in lenta rotazione cosicché i dischi vengono ad avere le superfici alternativamente immerse nel liquame che riempie la vasca ed esposte all'atmosfera. Il trattamento prevede normalmente una compartimentazione dei biodischi in modo da realizzare più stadi in serie, costituiti da singoli gruppi di dischi disposti in una porzione di vasca separata, ciascuno di essi operante con un carico organico in arrivo inferiore a quello del precedente. Si realizza praticamente uno schema di più reattori a miscelazione completa disposti in serie, con un grado di depurazione tanto più elevato quanto più è alto il numero di stadi. In alcuni casi i biodischi vengono alloggiati in ambienti chiusi, per motivi di tipo estetico e ambientale, per proteggere il materiale plastico dai raggi solari, che tra l'altro favorirebbero anche lo sviluppo di alghe, e per cautelarsi nei confronti delle basse temperature. Il campo di applicazione preferenziale di questo tipo di sistema sono le piccole-medie comunità, fino a 10 - 15.000 A.E., anche se vi sono casi di applicazioni anche per potenzialità maggiori. Il dimensionamento dei rotori biologici deve avvenire con riferimento a valori di carico organico specifico generalmente compresi nell'intervallo di 40 - 60 gBOD<sub>5</sub> totale m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup> oppure di 20 - 30 gBOD<sub>5</sub> solubile m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>. Fattori di carico considerevolmente più bassi vanno

previsti nel caso di climi caldi, a causa della possibile limitazione nel trasferimento dell'ossigeno, e qualora si voglia consentire anche la nitrificazione del refluo che, come nel caso dei letti percolatori, si innesca solo dopo che gran parte del substrato carbonioso è stato rimosso. I moduli hanno dimensioni standard a cui corrispondono modalità di funzionamento ed efficienza predefinite. Per il dimensionamento del volume del bacino d'immersione si deve fare riferimento a valori di circa  $5 \times 10^{-3} \text{ m}^3$  di vasca  $\text{m}^{-2}$  di superficie disponibile, a cui corrisponde un tempo di ritenzione di circa 1,5 h; il grado di immersione dei biodischi sarà di circa il 40%. La velocità periferica di rotazione è normalmente di circa  $30 \text{ cm s}^{-1}$  (1 - 2 giri  $\text{min}^{-1}$  per dischi di grande diametro e 3 - 4 giri  $\text{min}^{-1}$  per dischi di diametro minore). In generale, per ottenere rendimenti di abbattimento del  $\text{BOD}_5$  dell'85% occorre adottare almeno due stadi; per pervenire ad una rimozione del 90 - 95% occorre che l'impianto operi con 3 - 4 stadi. I consumi di energia (per azionare il moto di rotazione del tamburo) sono pari a circa 10 - 20  $\text{Wh ab}^{-1} \text{ giorno}^{-1}$  (dello stesso ordine di grandezza dei letti percolatori ad alto carico e nettamente inferiori a quelli degli impianti a fanghi attivi).

### ***Letti biologici sommersi***

Si tratta di reattori completamente sommersi ed aerati, inizialmente dedicati ad impiego in applicazioni di tipo industriale ed ora utilizzati anche nel trattamento delle acque reflue urbane. Il flusso liquido può essere di tipo discendente, ascendente oppure trasversale. In ogni caso è di fondamentale importanza garantire l'uniforme distribuzione del liquame in ingresso nel reattore per evitare la formazione di spazi morti e drastiche riduzioni dell'efficienza. L'impiego di tali reattori nell'ambito della rimozione biologica della sostanza organica è proponibile purché, oltre ad una preventiva sedimentazione primaria si provveda anche ad una rimozione periodica dei solidi accumulati per mezzo di opportuni cicli di lavaggio. Nei

letti a flusso discendente all'interno del mezzo di riempimento è disposto un sistema di aerazione a bolle che fornisce l'ossigeno necessario alla biomassa adesa; la zona ad esso sottostante esplica un'azione filtrante sull'effluente finale in modo da ricondurre i solidi sospesi al di sotto di 15 - 20 mg l<sup>-1</sup>. In questo modo è possibile evitare l'impiego di un sedimentatore secondario, salvo però effettuare periodiche operazioni di controlavaggio del letto del filtro (solitamente automatizzate). Per effettuare la denitrificazione occorre dosare metanolo nella zona sottostante alla griglia di aerazione o di sospendere ciclicamente l'aerazione. I letti a flusso ascendente sono di due tipi: un primo tipo è caratterizzato da un mezzo di riempimento più pesante dell'acqua e non richiede solette superiori di contenimento, a differenza dei letti del secondo tipo, realizzati in materiale flottante (es. polistirene espanso), per i quali la soletta deve essere dimensionata per contenere la spinta di galleggiamento del supporto e le sollecitazioni da esso trasmesse durante il controlavaggio. Lo spessore dello strato filtrante è generalmente superiore rispetto a quello dei letti a flusso discendente. I letti a flusso ascendente consentono anche la pre-denitrificazione del liquame, ricircolando il liquame effluente, nitrificato, alla base del reattore, nella zona non aerata. Le esigenze di controlavaggio impongono, per entrambe le tipologie di letti, la realizzazione di più unità in parallelo. Il carico idraulico applicato viene generalmente mantenuto tra 0,8 e 5 m h<sup>-1</sup>. L'aerazione deve essere tale da assicurare una concentrazione di ossigeno disciolto variabile tra 3 e 6 mgO<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>, il che si traduce in forniture d'aria dell'ordine di 6 - 10 Nm<sup>3</sup> m<sup>-3</sup> di filtro all'ora, che sale a 15 - 20 nel caso di nitrificazione, con rendimenti di ossigenazione variabili dal 4 al 20%.

### **1.2.3 Sistemi aerobici combinati a colture adese e sospese**

#### ***Biofiltri Attivati***

Il processo a biofiltri attivati (ABF, Activated Bio Filter) consiste in un classico processo a filtro percolatore ad alto carico in cui è previsto il ricircolo dei fanghi dopo una loro miscelazione all'influenza in un'apposita vasca di carico. I fanghi vengono riciclati sia dal sedimentatore secondario, posto a valle del biofiltro, sia direttamente dal fondo del filtro. Dato che la biomassa sospesa assorbe una frazione apprezzabile dell'ossigeno fornito, l'aerazione può divenire un fattore limitante nel funzionamento del filtro. Il principale vantaggio offerto dal sistema ABF, rispetto ad un altro percolatore ad alto carico, consiste in maggiori rendimenti di rimozione della sostanza organica, grazie all'ossidazione combinata operata, durante la percolazione, dalla biomassa adesa e da quella sospesa presente nel flusso liquido discendente.

#### ***Biofiltri seguiti da un processo a fanghi attivi***

Nel processo (ABF/AS, Activated Bio Filter/Activated Sludge), il refluo miscelato ai fanghi, dopo aver attraversato il filtro percolatore, viene immesso in una vasca tradizionale di aerazione a colture sospese collegata a un sedimentatore secondario. Considerando il biofiltro ed il bacino di aerazione come un unico sistema di trattamento, è possibile introdurre il concetto di Fattore di Carico ( $F_C$ ) anche per questa tipologia di impianti; solitamente per il dimensionamento del bacino di aerazione si considerano valori di  $F_C$  variabili tra 1,0 e 1,5  $\text{kgBOD}_5 \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ , vale a dire 3 o 4 volte superiori rispetto ad una convenzionale vasca a fanghi attivi non preceduta da un biofiltro, con conseguenti risparmi in termini di volumetrie necessarie. Il maggior vantaggio del processo ABF/AS è una maggiore stabilità ai sovraccarichi e una maggiore facilità di controllo rispetto ai

sistemi a fanghi attivi, qualità che lo rende particolarmente indicato nel caso dei piccoli impianti.

### ***Letti percolatori seguiti da una vasca di contatto***

Il processo TF/SC (Trickling Filter/Solid Contact) è costituito da un filtro percolatore, una vasca di contatto aerobica ed un sedimentatore finale; a monte del processo è sempre necessario prevedere la sedimentazione primaria. Un flusso di fango ricircolato dal sedimentatore, miscelato all'effluente proveniente dal percolatore, viene aerato nella vasca di contatto e reimpresso nel sedimentatore attraverso un opportuno comparto centrale di flocculazione. Tale variante di processo, rispetto ai sistemi tradizionali a letti percolatori, ha come scopo il miglioramento della separazione dei solidi sospesi nel sedimentatore secondario. La vasca di aerazione, inoltre, svolge anche un apprezzabile abbattimento del BOD<sub>5</sub> solubile residuo: garantendo un tempo di residenza idraulico compreso tra i 10 e i 60 minuti è possibile ottenerne rimozioni anche superiori al 50%. Al fine di ottimizzare le condizioni operative occorre: garantire una sufficiente aerazione per la miscela effluente-fanghi per incrementare le caratteristiche di sedimentabilità; evitare di compromettere la struttura dei fiocchi, adottando sistemi di aerazione a bolle fini e limitando al massimo l'agitazione meccanica della miscela effluente-fanghi; garantire una concentrazione di solidi nella miscela aerata compresa tra 500 e 1000 mg l<sup>-1</sup>; inserire un comparto di flocculazione all'interno del sedimentatore secondario. I vantaggi del processo TF/SC possono essere così sintetizzati: per concentrazioni di BOD<sub>5</sub> solubile e di SS nell'influente rispettivamente dell'ordine di 100 e 150 mg l<sup>-1</sup> e per carichi idraulici sul sedimentatore fino a 1,5 m h<sup>-1</sup>, si ottengono concentrazioni di BOD<sub>5</sub> e SS nell'effluente non superiori a 10 mg l<sup>-1</sup>; il fango biologico prodotto presenta ottime caratteristiche di sedimentabilità, con valori dello SVI di 60 - 120 ml g<sup>-1</sup>.

### 1.2.4 Sistemi anaerobici

Alcuni aspetti positivi dei sistemi di trattamento anaerobici (quali i ridotti consumi energetici, il possibile recupero di biogas e la bassa produzione di fango di supero) ne hanno finora promosso l'utilizzo soprattutto come fase di pretrattamento di liquami ad alta forza (reflui industriali, percolati di discarica, ecc...). A questi vantaggi si contrappongono i rendimenti ridotti rispetto ai sistemi di trattamento aerobici, la minore velocità di reazione e la elevata sensibilità alla temperatura, che ne hanno finora limitato l'uso nel trattamento delle acque reflue urbane. D'altra parte, la difficoltà di far crescere la biomassa metanigena nelle condizioni tipiche della depurazione delle acque reflue urbane (tempi brevi di ritenzione idraulica e temperatura ambiente) può essere superata adottando configurazioni di bioreattori di tipo avanzato, capaci di trattenere una notevole quantità di biomassa anche in condizioni di elevati carichi idraulici (ad es. reattori del tipo Upflow Anaerobic Sludge Blanket).

I sistemi anaerobici maggiormente utilizzati per il trattamento dei reflui sono: trattamenti anaerobici a colture sospese (digestione anaerobica), tra cui processi per contatto, impianti a letto di fango a flusso ascendente (UASB, Upflow Anaerobic Sludge Blanket), reattori ABR (Anaerobic Baffled Reactor), e trattamenti anaerobici a colture adese (letto fisso e letto espanso). Tipici parametri operativi e di prestazione per alcune di queste categorie sono riportati in Tabella 1.3.

Tabella 1.3 Tipici parametri operativi e di prestazione di alcuni trattamenti anaerobici per la depurazione di reflui ad elevato carico organico.

Processo	COD Influyente [mg/L]	Tempo Ritenzione [h]	Carico Organico [kgCOD/m <sup>3</sup> d]		Rimozione COD [%]
			T=15°-25°C T=30°-35°C		
Processo per contatto	1.500 - 5.000	2 - 10	0,5 - 2	2 - 6	75 - 90
UASB	5.000 - 15.000	4 - 12	1 - 3	3 - 10	75 - 85
Letto fisso	10.000 - 20.000	24 - 48	1 - 3	3 - 10	75 - 85
Letto espanso	5.000 - 10.000	5 - 10	1 - 4	4 - 10	80 - 85

### Trattamenti a colture sospese

#### *Digestione anaerobica*

Sono i sistemi maggiormente utilizzati per la stabilizzazione dei fanghi sia civili che industriali e di recente stanno trovando applicazione anche per il trattamento dei liquami altamente concentrati.

Nel processo di digestione anaerobica il materiale organico presente nei fanghi primari e secondari viene convertito biologicamente in assenza di ossigeno, dando luogo a vari prodotti finali tra i quali principalmente  $\text{CH}_4$  e  $\text{CO}_2$ .

Il processo ha luogo in una vasca a tenuta in cui il fango da trattare viene alimentato ad intermittenza o in continuo e viene con la stessa sequenza scaricato dopo il tempo necessario alla sua stabilizzazione. Contestualmente si provvede all'estrazione periodica del sovranatante, che viene ricircolato in testa alla fase biologica della linea liquame. Pur non essendo previsto alcun ricircolo, l'età del fango coincide con il tempo di detenzione solo se la frequenza di estrazione del fango digerito è la stessa del sovranatante.

Dal punto di vista impiantistico si distingue tra:

- ✚ digestori a medio carico, solitamente non miscelati e non riscaldati, operanti con fattori di carico volumetrico  $F_{CV} = 0,8 - 1 \text{ kgSSV m}^{-3}\text{d}^{-1}$  e con tempi di detenzione variabili tra i 30 e i 60 giorni;
- ✚ digestori ad alto carico, solitamente riscaldati e completamente miscelati, operanti con fattori di carico volumetrico  $F_{CV} = 1,5 - 2 \text{ kgSSV m}^{-3}\text{d}^{-1}$  (a seconda se si tratta di fango misto o fango primario) e con tempi di detenzione non superiori a 15 giorni. Tali sistemi, tuttavia, presentano l'inconveniente di un elevato tenore di SS nel sovranatante a causa dei moti convettivi generati dal

riscaldamento;

- ✚ digestione a doppio stadio, data da una combinazione dei due processi precedenti, con il solo primo stadio riscaldato e miscelato, ed il secondo stadio che realizza la separazione del sovranatante ed un ispessimento del fango stabilizzato. In questo caso si opera con fattori di carico volumetrico  $F_{CV} = 2,5 - 3 \text{ kgSSV m}^{-3}\text{d}^{-1}$  relativi al digestore riscaldato e miscelato; il digestore di secondo stadio è di solito identico al primo per poter disporre di un'eventuale unità di riserva.

I possibili sistemi di miscelazione sono:

- ✚ sistemi meccanici, costituiti generalmente da pompe elicoidali in agitazione in corrispondenza del pelo libero;
- ✚ estrazione del fango dalla parte bassa del digestore, miscelazione con il fango fresco in arrivo e reimmissione (solitamente previo riscaldamento) nella parte alta del digestore;
- ✚ ricircolo del biogas con sua reimmissione nella parte bassa del digestore.

Come sistema di riscaldamento, invece, vengono quasi sempre impiegati scambiatori esterni, realizzati solitamente con serpentine di tubi coassiali per il passaggio del fango e di acqua calda in controcorrente.

Per il corretto svolgimento del processo occorre un attento controllo di numerosi parametri ambientali: il pH deve essere compreso tra 6,6 e 7,6 (al di sotto di 6,2 i batteri metanigeni risultano inibiti), deve essere assicurato sempre un sufficiente apporto di nutrienti (N e P) ed impedito l'ingresso di ossigeno disciolto e metalli pesanti, che risultano inibenti per le popolazioni anaerobiche.

Per contenere l'età del fango (e quindi il tempo di detenzione) necessaria, è opportuno operare con le temperature più elevate possibile, comunque superiori ai 30°C (in campo mesofilo o termofilo). Questo apparente svantaggio in termini di maggiori oneri di esercizio, risulta parzialmente compensato dalle più contenute volumetrie del reattore e quindi da costi d'impianto minori.

Per una stima della produzione di biogas ( $PC_{SUP} = 6000 - 7000 \text{ kCal m}^{-3}$ ) si può considerare che vengono prodotti  $0,25 \text{ kgCH}_4 \text{ kg}^{-1}\text{COD}_{\text{convertito}}$ , che a 25°C corrisponde a  $0,38 \text{ m}^3\text{CH}_4 \text{ kg}^{-1}\text{COD}_{\text{convertito}}$  ovvero  $600 - 1200 \text{ lCH}_4 \text{ Kg}^{-1}\text{SSV}_{\text{rimossi}}$ .

### *Sistemi per contatto*

Vengono impiegati per il trattamento di reflui altamente concentrati, soprattutto di natura industriale.

All'interno di un reattore anaerobico, generalmente dell'altezza di 5 - 10 m, si fanno pervenire il liquame grezzo ed il fango ricircolato dal comparto di sedimentazione posto a valle; il tutto viene intimamente miscelato per il tempo necessario alla stabilizzazione del refluo, dopodiché viene inviato alla fase di sedimentazione: il sovrantante viene solitamente inviato ai trattamenti successivi, mentre il fango anaerobico sedimentato viene ricircolato per il trattamento del refluo influente. A causa dei bassi tassi di sintesi il quantitativo di fango di supero prodotto risulta molto contenuto.

Solitamente, a monte della fase di sedimentazione, per prevenire la formazione di biogas in vasca con i conseguenti problemi di risalita del fango, è prevista una fase di stripping gas, che può essere di tipo meccanico o idraulico.

Per quanto riguarda le metodologie di progetto, non è possibile fare riferimento ad un trattamento di tipo parziale: una incompleta rimozione degli acidi prodotti a seguito del processo di idrolisi, infatti, avrebbe l'effetto di inibire completamente l'attività dei batteri metanigeni e quindi di compromettere l'intero processo.

Per tutti i processi anaerobici la temperatura svolge un ruolo fondamentale: solitamente si fa riferimento ad una temperatura operativa di 35°C (campo mesofilo).

Sia i processi per contatto che quelli di tipo UASB possono essere dimensionati con riferimento a:

✚  $FV, COD = \text{fattore di carico volumetrico di COD} = (Q \cdot C_{COD})/V$

essendo  $C_{COD}$  la concentrazione di COD biodegradabile nell'influente;

✚  $BX, COD = \text{carico organico del fango} = (Q \cdot C_{COD})/(V \cdot X)$

essendo  $X$  la concentrazione di SSV in vasca;

✚  $\theta_{X,M} = \text{età del fango} = (V \cdot X)/P$

essendo  $P$  la produzione di fango, da calcolare come somma tra la sostanza organica inerte nel refluo e la produzione di fango vera e propria nel processo biologico.

### *Impianti a letto di fango a flusso ascendente (UASB)*

Anche questi processi vengono impiegati per il trattamento dei reflui concentrati e rappresentano una moderna variante dei processi per contatto.

L'upflow anaerobic sludge blanket (cosiddetto UASB) è un reattore studiato appositamente per incrementare la concentrazione di biomassa, svincolando il tempo di ritenzione dei solidi dal tempo di residenza idraulico, senza la necessità di un sedimentatore esterno; è stato proposto da Lettinga e collaboratori nel 1980 (Figura 1.4).

Si tratta di un reattore con alimentazione continua, in cui la ritenzione della biomassa è ottenuta attraverso lo sviluppo di fanghi granulari con ottime caratteristiche di sedimentabilità, senza l'utilizzo di materiali di supporto inerti per intrappolare o far aderire la biomassa. Il fenomeno della granulazione è un processo in cui la biomassa flocculante forma dei granuli ben definiti: in questo modo si riesce a raggiungere nel reattore una elevata concentrazione di fango.

Il liquame viene alimentato dalla parte bassa del reattore e attraversa in senso ascendente un letto di fango biologico. Durante questo moto avviene la degradazione anaerobica della frazione biodegradabile, con conseguente produzione di biogas; la sua risalita attraverso il letto determina il trascinamento delle particelle di fango che quindi si ritrovano nell'effluente superficiale e rendono necessaria una fase di separazione a valle. Qui i granuli di fango, liberati dalle bolle di gas che ne hanno favorito la risalita, sedimentano, il biogas invece giunge in superficie e viene raccolto in un'apposita zona di accumulo posta superiormente, mentre l'effluente, relativamente chiarificato, viene scaricato.

Le concentrazioni di fango in vasca risultano praticamente doppie rispetto a quelle tipiche di un processo a contatto e variano tra 5 e 15 kg VSS m<sup>-3</sup> (7 – 20 kgCOD m<sup>-3</sup>).

Per mantenere il letto di fango in sospensione e non determinarne il trascinamento, sono consigliabili velocità di risalita del liquame di 0,6 – 1 m h<sup>-1</sup>.

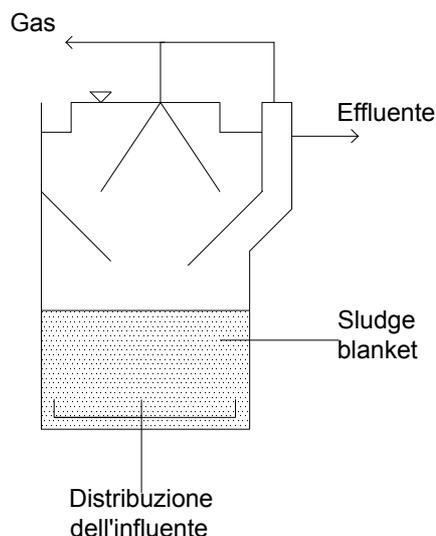


Figura 1.4 Schema semplificato di Upflow Anaerobic Sludge Blanket

L'UASB ha dimostrato buone prestazioni ed elevata affidabilità in diversi impianti in piena scala (Lettinga et al. 1980; Lettinga 1995), ma anche notevoli problemi legati ad una eccessiva espansione del letto o ad una scarsa granulazione della biomassa, con il risultato di provocare un eccessivo wash-out di solidi. Per porre rimedio a questi problemi si sono sviluppati reattori compartimentalizzati come l'*anaerobic baffled reactor* proposto da Bacham (1982): il refluo attraversa due o più comparti posti in serie che consentono di trattenere in maniera più efficace la biomassa.

### Reattore ABR

Il reattore ABR (Anaerobic Baffles Reactor) è stato sviluppato all'inizio degli anni '80 come conseguenza del fallito tentativo di sviluppare un reattore anaerobico a dischi rotanti: i dischi rotanti erano superflui al funzionamento del reattore e furono sostituiti da una serie di setti che dividono il reattore in più camere (Figura 1.5). Ogni singola camera può essere assimilata nel funzionamento ad un reattore UASB e ne ha di conseguenza tutti i vantaggi. Nel contempo però il reattore ABR ne riduce

gli svantaggi in quanto le camere successive operano un efficace trattenimento della biomassa senza dover ricorrere a complicati sistemi di separazione solido/liquido anche in assenza di biomassa aggregata in granuli. I primi reattori di questo tipo erano caratterizzati da un grande numero di camere, oggi, in seguito a studi che hanno accertato la prevalenza del processo nelle prime camere, tali tipi di reattori sono dotati solamente di 3 - 5 camere più una eventuale camera di sedimentazione prima dell'uscita.

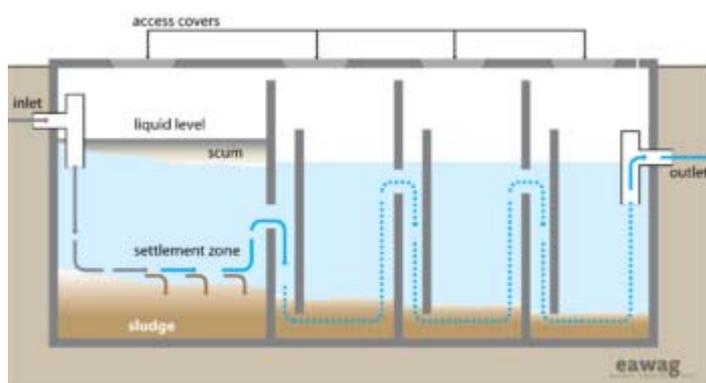


Figura 1.5 Schema di reattore ABR costituito da 4 camere

In un ABR l'aumento del tempo di contatto con la biomassa attiva (fanghi) si traduce in una migliore efficienza di trattamento. La maggior parte dei solidi sedimentabili vengono rimossi in camera di sedimentazione all'inizio del ABR, che solitamente rappresenta il 50% del volume totale. Le camere successive provvedono all'ulteriore rimozione e digestione della materia organica, con riduzione del BOD fino al 90%.

I principali parametri di progettazione includono un tempo di ritenzione idraulico (HRT) tra 48 e 72 ore e una velocità del flusso ascendente del liquame inferiore a  $0,6 \text{ m h}^{-1}$ . Nella Tabella 1.4 successiva sono mostrati i principali vantaggi e svantaggi legati alla tecnologia dei reattori ABR.

*Tabella 1.4 Vantaggi e limitazioni che caratterizzano l'implementazione ed il funzionamento di un reattore ABR.*

---

<b>Vantaggi</b>	<b>Svantaggi / limitazioni</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>- Resistenza a forti variazioni di carico organico e idraulico;</li><li>- Nessuna richiesta di energia elettrica;</li><li>- Le acque grigie possono essere gestite contemporaneamente;</li><li>- Può essere costruito e riparato con materiali disponibili localmente;</li><li>- Presenta una lunga vita di servizio;</li><li>- Se usato correttamente, non presenta problemi di odori o insetti;</li><li>- Elevata riduzione della sostanza organica;</li><li>- Presenta moderati costi di capitale, e bassi costi di esercizio a seconda della frequenza di svuotamento.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Richiede una costante fonte di acqua;</li><li>- Le acque reflue effluenti richiedono un trattamento secondario e / o uno scarico adeguato;</li><li>- Bassa riduzione degli agenti patogeni;</li><li>- Richiede un'attenta progettazione e costruzione;</li><li>- A causa del continuo accumulo dei fanghi, è necessario lo svuotamento ogni 2 o 3 anni e necessita comunque di pre-trattamento per impedire l'intasamento.</li></ul>

### **Trattamenti a colture adese**

I due processi maggiormente utilizzati per il trattamento dei reflui sono i filtri anaerobici (a letto fisso) ed i processi a letto espanso.

I filtri anaerobici consistono in una colonna contenente il materiale di supporto (fisso, di tipo alveolare, oppure sciolto, di tipo sabbioso) per la crescita dei microrganismi deputati alla degradazione biologica del refluo che, per evitare intasamenti, deve presentare un ridotto contenuto di solidi sospesi. Il refluo viene immesso dal basso ed attraversa il filtro in senso ascendente, entrando così in intimo contatto con la biomassa adesa.

Le stesse considerazioni valgono per i processi a letto espanso e fluidizzato, che prevedono un materiale di riempimento di tipo sciolto ed una portata influente tale da mantenere il letto in condizioni espanse o

fluidizzate. Per i sistemi a letto espanso occorre prevedere un allargamento nella zona di testa per favorire la separazione del gas e dei granuli di fango dall'effluente.

Il ridotto apporto di solidi sospesi nell'influente e la bassa produzione di fango consentono quasi sempre di evitare una fase di sedimentazione a valle. E' invece solitamente previsto il ricircolo di una certa aliquota dell'effluente, per raggiungere i valori di portata richiesti e per ottenere una certa diluizione del liquame influente.

A differenza del caso aerobico i batteri non subiscono dilavamento, per cui è possibile raggiungere età del fango molto elevate (finanche di 100 giorni) anche con ridotti tempi di detenzione idraulica, il che rende fattibile anche il trattamento di liquami a bassa forza alla temperatura ambiente. Si giunge a concentrazioni di biomassa di 15000 – 40000 mgSS l<sup>-1</sup>, ed è possibile il trattamento di reflui urbani con tempi di detenzione relativamente bassi.

Le metodologie di dimensionamento risultano molto più incerte rispetto a quelle adottate per i processi a colture sospese. In particolare, è possibile fare riferimento a:

  $F_{V,COD}$  = fattore di carico volumetrico di COD;

  $B_{X,COD}$  = carico organico del fango;

  $r_{V,X}$  = tasso di rimozione specifica del fango [ $\text{kg}_{COD(S)} \text{kg}^{-1}_{COD(B)} \text{d}^{-1}$ ].

## *2 Efficienza energetica degli impianti di trattamento*

Le ultime statistiche disponibili dell'Istat riportano che il numero di abitanti residenti, fluttuanti ed equivalenti trattati negli impianti di depurazione delle acque reflue ammontava nel 2005 a 69.228.977, che considerando un consumo medio d'energia pari a 35 kWh/abitante x anno corrisponde ad una potenza media assorbita dalla rete di 277 MW, cioè pari allo 0,8% del totale della potenza prodotta sul territorio nazionale (34.589 MW). Generalmente, il 30% del costo di esercizio di un impianto di trattamento delle acque reflue è imputato ai consumi energetici, e durante i prossimi 20 o 30 anni, se ne prevede un ulteriore aumento, pari a circa il 30 - 40%.

In questi tempi, si assiste inoltre ad un crescente interesse verso l'adeguatezza delle riserve di carburante disponibili, verso il costo dell'energia ed i livelli di trattamento in costante crescita (che richiedono come conseguenza un aumento dei consumi energetici). Per tali motivi, il progetto e l'esercizio degli impianti di depurazione devono essere realizzati in modo da migliorare l'uso dell'energia elettrica e da ridurre i costi di trattamento.

In questo capitolo, vengono presentate alcune considerazioni generali sull'uso dell'energia elettrica nell'esercizio degli impianti di trattamento delle acque reflue ed alcune tra le strategie utili a consentire, in questo ambito, il miglioramento dell'efficienza e la riduzione dei costi d'esercizio degli impianti stessi. Saranno riportati, infine, alcuni casi di studio oggetto di un'indagine sperimentale sui consumi energetici di impianti in piena scala, condotta nell'ambito del presente lavoro di ricerca di tesi di Dottorato.

## **2.1 Considerazioni generali sull'utilizzo dell'energia elettrica negli impianti di trattamento delle acque reflue**

Generalmente, le richieste energetiche dei sistemi di collettamento e di trattamento delle acque reflue variano proporzionalmente al carico. Per quanto attiene agli impianti di trattamento di reflui civili, la domanda energetica di punta dovrebbe verosimilmente verificarsi tra mezzogiorno e le prime ore serali, quando si presentano le richieste di punta di energia elettrica nel centro abitato, mentre per i reflui di origine industriale la variabilità di concentrazione e portata delle acque di scarico dipende dalla tipologia di industria che le produce ed, in particolare, dalle caratteristiche del processo adottato, dalle materie prime utilizzate, dall'andamento stagionale delle attività produttive, dall'adozione o meno di sistemi di ricircolo.

Con il variare dei carichi delle acque reflue, si modificano conseguentemente anche gli impegni di energia da parte delle stazioni di sollevamento, degli impianti di aerazione nonché delle unità impiegate per il trattamento dei solidi. Alcuni impianti modificano i programmi di funzionamento delle apparecchiature in funzione delle condizioni di carico in ingresso; altri mantengono in esercizio le varie componenti del sistema (quali le soffianti) in modo continuo e alla massima capacità, indipendentemente dal carico.

Come riportato da indagini ISTAT (Sistema delle indagini sulle acque, 1999) ed U.S. EPA (1997), circa l'85% degli impianti di trattamento delle acque reflue forniscono livelli di trattamento secondario o superiore. Nel trattamento secondario convenzionale la maggior parte dell'elettricità viene utilizzata: (1) per il trattamento biologico (ad esempio nel processo a fanghi attivi che richiede energia per l'aerazione, o nel caso dei filtri

percolatori che impegnano energia per il sollevamento dell'influente e per il ricircolo dell'effluente); (2) per le stazioni di sollevamento (che operano il trasferimento delle acque reflue, del fango liquido, del fango trattato e dell'acqua di processo); e (3) per i macchinari necessari per condizionare, disidratare ed essiccare i solidi e il fango. In Figura 2-1 viene mostrata una tipica distribuzione dei diversi impieghi dell'energia in un impianto di trattamento convenzionale a fanghi attivi.

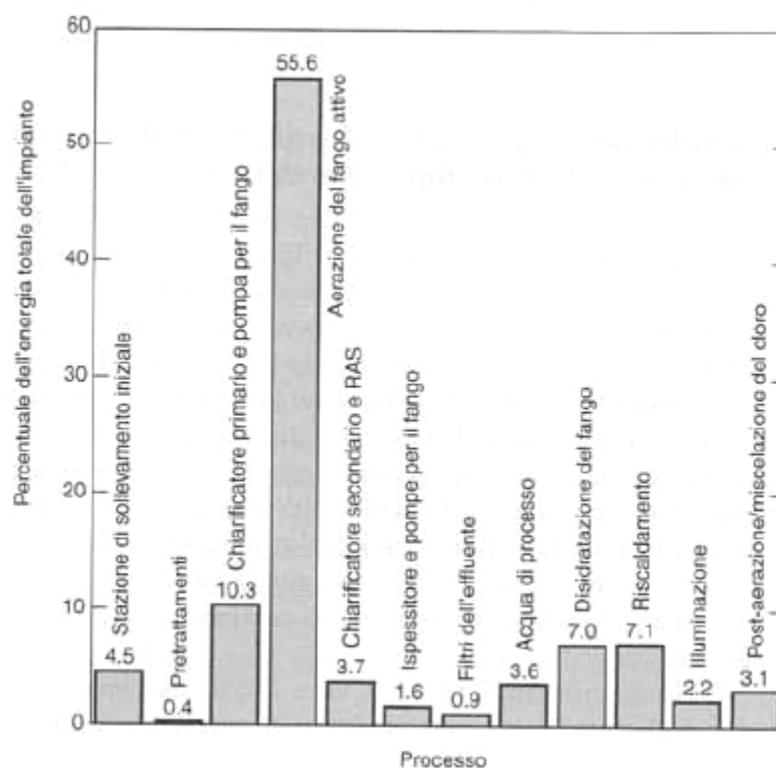


Figura 2-1 Distribuzione dell'utilizzo di energia in un comune impianto di trattamento delle acque reflue che impiega un processo a fanghi attivi (EPRI, 1994).

In particolare, in un impianto di questo tipo sono necessari circa 1100-2400 MJ di elettricità per ogni 1000 m<sup>3</sup> (da 1200 a 2400 kWh per Mgal) di acque reflue. La quantità di elettricità consumata varia poi in relazione alle dimensioni dell'impianto e al tipo di trattamento adottato.

Generalmente, per la rimozione dei costituenti vengono adottate combinazioni di operazioni fisiche (quali sollevamento, grigliatura, sedimentazione e filtrazione) e di processi chimici e biologici. In queste operazioni e processi sono coinvolti vari tipi di apparecchiature elettriche a motore, comprese pompe, soffianti, miscelatori, collettori per il fango e centrifughe.

In Figura 2-2 sono elencati i processi e i macchinari che richiedono energia elettrica in un impianto di depurazione per reflui civili. Gli impianti per il trattamento avanzato delle acque reflue richiedono quantitativi di energia elettrica anche superiori.

Processo o operazione	Attrezzatura comunemente usata	Processo o operazione	Attrezzatura comunemente usata
Sollevamento e trattamento preliminare	Dosatori di additivi chimici per preclorazione, pompe per l'influente, presse del grigliato, trituratori e maceratori, insufflatori per vasche di preaerazione e per dissabbiatura aerata, estrattori di sabbie, pompe per le sabbie e pompe air lif	Trattamenti avanzati	Soffianti per la nitrificazione, aeratori meccanici, miscelatori, pompe per filtri percolatori, pompe per filtri profondi, soffianti per aria di controlavaggio, pompe per filtrazione a membrana
Trattamento primario	Flocculatori, carroponi dei sedimentatori, pompe per fango e schiume, soffianti per bacini di aerazione	Trattamento dei solidi	Pompe, trituratori, carroponi degli ispessitori, dosatori di additivi chimici, miscelatori per digestori anaerobici e vasche di miscelazione, aeratori per digestori aerobici, centrifughe, nastropresse, essiccatori termici, inceneritori, nastri trasportatori
Trattamento secondario (biologico)	Soffianti per vasche di ossidazione a fanghi attivi, aeratori meccanici, pompe per filtri percolatori, distributori del liquame per filtri percolatori, carroponi dei sedimentatori, pompe di ricircolo e spurgo del fango attivo	Sistemi ausiliari	
		controllo odori	Ventilatori di controllo degli odori, dosatori di agenti chimici
		acqua di processo	Pompe
		aria di impianto	Compressori
Disinfezione	Dosatori di additivi chimici, evaporatori, ventilatori per aspirazione gas esausti, attrezzature per la neutralizzazione, miscelatori, pompe di iniezione acqua, lampade UV		

Figura 2-2 Attrezzature comunemente usate negli impianti di trattamento delle acque reflue che richiedono energia elettrica (Metcalf & Eddy, *Ingegneria della acque reflue. Trattamento e riuso*, 4ª Edizione, 2006).

Per quanto attiene inoltre ai processi anaerobici, essi sono stati originariamente applicati al trattamento di stabilizzazione dei fanghi primari e secondari prodotti dagli impianti aerobici di depurazione dei liquami urbani; poi successivamente utilizzati nel trattamento di scarichi industriali concentrati ( $BOD > 2000 - 3000 \text{ mg/l}$ ).

Come meglio specificato nel capitolo precedente, la materia organica biodegradabile viene convertita principalmente in biogas (costituito essenzialmente da una miscela binaria di  $CH_4$  e  $CO_2$ ). Dalla combustione del metano contenuto nel biogas prodotto viene ricavata energia utile. Tale trasformazione può avvenire in diversi modi:

- ✚ Combustione in cogeneratori per la produzione di energia elettrica e di energia termica;
- ✚ Combustione in caldaia, per la produzione di sola energia termica.

L'energia termica può essere utilizzata all'interno del processo stesso per riscaldare l'influenza e per compensare le dispersioni termiche che interessano la coibentazione del reattore (che deve essere mantenuto a  $37^\circ\text{C}$  (mesofilia) o a  $55^\circ\text{C}$  circa (termofilia)), mentre quella elettrica è utilizzabile per il servizio di utenze dedicate o per l'immissione diretta in rete.

La potenzialità del recupero energetico mediante lo sfruttamento dell'elevato potere calorifico del biogas prodotto (in media  $5500 \text{ kcal/Nm}^3$  considerando un contenuto di metano del 60%) a fronte di un continuo aumento del costo dell'energia prodotta da fonti tradizionali sta dando pertanto nuovo impulso allo sviluppo dei sistemi di trattamento anaerobici. Inoltre, tanto maggiore è la concentrazione di sostanza organica contenuta nel refluo, tanto più elevati sono il consumo di energia per

aerazione in un trattamento aerobico e la produzione di metano (e quindi di energia) in un trattamento anaerobico.

A titolo di esempio, si riportano nella Tabella 2-1 dati di letteratura riferiti ad indagini condotte sulla produzione e sul consumo di energia di processi anaerobici ed aerobici, espressi per unità di COD trattato.

E' evidente dunque che scarichi ad elevata concentrazione di sostanza organica garantiscono un vantaggio economico quando depurati anaerobicamente, anche se la realizzazione impiantistica è più complicata.

*Tabella 2-1 Confronto tra processi aerobici ed anaerobici. Biodepurazione di 1 kg COD (DIAR – Sez. Ambiente Politecnico di Milano)*

<b>Tattamento</b>	<b>aerobico</b>	<b>Anaerobico</b>
Consumo di energia	0,5kWh <sub>el</sub>	<0,1kWh <sub>el</sub>
Produzione di energia (dal biogas generato)	0	2880 kCal 12000kJ
Stabilizzazione fanghi	NO	SI

Con l'introduzione di nuove tecnologie di trattamento delle acque reflue, le richieste energetiche cambieranno; l'ampiezza dei potenziali impatti che ne conseguiranno è stata sintetizzata in Figura 2-3. Gli impatti possono consistere sia nella riduzione del consumo energetico dovuto all'adozione di macchinari o sistemi più efficienti, sia nel suo aumento a causa di modifiche apportate alle capacità di trattamento degli impianti, a livelli più avanzati di depurazione o a nuove tecnologie il cui esercizio è basato

sull'energia elettrica, come per esempio il trattamento a membrana, la disinfezione con UV e la digestione aerobica autotermica (ATAD).

Tecnologia	Consumo energetico	
	kWh/Mgal	MJ/1000 m <sup>3</sup>
Diffusori a bolle fini (per aerazione)	-125 fino a -150	-120 fino a -140
Diffusori a microbolle	-180 fino a -220	-170 fino a -210
Sistemi di controllo dell'ossigeno disciolto (in confronto al controllo manuale)	-50 fino a -100	-48 fino a -95
Sistemi di controllo energeticamente efficienti delle soffianti, per esempio alette distributrici, valvole a farfalla in ingresso o inverter a velocità variabile	-50 fino a -150	-48 fino a -140
Soffianti di aerazione energeticamente efficienti (in confronto alle soffianti con alette in ingresso)	-100 fino a -150	-95 fino a -140
Disinfezione a raggi ultravioletti	+50 fino a +200	+48 fino a +190
Membrane		
microfiltrazione	+200 fino a +400	+190 fino a +380
osmosi inversa	+1000 fino a +2000	+950 fino a +1900

Figura 2-3 Consumo energetico delle nuove tecnologie per il trattamento delle acque reflue (Metcalf & Eddy, *Ingegneria della acque reflue. Trattamento e riuso*, 4<sup>a</sup> Edizione, 2006).

## 2.2 Strategie per migliorare l'efficienza energetica

Esistono alcune strategie di gestione dell'uso dell'energia elettrica in un impianto di trattamento delle acque reflue che utilizzano il concetto della domanda elettrica. L'industria per l'energia elettrica ha da tempo riconosciuto l'importanza di integrare la pianificazione tradizionale basata sull'offerta con la gestione basata sulla domanda, così da ridurre le richieste di punta. L'obiettivo di questo tipo di gestione è quello di modificare le caratteristiche dei carichi elettrici (la quantità di energia utilizzata nelle varie ore della giornata) attraverso il miglioramento

dell'efficienza energetica e il controllo del funzionamento delle apparecchiature. È stato inoltre rilevato che in futuro si avrà un continuo incremento dei carichi, dal momento che gli impianti vengono ampliati per soddisfare le nuove richieste di collettamento e trattamento di reflui domestici e industriali. I provvedimenti per migliorare l'efficienza energetica richiedono la conoscenza della quantità di energia utilizzata negli impianti per il trattamento dai vari elementi che compongono il processo depurativo.

Uno dei sistemi migliori per conoscere appieno l'uso dell'energia e individuare le potenzialità di miglioramento dell'efficienza e della gestione energetica consiste nel condurre un'indagine sperimentale sull'energia in un impianto esistente. Diversi sono i livelli di indagine energetica sperimentale che possono essere effettuati, compresa una rassegna preliminare per ottenere una descrizione generale dei principali macchinari che fanno uso di energia, o anche un'indagine sperimentale di processo dettagliata nella quale viene valutato il consumo energetico per ogni componente del processo (EPRI, 1994). Generalmente uno dei compiti di un'indagine sperimentale consiste nell'individuare i principali processi e le operazioni che consumano il maggior quantitativo di energia, quali ad esempio, l'aerazione in un impianto a fanghi attivi o il sistema di pompaggio in un sistema con filtri percolatori.

Come illustrato in precedenza in Figura 2-1, circa il 50% dell'energia elettrica in un impianto a fanghi attivi viene utilizzato per l'aerazione e, pertanto, questa operazione è il primo elemento che porta a considerare le misure alternative di gestione dell'energia, le quali possono condurre a una riduzione dei consumi energetici e dei costi. In Figura 2-4 vengono riportate sinteticamente altre indicazioni che consentono di conseguire il risparmio energetico, basate su indagini sperimentali di impianti di depurazione esistenti.

- Installare inverter su pompe e soffianti per le operazioni a portata variabile
- Installare dispositivi di monitoraggio e controllo dell'OD nei bacini di aerazione
- Condurre test periodici sulle pompe e riparare o sostituire le pompe inefficienti
- Mettere in funzione i generatori di emergenza durante i periodi di punta per ridurre la richiesta di potenza
- Installare dispositivi elettrici di monitoraggio del carico elettrico
- Installare condensatori per migliorare il fattore di potenza
- Cambiare o ridurre le operazioni di pompaggio
- Sostituire i motori sovradimensionati
- Effettuare le operazioni nei periodi di consumo minimo

*Figura 2-4 Comuni raccomandazioni di verifica per conseguire il risparmio energetico in diversi impianti di trattamento.*

L'utilizzo e il costo dell'energia possono così essere ridotti apportando delle modifiche all'esercizio dell'impianto o provvedendo all'adeguamento di processi e macchinari. I cambiamenti di carattere operativo possono essere effettuati generalmente con un minimo o anche nullo aumento dei costi. L'adeguamento dei processi e dei macchinari, tuttavia, richiede spesso spese significative per modificare o sostituire apparecchiature esistenti, o per costruire nuove strutture fisiche e per installare i macchinari.

### ***2.3 Recupero energetico (biogas e corrente elettrica): Indagine sperimentale sui consumi energetici di impianti in piena scala***

I processi depurativi sono caratterizzati da consumi energetici che aumentano all'aumentare delle prestazioni richieste.

La corretta progettazione e gestione degli impianti di depurazione, oltre ad una maggiore efficienza depurativa, può consentire di migliorarne le prestazioni in termini di salvaguardia ambientale ed effetto sul clima, in relazione ai risparmi energetici conseguibili adottando tecnologie a basso

consumo energetico per l'abbattimento degli inquinanti presenti in sospensione e l'autoproduzione d'energia utilizzando il biogas derivante dalla digestione anaerobica dei fanghi.

Nell'ambito del presente paragrafo, sono riportati i consumi medi d'energia risultanti dallo svolgimento di alcune indagini sperimentali condotte sui consumi energetici di impianti in piena scala che utilizzano differenti tecnologie e processi di trattamento di acque reflue.

### **2.3.1 Caso studio: Impianto di trattamento di liquami domestici che utilizza la tecnologia a membrana (MBR, membrane biological reactor) – HERA Bologna S.r.l., Calderara di Reno (BO)**

A tutt'oggi sono riportati pochi casi studio sui consumi energetici di impianti operanti mediante tecnologia MBR in piena scala, essendo questo un sistema di trattamento di recente introduzione.

Riveste pertanto particolare interesse lo studio riportato in oggetto, condotto sull'impianto di proprietà HERA Bologna S.r.l. situato nell'area di Calderara di Reno (BO), e che tratta liquami di origine civile, mediante tecnologia MBR. Per la realizzazione del caso studio viene impostata un'indagine conoscitiva dei consumi energetici di ciascuna apparecchiatura elettromeccanica a servizio del processo, con i relativi tempi di funzionamento giornalieri, portata trattata ed eventualmente i dati di COD totale nel liquame influente ed effluente dall'impianto. L'obiettivo finale consiste nell'individuare il consumo energetico espresso in termini di  $\text{kWh/m}^3\text{liquame}_{\text{trattato}}$  ovvero  $\text{kWh/kgCOD}_{\text{rimosso}}$ .

Nella Tabella 2-2 è riportato, per l'impianto oggetto dell'indagine sperimentale, un elenco delle singole apparecchiature coinvolte nelle diverse fasi di processo e che fanno uso di energia. Sono indicati i dati relativi alle potenze installate totali ed alle potenze assorbite totali da imputare a ciascun macchinario, unitamente alle ore medie di funzionamento per giorno. Nell'ultima colonna sono poi riportati i valori finali dei consumi espressi in  $\text{kWh/d}$ , ottenuti per ciascuna fase del processo di trattamento. Conoscendo la portata media trattata dall'impianto, è possibile individuare il consumo energetico espresso in termini di  $\text{kWh/m}^3\text{liquame}_{\text{trattato}}$  (come riportato in basso in Tabella 2-2) che, noto per l'impianto in oggetto l'utilizzo di membrane di tipo immerso,

appare particolarmente elevato, se posto a confronto con i valori relativi ai consumi energetici di impianti MBR riportati in letteratura (Tabella 2-3).

*Tabella 2-2 Risultati dell'indagine sperimentale condotta sull'impianto di trattamento di reflui civili di proprietà HERA Bologna S.p.A., che utilizza la tecnologia MBR.*

Attività di ricerca							
Indagine sperimentale sui consumi energetici di impianti in piena scala: Impianto di trattamento reflui civili che utilizza la tecnologia MBR							
Portata media trattata 730 m <sup>3</sup> /d							
Fase	Apparecchiature	SIGLA	N°	Pot. Inst. Tot [kW]	Pot. Ass. Tot [kW]	Ore m. funz. [h/d]	Consumi [kWh/d]
Pre-Denitrificazione	Mixer	MIX 02	1	1.5	1.3	24	36
Pre-Denitrificazione	Griglia	GR 03	1	1.1	0.9	24	26
Ossidazione	Soffiatori	BL 04	1	37	18.5	24	444
Ossidazione	Soffiatori	BL 05/06	2	84	37.8	24	923
Sezione membrane	Elettropompa sommersa	P 03 A/C	3	3.9	2.55	10	26
Sezione membrane	Elettropompa anello	P 04 A/B	2	3	2.4	1	2
Sezione membrane	Elettropompa centrifuga	P 05 A/B	2	2.4	2.2	0	0
Post-Denitrificazione	Mixer	MIX 03	1	1.5	1.3	24	36
Sollev. Post-denitro	Elettropompa sommersa	P 06 A/C	3	9	8.1	24	214
					kWh/m <sup>3</sup>	2.34	

Infatti, i consumi energetici medi indicati in letteratura (Ben Aim et al., 2003) per gli impianti di trattamento che utilizzano la tecnologia MBR, sono compresi tra 1 e 3 kWh/m<sup>3</sup>liquame<sub>trattato</sub> per membrane esterne, e tra 0,1 e 0,3 kWh/m<sup>3</sup>liquame<sub>trattato</sub> per membrane immerse.

*Tabella 2-3 Dati di letteratura relativi a costi e consumi energetici che caratterizzano comunemente gli impianti di trattamento di acque reflue operanti mediante la tecnologia MBR.*

**MBR: costi energetici**

Costi di energia 0.05 euro/1 kWh			Costo membrane (~6 anni durata) Euro/m <sup>3</sup> acqua trattata			
Sistema	Consumo kWh.m <sup>-3</sup>	Costo Euro/m <sup>3</sup>	Membrane euro/m <sup>2</sup>	Flusso l.m <sup>-2</sup> h <sup>-1</sup>		
Esterne	1-3	0.05-0.15		10	50	100
Immerse (controllo fouling)	0.1-0.3	0.005- 0.015	40	0.08	0.016	0.008
			80	0.16	0.032	0.016
Aerazione	0.3-0.6	0.015-0.03	100	0.2	0.04	0.02

### 2.3.2 Caso studio: Impianto di trattamento di liquami industriali che utilizza la tecnologia SBR (sequencing batch reactor) e recupero energetico mediante digestione anaerobica – I.C.V. S.p.A, provincia di Padova

La tecnologia SBR, come riportato precedentemente nel Capitolo 1, consiste in un sistema di trattamento biologico a flusso discontinuo, costituito da un bacino in cui si sviluppano processi di ossidazione biologica e di sedimentazione e dal quale si provvede altresì all'estrazione sia dell'effluente depurato che dei fanghi di supero. Tali processi vengono condotti in tempi diversi, variando ciclicamente le condizioni di funzionamento dell'impianto. Operando opportunamente sui tempi delle varie fasi, si ripropone di fatto un processo a fanghi attivi, nel quale però, le diverse fasi di processo si susseguono in sequenza temporale piuttosto che spaziale, come avviene negli impianti tradizionali.

La tecnologia SBR trova attualmente vasta applicazione, grazie alle sue caratteristiche di semplicità e flessibilità impiantistica, che consentono un rapido ed efficace adattamento di questi sistemi alle più svariate condizioni e permettono l'applicazione di strategie di gestione volte alla minimizzazione dei consumi energetici.

Riveste pertanto particolare interesse lo studio riportato in oggetto, condotto sull' impianto di proprietà I.C.V. S.p.A., situato nella provincia di Padova e che tratta reflui industriali, rappresentati da scarti di lavorazione delle vinacce, per il quale in Figura 2-5 è riassunto lo schema di processo. In particolare, sono indicate le principali fasi biologiche e chimico-fisiche condotte, le caratteristiche essenziali dei liquami trattati e dell'effluente finale (esprese in termini di COD totale e azoto ammoniacale), nonché la produzione di biogas ottenuta dal processo di digestione anaerobica.

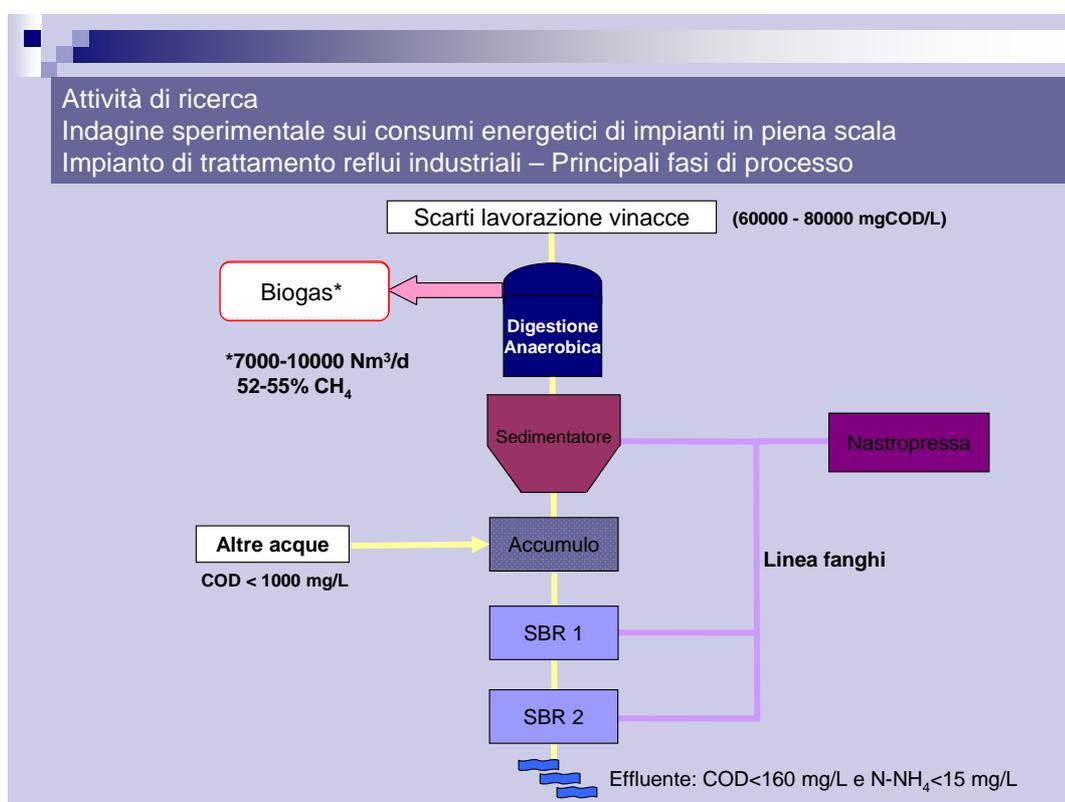


Figura 2-5 Schema di processo dell'impianto di trattamento di reflui industriali (scarti di lavorazione delle vinacce), oggetto di indagine conoscitiva sui consumi energetici, che utilizza la tecnologia SBR (sequencing batch reactor) e per il quale è previsto un recupero energetico mediante digestione anaerobica.

Per realizzare tale studio viene impostata un'indagine conoscitiva dei consumi energetici delle principali apparecchiature elettromeccaniche a servizio del processo, ed in accordo con la programmazione temporale

delle diverse fasi del processo depurativo relative al funzionamento dell'SBR. Lo studio è stato condotto con limitazione alle fasi di trattamento aerobico dell'SBR, che rappresentano la voce di maggior consumo per l'impianto esaminato.

Nella Tabella 2-4 è riportato l'elenco delle apparecchiature che fanno uso di energia nelle fasi di trattamento del refluo industriale mediante SBR. Sono indicati i dati relativi alle potenze assorbite totali da imputare a ciascun macchinario, unitamente al numero di apparecchiature coinvolte in ciascuna fase.

Conoscendo la portata media trattata dall'impianto, è possibile individuare il consumo energetico espresso in termini di kWh/m<sup>3</sup>liquame trattato (come riportato in Tabella 2-4) il cui valore è consono ai consumi energetici degli impianti SBR riportati in letteratura. Occorre precisare inoltre, che i valori riportati non tengono conto dell'eventuale autoproduzione derivante dalla valorizzazione energetica del biogas.

*Tabella 2-4 Risultati dell'indagine sperimentale sui consumi energetici dell'impianto di trattamento di reflui industriali di proprietà I.C.V. S.p.A., che utilizza la tecnologia SBR e per il quale è realizzato un recupero energetico mediante produzione di biogas da digestione anaerobica.*

Attività di ricerca Indagine sperimentale sui consumi energetici di impianti in piena scala: Impianto di trattamento reflui industriali (scarti di lavorazione delle vinacce)					
Portata media trattata 300 m <sup>3</sup> /d					
Processo	Apparecchiature	Marca	N°	Fase	Pot. Assorbita [kW]
SBR 1	Aeratori	OKI	5	miscelazione	10
				aerazione	20
	Aeratori	Robuschi	1		65
					85
SBR 2	Mixer	ABS	3		15
	Aeratori	-	3		20
Consumi totali				6890 [kWh/d]	
				23 [kWh/m <sup>3</sup> liquame trattato]	
Produzione biogas (Recupero energetico)	7000 – 10000 Nm <sup>3</sup> /d	Motore lenbacher	1 MW [Pot. Installata]		

### 2.3.3 Caso studio: Impianto di trattamento di liquami suinicoli che utilizza la tecnologia SBR (sequencing batch reactor) - S.Anna, provincia di Modena

L'indagine conoscitiva i cui risultati vengono riportati di seguito, è stata condotta sull'impianto di trattamento di liquami suinicoli che opera a servizio dell'azienda suinicola S. Anna, situata nella provincia di Modena, per il quale in Figura 2-6 è riassunto lo schema di processo.

Per realizzare tale studio viene impostata un'indagine conoscitiva dei consumi energetici delle principali apparecchiature elettromeccaniche a servizio del processo, con particolare riferimento alle fasi di trattamento aerobico condotte mediante tecnologia SBR, che rappresentano la voce di maggior consumo per l'impianto esaminato.

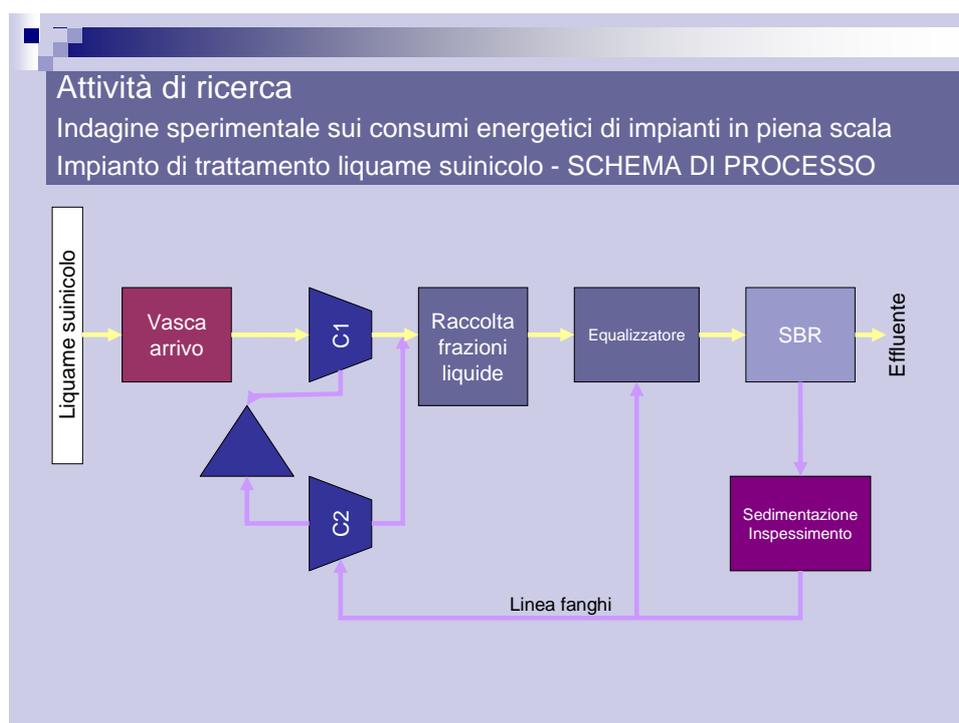


Figura 2-6 Schema di processo dell'impianto di trattamento di liquame suinicolo a servizio dell'azienda agricola S. Anna, oggetto di indagine conoscitiva sui consumi energetici e che utilizza la tecnologia SBR (sequencing batch reactor).

Sulla base delle informazioni disponibili relative alle caratteristiche tecniche delle apparecchiature elettromeccaniche installate a servizio dell'impianto di depurazione, ed in accordo con la programmazione temporale delle diverse fasi del processo depurativo relative al funzionamento dell'SBR, è possibile procedere alla stima dei consumi energetici giornalieri ascrivibili alle apparecchiature installate.

In particolare, nella Tabella 2-5 vengono riportate le caratteristiche relative agli organi di sollevamento presenti nell'impianto come la potenza, le ore di funzionamento giornalieri e il consumo giornaliero.

Nella Tabella 2-6 invece, si riportano le informazioni relative alle centrifughe, ai mixer e agli aeratori presenti nell'impianto.

Tabella 2-5 Dati tecnici relativi agli organi di sollevamento a servizio dell'impianto di

depurazione oggetto di studio.

**Attività di ricerca**  
Indagine sperimentale sui consumi energetici di impianti in piena scala:  
Impianto di trattamento liquame suinicolo - SOLLEVAMENTO

Portata media trattata 70 m<sup>3</sup>/d

Apparecchiature	SIGLA	Pot. Instal. Tot [kW]	Ore medie funz. [h/d]	Consumi [kWh/d]
carico t.q. alla centrifuga (1 + 1R)	P1-P2	4	4	16
carico da equalizz a SBR1	P3A-P3B	1,5	2,5	3,75
carico da equalizz a SBR2	P4A-P4B	1,5	2,5	3,75
scarico fango supero da SBR1 al sedimentatore	P5	1,5	3	4,5
scarico fango supero da SBR2 al sedimentatore	P6	1,5	3	4,5
scarico chiarificato da SBR1	P7	2,65	0,56	1,48
scarico chiarificato da SBR2	P8	2,65	0,56	1,48
carico fango sedimentato da sedimentatore ad ispessitore	P9A-P9B	1,5	2	3
carico fango ispessito alla centrifuga	P10	2,2	2	4,4

Tabella 2-6 Dati tecnici delle apparecchiature elettromeccaniche a servizio dell'impianto di depurazione oggetto di studio.

**Attività di ricerca**  
Indagine sperimentale sui consumi energetici di impianti in piena scala:  
Impianto di trattamento liquame suinicolo – SEZIONE OSSIDAZIONE

Portata media trattata 70 m<sup>3</sup>/d

Apparecchiature	SIGLA	Pot. Instal. Tot [kW]	Ore medie funz. [h/d]	Consumi [kWh/d]
Centrifuga tal quale e fango ispessito	C1+C2	15+15	4+2	60+30
Mixer vasca arrivo tal quale	M1	4,1	4	16,4
Mixer vasca equalizzazione	M2	4,1	10	41
Mixer vasca SBR1	M3	13,3	7	93,1
Mixer vasca SBR2	M4	13,3	7	93,1
Aeratore SBR1	A1A	30	10	300
Aeratore SBR1	A1B	30	10	300
Aeratore SBR2	A2A	30	10	300
Aeratore SBR2	A2B	30	10	300
<b>CONSUMI TOTALI</b>				1576,46 [kWh/d]
				22,5 [kWh/m <sup>3</sup> liquame trattato]

La potenza giornaliera consumata da tutte le apparecchiature elettromeccaniche ammonta a 1576,46 kWh che considerata per un anno di funzionamento equivale a 575,4 MWh/anno.

Noti i valori di portata media giornaliera di liquame trattato, è possibile individuare il consumo energetico espresso in termini di kWh/m<sup>3</sup>liquame<sub>trattato</sub> (come riportato in basso in Tabella 2-6) che appare consona ai consumi energetici degli impianti SBR riportati in letteratura (a conferma di ciò si noti che tale valore è pressoché analogo a quello ottenuto dall'indagine sperimentale condotta sull'impianto di trattamento di scarti di lavorazione delle vinacce, esaminato nel caso precedente). I consumi sono stati messi a confronto con quelli desunti dalle bollette energetiche messe a disposizione dal gestore, relative ai consumi energetici dell'allevamento suinicolo nel suo complesso (di cui l'impianto di trattamento reflui costituisce una parte).

Dal confronto tra i dati di consumo energetico attribuibile al solo impianto di depurazione, riportati in Tabella 2-5 e Tabella 2-6, con i valori dei consumi energetici totali mensili sostenuti dall'azienda agricola, si desume che i consumi del solo impianto di trattamento reflui costituiscono circa il 56% dei consumi totali; tale evidenza è in linea con quanto stimato in maniera autonoma dal gestore (55%).

### **2.3.4 Efficienza energetica di impianti a fanghi attivi convenzionali di piccola scala (Hu H.Y. et al., 2000)**

La voce di maggior consumo (circa il 50% del totale) per un impianto di depurazione biologica con una sezione di ossidazione è rappresentata, come detto in precedenza, dall'energia consumata per l'aerazione stessa. Si hanno invece consumi minori per sistemi con letti percolatori e dischi biologici, nei quali il trasferimento dell'ossigeno avviene mettendo a contatto l'acqua con l'aria, mentre consumi molto più elevati si hanno in

tutti quei sistemi dove è l'aria che, insufflata, viene messa a contatto con l'acqua. In tal caso i consumi possono arrivare a valori anche dell'ordine di 50 - 120 kWh/ab anno (ovvero 20 - 30 W/m<sup>3</sup>vasca).

Al fine di individuare i consumi energetici medi di impianti operanti mediante tecnologie tradizionali ed ampiamente consolidate, vengono qui riportati i dati di letteratura relativi a studi condotti su un elevato numero di impianti di trattamento di acque reflue, aventi piccole dimensioni (portate medie minori di 5000 m<sup>3</sup>/d) e che utilizzano la tecnologia a fanghi attivi (Hu H.Y. et al., 2000).

Dai dati riportati emerge che gli impianti monitorati presentano mediamente elevate efficienze di rimozione in termini di BOD e COD, ma efficienze energetiche non ottimali.

L'energia totale consumata negli impianti a fanghi attivi di piccola scala presenta un valore medio che si aggira intorno a 1 kWh/m<sup>3</sup>liquame<sub>trattato</sub>, valore che risulta essere doppio rispetto al valore medio di energia consumata, calcolato comprendendo anche gli impianti di grandi dimensioni (0,45 kWh/m<sup>3</sup>liquame<sub>trattato</sub>).

I consumi energetici per unità di volume trattato di acque reflue, calcolati in funzione della dimensione degli impianti monitorati, sono riportati in Figura 2-7.

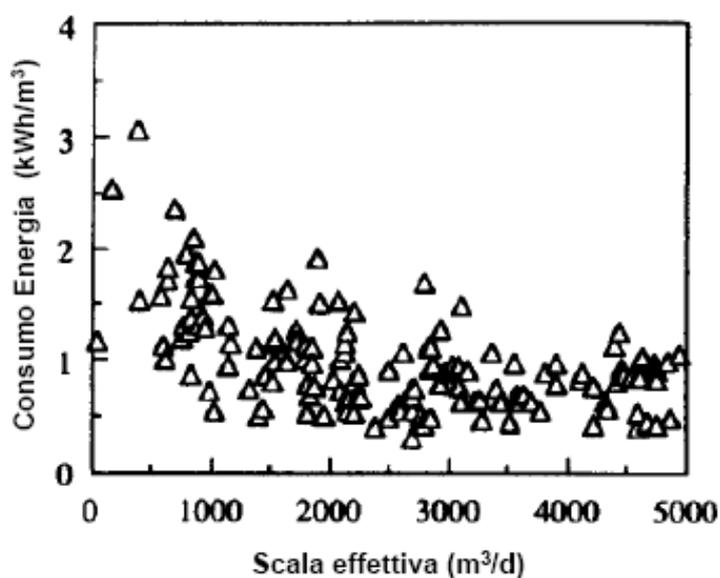


Figura 2-7 Andamento del consumo totale di energia in funzione della dimensione di impianto.

Dall'andamento del grafico si nota che i consumi totali di energia presentano una netta tendenza ad aumentare in corrispondenza della diminuzione della scala effettiva dell'impianto.

Una delle ragioni di questo fenomeno risiede nel fatto che, generalmente, gli impianti di piccole dimensioni non beneficiano delle cosiddette economie di scala. In Tabella 2-7 sono riassunti i consumi elettrici medi (espressi in termini di kWh/m<sup>3</sup>liquame<sub>trattato</sub>) rilevati sugli impianti oggetto di studio, in funzione della dimensione degli stessi e con riferimento al numero di impianti monitorati per ciascuno dei 4 intervalli di scala individuati.

Tabella 2-7 Consumi elettrici totali rilevati sugli impianti a fanghi attivi monitorati.

Scala effettiva (liquame trattato)	N° di impianti monitorati	Energia totale consumata media

[m <sup>3</sup> /d]		[kWh/m <sup>3</sup> ]
< 1500	39	1,42
1500-2500	42	0,96
2500-3500	35	0,83
>3500	36	0,77
Media	-	1,0

Come detto in precedenza, la maggior parte dell'energia elettrica in un impianto a fanghi attivi viene utilizzata per l'aerazione. Pertanto, il consumo di energia delle soffianti rappresenta un fattore chiave nel controllo dell'energia consumata per unità di BOD rimosso (Figura 2-8).

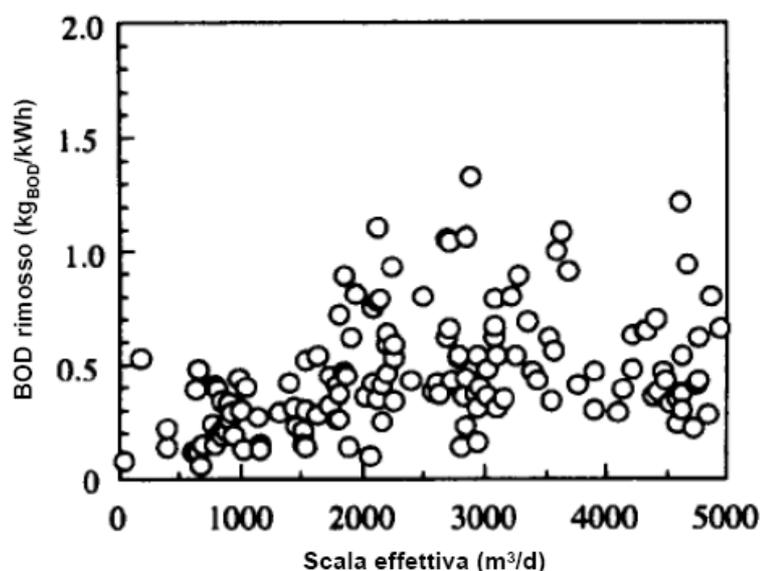


Figura 2-8 BOD rimosso per unità di energia consumata durante l'aerazione del liquame in trattamento negli impianti a fanghi attivi monitorati, in funzione delle dimensioni degli impianti stessi.

Inoltre, la portata influente rilevata per gli impianti indicati è risultata essere, per ciascun sistema depurativo, molto inferiore al valore massimo potenziale ammesso al trattamento. Pertanto, emerge chiaramente che il

consumo di ossigeno in fase di aerazione del liquame, dovrebbe essere notevolmente ridotto rispetto alle condizioni di progetto.

Nella Tabella 2-8 sono riassunti i valori dei consumi di energia medi indicati per ciascuna fase del processo a fanghi attivi.

*Tabella 2-8 Consumi medi di energia riassunti e suddivisi per fase nell'ambito del processo a fanghi attivi.*

---

<b>Processo</b>	<b>Consumo medio di energia per 1000 m<sup>3</sup> trattati [kWh]</b>
Trattamenti preliminari	5,4
Sedimentazione primaria	9,5
Ricircolo fanghi	17
Aerazione	130
Miscelazione e pompaggio	28
Sedimentazione finale	5,4
<b>TOTALE</b>	<b>195,3</b>

---

### ***3 Produzione biologica di elettricità mediante una Microbial Fuel Cell***

#### ***Generalità***

Numerosi processi biologici consentono la produzione di energia in maniera indiretta, quali ad esempio i processi di digestione anaerobica finalizzati alla produzione di biogas e/o produzione biologica di idrogeno. In tale contesto si inserisce la tecnologia delle Microbial Fuel Cell, che consente la produzione diretta di energia elettrica, finalizzata al recupero energetico inteso al miglioramento dell'efficienza energetica e alla riduzione dei costi d'esercizio di impianti di trattamento biologico dei reflui.

In linea di principio una cella a combustibile (Fuel Cell) è un generatore elettrochimico in cui vengono immessi un combustibile e un ossidante e da cui si ricavano corrente elettrica continua, acqua e calore. Essa è simile alle comuni pile e quindi è essenzialmente formata da due elettrodi, catodo ed anodo, da un elettrolita, che consente la migrazione degli ioni, e da un circuito elettrico esterno. Nella cella a combustibile però la materia attiva viene continuamente rinnovata e quindi la corrente elettrica continua può teoricamente essere erogata indefinitamente solo se si mantiene costante l'alimentazione di combustibile e di gas ossidanti.

In una Fuel Cell avvengono reazioni di ossidazione del combustibile all'anodo e reazioni di riduzione dei gas ossidanti al catodo: il processo di ossidazione rilascia elettroni che giungono al catodo attraverso un circuito esterno compiendo, pertanto, un lavoro elettrico; il circuito è poi chiuso dal movimento di ioni positivi dall'anodo verso il catodo, attraverso l'elettrolita.

Bullen et al. (2006) hanno schematizzato le Fuel Cell in questo modo:

- ✚ *Celle a combustibile tradizionali*, che utilizzano combustibili inorganici od organici quali idrogeno od idrocarburi, e producono corrente elettrica continua, acqua e anidride carbonica. La caratteristica di tali celle è che lavorano a temperature elevate e richiedono gruppi di catalizzatori inorganici molto costosi (solitamente metalli).
- ✚ *Celle a combustibile biologiche* (dette MFC, acronimo anglosassone di Microbial Fuel Cell), che sfruttano le potenzialità delle molecole biologiche. Le reazioni vengono infatti catalizzate da microrganismi oppure da enzimi implicati in processi di degradazione dei substrati biodegradabili utilizzati come combustibili. Inoltre esse permettono di lavorare a basse temperature e in diverse condizioni operative.

A questo proposito è da lungo tempo nota la capacità di alcuni microrganismi di generare elettricità trasferendo elettroni da diversi substrati agli elettrodi; ciononostante la necessità di ricorrere a specie chimiche costose e tossiche per permettere il trasporto degli elettroni ha impedito lo sviluppo di tecnologie basate su tale caratteristica.

Solo recentemente si sta assistendo allo sviluppo di celle a combustibile microbiche (MFC), che consentono la trasformazione diretta di energia chimica in energia elettrica, utilizzando il metabolismo dei microrganismi per catalizzare le reazioni di ossidazione di substrati biodegradabili.

Le MFC, progettate per la produzione di energia elettrica utilizzando il substrato presente nelle acque reflue, sfruttano i microrganismi naturalmente presenti nei reflui sia per degradare la sostanza organica presente nelle acque di scarico, sia per trasferire gli elettroni all'anodo (Lovley 2006).

Logan (2005\_a), evidenziandone l'aspetto depurativo, ha proposto un'ulteriore definizione di MFC, considerandola come un sistema di trattamento "ibrido", costituito cioè da uno stadio anaerobico (necessario

per la produzione di corrente elettrica), seguito da uno stadio mantenuto in condizioni aerobiche, ove però l'ossigeno non è consumato dalla biomassa aerobica, ma utilizzato per completare le reazioni di ossidoriduzione all'interno della cella stessa.

Da quanto finora esposto, ci si rende conto che le Microbial Fuel Cell potrebbero rappresentare, per il futuro, una delle forme tecnologicamente più avanzate di produzione di energia rinnovabile (recupero energetico) e, al contempo, potrebbero consentire l'ossidazione quasi completa dei composti organici contenuti nei reflui, a basso o nullo costo economico. Inoltre esse presentano il grosso vantaggio di produrre una ridotta quantità di biomassa, permettendo quindi di ridimensionare il problema dello smaltimento dei fanghi di supero.

Dal punto di vista delle prestazioni elettriche è stato osservato che per le MFC è possibile ottenere un potenziale massimo di  $0,5\div 0,8$  V, valore simile a quello generato nelle celle ad idrogeno. Questo potenziale è piuttosto basso, ma può essere aumentato disponendo più celle in serie (Logan, 2005\_a).

È opportuno infine evidenziare che, nei primi studi realizzati con le MFC, la quantità di corrente generata era molto bassa, ma negli ultimi anni, intensificandosi gli sforzi nella ricerca, sono stati osservati sostanziali incrementi della potenza prodotta. Pertanto, secondo Logan et al. (2005\_b), è lecito attendersi che una tecnologia di trattamento delle acque reflue, basata sulle MFC, sia realizzabile entro pochi anni.

### **3.1 Principi di funzionamento**

Nella configurazione più convenzionale, una Microbial Fuel Cell è costituita da due comparti, uno anodico ed uno catodico (entrambi

realizzati in grafite più o meno trattata), separati da una membrana di selezione cationica (ovvero una membrana di scambio protonico).

L'energia chimica, disponibile grazie alla presenza del substrato biodegradabile, è trasformata direttamente in energia elettrica per azione della biomassa, la quale funge da catalizzatore per la rimozione degli elettroni dal substrato.

I batteri sono organismi di dimensioni molto piccole (circa 1  $\mu\text{m}$ ) e sono in grado di convertire un'enorme varietà di substrati in  $\text{CO}_2$ , acqua ed energia. I microrganismi responsabili del processo possono essere sia quelli adesi all'elettrodo sia quelli sospesi nel reattore. Essi usano l'energia prodotta per la crescita e per il metabolismo, ma tramite le MFC è possibile raccogliere parte di questa energia sotto forma di elettricità.

### 3.1.1 Substrato

In una MFC è generalmente utilizzata come fonte di combustibile sostanza organica biodegradabile.

I combustibili di natura organica non possono essere utilizzati in MFC operanti in condizioni abiotiche perché, diversamente dall'idrogeno (solitamente usato nelle tradizionali FC), non sono elettrochimicamente attivi. Si ha dunque la necessità di progettare MFC che abbiano almeno il comparto anodico biotico, in cui cioè i microrganismi possano catalizzare il rilascio di elettroni dalla sostanza organica e trasferirli a diversi portatori di elettroni che si dicono elettrochimicamente attivi.

In letteratura sono riportate esperienze di produzione di corrente elettrica a partire da numerosi tipi di substrato: acetato (Bond e Lovely, 2002; Logan et al., 2004\_b), glucosio (Liu e Logan, 2004\_b; Verstraete et al., 2005; Jang et al., 2004; Tartakovsky e Guiot, 2006; Bennetto e Allen, 1993; Park e Zeikus, 2000; Chaudhury e Lovley, 2003), cellulosa (Niessen

et al., 2005), reflui civili (Min et al., 2005\_a), reflui zootecnici (Angenent et al., 2004), cisteina (Logan et al., 2004\_a).

#### **Efficienza nella conversione di materia organica in corrente**

Come detto, i microrganismi possono catalizzare il rilascio di elettroni dalla sostanza organica. In tal senso, si definisce Efficienza Coulombica (CE), la percentuale di elettroni recuperati dalla materia organica rispetto al valore massimo teorico in cui tutti gli elettroni vengono trasformati in corrente. Tale fattore risulta essere fondamentale per quantificare le performance delle MFC.

Esistono tuttavia differenti processi che possono limitare la capacità, da parte dei microrganismi, di utilizzare il substrato introdotto per produrre elettricità. Ad esempio, impiegando ossigeno al catodo, la diffusione dello stesso nel comparto anodico (attraverso la membrana di scambio protonico) può causare processi di respirazione aerobica sia da parte dei batteri direttamente attivi nella produzione di elettricità (se essi sono facoltativamente aerobici), sia da parte di altri nel caso di colture miste, determinando una riduzione della corrente elettrica prodotta.

Nei sistemi a 2 comparti, poi, parte del substrato può diffondere attraverso la membrana di scambio ionico verso il comparto catodico, sfuggendo pertanto all'ossidazione batterica, quindi alla conversione in energia. Infine, la presenza di accettori di elettroni alternativi quali nitrati e solfati oppure processi di fermentazione o metanogenesi, comportano una perdita nella produzione di elettricità, poiché parte del substrato viene utilizzata dalla comunità batterica per lo svolgimento di attività metaboliche che non producono energia.

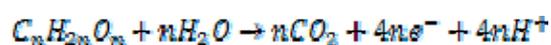
Generalmente, l'Efficienza Coulombica (CE), calcolata su differenti tipologie di MFC, aumenta all'aumentare della densità di potenza, poiché

viene ridotto il tempo necessario all'ossidazione del substrato da parte di processi biologici estranei alla produzione di elettricità. Ad esempio, in MFC che impiegano ferricianuro e colonie miste la CE è risultata essere del 75-78% per l'acetato, e del 49-65% per il glucosio (che è un substrato fermentabile). In alcuni sistemi (caratterizzati da catodo direttamente esposto all'aria) sono state raggiunte elevate densità di potenza che si sono tradotte in CE del 60-65% con acetato, ma solo del 19-42% con glucosio. Per quanto concerne le acque reflue, che contengono substrati fermentabili e accettori di elettroni alternativi, la CE varia tra 0,7-8% e 17-96% in presenza di ferricianuro, e 12-28% in presenza di ossigeno.

### 3.1.2 Comparto anodico

All'interno del comparto anodico biotico, i batteri ossidano il substrato ("alimento" o "combustibile") producendo CO<sub>2</sub>, protoni ed elettroni. È possibile schematizzare (Allen e Bennetto, 1993) il comportamento dei microrganismi come quello di mini-reattori in grado di compiere una serie di trasformazioni enzimatiche elettrogene. Essi fungono da serbatoio di elettroni, prodotti intermedi della degradazione del substrato organico, inizialmente trattenuti dal microrganismo stesso e successivamente trasferiti all'anodo.

L'ossidazione della sostanza organica contenuta nell'alimento, donatore di elettroni, avviene secondo una reazione del tipo:



che si realizza nel comparto anodico, mantenuto in condizioni anaerobiche, da parte di batteri anaerobi (sia facoltativi, sia strettamente anaerobi), tra cui: *Shewanella putrefaciens*, *Clostridium butyricum*, *Rhodoferrax ferrireducens*, *Geobacter sulfurreducens* e altri.

### 3.1.3 Membrana di scambio ionico

Un fattore limitante per il futuro sviluppo delle MFC è rappresentato dall'utilizzo della membrana di scambio ionico, che comporta elevati costi di installazione e di manutenzione, a causa degli inconvenienti legati all'intasamento della stessa che potrebbero verificarsi nel caso di impianti in grande scala. E' però possibile eliminare la membrana affidando il compito del trasporto dei protoni tra i due comparti ad un ponte salino o al semplice flusso idrico.

### 3.1.4 Metabolismo in una Microbial Fuel Cell

Il metabolismo dei batteri è influenzato non solo dal substrato, ma anche dalle condizioni ossidative che si riscontrano all'interno del comparto anodico, e quindi dal potenziale redox della soluzione anodica, influenzato a sua volta dal potenziale dell'anodo (Rabaey e Verstraete 2005\_a).

Diversi tipi di metabolismo sono possibili a seconda del valore del potenziale anodico: metabolismo in condizioni di alto potenziale redox (1); metabolismo in condizioni di medio-basso potenziale redox (2); fermentazione (3).

1 Con un alto potenziale redox anodico i batteri realizzano la respirazione sfruttando l'O<sub>2</sub> come accettore finale di elettroni (metabolismo ossidativo nella catena respiratoria). Il passaggio di elettroni avviene ad opera di molecole ed enzimi prodotti dal microrganismo stesso, quali NADH deidrogenasi, ubiquinone, coenzima Q, citocromo. La produzione di energia elettrica in una MFC, come Kim et al. (2005) hanno osservato, è ostacolata ed influenzata dai fattori inibitori della catena respiratoria.

2 Se il potenziale redox dell'anodo decresce e sono presenti accettori di elettroni come i solfati o i nitrati, gli elettroni riducono tali composti, perciò i batteri non utilizzano l'anodo.

3 In assenza di ossigeno molecolare, libero o legato, il potenziale redox dell'anodo rimane basso e il principale processo sviluppatosi è la fermentazione. In tale circostanza il substrato organico è ossidato e una parte di elettroni viene utilizzata per la produzione di corrente mentre la maggior parte di elettroni giunge a molecole organiche, prodotti della fermentazione. Non sono coinvolti in questo meccanismo i componenti della catena di trasporto degli elettroni.

### 3.1.5 Metodi di trasferimento degli elettroni

Gli elettroni, derivati dall'ossidazione del substrato, hanno bisogno di un sistema di trasporto fisico per raggiungere la superficie dell'elettrodo anodico. Ciò può avvenire secondo diverse modalità come di seguito chiarito.

#### 3.1.5.1 Mediatori di elettroni (o mediatori redox)

Nel caso di cellule microbiche "elettrochimicamente" inattive la struttura della membrana cellulare non è conduttiva, ed in questo caso sono necessari dei composti, detti "mediatori", che favoriscono il passaggio degli elettroni attraverso la membrana cellulare e verso la superficie dell'anodo (Figura 3-1).

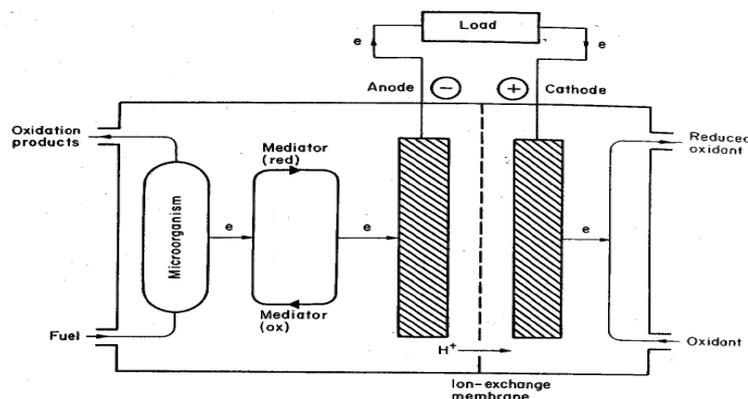


Figura 3-1 Rappresentazione schematica del funzionamento di una MFC con il ricorso a

*mediatori.*

I mediatori svolgono la funzione di elettroliti; essi sono capaci di penetrare la membrana cellulare, catturare gli elettroni, trasportarli fino alla superficie dell'elettrodo ed infine cederli a quest'ultimo.

Esistono diversi tipi di mediatori, in particolare, essi sono suddivisi in mediatori biologici e mediatori sintetici (o aggiunti).

Tra i mediatori sintetici si trovano, ad esempio, rosso neutro, potassio ferricianuro; antraquilone 2,6-disolfonato, azzurro A; ioni complessi di cobalto, blu methylene, thionina, e molti composti fenolici solubili in acqua. Tra i mediatori naturali si riportano i solfati, i solfiti, la tiocianina, ed altri di volta in volta generati dalle specie batteriche coinvolte nel processo.

I mediatori sintetici sono generalmente composti tossici, e presentano lo svantaggio di essere ritrovati come sottoprodotti indesiderati nell'effluente delle MFC alimentate in continuo, mentre i mediatori naturali sono meno tossici per l'ambiente ed inoltre, nelle stesse condizioni operative, forniscono potenze decisamente più elevate (Ieropoulos et al., 2005).

Alcune specie di batteri possono produrre dei particolari mediatori denominati "electron shuttles", i quali favoriscono il trasferimento di elettroni (Lovley 2006). Si citano, ad esempio, *Shewanella oneidensis*, *Geothrix fermentans* e *Pseudomonas aeruginosa* (Figura 3-2).

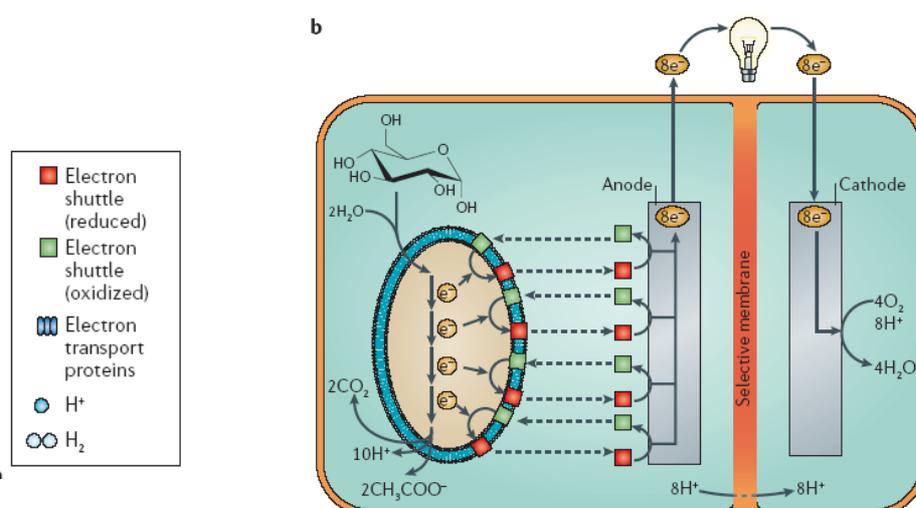


Figura 3-2 Schema proposto da Lovley (2006) per il meccanismo di trasferimento di elettroni tramite “electron shuttles”.

### 3.1.5.2 Interazione dei prodotti metabolici ridotti con l’anodo

Il trasferimento di elettroni si realizza in maniera indiretta anche mediante l’interazione di prodotti metabolici con la superficie dell’anodo. Ciò può avvenire con due diverse modalità: attraverso la generazione di metaboliti ossidabili (metaboliti primari) (Figura 3-3) e attraverso la produzione di composti organici reversibilmente riducibili (metaboliti secondari).

Dalla fermentazione di un substrato biodegradabile si ottengono prodotti ridotti quali l’idrogeno (metaboliti primari), che possono essere poi abioticamente ossidati sulla superficie dell’elettrodo fornendo elettroni e protoni. Anche altri prodotti della fermentazione possono essere ossidati, ma con efficienze molto più basse (acidi volatili, alcoli, etc).

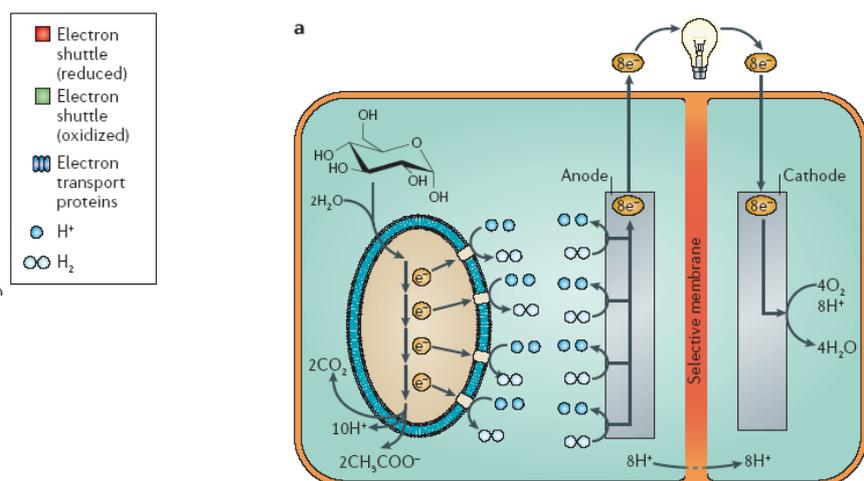


Figura 3-3 Schema proposto da Lovley (2006) per il meccanismo di trasferimento di elettroni tramite prodotti metabolici primari.

### 3.1.5.3 Contatto diretto

Negli ultimi anni sono state sviluppate MFC senza mediatore; in questo caso il trasferimento degli elettroni sull'elettrodo avviene in modo diretto, selezionando batteri elettrochimicamente attivi, cosiddetti "anodofili" (Figura 3-4). Tali batteri, che appartengono a diverse famiglie quali *Geobacteraceae*, *Desulfuromonaceae*, *Alteromonadaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Pasteurellaceae*, *Clostridiaceae*, *Aeromonadaceae* e *Comamonadaceae* (Angenent et al., 2004), non necessitano di mediatori poiché aderiscono direttamente alla superficie dell'elettrodo, utilizzandolo come accettore di elettroni e presentando il vantaggio di non avere in uscita al processo alcun composto tossico.

Gli elettroni che derivano dall'ossidazione del substrato sono trasferiti all'anodo attraverso la membrana interna ed esterna del microorganismo (Figura 3-4).

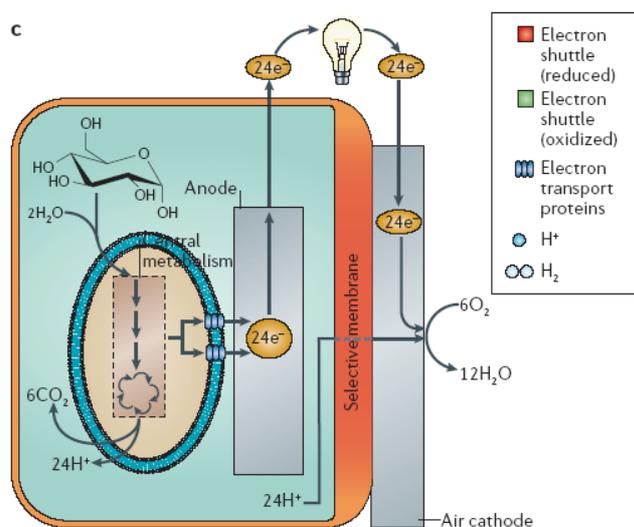


Figura 3-4 Schema proposto da Lovley (2006) per il meccanismo di trasferimento diretto di elettroni.

### 3.1.5.4 Nanowires

Recentemente, alcuni studi hanno mostrato che alcune specie di batteri tendono a formare dei nanofilamenti (nanowires), che aderiscono all'elettrodo e che permettono il trasferimento degli elettroni.

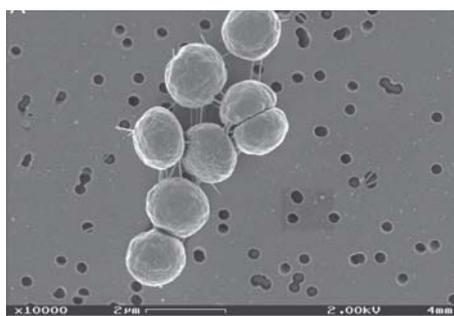
E' stato infatti osservato che un potenziale meccanismo di trasferimento di elettroni a grandi distanze avviene mediante dei pili estremamente conduttivi, ossia strutture di natura proteica che, oltre alle funzioni di mobilità, riconoscimento e adesione fra cellule consentono anche il trasporto degli elettroni (Figura 3-5 e Figura 3-6).

Reguera et al (2005) hanno condotto diversi esperimenti utilizzando una coltura pura di *Geobacter sulfurreducens* con pili, e una coltura di *G. sulfurreducens* mutanti senza pili; da varie prove sperimentali i Ricercatori hanno potuto constatare che i pili sono altamente conduttivi e che realizzano delle connessioni elettriche tra le cellule e la superficie dell'ossido di ferro, ossia hanno il compito di chiudere il circuito tra i vari

portatori intermediari di elettroni e l'ossido di ferro (accettore di elettroni insolubile ed extracellulare).

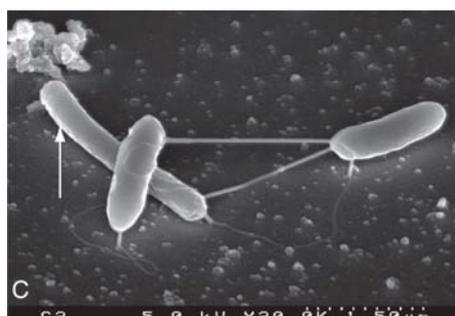
I pili, lunghi circa 20  $\mu\text{m}$ , permettono il trasferimento di elettroni attraverso il biofilm multistrato presente sulla superficie dell'anodo. In tal modo si viene a stabilire una rete di pili, che permette un incremento delle cellule attaccate alla superficie dell'anodo, a cui corrisponde un incremento della produzione di corrente.

Pertanto, almeno in teoria, è possibile accrescere la produzione di corrente non solo aumentando la superficie dell'anodo, ma anche incrementando il numero di cellule che contribuiscono al flusso di elettroni verso l'elettrodo. Ulteriori studi si renderanno però necessari ad una completa comprensione di questa tipologia di trasporto degli elettroni.



*Figura 3-5*

*Immagini di nanowires prodotti da colture metani gene, ottenute mediante utilizzo di un microscopio confocale.*



*Figura 3-6*

#### **3.1.5.5 Combinazione di modalità**

Infine, non è da escludere la possibilità che il trasferimento degli elettroni avvenga mediante una combinazione dei meccanismi precedentemente descritti, ovvero con modalità attualmente non investigate.

### 3.1.6 Comunità microbica

La reazione principale che avviene nel comparto anodico, cioè la degradazione della sostanza organica immessa con conseguente produzione di elettroni, è catalizzata dai batteri che compongono la biomassa. Essi, come abbiamo precedentemente accennato, possono trovarsi sospesi in soluzione nel reattore oppure adesi all'elettrodo sotto forma di pellicola (biofilm). Alcune ricerche mostrano che il biofilm è la più comune struttura di comunità microbica che si ritrova nelle MFC.

La catalisi, a seconda della configurazione della MFC, può essere svolta da colture pure o miste. Sono stati condotti diversi studi su MFC che operano con colture pure, quali *Shewanella putrefaciens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Geobacter specie*, *Rhodoferrax ferrireducens*. Con colture pure l'attività di bioelettrocatalisi è da attribuirsi ad una sola specie batterica, mentre in MFC che operano con colture miste essa è determinata dall'interazione di più comunità microbiche, ossia da un consorzio elettrochimicamente attivo.

Logan (2005\_a), usando colture miste di batteri presenti nelle comuni acque reflue, ha ottenuto livelli di produzione di corrente elettrica simili a quelli ottenuti con colture pure; inoltre l'utilizzo di colture miste comporta diversi vantaggi tra i quali una maggiore resistenza contro eventuali fattori di disturbo, una più ampia versatilità del substrato da ossidare, e anche una più elevata potenza in uscita (Rabaey et al., 2005\_a).

Park e Zeikus (2002) hanno, a loro volta, osservato che la presenza di diverse specie batteriche, oltre ai microrganismi elettrofilii, comporta la produzione di una corrente elettrica circa sei volte più elevata di quella generata con sole colture pure.

Ancora, Rabaey et al. (2005\_a) hanno verificato che è possibile avere un incremento della densità di corrente grazie alla produzione biologica di mediatori (in particolare piocianina) da parte di alcuni microrganismi presenti all'interno del consorzio microbico inoculato nella MFC, e che tali mediatori possono essere successivamente utilizzati da altre specie microbiche per trasferire gli elettroni. Gli stessi Autori propongono un modello concettuale di trasferimento degli elettroni dai microrganismi alla superficie dell'elettrodo sulla base dello sviluppo di un biofilm "multistrato", dove le cellule batteriche degli strati più esterni riescono ugualmente a cedere gli elettroni all'anodo rendendo così possibile un incremento dell'Efficienza Coulombica. I meccanismi possibili del funzionamento del "multistrato" sono rappresentati nella seguente Figura 3-7.

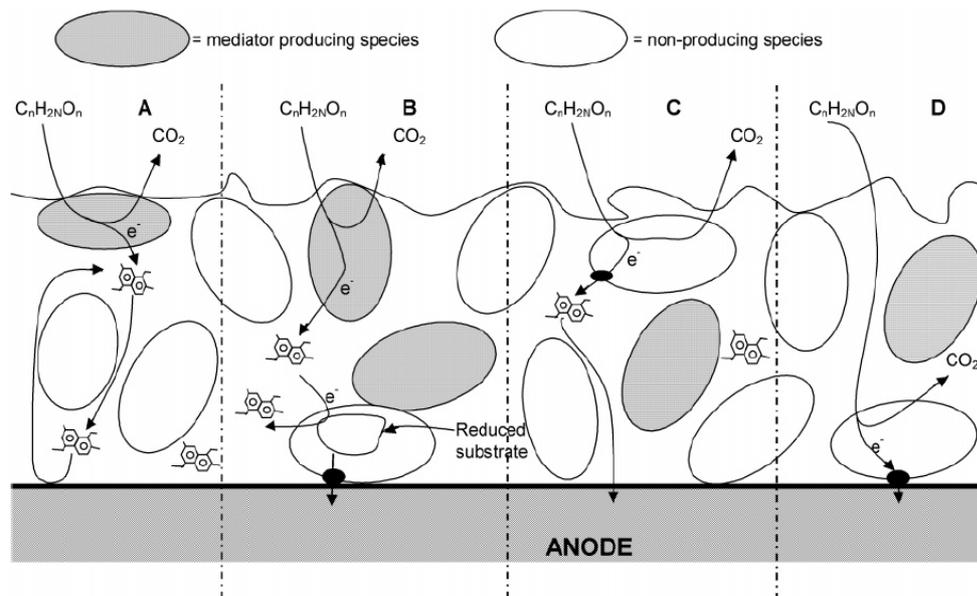


Figura 3-7 Possibili meccanismi di trasferimento di elettroni dai microrganismi all'elettrodo proposti da Rabaey et al. (2005\_a). I batteri grigi sono capaci di produrre mediatori solubili, i bianchi no; i cerchi neri rappresentano i componenti della membrana che possono trasferire elettroni dai batteri all'ambiente extracellulare. (A) I mediatori, prodotti dai batteri, utilizzano altri mediatori per giungere all'anodo; (B) I batteri usano i mediatori ridotti come donatori di elettroni e l'anodo come accettore; (C) I batteri usano i mediatori prodotti da altri batteri per giungere all'anodo; (D) I batteri trasferiscono elettroni all'anodo

attraverso il contatto diretto della loro membrana con l'elettrodo.

Secondo gli stessi Autori, dalle analisi del biofilm formatosi sull'anodo di una MFC, si deduce come non è presente nessuna specie emergente nelle comunità batteriche che crescono sull'elettrodo e ciò è probabilmente dovuto al fatto che diverse comunità microbiche facenti parte della medesima coltura mista, sono in grado di produrre elettricità. Inoltre, parte delle colture appartenenti alla colonia possono provvedere al sostentamento mediante percorsi metabolici alternativi quali fermentazione, metanogenesi o usando accettori di elettroni alternativi, riducendo pertanto l'Efficienza Coulombica della MFC.

Attraverso lo studio di comunità batteriche miste, Logan e Regan (2006) hanno potuto osservare le colonie batteriche dominanti in diverse tipologie di MFC attraverso l'analisi dei biofilm. Le analisi condotte sulle colonie, sviluppatesi nel tempo, hanno mostrato grande diversità filogenetica, e hanno permesso di identificare principalmente sequenze derivate da microrganismi delle famiglie *Firmicutes* e *Proteobatteri* di tipo  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ .

Secondo gli Autori, batteri facoltativi anaerobi capaci di produrre idrogeno, quali *Alcaligenes faecalis* e *Enterococcus gallinarum* sono risultati dominanti nelle MFC caratterizzate dall'utilizzo di un substrato fermentabile. Isolando queste colonie, i Ricercatori hanno osservato la produzione di elevate concentrazioni di mediatori (ad esempio la piocianina), deducendo che la produzione di mediatori, unita alla bassa resistenza interna del sistema, è il principale motivo dell'elevata produzione di potenza riscontrata in queste tipologie di MFC.

Per un altro sistema, che utilizzava ferricianuro al catodo, le analisi hanno rivelato che il fango anaerobico inoculato si è evoluto in una comunità batterica dominata da *Brevibacillus agri*, facenti parte della famiglia dei *Firmicutes*.

Per quanto riguarda lo studio delle comunità batteriche presenti nei sedimenti fluviali, si è osservato che le comunità microbiche prevalenti evolvono verso i *Proteobatteri* di tipo  $\beta$ , quando il substrato è rappresentato da acqua di fiume, mentre la specie predominante diviene quella dei *Proteobatteri* di tipo  $\alpha$  quando nel reattore viene immessa una miscela di glucosio e acido glutammico. Infine, inoculando in una MFC, alimentata con cisteina, del sedimento marino, si è sviluppata una colonia contenente per il 97% la specie *Proteobatteri* di tipo  $\gamma$ .

Per una miglior comprensione di come le colonie microbiche si evolvano nell'ambito di una coltura mista, occorre tener conto principalmente delle tipologia di MFC e della grande variabilità dei substrati e inoculi utilizzabili (batteri provenienti da sedimenti, da acque fluviali, da reflui, ecc...).

Lo sviluppo di una colonia è un processo legato alla competizione per lo sfruttamento di una risorsa limitata, che porta al predominio di una particolare specie, e la limitata area superficiale di un elettrodo in carbonio rappresenta un'opportunità unica per studiare la respirazione cellulare, la crescita microbica e la competizione in condizioni di spazio limitato.

Tuttavia occorre ricordare che, nonostante quanto emerso dai numerosi studi sviluppati sino ad oggi sulle colture batteriche presenti nelle MFC, una vasta percentuale delle specie microbiche presenti risulta tutt'ora sconosciuta.

Capire come una comunità di batteri produttori di elettricità si sviluppa e cambia nel tempo all'interno di una MFC, potrà permettere di aprire le porte a nuovi metodi per produrre energia sostenibile e rinnovabile.

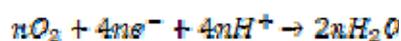
### **3.1.7 Comparto catodico**

Una volta giunti sull'elettrodo, tramite un circuito elettrico esterno alla MFC, gli elettroni sono trasferiti al catodo per effetto della differenza di

---

potenziale che si stabilisce tra i due elettrodi, mentre i protoni giungono al comparto catodico attraversando la membrana di scambio protonico, quando presente (Figura 3-8).

Nel comparto catodico, mantenuto in condizioni aerobiche, avviene la reazione di riduzione di un ossidante che, nel caso in cui si ricorra ad ossigeno, porta alla produzione di acqua:



Anche all'interno del comparto aerobico possono esservi dei mediatori: Jang et al. (2004), aggiungendo al comparto catodico del cloruro di sodio, hanno migliorato il trasferimento di cariche e quindi le prestazioni della MFC; Allen e Bennetto (1993) hanno condotto i loro studi su una MFC con anodo in feltro di grafite e catodo in RVC (carbonio vetroso reticolato) immerso in una soluzione di potassio ferricianuro (mediatore catodico); Heijne et al. (2006) hanno studiato la possibilità di utilizzare la coppia redox  $Fe^{3+}/Fe^{2+}$  come mediatore catodico di elettroni per la riduzione dell'ossigeno; Jang et al. (2004), Oh et al (2004) hanno utilizzato elettrodi di grafite rivestiti di platino, ottenendo ottimi risultati; Cheng (2006) e Zhao (2005) hanno utilizzato catalizzatori chimici più economici del platino, quali Fe (II) riuscendo ad ottenere efficienze simili al platino; Topcagic et al. (2006) hanno evidenziato la possibilità di ricorrere a catalizzatori biologici, sottoforma di microrganismi o di enzimi prodotti dagli stessi, in luogo dei catalizzatori chimici responsabili di problematiche di carattere ambientale; Bergel et al (2005) hanno osservato che il biofilm, formatosi su un catodo realizzato in acciaio, incrementa l'efficienza del catodo stesso, supponendo pertanto che il biofilm ha la capacità di ridurre l'ossigeno in modo diretto, ma non chiarendo i meccanismi alla base di tale fenomenologia.

La concentrazione di ossigeno disciolto nel comparto catodico deve essere mantenuta il più bassa possibile, compatibilmente con lo sviluppo di reazioni aerobiche; infatti, per concentrazioni maggiori, potrebbe determinarsi una possibile diffusione di ossigeno dal comparto catodico a quello anodico attraverso la membrana di scambio protonico (o attraverso il flusso idrico in assenza di membrana).

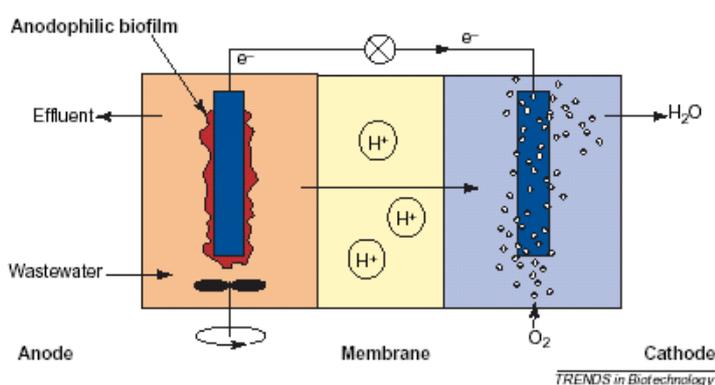


Figura 3-8 Schema di lavoro di una Microbial Fuel Cell. Occorre precisare che la maggior parte delle MFC realizzate sino ad oggi sono caratterizzate dalla presenza di biomassa nel solo comparto anaerobico, mentre il comparto aerobico è mantenuto in condizioni abiotiche.

La maggior parte delle sperimentazioni sviluppate in letteratura hanno riportato nel tempo configurazioni di MFC caratterizzate dalla presenza di biomassa nel solo comparto anaerobico, e comparto aerobico abiotico, mentre di recente, è stata compiuta un'interessante evoluzione rappresentata dall'utilizzo di biomassa non solo nel comparto anodico, ma anche in quello catodico.

Per esempio Dentel et al. (2004) hanno realizzato un reattore costituito da una vasca esagonale contenente fango di supero scaricato da un depuratore che trattava reflui di origine civile (Figura 3-9). L'anodo è stato sistemato sul fondo della vasca, ove si instaurano condizioni anaerobiche, mentre in superficie si è provveduto ad insufflare aria in corrispondenza del catodo. Gli Autori hanno misurato una produzione minima di corrente

pur non trovando traccia di biomassa adesa agli elettrodi. Hanno quindi ipotizzato che tale energia fosse dovuta all'attività di mediatori prodotti biologicamente dalla popolazione microbica contenuta nel reattore stesso.

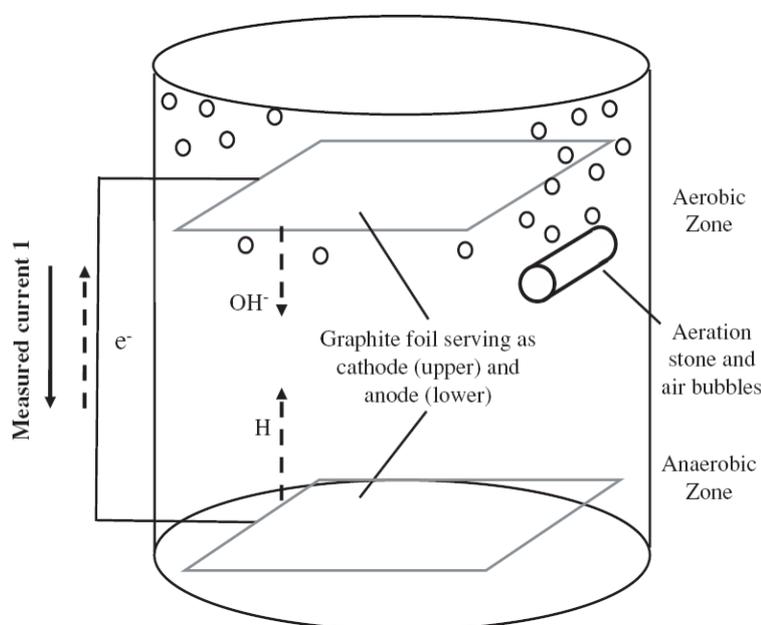


Figura 3-9 Configurazione della MFC utilizzata da Dentel et al. (2004).

Jang et al. (2004) hanno realizzato una MFC senza membrana (cosiddetta ML-MFC acronimo di Membrane Less – Microbial Fuel Cell), costituita da un reattore cilindrico nel quale gli elettrodi sono stati disposti sul fondo (l'anodo) e in superficie (il catodo). Al disopra dell'anodo è stato sistemato uno strato di lana e fibra di vetro (per evitare l'ingresso di ossigeno nella zona anaerobica). Nella zona anodica si sono instaurate condizioni anaerobiche ed è stato inoculato fango di supero proveniente da un impianto di trattamento di liquami civili, mentre la zona catodica era aerata (Figura 3-10). Gli Autori hanno verificato che i valori di COD misurati nell'effluente sono inferiori a quelli misurati a valle della zona anodica, ipotizzando che parte della sostanza organica sia stata rimossa nella zona catodica ad opera di biomassa aerobica. Per concentrazioni di ossigeno disciolto (DO) inferiori a quella critica, l'ossigeno è utilizzato per

la respirazione aerobica, mentre al disopra di tale valore, l'ossigeno è utilizzato per la produzione di corrente elettrica. Gli Autori hanno concluso che è possibile ottenere un miglioramento della produzione di corrente con l'uso di un catodo avente una concentrazione critica di ossigeno paragonabile a quella della biomassa aerobica.

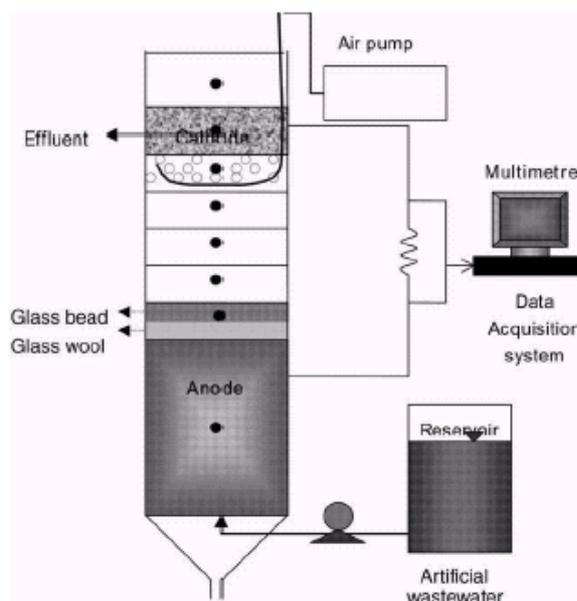


Figura 3-10 Schema di MFC utilizzato da Jang et al. (2003)

Rhoads et al. (2005) hanno sviluppato una MFC a due compartimenti separati da una membrana di scambio protonico (Figura 3-11 a e b). Nel comparto anodico hanno introdotto batteri del genere *Klebsiella pneumoniae* e il mediatore HNQ (idrossi-naphthoquinone), mentre nel comparto catodico hanno ottenuto il completamento del processo mediante la riduzione diretta (senza necessità di mediatore ed in presenza di ossigeno) di ossidi di manganese, depositati sull'elettrodo da parte di batteri del genere *Leptotrix discophora*. Lo studio di tale configurazione ha permesso di pervenire alla conclusione che gli ossidi di manganese depositati biologicamente e utilizzati nella MFC come reagenti catodici, determinano rendimenti più elevati rispetto all'uso di solo ossigeno.

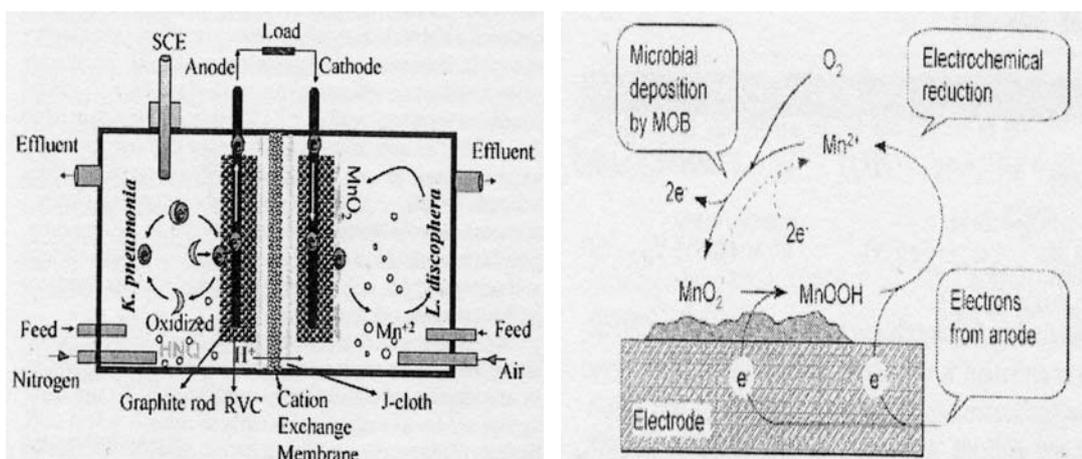


Figura 3-11a Schema di MFC utilizzata da Rhoads et al. Figura 3-12b Meccanismo di trasferimento degli elettroni dai microrganismi all'elettrodo proposto da Rhoads et al.

### 3.2 Fattori limitanti

Numerosi studi dimostrano che il rendimento di una MFC (in particolare quelle senza mediatore) è limitato da vari fattori:

- ✚ Attività di biocatalisi, ossia l'attività microbica di ossidazione dell'alimento nel comparto anodico e, nel caso di comparto catodico biotico, di riduzione dell'ossigeno;
- ✚ Trasferimento degli elettroni dalle cellule microbiche all'anodo;
- ✚ Trasferimento dei protoni dall'anodo al catodo attraverso la membrana di scambio protonico (quando presente);
- ✚ Resistenza interna ed esterna del circuito usato per il trasferimento degli elettroni;
- ✚ Consumo di ossigeno al catodo.

In particolare, questi ultimi due rappresentano i fattori maggiormente limitanti per l'efficienza della MFC.

La resistenza interna è determinata da limitazioni ohmiche, cinetiche e di trasporto (Appleby et al, 1989). In una MFC la limitazione ohmica è dovuta alla resistenza dell'elettrolita, sia anodico che catodico, e dalla membrana di scambio cationico quando presente; la limitazione cinetica è la resistenza al trasferimento di carica causata dalla lenta velocità di reazione sugli elettrodi; infine la limitazione di trasporto è dovuta all'inefficiente trasporto di massa dei substrati all'interno della cellula batterica (diffusione). Esiste una stretta correlazione tra la potenza generata e la resistenza elettrica, ragione per cui si cerca di ridurre il valore di quest'ultima, al fine di ottimizzare le prestazioni della MFC.

Il consumo di ossigeno al catodo è un fattore molto limitante (Pham et al., 2004) a causa della scarsa attività catalitica di riduzione dell'ossigeno. La reazione catodica può essere migliorata modificando l'elettrodo con metalli (ricorrendo ad esempio al platino, al ferro o altri ioni metallici, Park et al., 2004) oppure usando mediatori catodici quali blu metilene, thionina, potassio ferricianuro e altri.

Di contro, da quanto finora esposto, si comprende che la produzione di energia elettrica mediante una MFC presenta una serie di vantaggi innegabili tra cui si citano:

- ✚ Ossidazione (perfino completa) di composti organici contenuti in reflui a basso o nullo costo economico;
- ✚ Riduzione dell'inquinamento che si accompagna ai reflui utilizzati;
- ✚ Ridotta produzione di biomassa.

## 4 *Stato dell'arte*

### 4.1 *Generalità*

Una Microbial Fuel Cell è, come già descritto nel capitolo precedente, un dispositivo capace di convertire energia chimica in energia elettrica utilizzando della biomassa, selezionata (Kim et al., 2005) o mista.

In particolare, una MFC utilizza i batteri come catalizzatori per ossidare il substrato organico e produrre corrente. Come detto, è costituita da un anodo ed un catodo (entrambi realizzati in grafite più o meno trattata), separati da una membrana di scambio protonico, ovvero di scambio cationico. Gli elettroni prodotti dai batteri in seguito alla degradazione del substrato sono trasferiti all'anodo (elettrodo negativo) e giungono al catodo (elettrodo positivo) mediante un circuito esterno dotato di una resistenza. Il circuito è chiuso dal flusso dei protoni che giungono al comparto catodico attraversando la membrana di scambio protonico.

Logan (2005\_a), evidenziandone l'aspetto depurativo, ha definito una MFC come un sistema di trattamento biologico anaerobico, in quanto i batteri, responsabili della degradazione del substrato ed al contempo della produzione di elettricità, si sviluppano nel comparto anodico in condizioni anaerobiche. Va comunque osservato che per completare il processo di produzione di energia elettrica è necessario anche ossigeno da fornire al comparto catodico.

Una MFC è dunque un sistema depurativo ibrido, molto differente dai tradizionali sistemi di depurazione delle acque.

Al fine di massimizzare la produzione di energia elettrica ottenibile a parità di substrato immesso, numerosi gruppi di ricerca internazionali hanno proposto differenti configurazioni di MFC, differenziandosi tra loro in base ai seguenti fattori:

- ✚ materiale utilizzato per realizzare gli elettrodi e il circuito elettrico;
- ✚ diverse condizioni operative (temperatura, pH, superficie degli elettrodi, dimensioni del reattore, tempi di lavoro);
- ✚ ricorso a membrane di scambio protonico;
- ✚ ricorso a mediatori nei due comparti.

Nei paragrafi successivi verranno descritti i principali elementi costituenti e le principali configurazioni riportate in letteratura, classificando le MFC in: MFC a due comparti; MFC a singolo comparto; MFC in serie e in parallelo; utilizzo di MFC come biosensori e per altri utilizzi specifici.

### ***4.3 Principali elementi costituenti***

Si tratta di dispositivi costituiti da due elettrodi: un anodo ed un catodo (realizzati con materiale conduttore, tipicamente grafite più o meno trattata ad esempio con platino, manganese, polianilina oppure grafite semplice vetrosa, in tessuto, a granuli etc.), usualmente separati da una membrana di selezione cationica (o membrana di scambio protonico) e sistemati in due differenti comparti (Logan, 2005\_a).

Nel comparto anodico, mantenuto in condizioni strettamente anaerobiche, è presente la biomassa (ovviamente anaerobica) che ossida il substrato organico (chiamato anche “alimento” o “combustibile”) trasferendo gli elettroni sull’anodo.

Gli elettroni a loro volta sono trasferiti al catodo mediante un circuito elettrico esterno alla MFC, realizzando un flusso di elettroni su quest’ultimo, quindi il passaggio di corrente elettrica.

I protoni invece giungono nel comparto catodico (mantenuto in condizioni aerobiche) attraversando, quando presente, la membrana di scambio protonico o altro materiale di diffusione.

Gli elementi costituenti una MFC sono di seguito illustrati:

### Membrana

Nella maggior parte delle configurazioni di MFC proposte si ricorre a membrane di scambio protonico (cosiddette PEM, acronimo di Proton Exchange Membranes) ampiamente studiate, sviluppate ed utilizzate per le celle a idrogeno (Figura 4-1).

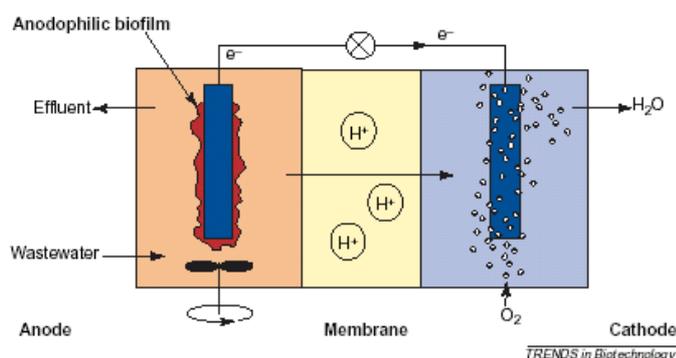


Figura 4-1 Schema di funzionamento di una MFC con sviluppo di biomassa anodofila e senza il ricorso a mediatori.

Le PEM sono senz'altro i mezzi più efficaci per il trasporto dei soli protoni, tuttavia la loro presenza comporta un incremento dei costi di realizzazione, nonché aggravii dal punto di vista gestionale.

L'utilizzo di PEM è stato valutato in modo specifico da vari gruppi di ricerca che, in questi anni, hanno sviluppato e sperimentato le MFC. Il mercato delle membrane di scambio ionico è in costante crescita e molti sono gli studi necessari per determinare l'effetto efficienza e sulla stabilità a lungo termine di tali membrane.

In alternativa alle membrane, è possibile ricorrere ad un semplice ponte salino (oppure ad un piatto ceramico poroso), il cui compito è comunque quello di consentire il passaggio tra i due compartimenti ai soli protoni e di impedirlo a substrato, batteri ed ossigeno.

Come meglio descritto successivamente, esistono anche MFC prive di membrane, chiamate ML-MFC (acronimo di Membrane Less –Microbial Fuel Cell).

### **Anodo**

Il comparto anodico è realizzato a perfetta tenuta, in modo da prevenire l'immissione involontaria di ossigeno, ed assicurare condizioni strettamente anaerobiche.

Il materiale con cui è realizzato l'anodo deve essere conduttivo, non corrosivo, biocompatibile e chimicamente stabile. Il materiale più utilizzato è il carbonio, disponibile come piatti o granuli di grafite, o come materiale fibroso, in forma vetrosa, di lana, di tessuto, ecc.

Sia i piatti che i granuli di grafite sono maggiormente utilizzati perché economici, facili da maneggiare e di superficie definita.

E' stato dimostrato inoltre che la corrente prodotta aumenta all'aumentare della superficie dell'elettrodo. E' preferibile quindi lavorare con materiali che presentano un'elevata superficie specifica, quali carbonio vetroso reticolato (RVC) o carbone granulare, ma che abbiano al contempo una porosità tale da prevenire l'intasamento.

Il comparto anodico viene alimentato con substrato biodegradabile e nutrienti necessari per la crescita dei microrganismi, quali azoto, fosforo e tracce di minerali.

### **Catodo**

Nel comparto catodico è presente acqua al cui interno viene insufflata aria al fine di garantire un'adeguata ossigenazione del comparto stesso. Per migliorare le reazioni catodiche è possibile ricorrere ad un catodo

trattato con catalizzatori oppure a mediatori redox (definibili come catalizzatori delle reazioni biologiche batteriche).

Spesso al posto dell'ossigeno è utilizzato ferrocianuro (mediatore catodico) che presenta migliori caratteristiche come accettore di elettroni. Tuttavia l'uso di tale sostanza presenta diversi inconvenienti: si ritrova in uscita dalla MFC; non può essere rigenerato con l'ossigeno; nel lungo periodo può diffondere nel comparto anodico attraverso la membrana.

Si preferisce quindi utilizzare l'ossigeno quale accettore di elettroni, in quanto caratterizzato da un alto potenziale redox, ampia disponibilità e costo nullo poiché naturalmente presente in atmosfera. Inoltre non produce composti nocivi ma solamente acqua.

La riduzione dell'ossigeno può essere supportata dall'attività microbiologica di un biofilm. Per incrementare la riduzione dell'ossigeno al catodo sono spesso utilizzati catalizzatori quali il platino o altri metalli nobili.

### **Collegamenti**

Gli elettrodi possono essere collegati con qualsiasi tipologia di cavo. I cavi in platino rappresentano la scelta migliore, ma costosa. Pertanto sono spesso utilizzati cavi in rame, più economici e comunque funzionali.

### ***4.3 Microbial Fuel Cells a due compartimenti***

✧ Uno dei primi lavori riportati in letteratura riguardante le MFC a due compartimenti è quello di Allen e Bennetto (1993). I due Autori hanno condotto i loro studi su una MFC con anodo in feltro di grafite e catodo in RVC (carbonio vetroso reticolato), immerso in una soluzione di potassio ferrocianuro (mediatore catodico) realizzando, con tale configurazione, esperimenti di breve durata (Figura 4-2); inoltre, per esperimenti di lungo

periodo, il gruppo di ricerca ha utilizzato una configurazione simile, ma con catodo in PCP (foglio di carbonio platinizzato) esposto all'aria, ricorrendo ad una membrana di scambio protonico e ottenendo una produzione di corrente di circa 0,5 mA.

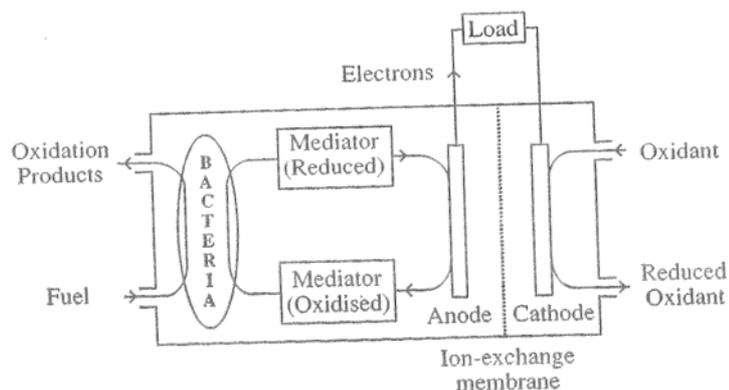


Figura 4-2 Modello di funzionamento della cella con mediatori utilizzata da Allen e Bennetto (1993).

Molte sperimentazioni, riportate in letteratura, riguardano approfondimenti relativi alla **biomassa** e al **substrato** utilizzato nelle MFC a due compartimenti:

✧ Kim et al. (2005), hanno valutato alcune possibili procedure di acclimatazione della biomassa elettrofila in una MFC, al fine di ridurre il tempo necessario a raggiungere la potenza massima. Tale studio è stato condotto avvalendosi di una MFC a due compartimenti, costituiti da due bottiglie in vetro contenenti gli elettrodi (ricavati da un foglio di carbonio poroso) e collegate mediante una membrana di scambio protonico. In particolare, in alcuni esperimenti gli Autori hanno utilizzato un anodo ricoperto con un ossido di ferro, mentre in altri un anodo ricoperto con Platino.

La potenza generata utilizzando il semplice anodo in carbonio poroso è stata di  $8 \text{ mW m}^{-2}$  in 50 ore, mentre l'Efficienza Coulombica (definita come il rapporto tra il numero di elettroni circolanti sul circuito elettrico e il numero di elettroni corrispondente al carico organico alimentato, come

indicato nel capitolo precedente) è stata del 40 %. Utilizzando un elettrodo ricoperto da ossido di ferro la potenza si è attestata su  $30 \text{ mW m}^{-2}$  e l'Efficienza Coulombica è stata dell'80 %. Applicando il biofilm, raccolto dall'anodo di una MFC già operativa, su un nuovo anodo la potenza prodotta è aumentata fino a  $40 \text{ mW m}^{-2}$ . Infine, è stata realizzata un'ulteriore prova nella quale, aggiungendo un secondo anodo in una MFC funzionante e chiusa su un circuito differente, non è stata osservata alcuna riduzione del tempo di acclimatazione dei batteri e la potenza totale non è aumentata.

Gli Autori hanno quindi concluso che nessuna delle tecniche testate ha prodotto una riduzione dei tempi di acclimatazione (sono necessarie almeno 50 ore), ma che il metodo più efficiente per aumentare la potenza prodotta consiste nell'applicare ad un elettrodo nuovo un biofilm ottenuto da una MFC già funzionante ed operativa.

✧ Rabaey et al. (2003), hanno utilizzato una MFC in Plexiglass a due compartimenti (abiotico quello catodico), separati da una membrana di scambio protonico (Ultrax) realizzata con elettrodi in fogli di grafite (Figura 4-3). È stata utilizzata biomassa derivante da una procedura di arricchimento durata 5 mesi, avente origine da fango metanigeno prelevato da un digestore anaerobico. Gli Autori hanno evidenziato che il carico organico volumetrico ottimale per la produzione di energia elettrica (usando glucosio come substrato) è pari a  $3 \text{ g COD l}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , in corrispondenza del quale è stata osservata una Efficienza Coulombica pari al 65 % ed una potenza specifica di  $3,6 \text{ W m}^{-2}$  riferita alla superficie dell'elettrodo, ossia circa cinque volte quelle ottenute in precedenti esperimenti.

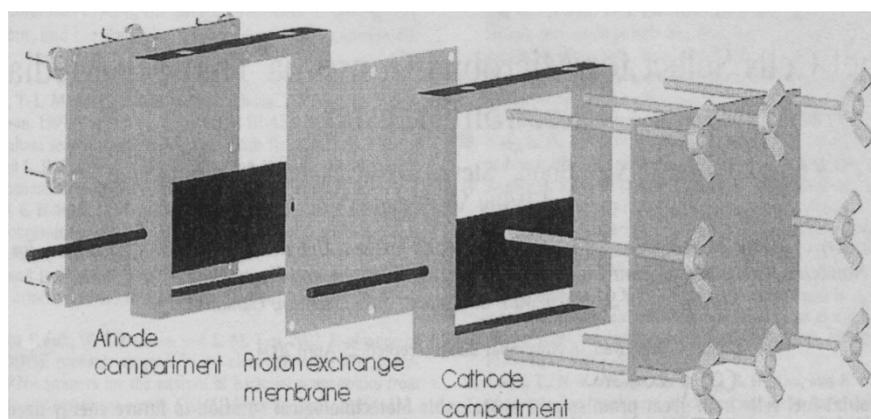


Figura 4-3 Configurazione della MFC realizzata in Plexiglass, utilizzata da Rabaey et al., (2003).

✧ Utilizzando una MFC avente le medesime caratteristiche di quella riportata in precedenza, Rabaey et al. (2004), sono riusciti a generare una potenza specifica massima pari a  $4,31 \text{ W m}^{-2}$ . Tale potenza è stata ottenuta con un carico organico volumetrico pari a  $1 \text{ g COD l}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , in corrispondenza del quale l'efficienza di trasferimento di elettroni da glucosio a elettricità ha raggiunto l'81 %.

✧ Ieropoulos et al. (2005), hanno illustrato le prestazioni ottenute da una cella realizzata in Perspex, a due compartimenti separati da una PEM in Nafion, e con elettrodi costituiti da un velo di fibra di carbonio, collegati da un cavo in nickel-cromo (Figura 4-4). Il comparto anodico della MFC è stato inoculato in tre differenti modalità: la prima (denominata gen-I) utilizzava un mediatore sintetico ed era inoculata con *Escherichia coli*; la seconda (denominata gen-II) era inoculata con una coltura mista (costituita da *Desulfovibrio desulfuricans*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Pseudomonas fluorescens*), in cui i batteri del genere *Desulfovibrio desulfuricans* utilizzavano lattato (prodotto dagli altri microrganismi) come fonte di carbonio, ed i solfati (presenti nel refluo) come accettori di elettroni; la terza (denominata gen-III) era inoculata con *Geobacter sulfurreducens* e senza mediatore.

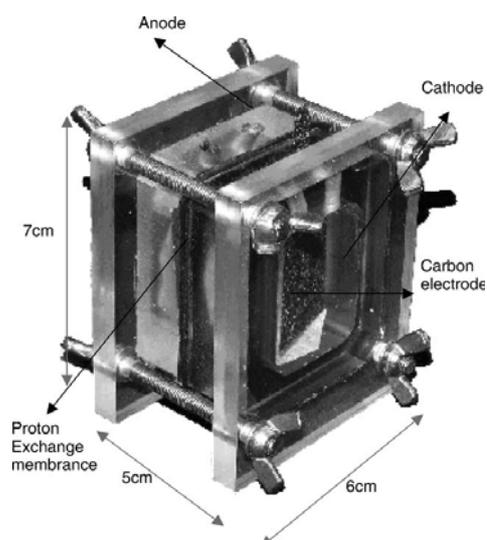


Figura 4-4 Immagine della cella in Perspex, utilizzata da Ieropoulos et al. (2005).

L'efficienza di conversione (espressa in termini di potenza prodotta a fronte di sostanza organica consumata), a parità di carico resistivo, è stata massima per la Gen-II (64,52 %), seguita dalla Gen-III (47,38 %) e dalla Gen-I (28,12 %). Osservando tali valori, gli Autori hanno concluso che Gen-II e Gen-III possono essere usate vantaggiosamente per la produzione elettrica a partire da sostanza organica. Tuttavia, in condizioni di carico resistivo ottimale, con la Gen-III sono state misurate efficienze di conversione superiori al 95 %.

✧ Chaudhuri e Lovley (2003), hanno invece evidenziato che il *Rhodospirillum rubrum*, isolato da sedimenti subsuperficiali della Baia di Oyster in Virginia, è capace di convertire il glucosio in elettricità adoperando una MFC a due comparti con le seguenti caratteristiche: anodo senza mediatore di elettroni e catodo abiotico con utilizzo di ferrocianuro. I due Autori hanno anche valutato nell'83 % il quantitativo di elettricità prodotta a partire dal glucosio, percentuale molto elevata, se si tiene in considerazione il fatto che parte della sostanza organica viene assimilata per la produzione di biomassa. La densità di potenza prodotta ha raggiunto  $31 \text{ mA m}^{-2}$  (0,20 mA e 265 mV) con una resistenza di 1000  $\Omega$ . Gli Autori inoltre hanno constatato che aumentando la superficie a

disposizione per la colonizzazione della biomassa, si ottiene un aumento della potenza prodotta, come era del resto lecito attendersi. Infine, hanno osservato che lo stesso tipo di microrganismo è in grado di produrre corrente a partire non solo dal glucosio, ma anche da fruttosio, saccarosio e xilosio.

✧ Logan et al. (2005\_b), hanno lavorato su una MFC a due compartimenti, realizzati mediante due bottiglie di vetro riempite di MSM (sali minerali) e con elettrodi ricavati da un foglio di grafite (Figura 4-5). Con l'ausilio di una membrana di scambio protonico, i Ricercatori hanno verificato la possibilità di produrre elettricità tramite l'utilizzo di cisteina come substrato. Infatti, al fine di mantenere condizioni anaerobiche all'interno del comparto anodico, è possibile utilizzare questo composto che ha la capacità di consumare ossigeno; gli Autori hanno mostrato che la stessa cisteina può essere utilizzata anche dalla biomassa per produrre energia elettrica.

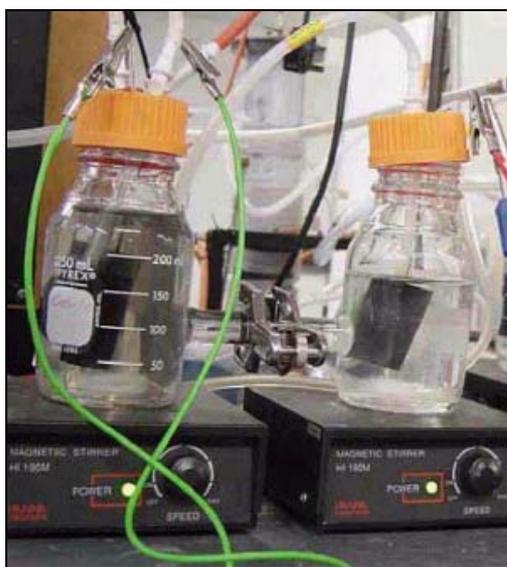


Figura 4-5 Immagine della cella, con compartimenti riempiti di sali minerali (MSM), utilizzata da Logan et al. (2005).

La massima densità di potenza ottenuta ha raggiunto inizialmente  $19 \text{ mW m}^{-2}$  (sono state applicate due resistenze esterne,  $700 \Omega$  e  $1000 \Omega$ ) e successivamente  $39 \text{ mW m}^{-2}$ , dopo l'aggiunta di una concentrazione

superiore di cisteina (oltre 770 mg l<sup>-1</sup>). Gli stessi Autori hanno anche verificato che modificando il materiale con cui è realizzato il catodo si hanno miglioramenti in termini di densità di potenza prodotta; ad esempio passando da Pt a Pt-Ru si ha un passaggio da 19 a 33 mW m<sup>-2</sup>.

✧ Min et al. (2005\_a), utilizzando una MFC a due compartimenti con catodo immerso in acqua e alimentando con reflui derivanti da scarti industriali (nella fattispecie suinicoli, aventi 8,3 g COD l<sup>-1</sup>), hanno ottenuto una densità di potenza massima pari a 45 mW m<sup>-2</sup>.

✧ Zuo et al. (2006) hanno generato elettricità mediante una MFC alimentata con "cereali", o meglio con campioni preparati attraverso processi di idrolisi in acqua (idrolisi neutrale) o in acido solforico (idrolisi acida), seguiti da trattamenti con vapore ad alte pressioni che consentono di convertire l'emicellulosa, tipicamente contenuta nei cereali, in zucchero solubile, formando in tal modo un liquido ricco di zuccheri. È stata utilizzata una MFC a doppio comparto con una PEM, con anodo e catodo costruiti rispettivamente in foglio di grafite e in tessuto di grafite trattato con platino. Alimentando il comparto anodico con una soluzione con 1 gCOD l<sup>-1</sup> e fissando una resistenza esterna di 250 Ohm, sia per la soluzione ottenuta con idrolisi neutrale che con idrolisi acida si osservano gli stessi valori di massima densità di potenza ed intensità di corrente, rispettivamente pari a 370 mW m<sup>-2</sup> e 1400 mA m<sup>-2</sup>; inoltre l'Efficienza Coulombica è intorno al 20-30%. Infine si osserva che tutti gli zuccheri risultano essere completamente degradati e che non vi sono rilevanti acidi volatili in soluzione. Potenze maggiori si possono ottenere utilizzando un catodo che contiene un diffusore e aumentando la conducibilità della soluzione. Tali risultati dimostrano che è possibile ottenere energia rinnovabile dalle biomasse anche utilizzando le Microbial Fuel Cell.

✧ Kim et al. (2000), ricorrendo ad una MFC a due compartimenti con membrana di scambio protonico in Nafion (Figura 4-6) e con *Proteus*

*vulgaris* inoculato nel comparto anodico, hanno valutato gli effetti derivanti da differenti concentrazioni iniziali di substrato organico concludendo, come era del resto lecito attendersi, che le prestazioni massime dipendono dalla concentrazione iniziale di substrato organico.

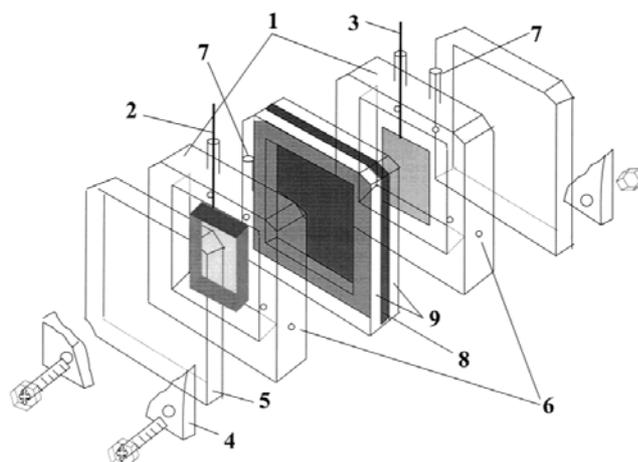


Figura 4-6 Schema di assemblaggio della cella utilizzata da Kim et al. (2000): (1) comparti anodico e catodico; (2) anodo; (3) catodo; (4) piastra laterale; (6) piastre di protezione; (7) ingressi per l'iniezione delle soluzioni; (8) membrana di scambio protonico; (9) guarnizioni in silicone.

Dal punto di vista dell'analisi dei componenti interni alle MFC, riveste particolare importanza lo studio dei materiali con i quali sono realizzati gli **elettrodi**:

✧ Schroder et al. (2003) hanno valutato le prestazioni di una MFC a due comparti con membrana di scambio protonico, modificando il materiale con cui era realizzato l'anodo (Figura 4-7).

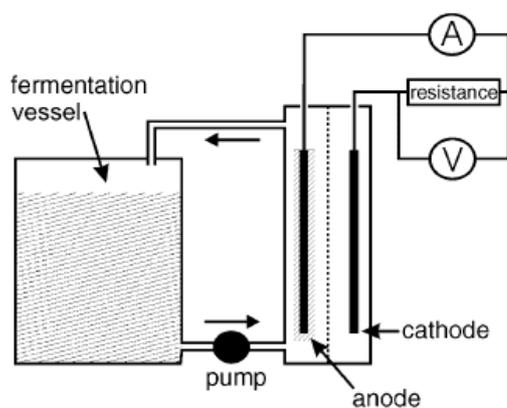


Figura 4-7 Schema di funzionamento della cella con anodo multistrato, realizzata da Schroder et al. (2003).

In particolare, gli Autori hanno fatto riferimento ad un anodo multistrato, costituito da tessuto di grafite platinizzato e ricoperto da un polimero elettrocatalitico (polianilina), con il quale hanno misurato una densità di corrente ( $1,45 \text{ mA cm}^{-2}$ ) di circa un ordine di grandezza superiore a quella ottenuta con un anodo realizzato in sola grafite.

✧ Anche Park e Zeikus (2003), hanno fatto riferimento a differenti tipologie di anodo, valutando i risultati raggiunti con catalizzatori quali il rosso neutro, il manganese e il ferro. Gli Autori hanno verificato che le prestazioni migliori sono state ottenute ricorrendo all'anodo con manganese aggiunto, che ha prodotto una potenza specifica pari a  $787 \text{ mW m}^{-2}$  ed una corrente pari a 14 mA.

✧ Oh et al. (2004), hanno condotto una serie di esperimenti al fine di verificare l'effettivo ruolo svolto dal catodo sulla densità di potenza producibile. In particolare, utilizzando una MFC costituita da due comparti con membrana di scambio protonico ed elettrodi di grafite trattati con platino, gli Autori hanno verificato che, triplicando la superficie del catodo, sono stati ottenuti miglioramenti in termini di densità di potenza del 24 %, e riducendo di un terzo la stessa superficie, è stato misurato un

peggioramento del 56 %. Inoltre, utilizzando un catodo non trattato con platino, è stata registrata una sostanziale riduzione della potenza prodotta (78 %). Utilizzando infine ferriocianato al posto dell'ossigeno disciolto, la potenza prodotta è aumentata del 50 - 80 %.

✧ Ancora Oh e Logan (2005), hanno utilizzato una MFC a due comparti, con membrana di scambio protonico realizzata in Nafion, elettrodi costituiti da fogli di carbonio Toray (in particolare il catodo trattato con platino), alimentata con acqua reflua proveniente dalla lavorazione di cereali. Operando con una tale configurazione, i Ricercatori hanno misurato una densità di potenza pari a  $81 \text{ mW m}^{-2}$  (ovvero 25 mA per litro di refluo trattato) ed una rimozione di sostanza organica pari al 95 % del valore iniziale di COD ( $595 \text{ mg l}^{-1}$ ).

✧ Pham et al. (2004), utilizzando una MFC (mantenuta a  $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) a due comparti separati da una membrana di scambio protonico e con anodo in grafite, hanno introdotto un catodo platinizzato, con lo scopo di migliorare la cosiddetta "reazione catodica" (ossia il consumo di ossigeno nel comparto catodico). Infatti, per evitare che l'ossigeno costituisca un fattore limitante nel comparto catodico, è necessario mantenerne elevata la concentrazione, ma ciò comporta inevitabilmente un aumento della diffusione di ossigeno nel comparto anodico, causando un consumo improprio della sostanza organica. Gli Autori, utilizzando un catodo del tipo appena descritto, hanno misurato una corrente circa 3 - 4 volte superiore a quella ottenuta ricorrendo ad un catodo di sola grafite, ed inoltre hanno verificato che la massima reazione catodica si ottiene in corrispondenza di una concentrazione di ossigeno disciolto pari a  $6,6 \text{ mg/l}$  (catodo di sola grafite) e  $2,0 \text{ mg l}^{-1}$  (catodo platinizzato), osservando una riduzione della concentrazione critica di ossigeno. Durante la medesima sperimentazione, i Ricercatori hanno valutato gli effetti derivanti dall'utilizzo di potassio ferriocianuro come mediatore nel comparto catodico

e hanno mostrato che tale composto agisce essenzialmente come ossidante e non già come mediatore.

Ultimamente, ritenendo che una maggiore superficie specifica degli elettrodi possa comportare un aumento della corrente prodotta, sono state sperimentate delle MFC a doppio comparto contenenti **grafite granulare**:

✧ Rabaey et al. (2005\_a), utilizzando una MFC a due comparti con una membrana di scambio protonico, hanno testato tre diversi tipi di materiale per l'anodo: grafite liscia, grafite granulare e grafite con granuli "impaccati" (una struttura che presenta dei deflettori). I Ricercatori hanno osservato che i migliori risultati si ottengono ricorrendo ad un comparto anodico realizzato con granuli di grafite "impaccati". Infatti, alimentando in continuo la MFC, sono state misurate potenze dell'ordine di  $49 \text{ W m}^{-3}$ . Gli stessi Autori hanno osservato che l'aggiunta di un mediatore (con potenziale simile a quello batterico) non altera, in modo rilevante, la potenza prodotta (Figura 4-8).

L'Efficienza Coulombica massima e quella di conversione dell'energia misurata, sono state rispettivamente del 50 % e del 26 %, operanti con un carico organico volumetrico di  $1 \text{ kg COD m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ , ottenuto alimentando l'impianto con un estratto vegetale.

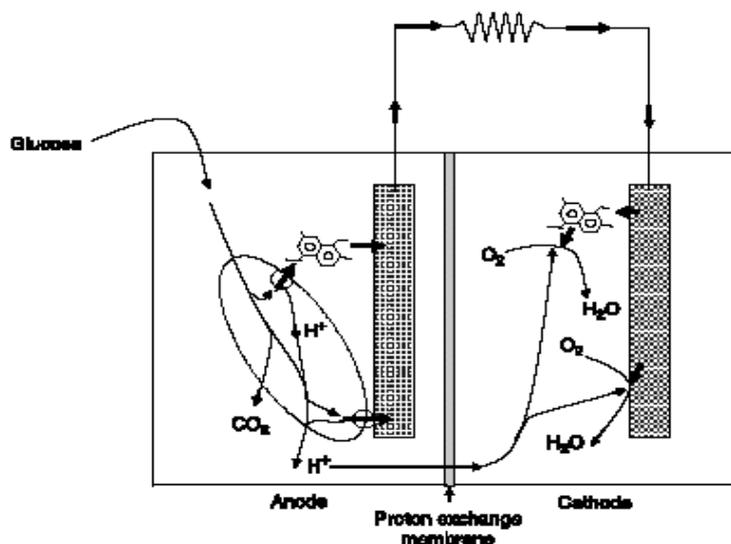


Figura 4-8 Schema di funzionamento della cella con mediatore, utilizzata da Rabaey et al. (2005).

Gli stessi autori (Rabaey et al. 2005\_a) non hanno registrato differenze tra catodo in feltro di grafite e catodo in grafite semplice, realizzando una potenza massima erogata pari, rispettivamente, a  $15,9 \text{ W m}^{-3}$  e  $15,2 \text{ W m}^{-3}$ . Quando sono stati utilizzati granuli di grafite la potenza prodotta è rimasta inizialmente inalterata ma poi è rapidamente decresciuta, probabilmente perché i granuli di grafite non forniscono sufficiente trasporto protonico.

✧ Di recente Freguia et al (2007\_a) hanno studiato un modo che consenta di sfruttare al meglio le proprietà dell'ossigeno quale accettore di elettroni: esse infatti sono limitate dalla sua scarsa solubilità in acqua e dalla sua alta energia di attivazione, necessaria affinché esso venga ridotto al catodo. Gli Autori hanno quindi realizzato una MFC a due comparti, separati da una membrana di scambio cationico e riempiti di grafite granulare, proprio per studiare come quest'ultima possa favorire il processo riduzione dell'ossigeno al catodo.

Il pH catodico è stato mantenuto costante al valore di 6,5 in quanto a bassi valori di pH l'energia di attivazione per la riduzione dell'ossigeno è

minore e viene favorito quindi il passaggio di protoni attraverso la membrana. In tali condizioni si sono prodotti 21,8 mA degradando 1,46 kg COD m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>, di cui 0,95 kg COD m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup> sono stati convertiti in corrente. Si sono ottenute così un'efficienza Coulombica pari al 65% ed un'efficienza energetica dell'11%.

Le prestazioni di questo impianto sono dunque paragonabili a quelle che si possono ottenere utilizzando catodi catalizzati: il merito di ciò va attribuito alla grande superficie della grafite granulare che permette di abbassare l'effetto di "overpotential" di riduzione dell'ossigeno al catodo.

✧ Ancora Freguia et al (2007\_b), individuando e quantificando le fonti di perdita di elettroni, hanno cercato di capire quali potessero essere le inefficienze del sistema MFC. A questo scopo hanno costruito due impianti a due camere, separate da una membrana di scambio cationico e riempite di grafite granulare per il 75%. I catodi abiotici contengono una soluzione di ferrocianuro di potassio (K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>), mentre un anodo è stato inoculato con biomassa adattata all'acetato e l'altro con biomassa adattata al glucosio. Durante i vari test le MFC sono state alimentate sia con acetato che con glucosio e sono state fatte funzionare in batch.

Lo studio ha consentito di stabilire quali sono le reazioni di degradazione della sostanza organica che avvengono nel comparto anodico e di effettuare i bilanci di massa di elettroni, protoni e carbonio. È stato così individuato un metodo per stimare il tasso di crescita della biomassa senza effettuare analisi dirette sulla biomassa stessa (piuttosto costose e che richiedono personale ed attrezzature specifiche).

Infine i Ricercatori hanno analizzato il ruolo che le sostanze di riserva che si accumulano nella biomassa (quali ad esempio il poli-idrossialcanoato, PHA, e il poli-idrossibutirrato, PHB) svolgono nell'ambito della produzione di corrente elettrica, constatando che esse garantiscono

una produzione di elettricità anche quando non vi è substrato disponibile per i batteri.

Come noto, il trasporto di elettroni al catodo, mediante il circuito esterno, deve essere compensato dal trasporto di una stessa quantità di cariche positive al comparto catodico. E' pertanto chiaro che le prestazioni ottenibili mediante una MFC sono influenzate anche dalla modalità di trasferimento di protoni da un comparto all'altro.

✧ Min et al. (2005\_b), hanno confrontato una MFC contenente un ponte salino ed un'altra comprendente una membrana di scambio protonico (PEM) in Nafion.

In entrambe le MFC, gli elettrodi sono stati realizzati in foglio di carbonio ricoperti con Platino, collegati mediante un cavo in rame. I comparti sono stati realizzati mediante bottiglie in vetro (sigillata quella dell'anodo), e il comparto del catodo è stato riempito di PBS (soluzione di tampone fosfato) e insufflato continuamente con aria (Figura 4-9).



Figura 4-9 Immagine della configurazione utilizzata da Min et al. (2005-b).

Per le due MFC, è stata misurata una densità di potenza pari a circa  $2,2 \text{ mW m}^{-2}$  e  $40 \text{ mW m}^{-2}$ , rispettivamente. La minor potenza prodotta

dalla MFC con il ponte salino è stata attribuita, dagli stessi Autori, all'elevata resistenza interna (circa 20 k $\Omega$ ), rispetto a quella della MFC con la membrana (1,2 k $\Omega$ ).

✧ Anche Logan (2005\_a), lavorando con una MFC a due comparti, separati da un ponte salino, ha ottenuto potenze dell'ordine di 1 mW m<sup>-2</sup> di superficie anodica, mentre utilizzando una PEM di Nafion, la potenza prodotta è salita a circa 45 mW m<sup>-2</sup>.

✧ Rozendal et al. (2006) hanno studiato gli effetti del tipo di membrana utilizzata, sul pH e sull'efficienza delle MFC. Data l'eccellente capacità della membrana in Nafion, utilizzata nelle PEMFCs (acronimo di Polymer Electrolyte Membrane Fuel Cell), di condurre protoni gli Autori hanno deciso di utilizzare il Nafion anche per le MFC. Ma il Nafion consente il passaggio dal comparto anodico a quello catodico, oltre che ai protoni anche ai cationi. I protoni vengono consumati nella reazione al catodo mentre è stato osservato un accumulo dei cationi, che comporta un incremento del pH e dunque una riduzione del rendimento della MFC.

Altri Ricercatori hanno approfondito lo studio dell'uso di **mediatori** nelle MFC:

✧ Delaney et al. (1984), hanno testato, per primi, i differenti tipi di mediatori per il comparto anodico di una MFC in Perspex a due comparti separati da una membrana di scambio ionico, focalizzando la loro sperimentazione sulla thionina (Figura 4-10).

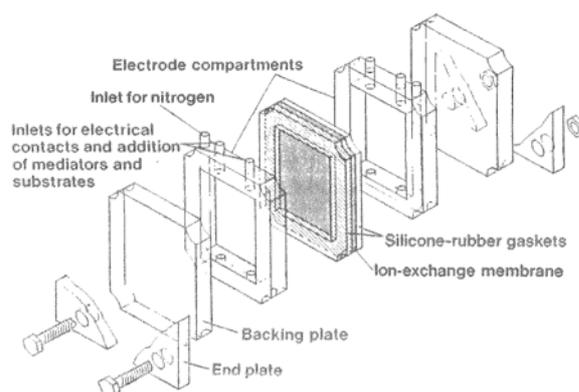


Figura 4-10 Diagramma di assemblaggio della cella in Perspex, utilizzata da Delaney et al. (1984).

A conclusione del loro lavoro, i Ricercatori hanno affermato che la thionina rappresenta un efficiente mediatore, ma di scarsa utilità, in quanto non è adatto ad un utilizzo a lungo termine.

✧ Successivamente, Park e Zeikus (2000), hanno verificato la possibilità di utilizzare l'NR (Neutral Red) e thionina come mediatori di elettroni nel comparto anodico di una MFC alimentata a glucosio. La MFC utilizzata (nella quale sono stati inoculati batteri delle specie *Escherichia coli* e *A. succinogenes*) presentava elettrodi in feltro di grafite collegati con cavo in platino, connessioni in resina epossidica, comparto catodico (utilizzando ferrocianuro come mediatore), ed una membrana di scambio protonico (Figura 4-11). Il comparto catodico è stato continuamente ossigenato con aria e mantenuto in agitazione. Gli Autori hanno verificato che con la thionina e con l'NR come mediatori, sono stati ottenuti valori di corrente rispettivamente di 0,4 mA e 3,5 mA. Con lo stesso tipo di MFC alimentata a glucosio e utilizzando una coltura mista di biomassa anaerobica, i Ricercatori hanno poi osservato gli stessi valori di intensità di corrente ottenuti nel corso degli esperimenti condotti con coltura pura.

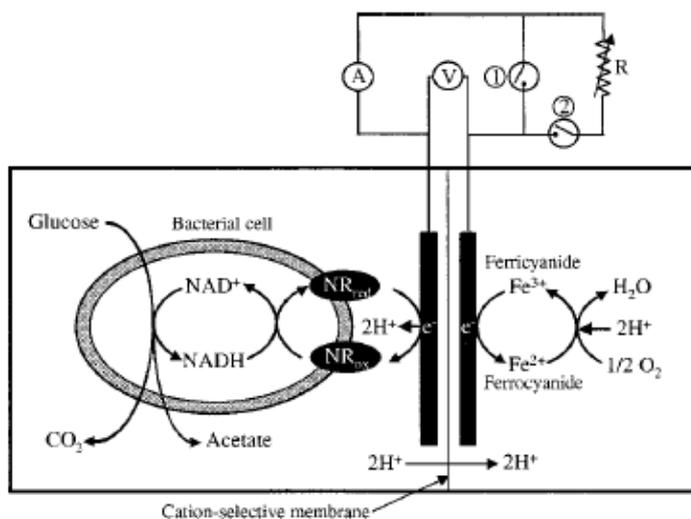


Figura 4-11 Schema di funzionamento della cella alimentata con glucosio e contenente mediatori anodici e catodici, utilizzata da Park e Zeikus (2000).

✧ Moon et al. (2005\_a) hanno prodotto in modo continuo elettricità utilizzando una MFC senza mediatori aggiunti, alimentandola con un refluo artificiale. Gli Autori hanno utilizzato la configurazione proposta da Chang et al. (2003) (Figura 4-12), usata per determinare il BOD in modo continuo per un monitoraggio dei reflui.

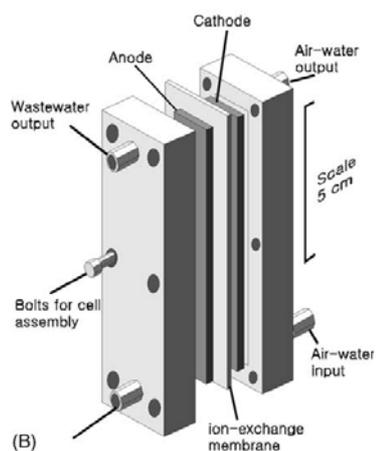


Figura 4-12 Schema di funzionamento proposto da Chang et al. (2003).

I due comparti, anodico e catodico, sono separati da una membrana di scambio cationico, il catodo è realizzato in feltro di grafite, trattato con platino. Alimentando, in continuo e in modalità up-flow, il comparto

anodico con un refluo artificiale e la camera catodica con acqua satura di aria per oltre due anni, i microrganismi presenti si sono adattati alle condizioni di lavoro. E' stata misurata una densità di potenza di  $560 \text{ mW m}^{-2}$  con una concentrazione di  $300 \text{ mgCOD l}^{-1}$  alimentando con una portata di  $0,53 \text{ ml min}^{-1}$ , a  $35^\circ\text{C}$ . Tali valori sono più bassi rispetto ai sistemi in batch, realizzati da Park e Zeikus (2003) e Rabaey e al. (2003), ciò, molto probabilmente, perché la potenza potrebbe stabilizzarsi in un periodo più lungo di due anni. Comunque la potenza volumetrica (potenza per unità di volume di lavoro) è  $102 \text{ mW l}^{-1}$ , che è circa 60 volte maggiore delle altre celle che non usano mediatori all'anodo e al catodo.

Alcuni gruppi di ricerca hanno, invece, posto particolare interesse nello studio di MFC caratterizzate dall'**assenza di mediatori** e **senza membrana di scambio protonico**:

✧ Jang et al. (2004), hanno verificato per primi la possibilità di utilizzare una MFC di questo tipo, per produrre corrente elettrica ed al contempo depurare un refluo contenente sostanza organica. La MFC è stata realizzata in plastica poliacrilica e presenta una forma cilindrica (Figura 4-13). L'anodo (in feltro di grafite a formare un rotolo) è stato sistemato nella parte bassa (ove avviene anche l'alimentazione di refluo artificiale), mentre il catodo (in feltro di grafite a formare un disco) è stato sistemato nella parte alta, ad una distanza dal primo di 10 cm. Al disopra dell'anodo è stato sistemato uno strato di lana e fibra di vetro (per evitare l'ingresso di ossigeno nella zona anaerobica). Nella zona anodica si sono instaurate condizioni anaerobiche ed è stato inoculato fango di supero proveniente da un impianto di trattamento di liquami civili, mentre la zona catodica era aerata.

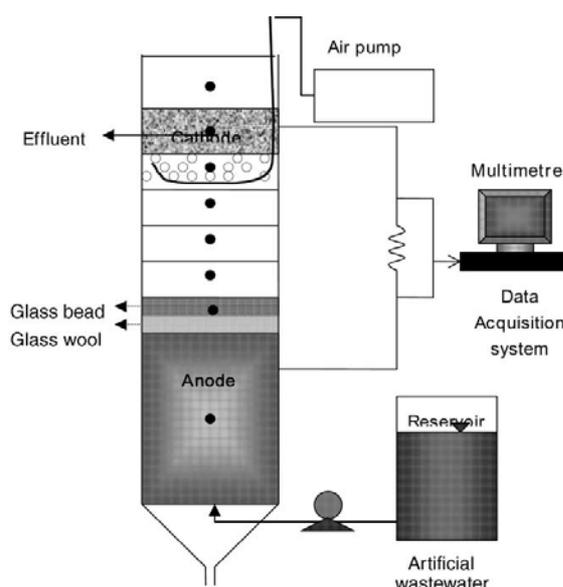


Figura 4-13 Configurazione della cella utilizzata da Jang et al. (2004).

Infine, il circuito elettrico è stato realizzato con cavo in platino. Gli Autori hanno verificato la possibilità di migliorare le prestazioni della MFC agendo su diversi fattori: a) sistema di aerazione (incrementando la concentrazione di ossigeno disciolto); b) utilizzando un catodo realizzato in grafite platinizzata; c) aggiungendo al comparto catodico del cloruro di sodio (che determinerebbe un miglioramento del trasferimento di cariche); d) acidificando il comparto catodico (aumentando quindi la disponibilità di protoni).

Il sistema ha generato in quattro settimane una corrente stabile di 2 mA e, durante tale periodo di tempo, gli Autori hanno osservato miglioramenti di circa il 15 % nella corrente prodotta, aggiungendo NaCl o acidificando il comparto catodico.

✧ Moon e al. (2005\_b) hanno visto come in una Membrane-Less MFC le caratteristiche idrodinamiche influenzano l'efficienza del reattore stesso, in termini di produzione di elettricità. Gli Autori hanno condotto diversi esperimenti variando la struttura dell'anodo. Sono stati così utilizzati sia dischi normali di feltro di grafite (Normal MFC) che dischi perforati di feltro

di grafite (Perforated MFC). Il reattore è mantenuto a 35°C, il comparto anodico, posizionato sul fondo è costituito da otto fogli di grafite, ed è alimentato in continuo con un refluo artificiale contenente glucosio, mentre nel comparto catodico, posizionato in alto, è introdotta aria (Figura 4-14).

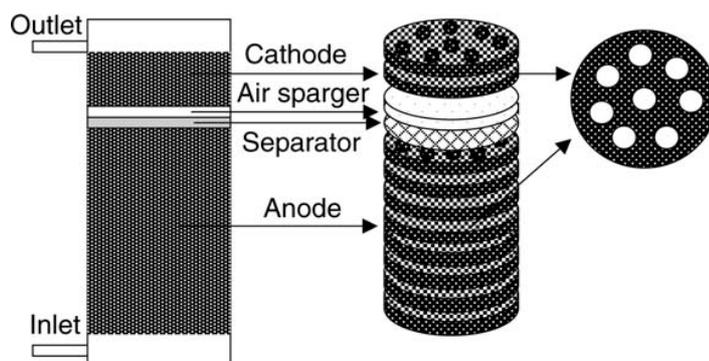


Figura 4-14 Schema della ML-MFC proposta da Moon et al. (2005\_b).

I Ricercatori hanno riscontrato un miglior rendimento, sia in termini di produzione elettrica che di Efficienza Coulombica, nel caso di Perforated MFC, dovuto forse alle migliori caratteristiche del flusso. Difatti la bassa Efficienza Coulombica mostra che molto del substrato in ingresso viene consumato nella camera catodica, probabilmente perché non sempre vi è un flusso attraverso la regione anodica e parte del substrato passa attraverso l'anodo giungendo al catodo, mentre utilizzando un anodo perforato si ha sempre il flusso nel comparto anodico, non compromettendo la crescita del biofilm. L'efficienza di depurazione tra le due configurazioni è però simile.

✧ Dentel et al. (2004), hanno utilizzato una MFC, all'interno della quale non è stato previsto il ricorso né ad una membrana di scambio protonico né a mediatori, per il trattamento di fango di supero proveniente da un digestore anaerobico. Gli Autori hanno realizzato la MFC avvalendosi di un contenitore avente capacità di circa 7,8 l e disponendo sul fondo l'anodo (realizzato utilizzando un foglio di grafite e avente una superficie complessiva di 50 cm<sup>2</sup>) e, a circa 2/3 dal fondo, il catodo (sempre in grafite

e avente una superficie complessiva di  $100 \text{ cm}^2$ ), ossigenato mediante un sistema di diffusione d'aria. Il sistema, costituito da sei reattori dello stesso tipo collegati, è stato riempito d'acqua e fango anaerobico.

Aggiungendo acetato, i Ricercatori hanno osservato un passaggio di corrente inferiore a  $60 \mu\text{A}$  e, applicando differenti tecniche (X-Ray diffraction e analisi PCR), hanno stabilito che non è presente alcun accumulo di biofilm sulla superficie degli elettrodi, concludendo che, probabilmente, la produzione di corrente è legata all'utilizzo di mediatori redox, prodotti dalla stessa biomassa. (Schema in Figura 4-15).

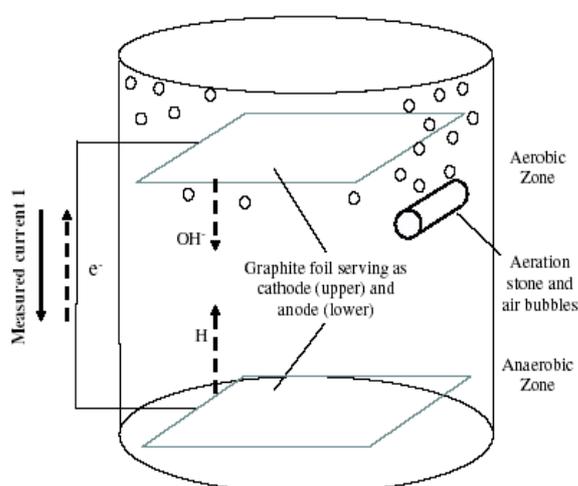


Figura 4-15 Schema di realizzazione della cella senza membrana e mediatori, utilizzata da Dentel et al. (2004).

✧ Un confronto tra due MFC a due compartimenti senza membrana di scambio protonico e senza il ricorso a mediatori, è stato inoltre effettuato da Tartakovsky e Guiot (2006). Lo studio è stato condotto ossigenando il catodo della prima MFC con aria, mentre nella seconda si è ricorso al perossido d'idrogeno. I Ricercatori hanno concluso che quest'ultima configurazione ha mostrato un miglioramento in termini di stabilità delle prestazioni sul lungo periodo (Figura 4-16).

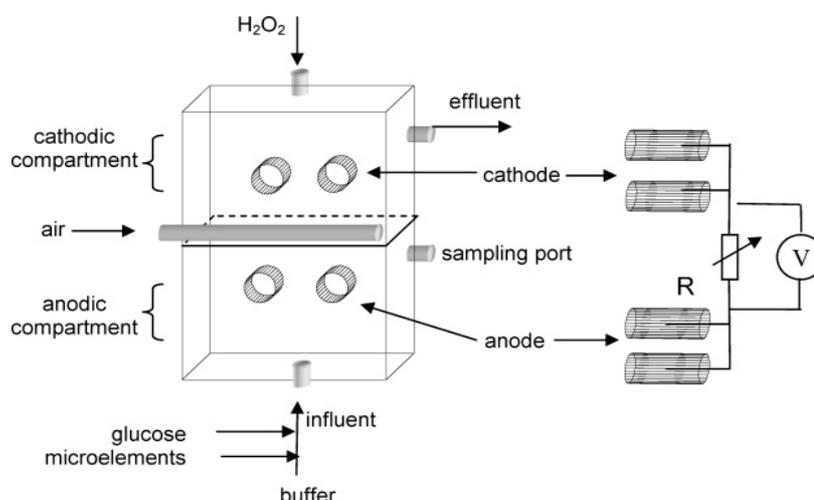


Figura 4-16 Modello di funzionamento della cella senza membrana e mediatori, utilizzata da Tartakovsky e Guiot (2006).

L'efficienza di una MFC dipende anche dalla **reazione di riduzione al catodo**. Sono state condotte diverse ricerche per cercare di migliorare il comportamento del catodo:

- ✧ Gil e al. (2003), come anche Oh et al. (2004), utilizzando ossigeno come accettore di elettroni, hanno mostrato un miglioramento delle performances del catodo in seguito ad un'aerazione e ad una diminuzione del pH nel comparto catodico.
- ✧ Diversi autori quali Rabaey (2003, 2005\_a) e Oh et al. (2004) hanno aumentato notevolmente l'efficienza del catodo utilizzando esaferrocianato come accettore di elettroni, ma tale composto non è utilizzabile nelle applicazioni pratiche in quanto risulta essere tossico ed inoltre non è in grado di essere rigenerato con l'ossigeno.
- ✧ Jang et al. (2004), Oh et al (2004) hanno utilizzato, come precedentemente descritto, elettrodi di grafite rivestiti di platino, ottenendo ottimi risultati.

✧ Heijne e al. (2006) hanno studiato la possibilità di utilizzare la coppia redox  $Fe_3^+/Fe_2^+$  come mediatore catodico di elettroni per la riduzione dell'ossigeno. Gli Autori hanno scelto tale coppia redox per diverse ragioni, tra cui la caratteristica che il ferro ferroso ( $Fe_3^+$ ) può essere biologicamente ossidato a ferro ferrico ( $Fe_2^+$ ) utilizzando l'ossigeno come accettore di elettroni.

La configurazione proposta dagli Autori è detta "Flat Plate MFC", consiste in sei piatti in plexiglas intervallati dagli elettrodi in grafite e dalla membrana bipolare in posizione centrale (Figura 4-17°a). I ricercatori hanno misurato una densità di potenza di  $0,86 \text{ MW m}^{-2}$  in corrispondenza di una densità di corrente di  $4,5 \text{ A m}^{-2}$  ed un Efficienza Coulombica del 90%. Tale processo avviene per mezzo di batteri adesi al catodo del genere *Acidithiobacillus Ferroxidant* e per alti valori del potenziale catodico (circa 900 mV vs NHE) (Figura 4-17 b). Affinché avvenga la reazione di riduzione dell'ossigeno, il ferro ferrico deve essere solubile, e ciò avviene per bassi valori del pH (<2,5) nel comparto catodico.

Tali valori sono stati assicurati utilizzando una membrana bipolare che permette il passaggio sia dei cationi, dal comparto anodico a quello catodico, che degli anioni nel verso opposto.

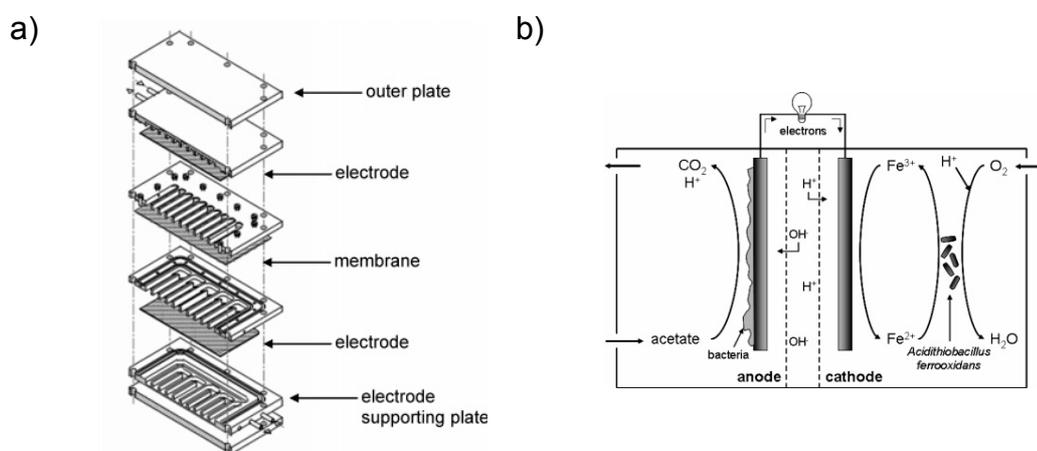


Figura 4-17 a) Schema di una “flat plate” MFC proposta da Heijne et al. (2006); b) schema della stessa MFC, caratterizzata da mediatori al catodo.

Ultimamente si è messa in evidenza la possibilità di eliminare dalle acque di scarico anche i **solfori** e al contempo produrre energia elettrica:

✧ Rabey et al (2006) hanno utilizzato una MFC quadrata, con catodo e anodo riempiti di grafite granulare e fatta funzionare sia in batch che in continuo, per studiare la conversione dei solfori in zolfo elementare: Una soluzione di esaferrocianuro è stata utilizzata come elettrolita catodico.

La MFC è stata alimentata con una soluzione contenente solo solfori e, dopo un giorno, si è constatato che questi erano stati degradati e che, al contempo, si erano prodotte un'intensità di corrente pari a 11 mA ed una potenza di 37 mW l<sup>-1</sup> NAC (acronimo di Net Anodic Compartment). Anche in questo studio è stato verificato che l'intervallo ottimale in cui i solfori possono venire degradati è compreso tra i -300 V e i -200 V.

Con questo lavoro gli Autori hanno dimostrato che l'ossidazione dei solfori permette di produrre energia elettrica e ciò può consentire, almeno in parte, di recuperare l'energia che normalmente viene persa nei digestori anaerobici degradando i solfori invece di produrre metano.

Nella stragrande maggioranza delle MFC finora progettate e realizzate solamente il comparto anodico è caratterizzato dalla presenza di microorganismi, mentre quello catodico funziona abioticamente sfruttando la presenza di catalizzatori e mediatori che favoriscono il trasferimento di elettroni al catodo. Alcuni recenti studi stanno tentando di realizzare un **catodo biotico**, nel quale cioè sono proprio dei microorganismi a fungere da catalizzatori o mediatori delle reazioni catodiche.

I vantaggi di una MFC con biocatodo sono molteplici (He e Angenent, 2006):

- ✚ Bassi costi di costruzione ed esercizio, in quanto il ricorso a mediatori artificiali e a catalizzatori metallici non è più necessario;
- ✚ La sostenibilità ambientale della MFC è maggiore poiché non si ritrovano più sostanze tossiche nell'effluente;
- ✚ I microorganismi possono rimuovere composti indesiderati e migliorano la qualità dell'effluente degradando ulteriormente la sostanza organica presente nei reflui trattati;
- ✚ Il più comune accettore di elettroni usato nelle MFC con biocatodo è l'ossigeno, che è molto disponibile in natura e non richiede costi troppo elevati di fornitura.

He e Angenent (2006) affermano quindi che l'utilizzo di un biocatodo può essere una promettente soluzione per le MFC, a patto che si riescano a capire a fondo i meccanismi con cui gli elettroni vengono trasferiti all'elettrodo in modo da favorire questo processo, altrimenti limitato dall'elevato "overpotential" biologico.

Alcuni studi sono stati di recente effettuati proprio per valutare i rendimenti di MFC con catodo biotico:

✧ Rhoads et al. (2005); hanno realizzato una MFC a due comparti, entrambi biotici, separati da una membrana di scambio protonico (Figura 4-18 a e b).

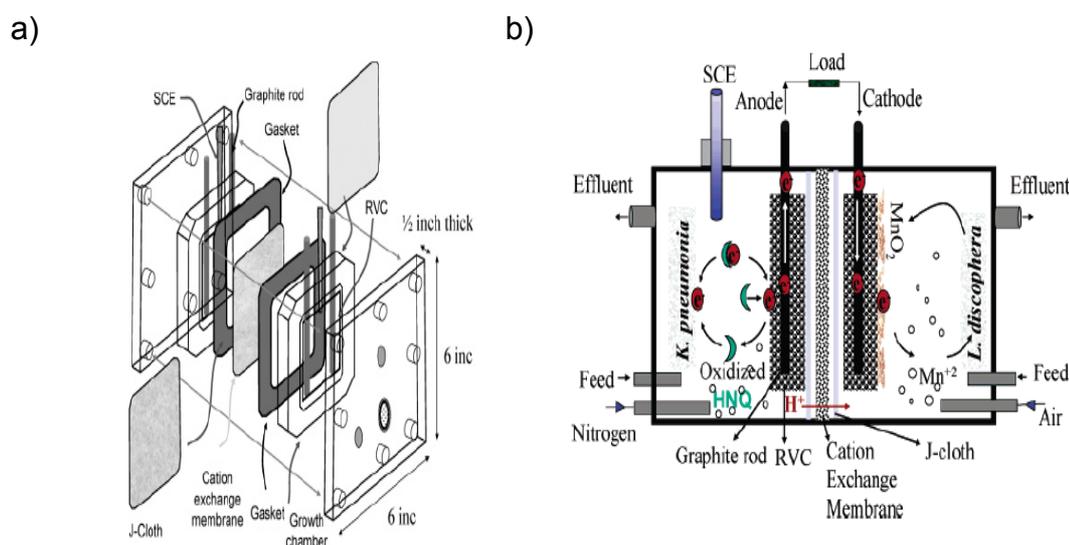


Figura 4-18 a) Schema della MFC utilizzata da Rhoads et al.(2005); b) Meccanismo di trasferimento degli elettroni dai microrganismi all'elettrodo.

Nel comparto anodico sono stati introdotti batteri della specie *Klebsiella pneumoniae* e, come mediatore HNQ (Idrossi-naftoquinone), mentre in quello catodico il completamento del processo è garantito dalla riduzione diretta (senza necessità di mediatori) di ossidi di manganese depositati direttamente sull'elettrodo da batteri appartenenti alla specie *Leptotrix discophora*. Gli ossidi di manganese, depositati per via biologica, vengono usati come reagenti catodici e permettono rendimenti migliori di quelli ottenibili con l'uso di solo ossigeno, la potenza prodotta ha raggiunto valori pari a  $127 \text{ mW m}^{-2}$ .

✧ Una MFC a due comparti, separati da una membrana e riempiti per il 75% di grafite granulare, e operante a temperatura ambiente è stata realizzata da Freguia et al (2007\_c). La particolarità di questa configurazione sta nel fatto che il catodo è biotico e quindi il refluo in ingresso ( $500 \text{ mg l}^{-1}$  di acetato) attraversa prima il comparto anodico e poi quello catodico: il biofilm adesivo alla grafite granulare del secondo comparto porta ad una rimozione finale del substrato maggiore del 99% e

ad un incremento della produzione di corrente elettrica pari all'80%, passando da 14,9 mA a 27 mA. La produzione massima cui sono giunti gli Autori è di 57 mA, e cioè circa 4 volte superiore a quella ottenuta con un catodo abiotico; l'efficienza energetica è stata del 6,9%.

Gli Autori hanno fatto inoltre un confronto tra due diversi tipi di catodo biotico: nella prima configurazione (Figura 4.19 a) il comparto catodico viene aerato con un aeratore da acquario, mentre nella seconda (Figura 4.19 b) il refluo attraversa dall'alto verso il basso il letto di grafite e l'aerazione avviene quindi in modo passivo.

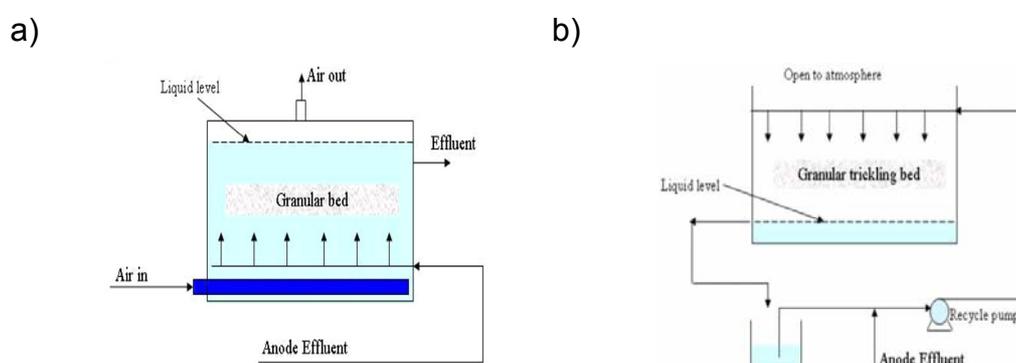


Figura 4-19 a) Catodo aerato con un aeratore da acquario; b) Catodo aerato in modo passivo (Freguia et al. 2007\_c).

Le prestazioni della seconda MFC sono di gran lunga inferiori rispetto a quelle della MFC il cui catodo è caratterizzato da aerazione forzata. L'unico vantaggio dell'aerazione passiva è il suo minor costo.

Un'importante conclusione che i Ricercatori hanno potuto trarre alla fine di questo lavoro è che un eccessivo carico in ingresso può inibire la produzione elettrica in quanto se c'è abbondanza di substrato per i batteri eterotrofi non risulta necessario essere adesi al catodo per sopravvivere. Un carico eccessivo in uscita dal comparto anodico è quindi dannoso per quanto riguarda il rendimento energetico dell'impianto.

Gli Autori hanno inoltre riscontrato l'importanza di avere un catodo biotico affinché possa esserci la denitrificazione: è avvenuta infatti una selezione dei microorganismi capaci di operare i meccanismi necessari alla riduzione dei nitrati. Infine i Ricercatori hanno notato che un alto potenziale catodico implica un alto tasso di denitrificazione.

✧ Topcagic et Minteer (2005) hanno evidenziato la possibilità di ricorrere a catalizzatori biologici, sottoforma di microrganismi o di enzimi prodotti dagli stessi, in luogo dei catalizzatori chimici, che si ritrovano nel fluido in uscita e provocano problemi di carattere ambientale. Hanno quindi ideato una "cella biologica" in cui, per entrambi gli elettrodi, sono utilizzati degli enzimi come catalizzatori. In particolare le reazioni anodiche sfruttano l'alcool deidrogenasi, mentre il biocatodo è costituito da una tela di carbonio avvolta da una membrana in Nafion modificata contenente bilirubina e bilirubina ossidasi. Il catodo è posto a diretto contatto con l'aria, unica fonte di ossigeno.

I Ricercatori hanno constatato che la corrente prodotta ( $2,04 \text{ mA cm}^{-2}$ ) aumenta all'aumentare della concentrazione di bilirubina. La vita complessiva di questa MFC è risultata essere di circa 30 giorni. Essa pertanto presenta il vantaggio delle celle enzimatiche di produrre alte densità di potenza ( $0,45 \text{ mW cm}^{-2}$ ) e il pregio delle celle microbiche, aventi tipicamente una vita più lunga.

✧ Anche Tsujimura et al. (2007), per favorire la riduzione dell'ossigeno al catodo, hanno utilizzato degli elettrodi trattati con enzimi. In particolare sono stati utilizzati degli elettrodi di carbonio modificato in "aerogel di carbonio" ed immersi in una soluzione contenente l'enzima laccasi oppure l'enzima bilirubina ossidasi. La MFC, che ha funzionato in condizioni stabili per 10 giorni, ha prodotto una densità di corrente pari a  $10 \text{ mA cm}^{-2}$ . Inoltre il valore di "overpotential" di riduzione dell'ossigeno al catodo è

risultato solamente di 0,4 - 0,55 V, valore inferiore rispetto a quanto si ottiene normalmente con elettrodi in platino.

#### 4.4 Microbial Fuel Cells a singolo comparto

Le MFC a comparto singolo (note anche come SC-MFC, acronimo di Single Chamber-Microbial Fuel Cell), rappresentano una particolare evoluzione di quelle a doppio comparto.

In questo sistema non è previsto il comparto catodico, ed il catodo viene sistemato sulla membrana di scambio protonico (ove prevista), direttamente a contatto con l'aria. In questo modo si evita di aerare l'acqua, poiché l'ossigeno presente nell'aria è immediatamente disponibile al catodo (Figura 4.20).

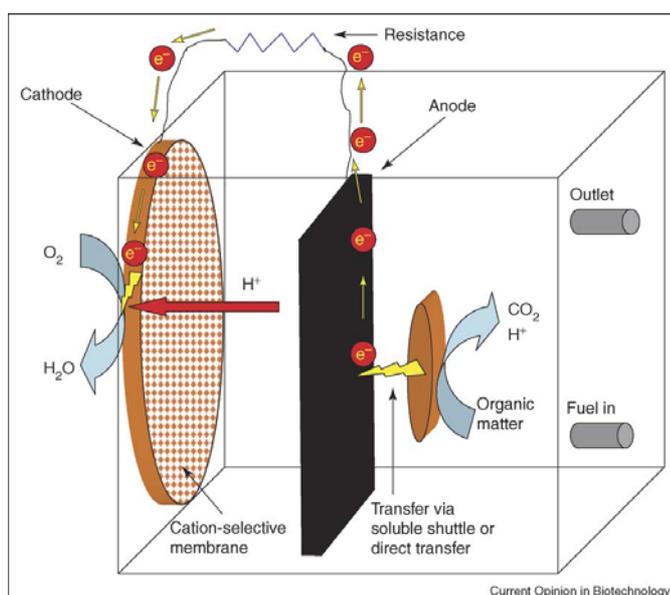


Figura 4-20 Schema di una SC-MFC.

Un limite del sistema con catodo in aria è rappresentato dalla potenziale perdita d'acqua che potrebbe verificarsi attraverso il catodo: la pressione idrostatica potrebbe forzare l'acqua attraverso il catodo poroso. La perdita di acqua può essere ridotta utilizzando un materiale, come il Nafion, che

oltre a fungere da legante sul catodo per il catalizzatore, riduce la permeabilità del catodo stesso.

In letteratura sono state presentate e studiate numerose configurazioni per questo tipo di MFC e nel seguito saranno descritte quelle più significative.

✧ Liu et al. (2005) hanno verificato l'applicabilità di una MFC a comparto singolo alimentata con acetato e butirato. In particolare, gli Autori sono ricorsi ad una MFC realizzata mediante un comparto cilindrico in Plexiglass sui cui lati opposti si trovano i due elettrodi (Figura 4-1). L'anodo è costituito da un foglio di carbonio Toray mentre il catodo da un foglio di carbonio platinizzato. Alimentando con acetato è stata ottenuta una potenza specifica pari a  $506 \text{ mW m}^{-2}$ , il 66 % in più di quella ottenuta alimentando butirato ( $305 \text{ mW m}^{-2}$ ). La densità di corrente misurata è stata pari rispettivamente a  $2,2 \text{ A m}^{-2}$  e  $0,77 \text{ A m}^{-2}$ . Inoltre gli Autori, applicando la tecnica della voltammetria ciclica, sono stati in grado di attribuire la produzione di corrente alla biomassa adesa all'anodo e non già a mediatori prodotti biologicamente.



Figura 4-21 Immagine della configurazione realizzata da Liu et al. (2005).

✧ Una SC-MFC, costituita da un comparto cilindrico in plexiglass contenente 8 anodi di grafite e un singolo catodo in carbonio trattato al platino, è stata utilizzata da Liu et al. (2004\_a). Gli Autori, alimentando la MFC in continuo e con l'utilizzo di una PEM, hanno prodotto una densità di potenza massima di  $26 \text{ mW m}^{-2}$  e la rimozione dell' 80 % della sostanza

organica (misurata in termini di COD) contenuta nell'acqua di scarico introdotta (prelevata da un sedimentatore primario a servizio di un impianto di depurazione di reflui civili). La potenza prodotta è risultata essere proporzionale al tempo di ritenzione idraulica ed alla concentrazione, in termini di COD, presente nel refluo alimentato alla MFC. L'Efficienza Coulombica del sistema, basata sulla rimozione di COD e sulla produzione di corrente, è risultata inferiore al 12 %, mostrando che una parte sostanziale della materia organica viene degradata senza produzione di corrente.

✧ Logan (2005\_a), ha sviluppato due particolari SC-MFC, alimentate entrambe a glucosio: la prima, denominata SC-MFC "stretta" (Figura 4-182), ha fornito una densità di potenza pari a  $262 \text{ mW m}^{-2}$ , con l'utilizzo di una PEM, e  $494 \text{ mW m}^{-2}$  senza PEM (in quanto quest'ultima aumenta la resistenza interna del sistema; la seconda, denominata SC-MFC "larga" ha invece, fornito una densità di potenza pari soltanto a  $26 \text{ mW m}^{-2}$ .

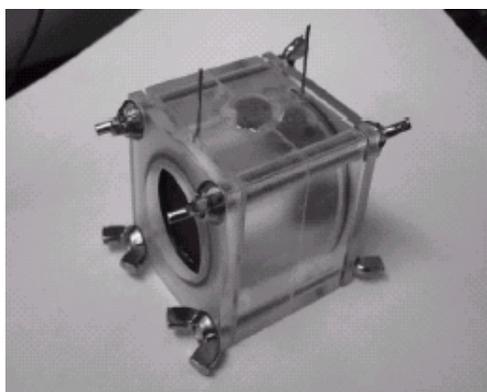


Figura 4-182 Immagine della configurazione SC-MFC sviluppata da Logan (2005).

Anche per le MFC a comparto singolo, come per quelle a due comparti, assume particolare importanza il materiale con cui sono realizzati gli elettrodi:

✧ Park et al. (2004), hanno testato la possibilità di utilizzare elettrodi modificati con ioni metallici, al fine di migliorare il trasferimento di elettroni dalla biomassa all'elettrodo. In particolare, gli Autori si sono avvalsi di una MFC a comparto singolo (Figura 4-193) il cui catodo è costituito da uno strato doppio: membrana in porcellana (la parte interna) e grafite addizionata con Fe(III) (la parte esterna, esposta all'aria). L'anodo invece è costituito da grafite addizionata con Mn(IV).

Gli Autori, ricorrendo a *Escherichia coli*, hanno misurato una produzione di corrente ed un consumo di substrato circa 6 - 7 volte superiori a quelli rilevati su una MFC il cui anodo è in grafite semplice; tuttavia, ricorrendo a fango di depurazione (e non a *E. coli*), tali valori si sono ridotti di 3 - 5 volte.

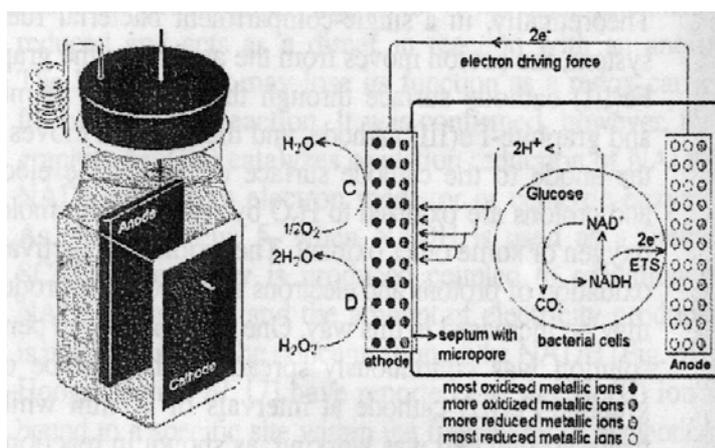


Figura 4-193 Configurazione e schema di funzionamento della MFC, sviluppata da Park et al. (2004).

✧ Cheng et al. (2006\_a) hanno invece verificato la possibilità di utilizzare materiali diversi dal platino per trattare il catodo. In particolare, gli Autori hanno verificato che riducendo la quantità di platino sul catodo da  $2 \text{ mg cm}^{-2}$  a  $0,1 \text{ mg cm}^{-2}$ , si osserva una riduzione di soli 20 - 40 mV in termini di tensione. Inoltre, utilizzando al posto del platino un composto del

Cobalto (CoTMPP), chiaramente più economico, sono stati ottenuti addirittura dei miglioramenti in termini di densità di corrente prodotta.

Sempre al fine di minimizzare i costi associati alla realizzazione di una MFC, gli stessi Autori hanno verificato la possibilità di sostituire il legante comunemente usato (Nafion) per far aderire il catalizzatore all'elettrodo con PTFE (Politetrafluoroetilene). I risultati ottenuti, alimentando "in batch" la MFC, hanno mostrato che in ogni modo con il Nafion si ottengono prestazioni migliori (passando da 400 – 480 mW m<sup>-2</sup> usando come legante il Nafion, a circa 331 - 360 mW m<sup>-2</sup> usando PTFE). In ogni caso gli Autori affermano che l'uso di catalizzatori al catodo incrementa di circa 4 volte la densità di potenza rispetto ad un elettrodo solo in carbonio.

✧ Cheng e al. (2006\_b) hanno studiato come aumentare l'efficienza di una SC-MFC applicando dei miglioramenti alla struttura del catodo. Gli Autori hanno infatti utilizzato un catodo sul quale sono stati applicati diversi strati idrofobici chiamati PTFE DLs (Politetrafluoroetilene Diffusion layers), sul lato dell'elettrodo esposto all'aria (Figura 4-24). Si è verificato un significativo incremento della densità di potenza e dell'Efficienza Coulombica, accanto ad una riduzione della perdita di acqua attraverso il catodo stesso. Test elettrochimici condotti usando elettrodi in tessuto di grafite, trattati con un diverso numero di strati diffusivi, indicano un incremento massimo del potenziale catodico in corrispondenza di 4 DLs, numero ottimale a cui corrisponde anche un valore elevato dell'Efficienza Coulombica e la massima densità di potenza, rispettivamente pari al 20 - 27% e al 42% e una riduzione della perdita d'acqua.

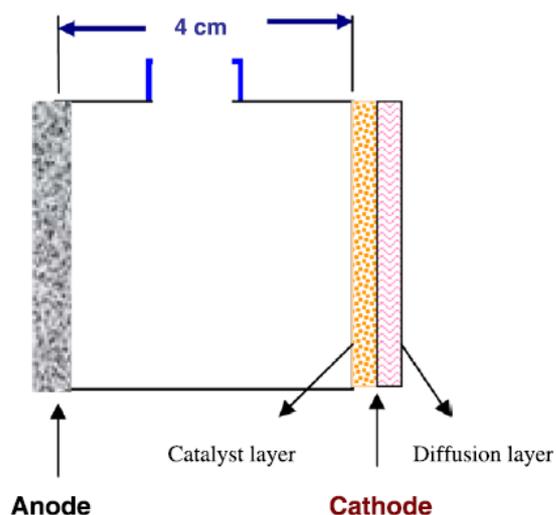


Figura 4-24 Schema di una SC-MFC. E' riportata sulla superficie del catodo la posizione degli strati di diffusione (DLs) e degli strati catalizzatori.

✧ Ancora Cheng e al. (2006\_c) hanno dimostrato che variando la distanza tra gli elettrodi in una SC-MFC senza PEM, alimentata in modalità batch, anche se la resistenza interna si riduce, la potenza diminuisce in quanto viene rallentata l'attività batterica sull'anodo (Figura 4-25).

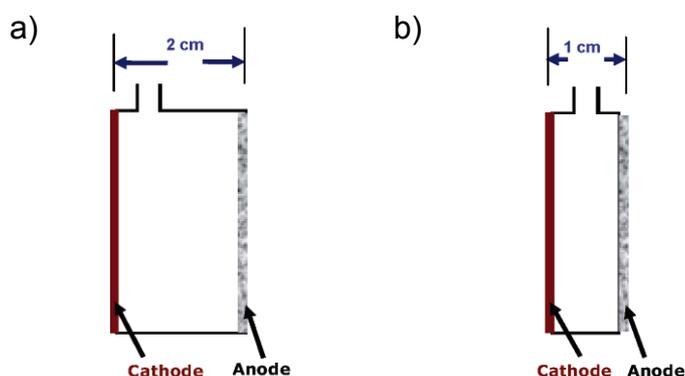


Figura 4-25 MFC in modalità batch: a) con 2 cm e b) con 1 cm, di spazio tra gli elettrodi.

Conducendo il processo in continuo e permettendo il flusso verso il catodo, attraverso l'anodo poroso, si riescono ad ottenere potenze di  $490 \text{ mW m}^{-2}$  ad una distanza tra gli elettrodi di 2 cm con resistenza

esterna pari a  $1000 \Omega$  e in ingresso al comparto anodico  $500 \text{ mgCOD l}^{-1}$ . Se in tale configurazione viene diminuita la distanza tra gli elettrodi la potenza prodotta tende ad aumentare (Figura 4-26).

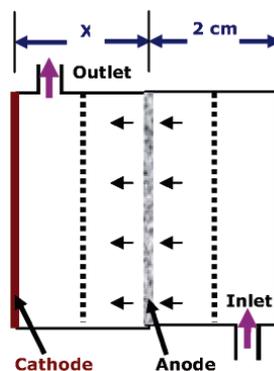


Figura 4-26 MFC in modalità continua: con 2 cm di spazio tra gli elettrodi.

Recentemente sono state sperimentate delle MFC a comparto singolo contenenti grafite granulare:

✧ Rabaey et al. (2005\_b) hanno proposto una SC-MFC tubolare, che genera alte potenze usando una matrice di grafite granulare come anodo e un foglio di grafite come catodo. L'elettrolita catodico è una soluzione di ferrocianuro, che viene continuamente alimentata in cima al catodo e ripescato sul fondo. I due comparti sono separati da una robusta membrana di scambio cationico di forma cilindrica (Figura 4-207 a e b).

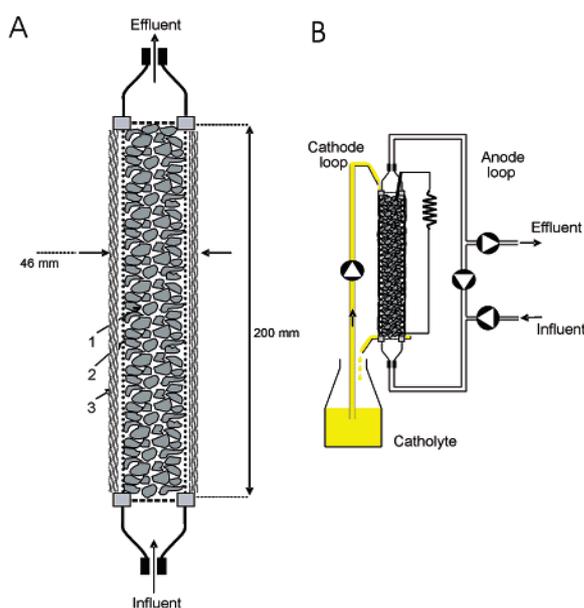


Figura 4-207 A) Schema di una MFC tubolare: (1) anodo granulare; (2) membrana; (3) catodo; B) Schema di funzionamento. (Rabaey et al. 2005\_b).

Gli Autori hanno condotto diversi esperimenti utilizzando più substrati, sia sintetici sia provenienti da impianti reali, e facendo variare diversi parametri operativi, come ad esempio, la resistenza esterna. Alimentando la MFC in continuo, in modalità up-flow, si è visto che l'Efficienza Coulombica e la natura del processo di conversione differisce significativamente in funzione del substrato. Per gli alimenti sintetici, preparati con acetato e glucosio, la massima potenza ottenuta è rispettivamente di 90 e 66  $W m^{-3}$  NAC (acronimo di Net Anodic Compartment) mentre l'Efficienza Coulombica è del 75% e 60%, per un carico di 1,1  $kgCOD m^{-3} d^{-1}$ . Utilizzando invece acque di scarico domestiche ed effluenti di impianti di digestori anaerobici si sono osservati valori di potenze ed Efficienze Coulombiche molto più basse, in quanto tali reflui contengono composti organici non facilmente biodegradabili e inoltre vi può essere l'interferenza di altri accettori di elettroni, quali ad esempio i solfati, che possono interferire con l'azione dell'anodo.

✧ You et al (2007) hanno realizzato una MFC tubulare, senza membrana, con anodo riempito di grafite granulare e con le pareti forate per favorire il passaggio degli elettroni al catodo. Quest'ultimo è costituito da un foglio di grafite avvolto attorno all'anodo e posto a diretto contatto con l'aria (Figura 4-218).

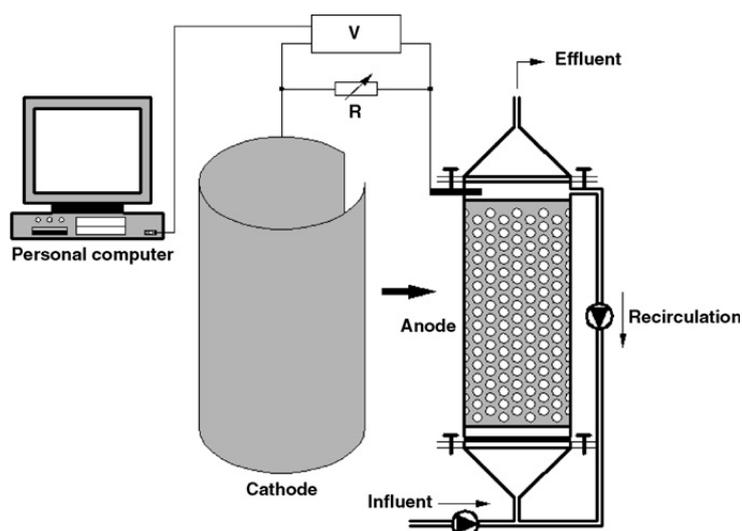


Figura 4-218 Schema della struttura della MFC proposta da You et al. (2007).

La MFC, alimentata con glucosio e funzionante in continuo, ha prodotto, con una resistenza esterna applicata di 20 Ohm, una potenza massima di  $50,2 \text{ W m}^{-3}$  ed una densità di corrente pari a 216 mA.

I Ricercatori hanno potuto constatare che, all'aumentare della concentrazione di substrato in ingresso, la generazione di potenza aumenta secondo una cinetica di saturazione. Inoltre è stato rilevato che a basse concentrazioni di COD in ingresso un aumento del ricircolo anodico aumenta la produzione di potenza, mentre ad alte concentrazioni ciò non si verifica. Gli Autori quindi concludono affermando che questo tipo di configurazione può essere utile per trattare alte concentrazioni ottenendo grandi potenze e risparmiando sui costi di ricircolo.

✧ Rabaey et al. (2006), per studiare la conversione dei solfuri in zolfo elementare, hanno realizzato una SC-MFC tubolare in cui l'anodo è riempito di grafite granulata, mentre il catodo è un foglio di grafite avvolto attorno alla membrana di scambio protonico e posto a diretto contatto con l'aria. Questa configurazione è preceduta da un reattore di tipo UASB (Uplow Anaerobic Sludge Blanket). Una soluzione di esaferrocianuro è stata utilizzata come elettrolita catodico.

Il sistema è stato alimentato con un refluo sintetico contenente sia acetato sia solfuri: la potenza prodotta è stata di  $26 \text{ mW l}^{-1}$  e, a circuito chiuso, si è assistito sia alla rimozione della sostanza organica, grazie al digestore UASB, sia dei composti dello zolfo, cosa che non si è verificata quando il circuito era stato mantenuto aperto.

Altro fattore che influisce notevolmente sulle prestazioni delle MFC è la presenza o assenza della membrana di scambio protonico:

✧ Liu et al. (2004\_b) hanno valutato gli effetti prodotti sulla densità di potenza ottenibile da una MFC, eliminando tale membrana. In particolare, viene utilizzata una MFC il cui anodo è realizzato da un foglio di carbonio Toray senza catalizzatore, ed il catodo è costituito da un tessuto di carbonio (Figura 4-29 a e b). Alimentando la MFC con glucosio, la potenza misurata risulta pari a  $262 \text{ mW m}^{-2}$  ricorrendo alla PEM e  $494 \text{ mW m}^{-2}$  senza l'utilizzo della PEM (considerando che il circuito elettrico utilizzato è realizzato in Pt e la resistenza applicata risulta pari a  $1000 \Omega$ ). Analogamente, l'Efficienza Coulombica assume valori compresi tra 40 - 55 % ricorrendo alla PEM e 9 - 12 % senza l'utilizzo della PEM (probabile diffusione di ossigeno nella zona anodica). Gli Autori, che hanno ottenuto risultati analoghi alimentando la MFC con un refluo di origine civile, hanno attribuito l'incremento di potenza ottenuto in assenza di membrana, ad un più elevato potenziale del catodo.

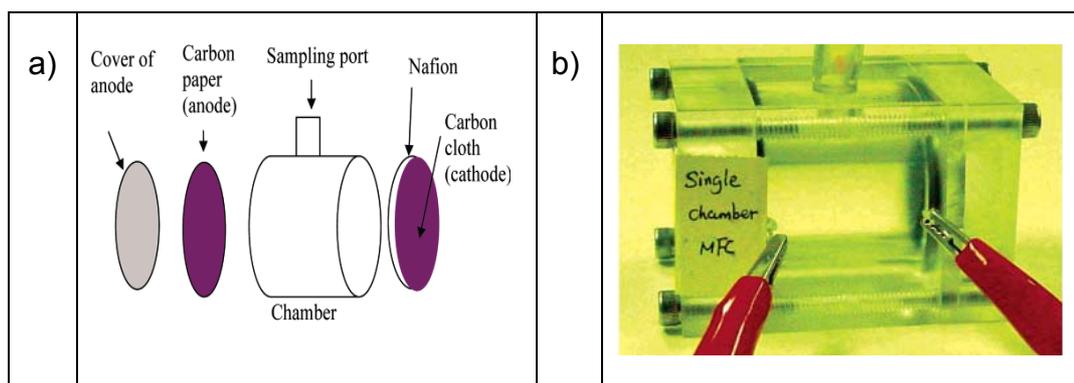


Figura 4-29 a) Rappresentazione delle componenti e b) Immagine, della MFC realizzata da Liu e Logan (2004).

Infine, alcuni gruppi di ricerca hanno concentrato la loro attenzione su differenti tipologie di substrato, analizzandone gli effetti sulla potenza prodotta:

✧ Min et al. (2005\_a), utilizzando una MFC ad un solo comparto con catodo in aria, alimentata con reflui derivanti da residui industriali (nella fattispecie suinicoli, aventi  $8,3 \text{ g COD l}^{-1}$ ) hanno ottenuto una densità di potenza massima pari a  $261 \text{ mW m}^{-2}$ , mentre usando acque reflue di origine civile hanno ottenuto circa  $146 \text{ mW m}^{-2}$ , con un abbattimento dell'ammoniaca che ha raggiunto l'83%. Al fine di aumentare la potenza producibile, il refluo in alimentazione alla MFC è stato diluito 1/10 e sterilizzato, tale pre-trattamento ha consentito un aumento della potenza del 16 % (da  $96 \text{ mW m}^{-2}$  a  $110 \text{ mW m}^{-2}$ ).

✧ Oh e Logan (2005), hanno invece alimentato, con acqua reflua pre-fermentata proveniente dalla lavorazione di cereali, una MFC a comparto singolo, realizzata con una membrana di scambio protonico in Nafion. Tale MFC presenta elettrodi ottenuti da fogli di carbonio Toray ed in particolare, il catodo trattato con catalizzatore al Pt. Con tale configurazione, gli Autori hanno prodotto  $371 \text{ mW m}^{-2}$  (corrispondenti a 53 mA per litro di refluo trattato).

## 4.5 Utilizzo di Microbial Fuel Cell come biosensori

L'attuale metodo per determinare la quantità di sostanza organica biodegradabile presente nei reflui necessita di 5 giorni per essere effettuata e richiede delle buone capacità affinché i valori ottenuti siano riproducibili. Per ovviare a questi problemi alcuni autori propongono di sfruttare le potenzialità delle MFC per farne dei biosensori capaci di realizzare in tempo reale un monitoraggio on-line del BOD (biochemical oxygen demand).

✧ Gil et al. (2003) hanno condotto una serie di test su una MFC a due compartimenti separati da una membrana di scambio protonico in Nafion (con elettrodi in grafite connessi mediante cavo in platino e senza l'utilizzo di mediatori) variando le principali condizioni operative che ne influenzano le prestazioni: pH, carico resistivo sul circuito esterno, concentrazione di ossigeno disciolto nel comparto catodico e concentrazione di sostanza organica in ingresso (Figura 4-30). Gli Autori hanno verificato che il pH ottimale risulta pari a 7, che l'utilizzo di una resistenza più elevata di 500 Ohm rappresenta un fattore limitante al flusso di elettroni dall'anodo al catodo e che, in corrispondenza di resistenze inferiori a 200 Ohm, la disponibilità di protoni e di ossigeno sono fattori limitanti.

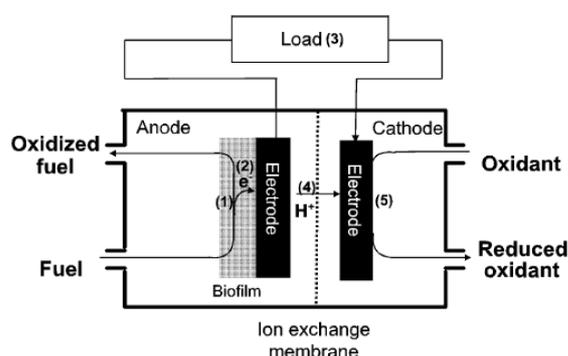


Figura 4-30 Schema degli stadi di funzionamento della MFC con membrana in Nafion

utilizzata da Gil et al. (2003): (1) ossidazione del substrato; (2) trasferimento degli elettroni dalle cellule microbiche all'elettrodo; (3) resistenza elettrica del circuito; (4) flusso dei protoni al comparto catodico; (5) ossigenazione e riduzione al catodo.

Infine i Ricercatori hanno constatato che, alimentando la MFC con differenti concentrazioni di substrato, la corrente aumenta linearmente per valori di BOD inferiori a  $50 \text{ mg l}^{-1}$ , mentre rimane invariata per valori superiori. Risultati analoghi sono stati riportati da Kim et al. (2003) utilizzando una MFC senza mediatori. Ciò permette di sfruttare la MFC come biosensore per misurare la concentrazione di sostanza organica presente nei reflui.

✧ Sempre partendo dalla considerazione che la quantità di corrente generata dipenda dal quantitativo di sostanza organica presente nel refluo, Kang et al. (2003) e Chang et al. (2004), hanno pensato di sviluppare una MFC come sensore per la misura del BOD (Figura 4-31). I Ricercatori hanno verificato che l'Efficienza Coulombica della MFC è proporzionale alla concentrazione di sostanza organica, pertanto il BOD può essere monitorato facilmente misurando la corrente prodotta.

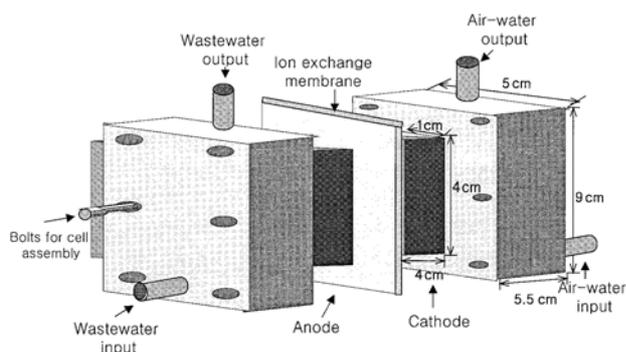


Figura 4-31 Modello rappresentante la struttura della cella utilizzata come misuratore di BOD da Kang et al. (2003).

✧ Moon et al. (2004) hanno analizzato il tempo di risposta e la sensibilità di una MFC variando la velocità di alimentazione e la resistenza esterna applicata, registrando i valori assunti dalla variabile corrente. Gli autori

hanno concluso che se si considera il sistema MFC come un reattore plug-flow, e si trascurano alcune dinamiche microbiologiche ed elettrochimiche, la corrente varia linearmente in base alla concentrazione in ingresso.

✧ Compiendo studi su una MFC senza membrana Chang et al. (2003) hanno constatato che esiste una relazione lineare tra corrente e BOD se quest'ultima grandezza assume valori inferiori a  $100 \text{ mg l}^{-1}$ . Invece se il  $\text{BOD} > 100 \text{ mg l}^{-1}$  la relazione non è lineare e quindi o si usa un modello diverso per interpolare i dati oppure si procede diluendo il refluo.

✧ Kumlanghan et al. (2007), hanno sviluppato un biosensore basato su una Microbial Fuel Cell a singolo comparto (SC-MFC) per il monitoraggio on-line del substrato organico (BOD). Per ogni analisi campione condotta, la biomassa (consorzio) anaerobica, contenuta nel compartimento anodico, è stata sostituita con una eguale quantità di nuova biomassa. Gli autori hanno utilizzato una soluzione standard di glucosio come substrato, una resistenza esterna di  $800 \Omega$  ed un tampone di fosfato  $25 \text{ mM}$  con  $\text{NaCl } 50 \text{ mM}$  come elettrolita nel comparto aerobico, ottenendo che il potenziale di cella attraverso gli elettrodi è aumentato all'aumentare del carico di glucosio. La risposta degli elettrodi è stata lineare per una concentrazione di glucosio inferiore ai  $25 \text{ g l}^{-1}$ . Il limite di misurazione è a  $0,025 \text{ g l}^{-1}$ .

✧ Kumlanghan et al. (2008) hanno progettato un biosensore per monitorare un processo anaerobico per il trattamento di alti livelli di richiesta di ossigeno chimico (BOD) in campioni di acque reflue di un'azienda di lavorazione di lattice di gomma. Il principio dell'analisi è basato sulla determinazione del tasso di consumo di ossigeno determinato dalla respirazione biologica. Il tempo di risposta del sensore è stato di 10-15 min. I risultati delle analisi sono stati confrontati con le analisi effettuate sugli stessi campioni con il metodo standard ( $\text{BOD}_5$ ), ottenendo una

differenza percentuale minore del 10%. Tuttavia i risultati non sono stati analogamente positivi quando il sensore è stato utilizzato sui reflui di altri impianti industriali.

✧ Tront et al. (2008) hanno condotto uno studio per fornire informazioni utili allo sviluppo di un metodo per il monitoraggio in situ della concentrazione di substrato e del tasso di respirazione microbica. Gli autori hanno adoperato una MFC per metabolizzare acetato attraverso l'attività dei *Geobacter sulfurreducens*, monitorando contemporaneamente la produzione di corrente. Per valori di corrente tra 0 e 0,30 mA e concentrazioni di acetato tra 0 e 2,3 mM, è stata individuata una correlazione tra le due grandezze con uno scarto  $R^2 = 0,92$ . Tale risultato può avere un'implicazione pratica per lo sviluppo di un biosensore per il monitoraggio in tempo reale e a bassi costi del processo di bioremediation in situ.

✧ Kim et al. (2007) hanno sviluppato un nuovo sistema di biomonitoraggio che consente di scovare la presenza di sostanze tossiche nei sistemi acquatici. Gli Autori, infatti, hanno constatato che, quando sostanze quali composti organofosforati, piombo, mercurio e PCB sono aggiunte all'influenza di una MFC, si osserva una diminuzione della corrente prodotta. L'ingresso di  $1 \text{ mg l}^{-1}$  delle sostanze sopra elencate comporta, rispettivamente, un decremento dei rendimenti energetici del 61%, 46%, 28% e 38%. Inoltre il calo di corrente prodotta è tanto maggiore quanto più lungo è il tempo di immissione e quanto maggiore è la concentrazione delle sostanze tossiche. Sono stati testati anche reflui reali, con decrementi ancora più evidenti.

✧ Kim M. et al. (2006) hanno usato una MFC con batteri elettrochimicamente attivi come biosensore del BOD e della tossicità. La corrente generata dalla Microbial Fuel Cell è stata linearmente proporzionale alla concentrazione fino ad un valore di  $200 \text{ mg l}^{-1}$  di  $\text{BOD}_5$ .

Inoltre in presenza di sostanze tossiche come cadmio, piombo, cromo(VI), mercurio, cianuro, arsenico, PCB, è stato osservato un cambiamento nel segnale della corrente elettrica.

✧ Anche Shantaram et al. (2005), hanno sviluppato un'applicazione alternativa di una MFC (Figura 4-32). Gli Autori hanno valutato la possibilità di utilizzare la corrente prodotta dalla MFC per la trasmissione di dati acquisiti da una sonda (nella fattispecie, una sonda di temperatura) mediante una rete wireless, evitando quindi l'utilizzo di batterie.

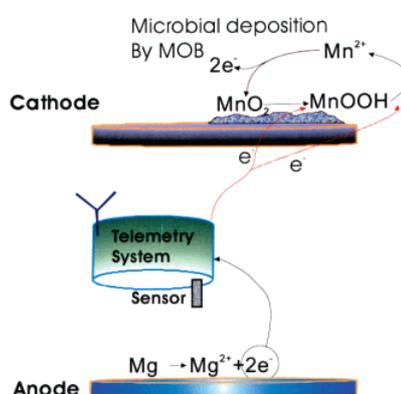


Figura 4-32 Schema di funzionamento della cella utilizzata da Shantaram et al. (2005).

### **4.6 Altri tipi di Microbial Fuel Cell, utilizzi specifici**

Accanto alle MFC viste nei paragrafi precedenti sono state sviluppate alcune tipologie aventi caratteristiche peculiari e utilizzate per applicazioni particolari:

✧ Min e Logan (2004) hanno lavorato con una MFC alternativa, cosiddetta FP-MFC (acronimo di Flat Plate-MFC), costituita da due lamine non conduttive sovrapposte (con in mezzo i due elettrodi e la membrana), in ciascuna delle quali sono stati ricavati due canali, a formare i due compartimenti anodico e catodico (Figura 4-33 a e b). L'anodo è stato realizzato

da un foglio piano di carbonio poroso, mentre il catodo da un tessuto di carbonio platinizzato. Mediante l'utilizzo di tale configurazione, gli Autori hanno verificato che la densità di potenza media ha raggiunto i  $72 \text{ mW m}^{-2}$ , utilizzando acque reflue, con una rimozione del 42% della sostanza organica (espressa in termini di COD). Utilizzando differenti tipi di substrato sono stati ottenuti  $212 \text{ mW m}^{-2}$  con glucosio,  $286 \text{ mW/m}^2$  con acetato,  $220 \text{ mW m}^{-2}$  con butirato,  $150 \text{ mW m}^{-2}$  con dextrano, e  $242 \text{ mW m}^{-2}$  con amido.

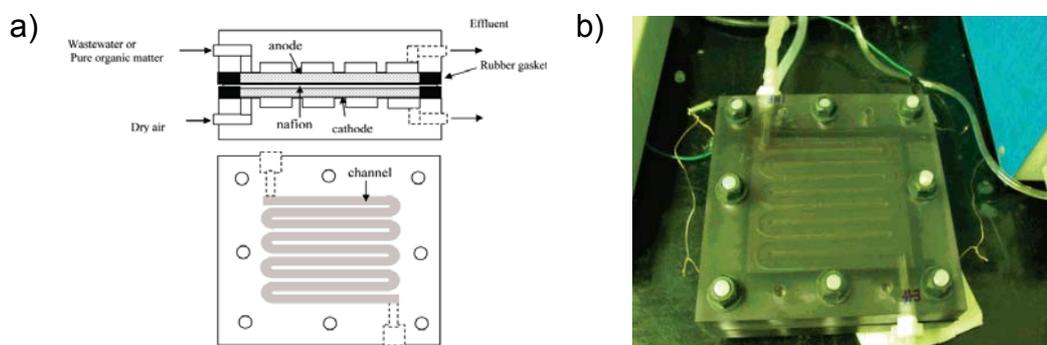


Figura 4-33 a) Rappresentazione della struttura della FP-MFC e b) Immagine della stessa realizzata da Min e Logan (2004).

✧ Una nuova configurazione di MFC è stata messa a punto da Clauwaert et al (2007) per studiare come sia possibile ottenere una completa denitrificazione sfruttando un catodo biotico. La MFC, di forma tubulare, con catodo interno all'anodo e con entrambi i comparti riempiti di grafite granulare (Figura 4-34), è fatta funzionare in batch: l'anodo è alimentato con un refluo sintetico a base di acetato di sodio, il catodo è iniettato continuamente con una soluzione concentrata di nitrato di potassio e ha come fonte di carbonio una soluzione contenente carbonati. In questo modo gli unici accettori di elettroni al catodo sono i nitrati.

Si è constatato che la produzione di corrente è proporzionale al tasso di denitrificazione: 5 moli di elettroni sono necessarie per ridurre una mole di

$\text{NO}_3^-$ . La MFC è in grado di rimuovere più di  $0,146 \text{ kgN-NO}_3^- \text{ m}^{-3} \text{ NCC}$  (Acronimo di Net Cathodic Compartement), producendo una corrente di 58 mA NNC ad un potenziale di 0,075 V.

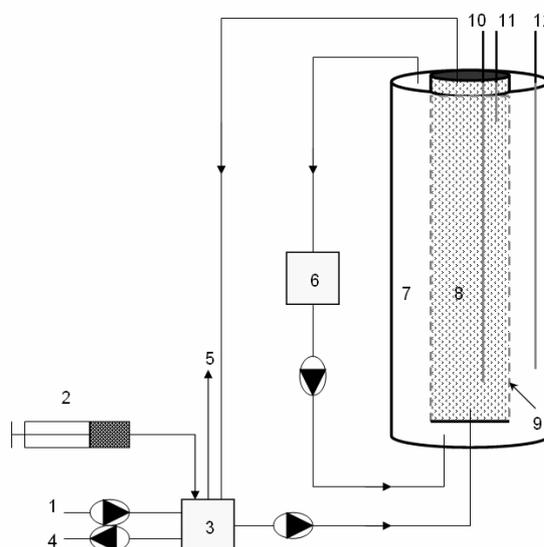


Figura 4-34 Schema della MFC proposta da Clauwaert et al (2007): 1-influente; 2-siringa con una soluzione di  $2,216 \text{ g N-NO}_3^- \text{ l}^{-1}$ ; 3-pompa per il ricircolo catodico; 4-effluente; 5-raccolta gas; 6-pompa di ricircolo anodico; 7-comparto anodico; 8-comparto catodico; 9-membrana di scambio cationico; 10-catodo; 11- elettrodo di riferimento; 12-anodo.

✧ He et al. (2005), hanno proposto una nuova configurazione di MFC alimentata in continuo, UMFC (acronimo anglosassone di Upflow Microbial Fuel Cell), che combina i vantaggi dei sistemi di trattamento UASB con i requisiti delle MFC a doppio comparto. Gli Autori hanno utilizzato un dispositivo costituito da due camere cilindriche in Plexiglas con un diametro di 6 cm, alimentato con una soluzione di saccarosio. Il comparto catodico è disposto sopra il comparto anodico, le due camere sono separate da una PEM inclinata di un angolo di  $15^\circ$  sull'orizzontale per prevenire l'accumulo dei gas prodotti. Entrambi i comparti contengono RVC come elettrodi con una data porosità per prevenire l'intasamento per crescita di biofilm ed inoltre il comparto catodico è alimentato con esacianoferrato, come mediatore artificiale di elettroni (Figura 4-35 a e b).

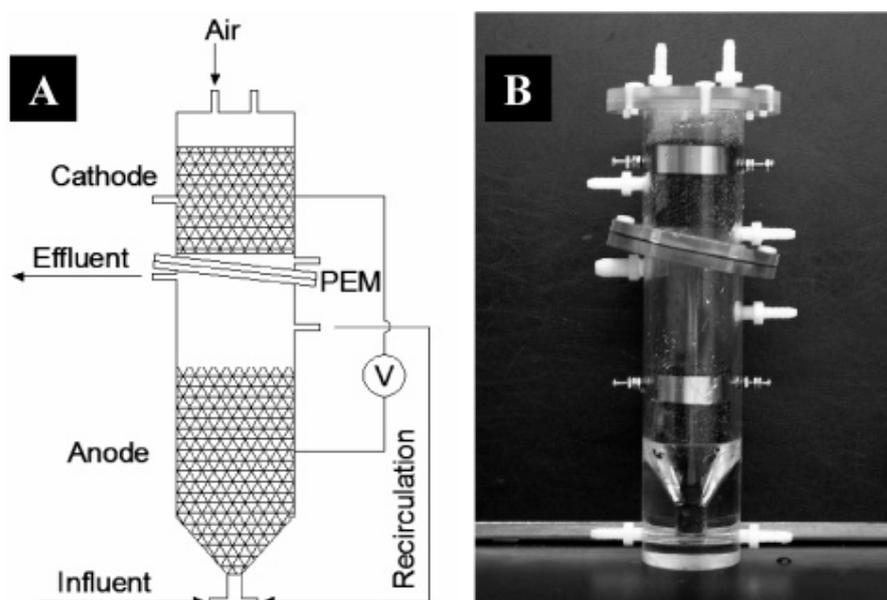


Figura 4-35 a) Schema della UMFC proposta da He e al (2005); b) Foto della UMFC, della sperimentazione.

Tale configurazione ha permesso di ottenere elettricità in modo continuo e con una densità massima di potenza di  $170 \text{ mW m}^{-2}$  alla resistenza di  $66 \text{ Ohm}$ , con una densità di corrente di  $516 \text{ mA m}^{-2}$ . L'Efficienza Coulombica è dell'8%. I ricercatori hanno osservato che, la densità di potenza aumenta incrementando il COD in ingresso fino ad un massimo di  $2,0 \text{ gCOD l}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , indicando la presenza di fattori limitanti, quali l'elevata resistenza interna nel trasferire i protoni attraverso l'elettrolita, dovuta alla distanza significativa tra gli elettrodi. La bassa Efficienza Coulombica indica infatti la bassa capacità dell'UMFC di generare energia e quindi di trasferire elettroni all'elettrodo, mentre prevalgono reazioni di metanogenesi che portano ad un elevata produzione di metano.

In termini di efficienza depurativa un UMFC può essere paragonata ad un reattore UASB, implicando che l'UMFC può essere utilizzata per rimuovere efficientemente la sostanza organica dalle acque reflue.

✧ He et al. (2006), hanno proposto una nuova configurazione di UMFC, costituita da un comparto catodico a forma di U e realizzato con una membrana di scambio protonico (PEM), inserito all'interno della camera anodica. Entrambi i comparti sono riempiti con carbone granulare attivato (Figura 4-36).

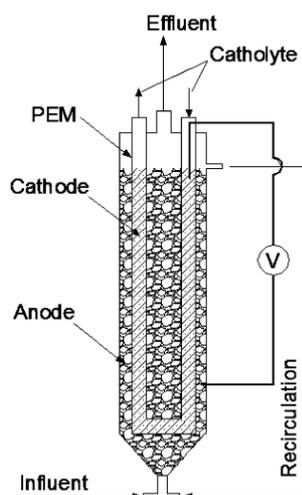


Figura 4-36 Schema di una UMFC con catodo interno.

Alimentando la MFC in continuo con una soluzione di saccarosio e operando ad una temperatura di  $35^{\circ}\text{C}$ , i Ricercatori hanno ottenuto una potenza massima volumetrica di  $29,2 \text{ W m}^{-3}$  con un carico volumetrico di  $3,4 \text{ KgCOD m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ . Un incremento del carico porta ad una diminuzione di tale potenza, ciò implica che la capacità di produzione di elettricità non aumenta in maniera lineare con il carico. Inoltre gli Autori, mediante analisi di Impedenza Spettroscopica, hanno riscontrato una minore resistenza interna rispetto alle precedenti configurazioni di UMFC (He e al., 2005) dovute ad una minore distanza tra gli elettrodi ed a una maggiore superficie della membrana di scambio protonico. Infine con tale configurazione si sono riscontrate elevate efficienze depurative, intorno al 90%.

Recentemente si stanno sviluppando anche configurazioni denominate Mini-MFC, che fungono da Biobatterie, utilizzate per permettere il sostentamento autonomo di vari sensori laddove non sono possibili altre fonti di energia.

✧ Bradley et al. (2006) hanno costruito una Mini-MFC, da cui si ottengono elevate potenze. La MFC è costruita con materiale plastico non conduttivo, presenta una sezione trasversale complessiva di  $2 \text{ cm}^2$  e un volume di  $1,2 \text{ cm}^3$ , con una PEM che separa i due comparti (Figura 4-37). Alimentando il comparto anodico in modalità discontinua, con una soluzione di lattato di sodio e utilizzando nel comparto catodico una soluzione di potassio ferricianato esposta all'aria, gli Autori hanno condotto diversi esperimenti, utilizzando sia elettrodi realizzati in feltro di grafite che RVC, con una superficie rispettivamente di  $36$  e  $610 \text{ cm}^2$ .

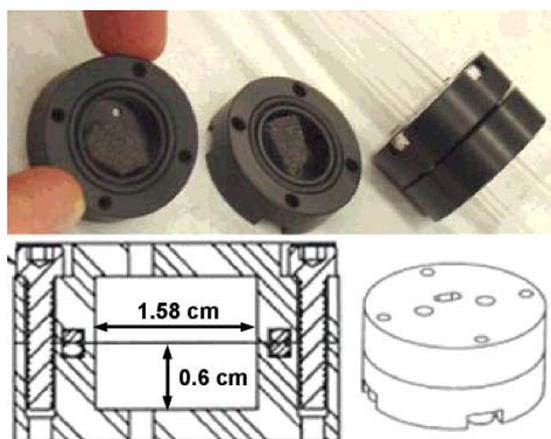


Figura 4-37 Mini-MFC con sezione trasversale e vista dall'alto.

Alla massima potenza è stata misurata rispettivamente una densità di corrente di  $20$  e  $44 \text{ mA m}^{-2}$ . L'efficienza ottenuta è dunque elevata e ciò è da attribuirsi all'allineamento e alla riduzione della distanza tra gli elettrodi, che rendono massima la capacità di trasporto dei protoni attraverso la PEM. Inoltre, occorre evidenziare che i Ricercatori hanno ottenuto tali risultati utilizzando una coltura pura di *Swewanella oneidensis*, mentre

come specificato nel capitolo precedente, diversi esperimenti condotti sulle MFC dimostrano che un incremento della densità di potenza si ottiene utilizzando colture miste di microrganismi. Gli Autori hanno dunque ipotizzato che l'alto rapporto "superficie elettrodi/volume dei comparti" ( $30-510 \text{ cm}^{-1}$ ) e la piccola distanza tra gli elettrodi aumentano la densità di potenza nelle Mini-MFC con colture pure, permettendo il confronto con i risultati ricavati da MFC macroscopiche che utilizzano colture miste.

✧ Liu et al. (2005), hanno verificato la possibilità di utilizzare una MFC opportunamente modificata per favorire la produzione biologica di idrogeno. In particolare, le attuali tecniche di fermentazione consentono una resa di circa 2 - 3 moli di idrogeno per mole di glucosio, mentre la restante parte della sostanza organica si ritrova sottoforma di acido acetico e butirrico. Gli Autori hanno proposto e verificato la possibilità di produrre idrogeno nel comparto catodico (opportunamente sigillato al fine di raccogliere il gas prodotto) applicando dall'esterno una tensione non inferiore a 100 mV. Utilizzando due differenti reattori entrambi con elettrodi in fogli di carbonio platinizzato (il primo è un sistema a due bottiglie in vetro con la PEM posizionata nel tubo che separa i due comparti ed elettrodi ad una distanza di 15 cm (Figura 4-38), mentre il secondo reattore è di tipo tubolare convertito in un sistema a due comparti grazie all'inserimento della PEM nel mezzo della lunga camera cilindrica sigillata), è stato possibile osservare che almeno il 90 % dei protoni e degli elettroni prodotti dall'ossidazione di acetato sono convertiti in idrogeno gassoso, con un'Efficienza Coulombica compresa tra il 60 e il 78 %.

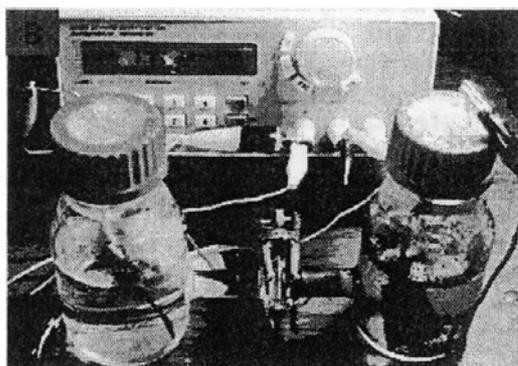


Figura 4-38 Immagine della cella utilizzata da Liu et al. (2005) per produrre idrogeno.

✧ Rozendal et al. (2008), hanno sviluppato per primi un biocatodo per la produzione di idrogeno utilizzando una coltura mista, naturalmente selezionata, di microorganismi elettrochimicamente attivi. Questo particolare biocatodo è stato realizzato in 3 fasi distinte (Figura 4-39). Inizialmente è stata costruita una MFC avente un anodo biotico capace di ossidare acetato e idrogeno e un catodo abiotico (contenente ferrocianuro); nella seconda fase è stato alimentato (quindi ossidato) all'anodo solamente l'idrogeno; infine è stata invertita la polarità degli elettrodi e, dopo un certo periodo di adattamento, si è osservato come il biocatodo ha iniziato a produrre idrogeno.

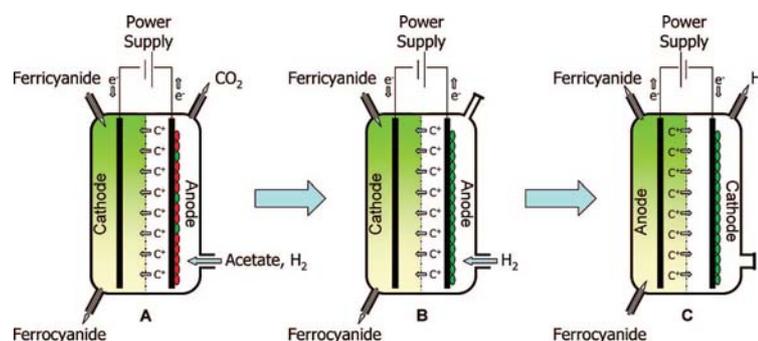


Figura 4-39 Le tre fasi necessarie per la creazione del biocatodo: (A) Anodo ossidante acetato e idrogeno dopo l'inoculo di una coltura mista di microorganismi elettrochimicamente attivi; (B) Anodo adattato ad ossidare solo idrogeno; (C) Inversione di polarità per la produzione di idrogeno nel biocatodo (Rozendal et al., 2007).

Il biocatodo utilizzato ha “consumato” una densità di corrente pari a  $1,2 \text{ A m}^{-2}$  e un potenziale di  $0,7 \text{ V}$ , producendo però al contempo  $0,63 \text{ m}^3 \text{ H}_2 \text{ m}^{-3}$  di volume liquido catodico al giorno, con un'efficienza di produzione di idrogeno pari al 49%. Inoltre, i Ricercatori hanno provato che l'effluente in uscita dal biocatodo può essere utilizzato per alimentare un'altra cella analoga, ottenendo risultati simili.

### **4.7 Microbial Fuel Cells in serie e in parallelo**

Molti Autori hanno provato ad incrementare la potenza delle Microbial Fuel Cell isolando microrganismi specifici (Bond et al., 2003), selezionando mediatori (Rabaey et al., 2005), oppure ottimizzando la superficie degli elettrodi (Park et al., 2003).

Il potenziale e l'intensità di corrente hanno avuto incrementi notevoli ma comunque non sufficienti a permettere l'applicazione delle MFC in campo pratico. Il loro rendimento è comunque influenzato (1) dalla configurazione, che determina perdite elettrochimiche e limitazioni nel trasporto convettivo dei protoni; (2) dal carico volumetrico, che rappresenta la quantità di elettroni disponibili nel substrato per la produzione di corrente ed infine (3) dalla quantità di substrato convertito in elettricità (Efficienza Coulombica). Dunque l'uso di più MFC disposte in serie o in parallelo rappresenta, ad oggi, l'unica possibilità per incrementarne notevolmente il potenziale e l'intensità di corrente; a tal proposito, l'insieme di MFC ottenuto viene denominato stack (o "pila").

Generalmente un impianto a celle a combustibile è composto, oltre che dal modulo di potenza (contenente la sezione elettrochimica), anche da un convertitore di corrente (inverter) e da un trasformatore, che convertono la corrente continua generata dalla pila in corrente alternata, alla tensione e alla frequenza desiderate.

Occorre però considerare che la connessione in serie o in parallelo può influenzare la produzione di elettricità delle singole MFC, in quanto in grado di alterare la composizione o la struttura del biofilm adesivo all'anodo, responsabile del processo e parte integrante dell'elettrolita anodico. Alcuni Ricercatori hanno sviluppato studi volti a chiarire questi aspetti:

✧ Aelterman e al. (2006) hanno realizzato una "colonna" costituita da sei identiche MFC, connesse in serie e in parallelo. Ogni cella è costituita da una robusta membrana di scambio cationico posta tra il comparto anodico e catodico. Le 6 MFC sono separate da cinque fogli di gomma. Sia l'anodo che il catodo sono costituiti da granuli di grafite. Le MFC sono connesse elettricamente in serie o in parallelo usando coppie di fili connessi agli elettrodi (Figura 4-22).

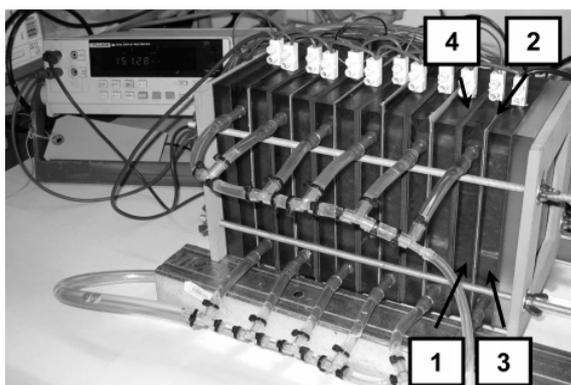


Figura 4-22 Pila di MFC connesse in parallelo con (1)anodo in grafite granulare; (2) membrana di scambio cationico; (3) catodo con esaferrocianato; (4) fogli di gomma per separare le singole MFC.

Gli Autori hanno condotto diversi esperimenti in continuo, alimentando ogni singolo comparto anodico con una soluzione di acetato di sodio con  $5,6 \text{ kg COD m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  ed utilizzando nel comparto catodico una soluzione di esaferrocianato. La connessione in serie permette di aumentare il potenziale (2000 V ad una densità di potenza massima di  $228 \text{ W m}^{-3}$  ed un'Efficienza Coulombica del 12,4%) mentre la connessione in parallelo

consente di aumentare l'intensità di corrente (250 mA ad una densità di potenza massima di  $248 \text{ W m}^{-3}$  ed un'Efficienza Coulombica del 77,8%).

Inoltre gli stessi Autori hanno osservato che si è avuta un'evoluzione della comunità microbica, difatti inizialmente la maggior parte dei microrganismi apparteneva ai *Proteobacteria* che sono Gram-negativi, responsabili della conversione in elettricità nella maggior parte delle MFC in letteratura, ma in un secondo momento in corrispondenza di alte efficienze, dominavano *Brevibacillus agri* appartenenti ai Gram-positivi. Tale variazione ha portato ad un aumento della potenza di ogni singola cella dovuto ad un decremento delle limitazioni del trasferimento di massa e ad un abbassamento della resistenza interna. Quanto detto dimostra che c'è una stretta correlazione tra le caratteristiche microbiologiche delle MFC con le performance elettriche.

✧ Shin et al. (2006) hanno connesso in serie più MFC, mediante piatti bipolari posti tra l'anodo e il catodo di due MFC adiacenti, che provvedono alla conduzione elettrica e alla separazione della massa (Figura 4-23). Gli Autori hanno costruito due diverse configurazioni. In entrambe hanno fatto avvenire la stessa reazione di ossidazione del glucosio, catalizzata da batteri Gram-negativi, quali *Proteus vulgaris*, nel comparto anodico dove inoltre è stato utilizzato come mediatore la thionina. Mentre sono state utilizzati due schemi con diverse reazioni catodiche: uno con la riduzione del ferrocianato e l'altro con la riduzione dell'ossigeno. In entrambi i casi il potenziale della pila risulta essere la somma matematica di quello relativo ad ogni singola cella ed inoltre non sono stati riscontrati particolari miglioramenti nel campo della depurazione.

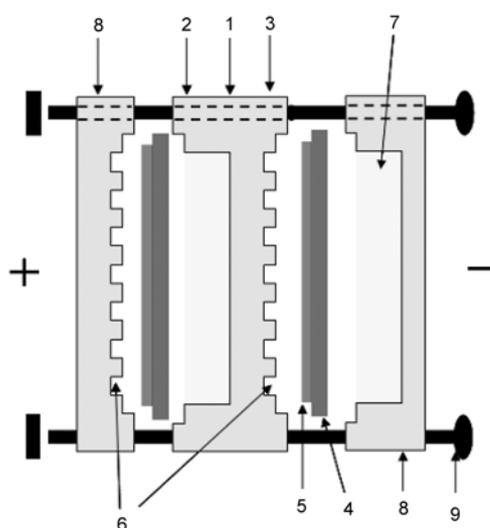


Figura 4-23 Schema di MFC con piatti bipolari proposta da Shin et al. (2006). Le due celle sono connesse in serie. Il comparto anodico contiene *P. Vulgaris*, glucosio e thionina. (1) piatti bipolari in grafite; (2) anodo; (3) catodo; (4) membrana in Nafion; (5) stato di catalizzatore sulla membrana; (6) scanalature per l'alimentazione di ossigeno; (7) elettrolita anodico; (8) piatti finali; (9) viti.

## 5 *Descrizione dell'impianto e delle attività sperimentali*

### **Introduzione**

Sulla base delle osservazioni riportate nei capitoli precedenti, si evince che è possibile produrre energia elettrica durante un processo biologico di depurazione di un'acqua reflua contenente substrato organico.

Pertanto, la ricerca di nuove configurazioni impiantistiche è volta da un lato alla razionalizzazione dell'utilizzo del substrato organico per la produzione di elettricità, e dall'altro al raggiungimento di efficienze depurative tali da poter consentirne lo scarico in conformità a quanto previsto dalle normative vigenti.

I Ricercatori dell'ENEA (sede di Bologna) hanno proposto una configurazione impiantistica che può considerarsi come un sistema di trattamento a doppio stadio biologico (Figura 5.1): il primo, in ambiente anaerobico, è condotto in un ABR (acronimo di Anaerobic Baffled Reactor) costituito da due comparti attraversati in serie dal liquame in trattamento; il secondo, alimentato con l'effluente del primo stadio, è composto da un'unità di aerazione ed una di sedimentazione, utilizzate per sviluppare un processo a fanghi attivi mirato all'ossidazione combinata dell'azoto ammoniacale e del substrato organico residuo.

L'anodo ed il catodo che costituiscono la Microbial Fuel Cell sono sistemati rispettivamente nella seconda camera anaerobica e nel bacino di aerazione. Sulla base della classificazione proposta nel capitolo precedente, l'impianto sperimentale può classificarsi come una MFC a doppio comparto, senza ricorso né alla membrana di scambio protonico né a mediatori di elettroni nel comparto aerobico.

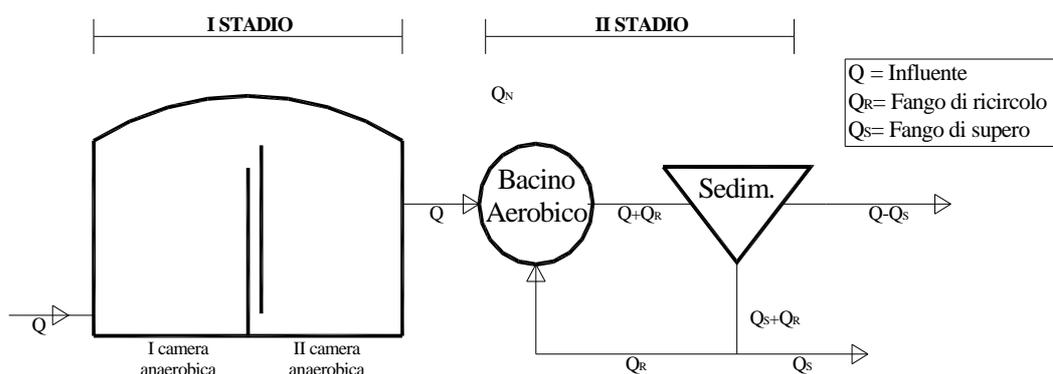


Figura 5.1 Ciclo di trattamento.

Dal punto di vista depurativo, il ciclo di trattamento adottato prevede che il liquame sia inizialmente inviato all'ABR, dove avviene sia la separazione per gravità dei solidi sospesi sedimentabili di natura organica, che la degradazione di una parte della sostanza organica più facilmente degradabile. L'effluente in uscita dal secondo comparto dell'ABR è alimentato al secondo stadio biologico, dove si conducono i processi di ossidazione della frazione organica residua; nitrificazione dell'ammoniaca; ossidazione dei solfuri (prodotti nel precedente stadio anaerobico dalla riduzione dei solfati).

Gli obiettivi della sperimentazione intrapresa riguardano in particolare:

- + Verifica dell'applicabilità della configurazione proposta per la depurazione di un refluo (sintetico e reale) caratterizzato da elevato carico organico e per la produzione di corrente elettrica;
- + Valutazione delle condizioni operative a cui corrispondono i massimi rendimenti in termini depurativi (rimozione di COD e azoto ammoniacale) e le massime prestazioni elettriche ottenibili al variare della configurazione degli elettrodi, per differenti valori del carico organico applicato e della temperatura nel comparto anaerobico;

- ✚ Valutazione delle prestazioni della MFC in assenza di biomassa adesa al catodo e successiva valutazione del tempo necessario per raggiungere nuovamente le condizioni di regime;
- ✚ Individuazione degli effetti dei fattori limitanti la potenza prodotta nella MFC mediante la determinazione dell'andamento di Potenza e Resistenza Sostenibile (secondo la procedura di Menicucci et al., 2006);
- ✚ Valutazione del possibile utilizzo della MFC come sistema per il monitoraggio on-line del processo di degradazione anaerobica;
- ✚ Caratterizzazione e definizione del ruolo della biomassa presente nella MFC mediante osservazione di immagini al microscopio, applicazione di tecniche di sequenziamento e analisi filogenetica "Denaturing Gradient Gel Electrophoresis" (DGGE).

Per il conseguimento di tali obiettivi è stato messo a punto un programma sperimentale suddiviso in 7 fasi, ciascuna suddivisa a sua volta in differenti step in funzione di due parametri principali: tipologia di reflu e architettura degli elettrodi.

<b>Fase</b>	<b>Principali Caratteristiche</b>
<b>I</b>	
<b>II</b>	✚ Refluo sintetico (glucosio)
<b>III</b>	✚ Elettrodi in grafite vetrosa
<b>IV</b>	
<b>V</b>	✚ Refluo sintetico (glucosio) ✚ Elettrodi in grafite granulare
<b>VI</b>	✚ Refluo reale ✚ Elettrodi in grafite granulare
<b>VII</b>	✚ Refluo reale ✚ Elettrodi in parallelo (grafite vetrosa)

Nei paragrafi successivi sono riportate le differenti configurazioni adottate nel corso della sperimentazione e le determinazioni analitiche effettuate.

### **5.1 Descrizione dell'impianto sperimentale**

#### **5.1.1 Configurazione adottata all'avviamento e durante le Fasi di lavoro I-II-III-IV.**

L'impianto è stato realizzato dall'assemblaggio di tagli ricavati da una lastra di PVC (di spessore pari ad 1 cm) e presenta dimensioni complessive di 76 cm di lunghezza, 20 cm di profondità e 45 cm di altezza.

I primi due compartimenti dell'ABR sono mantenuti in condizioni anaerobiche ed alla temperatura di 35° C; il biogas prodotto viene raccolto nella parte superiore la cui tenuta è garantita da un sistema a flangia e controflangia (realizzate sempre in PVC) con relativa guarnizione in gomma interposta. Complessivamente il volume dei due compartimenti dell'ABR è di circa 36 l. Entrambi i compartimenti sono stati inoculati con 15.2 l di fango di tipo granuloso proveniente da un impianto UASB (Up-flow Anaerobic Sludge Blanket) per il trattamento di reflui di origine cartaria ubicato a Castelfranco Emilia (BO).

Il liquame, presente inizialmente all'interno di un serbatoio di stoccaggio (avente una capacità complessiva di 10 l) e mantenuto alla temperatura di 5° C, è alimentato al primo compartimento dell'ABR avvalendosi di una pompa peristaltica (Watson Marlow 403 U/L in grado di sollevare una portata variabile tra 0,06 e 150 ml min<sup>-1</sup>), che distribuisce il liquame al disotto del letto di fango. Il passaggio del liquame al successivo compartimento anaerobico avviene per stramazzone, realizzato con delle paratie verticali di separazione (si veda Figura 5.1). Attese le ridotte portate in gioco, ed al fine di assicurare un'uniforme distribuzione del liquame al disotto del letto

di fango, si è provveduto ad inserire un ricircolo (realizzato mediante una pompa peristaltica, Watson Marlow 503 S con portata variabile fino a  $78 \text{ l h}^{-1}$ , ed impostata a  $56 \text{ l h}^{-1}$ ) dal secondo comparto dell'ABR al primo. Tale ricircolo consente tra l'altro anche di mantenere uniforme la temperatura nelle due camere dell'ABR. In particolare, la temperatura è mantenuta costante utilizzando una piastra scaldante posizionata nel primo comparto dell'ABR, il cui funzionamento (di tipo on/off) è comandato da una sonda di temperatura sistemata invece nel secondo comparto. Un contatore, del tipo "wet tip gas flow meter", provvede alla misura della produzione di biogas la cui percentuale in metano è valutata mediante un dispositivo IR (Siemens Ultramat 23). Inoltre l'ABR è equipaggiato con una sonda di pH (Mettler Toledo) e con una sonda Redox (Crison) per la misura rispettivamente del pH e del potenziale di ossidoriduzione.

Infine nel secondo comparto dell'ABR, in corrispondenza della paratia adiacente al comparto aerobico, è sistemato l'elettrodo (l'anodo della MFC). Esso è stato ricavato dal taglio di un foglio in grafite vetrosa e presenta una forma rettangolare avente dimensioni 10 cm per 16 cm (superficie totale  $160 \text{ cm}^2$ ).

Una volta digerito anaerobicamente, il liquame passa al successivo stadio biologico di ossidazione; l'ossigenazione del comparto avviene per mezzo di un sistema di diffusione di aria realizzato mediante una tubazione in PVC ad anello opportunamente forata, alimentato tramite un aeratore da acquario.

La miscela aerata passa quindi nel successivo comparto di sedimentazione finale dove l'acqua chiarificata sfiora nel contenitore finale di raccolta, mentre i fanghi depositatisi sul fondo, sono estratti in continuo attraverso una pompa peristaltica, e riciccolati al bacino di aerazione. Il comparto aerobico è stato inoculato con fango (circa 6 l) prelevato dalla condotta di ricircolo dell'impianto di depurazione municipale di Trebbo di

---

Reno (BO), che si avvale di un tradizionale ciclo di pre-denitrificazione (del tipo Ludzack-Ettinger modificato). All'interno del bacino di aerazione sono sistemate una sonda Redox (Crison) ed un elettrodo di riferimento al Calomelano (Hanna Instruments) per la misura rispettivamente del potenziale di ossidoriduzione e del potenziale di ciascuna semicella che costituisce la MFC, mentre periodicamente si è provveduto alla misura della concentrazione di ossigeno disciolto avvalendosi di uno strumento portatile (WTW). All'interno del comparto aerobico è stato sistemato il secondo elettrodo (catodo) identico, per dimensioni e materiale, all'anodo.

I due elettrodi (catodo ed anodo) sono chiusi su una resistenza (150 Ohm) mediante un comune cavo in rame. Le piastrine di collegamento elettrodo-cavo sono realizzate in rame e il loro isolamento dalla componente fluida è assicurato mediante resina epossidica.

Quotidianamente, viene applicata al circuito della MFC una resistenza variabile (resistenza di Sweep), che consente l'acquisizione di grandezze necessarie alla determinazione della curva caratteristica di funzionamento della MFC e per il confronto, in termini elettrici, con altre configurazioni.

Sia l'anodo che il catodo, nonché tutte le sonde presenti sull'impianto, sono collegati ad un Datalogger (Datataker 605) che provvede all'acquisizione ed archiviazione delle misure con una frequenza oraria.

Nella successiva Tabella 5.1 sono riportate le principali dimensioni delle vasche che compongono l'impianto:

*Tabella 5.1 Dimensioni dei singoli comparti dell'impianto sperimentale*

	Superficie	Altezza	Volume
--	------------	---------	--------

		[cm <sup>2</sup> ]	battente [cm]	[l]
ABR	I comparto anaerobico	400	36	18
	II comparto anaerobico	400	36	18
Bacino di aerazione		480	42	22
Sedimentatore		240	42	5

Come illustrato da He Z. et al. (2006\_b) è possibile schematizzare una MFC con un circuito equivalente (Figura 5.2), nel quale andrebbe inserita anche la resistenza interna, caratteristica intrinseca della configurazione utilizzata ed uno dei principali fattori che limitano la produzione di potenza nelle MFC (You et al. 2007).

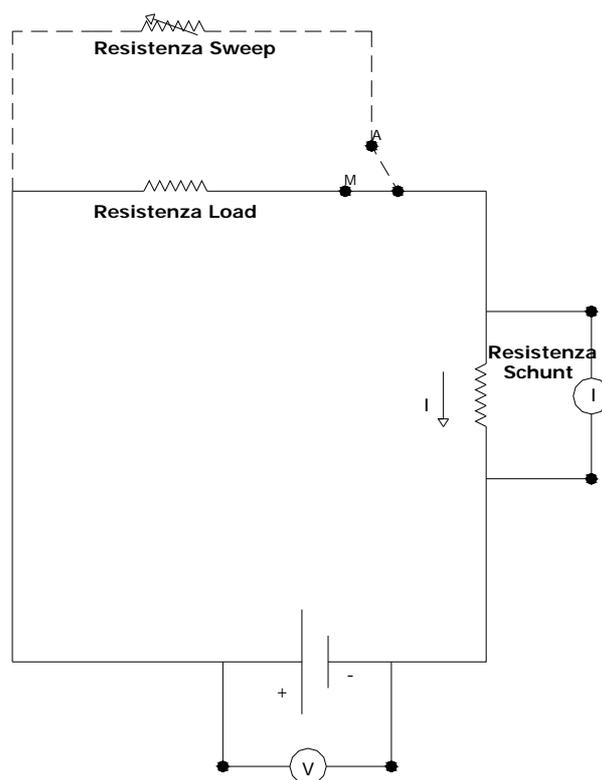


Figura 5.2 Circuito elettrico equivalente ad una MFC.

Nello schema riportato in Figura 5.2 sono riportati:

- ✚ la tensione di lavoro, misurabile ai poli della MFC stessa;
- ✚ la resistenza di Schunt, dell'ordine dei mOhm, che permette il calcolo della corrente che circola nel circuito con un'accuratezza dell'ordine di  $10^{-2}$  mA;
- ✚ una resistenza di carico applicata, R Load;
- ✚ un deviatore che, in maniera automatica, permette di applicare una resistenza variabile (resistenza di Sweep), tramite una slitta micrometrica collegata ad un potenziostato.

Come illustrato nella figura precedente, in linea generale possono essere distinti i seguenti canali di misura principali: il canale di corrente, il canale di tensione e i canali dei potenziali anodico e catodico misurati rispetto ad uno "comune". Quando il circuito è chiuso su "M", i suddetti quattro canali permettono l'acquisizione oraria delle grandezze elettriche; quando invece il circuito è chiuso su "A" e quindi viene applicata la resistenza di Sweep, essi consentono, come indicato in precedenza, l'acquisizione di grandezze necessarie alla determinazione della curva caratteristica di funzionamento della MFC e per il confronto, in termini elettrici, con altre configurazioni.

In Figura 5.3 è riportata una sezione dell'impianto, mentre nelle fotografie 5.1, 5.2, 5.3 e 5.4 sono mostrate alcune immagini dell'impianto scattate rispettivamente durante il funzionamento e durante la fase di realizzazione.

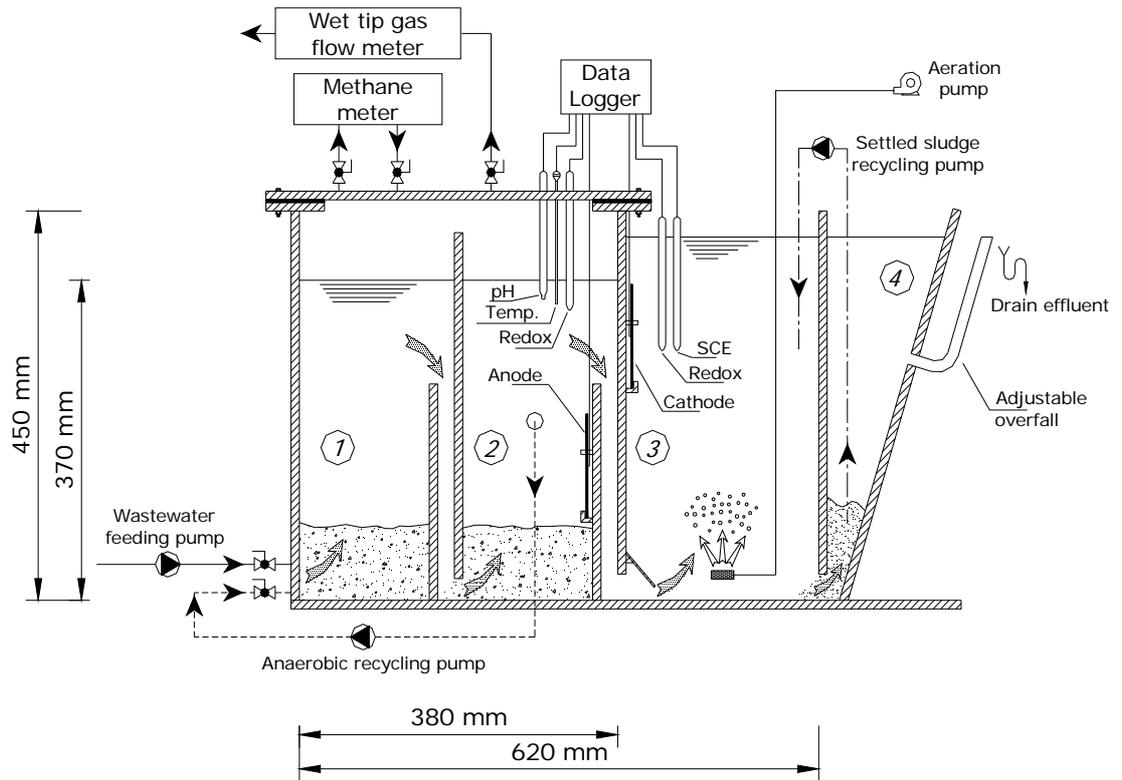


Figura 5.3 Schema di trattamento



Foto 5.1: Immagine dall'alto del comparto aerobico e flangia di copertura dell'ABR.

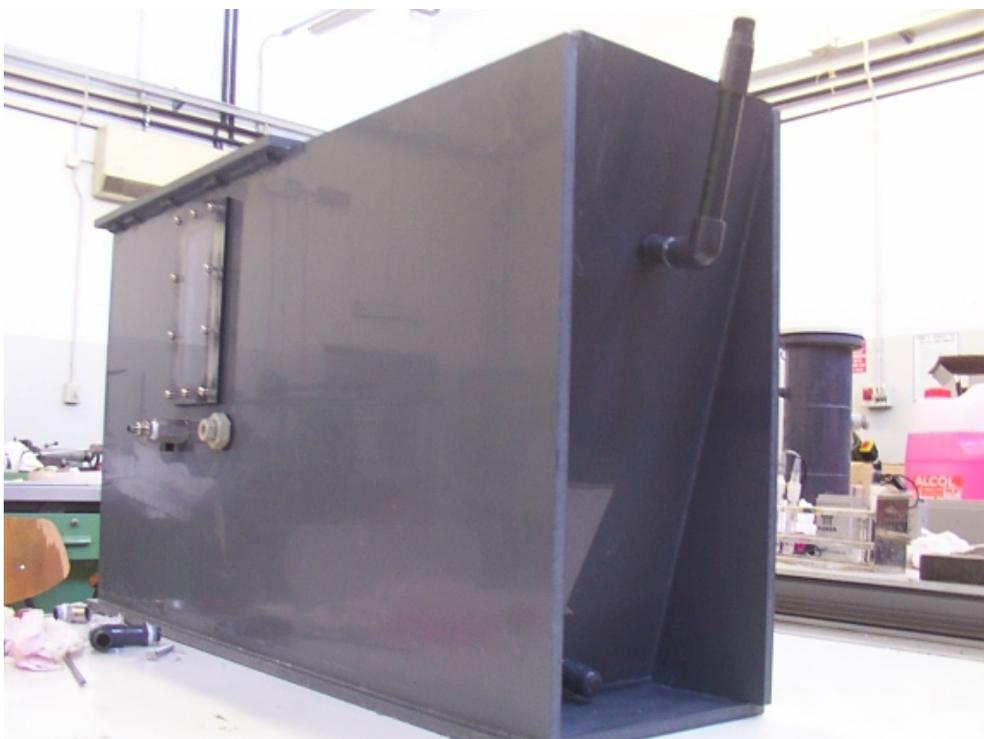


Foto 5.2: Immagine dall'impianto durante la fase di realizzazione.



Foto 5.3: Vista del primo comparto anaerobico, misuratore di gas e datalogger.



Foto 5.4: Vista dall'alto comparto aerobico e sedimentatore.

Inizialmente (prime 4 Fasi), si è deciso di lavorare con un refluo sintetico di composizione nota, per mantenere costanti le caratteristiche della corrente in ingresso. In particolare, la composizione del refluo prevede la presenza di:

- ✚ una quantità variabile di glucosio  $C_6H_{12}O_6$ , in base al carico organico in ingresso che si intende simulare;
- ✚ sali (composti di magnesio, ferro e manganese) in quantità di  $5 \text{ ml l}^{-1}$ , per meglio simulare un refluo;
- ✚  $65 \text{ ml l}^{-1}$  di una soluzione tampone variamente composta da  $KH_2PO_4$  e  $K_2HPO_4$  per mantenere il pH vicino alla neutralità, al fine di garantire condizioni ottimali per la biomassa;
- ✚ una quantità variabile di  $NH_4Cl$ , in base alla concentrazione di azoto ammoniacale in ingresso che si vuole simulare.

Nella Tabella 5.2 è riportata la composizione dell'alimento utilizzato, simile a quello utilizzato da Jang et al. (2003) per alimentare una MFC con il catodo biotico.

*Tabella 5.2: Condizioni operative corrispondenti alle differenti fasi sperimentali*

Composto	Concentrazione [mg l <sup>-1</sup> ]
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	112
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	40
NaHCO <sub>3</sub>	84
FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.2
MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	4
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	4
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	6460
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2340
C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	Variabile

La scelta della tipologia di refluo da alimentare all'impianto è stata diretta verso la simulazione di un refluo industriale con medie concentrazioni di sostanza organica in ingresso, ed inoltre si è optato per un substrato facilmente biodegradabile, quale il glucosio, per non introdurre ulteriori variabili all'interno del processo.

### 5.1.2 Configurazione adottata durante la Fase V

A partire dalla Fase V sono state apportate alcune modifiche alla configurazione originale dell'impianto. In particolare, gli elettrodi già utilizzati nelle fasi precedenti (realizzati in grafite vetrosa), sono stati inseriti all'interno di grafite granulata trattenuta da un'apposita rete di contenimento realizzata in materiale plastico e avente una porosità di 500 µm (Fotografia 5.5). Questa modifica è stata realizzata ipotizzando che, ad un aumento della superficie degli elettrodi disponibile per gli

scambi di elettroni, si assiste ad un incremento della corrente prodotta dalla MFC.



*Foto 5.5 Una delle due reti di contenimento per la grafite granulare utilizzate durante la Fase V di sperimentazione, all'interno della quale è stato inserito un elettrodo in grafite vetrosa.*

La grafite granulare utilizzata è costituita da granuli del diametro di  $1,5\pm 4$  mm e presenta una superficie specifica di  $0,6764 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  (calcolo effettuato mediante il metodo di assorbimento dell'azoto). Facendo riferimento alla metodologia proposta da Freguia et al. (2007\_a), essa è stata dapprima lavata abbondantemente con acqua, quindi immersa per 3 ore in una soluzione contenente HCl (100 ml di acido in 4 l di acqua) ed infine sciacquata nuovamente con acqua in modo da eliminare qualsiasi residuo di acido. Questa procedura è stata effettuata con lo scopo di eliminare qualsiasi presenza di metalli all'interno dei pori (e quindi per eliminare qualsiasi composto esterno potenzialmente catalitico) e per

rimuovere i microorganismi eventualmente già adesi alla superficie dei granuli.

Dopo aver svuotato interamente l'impianto, all'interno della seconda camera dell'ABR e del comparto aerobico sono stati inseriti dei sostegni realizzati in PVC (Fotografia 5.6) sopra i quali sono state poi adagate le reti contenenti la grafite granulare (Fotografia 5.7).



*Fotografia 5.6 Vista dall'alto della seconda camera anaerobica svuotata in cui è già stato inserito il sostegno in PVC.*



*Fotografia 5.7 Vista dall'alto della seconda camera anaerobica con la grafite granulare già posizionata.*

Oltre al catodo in grafite vetrosa, all'interno della rete situata nel comparto aerobico è stato anche inserito un sistema di diffusione d'aria a bolle grosse alimentato tramite un aeratore da acquario. Ciò consente di aerare adeguatamente tutta la grafite granulare in modo da sfavorire la formazione di zone anossiche.

All'esterno della rete di contenimento, ma sempre all'interno del comparto aerobico, è stata aggiunta un'ulteriore tubazione in PVC collegata ad una pompa peristaltica Watson Marlow 403 U/L in grado di sollevare una portata variabile tra 0,06 e 150 ml min<sup>-1</sup>, necessaria per aerare in modo completo l'intero volume liquido.

Effettuate le suddette operazioni si è proseguito inoculando i 2 comparti (anaerobico e aerobico) con le quantità di fango e grafite granulare riportate in Tabella 5.3.

## Capitolo 5

Tabella 5.3 Quantità di fango e di grafite granulare inoculate nell'impianto.

		Grafite	Superficie	Fango	Fango
		granulare	utile	granulare	aerobico
		[kg]	[m <sup>2</sup> ]	[g]	[l]
Comparto anaerobico	I			3874	
	II	3	2029	831	
Comparto aerobico		3	2029		10

Nella figura successiva è riportata una sezione dell'impianto:

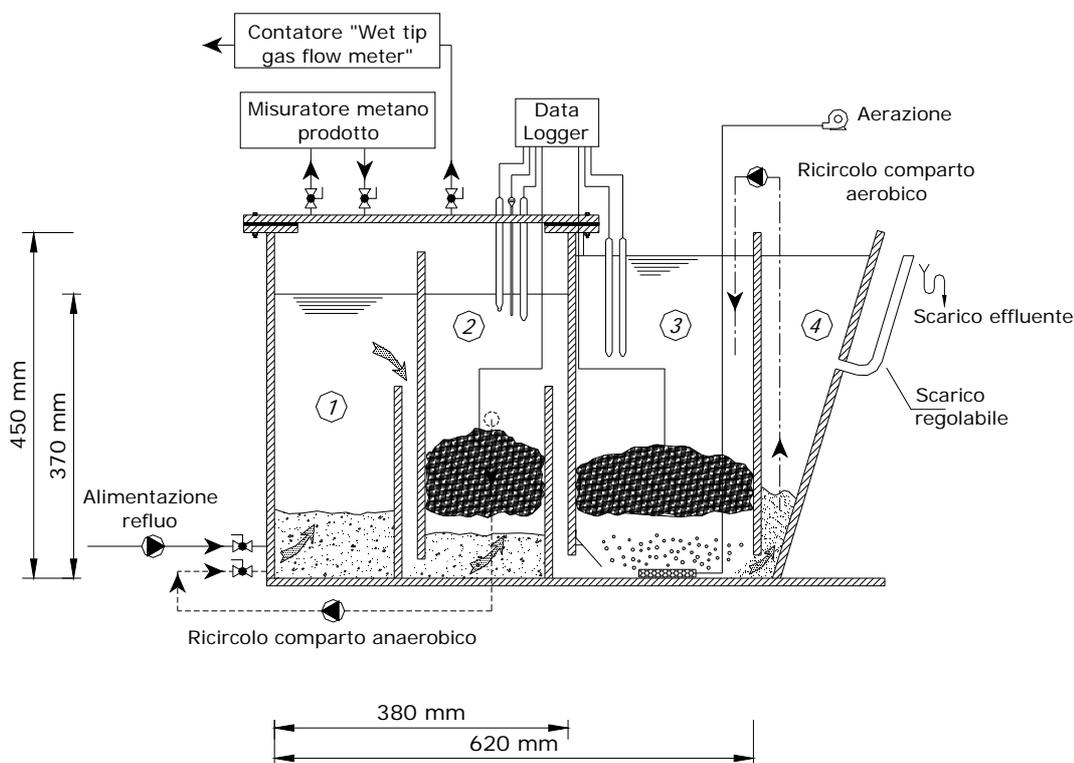


Figura 5.4 Schema di trattamento e sezione dell'impianto.

### 5.1.3 Configurazione adottata durante la Fase VI

Il refluo sintetico di composizione nota precedentemente descritto (cfr. par. 5.1.1) e utilizzato nelle prime 4 fasi di sperimentazione, ha consentito di mantenere costanti le caratteristiche della corrente in

ingresso e di simulare un refluo industriale ad elevata concentrazione di sostanza organica in ingresso, caratterizzato dalla presenza di un substrato facilmente biodegradabile (glucosio).

Nell'ambito della sperimentazione (Fase VI) si è deciso di alimentare l'impianto con un refluo reale a matrice zuccherina, prelevato periodicamente presso l'impianto di depurazione asservito alla struttura produttiva di un'azienda di lavorazione di prodotti caseari, situata in provincia di Bologna. Il refluo utilizzato è integrato in parti fissate, di una quantità di siero di latte (proveniente dallo stesso impianto produttivo) al fine di incrementare sensibilmente il carico organico in ingresso alla MFC oggetto di studio.

Il rapporto con cui viene preparata la miscela da alimentare all'impianto è di 9 parti di refluo industriale e 1 parte di siero di latte. Per un periodo di 10 giorni circa, al fine di ottenere un incremento del carico organico all'ingresso dell'impianto, questo rapporto è stato variato, utilizzando 1 parte di siero di latte ogni 6 di refluo industriale.

L'utilizzo di un refluo reale ha determinato la necessità di provvedere ad un volume di stoccaggio, a differenza del refluo sintetico che viene preparato quotidianamente. A tale scopo è stato utilizzato un refrigeratore di tipo industriale, già in dotazione presso i laboratori della sede Enea di Bologna, della capacità di 200 l, munito di agitatore in modo da evitare fenomeni di sedimentazione del materiale in sospensione. L'alimento descritto viene mantenuto ad una temperatura media di 5 °C, al fine di mantenerne integre le caratteristiche organiche.



*Fotografia 5.8 Refrigeratore di tipo industriale con sonda di temperatura e miscelatore*

La configurazione di impianto su cui è stata applicata l'alimentazione del refluo reale sopra riportato, è la medesima descritta nel paragrafo precedente (paragrafo 5.1.2), e che utilizza elettrodi realizzati in grafite granulare.

### **5.1.4 Configurazione adottata durante la Fase VII**

A partire dalla Fase VII sono state apportate nuove modifiche alla configurazione dell'impianto. In particolare, i 2 elettrodi realizzati in grafite granulare e posizionati rispettivamente nel comparto anodico e catodico, sono stati sostituiti da elettrodi realizzati in grafite vetrosa, collegati tra loro secondo uno schema elettrico in parallelo.

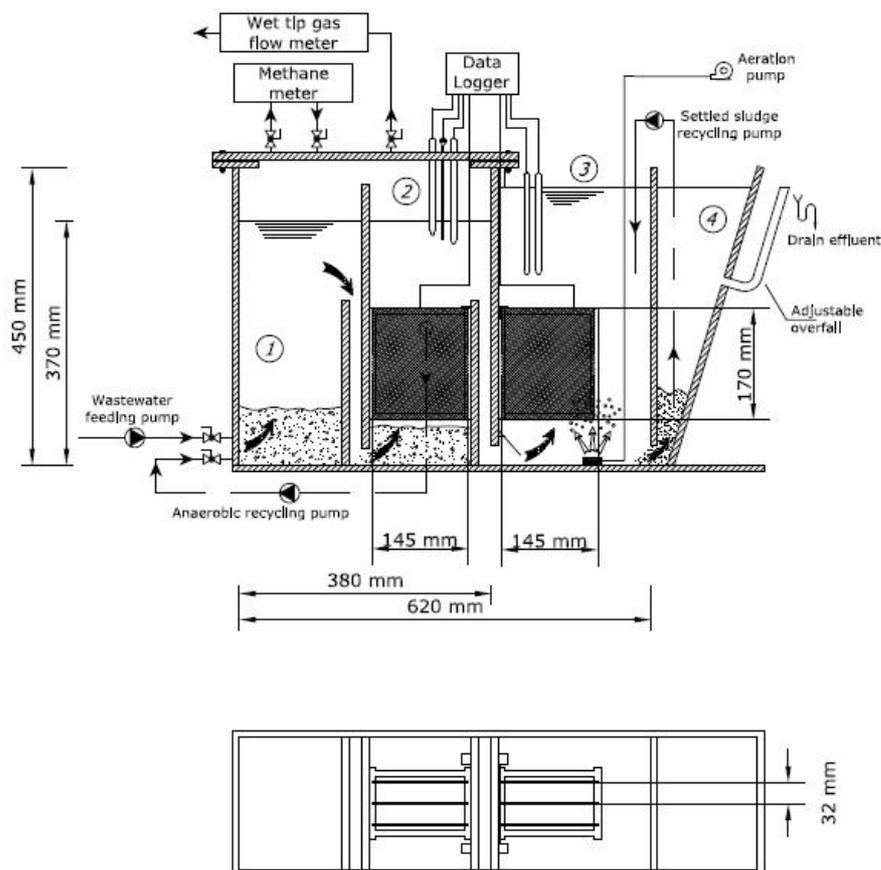
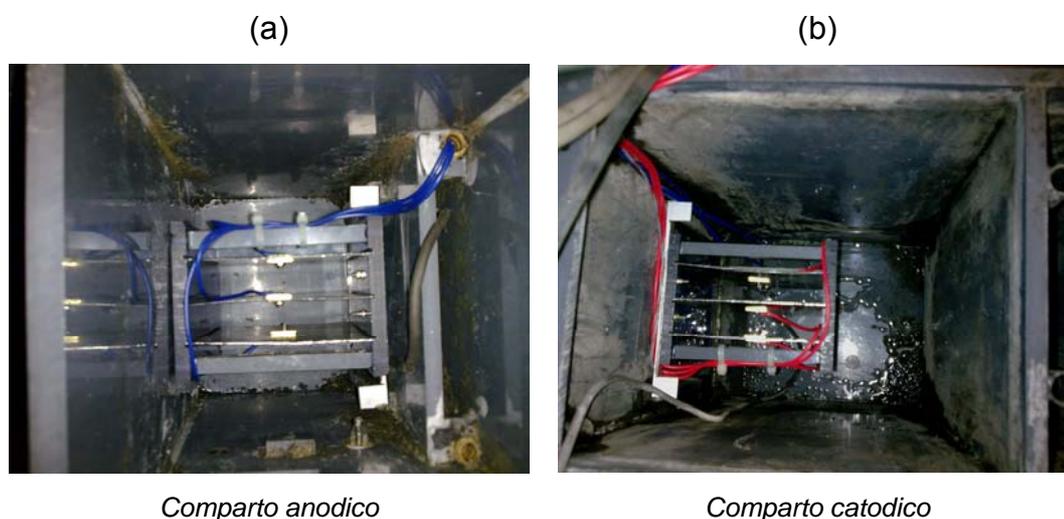


Figura 5.5. Vista in sezione e in pianta (in basso) dell'impianto oggetto di sperimentazione e, in particolare, degli alloggiamenti e degli elettrodi utilizzati per la realizzazione dell'anodo e del catodo della MFC.

La configurazione adottata prevede un totale di 6 elettrodi, 3 posizionati nel comparto anodico e 3 in quello catodico. Tutti gli elettrodi sono stati ricavati dal taglio di un foglio in grafite vetrosa e presentano una forma rettangolare avente dimensioni 17 cm per 14,5 cm (superficie totale 246,5 cm<sup>2</sup>). Per il loro posizionamento nei comparti della MFC sono state ideate e due strutture rigide approssimativamente uguali (realizzate a partire da una lastra in PVC dello spessore di 1 cm), ancorate alle pareti del reattore e provviste di alloggiamenti per l'inserimento di 3 elettrodi di grafite vetrosa (posizionati tra loro parallelamente e ad una distanza di 32 mm circa) per ciascuna struttura.

Nel collegamento elettrico in parallelo si connettono tra loro tutti i poli positivi (nel caso in esame i 3 elettrodi in grafite vetrosa posizionati nel comparto catodico), e tutti i poli negativi (i 3 elettrodi in grafite vetrosa posizionati nel comparto anodico).

Questa modifica è stata realizzata ipotizzando che, poiché nel collegamento in parallelo l'intensità di corrente è data dalla somma delle correnti dei singoli elementi che compongono l'elettrodo, si assista ad un incremento della corrente prodotta dalla MFC.



Fotografia 5.9 (a) Vista dall'alto della seconda camera anaerobica (anodo) con i 3 elettrodi collegati in parallelo già posizionati e (b) Vista dall'alto della camera aerobica (catodo) con i 3 elettrodi collegati in parallelo già posizionati.

Gli elettrodi (catodo ed anodo) sono chiusi su una resistenza (168 Ohm) mediante comuni cavi in rame (di colore azzurro per l'anodo e rosso per il catodo, come mostrato in Fotografia 5.9). Le piastrine di collegamento elettrodo-cavo sono realizzate in ottone e pertanto non è stato previsto il loro isolamento dalla componente fluida mediante resina epossidica, come invece era stato fatto durante la realizzazione degli elettrodi utilizzati nelle prime 4 fasi di sperimentazione (cfr. par.5.1.1).

### 5.1.5 Confronto con le configurazioni “convenzionali”

Come si è accennato nei capitoli precedenti, particolare interesse riveste l'utilizzo delle MFC nelle quali anche nel comparto catodico si ricorra a biomassa. A tutt'oggi però sono pochi i risultati (riportati in letteratura) ottenuti con celle operanti con il catodo biotico.

In particolare nel seguito si riassumono brevemente le esperienze in merito:

Jang et al. (2003) hanno verificato per primi la possibilità di utilizzare una MFC senza membrana e senza l'utilizzo di mediatori redox per produrre corrente elettrica ed al contempo depurare un refluo contenente sostanza organica. La MFC utilizzata (in plastica poliacrilica), presenta una forma cilindrica; l'anodo (in feltro di grafite a formare un rotolo) è sistemato nella parte bassa (ove avviene l'alimentazione di un refluo artificiale, che ne simula uno civile) mentre il catodo (in feltro di grafite a formare un disco) è posto nella parte alta. La zona anodica è mantenuta in condizioni anaerobiche ed inoculata con fango di supero proveniente da un impianto di trattamento di liquami civili, mentre la zona catodica è aerata mediante una pompa da acquario. Lo schema della MFC è riportato in Figura 5.6.

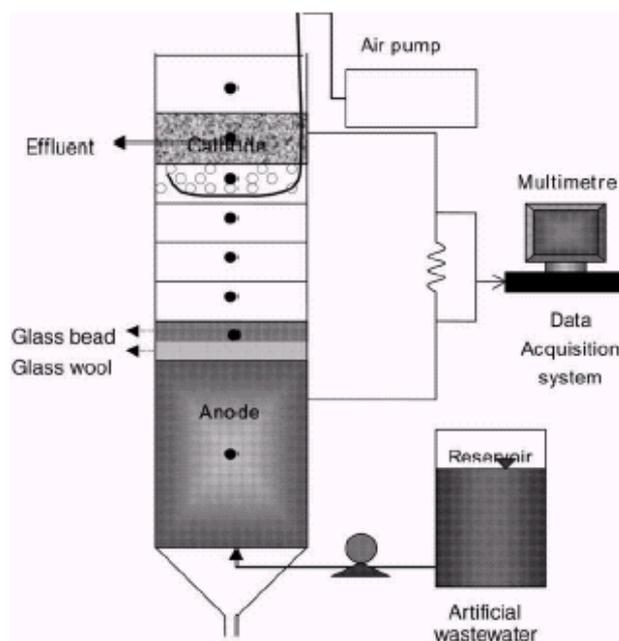


Figura 5.6 Schema di MFC utilizzato da Jang et al. (2003)

Durante la sperimentazione, gli Autori hanno verificato che i valori di COD misurati nell'effluente sono inferiori a quelli misurati a valle della zona anodica, ipotizzando che parte della sostanza organica sia rimossa nella zona catodica ad opera di biomassa aerobica. Per concentrazioni di ossigeno disciolto (DO) inferiori a quella critica, l'ossigeno è utilizzato per la respirazione aerobica, mentre al disopra di tale valore, l'ossigeno è utilizzato per la produzione di corrente elettrica.

Dentel et al. (2004) hanno utilizzato una MFC per il trattamento di fango di supero proveniente dalla fase di digestione anaerobica di un impianto di depurazione per il trattamento dei reflui civili. Gli Autori hanno realizzato la MFC avvalendosi di un contenitore disponibile in commercio (avente capacità di circa 7,8 l) disponendo sul fondo l'anodo in foglio di grafite (avente una superficie complessiva di 50 cm<sup>2</sup>) e, a circa 2/3 dal fondo, il catodo sempre in foglio di grafite (avente una superficie complessiva di 100 cm<sup>2</sup>) al disotto del quale è stato posizionato il sistema

di diffusione d'aria (Figura 5.7). La MFC non prevede il ricorso né alla membrana di scambio protonico né a mediatori.

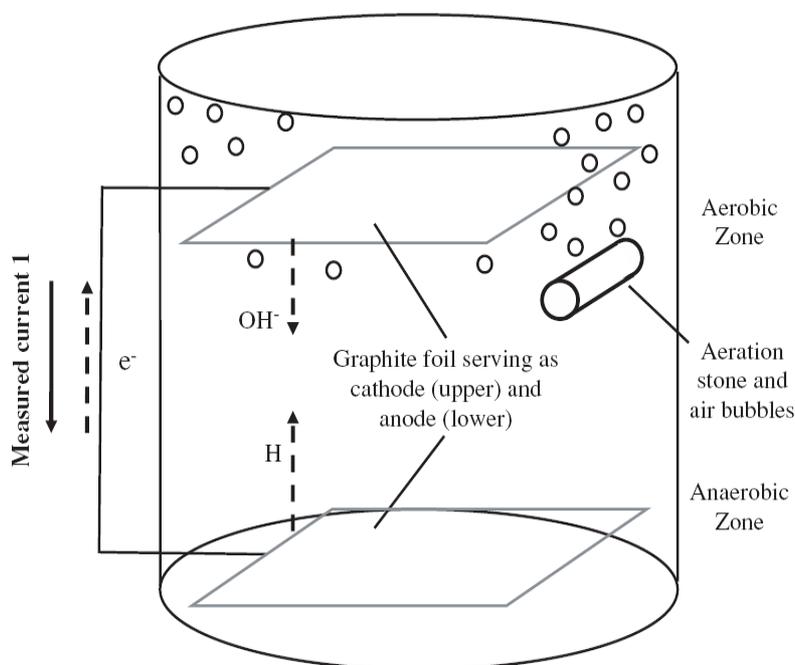


Figura 5.7 Configurazione della MFC utilizzata da Dentel et al. (2004)

Con questo particolare tipo di MFC, in cui in entrambi i comparti è presente biomassa, gli Autori non hanno riscontrato traccia di popolazione batterica adesa all'elettrodo, nonostante misurassero la produzione di una minima quantità di corrente ( $< 10 \mu\text{A m}^{-2}$ ), pertanto hanno ipotizzato che la produzione di corrente sia avvenuta, non per effetto della crescita di batteri elettrofilici sull'anodo, ma per mezzo di mediatori redox, prodotti biologicamente dalla popolazione microbica contenuta nel reattore.

Rhoads et al. (2005) hanno sviluppato una MFC (Figura 5.8 a) a due comparti separati da una membrana di scambio protonico, con entrambi i comparti biotici. Nel comparto anodico hanno introdotto batteri del genere *Klebsiella pneumoniae* ed hanno utilizzato come mediatore redox l'HNQ (idrossi-naphthoquinone), mentre nel comparto catodico hanno ottenuto il

completamento del processo mediante la riduzione diretta (senza necessità di mediatore ed in presenza di ossigeno) di ossidi di manganese, depositati sull'elettrodo da parte di batteri del genere *Leptotrix discophora* (Figura 5.8 b).

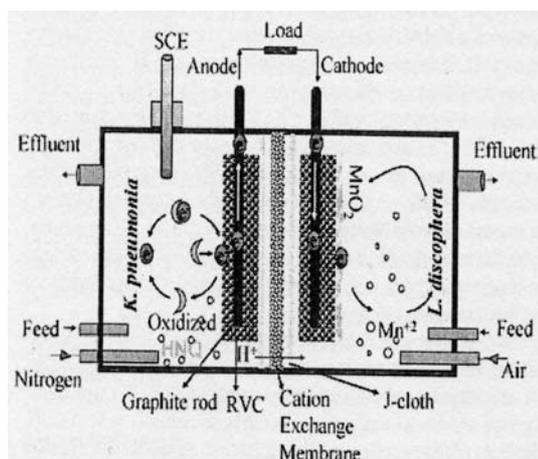


Figura 5.8 a: Schema di MFC utilizzata da Rhoads et al. (2005)

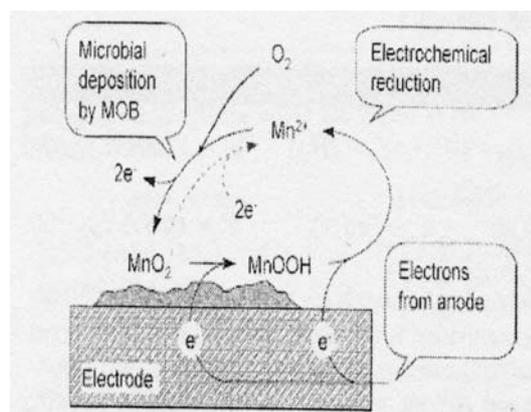


Figura 5.8 b: Meccanismo di trasferimento degli elettroni dai microrganismi all'elettrodo proposto da Rhoads et al. (2005)

Lo studio di tale configurazione ha permesso di pervenire alla conclusione che gli ossidi di manganese depositati biologicamente e utilizzati nella MFC come reagenti catodici, determinano rendimenti più elevati rispetto all'uso del solo ossigeno.

La MFC oggetto della sperimentazione, come descritta nei paragrafi precedenti, rientra tra quelle che fanno ricorso a biomassa anche nel comparto catodico e si distingue da quelle descritte in precedenza (che possiamo definire come "convenzionali") per il fatto che le configurazioni impiantistiche adottate sono state concepite tenendo ben presenti non solo gli aspetti legati alla produzione di corrente, ma anche quelli derivanti dalle necessità di trattamento di reflui contenenti inquinanti organici.

Infatti, la MFC oggetto di studio, è stata definita come un sistema di trattamento a doppio stadio biologico: il primo, in ambiente anaerobico, è

condotto in un ABR, il secondo alimentato con l'effluente del primo stadio, è composto da un'unità di aerazione ed una di sedimentazione; gli elettrodi sono sistemati nella seconda camera anaerobica (che costituisce l'anodo della MFC) e nel bacino di aerazione (che costituisce il catodo della MFC).

Pertanto la MFC oggetto della sperimentazione può classificarsi come una MFC a doppio comparto biotico, senza membrana di scambio protonico e senza il ricorso a mediatori di elettroni (sia nel comparto anaerobico che in quello aerobico).

## 5.2 Determinazioni analitiche

Al fine di stabilire le prestazioni fornite dalla MFC oggetto di studio, con cadenza giornaliera, sono stati prelevati volumi di campioni dalle sezioni significative dell'impianto: ingresso, effluente dal comparto anaerobico (prelevato dalla linea di ricircolo dal secondo comparto anaerobico al primo) ed effluente finale (prelevato dal sedimentatore secondario); settimanalmente sono state condotte anche misure sul fango del comparto aerobico.

Le determinazioni analitiche effettuate su ciascuna corrente idrica sono riassunte nella Tabella 5.4, mentre nella Tabella 5.5 sono riportati i metodi analitici adottati.

Tabella 5.4: Determinazioni analitiche effettuate su ciascuna corrente idrica

CAMPIONE	COD <sub>f</sub> [mg l <sup>-1</sup> ]	TOC <sub>f</sub> [mg l <sup>-1</sup> ]	pH	VFA	AT [l d <sup>-1</sup> ]	SST e SSV [g l <sup>-1</sup> ]	DO [mg l <sup>-1</sup> ]
Ingresso	√	√	√		√		
Effluente Anaerobico	√	√	√	√	√		
Effluente Sedimentatore	√	√	√		√		
Fango comparto Catodico						√	√

Tabella 5.5: Metodi analitici utilizzati

Parametro misurato	Metodo di analisi
SST SSV	Standard Methods for the examination of water and wastewater (1998)
Ph	IRSA-CNR (metodi analitici per le acque, 1994)
Alcalinità	IRSA-CNR (metodi analitici per le acque, 1994)
COD filtrato (0,45 μm)	Metodo fotometrico

## Capitolo 5

---

TOC filtrato (0,45 $\mu\text{m}$ )	Metodo proposto dal costruttore
VFA	Stante et al. (1997)

---

Nel seguito vengono brevemente descritte le procedure analitiche adottate:

### **pH**

Il pH viene misurato per via potenziometrica utilizzando come sensore un elettrodo a vetro combinato, con opportuno elettrodo di riferimento. Il valore da determinare viene ottenuto dopo avere effettuato una operazione di taratura con due soluzioni tampone a pH noto portate alla stessa temperatura del campione.

### **Ossigeno disciolto**

L'ossigeno disciolto all'interno del reattore è misurato tramite sonda in cui il sensore è di tipo amperometrico a membrana. La cella di misura è costituita da un elettrodo e da un contro elettrodo, immersi in un opportuno elettrolita, ed è separata dal campione tramite una membrana in teflon, permeabile alla fase gassosa, che consente lo scambio dell'ossigeno disciolto tra il campione e la cella. L'effetto depolarizzante dovuto alla presenza di ossigeno nello strato di elettrolita tra la membrana e l'elettrodo di misura causa la circolazione di una corrente che è proporzionale alla concentrazione dell'ossigeno disciolto nel campione. La sonda WTW Cell OX 325, è realizzata in materiale plastico ed è studiata per garantire la protezione meccanica del sensore ed il funzionamento in immersione.

### **COD, TOC, VFA e AT**

Il campione analizzato consiste in una piccola frazione dell'effluente (50 ml) prelevato direttamente dall'interno del reattore. Una volta prelevato viene filtrato con una membrana porosa (che presenta porosità pari

0.45  $\mu\text{m}$ , diametro del filtro 47 mm) e sul filtrato vengono successivamente condotte le analisi chimiche. Qualora l'analisi non possa essere eseguita entro un breve lasso di tempo (generalmente entro 1-2 ore), il campione filtrato è conservato a 4°C.

I reagenti utilizzati nelle procedure analitiche sono quelli indicati dalle procedure dell'IRSA-CNR (metodi analitici per le acque, 1994).

### **Analisi del COD**

Per la determinazione del COD si è fatto riferimento a reazioni di digestione ed analisi fotometrica (cuvette-test Dr. Lange LCK114 e LCK314 – Figura 5.9). In breve, il campione filtrato è riscaldato (148°C) per due ore con un potente agente ossidante, bicromato di potassio. I componenti organici ossidabili reagiscono riducendo gli ioni di bicromato di colorazione giallastra a ioni di cromato di colorazione verde. A questo punto la soluzione viene analizzata per via fotometrica.

Precisione: 90%; limite di analisi: 5  $\text{mg l}^{-1}$ , valida per concentrazioni comprese tra 15 e 150  $\text{mg COD l}^{-1}$ .

Precisione: 95%; limite di analisi: 15  $\text{mg l}^{-1}$ , valida per concentrazioni comprese tra 150 e 1000  $\text{mg COD l}^{-1}$ .



Figura 5.9 Strumenti per la determinazione del COD: a sinistra il termostato per la digestione del campione; a destra lo strumento per la lettura.

### **TOC**

La misura del Carbonio Organico Totale (TOC) viene condotta sui campioni filtrati a 0,45 mm, ricorrendo ad un analizzatore TOC marca Shimadzu, modello TOC VCPH/CPN interfacciato con PC.

### **VFA**

Gli acidi grassi sono stati determinati per via gas-cromatografica usando un DANI 8510-GC dotato di colonna capillare (25 m; 0,53 mm; 1,2  $\mu\text{m}$ ) e detector FID. Come gas di trasporto è stato usato idrogeno mentre come standard interno l'acido 2,2 dimetilbutirrico.

Le condizioni di lavoro del gas-cromatografo sono le seguenti (Stante et al. 1997):

- temperatura del forno da 107 a 140°C con un incremento di 6°Cmin<sup>-1</sup>;
- temperatura dell' iniettore di 220°C;
- temperatura del FID di 230°C.

### **Determinazione dell'alcalinità totale**

L'alcalinità totale è data dal complesso delle sostanze di natura basica che sono titolabili. Il metodo è basato sulla titolazione con soluzione acida a normalità nota. Per la misurazione viene utilizzato un pH-metro a misura diretta con relativo elettrodo e una soluzione acida (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 0,025 N. A 10 ml di surnatante, ottenuto per centrifugazione del campione per 20 minuti a 8000 rpm e 4°C, si aggiunge acqua distillata fino ad un volume di 50 ml e agitando, si titola con la soluzione acida fino a

pH 4.3 e pH 3.8. Ottenuto il valore, si calcola l'alcalinità totale, espressa come  $\text{mg l}^{-1}$  di carbonato di calcio, espressa nel modo seguente:

$$AT = \frac{V_t * N_t * 50000}{V_c}$$

dove:

$V_t$  = ml di titolante usato per la titolazione

$V_c$  = ml di campione

$N_t$  = normalità del titolante

50000 = peso equivalente (in mg) del carbonato di calcio



### **Solidi Sospesi Totali e Volatili**

Per determinare i solidi sospesi si è fatto riferimento alla procedura descritta dal testo Standard Methods for the examination of water and wastewater (1998). Per effettuare la misura si utilizzano dei filtri in microfibra di vetro, modello GF/C, con porosità di  $1,1 \mu\text{m}$  e del diametro di 47 mm. Inizialmente i filtri vengono condizionati lasciandoli in muffola a  $550 \text{ }^\circ\text{C}$  per circa un'ora in modo da eliminare l'umidità ed eventuali solidi organici presenti, e quindi riposti in essiccatore; una volta raggiunta la temperatura ambiente i filtri sono pesati per determinarne la tara.

Per la misura dei solidi sospesi totali (SST) sono prelevati 10 ml di campione e filtrati sui filtri GF/C. Quindi il filtro viene posto in forno a  $105 \text{ }^\circ\text{C}$  per almeno due ore e poi posto nell'essiccatore, in modo da stabilizzarne il peso. A questo punto si procede alla prima pesata.

Dopo l'essiccazione a  $105 \text{ }^\circ\text{C}$ , il filtro viene posto in muffola a  $550 \text{ }^\circ\text{C}$  per mezz'ora circa in modo da volatilizzare i solidi sospesi volatili. Quindi

viene posto nell'essiccatore, in modo da stabilizzarne nuovamente il peso e successivamente si procede alla seconda pesata (Figura 5.10 a).

Sottraendo la tara al valore della pesata del filtro dopo l'essiccazione a 105 °C, si ottengono i solidi sospesi totali (SST), mentre sottraendo il valore della pesata del filtro dopo la volatilizzazione in muffola al valore della pesata del filtro dopo l'essiccazione a 105 °C, si ottengono i solidi sospesi volatili (SSV).

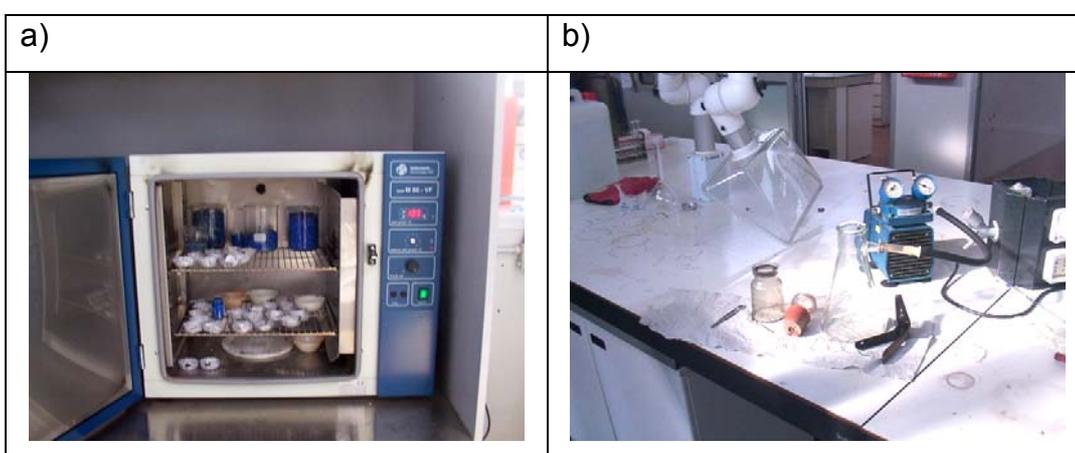


Figura 5.10 a) forno a 105°C per l'evaporazione dell'acqua dai campioni; b) pompa per la filtrazione dei campioni.

### **5.3 Analisi microbiologiche**

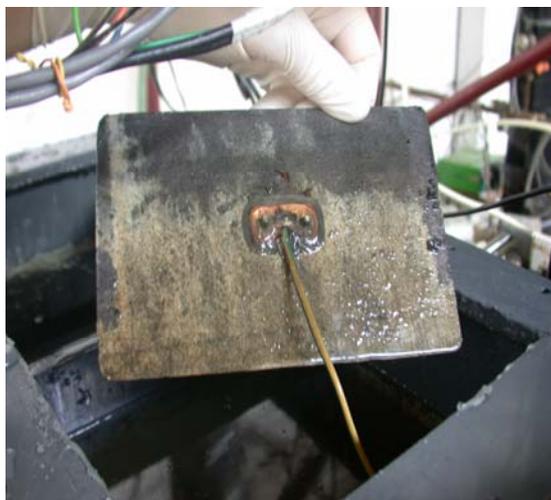
#### **5.3.1. Prelievo dei campioni**

##### **Grafite vetrosa**

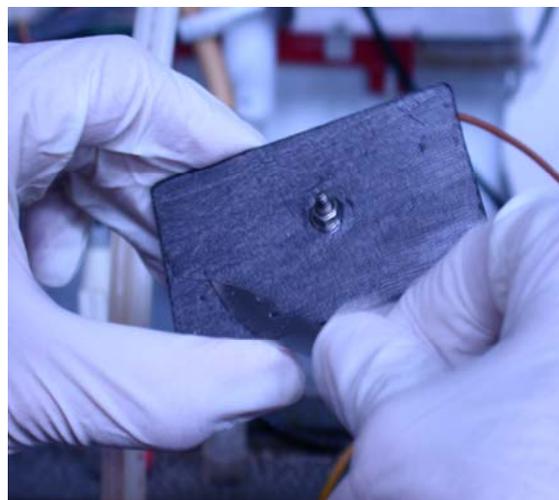
Dopo aver agitato il fango presente all'interno dei due compartimenti, la biomassa sospesa viene prelevata mediante una pipetta e versata in un becker.

Il biofilm adesivo agli elettrodi viene invece prelevato raschiando leggermente la superficie con una lametta sterile, lavando la stessa con

una soluzione tampone e raccogliendo infine la sospensione di cellule in un becker (Fotografie 5.10 e 5.11).



*Foto 5.10 Prelievo campioni dal comparto anaerobico*



*Foto 5.11 Prelievo campioni dal comparto aerobico*

### **Grafite granulare**

Il prelievo dei campioni di biomassa, depositatasi esternamente alla rete di contenimento della grafite, è stato fatto con una spatola sterile e raccolto in un becker sterile.

Il prelievo del fango interno alla rete, invece, è stato effettuato aspirando i granuli di grafite con una pipetta e versandoli in un becker sterile.

La Fotografia 5.12 riporta la vista dell'interno della rete di contenimento della grafite granulare. Si può notare l'elevata colonizzazione da parte della biomassa.



*Foto 5.12 Grafite granulare colonizzata dalla biomassa aerobica.*

### **5.3.2. Preparazione e osservazione dei campioni**

Per una prima caratterizzazione della biomassa i campioni prelevati sono stati esaminati a fresco in contrasto differenziale (DIC), ad immersione e a 1000x. Sono quindi stati preparati alcuni vetrini con fango fissato all'aria e sono stati sottoposti alla tecnica di colorazione Gram.

Parte dei campioni sono poi stati fissati con paraformaldeide al 4% per essere successivamente sottoposti a tecnica molecolare FISH (Fluorescent in situ hybridization) al fine di caratterizzare i diversi ceppi batterici.

I preparati sottoposti a colorazione di Gram sono stati osservati in campo chiaro (a luce diretta), ad immersione e a 1000x, mentre i preparati che hanno subito ibridazione (FISH) e che sono stati controcolorati con DAPI sono stati osservati in epifluorescenza, a varie lunghezze d'onda a seconda del fluorocromo legato alla sonda molecolare.

#### **Colorazione di Gram (modificato HCfer)**

La colorazione di Gram è utilizzata per procedere all'identificazione dei ceppi batterici. Essa si basa sulla distinzione delle caratteristiche della

parete cellulare: una struttura con più peptidoglicani (polimero di parete) appare violetto, in quanto trattiene il complesso cristal violetto-iodio, e caratterizza i Gram positivi; una struttura con una minor presenza di peptoglicani conferisce invece ai Gram negativi una colorazione rossa, dovuta all'assunzione di un secondo colorante (safranina).

### **Colorazione di Neisser (Jenkins et al. 1986)**

La colorazione di Neisser è generalmente utilizzata per evidenziare i prodotti di riserva intracellulari (in particolare i granuli di polifosfati) che risultano Neisser positivi ed appaiono di colore blu-violetto, mentre le cellule che risultano negative appaiono giallo-brune.

### **FISH**

FISH (Fluorescent in situ hybridization) è una tecnica molecolare che viene utilizzata per caratterizzare ed identificare in situ la biomassa microbica utilizzando sonde molecolari marcate con coloranti fluorescenti (quali fluos e Cy3) che ibridano sequenze complementari di RNA ribosomale (rRNA), distintive dei diversi domini, regni, phyla, classi, ordini, famiglie, generi e specie di microrganismi.

La caratterizzazione di una biomassa mista (es. fango attivo ed anaerobico nel caso dell'impianto oggetto di studio), tramite sonde molecolari, può procedere piramidalmente attraverso l'utilizzo di sonde generiche per grandi raggruppamenti (ad esempio *Bacteria*, *Archea* o, all'interno *Bacteria*, sottoclassi a, b,g,d,e, dei *Protobacteria*, oppure High G+C positive, etc.) per poi passare gradualmente a sonde più specifiche che consentono una identificazione fino a livello di specie (Figura 5.11).

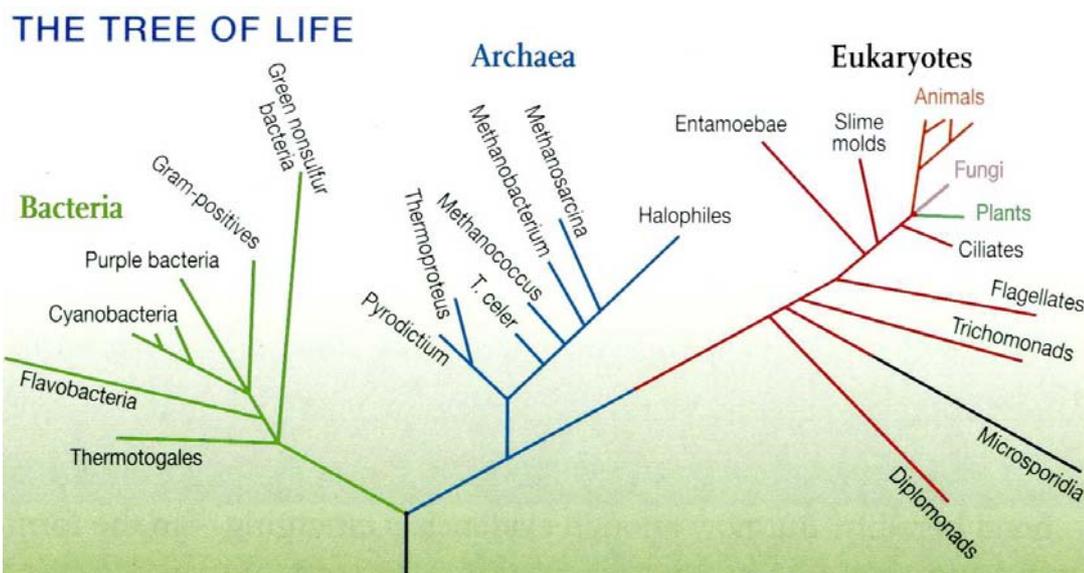


Figura 5.11 Albero della vita

Tuttavia, l'impiego di sonde molecolari non fornisce informazioni riguardo alle caratteristiche fisiologiche, metaboliche e al ruolo svolto dai microrganismi (Istituto di Ricerca sulle Acque, 1999 Roma).

## DAPI

Il DAPI, o 4,6-diamidino-2-fenilindolo (Figura 5.12), è un colorante fluorescente che si lega agli acidi nucleici, è capace di attraversare la membrana della cellula lasciandola inalterata, e quindi può essere utilizzato per colorare sia cellule vive che fissate.

Nella microscopia a fluorescenza il DAPI viene eccitato con una radiazione ultravioletta. Esso si lega in modo saldo al doppio filamento di DNA e il suo massimo assorbimento è a 358 nm mentre la massima emissione a 461 nm, ossia nella banda del blu/ciano. Inoltre il DAPI si lega anche all'RNA, con un legame più debole, e l'emissione si sposta a 400 nm.

I preparati dopo l'ibridazione vengono controcolorati con DAPI che permette di evidenziare tutti i microrganismi.

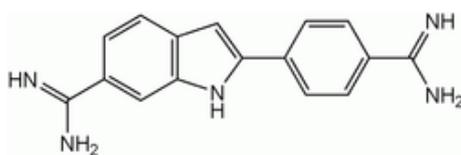


Figura 5.12 Struttura chimica del DAPI

### 5.3.3. Tassonomia

E' possibile distinguere a seconda delle differenze genetiche che intercorrono fra le specie viventi 3 Domini:

Woese (1990)	
<i>Procarioti</i>	<i>Bacteria</i>
	<i>Archaea</i>
<i>Eucarioti</i>	<i>Eucarioti</i>

I batteri sono microrganismi unicellulari, procarioti, di dimensioni di solito dell'ordine di pochi micrometri, ma che possono variare da circa 0,2 fino a 30 micron. I batteri hanno in comune una struttura di base, che comprende una parete cellulare, che è una struttura caratteristica della cellula procariote, e, al di sotto della parete, una membrana cellulare: su di essa si trovano quasi tutti gli enzimi che svolgono le reazioni metaboliche, poiché i batteri sono privi di organuli intracellulari, tranne i ribosomi 70S. Manca una membrana nucleare, poiché il "cromosoma" è circolare e a contatto col citoplasma. Nel citoplasma sono presenti granuli di riserva. Possibile presenza di fimbrie o di uno o più flagelli, atti al movimento. La parete cellulare può essere rivestita esternamente da una capsula, formata di regola da polisaccaridi secreti dai batteri. La presenza di capsula conferisce alle colonie batteriche un aspetto "liscio" o "mucide", mentre quelle prive di capsula manifestano un aspetto "rugoso". La funzione della capsula è di proteggere la cellula procariote dalla fagocitosi e dai virus.

Gli *Archaea* sono, come i *bacteria*, singole cellule mancanti di nucleo e assieme ai *bacteria* sono state in passato classificate come *prokaryota* o *monere*. Originariamente sono state classificate esaminando gli ambienti più estremi di vita, ma successivamente sono state trovate in tutti gli habitat.

Il dominio *Eukaryota* comprende organismi, mono- o pluricellulari, costituiti da cellule eucariote che hanno come caratteristica principale la presenza di un nucleo, ben definito e isolato dal resto della cellula tramite l'involucro nucleare, nel quale è racchiuso la maggior parte del materiale genetico, il DNA (una parte è contenuta nei mitocondri).

Queste cellule presentano una dimensione maggiore (solitamente il loro asse maggiore è compreso fra i 10 e i 50  $\mu\text{m}$ ) e sono dotate di un citoplasma compartimentato da membrane interne che delimitano degli organuli specializzati. Ognuno degli organuli immersi nel citoplasma è deputato a svolgere una particolare funzione.

### 5.3.4. Analisi d'immagine

Durante il corso della sperimentazione ed osservazione delle immagini digitali si sono riscontrate non poche difficoltà. Il fango prelevato dal comparto anaerobico ed aerobico della MFC, sia adeso che sospeso, fissati con paraformaldeide al 4%, stesi su vetrini e sottoposti ad analisi di ibridazione (FISH), all'osservazione in epifluorescenza presenta una struttura molto compatta che determina un elevato background. Di conseguenza la lettura dell'intensità del segnale emesso, nonostante le varie operazioni di pulizia d'immagine, viene ostacolata.

Lo stesso Wagner, pioniere della tecnica FISH, afferma che l'accuratezza degli approcci di quantificazione sfruttando tale metodica, è relativamente bassa in comunità microbiche densamente colonizzate (Wagner et al., 2003).

Si è dovuta abbandonare, dunque, l'idea di procedere con un'analisi quantitativa e morfologica e ci si è limitati ad una semplice ma accurata osservazione delle immagini ottenute, sia in campo chiaro che in epifluorescenza. I campioni sono stati esaminati a fresco in campo chiaro e a seguito di colorazione di Gram, che permette una prima classificazione in base a caratteristiche della cellula microbica, poi sono state applicate le tecniche FISH e DAPI, al fine di differenziare i domini, utilizzando le sonde specifiche EUBMix ed Arch915.

In Tabella 5.6 sono riassunti i fluorocromi utilizzati in questo lavoro sperimentale e le relative lunghezze d'onda di assorbimento ed emissione, mentre in Tabella 5.7 sono riassunte le proprietà delle sonde utilizzate.

Tabella 5.6 Fluorocromi utilizzati e relative lunghezze d'onda di assorbimento ed emissione

Fluorocromo	Eccitazione max	Emissione max	Set filtri
FLUOS	470 nm	515 nm	Tipo "Zeiss set filtri 09"
Cy3	546 nm	590 nm	Tipo "Zeiss set filtri 15"

Tabella 5.7 Sonde utilizzate e relativi fluorocromi

Gruppo target	Nome breve	Fluorocromo	%F	5'-3'	Posiz. in E. Coli	Ref.
	EUB MIX (costituito da EUB I/II/III)	FLUOS	30			Daims et al, 1999
Quasi tutti i <i>Bacteria</i>	EUB338 I			GCT GCC TCC CGT AGG AGT	16S 338-355	
<i>Planctomycetales</i>	EUB338 II			GCA GCC ACC CGT AGG TGT	16S 338-355	
<i>Verrucomicrobial</i>	EUB338			GCT GCC	16S	

es	III			ACC CGT AGG TGT	338-355	
<i>Archea</i>	ARC915	CY3	00	GTG-CTC- CCC-CGC- CAA-TTC- CT	16S 915-934	Stahl and Amann 1991
<i>Archea</i>	ARC344	FLUOS	00	TCG-CGC- CTG-CTG- CAC-CCC- GT	16S 344-363	Raskin et al, 1994

### 5.3.5. Analisi microbiologica e Filogenetica realizzata con tecnica DGGE

#### Preparazione dei campioni ed estrazione del DNA

I campioni di fango (5 ml) sono stati innanzitutto disciolti mediante una resina a scambio cationico (Chelex 100, Biorad, CA, U.S.A.) come descritto da Frølund et al. (1996). Si è proceduto quindi ad ottenere una lisi cellulare, utilizzando particolari enzimi (lisozima) e mediante tecnica SDS, come descritto da Bourrain et al., (1999). Inoltre, è stato estratto il DNA dalle cellule microbiche, mediante i metodi della precipitazione dell'isopropanolo ed estrazione al fenolo/cloroformio, come descritto da Zhou et al., 1996. Infine, la purificazione degli estratti grezzi del DNA è stata effettuata mediante sistema Wizard DNA (Promega, WI, U.S.A.) e la concentrazione nel DNA è stata determinata spettrofotometricamente mediante NanoDrop ND-1000 (NanoDrop Technologies Inc., Wilmington, DE, U.S.A.).

#### Analisi DGGE della regione V3 del gene di rRNA 16S

Due µl di ogni campione (corrispondenti a 10-30 nanogrammi di DNA) sono stati sottoposti ad amplificazione (mediante PCR) del gene di rRNA 16S, utilizzando i primers batterio specifici 27F e 1495R, come descritto da Di Cello et al., 1997. Ogni segmento ottenuto è stato poi utilizzato come base per una nuova PCR (come descritto da Van der Gucht et al., 2005 e da El Fantroussi et al., 1999), realizzata con due

insiemi differenti di primers. Il primo insieme, composto dai primers 357F-GC e 518R, è stato utilizzato per amplificare un frammento di 161 bp (frammento piccolo). Il secondo insieme, costituito dai primers 63F-GC e il 518R, è stato utilizzato per produrre un frammento di 495 bp (frammento grande).

I frammenti ottenuti sono stati poi disciolti mediante DG-DGGE (Double Gradient-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) come descritto da Cremonesi et al., (1997). Per sciogliere i piccoli frammenti è stato usato un gel con poliacrilammide al 6% - 12% (acrilamide: N, N-methylenebisacrylamide, 37.5: 1) a gamma DG variabile tra il 30% e il 60% mentre, per i grandi frammenti, si è reso necessario un gel con poliacrilammide al 6% - 12% (acrilamide: N, N-methylenebisacrylamide, 37.5: 1) a gamma DG variabile tra il 40% e il 70%. Una soluzione denaturante al 100%, contiene urea in concentrazione 7 M e formammide deionizzata al 40%. I gel sono stati lasciati agire per 16 h a 75 mV in un tampone di 1X TAE a 60°C, poi colorati con bromuro di etidio e fotografati mediante UVIpro Platinum Gel Documentation System (GAS7500/7510).

### **Sequenziamento dei frammenti DGGE e analisi filogenetica**

I frammenti separati e ottenuti con tecnica DGGE sono stati asportati con una lametta e sono stati sospesi in acqua a 4°C. Il DNA eluito è stato ri-amplificato (mediante PCR) con gli stessi primers e nelle stesse condizioni descritte per l'analisi DGGE descritta nel paragrafo precedente. I prodotti della PCR sono stati testati mediante l'applicazione della tecnica DGGE per confermare la loro purezza e la loro corrispondenza alle bande originali appartenenti ai profili delle comunità batteriche, e poi sequenziati. Le reazioni di sequenziamento sono state preparate utilizzando il sistema "Applied Biosystem Big Dye® Terminator sequencing kit version 3.1", in accordo con le istruzioni del fornitore e analizzate utilizzando l'apparecchiatura 3730 DNA Analyzer Applied

Biosystem. Ogni sequenza è stata sottoposta al programma CHECK\_CHIMERA del Ribosomal Database Project (RDP) (<http://rdp.cme.msu.edu/cgis/chimera.cgi?su=SSU>) per rilevare la presenza di possibili sequenze chimeriche. Le ricerche per analogia di sequenza sono state effettuate usando il servizio in rete BLAST del database NCBI e il sistema Seqmatch della procedura RDP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/> e <http://rdp.cme.msu.edu/>, rispettivamente). Per l'analisi filogenetica, l'identificazione delle sequenze del gene del rRNA 16S è stata realizzata con la procedura di classificazione RDP (<http://rdp.cme.msu.edu/classifier/classifier.jsp>). Le sequenze parziali del gene rRNA 16S ottenute in questo studio sono state depositate nel database dei nucleotidi NCBI in corrispondenza dei numeri di accesso EU492873-76 (bande A-D per il frammento piccolo) e EU597325-31 (bande F-N per il frammento grande).

### **5.4 Elaborazione dei dati**

#### **5.4.1. Valutazione della potenza sostenibile**

Come detto in precedenza, collegando in una MFC anodo e catodo mediante una resistenza esterna, si assiste ad un passaggio di corrente.

Il potenziale di cella e la corrente dipendono da diversi fattori quali la chimica del processo, la concentrazione dei substrati e l'attività biologica; tali fattori non sono facilmente controllabili. Per quel che riguarda la resistenza elettrica, è possibile distinguere tra la resistenza esterna, applicata alla MFC attraverso il circuito elettrico, e quella interna, dipendente dalla configurazione stessa della MFC. La resistenza esterna può essere modificata, mentre quella interna, essendo una caratteristica intrinseca della MFC, non è controllabile/modificabile.

La potenza generata dalla MFC, è ottenuta dal prodotto tra la tensione (potenziale di cella) e la corrente elettrica che attraversa il

circuito esterno. Il sistema (inteso come l'insieme della MFC e del circuito esterno) si trova in una condizione di stato stazionario quando la potenza generata eguaglia, per un lungo periodo di tempo, la potenza consumata.

Menicucci et al. (2006) hanno definito la “potenza sostenibile” come la potenza prodotta da una MFC, in condizioni stazionarie, per ben definite condizioni operative. Poiché esistono numerosi stati stazionari, è necessario individuare le condizioni che determinano lo stato stazionario al quale corrisponde la “massima potenza sostenibile” (cosiddetta MSP, acronimo anglosassone di Maximum Sustainable Power), poiché tale valore garantisce che la potenza prodotta non cambia nel tempo.

La massima potenza sostenibile è ottenuta solo per una determinata combinazione tra resistenza esterna ed interna. Poiché la resistenza interna, come specificato sopra, non è controllabile e varia per ogni MFC, in funzione delle condizioni operative, la scelta della resistenza esterna rappresenta un fattore cruciale nella valutazione della potenza prodotta da una MFC, ed è la chiave per la determinazione della massima potenza sostenibile. La scelta della resistenza esterna è particolarmente difficoltosa, dipendendo da fattori difficilmente controllabili: il grado di trasferimento di carica all' “elettrodo limitante” (definito come quello dei due elettrodi che rivela la più lenta cinetica di trasferimento di carica) e il potenziale stabilito attraverso la MFC.

Nella maggior parte delle pubblicazioni scientifiche riguardanti le MFC, la scelta della resistenza esterna è risultata essere arbitraria, e la valutazione della potenza prodotta viene calcolata con riferimento a valori istantanei di corrente e potenziale. Le misure istantanee però permettono di calcolare la potenza prodotta in corrispondenza del solo istante di misura, e non possono essere utilizzate per determinare la massima potenza sostenibile. Inoltre, operando in tal modo non è possibile nemmeno il confronto tra diverse MFC.

Per confrontare la potenza generata in diverse MFC è necessario pertanto standardizzarne il metodo di misura. Menicucci et al. (2006) hanno sviluppato una procedura empirica per la determinazione della massima potenza sostenibile che può essere generata da una MFC, operante in definite condizioni. L'obiettivo prefissato dal gruppo di ricerca è lo sviluppo di un metodo per la selezione della resistenza esterna, in grado di fornire la MSP (massima potenza sostenibile). Tale indagine è stata svolta operando su una MFC, alimentata con glucosio e contenente *Klebsiella pneumoniae* nel comparto anodico e con comparto catodico abiotico. I Ricercatori hanno osservato che, se la resistenza esterna applicata al circuito è molto bassa, dapprima la MFC si stabilisce su un potenziale d'equilibrio cui corrisponde una corrente istantanea elevata (maggiore del valore massimo sostenibile di trasferimento di carica da/verso "l'elettrodo limitante"), successivamente il potenziale d'equilibrio decresce rapidamente fino a raggiungere il valore di trasferimento di carica all'elettrodo limitante, provocando l'abbassamento della corrente, circolante attraverso il circuito esterno, secondo la legge di Ohm,  $I = V/R$ . Se la resistenza esterna è invece troppo elevata, inizialmente la MFC si stabilisce su un potenziale d'equilibrio cui corrisponde una corrente istantanea bassa (inferiore al valore massimo sostenibile di trasferimento di carica da/verso "l'elettrodo limitante") ed il potenziale di cella si equilibra con quello imposto dalla resistenza. In questo caso la potenza generata è sostenibile ma inferiore a quella che potrebbe ottenersi con una resistenza esterna inferiore.

Il procedimento descritto da Menicucci et al. (2006) è stato utilizzato nel presente lavoro di tesi di Dottorato, per la determinazione della massima potenza sostenibile prodotta dalla MFC, tenendo presente che, a differenza di quanto studiato da Menicucci et al. (2006), che utilizzano una cella con catodo abiotico, l'impianto prevede, nel comparto catodico, la presenza di biomassa aerobica. Il procedimento adottato ha previsto, con

cadenza giornaliera, la determinazione della curva caratteristica della MFC avvalendosi di una slitta micrometrica, collegata ad un potenziometro a resistenza variabile. La slitta è stata azionata ogni giorno ad un orario prefissato (13,40 circa), a seguito dell'apertura del circuito, mantenuta per il periodo di tempo sufficiente alla stabilizzazione della tensione ( $V_{oc}$ ). La curva caratteristica, è ottenuta mediante una scansione (chiamata anche Scan o Sweep) nella quale la resistenza esterna viene fatta variare nel tempo con continuità (Figura 5.13) da un valore massimo di 1722 Ohm fino a 0 ( $dR/dt = -0.4 \text{ kOhm min}^{-1}$ ).

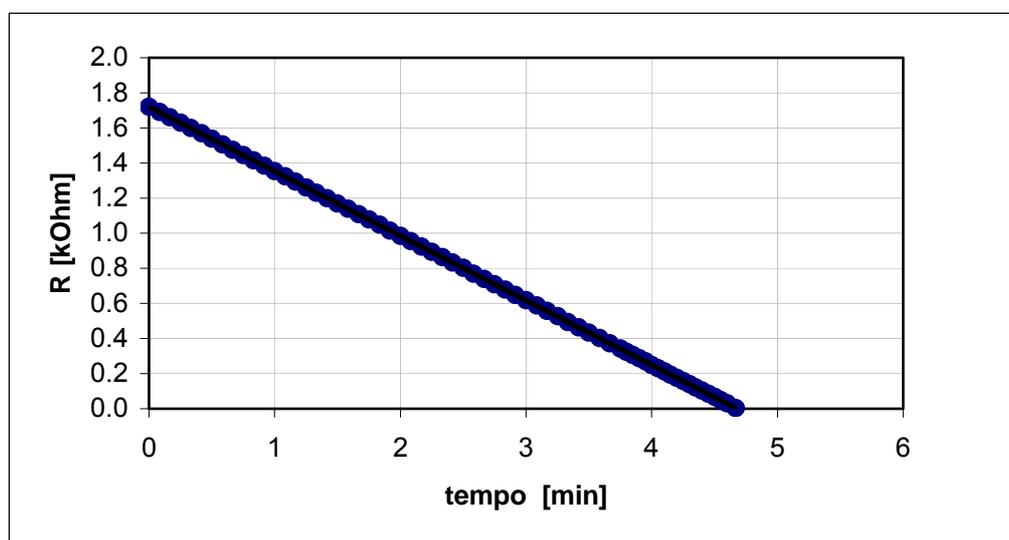


Figura 5.13 Variazione della resistenza durante uno Scan di resistenza.

Dalla variazione del potenziale di cella al variare della resistenza applicata, è quindi possibile risalire alla minima resistenza sostenibile, cui corrisponde la massima potenza sostenibile.

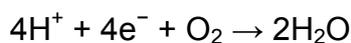
### 5.4.2. Valutazione della conversione di substrato organico in intensità di corrente

La conversione di substrato organico in intensità di corrente riveste particolare interesse al fine della valutazione delle prestazioni fornite dalla MFC.

In particolare, tale valutazione è stata condotta sulla base del procedimento sviluppato da Jang et al. (2003), che viene qui brevemente illustrato, secondo cui la corrente ottenuta da 1 mg COD s<sup>-1</sup> è pari a 12 A.

Infatti, 1 mg COD s<sup>-1</sup> corrisponde ad  $\frac{1}{32} \frac{m \text{ moli } O_2}{s}$

considerando che la reazione di ossidoriduzione dell'ossigeno ad acqua è la seguente:



allora la precedente relazione diviene:

$$\frac{1}{32} \frac{m \text{ moli } O_2}{s} = \frac{4}{32} \frac{m \text{ moli } e}{s}$$

introducendo la costante di Faraday (96487 C mole e<sup>-1</sup>) la precedente relazione diviene:

$$\frac{4}{32 \cdot 1000} \frac{m \text{ moli } e}{s} \cdot 96487 \frac{C}{m \text{ moli } e} = 12 \frac{C}{s} = 12 A$$

## 6 *Refluo sintetico ed elettrodi in grafite vetrosa - Analisi e commento dei dati sperimentali - Fasi I-II-III-IV*

### **Introduzione**

Le attività sperimentali sviluppate nel corso delle prime fasi di sperimentazione sono state impostate perseguendo le seguenti finalità:

- ✚ Verifica dell'applicabilità della configurazione proposta per la depurazione di un refluo sintetico (caratterizzato da elevato carico organico) e per la produzione di corrente elettrica;
- ✚ Valutazione del tempo di avviamento della configurazione proposta;
- ✚ Determinazione dei valori massimi di potenza e tensione ottenibili con l'uso di elettrodi in grafite vetrosa, per differenti valori del carico organico e della concentrazione di substrato organico nel comparto anaerobico;
- ✚ Valutazione delle prestazioni in assenza di carico organico;
- ✚ Determinazione del tempo necessario per ripristinare le prestazioni elettriche a seguito della ri-alimentazione della MFC con un prestabilito carico organico;
- ✚ Valutazione delle prestazioni della MFC in assenza di biomassa adesa al catodo e successiva valutazione del tempo necessario per raggiungere nuovamente le condizioni di regime;
- ✚ Valutazione delle prestazioni in termini di rimozione del contenuto di azoto ammoniacale;
- ✚ Stima del carico organico degradato e convertito in corrente elettrica, per unità di superficie dell'elettrodo;
- ✚ Valutazione della sostenibilità della resistenza e della potenza prodotta dalla MFC (calcolate seguendo la procedura empirica

sviluppata da Menicucci et al. (2006) (cfr. par.5.3.1)). in seguito alla variazione della resistenza esterna applicata al circuito elettrico;

- ✚ Stima della resistenza interna alla Microbial Fuel Cell;
- ✚ Caratterizzazione della biomassa presente nella MFC mediante osservazione di immagini al microscopio e analisi filogenetica DGGE.

Per il raggiungimento delle finalità suindicate è stato messo a punto un programma di lavoro articolato in più fasi, cui corrispondono differenti condizioni operative, come riportato nelle Tabelle 6.1 e 6.2.

Tabella 6.1 Condizioni operative corrispondenti alle prime 3 Fasi di sperimentazione.

Fase	Step	Glucosio [g l <sup>-1</sup> ]	Carico organico [g COD d <sup>-1</sup> ]	Comparto catodico Biomassa adesa
I	#1	1.5	3,4 ± 0,6	Assente
	#2	2	6,4 ± 0,7	Presente
	#3	3	9,6 ± 0,9	Presente
	#4	5	16,0 ± 0,9	Presente
II	#5	0	-	Presente
III	#6	3	9,5 ± 0,8	Presente
	#7	3	9,1 ± 0,3	Assente

Tabella 6.2 Condizioni operative corrispondenti alla Fase IV di sperimentazione.

Fase	Step	R [Ohm]
IV	#8	2100
	#9	1100

#10	430
#11	250

---

Nel corso della sperimentazione sono state rilevate le principali misure volte a stabilire le prestazioni dell'impianto sia dal punto di vista depurativo, che da quello elettrico. Tali misure vengono presentate e discusse separatamente nei seguenti paragrafi.

### ***Generalità: Prestazioni depurative***

L'andamento del carico organico applicato alla MFC durante la campagna sperimentale viene riportato nella Figura 6.1 e nella Tabella 6.1, nell'ambito delle quali sono state individuate 3 differenti fasi, suddivise in 7 step. La Fase IV (suddivisa a sua volta in step 8-9-10-11), non viene riportata nel presente paragrafo, poiché relativa alla variazione del parametro elettrico  $R_e$  (resistenza esterna applicata al circuito). Si rimanda tale trattazione al paragrafo 6.2.

Nella Fase I la concentrazione di sostanza organica (glucosio) in ingresso è stata progressivamente incrementata da 1,5 a 2, 3 e quindi a 5  $\text{gl}^{-1}$  (Tabella 6.1, da step 1 a step 4) con corrispondenti carichi organici in entrata di 3,4; 6,4; 9,6 e 16  $\text{gCODd}^{-1}$ . Mediamente in questa fase il COD rimosso nel comparto anaerobico ha raggiunto efficienze di rimozione comprese tra il 66% e il 91% del COD entrante. In particolare, il valore minimo della concentrazione di COD rimosso è stato osservato durante la fase iniziale di crescita della biomassa anaerobica, per la quale è stato necessario un periodo di adattamento.

Nella Fase II (Tabella 6.1, step 5), al fine di individuare eventuali effetti sulle prestazioni dovuti alla presenza della biomassa sospesa o della sostanza organica contenuta nell'inoculo, è stata eliminata dal substrato la

fonte di sostanza organica (glucosio). Durante questa fase i valori misurati di COD nell'uscita erano al di sotto di  $70 \text{ mgCODl}^{-1}$ .

Nella Fase III (Tabella 6.1, step 6 e 7) il glucosio è stato reinserito nel substrato ad una concentrazione di  $3 \text{ gl}^{-1}$ , corrispondente ad un carico organico di circa  $9,1 \text{ gCODd}^{-1}$ , fino a raggiungere un valore stabile nella rimozione di COD (Tabella 6.1, step 6).

Durante la campagna sperimentale è stato possibile osservare che la rimozione di COD nel comparto anaerobico, misurata negli step 3, 6 e 7 è aumentata, anche se il carico organico in entrata è rimasto costante. Questo andamento è probabilmente conseguenza dell'incremento della concentrazione di biomassa anaerobica nel comparto, poiché durante l'intero periodo sperimentale, non vi è stata aggiunta di fango.

La produzione giornaliera di metano ha mostrato un andamento crescente con l'aumento del carico organico applicato e il substrato organico rimosso nei comparti I e II dell'ABR risulta quasi completamente convertito in metano. Questo risultato è da ricondursi però ad un ridotto rapporto tra l'area superficiale degli elettrodi e i comparti anodico e catodico.

Durante il periodo sperimentale la concentrazione di azoto ammoniacale nell'effluente raccolto all'uscita del sedimentatore è sempre stata inferiore a  $1 \text{ mgN-NH}_4^+\text{l}^{-1}$ , evidenziandone quindi una efficienza di rimozione pari al 98%.

*Tabella 6.1 Efficienza di rimozione del COD durante le prime tre fasi della sperimentazione ( $\pm$  Deviazione Standard).*

Fase	Step	Glucosio	Carico Organico	COD Anaerobico (II camera)	Produzione di metano	Rimozione di COD [%]
------	------	----------	-----------------	----------------------------	----------------------	----------------------

		[g l <sup>-1</sup> ]	[g <sub>COD</sub> d <sup>-1</sup> ]	[gm <sup>-3</sup> ]	[l <sub>N</sub> CH <sub>4</sub> d <sup>-1</sup> ]	Anaerobico	Aerobico	Totale
I	#1	1,5	3,4 ± 0,6	n.a.	n.a.	66	18	84
	#2	2	6,4 ± 0,7	434 ± 77	1,6 ± 0,3	79	14	83
	#3	3	9,6 ± 0,9	420 ± 65	2,5 ± 0,4	86	16	92
	#4	5	16,0 ± 0,9	815 ± 233	4,2 ± 1,0	91	17	98
II	#5	0	-	-	-	-	-	-
III	#6	3	9,5 ± 0,8	142 ± 71	2,8 ± 0,6	94	4	98
	#7	3	9,1 ± 0,3	98 ± 4	2,8 ± 0,3	97	2	99

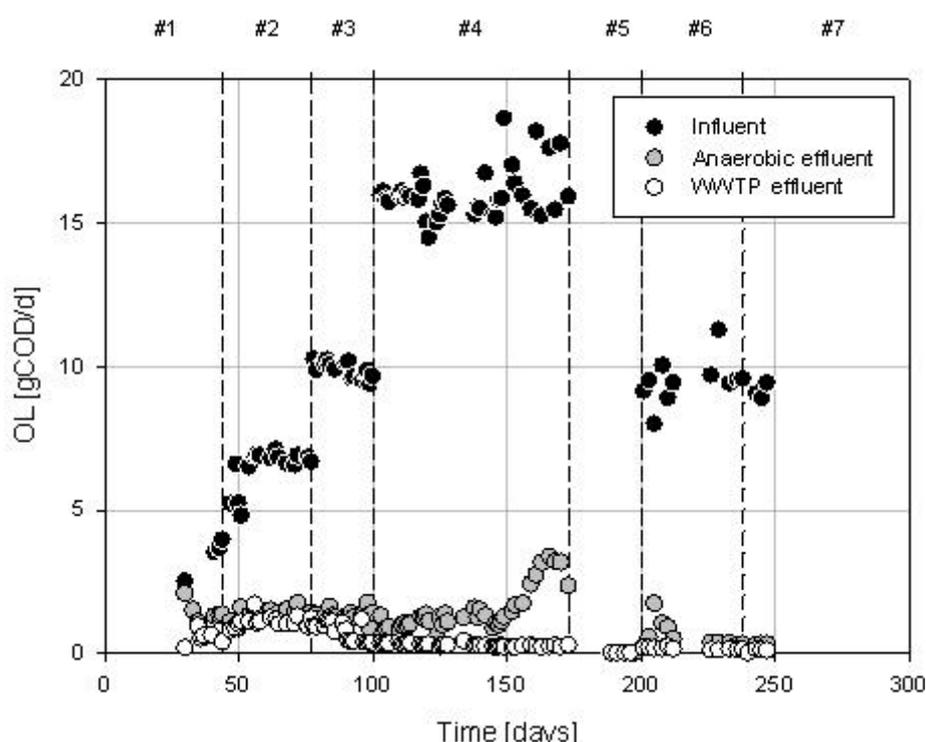


Figura 6.1 Andamento del carico organico misurato durante la fase sperimentale.

## 6.1 Risultati delle misure volte a stabilire le prestazioni depurative

Al fine di valutare l'efficienza depurativa della MFC in seguito alle varie strategie di carico e di lavoro adottate, i risultati delle varie fasi

sperimentali vengono analizzate in diversi step, riportati nei seguenti paragrafi:

- 6.1.1 Fase I Acclimatazione e step di carico 1, 2, 3 e 4;
- 6.1.2 Fase II, step 5 assenza di carico;
- 6.1.3 Fase III, step 6 rialimentazione del carico organico;
- 6.1.4 Fase III, step 7 valutazione del tempo necessario alla colonizzazione di un catodo pulito.

### **6.1.1 Acclimatazione e fasi di incremento di carico (Fase I Step 1-2-3-4)**

Durante la Fase I, l'andamento della concentrazione di sostanza organica misurata su campioni di alimento (denominato IN) e su campioni prelevati sia dal comparto anaerobico (denominato ANAER), sia dall'uscita dell'impianto (denominato OUT), espresso in termini di COD e TOC è riportato rispettivamente nelle Figure 6.2 e 6.3.

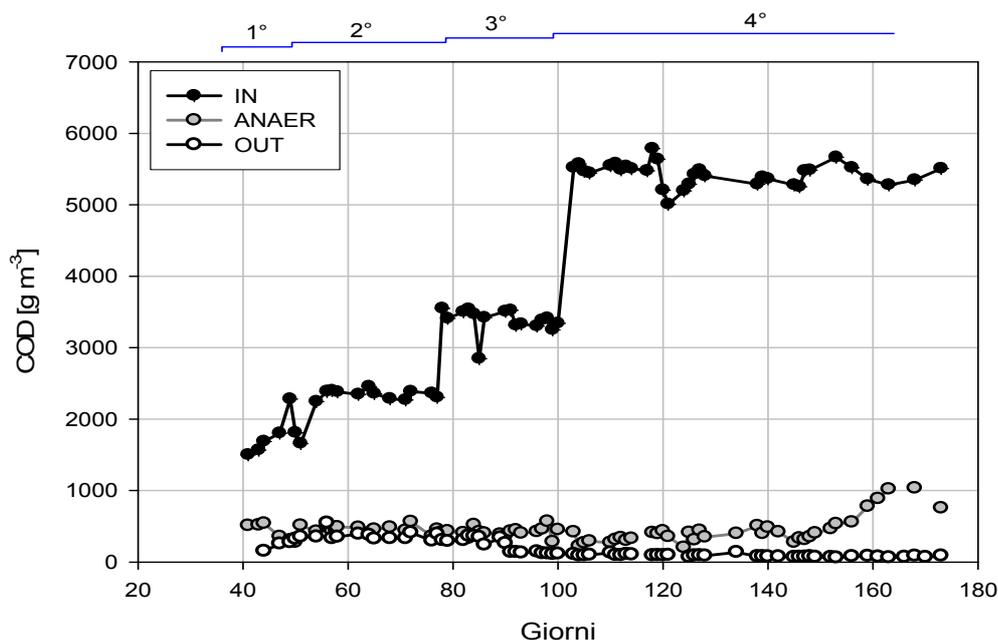


Figura 6.2 Andamento del COD misurato sull'alimento (IN), sull'effluente dal comparto anaerobico (ANAER) e sull'uscita dall'impianto (OUT).

Le misure di COD, nel periodo di tempo compreso tra l'avviamento dell'impianto ed il 40° giorno, non sono state riportate nei diagrammi in quanto, come detto in precedenza, durante la fase di avviamento dell'impianto, l'alimento presentava una concentrazione di glucosio pari a  $10 \text{ g l}^{-1}$ , che ha determinato una situazione di acidità nel comparto anaerobico.

Nella fase successiva di lavoro, la concentrazione di glucosio nell'alimento è stata ridotta a  $1,5 \text{ g l}^{-1}$ , corrispondente ad un carico organico di  $3,4 \text{ gCOD d}^{-1}$ , (cfr. Figura 6.1) ed è stata mantenuta costante fino a quando le prestazioni elettriche non sono apparse stabili. A quel punto è stata incrementata a  $2 \text{ g l}^{-1}$  ( $6,4 \text{ gCOD d}^{-1}$ ), e si è proceduto ad alimentare la MFC con una tale concentrazione per un periodo di circa 30 giorni, durante il quale la produzione di corrente ha subito un notevole incremento. Successivamente, quando la potenza prodotta ha raggiunto valori stabili, la concentrazione di glucosio è stata portata a  $3 \text{ g l}^{-1}$

(9,6 gCOD d<sup>-1</sup>), valori individuabili trascorsi 75 giorni di funzionamento dell'impianto, ed infine si è realizzato, dopo circa 100 giorni, un ulteriore incremento di carico a 5 g l<sup>-1</sup> (16 gCOD d<sup>-1</sup>).

Gli andamenti del TOC ricalcano essenzialmente quelli del COD, mantenendo, durante tutta la campagna sperimentale, un rapporto TOC/COD pressoché costante e pari a 0,375.

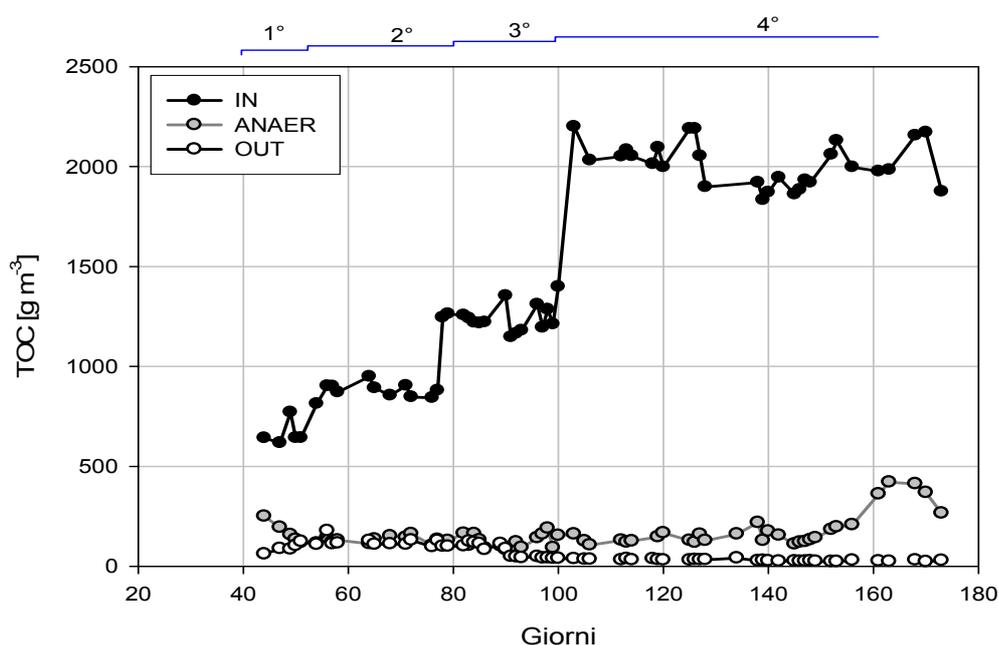


Figura 6.3 Andamento del TOC misurato sull'alimento (IN), sull'effluente dal comparto anaerobico (ANAER) e sull'uscita dall'impianto (OUT).

I diagrammi riportati nelle Figure 6.2 e 6.3 mostrano le elevate prestazioni fornite dall'impianto in termini di rimozione della sostanza organica; infatti nonostante l'incrementarsi nel tempo del carico organico in ingresso all'impianto, i valori di COD e TOC degli effluenti dei comparti anaerobico ed aerobico si mantengono pressoché uniformi nel tempo.

Nella Tabella 6.2 sono riportate le efficienze depurative sia in termini di COD che di TOC suddivise fase per fase.

Tabella 6.2: Efficienze depurative in termini di COD e TOC

Step	Fase	Concentrazione mg C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> l <sup>-1</sup>	Carico		μCOD %		μTOC %	
			g COD d <sup>-1</sup>	g TOC d <sup>-1</sup>	Anaer	tot	Anaer	tot
1°	1	1.5	3,4	1,60	66	84	61	90
	2	2	6,4	2,5	79	83	83	86
	3	3	9,6	3,8	86	92	87	90
	4	5	16,0	4,8	91	98	91	99

In particolare, l'efficienza di rimozione dello stadio anaerobico e di tutto l'impianto sono state valutate rispettivamente mediante le seguenti due relazioni:

$$\eta_{anaer} = \frac{COD_{in} - COD_{anaer}}{COD_{in}} = 1 - \frac{COD_{anaer}}{COD_{in}}$$

$$\eta_{tot} = \frac{COD_{in} - COD_{out}}{COD_{in}} = 1 - \frac{COD_{out}}{COD_{in}}$$

L'efficienza di depurazione misurata durante il funzionamento della MFC è aumentata nel tempo, come mostrato dall'andamento pressoché costante delle curve di COD anaerobico e COD in uscita, rapportate all'andamento, sempre crescente, del COD dell'alimento. Inoltre, dall'osservazione dei diagrammi e della Tabella 6.2, si possono fare alcune considerazioni: (i) durante la Fase I l'efficienza depurativa è affidata ad entrambi i comparti in egual percentuale; (ii) efficienze elevate del comparto aerobico si riscontrano solo a seguito di una lunga acclimatazione della biomassa aerobica; (iii) nelle fasi successive alla prima, a seguito della progressiva acclimatazione della biomassa in entrambi i comparti, le efficienze aumentano ed il 90% della rimozione del carico organico è affidato allo stadio anaerobico, mentre nel comparto aerobico si ha un affinamento della rimozione di sostanza organica.

L'andamento della produzione giornaliera di metano è mostrato nel diagramma di Figura 6.4.

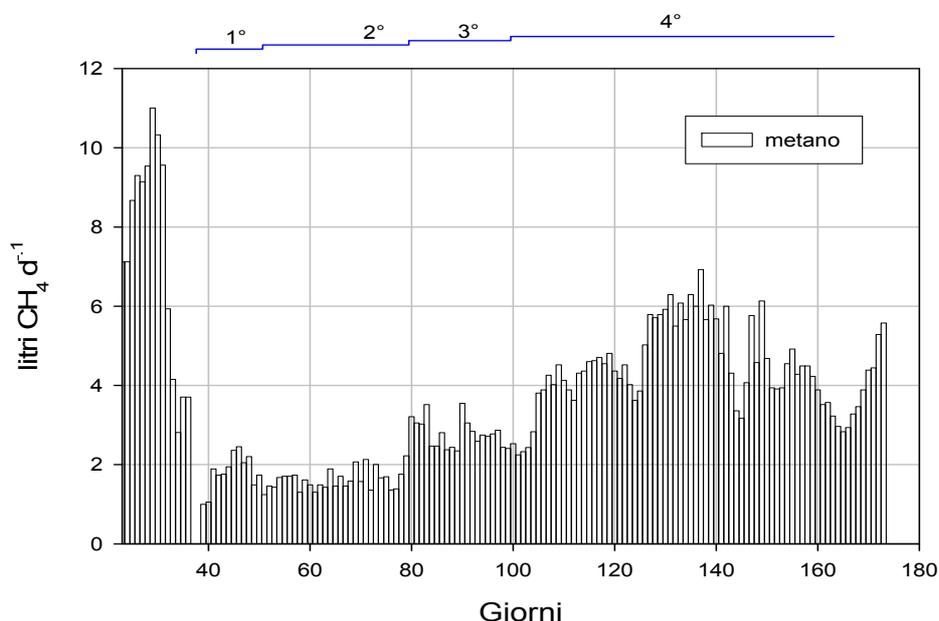


Figura 6.4 Andamento della produzione giornaliera di metano.

Il metano prodotto nei primi 30 giorni di funzionamento è stato ottenuto alimentando la cella con una concentrazione di glucosio pari a 10 gl<sup>-1</sup>. In questa fase la percentuale di metano si attestava a circa il 55% del biogas prodotto. Dopo circa 40 giorni di funzionamento, come detto, l'impianto è andato in acidità (il pH ha raggiunto valori inferiori a 6,5), pertanto è stato necessario sospendere l'alimentazione e procedere tamponando il comparto anaerobico. Tale situazione ha portato ad una forte diminuzione della produzione di biogas, come indicato nel grafico. Nel successivo periodo (tra 40 e 80 giorni), la cella è stata alimentata con una concentrazione di 1,5 e 2 gl<sup>-1</sup>. In questo periodo la percentuale di metano prodotto ha raggiunto valori tra il 60 e il 70%, che indicano un'ottima ripresa della fase metanigena. Nell'intervallo di tempo compreso tra 80 e 100 giorni, la concentrazione di glucosio è stata portata a 3 gl<sup>-1</sup>, ottenendo un aumento della produzione di biogas di circa il 50%. Come indicato in seguito, si è osservato che questo aumento è stato accompagnato da un

modesto incremento della potenza prodotta, e la percentuale di metano nel biogas si è attestata intorno al 63%. Infine con il successivo aumento di carico organico a  $5 \text{ gl}^{-1}$  (tra 100 e 170 giorni) si è osservato un incremento iniziale della portata di biogas di circa il 50% rispetto ai valori corrispondenti al precedente carico, per poi aumentare ancora e decrescere (intorno al giorno 165) in corrispondenza di un sovraccarico della MFC. La percentuale di metano in quest'ultima fase si è attestata intorno a valori del 50 e il 60%.

Le misure di pH e di alcalinità sui campioni prelevati dal comparto anaerobico sono mostrate nel diagramma di Figura 6.5.

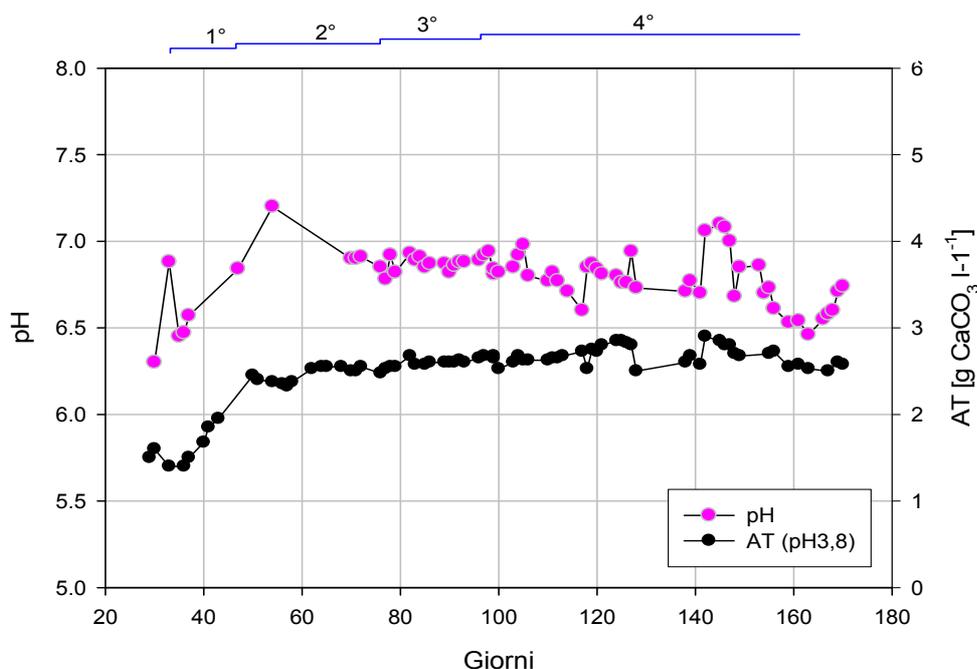


Figura 6.5: Andamento del pH e dell'alcalinità misurato nell'effluente dallo stadio anaerobico durante il periodo di sperimentazione.

Tali andamenti mostrano chiaramente quanto è stato riportato in precedenza. Nel periodo compreso tra il 30° e 40°giorno di funzionamento dell'impianto, il pH (in rosa) è sceso al disotto di 6,5. Nel periodo immediatamente successivo si è quindi provveduto a riportare il pH a

valori ottimali per lo svolgimento del processo anaerobico, alimentando la MFC solo con tampone fosfato.

Considerazioni analoghe possono ripetersi relativamente all'andamento dell'alcalinità. Una volta riportata l'attività batterica in condizioni ottimali, durante le successive fasi di carico, l'alcalinità si è mantenuta a valori pressoché costanti, testimoniando che tale condizione rappresenta la situazione ottimale per la metanazione. L'unica eccezione si verifica nel periodo tra il 150° e 170° giorno, dove si può osservare una riduzione dei valori, imputabile ad un sovraccarico della MFC.

Gli acidi grassi volatili (VFA) sono stati misurati sui campioni prelevati dal comparto anaerobico, ed il relativo andamento nel tempo (del solo acido acetico) è riportato nel diagramma di Figura 6.6.

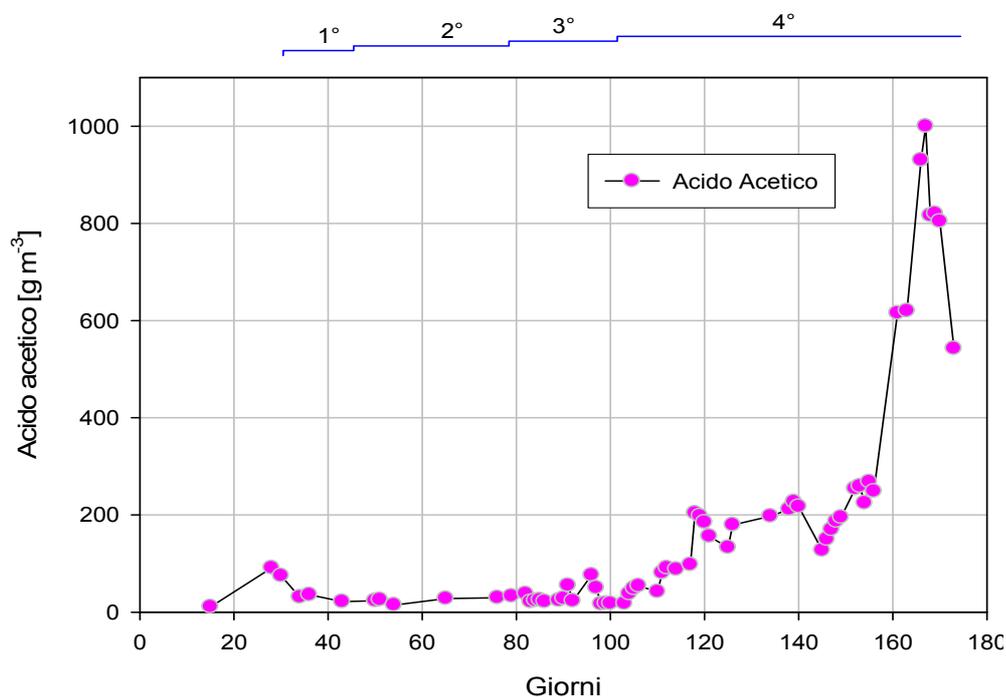


Figura 6.6 Andamento della concentrazione di acido acetico nell'effluente dallo stadio anaerobico durante il periodo di sperimentazione.

Anche da tale andamento è possibile riconoscere i periodi in cui il comparto anaerobico era in condizioni di acidità. Nel periodo compreso tra il 30° e 40° giorno, l'alimentazione del solo tampone ha innalzato il pH, instaurato condizioni ottimali e ridotto la presenza di acido acetico. Il livello di acetico si è mantenuto basso durante tutto il periodo successivo, poiché la comunità microbica è stata in grado di degradare tutto il substrato fornito (concentrazione di glucosio pari a  $2 \text{ g l}^{-1}$ ). In corrispondenza dell'aumento di concentrazione nella corrente in ingresso, pari a  $3 \text{ g l}^{-1}$ , dopo circa 90 giorni, è possibile osservare un innalzamento dell'acido acetico presente nel comparto anaerobico, rivelando probabilmente un momentaneo shock della biomassa anaerobica, che però si è velocemente adattata, riportando i valori di acetico a quelli del periodo precedente.

E' da notare però che in corrispondenza dell'ultimo incremento di carico, dopo un iniziale periodo di normale funzionamento della MFC (di circa 2 mesi), il valore del pH si è lentamente ridotto nel tempo, arrivando ad un minimo di 6,4 in corrispondenza del quale la concentrazione degli acidi volatili è aumentata notevolmente. Ciò è attribuibile, probabilmente, ad un sovraccarico che ha favorito la fase di acido-produzione (che presenta una cinetica più veloce) rispetto alla metanigena, con conseguente accumulo di VFA e riduzione sia della portata di biogas che della percentuale di metano, la quale si è attestata intorno al 54%. Per evitare che la MFC si riportasse in condizioni di acidità è stato diminuito leggermente il carico riducendo la portata dell'influente in ingresso fino a riportare il pH in un intervallo ottimale.

La concentrazione di ossigeno disciolto (DO) all'interno del comparto aerobico, è stata misurata durante tutto il periodo, e mantenuta (regolando il sistema di aerazione opportunamente) su valori compresi tra 6,2 e  $7 \text{ mg l}^{-1}$ , necessari per lo sviluppo delle reazioni catodiche nel caso in cui,

come per l'impianto in esame, si ricorra ad un catodo realizzato in grafite non trattata (ad esempio con platino che funge da catalizzatore) e biomassa.

Il pH misurato all'interno del comparto aerobico si è attestato su un valore medio, nel periodo della sperimentazione, pari a 7,5.

### **6.1.2 Alimentazione in assenza di carico organico (Fase II, step 5)**

Al fine di evidenziare il ruolo della degradazione del substrato nella produzione di energia elettrica, si è scelto di alimentare in assenza di carico organico, con un refluo sintetico costituito solo da acqua, sali e tampone.

In questa Fase II, le efficienze depurative non risultano significative e pertanto non vengono riportate.

### **6.1.3 Rialimentazione del carico organico (Fase III, step 6)**

Nel periodo successivo, è stata ripresa l'alimentazione dell'impianto con una concentrazione di glucosio in ingresso pari a  $3 \text{ gl}^{-1}$ , fino all'instaurarsi di prestazioni elettriche uniformi nel tempo.

I valori di COD in uscita dall'anaerobico risultano comunque minori a quelli relativi alle stesse condizioni operative, adottate nella Fase III, a testimonianza del fatto che all'interno del reattore si è selezionata una biomassa specifica.

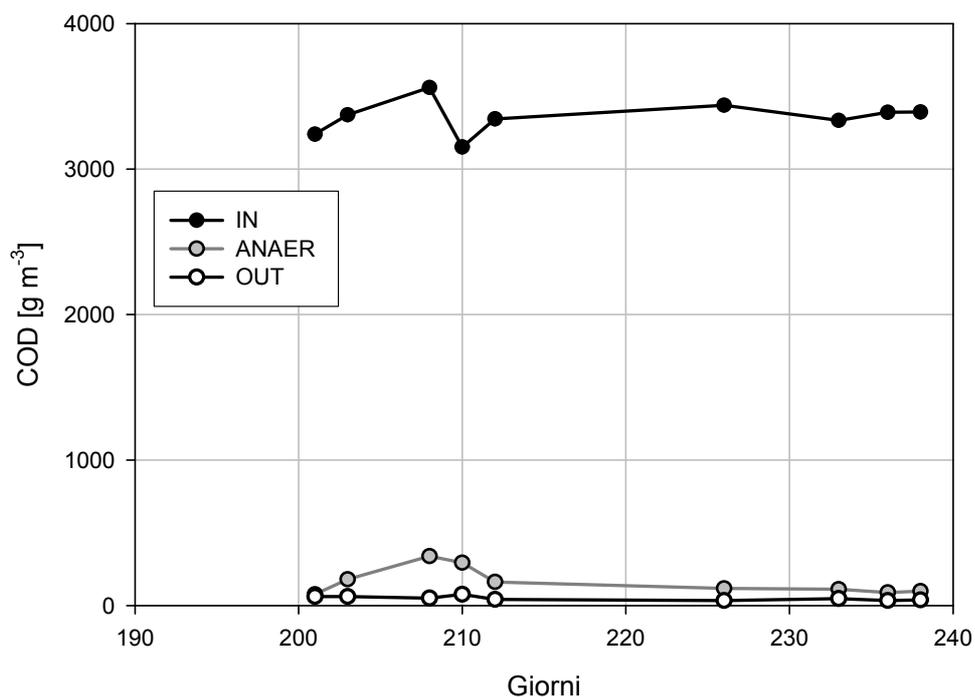


Figura 6.7 Andamento del COD misurato sull'alimento (IN), sull'effluente dal comparto anaerobico (ANAER) e sull'uscita dall'impianto (OUT).

Gli andamenti di TOC (Figura 6.8) ricalcano ancora quelli del COD.

I diagrammi riportati nelle Figure 6.7 e 6.8 mostrano, ancora una volta, le elevate prestazioni fornite dall'impianto in termini di rimozione della sostanza organica.

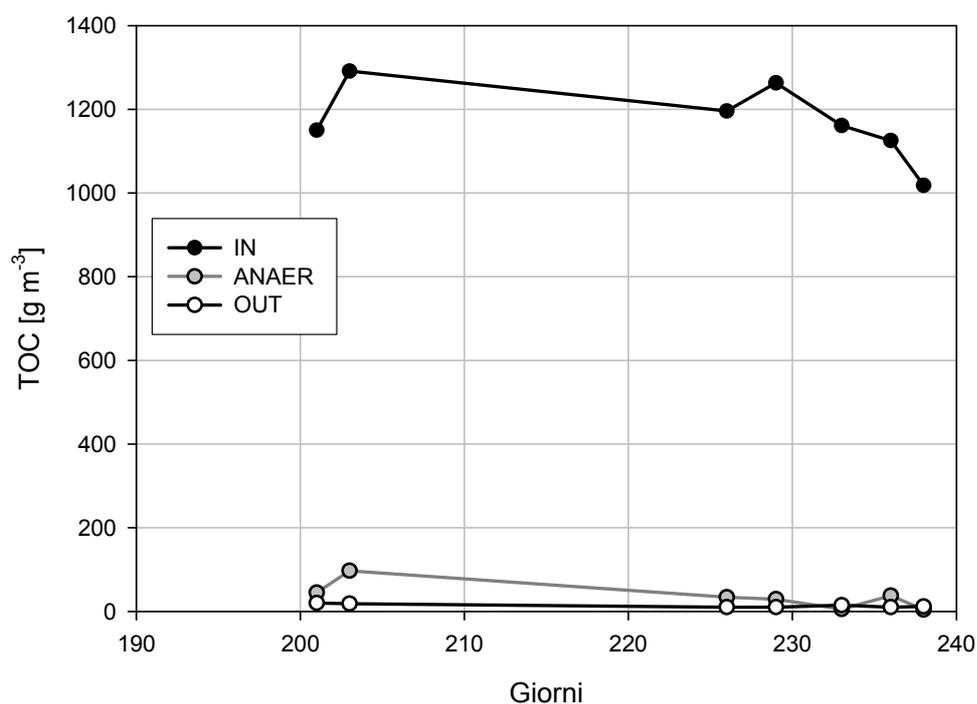


Figura 6.8 Andamento del TOC misurato sull'alimento (IN), sull'effluente dal comparto anaerobico (ANAER) e sull'uscita dall'impianto (OUT).

Nella Tabella 6.3 sono riportate le efficienze depurative sia in termini di COD che di TOC suddivise fase per fase.

Tabella 6.3 Efficienze depurative in termini di COD e TOC

Fase	Step	Concentrazione mg C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> l <sup>-1</sup>	Carico		μCOD %		μTOC %	
			g COD d <sup>-1</sup>	g TOC d <sup>-1</sup>	Anaer	tot	Anaer	tot
I	1	1,5	3,4	1,6	66	84	61	90
	2	2	6,4	2,5	79	83	83	86
	3	3	9,6	3,8	86	92	87	90
	4	5	16	4,8	91	98	91	99
II	5	0	0	0	/	/	/	/
III	6	3	9,5	2,3	94	98	97	99

E' possibile constatare che l'efficienza di depurazione, misurata nello step 6, è ulteriormente aumentata rispetto agli step precedenti.

L'andamento della produzione giornaliera di metano è di seguito mostrato.

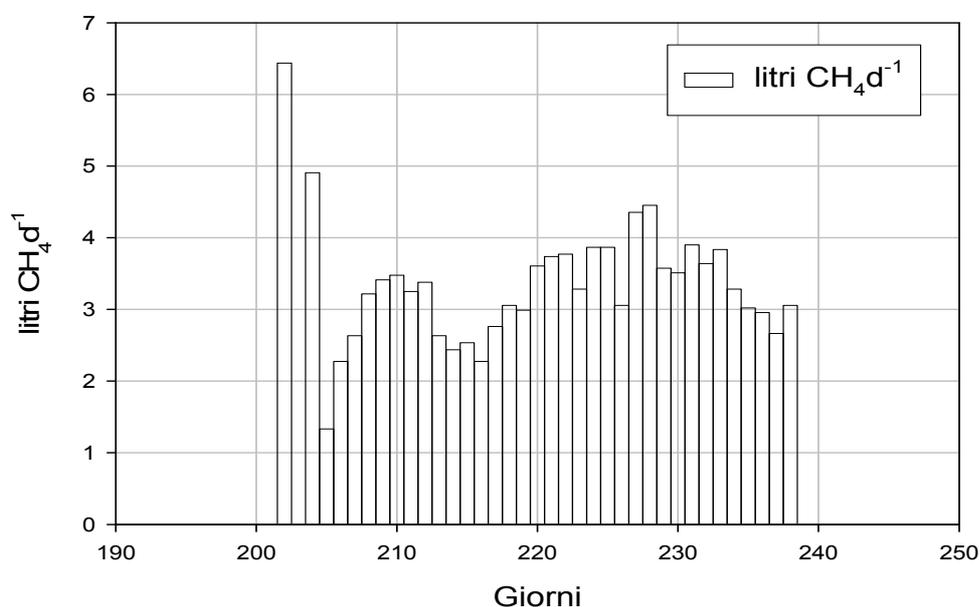


Figura 6.9 Andamento della produzione giornaliera di biogas.

La produzione di metano si è riportata a valori leggermente inferiori a quelli misurati precedentemente, nelle stesse condizioni operative. In tale fase la percentuale di metano si è attestata intorno ad un valore stabile del 67% del biogas prodotto.

Le misure di pH e di alcalinità sui campioni prelevati dal comparto anaerobico sono mostrate nel diagramma di Figura 6.10.

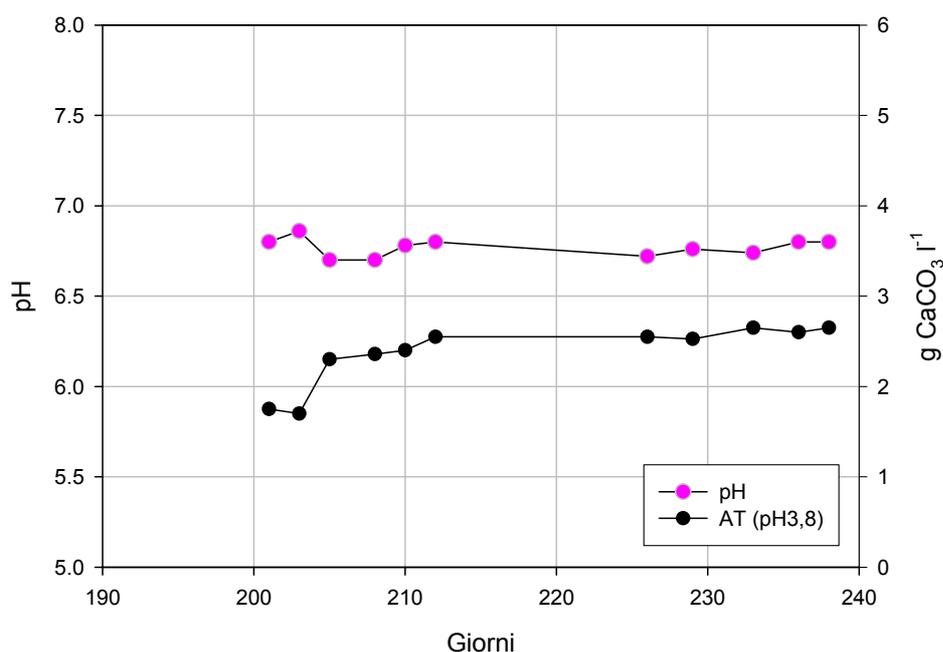
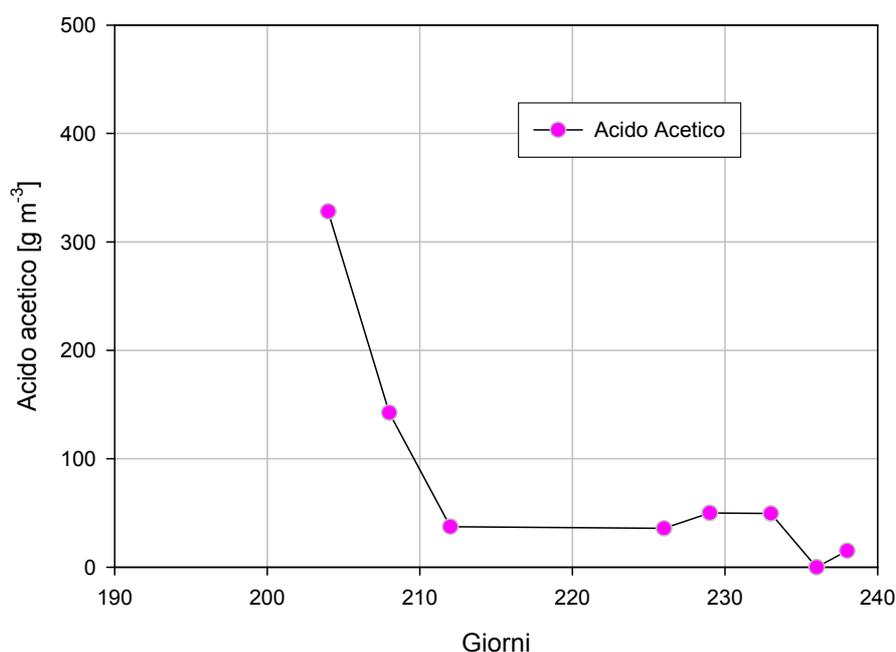


Figura 6.10 Andamento del pH e dell'alcalinità misurato nell'effluente dallo stadio anaerobico durante il periodo di sperimentazione.

Tali andamenti mostrano che il pH (in rosa) si è mantenuto intorno al valore di 6,8 che risulta essere ottimale per lo svolgimento del processo anaerobico. Considerazioni analoghe possono ripetersi relativamente all'andamento dell'alcalinità. Una volta riportata l'attività batterica in condizioni ottimali, l'alcalinità si è mantenuta a valori pressoché costanti, testimoniando, ancora una volta, che tale condizione rappresenta la situazione ottimale per la metanazione.

L'andamento nel tempo degli acidi grassi volatili (espressi in termini di concentrazione di acido acetico) è riportato nel diagramma di Figura 6.11.



*Figura 6.11 Andamento della concentrazione di acido acetico nell'effluente dallo stadio anaerobico durante il periodo di sperimentazione.*

Da tale andamento è possibile riconoscere una graduale ripresa dell'impianto fino all'istaurarsi di condizioni ottimali. Il livello di acetico si è mantenuto basso durante tutto il periodo finale di tale fase, poiché la comunità microbica è stata in grado di degradare tutto il substrato fornitole (concentrazione di glucosio pari a  $3 \text{ g l}^{-1}$ ), con conseguente aumento della percentuale di metano presente nel biogas.

La concentrazione di ossigeno disciolto (DO) all'interno del comparto aerobico, è stata sempre mantenuta (regolando il sistema di aerazione opportunamente) su valori compresi tra  $6,2$  e  $7 \text{ mg l}^{-1}$ .

Il pH misurato all'interno del comparto aerobico si è attestato su un valore medio, nel periodo della sperimentazione, pari a  $7,5$ .

### 6.1.4 Colonizzazione di un catodo pulito (Fase III, step 7)

Nella Fase III, a seguito dei risultati ottenuti nella fase precedente, si è tentato di comprendere l'effettivo ruolo svolto dalla biomassa adesa al catodo in termini di efficienze elettriche, collegando al circuito elettrico della MFC un catodo pulito e senza biofilm (cioè un elettrodo lavato precedentemente con una soluzione di HCl).

Oltre alla lettura delle misure elettriche, si è quindi proceduto al monitoraggio dell'impianto anche dal punto di vista depurativo.

I valori di COD in uscita dall'anaerobico e dalla sedimentazione risultano essere ancora molto bassi, in particolare l'andamento del COD in uscita dalla fase aerobica evidenzia che la biomassa adesa al catodo non svolge un ruolo determinante nella degradazione del substrato in ingresso nel comparto aerobico, compito affidato ai microrganismi sospesi all'interno della vasca a fanghi attivi. Del resto era lecito attendersi un tale risultato, visto che la superficie del catodo è bassa ( $160 \text{ cm}^2$ ) rispetto al volume del bacino aerobico di 22 l.

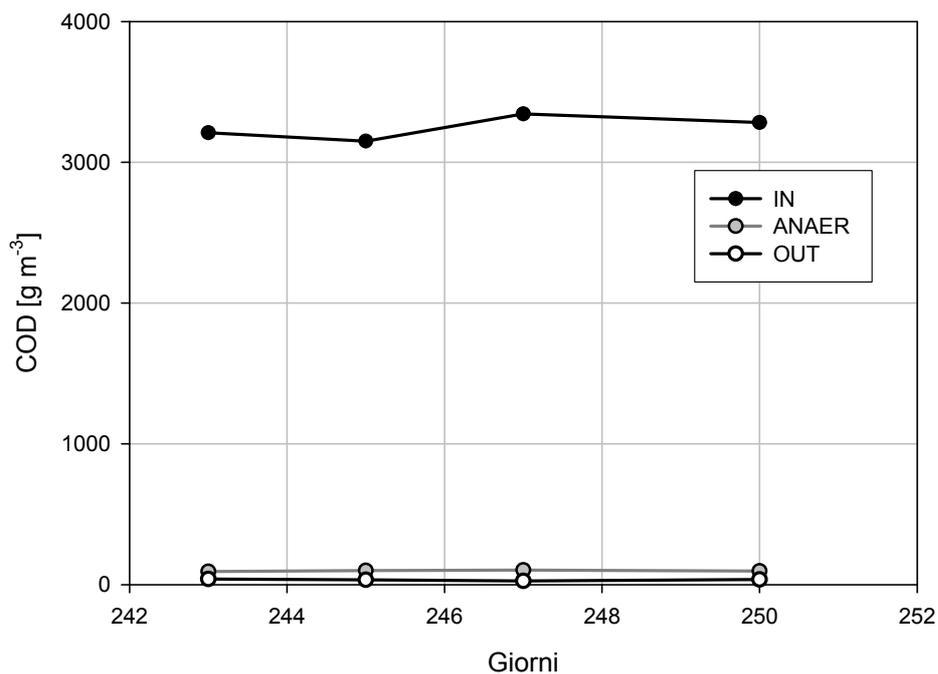


Figura 6.12 Andamento del COD misurato sull'alimento (IN), sull'effluente dal comparto anaerobico (ANAER) e sull'uscita dall'impianto (OUT).

Gli andamenti del TOC ricalcano essenzialmente quelli del COD.

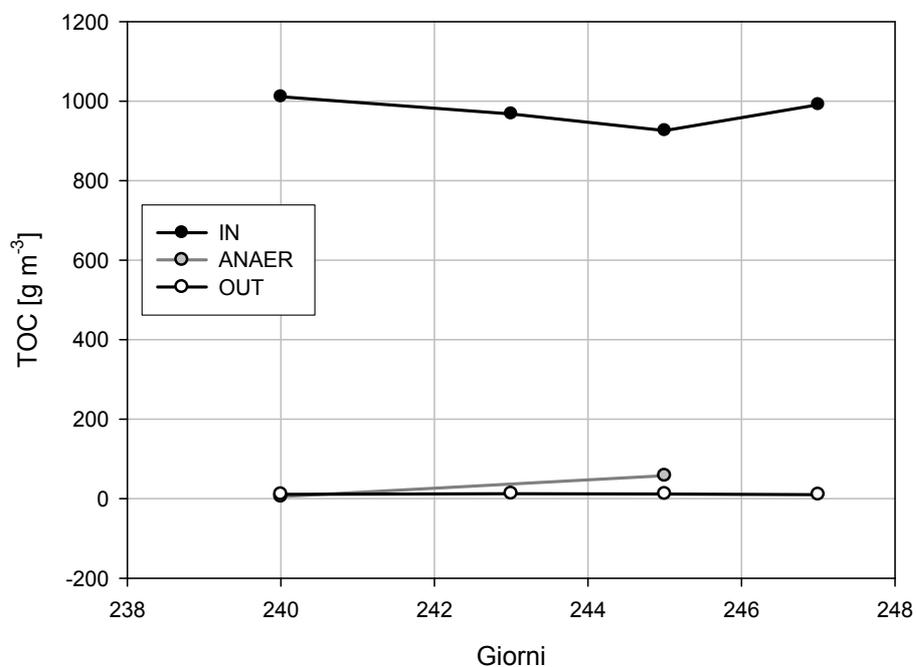


Figura 6.13 Andamento del TOC misurato sull'alimento (IN), sull'effluente dal

## Capitolo 6

---

*comparto anaerobico (ANAER) e sull'uscita dall'impianto (OUT).*

I diagrammi riportati nelle Figure 6.12 e 6.13 mostrano, ancora una volta, le elevate prestazioni fornite dall'impianto in termini di rimozione della sostanza organica.

Nella Tabella 6.4 sono riportate le efficienze depurative sia in termini di COD sia di TOC suddivise fase per fase.

*Tabella 6.4 Efficienze depurative in termini di COD e TOC*

Fase	Step	Concentrazione	Carico		Metano	μCOD %		μTOC %	
		mgC <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> l <sup>-1</sup>	g COD d <sup>-1</sup>	g TOC d <sup>-1</sup>	%	Anaer	tot	Anaer	tot
I	1	1,5	3,4	1,6	55	66	84	61	90
	2	2	6,4	2,5	64	79	83	83	86
	3	3	9,6	3,8	63,6	86	92	87	90
	4	5	16	4,8	54,5	91	98	91	99
II	5	0	0	0	58,4	/	/	/	/
III	6	3	9,5	2,3	67	94	98	97	99
IV	7	3	9,1	2,3	67	97	99	-	-

L'andamento della produzione giornaliera di metano è mostrato di seguito.

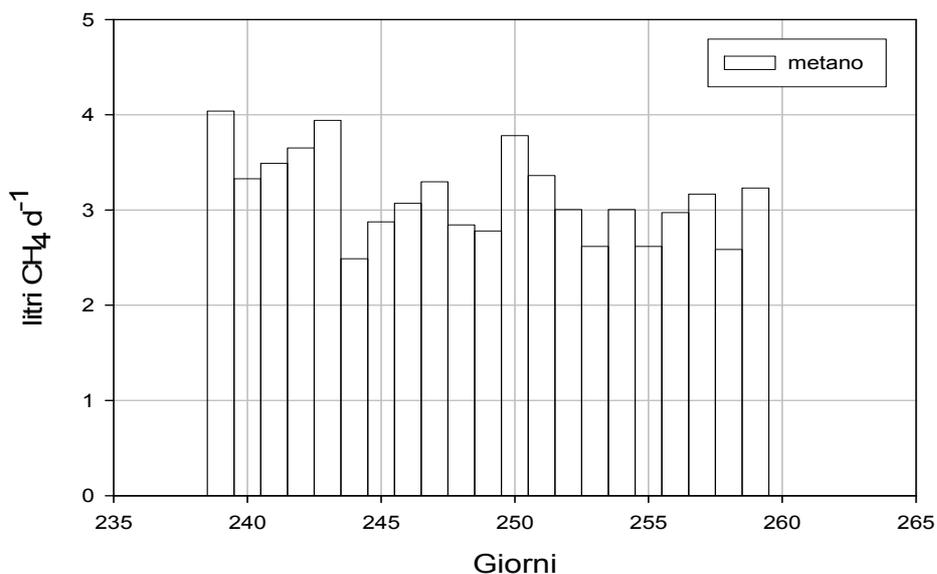


Figura 6.14 Andamento della produzione giornaliera di metano.

La produzione di metano si è mantenuta sui valori misurati precedentemente, nelle stesse condizioni operative. In tale fase la percentuale di metano si è attestata intorno ad un valore stabile del 67% del biogas prodotto.

Le misure di pH e di alcalinità sui campioni prelevati dal comparto anaerobico sono mostrate nel diagramma di Figura 6.15.

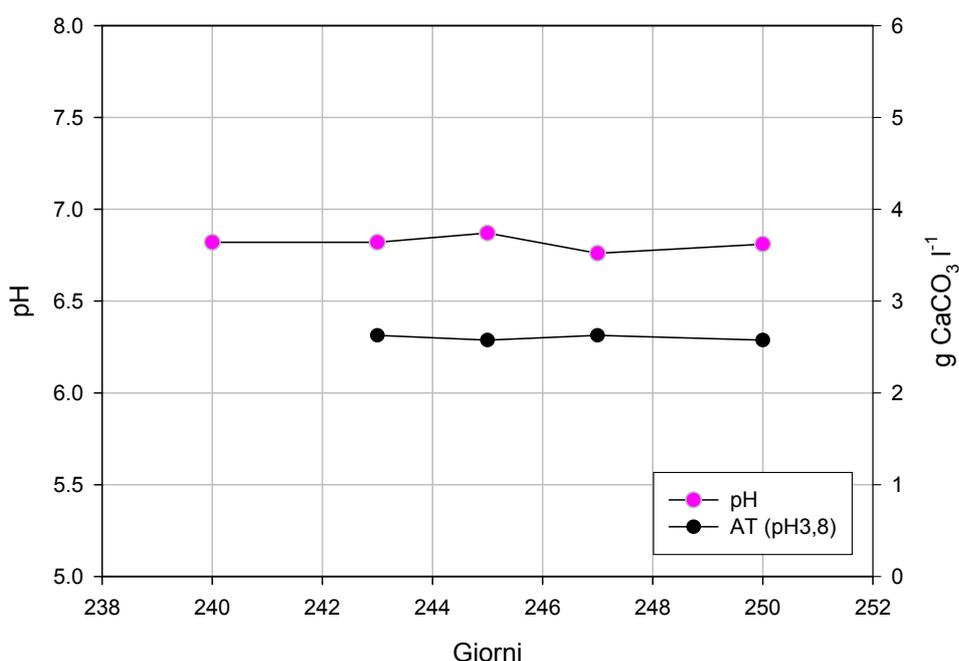


Figura 6.15 Andamento del pH e dell'alcalinità misurato nell'effluente dallo stadio anaerobico durante il periodo di sperimentazione.

Tali andamenti mostrano che il pH (in rosa) si è mantenuto ancora intorno a valori di 6,8. Gli acidi grassi volatili (VFA) hanno concentrazioni quasi nulle, ciò implica che la comunità microbica è sempre in grado di degradare tutto il substrato fornitole (concentrazione di glucosio pari a 3 g l<sup>-1</sup>), producendo un'elevata percentuale di metano. La concentrazione di ossigeno disciolto (DO) all'interno del comparto aerobico, è stata misurata ed è pari a 7,5 mg l<sup>-1</sup>.

### 6.1.5 Rimozione dell'azoto ammoniacale

La rimozione dell'azoto ammoniacale, presente nell'alimento, avviene per lo più nel comparto anaerobico per effetto della sintesi microbica. Infatti il carico di azoto necessario per la sintesi può essere stimato in:

$$Q \cdot (COD_{in} - COD_{anaer}) \cdot Y \cdot f_N = 0.14 \frac{gN_{\text{sin tesi}}}{d}$$

Dove :

$$Y = 0.10 - 0.15 \frac{kg_{SSV}}{kg_{CODrimosso}}$$

$$f_N = 0.10 \frac{kgN - NH^+_4}{kg_{SSV}}$$

Il carico organico alimentato e in uscita dal comparto anaerobico è pari rispettivamente a:

$$Q \cdot (N - NH^+_4)_{in} = 0.145 \frac{gN - NH^+_4}{d}$$

$$Q \cdot (N - NH^+_4)_{anaer} = 0.01 \frac{gN - NH^+_4}{d}$$

### **Generalità: Prestazioni elettriche**

Subito dopo l'inoculo della MFC (nell'ambito della fase di avviamento) è stata applicata al circuito elettrico una resistenza totale di 250 Ohm. Al termine della fase di avviamento, l'adattamento della biomassa alle condizioni cui è stata sottoposta ha determinato un forte incremento del potenziale di cella che è cresciuto da un valore iniziale di  $50 \pm 3$  mV alla fine della Fase I ad un valore di  $411 \pm 10$  mV alla fine dello step 3 (Tabella 6.5) in cui il carico organico presentava un valore di  $9,6 \text{ gCODd}^{-1}$  (e una concentrazione di substrato all'interno della seconda camera anaerobica di  $420 \text{ gCODl}^{-1}$ ).

In seguito il carico organico è stato portato ad un valore di  $16 \text{ gCODd}^{-1}$  ( $815 \text{ gCODl}^{-1}$  nel secondo comparto anaerobico), ma tale incremento non ha avuto influenza sul potenziale di cella, che è rimasto pressoché costante. La corrente e la potenza generate mostrano un andamento simile a quello seguito dal potenziale, raggiungendo rispettivamente un limite di  $163 \pm 5 \text{ mA m}^{-2}$  e  $65,1 \pm 3,5 \text{ mW m}^{-2}$  di superficie geometrica di elettrodo ( $160 \text{ cm}^2$ ), ad una concentrazione di substrato più alta di  $420 \text{ mgCODl}^{-1}$ , cioè ad una concentrazione non limitante per la generazione di potenza (Figura 6.16 a e b). Tale concentrazione è stata quindi mantenuta negli step successivi.

A seguito della rimozione della sostanza organica dal medium per un periodo complessivo di circa 2 settimane (step 5), è stato possibile osservare al termine del periodo un valore molto ridotto della potenza generata ( $1,2 \pm 0,3 \text{ mW m}^{-2}$ ), che ha permesso di concludere che la corrente elettrica prodotta è esclusivamente legata all'ossidazione catalitica del substrato organico.

Quindi nello step 6 la sostanza organica è stata nuovamente introdotta nel medium ad una concentrazione di  $3 \text{ gl}^{-1}$  (corrispondente ad un carico

organico di 9,5 gCODd<sup>-1</sup>) e in 2 settimane è stato ottenuto un incremento della potenza elettrica misurata, che ha raggiunto il valore massimo di 75 mWm<sup>-2</sup>.

*Tabella 6.5 Produzione di potenza specifica, produzione di corrente specifica e potenziali di cella misurati durante le prime tre fasi della sperimentazione (± Standard Deviation).*

Fase	Step	Potenza specifica [mWm <sup>-2</sup> ]	Corrente specifica [mA m <sup>-2</sup> ]	Tensione anodica [mV]	Tensione catodica [mV]	Tensione di cella [mV]
I	1	-	-	-	-	-
	2	60,6 ± 1	159 ± 1	-149 ± 2	233 ± 2	382 ± 3
	3	67,3 ± 1	164 ± 2	-176 ± 5	234 ± 5	411 ± 10
	4	65 ± 3,5	163 ± 5	-187 ± 12	213 ± 22	412 ± 5
II	5	1,2 ± 0,3	22 ± 3	+237 ± 28	292 ± 11	53 ± 7
III	6	72,7 ± 1,6	174 ± 2	-200 ± 4	217 ± 8	418 ± 4
	7	73,4 ± 0,9	175 ± 1	-182 ± 5	238 ± 7	421 ± 3

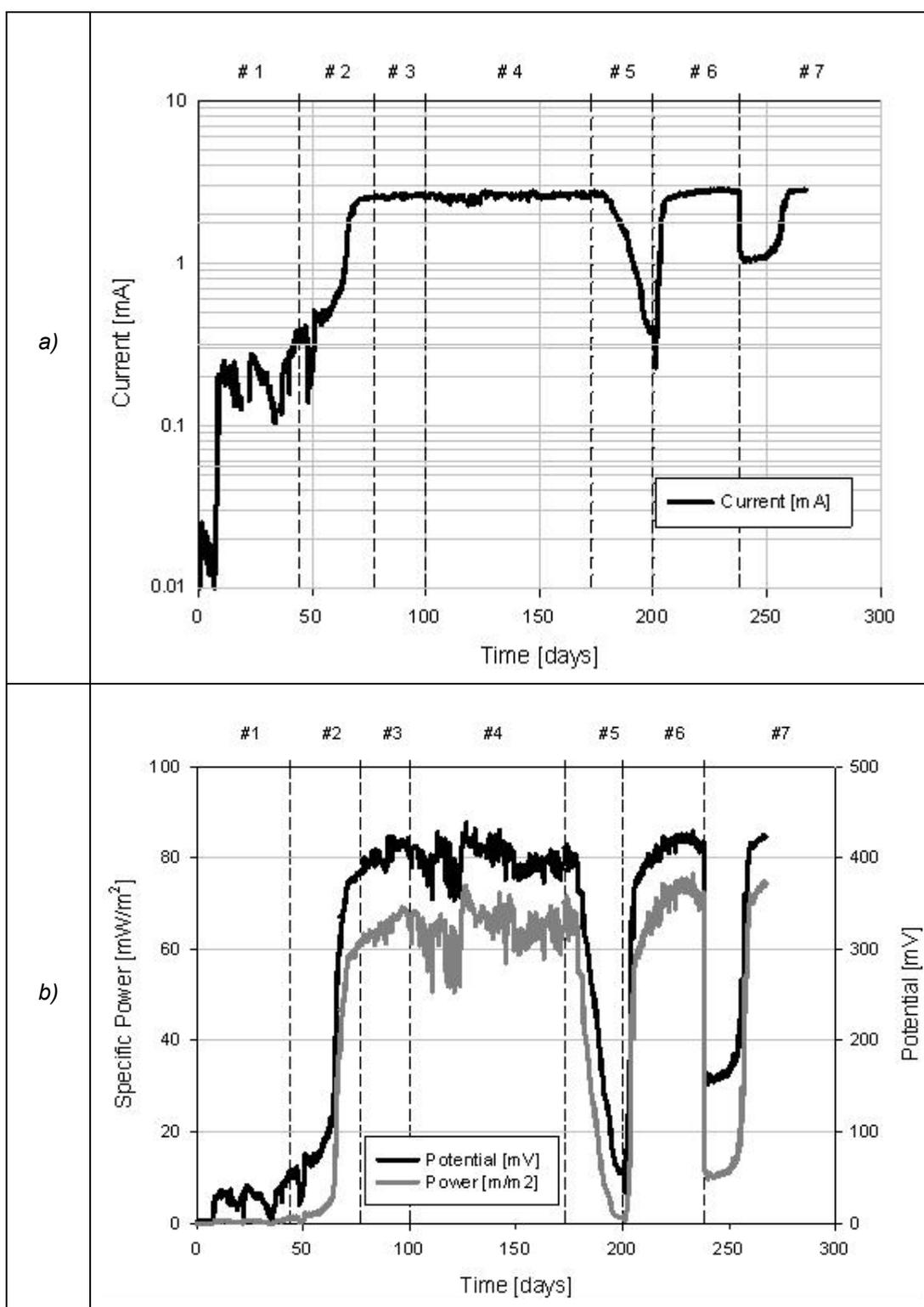


Figura 6.16 a) andamento della corrente specifica e b) andamento della potenza specifica e potenziale di cella, misurati durante le prime tre fasi della sperimentazione.

## 6.2 Risultati delle misure volte a stabilire le prestazioni elettriche

Seguendo la suddivisione riportata nel paragrafo precedente, si sono analizzate l'efficienze elettriche della MFC nelle varie fasi di lavoro.

### 6.2.1 Acclimatazione e fasi di incremento di carico (Fase I, step 1-2-3-4)

I valori misurati di tensione e corrente sono stati acquisiti durante l'intero periodo di sperimentazione, e presentano l'andamento riportato in Figura 6.17.

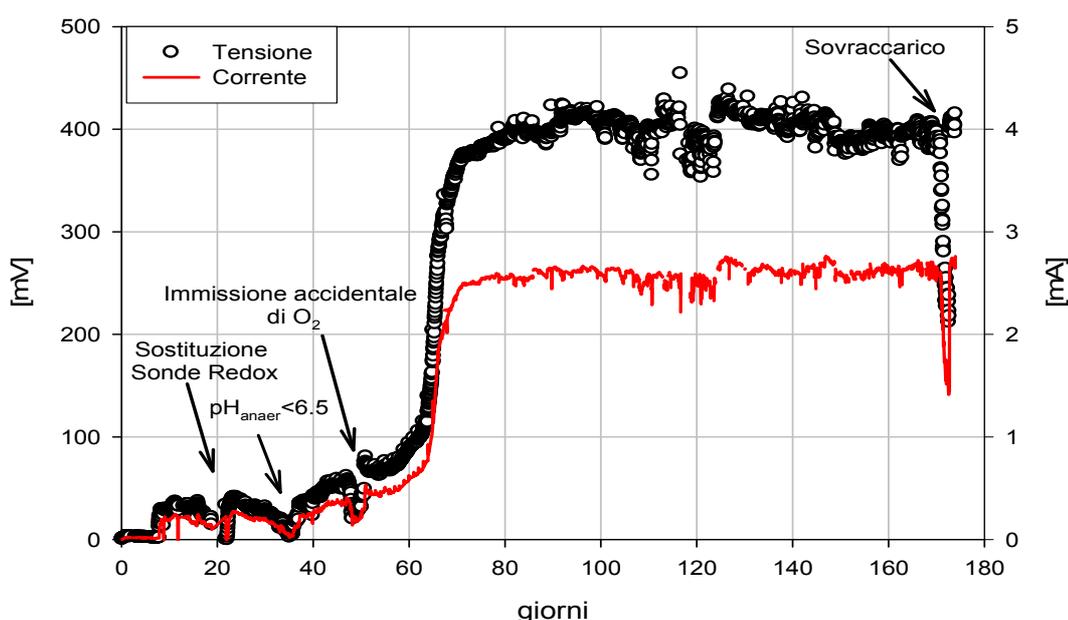


Figura 6.17 Andamento di tensione e corrente prodotti dall'impianto

La fase di avviamento dell'impianto si è conclusa approssimativamente trascorsi 60 giorni dall'inoculo dei due compartimenti, ed è stata caratterizzata da alcuni problemi:

- ✚ Dopo 20 giorni di funzionamento, è stato necessario procedere alla sostituzione di entrambe le sonde redox, immerse nel comparto anaerobico e in quello aerobico. In tale occasione l'impianto è stato svuotato quasi completamente, e quindi l'attività di studio è stata interrotta;
- ✚ Trascorsi altri 15 giorni circa, si è verificata una situazione di acidità nel comparto anaerobico della MFC, che ha creato condizioni ambientali critiche per la biomassa anaerobica;
- ✚ A 50 giorni dall'inoculo della MFC, si è verificata un'immissione accidentale di ossigeno nel comparto anaerobico, che ha determinato una temporanea situazione di shock per la biomassa;
- ✚ A circa 170 giorni si è verificato un calo delle prestazioni elettriche, probabilmente legato all'acidità del comparto anaerobico, causata da un sovraccarico. Si è poi avuta una rapida ripresa a seguito della diminuzione del carico in ingresso riducendo la portata.

Al termine della fase di avviamento, l'adattamento della biomassa alle condizioni cui è stata sottoposta ha determinato un forte incremento della tensione di MFC, che è passata da 50 mV (per una concentrazione di 1,5 - 2g<sup>l</sup><sup>-1</sup>) a 400 mV (per una concentrazione di 3 g<sup>l</sup><sup>-1</sup>) valore che si è mantenuto pressoché costante a seguito dell'ulteriore incremento di concentrazione a 5 g<sup>l</sup><sup>-1</sup>. Tali valori risultano essere confrontabili con quelli ottenuti da diversi gruppi di ricerca, lavorando con MFC aventi catodo abiotico. L'andamento dell'intensità di corrente è del tutto analogo a quello della tensione. Si nota un forte incremento, e poi una stabilizzazione, in condizioni stazionarie, su valori di circa 2,5 mA, sia in corrispondenza di una concentrazione di glucosio in ingresso pari sia a 3 che a 5 g<sup>l</sup><sup>-1</sup>. Tale comportamento implica che la capacità di produzione di elettricità non è funzione del solo carico organico in ingresso ma un fattore determinante è la superficie degli elettrodi.

L'andamento della potenza specifica prodotta dalla MFC è mostrato nella Figura 6.18.

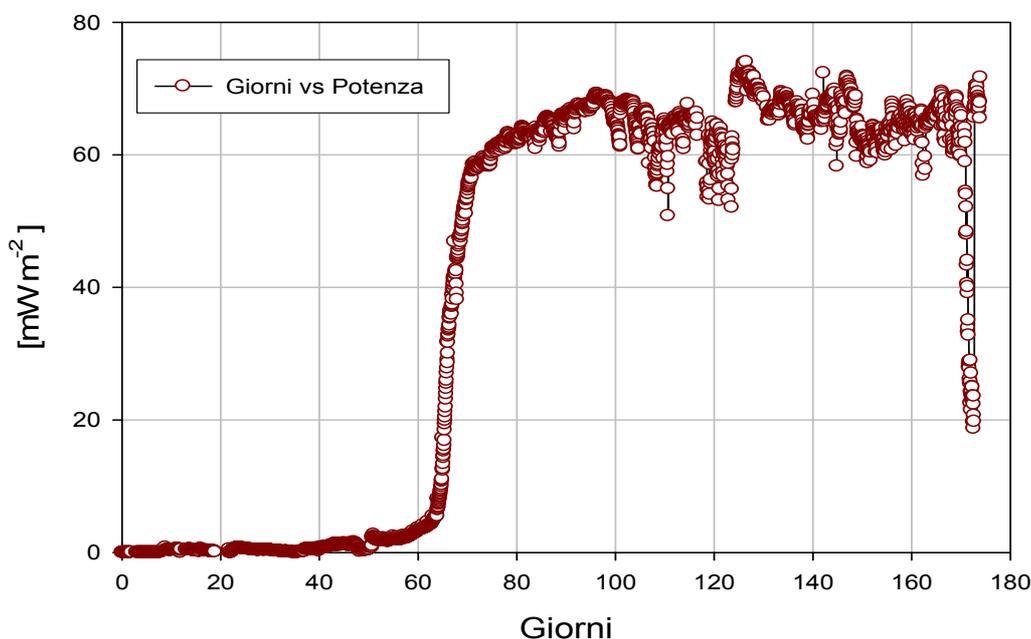


Figura 6.18 Andamento della potenza specifica prodotta dall'impianto

Come per la tensione e la corrente, anche per la potenza specifica si osserva, a partire da 60 giorni dall'avviamento, un significativo aumento della potenza prodotta dovuto allo sviluppo, all'adattamento e al completamento del processo di selezione della biomassa elettrofila. A seguito di questo incremento, si è assistito ad una lenta stabilizzazione intorno a valori del  $75 \text{ mW m}^{-2}$ , sia per  $3 \text{ gl}^{-1}$  che  $5 \text{ gl}^{-1}$ .

Nella Figura 6.19 è riportato l'andamento del carico organico convertito in corrente. Tale valutazione è stata condotta considerando che l'area sottesa dalla curva dell'intensità di corrente misurata nell'arco di una giornata è direttamente proporzionale alla quantità di sostanza organica, espressa in termini di COD, convertita in elettricità (cfr paragrafo 5.3.2).

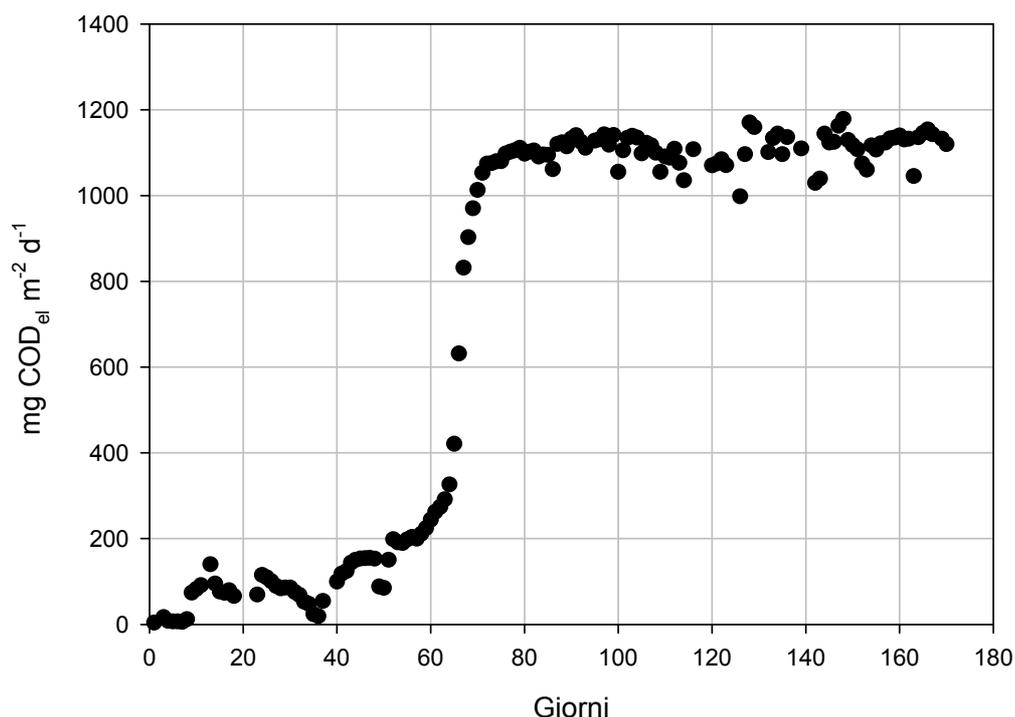


Figura 6.19 Andamento del carico organico convertito in corrente

Durante la fase di avviamento dell'impianto (entro 60 giorni di funzionamento), la conversione di sostanza organica (indicata come valore di COD elettrificato), si è attestata su valori decisamente bassi. Le cause di questa situazione sono riconducibili alle difficoltà riscontrate dalla biomassa nell'adattamento alle condizioni ambientali interne alla MFC, e nella selezione dei ceppi batterici elettrofilici. La realizzazione di tali condizioni ha consentito un notevole aumento della conversione della sostanza organica in elettricità, che ha raggiunto valori di circa 1200 mgCOD<sub>ei</sub>m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>, dopo circa 75 giorni di funzionamento dell'impianto, valori stabili sia per una concentrazione in ingresso di 3 che 5 g l<sup>-1</sup>.

Va osservato che il carico specifico di COD massimo, convertito in elettricità (1200 mgCOD<sub>ei</sub>m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>), rappresenta tra l'altro l'estremo inferiore dell'intervallo di carico organico specifico con cui vengono dimensionati i sistemi di trattamento anaerobici tradizionali a colture adese (Upflow

Packed Bed Attached Growth Reactor), infatti secondo Metcalf & Eddy (2003) tale intervallo è compreso tra 1 e 60 gCOD m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>.

In Figura 6.20 sono riportati gli andamenti dei potenziali di semicella dei due elettrodi, misurati rispetto ad un terzo elettrodo di riferimento al calomelano, sistemato nel comparto aerobico.

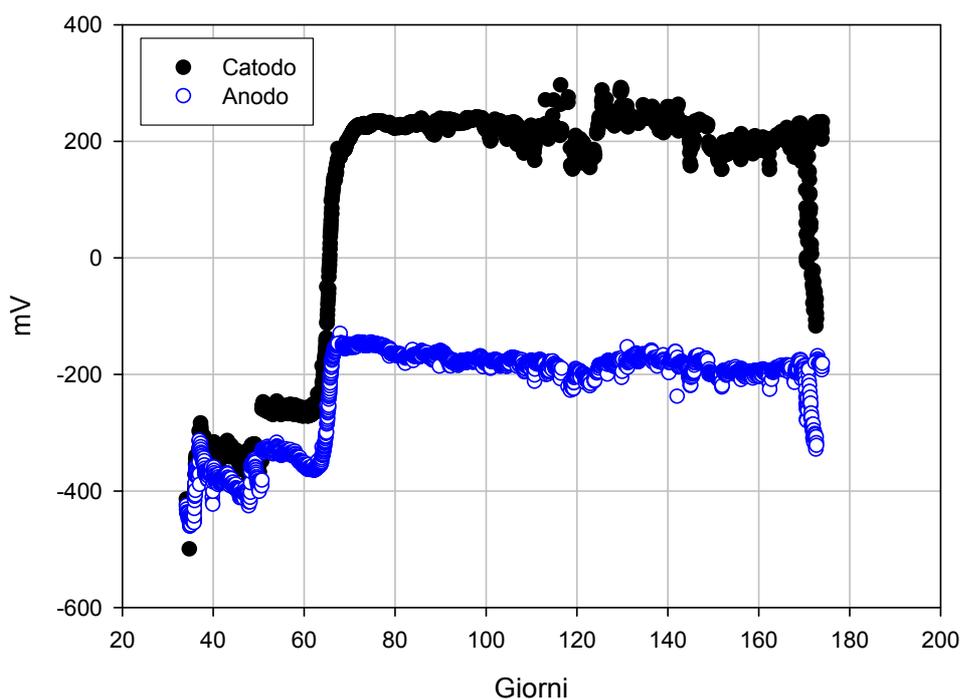


Figura 6.20 Andamento dei potenziali di semicella nel corso della sperimentazione.

La quantità di tensione prodotta è esprimibile in base alla differenza di potenziale instauratasi tra i due elettrodi, ed è individuabile sul grafico precedente come la differenza tra i due diagrammi. Durante la fase di avviamento della MFC, la differenza di potenziale tra gli elettrodi è rimasta entro valori minimi, poiché il potenziale del catodo presentava valori negativi. In corrispondenza del 50° giorno il catodo è stato estratto dal comparto aerobico ed è stato pulito gentilmente con acqua. Probabilmente tale operazione ha comportato la rimozione di biomassa aerobica non elettrofila adesa all'elettrodo, che impediva da un lato all'ossigeno di

giungere al catodo e dall'altro la selezione di biomassa elettrofila. A seguito di tale operazione, il potenziale catodico si è portato su un valore meno negativo (da  $-332$  a  $-259$  mV) tendendo, successivamente, a valori positivi. Dopo circa 70 giorni di funzionamento, la differenza di potenziale si è stabilizzata, indicando in tal modo anche una stabilizzazione della produzione di corrente da parte della MFC. In corrispondenza delle condizioni di acidità della MFC, intorno al 170° giorno, si è assistito ad un decremento dei potenziali e della differenza di potenziale.

### 6.2.2 Alimentazione in assenza di carico organico (Fase II, step 5)

In assenza di carico organico, alimentando la MFC con una soluzione di acqua, sali e tampone, i valori misurati di tensione e corrente presentano l'andamento riportato in Figura 6.21.

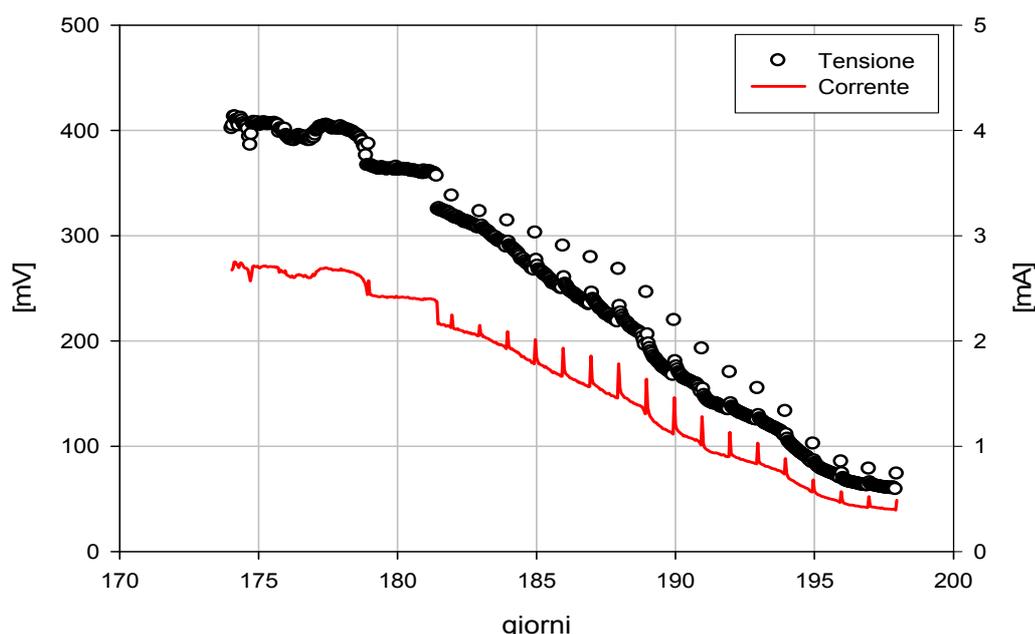


Figura 6.21 Andamento di tensione e corrente prodotti dall'impianto.

Com'era prevedibile, è possibile notare un decremento delle efficienze elettriche sia in termini di tensione che di corrente, che tendono rapidamente a valori nulli. Tale comportamento riveste particolare

interesse in quanto dimostra che in assenza di sostanza organica nel refluo in alimentazione alla MFC si realizza un annullamento delle grandezze elettriche, confermando che la corrente è prodotta dalla biomassa.

L'andamento della potenza specifica prodotta dalla MFC è mostrato nella Figura 6.22.

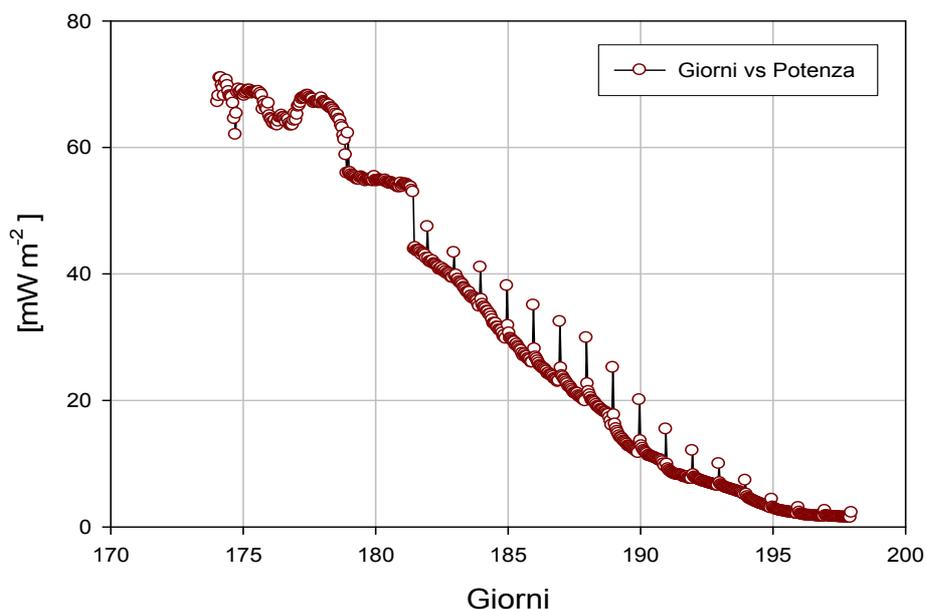


Figura 6.22 Andamento della potenza specifica prodotta dall'impianto.

Come per la tensione e la corrente, anche per la potenza specifica si osserva un repentino decremento prodotta, dovuto all'assenza di carico, e quindi all'inibizione della reazione di ossidazione nel comparto anaerobico. Ciò mette appunto in evidenza che il substrato ossidato, che produce elevate efficienze elettriche, è il glucosio.

Nella Figura 6.23 è riportato l'andamento del carico organico convertito in corrente. (cfr. paragrafo 5.3.2).

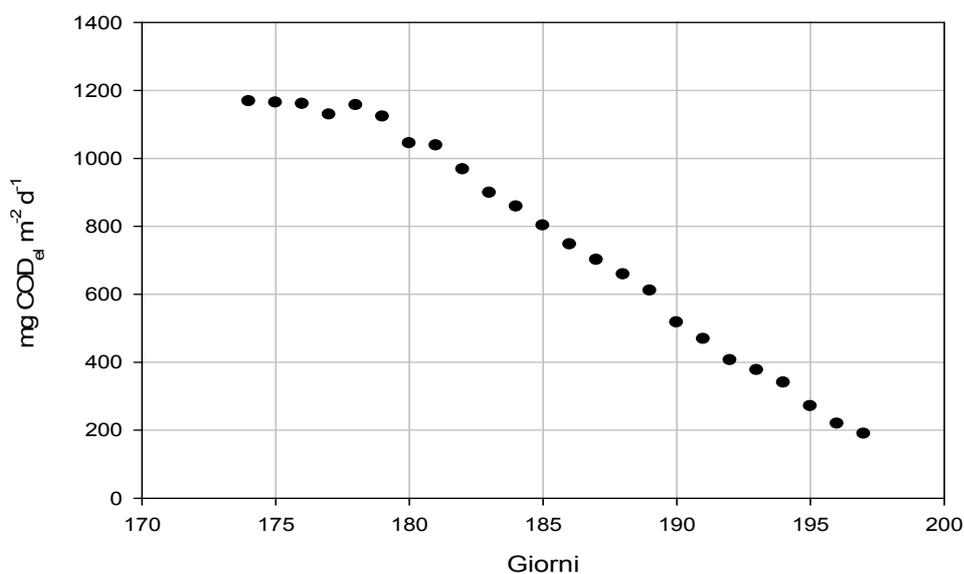


Figura 6.23 Andamento del carico organico convertito in corrente.

Ancora una volta è possibile mettere in evidenza che in assenza di glucosio la produzione di corrente elettrica diminuisce. Si osserva difatti una riduzione della conversione della sostanza organica in elettricità, che ha raggiunto valori di  $200 \text{ mgCOD}_{ei} \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ , stabilizzandosi dopo circa 20 giorni di assenza di carico.

In Figura 6.24 sono riportati gli andamenti dei potenziali di semicella dei due elettrodi, misurati rispetto ad un terzo elettrodo di riferimento al calomelano, sistemato nel comparto aerobico.

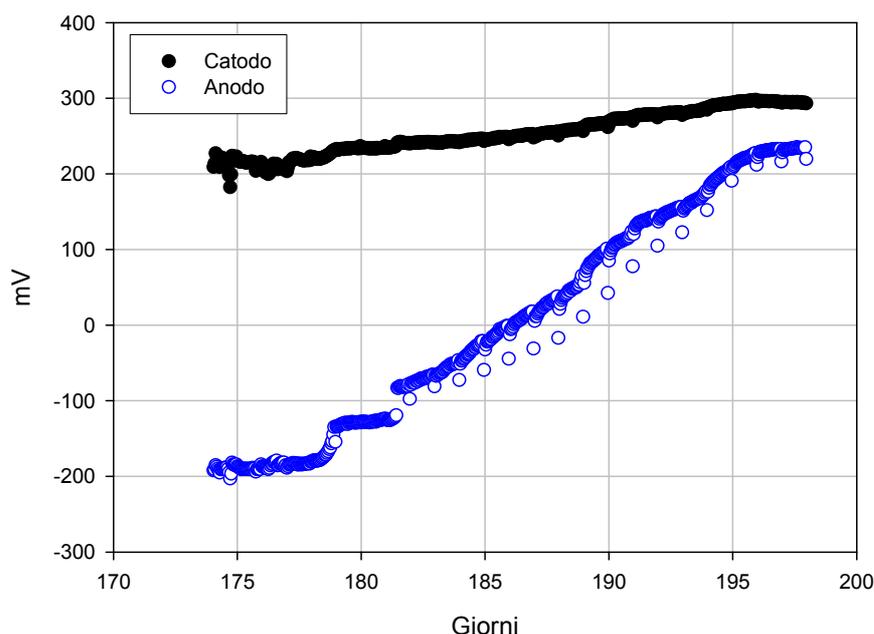


Figura 6.24 Andamento dei potenziali di semicella nel corso della sperimentazione.

Diversamente dalla fase di avviamento in tale step, la differenza di potenziale tra gli elettrodi inizialmente era alta ma poi si è ridotta notevolmente stabilizzandosi dopo circa 20 giorni. In particolare notiamo che il potenziale anodico è aumentato tendendo allo stesso valore assunto dal potenziale catodico in un tempo stimabile in circa 20 giorni.

### 6.2.3 Rialimentazione dell'impianto (Fase III, step 6)

Nel periodo successivo, è stata ripresa l'alimentazione dell'impianto con una concentrazione di glucosio in ingresso pari a  $3 \text{ gl}^{-1}$ , fino all'instaurarsi di prestazioni elettriche uniformi nel tempo.

I valori misurati di tensione e corrente presentano l'andamento riportato in Figura 6.25.

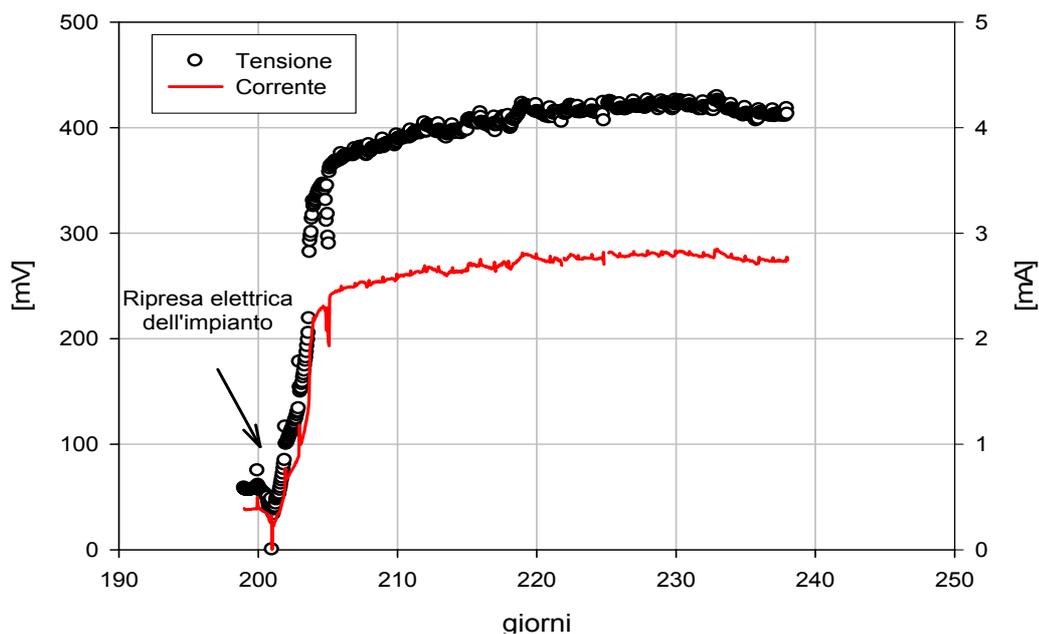


Figura 6.25 Andamento di tensione e corrente prodotti dall'impianto.

Dopo un breve lasso di tempo, di soli 5 giorni, in seguito all'adattamento dei microrganismi alle nuove condizioni operative, si assiste ad una veloce ripresa dell'impianto dal punto di vista elettrico. I valori della tensione aumentano e si stabilizzano intorno a 420 mV, anche l'intensità di corrente aumenta celermente fino ad arrivare a valori massimi e costanti di 2,8 mA, per tutto il periodo di tale fase.

L'andamento della potenza specifica prodotta dalla MFC è mostrato nella Figura 6.26.

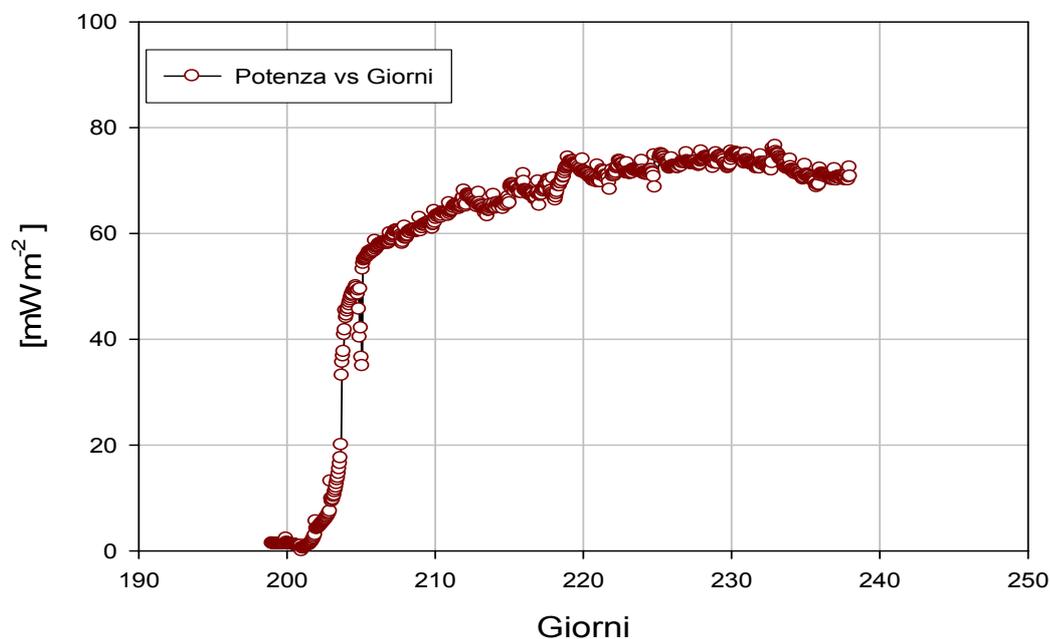


Figura 6.26 Andamento della potenza specifica prodotta dall'impianto.

Come per la tensione e la corrente, anche per la potenza specifica si osserva un rapidissimo incremento, dopo un iniziale periodo di assestamento.

Si ritiene opportuno evidenziare che: (i) la ripresa, in termini elettrici, dell'impianto è stata molto veloce in quanto all'interno del comparto anaerobico vi è già selezionata una biomassa elettrofila; (ii) le prestazioni elettriche, ottenute con una concentrazione pari a  $3 \text{ gl}^{-1}$ , durante tale periodo, sono maggiori di quelle misurate durante lo step 1, sia nelle stesse condizioni operative che con una concentrazione di glucosio maggiore e pari a  $5 \text{ gl}^{-1}$ .

Si nota che l'andamento della densità di potenza ha un andamento crescente fino a valori della concentrazione di COD nel comparto anaerobico pari a  $0,25 \text{ gCOD l}^{-1}$  (corrispondenti ad una concentrazione di

glucosio nell'influente stimata pari a  $4 \text{ gl}^{-1}$ ). per poi decrescere leggermente per valori maggiori (Figura 6.27). Dunque le prestazioni elettriche non hanno un andamento lineare con il carico organico.

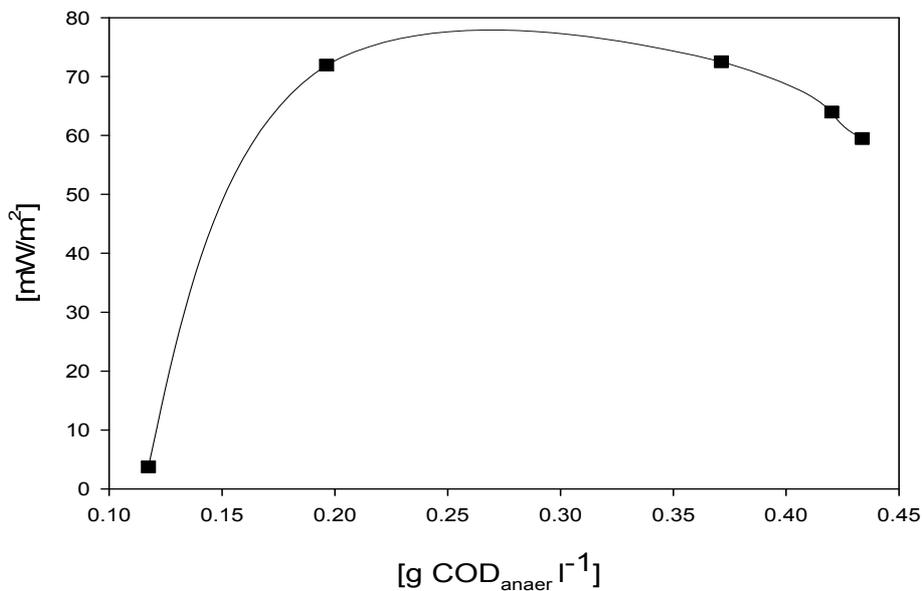


Figura 6.27 Conversione del substrato presente nel comparto anaerobico in potenza.

Nella Figura 6.28 è riportato l'andamento del carico organico convertito in corrente. (cfr. paragrafo 5.3.2).

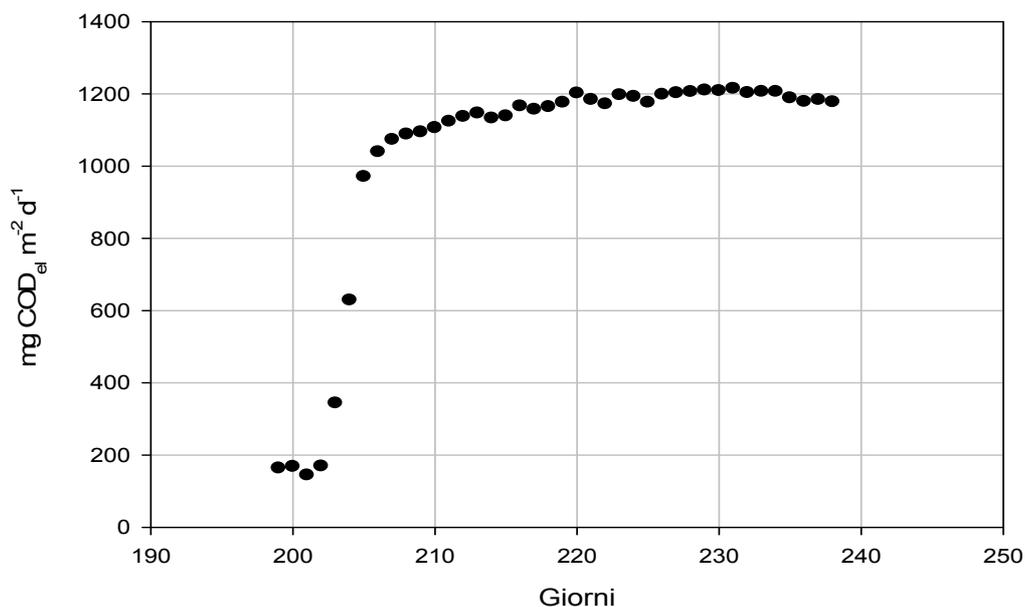


Figura 6.28 Andamento del carico organico convertito in corrente

La realizzazione di tali condizioni ha consentito un notevole aumento della conversione della sostanza organica in elettricità, che ha raggiunto valori stabili di circa  $1200 \text{ mgCOD}_{\text{el}}\text{m}^{-2}\text{d}^{-1}$ , dopo circa 7 giorni dalla rialimentazione dell'impianto.

In Figura 6.29 sono riportati gli andamenti dei potenziali di semicella dei due elettrodi, misurati rispetto ad un terzo elettrodo di riferimento al calomelano, sistemato nel comparto aerobico.

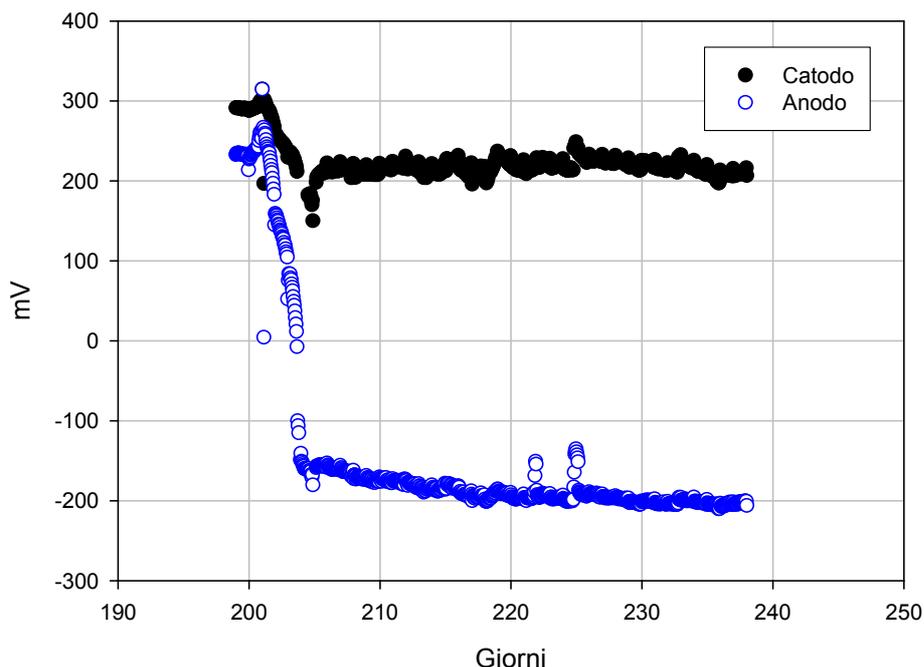


Figura 6.29 Andamento dei potenziali di semicella nel corso della sperimentazione.

E' possibile osservare che la differenza di potenziale tra gli elettrodi inizialmente era bassa ma poi è aumentata notevolmente stabilizzandosi in pochi giorni. In particolare si nota che è sempre il potenziale anodico a variare in modo brusco, in tal caso esso è diminuito ritornando ai valori di -200 mV favorendo nuovamente la reazione di ossidazione all'anodo.

#### 6.2.4 Colonizzazione di un catodo pulito (Fase III, step 7)

Nell'ultimo periodo, volendo determinare l'effettivo ruolo svolto dalla biomassa adesa al catodo, si è collegata la MFC ad un catodo pulito.

I valori misurati di tensione e corrente presentano l'andamento riportato in Figura 6.30.

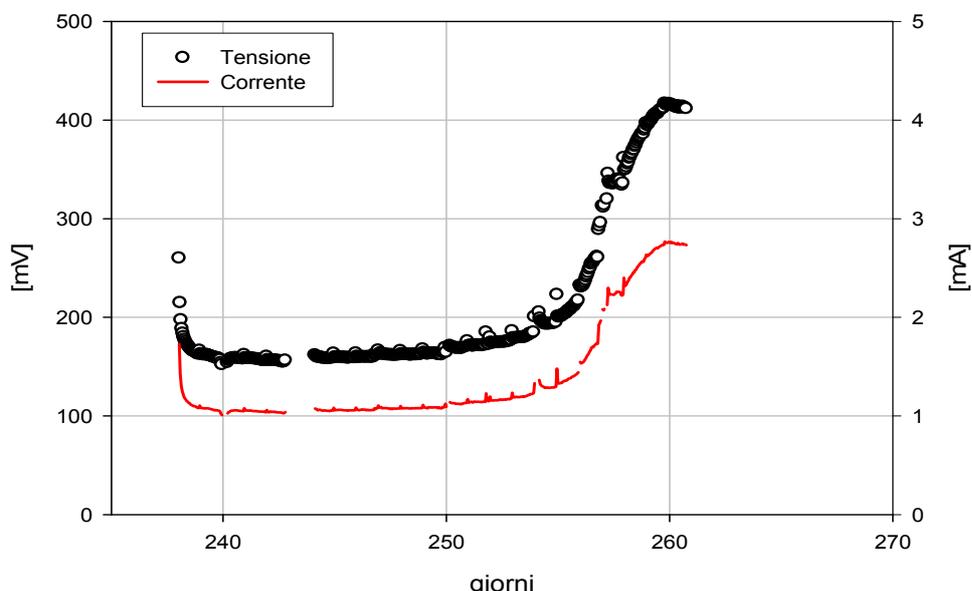


Figura 6.30 Andamento di tensione e corrente prodotti dall'impianto.

Si nota che in assenza di biofilm catodico i valori della tensione e della corrente, non si sono subito annullati ma ridotti del 50%. Tale andamento è attribuibile a diverse cause: (i) anodo ancora ben colonizzato; (ii) presenza nel comparto catodico della biomassa sospesa che, in termini di produzione di elettricità, può svolgere un ruolo analogo alla biomassa adesa al catodo; (iii) infine all'interno della camera aerobica avviene comunque la reazione chimica di riduzione dell'ossigeno.

Dopo un periodo di 15 giorni necessario allo svilupparsi del il biofilm, in un intervallo di tempo di soli 5 giorni, le prestazioni elettriche si sono riportate ai valori massimi misurati nelle stesse condizioni operative prima della perturbazione.

L'andamento della potenza specifica prodotta è mostrato di seguito:

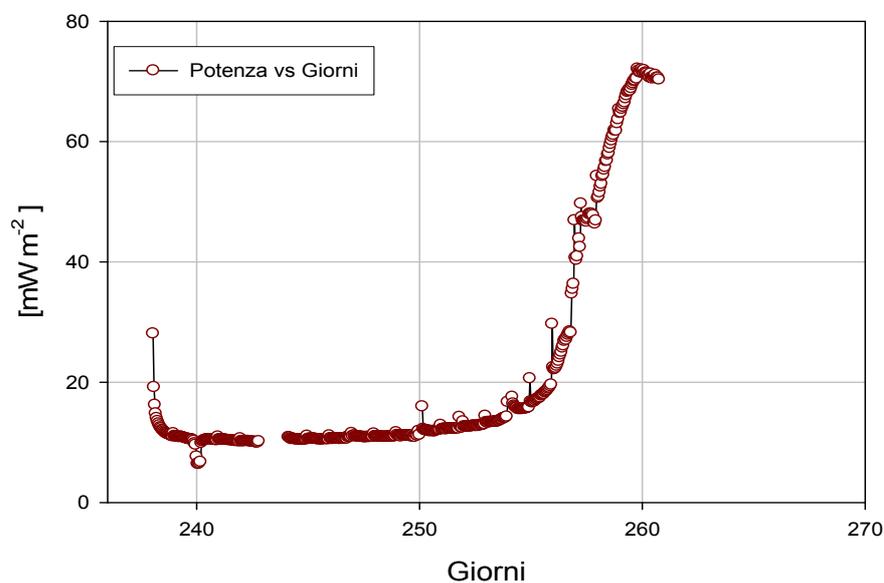


Figura 6.31 Andamento della potenza specifica prodotta dall'impianto.

La potenza specifica presenta un andamento analogo alla tensione e all'intensità di corrente.

Nella Figura 6.32 è riportato l'andamento del carico organico convertito in corrente. (cfr paragrafo 5.3.2).

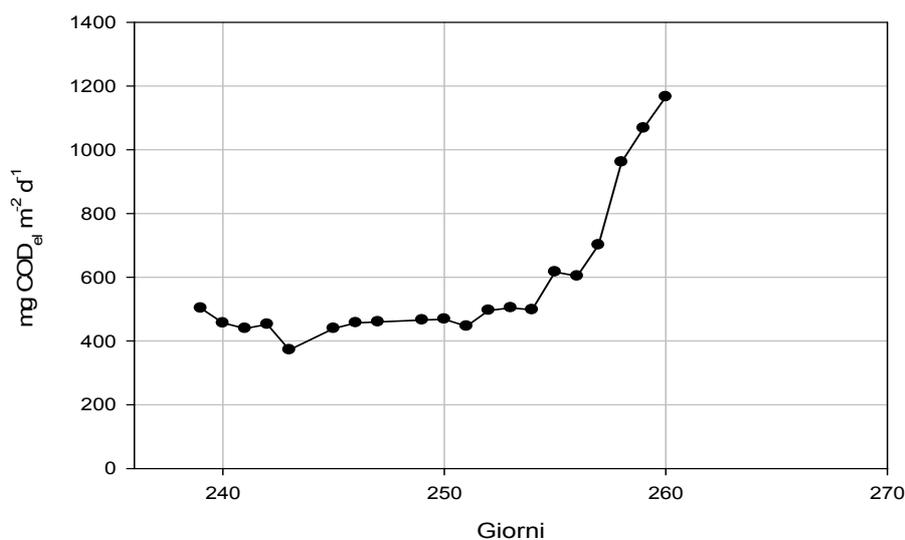


Figura 6.32 Andamento del carico organico convertito in corrente.

Si osserva che tali condizioni hanno determinato inizialmente una notevole diminuzione della conversione della sostanza organica in elettricità, che è poi gradualmente aumentata a seguito dello svilupparsi nuovamente della pellicola biologica adesa al catodo (biofilm).

In Figura 6.33 sono riportati gli andamenti dei potenziali di semicella dei due elettrodi, misurati rispetto ad un terzo elettrodo di riferimento al calomelano, sistemato nel comparto aerobico.

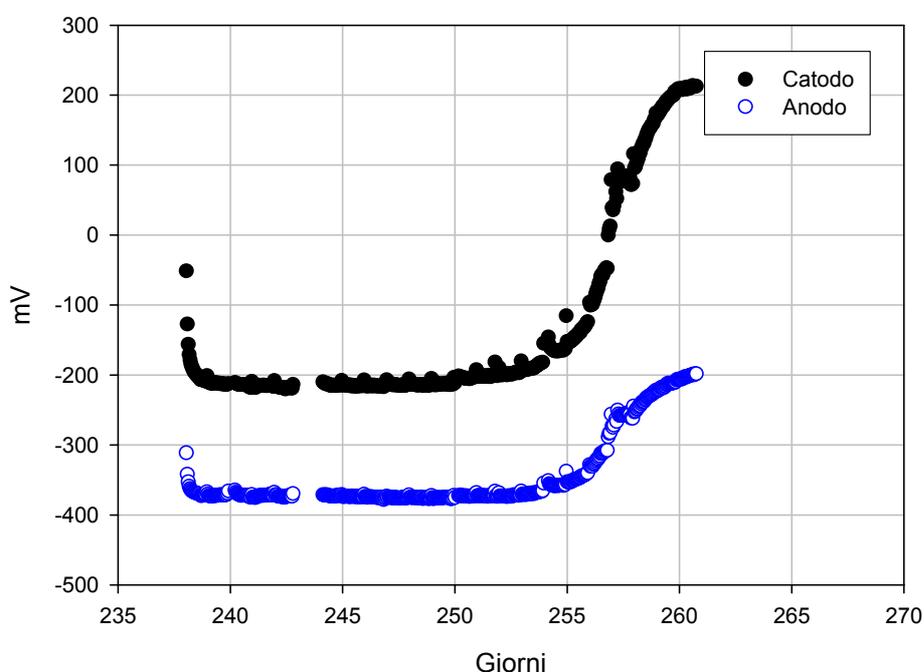


Figura 6.34 Andamento dei potenziali di semicella nel corso della sperimentazione.

I potenziali di semicella sono diminuiti in modo da ridurre, rispetto ai valori precedenti, anche la differenza di potenziale che si è mantenuta costante e pari a circa 180 mV, per poi ritornare, dopo 20 giorni circa ai valori presenti prima della perturbazione, nelle stesse condizioni operative.

E' possibile notare che il potenziale catodico si è ridotto notevolmente passando da valori positivi di 200 mV a valori negativi di -200 mV. Tale

effetto indica che la reazione di riduzione al catodo non è più catalizzata dall'azione dei microrganismi adesi all'elettrodo. Inoltre è possibile evidenziare una riduzione anche del potenziale anodico, ma minore rispetto al decremento catodico.

### **6.2.5 Fattori limitanti la produzione di potenza - Analisi di sostenibilità (Fase IV)**

Al fine di individuare gli effetti dei fattori limitanti la potenza prodotta nella MFC oggetto di studio, è stato necessario determinare l'andamento di resistenza e potenza sostenibile, calcolate seguendo la procedura empirica sviluppata da Menicucci et al. (2006) (cfr. par.5.3.1).

La resistenza sostenibile è stata determinata grazie al procedimento di variazione lineare delle resistenze esterne (denominato Scan o Sweep), descritto nel capitolo 5 (Figura 6.35).

In particolare, osservando l'andamento della corrente e della potenza prodotte in funzione della variazione di resistenza esterna applicata durante lo Sweep, si nota che la corrente prodotta nella MFC aumenta al ridursi della resistenza, mentre la potenza raggiunge un massimo per bassi valori di resistenza (Figura 6.35). Un modello di MFC recentemente pubblicato (Tsumotori et al., 2007) prova che questi trend sono tipici di MFC in cui i processi di diffusione sono limitanti per la produzione di potenza. Per la MFC oggetto di sperimentazione la potenza sostenibile è minore della metà della potenza massima, è possibile quindi concludere che il trasferimento di elettroni risulta probabilmente influenzato da fenomeni di diffusione.

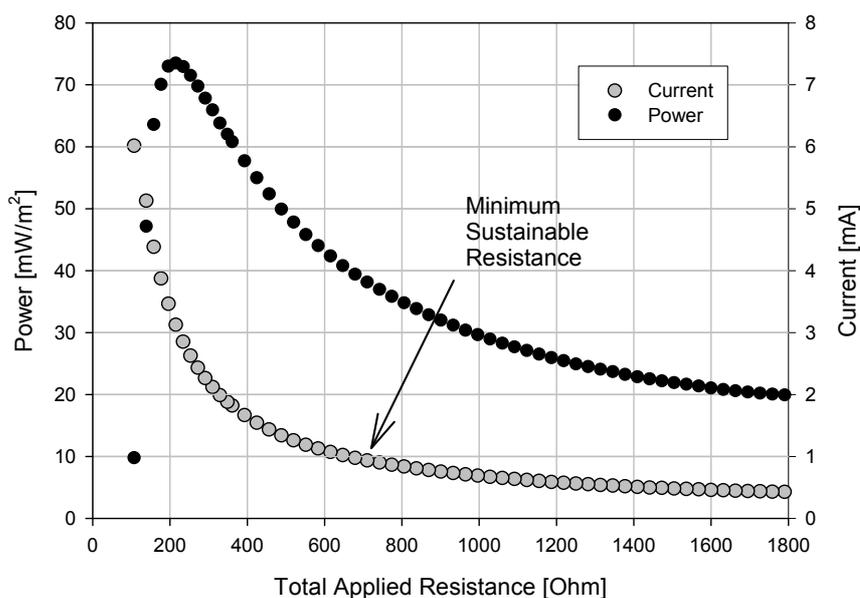


Figura 6.35. Elaborazione di uno Sweep per la determinazione della resistenza sostenibile. Nel grafico sono riportati gli andamenti di corrente e potenza, nonché l'indicazione del valore di minima resistenza sostenibile (resistenza esterna applicata 250 Ohm).

Nell'ambito della sperimentazione (Fase IV), la resistenza sostenibile (RS) è stata misurata (per un periodo di almeno 30 giorni), a 4 diverse resistenze esterne: 250, 430, 1100 e 2100 Ohm.

E' stato osservato che la potenza sostenibile aumentava a seguito di una diminuzione della resistenza totale, mentre la resistenza sostenibile diminuiva a seguito di una diminuzione della resistenza esterna totale (Figura 6.36). Poiché una diminuzione della resistenza esterna totale corrisponde ad un elevato flusso di elettroni all'interfaccia tra la biomassa e l'elettrodo, è lecito attendersi che tale condizione favorisca quelle specie batteriche caratterizzate da una migliore capacità di trasferimento degli elettroni. In particolare, la determinazione della resistenza sostenibile indica un legame tra la potenza prodotta nella MFC e l'efficienza del processo di trasferimento degli elettroni all'anodo. A bassi valori di resistenza sostenibile corrisponde un elevato flusso di elettroni

all'interfaccia elettrodo/biomassa adesa, che favorisce quelle specie batteriche caratterizzate da elevata capacità di trasferimento degli elettroni, portando ad una maggiore produzione di potenza elettrica. Al contrario, valori di resistenza sostenibile elevati (ridotto flusso di elettroni) risultano sfavorevoli alla biomassa elettro-attiva, incidendo negativamente sulle prestazioni elettriche della MFC.

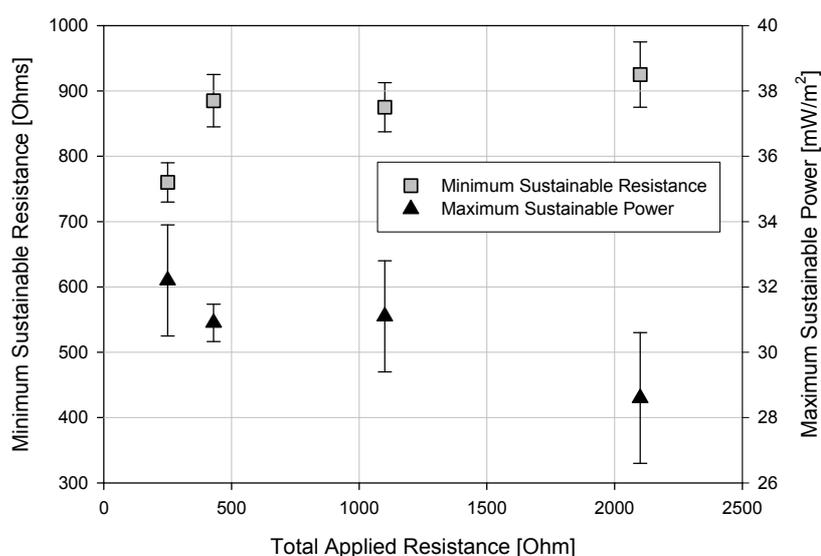


Figura 6.36 Resistenza sostenibile per differenti valori di resistenza esterna (tra 250 e 2100 Ohm), calcolata durante il periodo sperimentale.

Allo stato attuale delle conoscenze, questo andamento costituisce la prima prova di un effetto diretto dell'applicazione di differenti valori di resistenza esterna ad una MFC alimentata con acque reflue. In particolare, come meglio specificato nel paragrafo seguente, la determinazione della potenza sostenibile indica un legame tra la potenza prodotta nella MFC e l'efficienza del processo di trasferimento degli elettroni all'anodo.

### ***Elettrodo limitante***

Accanto a quanto riportato (e analogamente alle metodologie adottate per la misura dei potenziali di corrosione), è possibile definire, in base all'analisi degli andamenti del potenziale anodico e catodico misurati durante uno Sweep, quale dei due elettrodi è definito "limitante" per la produzione di potenza elettrica (Menicucci et al., 2006, Fuel cells handbook, 2004).

Si può notare come l'andamento del potenziale catodico presenta un lieve decremento (20% circa) in corrispondenza delle variazioni del valore della resistenza esterna, mentre il potenziale anodico presenta un decremento superiore al 70% circa, come illustrato nella Figura 6.37. Da tali andamenti è pertanto possibile concludere che, in seguito allo sviluppo della biomassa catodica, la potenza prodotta è limitata dall'anodo, che pertanto si definisce l'elettrodo limitante.

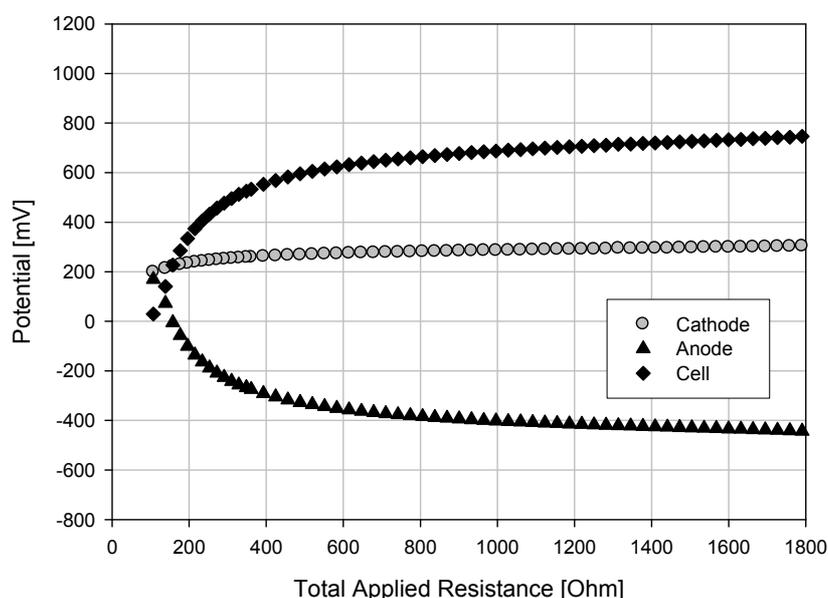


Figura 6.37. Andamento dei potenziali di cella e semi-cella. Si nota in particolare l'andamento fortemente decrescente del potenziale anodico, che rappresenta l'elettrodo limitante la potenza prodotta dalla MFC.

A conferma di quanto riportato sopra, si è provveduto, con cadenza quotidiana, alla valutazione della polarizzazione (spesso indicata anche con il termine di “overpotential”) di ciascun elettrodo, ottenuta come differenza tra il potenziale di semicella a circuito aperto ed il potenziale di semicella corrispondente alle condizioni di sostenibilità. Si può intuire quindi come la polarizzazione rappresenti lo scostamento, in condizioni di equilibrio, del potenziale del singolo elettrodo rispetto a quello ottimale.

In Figura 6.38 è riportato l’andamento della polarizzazione catodica ed anodica misurate durante la sperimentazione.

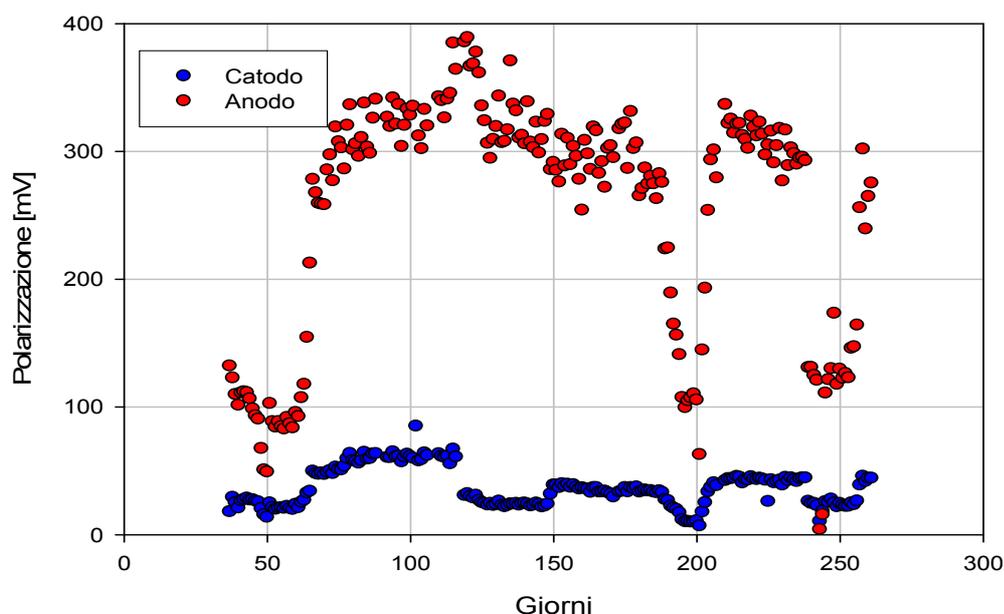


Figura 6.38: Andamento della polarizzazione anodica e catodica nel corso della sperimentazione.

Dal diagramma riportato, viene confermato che in pieno regime, l’elettrodo limitante è l’anodo, infatti in condizioni di sostenibilità presenta una polarizzazione decisamente superiore a quella del catodo.

In assenza di carico organico (Fase II) la differenza tra la polarizzazione anodica e catodica diminuisce, pur presentando ancora l'anodo come elettrodo limitante, mentre in corrispondenza dell'utilizzo di un catodo pulito (Fase III), quindi privo di biomassa catodica adesa, si osserva un'inversione delle polarizzazioni, mostrando come in queste condizioni il catodo diviene l'elettrodo limitante.

### 6.2.6 Stima della resistenza interna alla Microbial Fuel Cell

Una stima della resistenza interna  $R_i$  è stata fatta durante il periodo di funzionamento a pieno regime dell'impianto, noto che sia il potenziale a circuito aperto  $V_{oc}$  e applicando i valori di resistenza dello Sweep.

Quando il potenziale misurato durante lo Sweep è pari a  $V_{oc}/2$ , essendo la corrente che circola nel circuito sempre la stessa, le due resistenze risultano essere uguali.

$$R_i = R_e$$

Tale valore, applicando una resistenza esterna di 150 Ohm, risulta essere pari a circa 100 Ohm.

### 6.2.7 Bilancio energetico

Sulla base dei risultati discussi nei capitoli precedenti, è stato elaborato un bilancio energetico relativo all'impianto oggetto di studio, con l'obiettivo di stabilire quale fosse la quota parte di energia recuperabile rispetto a quella consumata per l'aerazione (che rappresenta la voce di maggior consumo per un impianto di depurazione biologico con una sezione di aerazione) e le relative condizioni operative.

Con la finalità di massimizzare la superficie degli elettrodi nei due comparti, è stata ipotizzata la sistemazione di più fogli di grafite (con

superficie 0,2 m x 0,3 m, essendo il comparto anodico profondo 45 cm e largo 20 cm) disposti ortogonalmente al flusso idrico e parallelamente tra loro, ad una distanza reciproca di 1,6 mm. Essendo inoltre lo spessore di ogni foglio di grafite pari a 1 mm, ed essendo la seconda camera dell'ABR lunga circa 20 cm si ricava che è possibile disporre un numero p di fogli pari a:

$$p = \frac{200 \text{ mm}}{(1.6 \text{ mm} + 1 \text{ mm})} = 75$$

cui corrisponde una superficie totale utile S:

$$S = 75 \cdot (0,20 \cdot 0,30) = 4,5 \text{ m}^2 / \text{comparto}$$

Ottenendo quindi una superficie specifica di  $2,5 \text{ cm}^{-1}$ , infatti:

$$\frac{\text{superficie anodo}}{\text{volume II camera anaerobica}} = \frac{4,5 \text{ m}^2}{18 \text{ l}} = \frac{45000 \text{ cm}^2}{18000 \text{ cm}^3} = 2,5 \text{ cm}^{-1}$$

Tale valore è del tutto plausibile anche alla luce del fatto che recentemente Ringeisen B., R. et al. (2006), utilizzando una Mini-MFC con colture pure, hanno misurato valori di tale rapporto compresi tra  $30$  e  $510 \text{ cm}^{-1}$ , al variare della superficie degli elettrodi (ottenendo rispettivamente una densità di potenza di  $10$  e  $24 \text{ mW m}^{-2}$  e densità di corrente di  $20$  e  $44 \text{ mA m}^{-2}$ ).

Considerando una superficie specifica di  $2,5 \text{ cm}^{-1}$ , il bilancio sarà pertanto condotto a vantaggio di sicurezza.

In riferimento alla II camera della sezione anaerobica con una superficie utile di  $4,5 \text{ m}^2$ , e considerando una densità di potenza media prodotta in condizioni stazionarie pari a  $75 \text{ mW m}^{-2}$ , con una concentrazione di

glucosio in ingresso pari a  $3 \text{ g l}^{-1}$ , si ricava che è possibile ottenere una produzione di potenza  $P$  pari a:

$$P = 4,5 \text{ m}^2 \cdot 75 \frac{\text{mW}}{\text{m}^2} = 337,5 \text{ mW}$$

Essendo la potenza richiesta dal sistema di aerazione nel comparto aerobico pari a  $1,6 \text{ W}$ , pertanto nelle condizioni suddette è possibile recuperare il 21 % della potenza elettrica consumata.

Considerando che in condizioni stazionarie ed in corrispondenza di una densità di potenza pari a  $75 \text{ mW m}^{-2}$ , si ha una conversione di COD in elettricità pari a  $1,2 \text{ g COD m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ , allora è possibile ricavare il carico organico che è necessario alimentare all'impianto al fine di ottenere una potenza prodotta pari a  $337,5 \text{ mW}$ .

In particolare il COD convertito in intensità di corrente risulta:

$$\text{Carico convertito in energia} = 1,2 \frac{\text{g COD}}{\text{m}^2 \cdot \text{d}} \cdot 4,5 \text{ m}^2 = 5,4 \frac{\text{g COD}}{\text{d}}$$

Inoltre considerando che Jang et al. (2004), lavorando su una MFC con entrambi i comparti biotici (e quindi assimilabile a quella oggetto di studio) hanno ottenuto delle rese pari al 10%, allora la quantità di sostanza organica convertibile in energia è

$$\text{Carico da alimentare} = \frac{5,4 \frac{\text{g COD}}{\text{d}}}{0,10} = 54 \frac{\text{g COD}}{\text{d}}$$

Inoltre è lecito ritenere che il substrato organico non convertito in elettricità, sia trasformato in biogas (come nella MFC oggetto di studio), e per differenza, risulta pari a:

$$\text{Carico non convertito in energia} = 54 \frac{\text{g COD}}{\text{d}} - 5,4 \frac{\text{g COD}}{\text{d}} = 48,6 \frac{\text{g COD}}{\text{d}}$$

Considerando un rendimento di rimozione del COD pari al 90% e che il fattore di conversione metano/COD degradabile è pari a  $0,35 \text{ l CH}_4 \text{ gCOD}^{-1}$ , allora risulta che la produzione di metano è pari a:

$$\text{Produzione di metano} = 0,90 \cdot 48,6 \frac{\text{g COD}}{\text{d}} \cdot 0,35 \frac{\text{l CH}_4}{\text{g COD}} = 15,3 \frac{\text{l CH}_4}{\text{d}}$$

In definitiva, alimentando l'impianto oggetto di studio con un carico di circa  $54 \text{ g COD d}^{-1}$  è possibile recuperare circa il 21% dell'energia necessaria al sistema di aerazione e produrre  $15,3 \text{ l CH}_4 \text{ d}^{-1}$ .

### **6.3 Caratterizzazione della biomassa presente nella MFC**

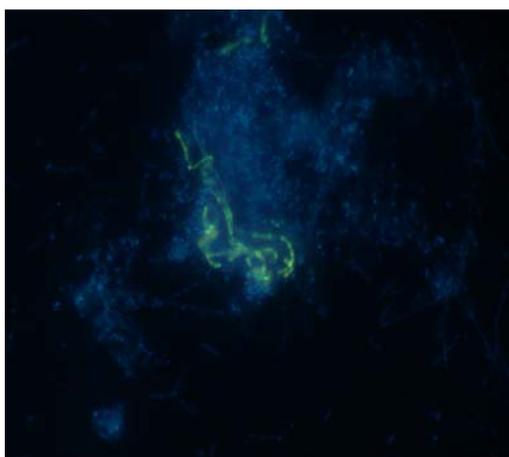
Uno degli obiettivi del lavoro di Tesi di Dottorato ha riguardato la caratterizzazione delle popolazioni batteriche e del ruolo che esse svolgono nella MFC descritta nel Capitolo 5.

L'analisi microscopica è stata condotta su campioni di biofilm adesivo all'anodo e al catodo, su campioni di biomassa sospesa nel comparto aerobico e su fango granulare anaerobico presente nella prima camera dell'ABR.

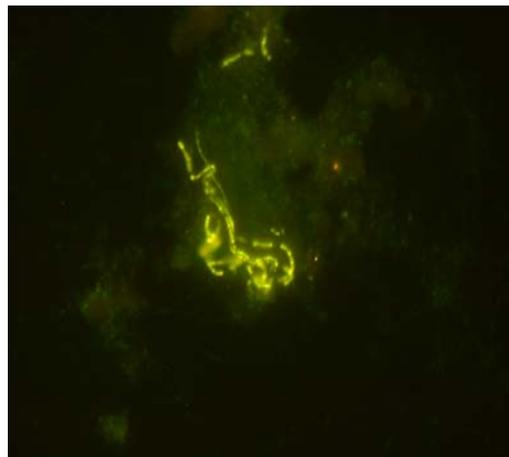
Al fine di ottenere una prima valutazione della biomassa oggetto di interesse, i campioni prelevati sono stati sottoposti alle tecniche molecolari FISH e DAPI (per le procedure si veda il Capitolo 5). Campioni prelevati dal comparto catodico della MFC sono poi stati esaminati mediante analisi biomolecolare DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis), attraverso la quale è stato possibile ottenere una caratterizzazione più precisa.

### 6.3.1 Immagini del comparto anodico

Le immagini riportate nelle Fotografie 6.1 e 6.2 sono state realizzate a seguito dell'applicazione delle tecniche DAPI e FISH eseguite su un campione di biomassa prelevata all'interno del comparto anaerobico.



*Foto 6.1 Immagine controcolorata con DAPI*



*Foto 6.2 FISH EUBMix Campione fissato con PFA e ibridato con sonda marcata con Fluos*

*Per tutte le fotografie la barra, in basso a destra, è di 10  $\mu$ m.*

Il campione è stato dapprima controcolorato con tecnica DAPI e successivamente fissato e ibridato con una sonda Fluos. Entrambe le immagini digitali realizzate mostrano un fiocco di fango anaerobico in cui, in particolare, la sonda EUBMix evidenzia la presenza di batteri filamentosi.

Le immagini riportate nelle successive Fotografie 6.3 e 6.4 si riferiscono invece ad un particolare ceppo batterico, individuato in un campione prelevato nel comparto anaerobico della MFC. Anche in questo caso il campione prelevato è stato dapprima controcolorato con tecnica DAPI e successivamente fissato e ibridato con una sonda fluorocromo Cy3 (tecnica FISH).

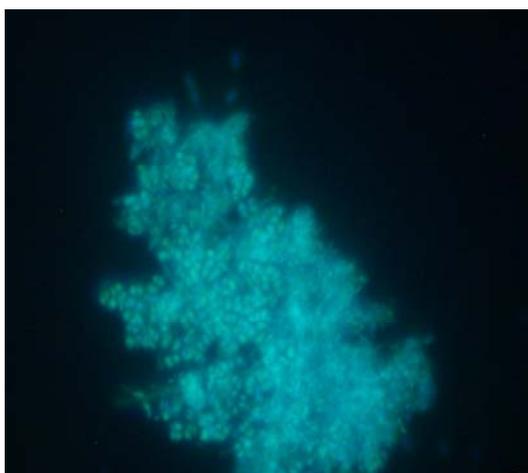


Foto 6.3 Immagine controcolorata con DAPI

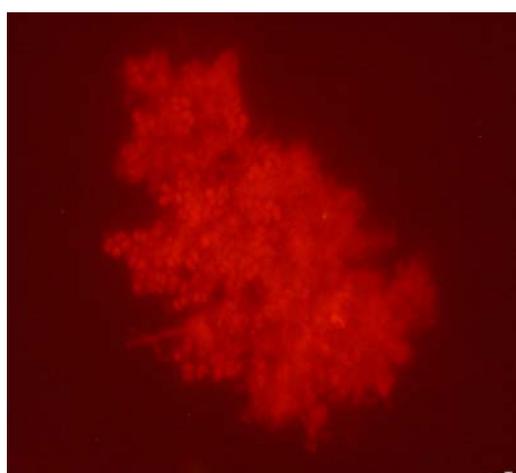
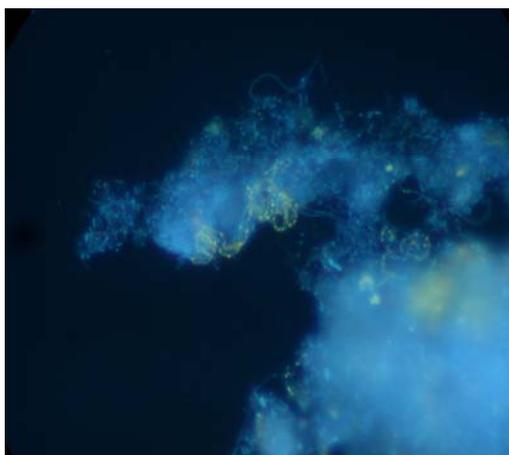


Foto 6.4 FISH Arch915 Campione fissato con PFA e ibridato con sonda marcata con fluorocromo Cy3.

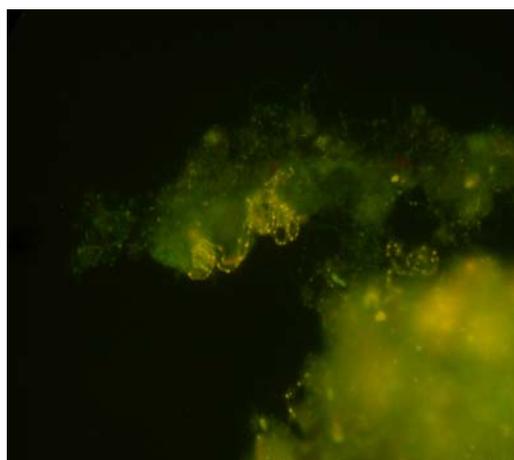
Le immagini realizzate hanno permesso di individuare un raggruppamento di metanogeni appartenenti alla famiglia dei *Metanosarcinales*. La presenza di questi ceppi batterici è da ritenersi normale in un fango anaerobico attivo e in grado di produrre biogas con un'elevata percentuale di metano, come il fango selezionato all'interno della sezione ABR (stadio anaerobico) della MFC.

### **Biofilm adesivo all'anodo**

Le immagini riportate nelle Fotografie 6.5 e 6.6 sono state realizzate a seguito dell'applicazione delle tecniche DAPI e FISH eseguite su di un campione prelevato dal sottile biofilm presente sulla superficie di grafite dell'elettrodo anodico.



*Foto 6.5 Immagine controcolorata con DAPI*



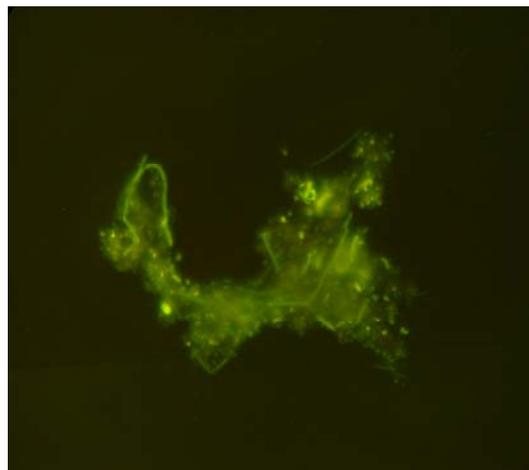
*Foto 6.6 FISH EUBMix Campione fissato con PFA e ibridato con sonda marcata con Fluos*

Il campione è stato dapprima controcolorato con tecnica DAPI e successivamente fissato e ibridato con una sonda Fluos. Entrambe le immagini digitali realizzate mostrano, come nelle precedenti (Foto 6.3 e 6.4) realizzate su fango anaerobico sospeso, la presenza di fiocchi di fango anaerobico in cui, in particolare, la sonda EUBMix evidenzia la presenza di molti batteri filamentosi. In entrambe le immagini appaiono evidenti le difficoltà, in termini di nitidezza e pulizia, riscontrate nella realizzazione delle immagini (l'immagine di disperde in una "nuvola" nell'area in basso a destra), dovuta allo spessore dei fiocchi di fango, che rivela una struttura molto compatta, in grado di determinare un elevato background.

Nelle successive Fotografie 6.7 e 6.8 è infine presentata un'immagine controcolorata con DAPI e poi ibridata con tecnica FISH di un singolo fiocco di fango anaerobico che rivela la presenza di batteri filamentosi e numerosi cocci.



*Foto 6.7 Immagine controcolorata con DAPI*



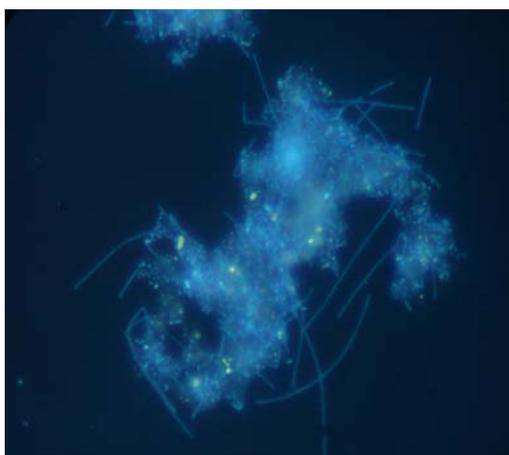
*Foto 6.8 Arch344 campione fissato con PFA e ibridato con sonda marcata con Fluos*

Le considerazioni morfologiche svolte sulle fotografie scattate nel corso della sperimentazione, di cui quelle riportate sono esemplificative, hanno permesso di affermare che non è stata riscontrata una significativa differenza tra la biomassa presente nel fango anaerobico sospeso e i microrganismi formanti il biofilm anaerobico adeso all'anodo.

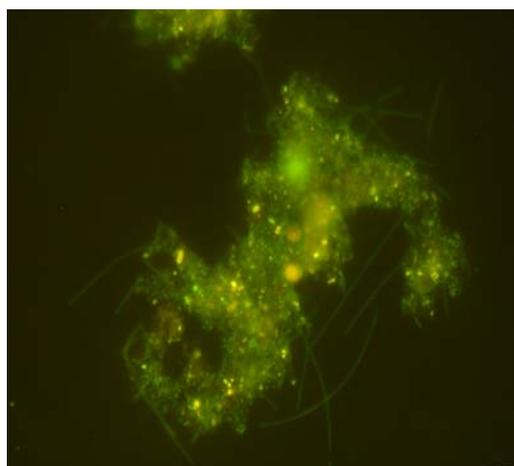
### **6.3.2 Immagini del comparto catodico**

Le immagini riportate nelle successive fotografie sono state realizzate a seguito dell'applicazione delle tecniche DAPI e FISH eseguite su campioni di biomassa sospesa prelevata all'interno del comparto aerobico e biofilm aerobico adeso all'elettrodo catodico.

Le immagini riportate nelle Fotografie 6. 9 e 6.10 sono state realizzate su un campione di fango aerobico sospeso.



*Foto 6.9 Immagine controcolorata con DAPI*



*Foto 6.10 FISH EUBMix Campione fissato con PFA e sonda marcata con Fluos*

Come per i precedenti, il campione è stato controcolorato con tecnica DAPI e successivamente fissato e ibridato con una sonda Fluos. Entrambe le immagini digitali realizzate mostrano un fiocco di fango aerobico con presenza di batteri filamentosi non ibridati dalla tecnica FISH. Tale fenomeno può essere ricondotto ad una scarsa capacità di ibridazione della sonda stessa.

### **Biofilm adesivo al catodo**

Infine, le immagini riportate nelle Fotografie 6.11 e 6.12 permettono l'osservazione di un campione ottenuto dall'estrazione di fango aerobico adesivo al catodo.

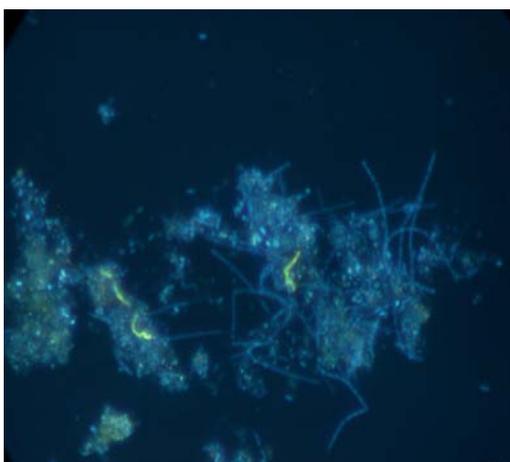


Foto 6.11 Immagine controcolorata con DAPI

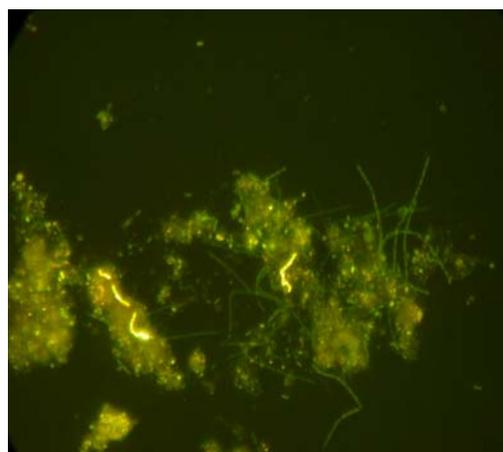


Foto 6.12 FISH EUBMix Campione fissato con PFA e sonda marcata con Fluos

Anche in questo caso il campione, dapprima controcolorato con tecnica DAPI e successivamente fissato e ibridato con una sonda Fluos, mostra un fiocchi di fango aerobico con presenza di numerosi batteri filamentosi.

Pertanto, come per le immagini realizzate sul fango anaerobico, è possibile affermare che non si è stata riscontrata una significativa differenza tra la biomassa presente nel fango aerobico sospeso e i microrganismi formanti il biofilm adeso al catodo.

Nel paragrafo successivo saranno riportati i risultati ottenuti mediante analisi biomolecolare DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis), attraverso la quale è stato possibile ottenere una caratterizzazione più precisa.

### **6.3.3 Analisi filogenetica mediante DGGE e ruolo della biomassa catodica presente nella MFC**

Quando il catodo vetroso pulito è stato inserito nel comparto aerobico (FASE I step #7), il potenziale catodico è sceso velocemente a  $-214 \pm 1,4$

vs. SCE. Tuttavia, la corrente elettrica residua è risultata pari a  $10,5 \pm 0,1$  mW/m<sup>2</sup>, suggerendo che la biomassa sospesa ed i mediatori redox solubili hanno un ruolo nel processo catodico (Figura 6.16).

Il catodo pulito è stato poi colonizzato rapidamente dalla biomassa aerobica e dopo 5 giorni la tensione e la produzione di energia si sono riportati rispettivamente a  $100 \pm 10\%$  e  $100 \pm 3,3\%$  dei loro valori misurati alla conclusione della Fase IV.

Per studiare la composizione della comunità microbica sospesa nel comparto aerobico ed adesa al catodo, è stato realizzato mediante DGGE un profilo parziale del dominio del gene eubatterico rRNA 16S. Ciò a seguito dell'amplificazione mediante PCR dei geni rDNA 16S dal DNA totale dei due campioni con i due insiemi di primers come descritto nel Capitolo 5.

La Figura 6.39 a e b mostra i campioni ottenuti mediante DGGE dei frammenti piccolo e grande del gene rDNA 16S. E' possibile osservare che sono riconoscibili poche bande nei profili di DGGE realizzati sul frammento piccolo rispetto a quelle individuate nella DGGE ottenuta sul frammento grande.

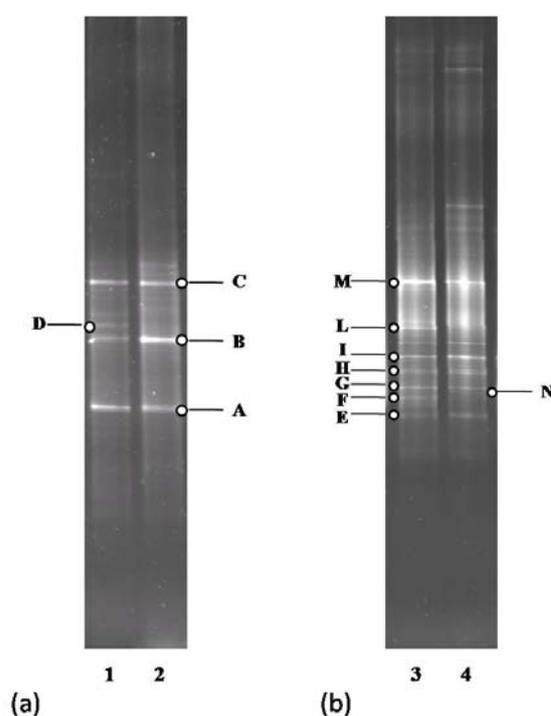


Figura 6.39 Profili ottenuti mediante Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) della regione V3 del gene 16S rRNA, amplificato con i primers 357F-GC e 518R (a) e con i primers 63F-GC e 518R (b) da campioni di DNA, estratto dalla biomassa adesa al catodo (linee #1 e #3) e dal fango attivo sospeso nel comparto catodico (linee #2 e #4). Le lettere indicano le bande separate, purificate e ri-amplificate per la determinazione di sequenza.

La biomassa aerobica sospesa e la biomassa adesa al catodo hanno mostrato un'elevata similarità poiché la maggior parte delle bande ottenute sono presenti in entrambi i campioni. Le bande separate di DGGE sono state asportate dai gel, sono state purificate per determinarne la sequenza e sono state assegnate ad un gruppo specifico in base ad una combinazione di ricerche in rete Blast e di analisi filogenetica. La Tabella 6.6 mostra le percentuali di similarità ottenute fra le sequenze delle bande asportate e quelle inserite e riconosciute nel database NCBI.

## Capitolo 6

Tabella 6.6 Affiliazione filogenetica accurate delle bande estratte. Le lettere dalla A alla D si riferiscono alle bande derivate dal frammento piccolo, mentre le lettere dalla F alla N si riferiscono alle bande derivate dal frammento grande.

Band	Accession no. of nearest neighbor	similarity (%)	Nearest phylogenetic neighbor	Phylogenetic group
A	EF053110.1	100	Uncultured clone BEU-100	<i>δ-proteobacteria</i>
	EF544616.1	99	Uncultured bacterium clone KFeR1-13	<i>Firmicutes</i>
	DQ521480.1	99	Uncultured bacterium clone ANTLV1_C11	<i>Firmicutes</i>
B	AM749081.1	99	Uncultured, clone DGGE band FJQ-OTU14B	<i>β-proteobacteria</i>
	DQ295376.1	98	Uncultured beta proteobacterium clone PA-B18	<i>β-proteobacteria</i>
	AF204252.1	98	Uncultured beta proteobacterium SBR1001	<i>β-proteobacteria</i>
C	EF660750.1	93	<i>Pedobacter daejeonensis</i> strain PB46	<i>Bacteroidetes</i>
	AY830045.1	93	Uncultured gamma proteobacterium clone CONP06	<i>Bacteroidetes</i>
	AB015264.1	93	Uncultured Cytophaga	<i>Bacteroidetes</i>
D	EF053110.1	98	Uncultured clone BEU-100	<i>δ-proteobacteria</i>
	AY395437.1	98	Uncultured Clostridiaceae bacterium clone EB1118	<i>Firmicutes</i>
	EF544616.1	97	Uncultured bacterium clone KFeR1-13	<i>Firmicutes</i>
F	AM910050.1	99	Uncultured bacterium clone CM40	<i>α-proteobacteria</i>
	AM910041.1	99	Uncultured bacterium clone CM39	<i>α-proteobacteria</i>
	AB273752.1	99	Uncultured bacterium EXP.1-16S-13C-heavy-Clone_07	<i>α-proteobacteria</i>
G	EF667579.1	94	Uncultured bacterium clone LaC15L17	Unclassified
	EU426928.1	93	Uncultured bacterium clone C05	Unclassified
	AJ786605.1	96	Uncultured bacterium clone K128	Unclassified
H	EF667579.1	93	Uncultured bacterium clone LaC15L17	Unclassified
	AJ786605.1	96	Uncultured bacterium clone K128	Unclassified
	EU426928.1	93	Uncultured bacterium clone C05	Unclassified
I	AF368183.1	99	Uncultured Rhodobacter group bacterium clone SBR1155	<i>α-proteobacteria</i>
	DQ337005.1	99	Uncultured bacterium clone EV818CPSSAHH73	<i>α-proteobacteria</i>
	DQ337100.1	98	Uncultured bacterium clone HV818SWSAP92	<i>α-proteobacteria</i>
L	AJ227774.1	99	<i>Camlobacter</i> sp. strain FWC38	<i>α-proteobacteria</i>
	EF221236.1	98	Uncultured alpha proteobacterium clone H06_SGPL02	<i>α-proteobacteria</i>
	EF221116.1	98	Uncultured alpha proteobacterium clone B10_SGPL01	<i>α-proteobacteria</i>
M	AY987369.1	96	<i>Dokdonella koreensis</i> strain DS-140	<i>γ-proteobacteria</i>
	AY987368.1	96	<i>Dokdonella koreensis</i> strain DS-123	<i>γ-proteobacteria</i>
	AY921834.1	95	Uncultured gamma proteobacterium clone AKYG1642	<i>γ-proteobacteria</i>
N	AJ458506.1	99	<i>Methylocystis</i> sp. KS33	<i>α-proteobacteria</i>
	DQ496232.1	98	<i>Methylocystis</i> sp. B3	<i>α-proteobacteria</i>
	AY203757.1	98	Uncultured <i>Methylocystis</i> sp. clone RE-T2A1	<i>α-proteobacteria</i>

Le sequenze di nucleotide delle bande del frammento piccolo sono state catalogate come batteri non coltureabili o cloni di DGGE dei gruppi *Firmicutes*, *β-Proteobacteria* e *Bacteroidetes* (Tabella 6.7), mentre la maggior parte delle sequenze delle bande appartenenti al frammento grande risultano affiliate ai gruppi di *α-Proteobacteria* e *γ-Proteobacteria*. La banda (E) è stata identificata come una presunta sequenza chimerica,

in base al risultato delle analisi di CHECK\_CHIMERA. Inoltre, due bande del frammento grande (G e H) hanno presentato una modesta affiliazione con le sequenze batteriche non classificabili provenienti da un campione di sedimento di fiume (EF667579), da un inoculo di nitrificazione commerciale (AJ786605.1) e da un biocato appartenente ad una Microbial Fuel Cell (UE 426928.1), come mostrato in Tabella 6.6.

*Tabella 6.7 Quadro generale degli organismi corrispondenti alle bande sequenziate mediante DGGE rappresentate in Figura 4. L'identificazione è stata realizzata mediante RDB (Classification Algorithm. Bootstrap), i valori di confidenza sono indicati fra parentesi (la classificazione è valida per valori di confidenza > 80%).*

Band	Band phylogenetic affiliation				
	Phylum	Class	Order	Family	Genus
A	Firmicutes [95%]	Clostridia[93%]	Clostridiales[93%]	Clostridiaceae[81%]	Clostridium[52%]
B	Proteobacteria[100%]	Betaproteobacteria[100%]	Rhodocyclales[60%]	Rhodocyclaceae[63%]	Denitrisoma[58%]
C	Bacteroidetes[100%]	Flavobacteria[56%]	Flavobacteriales[56%]	Cryomorphaceae[21%]	Owenweeksia[21%]
D	Firmicutes[72%]	Clostridia[71%]	Clostridiales[71%]	Clostridiaceae[65%]	Anaerobacter[13%]
F	Proteobacteria[100%]	Alphaproteobacteria[100%]	Rhizobiales[99%]	Methylocystaceae[99%]	Methylosinus[78%]
G	Firmicutes[24%]	Clostridia[24%]	Clostridiales[22%]	Clostridiaceae[18%]	Thermohalobacter[8%]
H	Firmicutes[18%]	Clostridia[17%]	Clostridiales[16%]	Clostridiaceae[10%]	Thermohalobacter[7%]
I	Proteobacteria[100%]	Alphaproteobacteria[100%]	Rhodobacterales[100%]	Rhodobacteraceae[100%]	Rhodobacter[100%]
L	Proteobacteria[100%]	Alphaproteobacteria[100%]	Caulobacterales[100%]	Caulobacteraceae[100%]	Caulobacter[99%]
M	Proteobacteria[100%]	Gammaproteobacteria[100%]	Xanthomonadales[100%]	Xanthomonadaceae[100%]	Dokdonella[100%]
N	Proteobacteria[100%]	Alphaproteobacteria[100%]	Rhizobiales[100%]	Methylocystaceae[100%]	Methylocystis[100%]

In conclusione, l'analisi DGGE della biomassa catodica realizzata utilizzando due differenti raccolte di primers ha fornito uno strumento analitico utile allo studio della diversità della comunità microbica sospesa ed adesa al catodo. L'uso dei primers P357F-GC e 518R ha rivelato una forte somiglianza dell'impronta fornita dai due campioni. Tuttavia, spesso non è facile assegnare esattamente brevi sequenze parziali (Kuske et al., 1997), per questo motivo e per aggirare l'effetto negativo della polarizzazione (incontrata spesso nella tecnica PCR, come riferito da

Hansen et al., 1998), si è reso necessario l'utilizzo del secondo insieme di primers (p63F-GC clamp-518R). I profili di DGGE ottenuti da quest'ultimo, che hanno generato un frammento più grande di 495-bp, ha rivelato di nuovo l'elevata similarità dei due campioni. Inoltre, l'uso di entrambi gli insiemi di primers ha permesso una distinzione più esatta dei gruppi tassonomici differenti e riconoscibili all'interno dei campioni. Nell'ambito di altri studi, che hanno esaminato la comunità microbica presente nel biocato, è stata rilevata la presenza di una simile diversità genetica ( $\alpha, \beta, \gamma$ , *Protobacteria*, *Bacteroidetes*) (Clauwert et al., 2007; Chen et al., 2008; Rabaey et al., 2008), mentre i membri del gruppo *Firmicutes* sono stati rilevati per la prima volta. La presenza di questa specie batterica nel comparto catodico potrebbe essere collegata all'alimentazione del sistema mediante glucosio. Inoltre, poiché la maggior parte dei batteri elettroattivi sono stati individuati tra i *Proteobacteria*, questo risultato conferma che le condizioni operative adottate hanno selezionato al catodo biomassa elettroattiva (microorganismi responsabili della produzione corrente).

## **7 Refluo sintetico ed elettrodi in grafite granulare - Analisi e commento dei dati sperimentali – Fase V**

### **Introduzione**

Nell'ambito della Fase V, le attività sperimentali sono state impostate perseguendo le finalità riportate in seguito:

- ✚ Valutazione del tempo di avviamento dell'impianto funzionante con grafite granulare;
- ✚ Determinazione dei valori massimi di potenza e tensione ottenibili con l'uso di elettrodi di grafite granulare, per diversi valori assegnati di carico organico e di concentrazione di substrato organico nel comparto anaerobico;
- ✚ Stima del carico organico degradato e convertito in corrente elettrica nelle condizioni operative analizzate;
- ✚ Valutazione delle prestazioni della MFC quando il comparto anaerobico è fatto funzionare a temperatura ambiente;
- ✚ Osservazione della biomassa presente nella MFC mediante osservazione di immagini al microscopio.

Per il raggiungimento degli obiettivi sopra indicati è stato messo a punto un programma di lavoro articolato in più step cui corrispondono differenti condizioni operative, come riportato in Tabella 7.1 e in Figura 7.1.

*Tabella 7.1 Condizioni operative corrispondenti ai differenti step sperimentali svolti.*

Step	Portata	Carico organico	Comparto anodico	Comparto catodico
	[l d <sup>-1</sup> ]	[g COD d <sup>-1</sup> ]	Sonda scaldante	DO [mg l <sup>-1</sup> ]
12	3,41	24,4	Accesa	7,15
13	3,2	33,3	Accesa	6,74
14	2,67	13,3	Spenta	8,33
15	2,83	18,8	Spenta	7,1

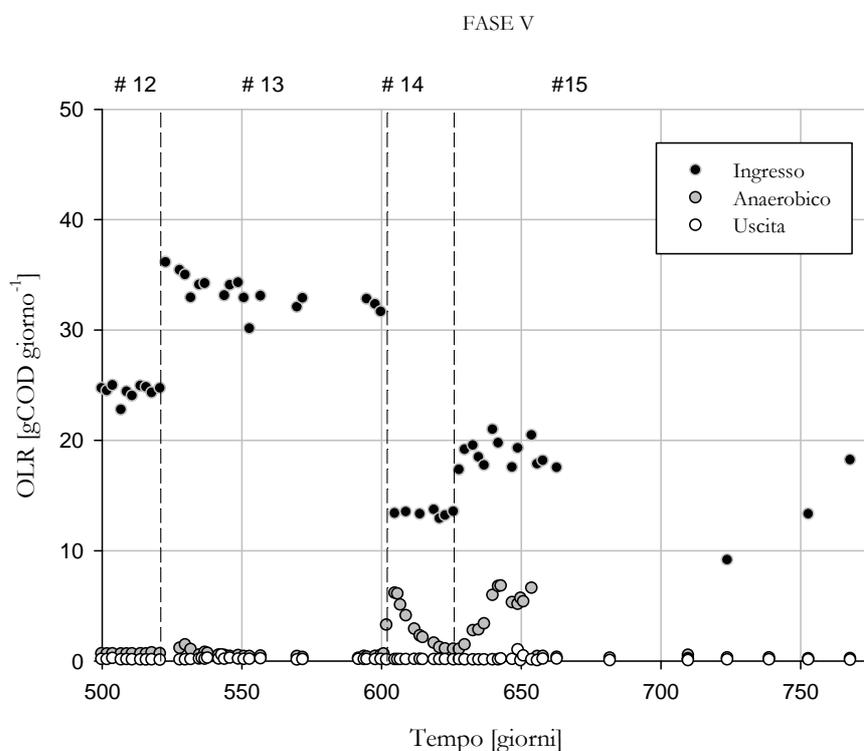


Figura 7.1 Andamento del carico organico alimentato all'impianto.

In particolare, è stata denotata con:

- Step 12: avviamento dell'impianto in seguito all'inserimento della grafite granulare, con un carico organico in alimentazione pari a 24,4 gCOD d<sup>-1</sup>;

- ✚ Step 13: incremento del carico organico in ingresso da 24,4 gCODd<sup>-1</sup> a 33,3 gCOD d<sup>-1</sup>;
- ✚ Step 14: spegnimento della resistenza scaldante posizionata nel comparto anaerobico, con un carico organico in ingresso pari a 13,3 gCOD d<sup>-1</sup>;
- ✚ Step 15: incremento del carico organico (18,8 gCOD d<sup>-1</sup>), in assenza di riscaldamento del comparto anaerobico.

Durante gli step 12 e 13 sono state valutate le prestazioni della configurazione della MFC con elettrodi in grafite granulare. Purtroppo, come verrà esaurientemente illustrato nel presente capitolo, l'incremento delle prestazioni elettriche, atteso in seguito all'aumento della superficie specifica degli elettrodi, non si è verificato.

Nel corso della V Fase di sperimentazione sono state rilevate le principali misure volte a stabilire le prestazioni dell'impianto dal punto di vista depurativo e dal punto di vista elettrico. Sono state quindi effettuate osservazioni microscopiche di campioni prelevati esternamente alla rete di contenimento della grafite granulare, di campioni di biomassa interna alla rete stessa e di biomassa adesa alla grafite granulare costituente il catodo.

Tali misure vengono presentate e discusse separatamente nei seguenti paragrafi.

### ***Generalità: Prestazioni depurative***

Ipotizzando, come descritto nel Capitolo 5, che ad un aumento della superficie disponibile per gli scambi di elettroni si assista ad un incremento della corrente prodotta dalla MFC, si è deciso di inserire gli elettrodi già utilizzati nelle prime 4 Fasi di sperimentazione (realizzati in grafite vetrosa) all'interno di grafite granulare contenuta da un'apposita rete di

contenimento. La superficie utile per la produzione di corrente elettrica passa da 160 cm<sup>2</sup> a 2029 m<sup>2</sup>.

Per meglio comprendere gli andamenti delle grandezze misurate e per precisare le strategie di carico e di lavoro, si rende necessario evidenziare che, durante il periodo di funzionamento della MFC, si sono verificati alcuni problemi tecnico/gestionali.

Gli step 12 e 13, riguardanti l'avviamento della MFC nella nuova configurazione ed il suo funzionamento a pieno regime, sono stati caratterizzati dalle seguenti problematiche:

Dopo 13 giorni dall'avviamento della MFC con la nuova configurazione, l'impianto è stato trovato svuotato, poiché la pompa peristaltica utilizzata per il ricircolo anaerobico risultava lesionata. Nonostante ciò il fango anaerobico non è fuoriuscito e quindi si è proceduto sostituendo la pompa e il tubo, e riempiendo nuovamente i comparti della MFC con l'effluente finale in modo da ripristinare i livelli idrici iniziali.

A 34 giorni dall'avviamento con grafite granulare si è reso necessario aprire il comparto anaerobico e svuotare parzialmente la MFC per rimuovere un'ostruzione formatasi al di sotto del setto posto tra la camera anaerobica e quella aerobica, che aveva determinato uno squilibrio tra i livelli idrici e ostacolato l'aumento della produzione di corrente. Il materiale rimosso era costituito da biomassa e grafite granulare, in piccola parte fuoriuscita dalla rete di contenimento.

Poiché si è notato che una discreta quantità di biofilm era adesa ai granuli di grafite, si è provveduto ad eliminare la biomassa sospesa ancora presente nel comparto aerobico per favorire il consumo di substrato da parte dei batteri che riducono l'ossigeno al catodo. Le

operazioni effettuate hanno comportato un immediato miglioramento delle prestazioni della MFC.

Dopo 36 giorni di lavoro si è assistito ad un peggioramento delle prestazioni elettriche. Nel tentativo di riportare l'impianto alle sue condizioni ottimali si sono tentate alcune soluzioni:

- ✚ inversione del senso di funzionamento della pompa di ricircolo dei fanghi dal sedimentatore al comparto aerobico, per eliminare eventuali accumuli di biomassa sul fondo del comparto stesso;
- ✚ somministrato glucosio direttamente nel comparto aerobico per incrementare, in quest'ultimo, la concentrazione di substrato prontamente disponibile alla biomassa aerobica;
- ✚ inserimento di un'ulteriore pompa di aerazione nel comparto aerobico, al fine di incrementarvi la concentrazione di ossigeno disponibile per la reazione di riduzione al catodo.

Solo dopo 60 giorni dall'inizio dell'attività sviluppata con l'utilizzo della grafite granulare, l'impianto ha ricominciato a funzionare in modo regolare e si sono potute così raggiungere le prestazioni massime consentite dalla configurazione oggetto di studio.

Nell'intervallo di tempo che va dal giorno 570 al giorno 595, l'impianto è stato fatto funzionare in modalità batch. Inoltre non sono stati acquisiti i valori delle grandezze elettrochimiche del periodo a causa di un cortocircuito provocato dalla rottura della resistenza scaldante situata nel comparto anaerobico, che in questo lasso di tempo è quindi rimasto a temperatura ambiente.

## 7.1 Risultati delle misure volte a stabilire le prestazioni depurative

### 7.1.1 Step 12 e 13: avviamento e pieno regime della grafite granulare

Per il periodo in esame, gli andamenti della concentrazione di sostanza organica misurata su campioni di alimento (denominato IN) e su campioni prelevati sia dal comparto anaerobico (denominato ANAER), sia dall'uscita dell'impianto (denominato OUT), espresso in termini di COD, sono riportati nel grafico in Figura 7.2.

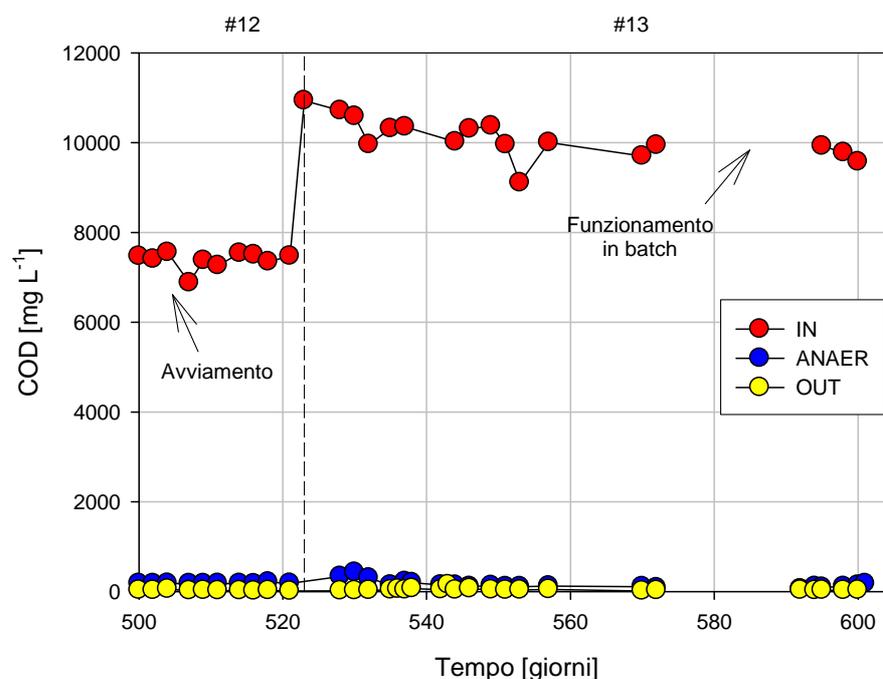


Figura 7.2 Andamento del COD misurato sull'alimento (IN), sull'effluente dal comparto anaerobico (ANAER) e sull'uscita dall'impianto (OUT).

Come si può osservare dal diagramma riportato in Figura 7.2, per circa 20 giorni è stata alimentata all'impianto una concentrazione di glucosio pari a 7 g COD l<sup>-1</sup>, equivalente ad un carico organico di

24,4 g COD d<sup>-1</sup>. Quando le prestazioni elettriche sono giunte ad un livello stabile si è deciso di aumentare la concentrazione di substrato in ingresso alimentando 10 g COD l<sup>-1</sup>, pari a 33,3 g COD d<sup>-1</sup>.

La MFC conferma la sua ottima capacità depurativa: infatti in entrambi gli step si è ottenuto un valore medio inferiore a 200 mg COD l<sup>-1</sup> per l'effluente anaerobico e inferiore a 40 mg COD l<sup>-1</sup> per l'effluente finale. Inoltre, il valore di COD degli effluenti dei comparti anaerobico ed aerobico si mantiene pressoché uniforme nel tempo.

La Tabella 7.2 riporta le efficienze depurative in termini di rimozione della sostanza organica che caratterizzano il comparto anaerobico e l'impianto nel suo complesso.

Tabella 7.2 Efficienze depurative in termini di COD – Step #12 e #13.

Step	Concentrazione mg C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> l <sup>-1</sup>	Carico g COD d <sup>-1</sup>	% Rimozione COD	
			Anaer	Tot
12	7	24,4	97,5	99,6
13	10	33,3	98,1	99,6

I valori sopra riportati delle efficienze di depurazione sono stati calcolati mediante le seguenti due relazioni:

$$\eta_{\text{anaer}} = \frac{\text{COD}_{\text{in}} - \text{COD}_{\text{anaer}}}{\text{COD}_{\text{in}}} \quad [1]$$

$$\eta_{\text{tot}} = \frac{\text{COD}_{\text{in}} - \text{COD}_{\text{out}}}{\text{COD}_{\text{in}}} \quad [2]$$

L'efficienza di depurazione, misurata durante il funzionamento della MFC, è aumentata nel tempo, come mostrato dall'andamento pressoché

costante delle curve di COD anaerobico e COD in uscita, rapportate all'andamento crescente del COD dell'alimento. Dall'osservazione di Figura 7.2 e della Tabella 7.2, si nota l'incremento dell'efficienza depurativa a seguito della progressiva acclimatazione della biomassa in entrambi i comparti, e possibile affermare che la rimozione del carico organico è affidata in gran parte allo stadio anaerobico, mentre il comparto aerobico ha una funzione di affinamento.

In Figura 7.3 è riportato l'andamento della produzione giornaliera di metano.

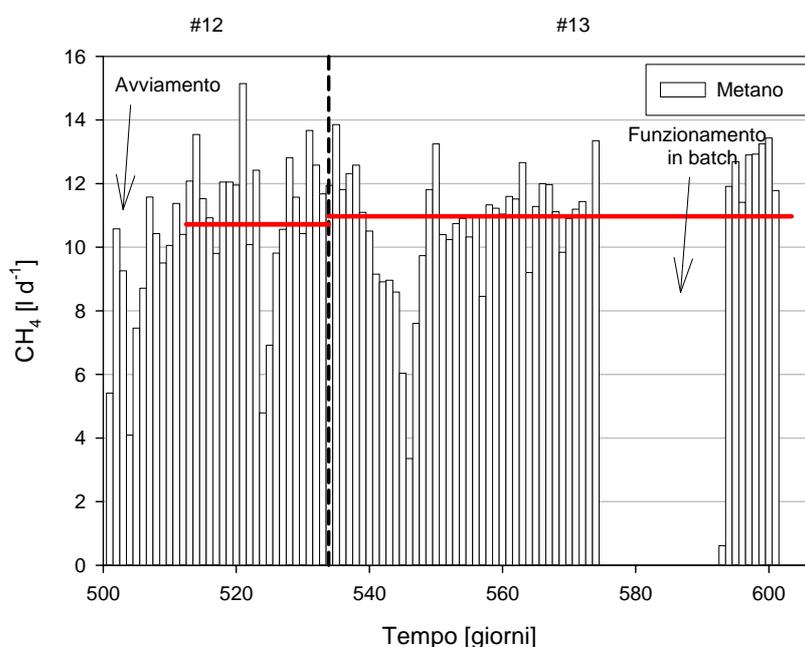


Figura 7.3 Andamento della produzione giornaliera di metano.

Il metano prodotto durante lo step 12 è stato ottenuto alimentando una concentrazione di glucosio pari a  $7 \text{ g l}^{-1}$ , mentre lo step 13 è stato caratterizzato da una concentrazione di sostanza organica in ingresso pari a  $10 \text{ g l}^{-1}$  di glucosio. Dall'esame del grafico di Figura 7.3 e della Tabella 7.3, la produzione di metano è molto simile nei due step: ciò fa

dedurre che la maggior quantità di substrato in ingresso durante lo step 13 sia utilizzata, oltre che per una più elevata crescita della biomassa, per ottenere una maggiore produzione di corrente. Come si potrà vedere nel paragrafo 7.2.1 tale ipotesi è confermata dall'andamento delle prestazioni elettriche.

Tabella 7.3 Produzione di metano.

Step	Concentrazione in ingresso mg C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> l <sup>-1</sup>	Carico in ingresso g COD d <sup>-1</sup>	Produzione CH <sub>4</sub> media lCH <sub>4</sub> d <sup>-1</sup>	% CH <sub>4</sub> nel biogas	Carico rimosso nel comparto anaerobico gCOD <sub>rimosso</sub> d <sup>-1</sup>
12	7	24,4	10,4	51,5	23,75
13	10	33,3	10,7	55	32,57

Si può inoltre aggiungere che, trascorso il periodo necessario alla biomassa per acclimatarsi alle nuove condizioni operative (inserimento della grafite granulare), la qualità del biogas prodotto è migliorata nel tempo, passando da una percentuale media di metano del 51,5% ad una percentuale media del 55%.

Durante il periodo di sperimentazione, oltre alla concentrazione di sostanza organica, anche la concentrazione di azoto ammoniacale in ingresso è stata variata più volte: per lo step 12 è stata prevista una concentrazione di 56 mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> l<sup>-1</sup>, mentre lo step 13 è diviso in due parti: la prima (fino al giorno 550) è caratterizzata da circa 80 mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> l<sup>-1</sup>, la seconda da circa 100 mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> l<sup>-1</sup>.

Gli andamenti nel tempo della concentrazione di N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> nel refluo in ingresso, nell'effluente dal comparto anaerobico e nell'effluente finale sono riportati nel grafico in Figura 7.4.

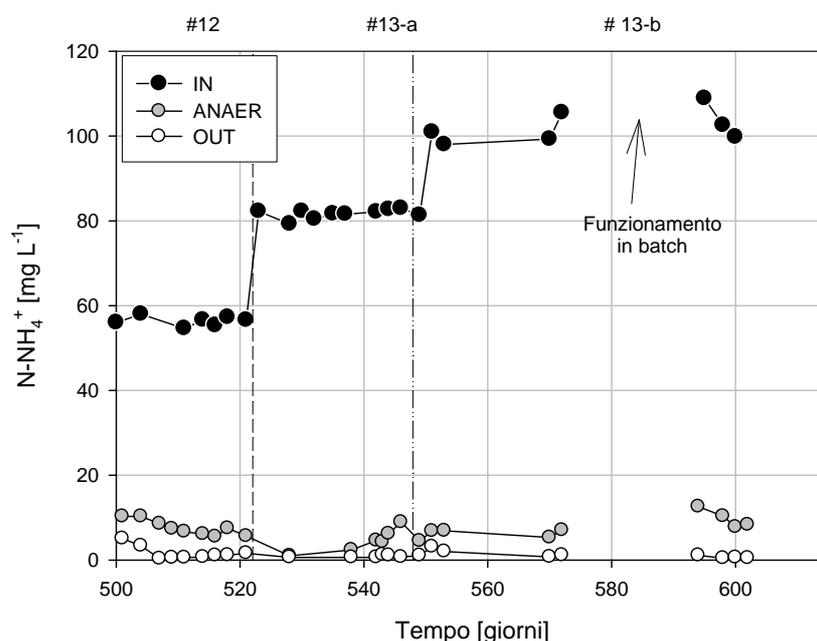


Figura 7.4 Andamento della concentrazione di azoto ammoniacale nel tempo.

Come è possibile osservare dal grafico riportato in Figura 7.4, nonostante l'aumento della concentrazione in ingresso nel tempo, la rimozione dell'azoto ammoniacale è praticamente completa: la maggior parte di essa avviene all'interno del comparto anaerobico, come risultato della sintesi microbica, mentre la camera aerobica ha una funzione di affinamento della depurazione.

In Tabella 7.4 sono riportati i dati relativi alle efficienze di rimozione dell'azoto ammoniacale.

Tabella 7.4 Efficienze depurative in termini di  $N-NH_4^+$ .

Step	Concentrazione mg $N-NH_4^+$ l <sup>-1</sup>			% Rimozione $N-NH_4^+$ l <sup>-1</sup>	
	In	Anaer	Out	Anaer	Tot
12	56,33	7,54	1,60	86,6	97,2
13-a	81,65	4,54	0,86	94,4	99,0
13-b	101,58	8,11	1,30	92,0	98,7

I valori sopra riportati delle efficienze di depurazione sono stati calcolate mediante le seguenti due relazioni:

$$\eta_{\text{anoss}} = \frac{N - \text{NH}_4^+ \text{ in} - N - \text{NH}_4^+ \text{ anoss}}{N - \text{NH}_4^+ \text{ in}} \quad [3]$$

$$\eta_{\text{tot}} = \frac{N - \text{NH}_4^+ \text{ in} - N - \text{NH}_4^+ \text{ out}}{N - \text{NH}_4^+ \text{ in}} \quad [4]$$

Si può concludere che la MFC oggetto della sperimentazione, nelle condizioni di lavoro sopra riportate, realizza delle ottime efficienze depurative anche per quanto riguarda la rimozione di azoto ammoniacale.

La concentrazione di ossigeno disciolto (DO) all'interno del comparto aerobico, è stata misurata durante tutto il periodo, e mantenuta (regolando opportunamente il sistema di aerazione) su valori compresi tra 6,7 e 7,2 mg l<sup>-1</sup>, necessari per lo sviluppo delle reazioni catodiche nel caso in cui, come per l'impianto in esame, si ricorra ad un catodo realizzato in grafite non trattata (ad esempio con platino che funge da catalizzatore) e biomassa.

Al fine di effettuare un controllo completo del processo è stato costantemente monitorato anche il pH del refluo in ingresso, del comparto anaerobico e dell'effluente finale, i cui valori medi durante gli step 12 e 13 sono rispettivamente: 7,22; 6,89 e 7,41. E' di particolare importanza controllare il valore di pH del comparto anaerobico al fine di evitare il raggiungimento di condizioni di acidità che potrebbero compromettere il buon funzionamento dell'impianto.

Durante lo step 13 è stata effettuata anche la misura dell'alcalinità dell'effluente del comparto anaerobico, il cui valore medio risulta pari a circa 3605 mg CaCO<sub>3</sub><sup>2-</sup> l<sup>-1</sup>. Poiché non sono stati rilevati valori elevati della

concentrazione di VFA nel comparto anaerobico, è possibile concludere che il processo anaerobico presenta un corretto andamento.

### 7.1.2 Step 14 e 15: spegnimento della sonda scaldante, prestazioni depurative

Nell'ambito degli step 14 e 15 di sperimentazione, sono stati misurati gli andamenti della concentrazione di sostanza organica misurata su campioni di alimento (denominato IN) e su campioni prelevati sia dal comparto anaerobico (denominato ANAER), sia dall'uscita dell'impianto (denominato OUT), espresso in termini di COD, come riportato nel grafico in Figura 7.5.

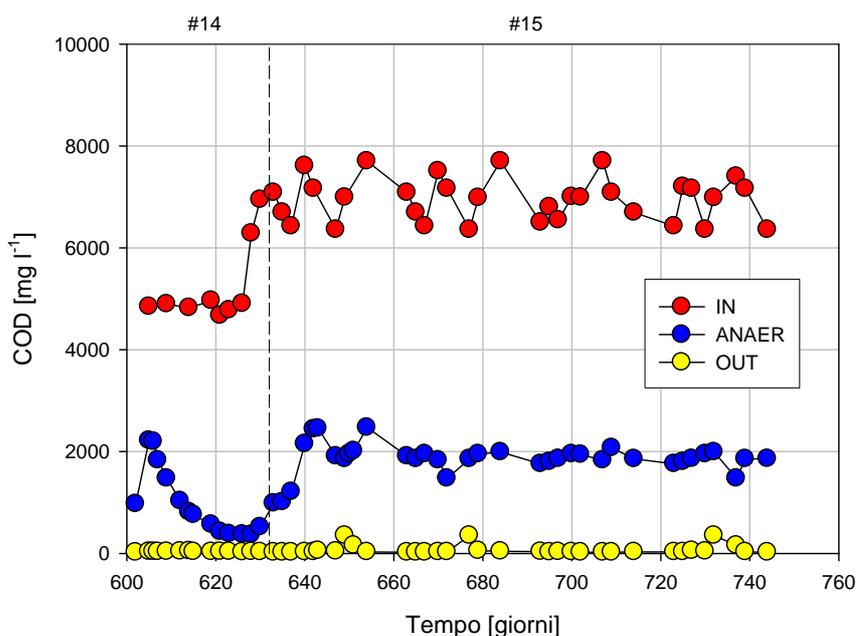


Figura 7.5 Andamento del COD misurato sull'alimento (IN), sull'effluente dal comparto anaerobico (ANAER) e sull'uscita dall'impianto (OUT).

Come si può vedere osservando il grafico in Figura 7.5, durante lo step 14 la MFC è stata alimentata con una concentrazione di glucosio pari a 5 g COD l<sup>-1</sup>, equivalente ad un carico organico di 13,3 g COD d<sup>-1</sup>. La

drastica diminuzione del carico in ingresso che si è attuata nel passaggio dallo step 13 al 14 è dovuta al fatto che, a causa dello spegnimento della resistenza scaldante nel comparto anaerobico, la biomassa non era in grado di degradare una quantità elevata di substrato.

Quando le prestazioni elettriche e quelle depurative del comparto anaerobico sono giunte ad un livello stabile, si è deciso di aumentare la concentrazione di substrato in ingresso alimentando  $7 \text{ g COD l}^{-1}$ , pari ad un carico di  $18,8 \text{ g COD d}^{-1}$ .

Anche durante questi ultimi step la MFC ha dimostrato un'ottima capacità di depurazione. Infatti, nonostante il comparto anaerobico abbia degradato una minor quantità di substrato rispetto ai 2 step precedenti, il valore di COD dell'effluente finale è rimasto comunque sempre molto basso e inferiore ai  $50 \text{ mg l}^{-1}$ .

La Tabella 7.5 riporta le efficienze depurative (calcolate utilizzando la [1] e la [2]) in termini di rimozione della sostanza organica che caratterizzano il comparto anaerobico e l'impianto nel suo complesso.

*Tabella 7.5 Efficienze depurative in termini di COD rilevate durante gli step 14 e 15.*

Step	Concentrazione	Carico	% Rimozione COD	
	$\text{mg C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6\text{l}^{-1}$		$\text{g COD d}^{-1}$	Anaer
14	5	13,3	77,3	99,3
15	7	18,8	76,3	99,0

L'efficienza depurativa del comparto anaerobico risulta diminuita, ciò a causa delle condizioni sfavorevoli per i batteri metanigeni, dovute allo spegnimento della resistenza scaldante. Per quanto riguarda invece l'efficienza di depurazione complessiva si nota un lieve calo rispetto agli

step precedenti, tuttavia confermando che la MFC consente di ottenere buone prestazioni in termini di depurazione anche quando le condizioni operative non sono quelle ottimali.

In Figura 7.6 è riportato l'andamento della produzione giornaliera di metano.

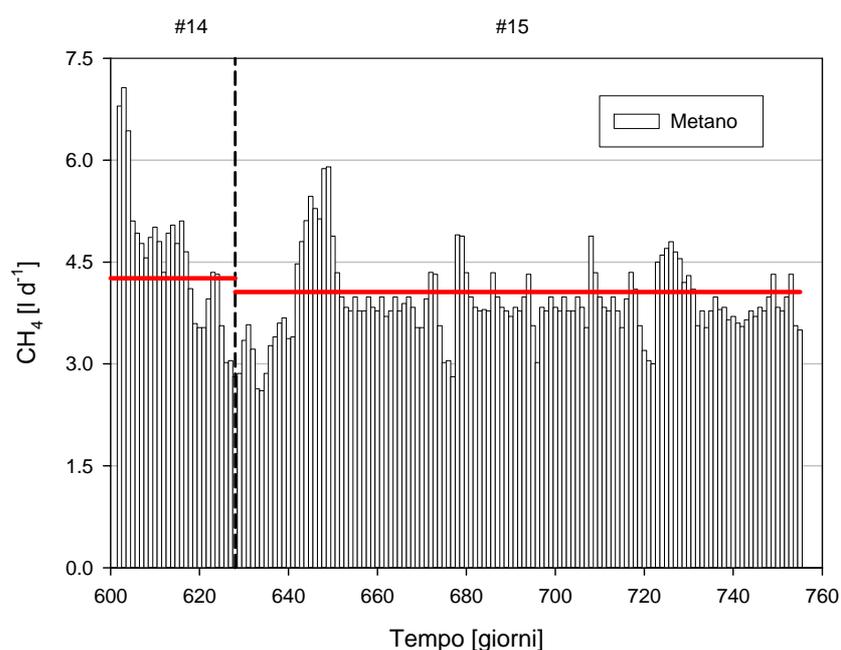


Figura 7.6 Andamento della produzione giornaliera di metano.

Osservando il grafico in Figura 7.6 appare evidente come la produzione di metano sia diminuita rispetto agli step 12 e 13. Anche questo dato conferma il fatto che i batteri metanigeni sono sfavoriti dall'abbassamento della temperatura nel comparto anaerobico causata dallo spegnimento della resistenza scaldante.

La Tabella 7.6 riporta i dati relativi alla produzione di metano durante gli step 14 e 15.

Tabella 7.6 Produzione di metano.

Step	Concentrazione in ingresso	Carico in ingresso	Produzione CH4 media	% CH4 nel biogas	Carico rimosso nel comparto anaerobico
	mg C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> l <sup>-1</sup>	g COD d <sup>-1</sup>	ICH4d <sup>-1</sup>		gCOD <sub>rimosso</sub> d <sup>-1</sup>
14	5	13,3	4,26	62,3	10,85
15	7	18,8	4,06	52,7	14,94

Durante lo step 14 la percentuale di CH<sub>4</sub> all'interno del biogas è più alta rispetto agli altri step: questo fatto è spiegabile in quanto, secondo la legge di Henry, alle basse temperature la CO<sub>2</sub> (l'altro principale composto costituente il biogas) tende a rimanere in forma liquida.

Gli andamenti nel tempo della concentrazione di N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> nel refluo in ingresso, nell'effluente dal comparto anaerobico e nell'effluente finale sono riportati nel grafico in Figura 7.7.

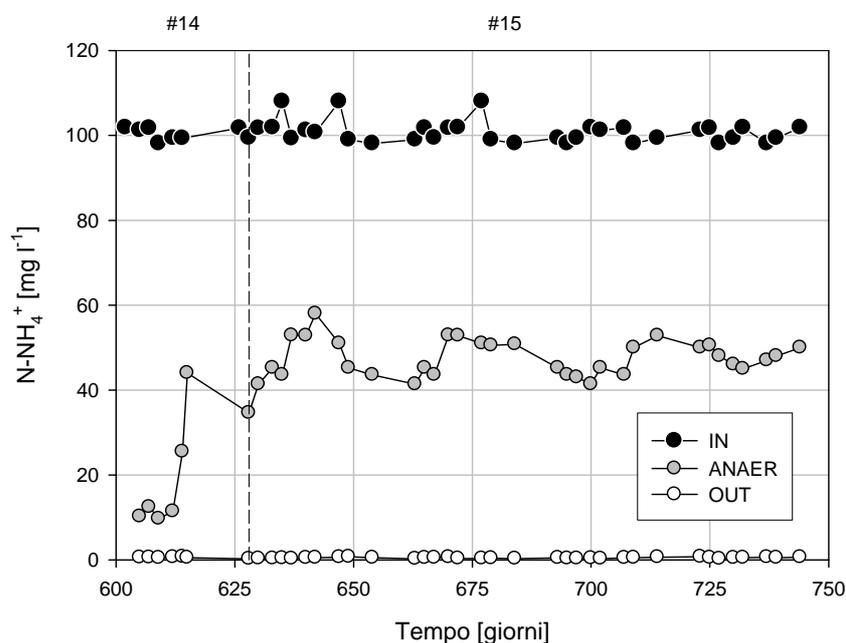


Figura 7.7 Andamento della concentrazione di azoto ammoniacale nel tempo.

La concentrazione di N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> nell'alimento è rimasta invariata (circa 100 mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> l<sup>-1</sup>) rispetto allo step 13-b. Il grafico di Figura 7.7 mostra

che la rimozione di azoto ammoniacale è pressoché completa anche durante questi ultimi 2 step. Durante gli step 14 e 15, il comparto anaerobico svolge una funzione meno decisiva rispetto agli step precedenti, in quanto la crescita della biomassa anaerobica, responsabile della rimozione dell'azoto ammoniacale nello stadio anaerobico, è sfavorita dalle basse temperature. Soprattutto durante lo step 15 si può notare come la degradazione di  $N-NH_4^+$  venga svolta in egual misura nei due comparti che costituiscono la MFC. Quest'ultima considerazione, che indica una buona capacità del comparto aerobico di nitrificare l'azoto ammoniacale che non viene degradato nel precedente comparto, è stata riscontrata nelle osservazioni microbiologiche che indicano la presenza di una biomassa aerobica ricca di cluster, tipici aggregati contenenti numerose specie batteriche nitrificanti.

In Tabella 7.7 sono riportati i dati relativi alle efficienze di depurazione (calcolate secondo la [3] e la [4]) dell'azoto ammoniacale. Questi valori danno conferma dell'effettivo ruolo svolto dai batteri aerobi nella nitrificazione dell'azoto ammoniacale proveniente dal comparto anaerobico.

Tabella 7.7 Efficienze depurative in termini di  $N-NH_4^+$ .

---

Step	Concentrazione mg $N-NH_4^+$ l <sup>-1</sup>			% Rimozione $N-NH_4^+$	
	In	Anaer	Out	Anaer	Tot
14	100,47	20,45	0,56	79,7	99,4
15	101,73	46,92	0,36	53,9	99,6

---

La concentrazione di ossigeno disciolto (DO) all'interno del comparto aerobico, è stata monitorata durante tutto il periodo, e mantenuta entro valori compresi tra 7 e 8 mg l<sup>-1</sup> (necessari per lo sviluppo delle reazioni catodiche), regolando opportunamente il sistema di aerazione.

---

Al fine di effettuare un controllo completo del processo è stato costantemente monitorato anche il pH sul refluo in ingresso, sull'effluente del comparto anaerobico (importante per individuare eventuali condizioni di acidità) e sull'effluente finale, i cui valori medi durante gli step 14 e 15 sono rispettivamente: 7,29; 6,71 e 7,39.

A partire dallo step 13 sono stati determinati, su campioni prelevati dal comparto anaerobico, i valori dell'alcalinità (AT), espressa come  $\text{mg l}^{-1}$  di carbonati, e degli acidi grassi volatili (VFA), espressi come  $\text{mg l}^{-1}$  di acetato, di cui sono riportati in Figura 7.8 gli andamenti nel tempo.

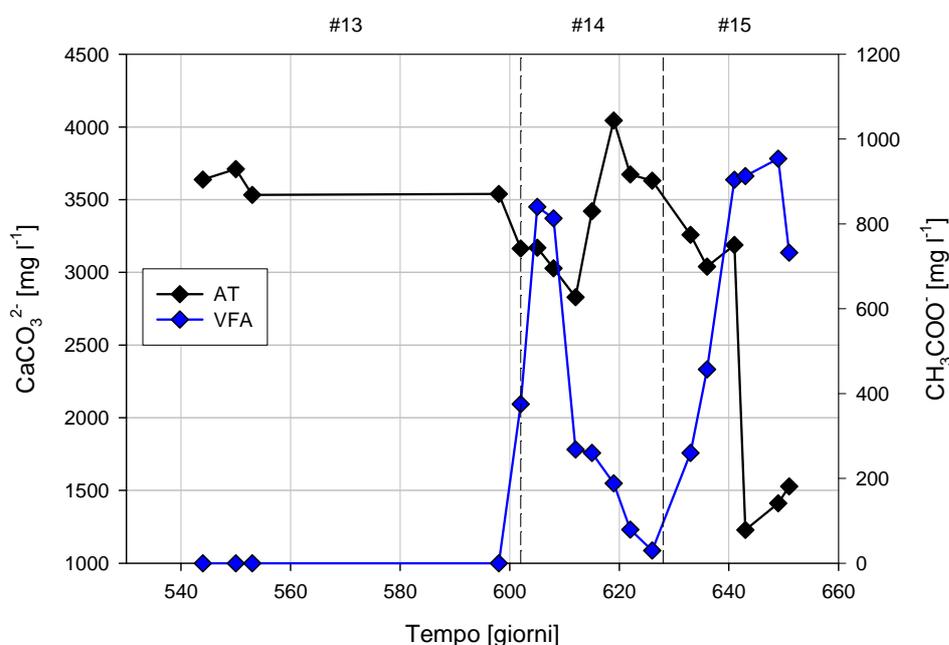


Figura 7.8 Andamenti delle concentrazioni di alcalinità (AT) e acidi grassi volatili (VFA) misurati durante gli step di sperimentazione 13, 14 e 15.

Come illustra il grafico di Figura 7.8, durante lo step 13 il valore dell'alcalinità è pressoché costante e superiore a  $3500 \text{ mg CaCO}_3^{2-} \text{ l}^{-1}$  e la concentrazione di VFA nel comparto anaerobico risulta pressoché nulla. Durante gli step successivi si osserva invece notevoli variazioni: la concentrazione di VFA aumenta, in seguito alle modifiche delle condizioni

operative che vengono apportate (spegnimento della sonda scaldante) per poi diminuire, tendendo ad una stabilizzazione. L'alcalinità tende invece a diminuire in corrispondenza di ciascun incremento degli acidi grassi volatili (VFA), indicando la presenza di temporanee condizioni di acidificazione del comparto anaerobico, in breve superate.

### ***7.2 Risultati delle misure volte a stabilire le prestazioni elettriche***

In riferimento alla suddivisione riportata nel paragrafo precedente, e per l'intera durata degli step già individuati, sono state calcolate le efficienze elettriche della MFC, come riportato nei successivi paragrafi.

#### **7.2.1 Step 12 e 13: avviamento e pieno regime della grafite granulare**

I valori di tensione e corrente generata dalla MFC, misurati durante l'intervallo di tempo che comprende gli step #12 e #13, riguardanti l'avviamento e il pieno regime della configurazione adottata nella Fase V (elettrodi in grafite granulare), presentano l'andamento riportato in Figura 7.9.

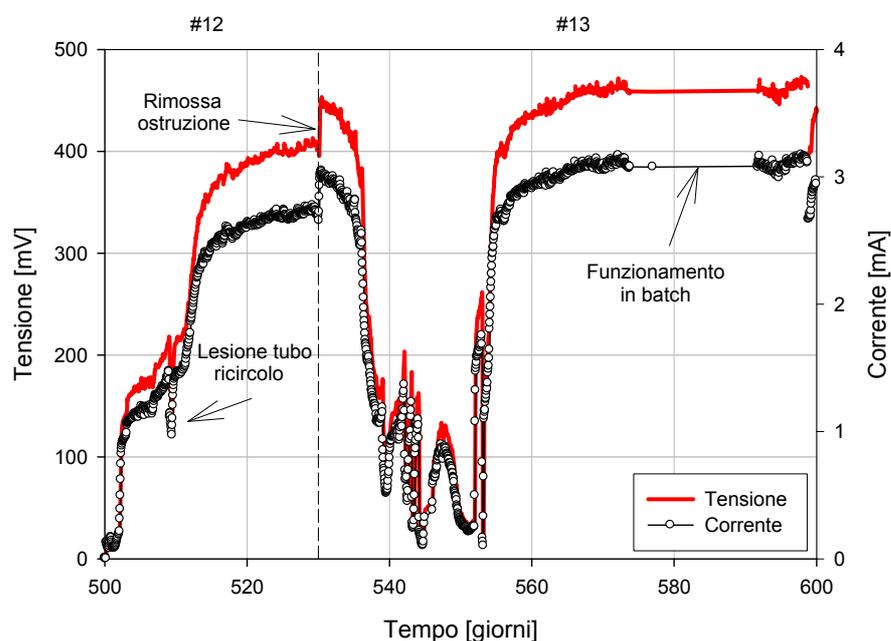


Figura 7.9 Andamento di tensione e corrente prodotti dall'impianto negli step 12 e 13 di sperimentazione.

Al termine della fase di avviamento, si osserva un elevato incremento dei valori di tensione e corrente generata nella MFC, dovuto all'adattamento della biomassa alle nuove condizioni: nell'arco dello step #12 infatti, la corrente generata passa da 0 mA a 2,7 mA, mentre la tensione passa da 0 mV a 410 mV.

Alcuni problemi di natura tecnica hanno impedito un rapido raggiungimento delle prestazioni ottimali della MFC:

Dopo 36 giorni dall'avviamento della MFC con elettrodi in grafite granulare, si è assistito ad un peggioramento delle prestazioni elettriche. Nel tentativo di riportare l'impianto alle sue condizioni ottimali si sono tentate alcune soluzioni: si è provato ad invertire il senso di funzionamento della pompa che ricircola i fanghi dal sedimentatore al comparto aerobico, ipotizzando che quest'ultimo accumulasse troppa biomassa sul fondo; si è più volte somministrato glucosio nella camera aerobica ritenendo che una

minima quantità di substrato prontamente disponibile giungesse dal comparto anaerobico; si è aggiunta una pompa che permettesse un'aerazione ulteriore nel comparto aerobico, ritenendo che l'ossigeno disponibile non fosse sufficiente per la reazione di riduzione al catodo.

Solo dopo 60 giorni dall'inizio della Fase V (utilizzo di grafite granulare), l'impianto ha ricominciato a funzionare in modo regolare.

Nell'intervallo di tempo che va dal giorno 585 al giorno 603 dall'avviamento della sperimentazione, l'impianto è stato fatto funzionare in modalità batch.

Durante l'intera durata di tale periodo, il sistema di acquisizione Datalogger non ha rilevato i valori delle grandezze elettrochimiche misurate, a causa di un cortocircuito provocato dalla rottura della resistenza scaldante situata nel comparto anaerobico, che in questo lasso di tempo è quindi rimasto a temperatura ambiente.

Le prestazioni raggiunte durante lo step #13 sono le migliori ottenute dalla MFC con la configurazione prevista e caratterizzata dalla presenza di grafite granulare. Il valore massimo di corrente è pari a 3,2 mA, mentre la tensione massima raggiunta è pari a 480 mV; inoltre il valore di corrente specifica (calcolata per unità di superficie di elettrodo) è di 20 mA m<sup>-2</sup>, se calcolata sulla superficie dell'elettrodo di grafite vetrosa, mentre è di 1,57 µA m<sup>-2</sup>, se calcolata sulla superficie della grafite granulare.

Come si può notare, la differenza tra le prestazioni ottenute dalla MFC con la configurazione caratterizzata da elettrodi in grafite granulare e quelle ottenute con la configurazione caratterizzata da elettrodi in grafite vetrosa è molto elevata (si noti la variazione dell'ordine di grandezza), mostrando come l'uso di grafite granulare presenti, per l'impianto oggetto di sperimentazione, numerose difficoltà di ordine pratico-applicativo e non

comporti, in queste condizioni, un reale incremento delle prestazioni elettriche.

L'andamento della potenza specifica prodotta dalla MFC durante gli step #12 e #13 è mostrato nella Figura 7.10.

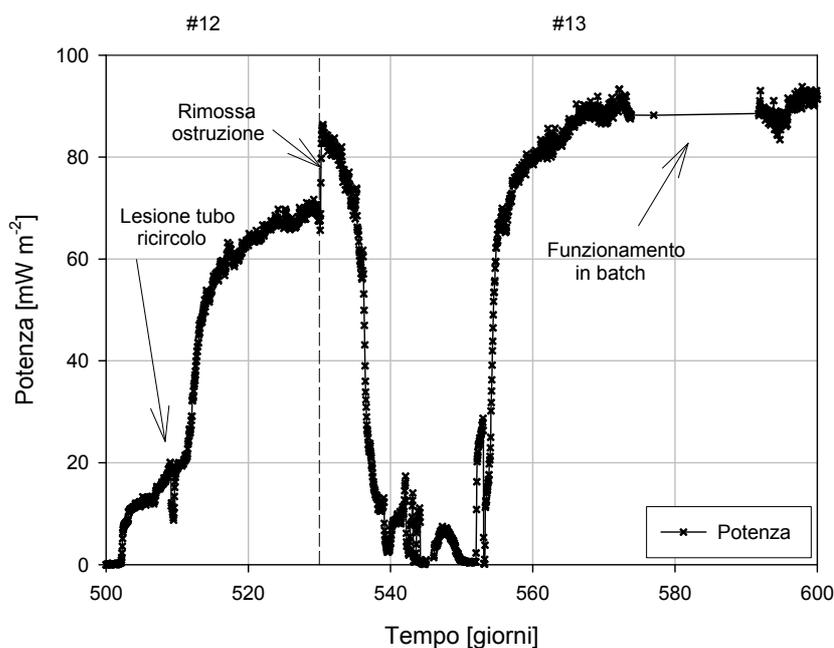


Figura 7.10 Andamento della potenza specifica prodotta dall'impianto.

Per la potenza specifica si osservano gli stessi andamenti e le medesime problematiche descritte per la tensione e la corrente.

I valori massimi raggiunti risultano pari a  $95 \text{ mW m}^{-2}$ , calcolati sulla superficie dell'elettrodo di grafite vetrosa, e  $1,5 \mu\text{W m}^{-2}$ , calcolati sulla superficie della grafite granulare. Le migliori prestazioni raggiunte quando l'impianto funzionava con la configurazione iniziale (elettrodi in grafite vetrosa) indicavano una potenza specifica di  $75 \text{ mW m}^{-2}$ : pertanto, anche in riferimento alla potenza prodotta, l'impianto oggetto di studio, operante con grafite granulare, non consente di ottenere migliori prestazioni.

Nella Figura 7.11 è riportato l'andamento del carico organico convertito in corrente. Tale valutazione è stata condotta considerando che l'area sottesa alla curva dell'intensità di corrente, misurata nell'arco di una giornata, è direttamente proporzionale alla quantità di sostanza organica, espressa in termini di COD, convertita in elettricità (cfr paragrafo 5.3.2).

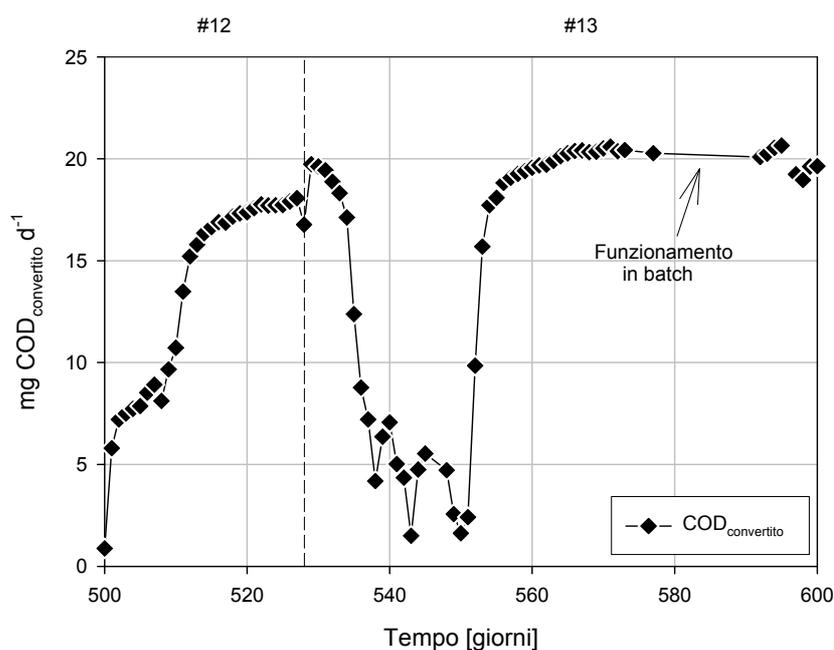


Figura 7.11 Andamento del carico organico convertito in corrente.

L'andamento del carico organico che, durante il funzionamento dell'impianto, è stato convertito in corrente segue l'andamento della corrente stessa, essendo ad essa proporzionale. Il massimo valore di carico (espresso in termini di COD) convertito in corrente durante il periodo di funzionamento della MFC con elettrodi in grafite granulare è risultato pari a 20,5 g COD d<sup>-1</sup>.

Di particolare interesse si rivela il grafico mostrato in Figura 7.12, ove sono riportate le percentuali di conversione tra il COD misurato

nell'effluente del comparto anaerobico e la corrente generata, tale parametro esprime l'Efficienza Coulombica della MFC.

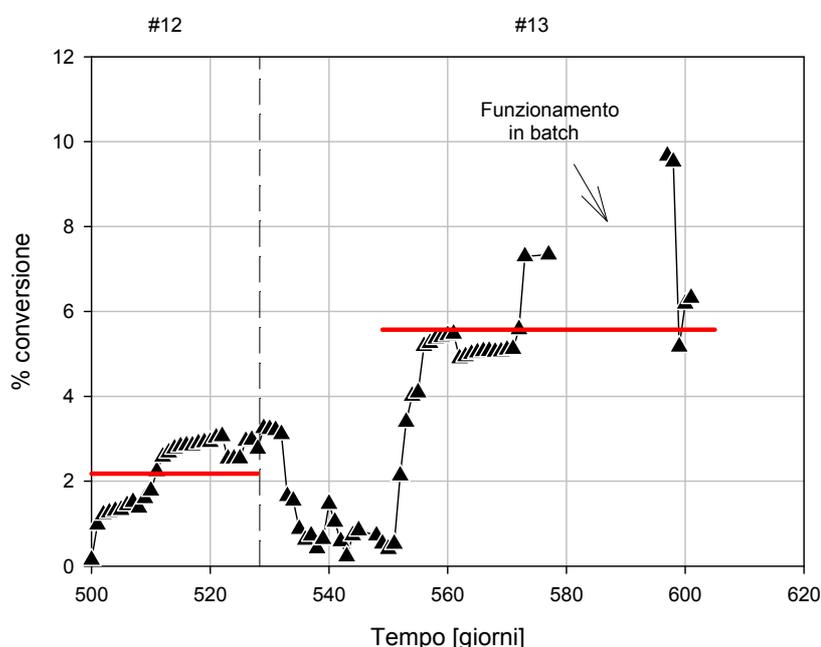


Figura 7.12 Andamento delle percentuali di conversione COD anaerobico-corrente (Efficienza Coulombica).

Si noti che l'Efficienza Coulombica è stata calcolata sul COD misurato sull'effluente del comparto anaerobico e non su quello misurato all'ingresso della MFC; gran parte del substrato alimentato non è infatti disponibile per la produzione di corrente in quanto degradato a metano nel primo comparto anaerobico.

Durante lo step 12 l'Efficienza Coulombica, e quindi la rimozione di COD tramite produzione di corrente elettrica (calcolata in funzione del valore di COD presente nel comparto anaerobico), è risultata pari al 2,2 % circa, mentre durante lo step 13 sono stati trascurati i valori rilevati fino al giorno 550, periodo in cui le condizioni della MFC non erano ottimali, ottenendo un'efficienza pari al 5,6 % circa.

In Figura 7.13 sono riportati gli andamenti dei potenziali di semicella dei due elettrodi, misurati rispetto ad un terzo elettrodo di riferimento al calomelano, sistemato nel comparto aerobico.

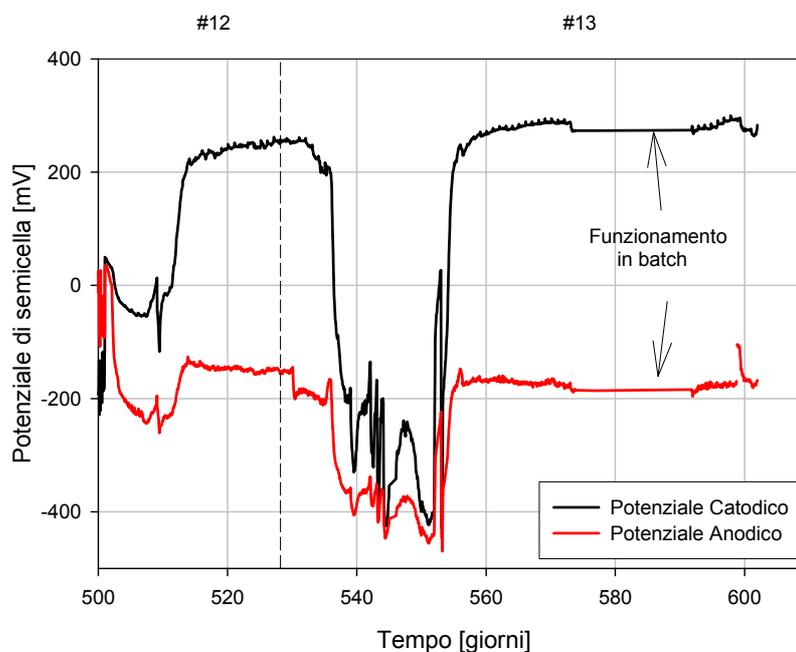


Figura 7.13 Andamento dei potenziali di semicella nel corso della sperimentazione.

La tensione prodotta è esprimibile in base alla differenza di potenziale instauratasi tra i due elettrodi, ed è individuabile sul grafico di Figura 7.13 come l'area compresa tra le curve che individuano gli andamenti dei due potenziali di semicella.

Si osserva come ad un incremento dell'area compresa tra le due curve corrisponde un incremento della tensione misurata sulla MFC. Applicando la legge di Ohm si individua anche una relazione tra la produzione di corrente e l'area individuata. Infatti, quando i potenziali di semicella assumono valori simili, o il valore del potenziale anodico è superiore a quello catodico, la produzione elettrica diminuisce.

### 7.2.1 Step 14 e 15 spegnimento della sonda scaldante, prestazioni elettriche

Nel periodo comprendente gli step 14 e 15, sono state valutate le potenzialità della MFC come sistema per il monitoraggio di digestori anaerobici e a tal fine la resistenza scaldante del comparto anaerobico è stata spenta. I valori misurati di tensione e corrente, grandezze elettriche che presentano il medesimo andamento nel tempo, hanno l'andamento riportato in Figura 7.14.

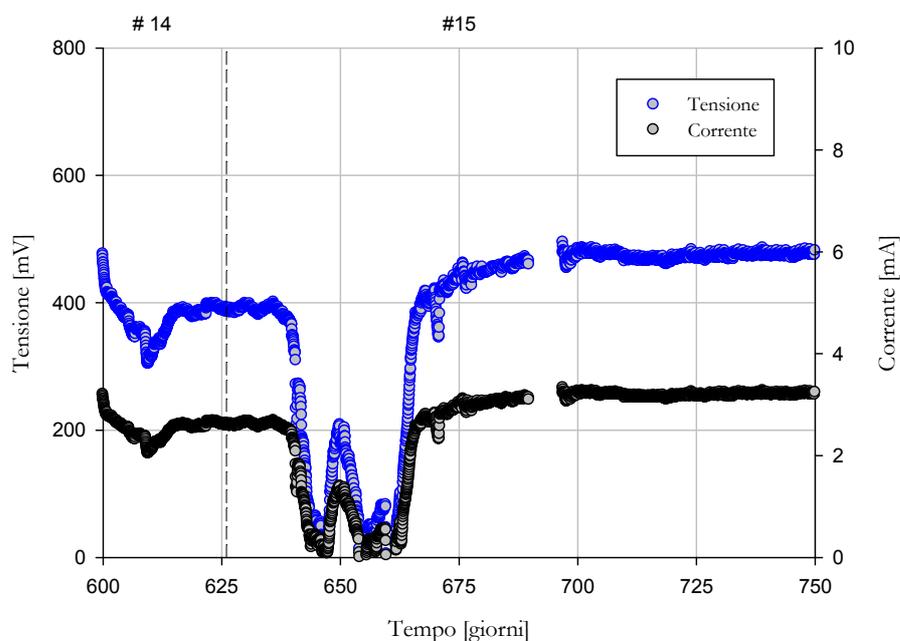


Figura 7.14 Andamento di tensione e corrente prodotti dall'impianto.

Durante lo step 14, nelle nuove condizioni operative (carico organico in ingresso di  $13,3 \text{ g COD d}^{-1}$  e comparto anaerobico mantenuto a temperatura ambiente) la MFC ha subito una sensibile diminuzione delle prestazioni elettriche. Dopo un periodo di assestamento i valori di tensione e corrente si sono stabilizzati rispettivamente attorno a 390 mV e 2,6 mA.

Durante lo step 15 il carico organico giornaliero è stato aumentato al valore di  $18,8 \text{ g COD d}^{-1}$ : nell'immediato, grazie all'elevato tempo di ritenzione del comparto anaerobico, le prestazioni elettriche non hanno risentito del cambiamento, mentre a partire dal giorno 640 si è verificato un brusco calo dei valori di tensione e corrente. Questo fatto è da attribuirsi sia all'aumento del carico in ingresso, sia al verificarsi di un guasto al sistema di aerazione che ha causato un peggioramento delle prestazioni catodiche.

Il giorno 650 si sono finalmente raggiunti valori di tensione e corrente coerenti con le condizioni operative dell'impianto:  $190 \text{ mV}$  e  $1,3 \text{ mA}$ . Purtroppo questa situazione non si è rivelata stabile e le prestazioni della MFC sono nuovamente diminuite.

L'andamento della potenza specifica prodotta dalla MFC durante gli step 14 e 15 è mostrato nella Figura 7.15.

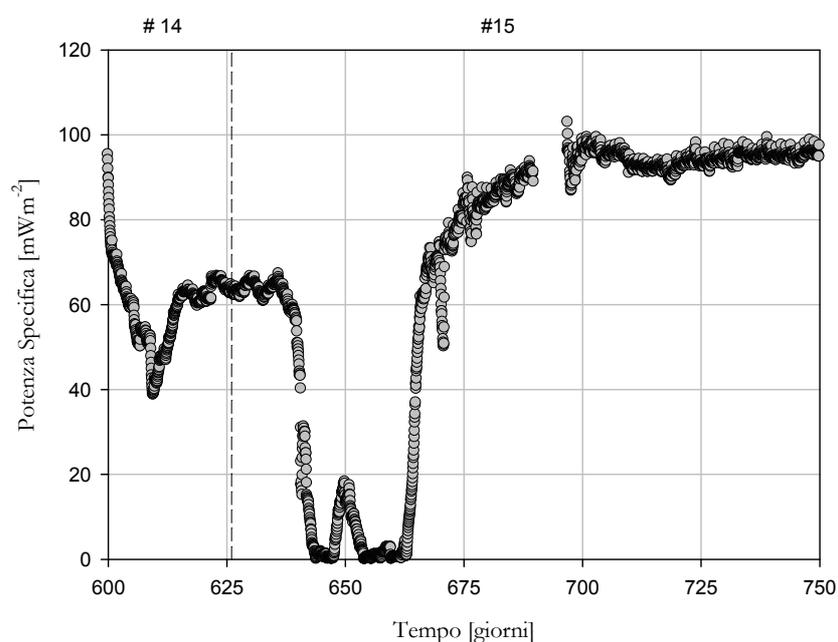


Figura 7.15 Andamento della potenza specifica prodotta dall'impianto.

Per la potenza specifica si osservano gli stessi andamenti e le medesime problematiche descritte per la tensione e la corrente.

I valori stabili raggiunti sono di  $63 \text{ mW m}^{-2}$  per lo step 14, e  $15 \text{ mW m}^{-2}$  per lo step 15. Entrambi i valori sono calcolati sulla superficie dell'elettrodo di grafite vetrosa. Nella Figura 7.16 è riportato l'andamento del carico organico convertito in corrente.

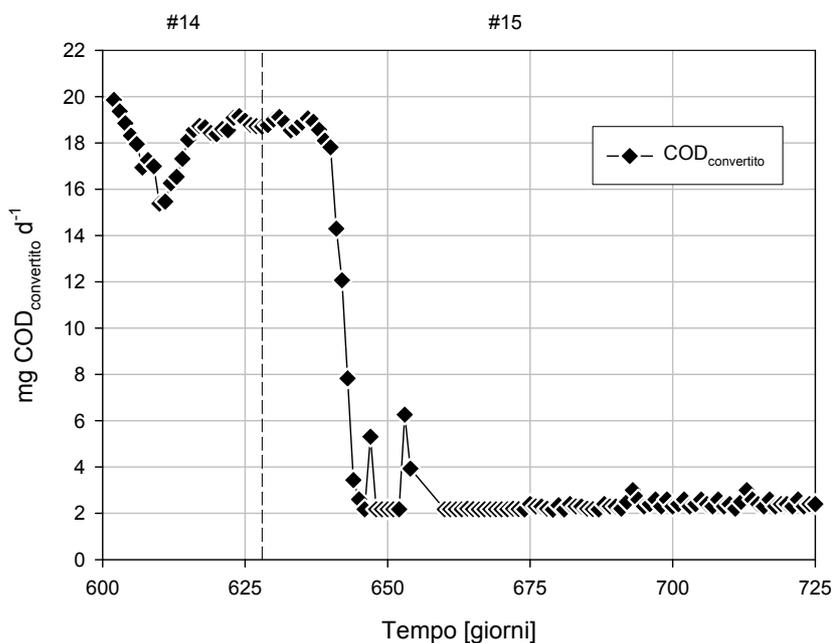


Figura 7.16 Andamento del carico organico convertito in corrente.

Tale valutazione è stata condotta considerando che l'area sottesa dalla curva dell'intensità di corrente misurata nell'arco di una giornata è direttamente proporzionale alla quantità di sostanza organica, espressa in termini di COD, convertita in elettricità (cfr paragrafo 5.3.2).

L'impianto ha consentito di ottenere valori stabili del carico di COD convertito in corrente pari a:  $19 \text{ g COD d}^{-1}$  per lo step 14 e solamente  $2 \text{ g COD d}^{-1}$  per lo step 15.

Di particolare interesse si rivela il grafico in Figura 7.17, che mostra le percentuali di conversione tra il COD del comparto anaerobico e la corrente, e cioè l'efficienza Coulombica della MFC.

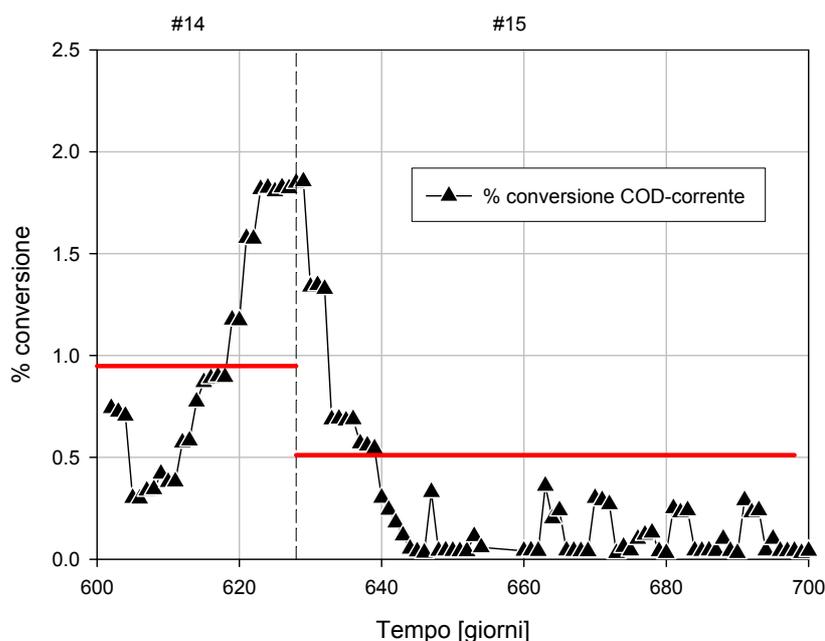


Figura 7.17 Andamento delle percentuali di conversione CODanaerobico-corrente (efficienza Coulombica).

L'efficienza Coulombica è stata calcolata sul COD misurato sull'effluente del comparto anaerobico e non su quello in ingresso, poiché la maggior parte di quest'ultimo non è disponibile per la produzione di corrente in quanto viene degradata nel primo comparto anaerobico.

Durante lo step 14 l'efficienza Coulombica, e quindi la rimozione di COD tramite produzione di corrente elettrica rispetto al valore di COD presente nel comparto anaerobico, raggiunge quasi l'1 %, mentre durante lo step 15 tale valore scende allo 0,5 %.

In Figura 7.18 sono riportati gli andamenti dei potenziali di semicella dei due elettrodi, misurati rispetto ad un terzo elettrodo di riferimento al calomelano, sistemato nel comparto aerobico.

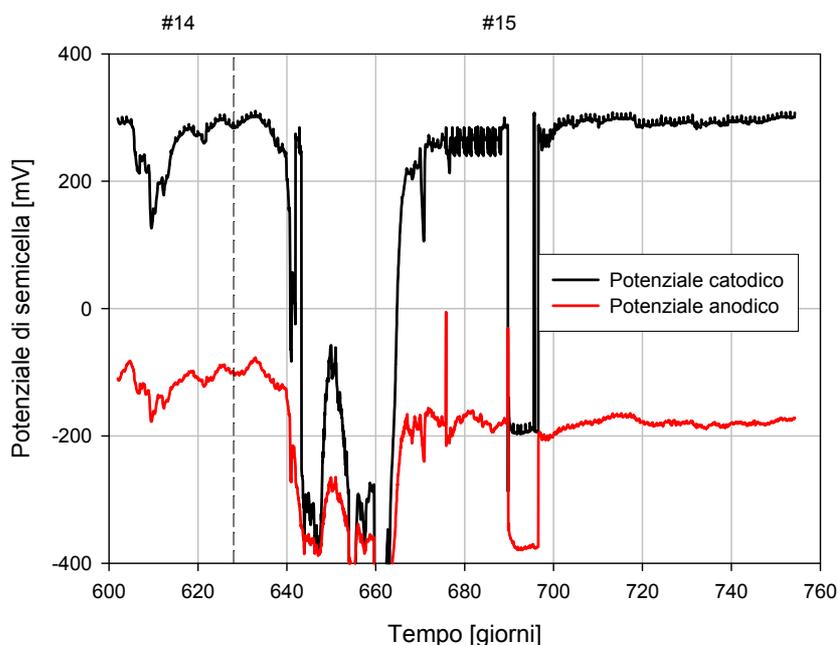


Figura 7.18 Andamento dei potenziali di semicella individuati nel corso della sperimentazione.

La tensione prodotta è esprimibile in base alla differenza di potenziale instauratasi tra i due elettrodi, ed è individuabile sul grafico precedente, come l'area compresa tra i due diagrammi. Quindi tanto più ampia è la distanza tra curva nera e rossa tanto maggiore è la tensione di cella e di conseguenza (attraverso la legge di Ohm) la produzione di corrente.

### **7.3 Osservazione della biomassa presente nella MFC**

Come riportato precedentemente nel Capitolo 5, nel secondo comparto dell'ABR e nel comparto aerobico sono state inserite, nella Fase

---

di sperimentazione V, due reti in materiale plastico caratterizzate da una porosità di 500  $\mu\text{m}$ , contenenti grafite granulare e gli elettrodi di grafite vetrosa già in precedenza utilizzati nel medesimo impianto.

In Tabella 7.8 sono riportate le quantità di grafite granulare, di fango granulare e di fango aerobico inoculate nella MFC.

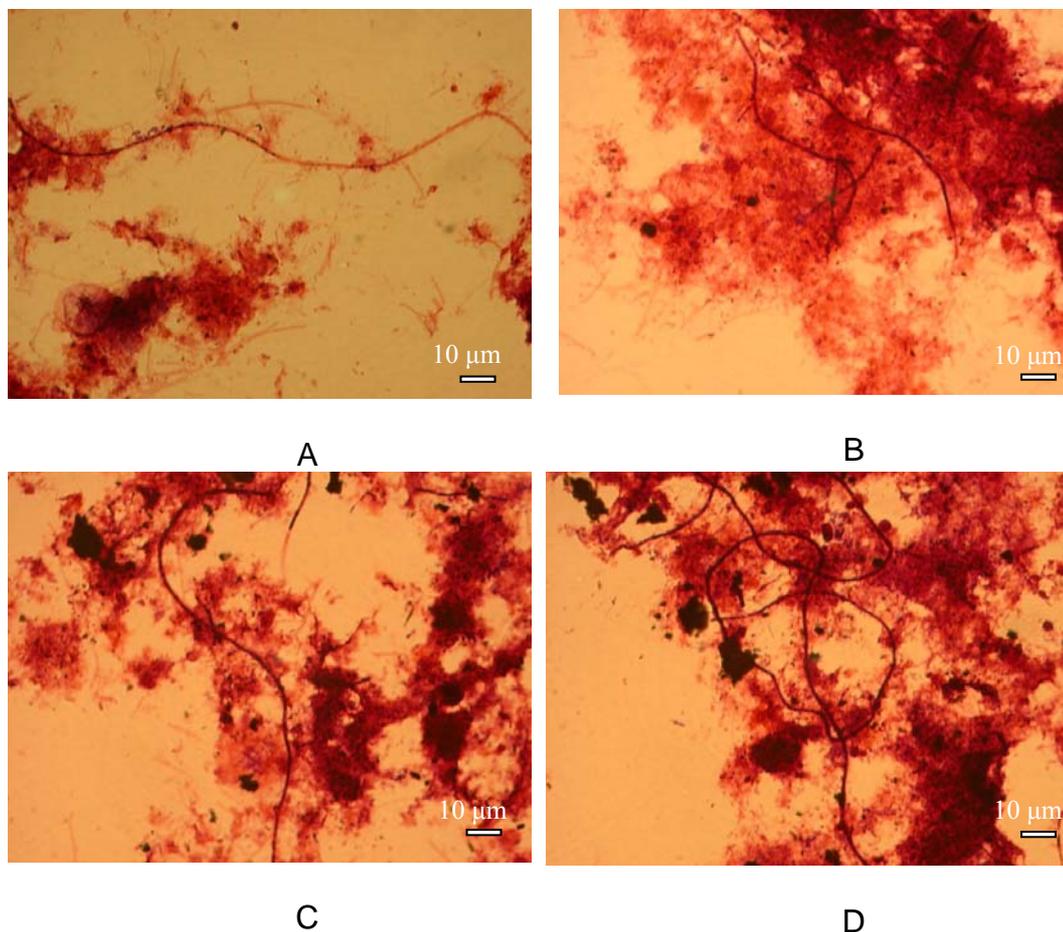
*Tabella 7.8 Quantità di fango e di grafite granulare inoculate nell'impianto.*

		Grafite granulare	Superficie utile	Fango granulare	Fango aerobico
		[kg]	$\text{m}^2$	[g]	[l]
Comparto anaerobico	I camera			3874	
	II camera	3	2029	831	
Comparto aerobico		3	2029		10

Come detto in precedenza, una particolarità della MFC oggetto di sperimentazione è che entrambi i compartimenti sono biotici, a differenza della maggior parte delle MFC descritte in letteratura, nelle quali i batteri vengono sfruttati solamente per il funzionamento del comparto anaerobico. Il lavoro condotto ha mirato quindi a conoscere e studiare la biomassa aerobica. Sono state effettuate osservazioni microscopiche di campioni prelevati esternamente alla rete di contenimento della grafite granulare e di campioni di biomassa interna alla rete stessa, e quindi adesa alla grafite granulare costituente il catodo.

Per una prima valutazione della biomassa aerobica presente nella MFC vengono riportate fotografie di campioni ottenute con colorazione di Gram, che permettono una prima classificazione in base alle caratteristiche peculiari della cellula microbica, nonché foto di campioni sottoposti ad analisi FISH e controcolorati con tecnica DAPI.

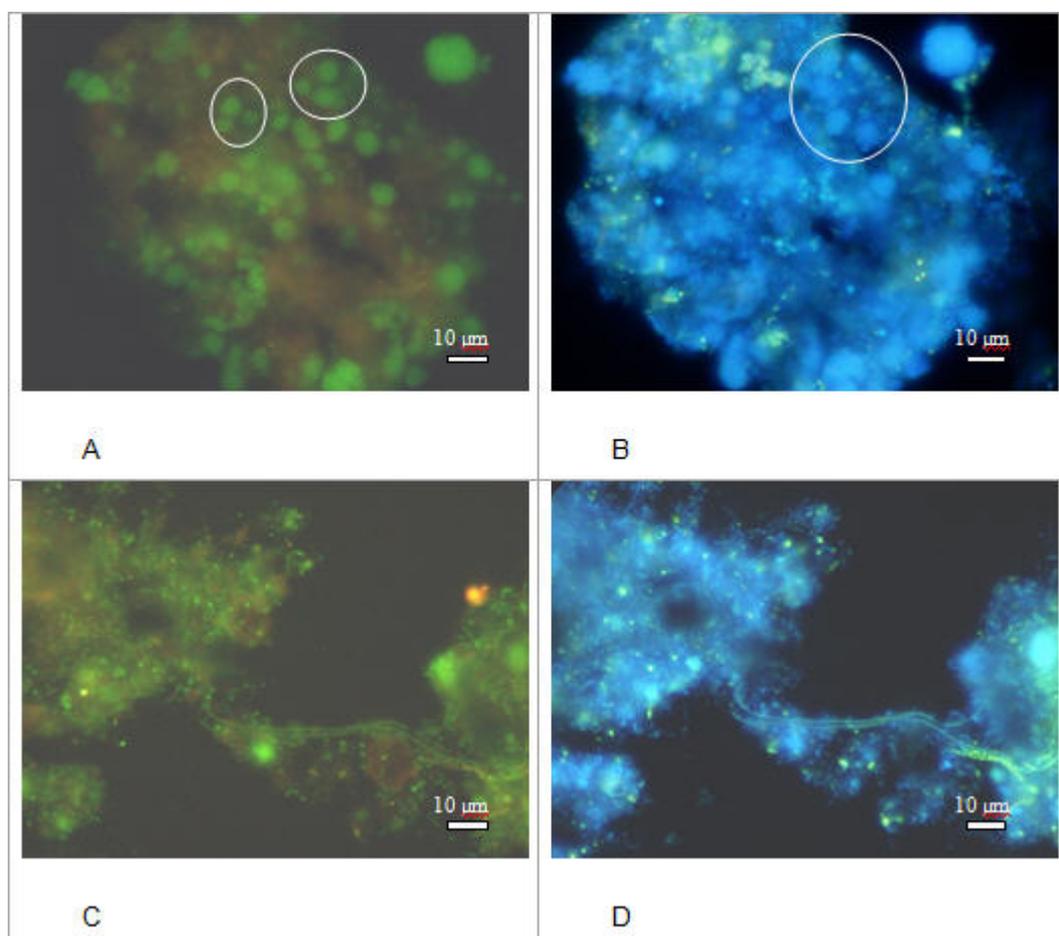
In Figura 7.19 sono riportate le fotografie realizzate sui campioni sottoposti a colorazione di Gram.



*Figura 7.19 Colorazione di Gram applicata a campioni di biomassa esterna alla rete di contenimento (A e B) e a campioni di biomassa prelevati internamente alla rete di contenimento (C e D).*

Come si può notare la biomassa è ricca sia di fiocchi che di filamenti. Le cellule colorate di rosso indicano la presenza di batteri Gram negativi, mentre le cellule più scure (colorazione violacea) permettono il riconoscimento di batteri Gram positivi. Le macchie nere che sono presenti in particolare nella Figura 7.19 c e d, rappresentano infine alcuni frammenti di grafite granulare.

In Figura 7.20 sono riportate le fotografie realizzate mediante l'applicazione delle tecniche FISH e DAPI, sulla biomassa raccolta internamente alla rete di contenimento della grafite granulare.



*Figura 7.20 Biomassa prelevata da un'area interna alla rete di contenimento e sottoposta a ibridazione con sonda EUBmix (A e C), e inoltre controcolorata con tecnica DAPI (B e D).*

Anche esternamente alla rete di contenimento la biomassa presenta le caratteristiche tipiche dei fanghi attivi tradizionali. Pertanto, dalle considerazioni morfologiche svolte sulle fotografie scattate nel corso delle fasi di sperimentazione oggetto del presente capitolo, di cui quelle riportate sono esemplificative, è possibile affermare che non è stata riscontrata una significativa differenza morfologica tra la biomassa

presente nel fango aerobico prelevato internamente o esternamente alla rete di contenimento della grafite granulare.

Tuttavia sono state individuate significative differenze nella quantità di fango presente; infatti, all'interno della rete di contenimento si rileva una scarsa presenza di fango aerobico che si ritrova invece quasi totalmente all'esterno, quindi non ad intimo contatto con i granuli conduttivi di grafite, che compongono l'elettrodo catodico. Tale fenomeno può essere dovuto ad un effetto "filtro" generato dalla presenza della rete di contenimento della grafite granulare, che probabilmente è causa delle ridotte prestazioni elettriche ottenute dalla MFC in questa fase di sperimentazione.

## 8 *Refluo reale e grafite granulare - Analisi e commento dei dati sperimentali – Fase VI*

### **Generalità**

La sperimentazione condotta sulla MFC nelle fasi precedenti, oggetto dei capitoli 6 e 7, è stata suddivisa essenzialmente in due parti:

✚ Prime 4 Fasi, in cui sono stati utilizzati elettrodi costituiti da lastre realizzate in grafite vetrosa. Le prestazioni ottenute, sia in termini di efficienza depurativa che di rendimento elettrico, sono state più che soddisfacenti: l'impianto rimuoveva infatti il 99% del carico organico in ingresso, producendo una corrente continua massima pari a 2,8 mA (corrispondente ad una corrente massima specifica di  $175 \text{ mA m}^{-2}$ ), ed una tensione massima di 421 mV.

✚ Fase V, ipotizzando che ad un aumento della superficie disponibile per gli scambi di elettroni corrispondesse un incremento della corrente prodotta dalla MFC, si è deciso di inserire gli elettrodi già esistenti all'interno di grafite granulare contenuta da un'apposita rete di contenimento. La superficie utile per la produzione di corrente elettrica è passata da  $160 \text{ cm}^2$  a  $2029 \text{ m}^2$ . In queste condizioni l'impianto ha continuato a dimostrare efficienze depurative superiori al 99% sui valori di carico organico entrante, producendo una corrente massima pari a 3,2 mA ed una tensione massima di 480 mV.

Oggetto del presente capitolo è la sperimentazione condotta durante la Fase VI, caratterizzata dall'utilizzo di elettrodi in grafite granulare (gli stessi impiegati nella Fase V) e alimentazione dell'impianto per mezzo di un refluo reale a matrice zuccherina.

Durante tutta la campagna sperimentale precedentemente condotta, per alimentare l'impianto era stato utilizzato un refluo sintetico caratterizzato dalla presenza di un substrato facilmente biodegradabile (glucosio) e di composizione nota. Tale substrato consentiva di mantenere costanti le caratteristiche dell'alimento in ingresso all'impianto e di simulare un refluo industriale ad elevata concentrazione di sostanza organica.

Nell'ambito della presente fase si è deciso di alimentare l'impianto con un refluo reale a matrice zuccherina, prelevato periodicamente presso l'impianto di depurazione asservito alla struttura produttiva di un'azienda di lavorazione di prodotti caseari, situata in provincia di Bologna. Il refluo utilizzato è integrato in parti fissate di una quantità di siero di latte (proveniente dallo stesso impianto produttivo) al fine di incrementare sensibilmente il carico organico in ingresso alla MFC oggetto di studio.

Nel corso della sperimentazione, sono state rilevate le principali grandezze chimiche ed elettriche al fine di stabilire le prestazioni dell'impianto. Esse vengono presentate e discusse in due distinti paragrafi.

Nel presentare le elaborazioni delle misure effettuate, si fa riferimento agli step che hanno caratterizzato l'attività sperimentale così come esplicitati in Tabella 8.1, ed in particolare alla loro suddivisione in base alla portata volumetrica alimentata all'impianto.

Per meglio comprendere gli andamenti delle grandezze misurate e per precisare le strategie di carico e di lavoro, si evidenziano i problemi e le scelte tecnico/gestionali che hanno caratterizzato il periodo di funzionamento dell'impianto:

- ✚ il giorno 770 ha avuto inizio la fase di avviamento dell'impianto sperimentale alimentato con refluo reale;
- ✚ nel periodo compreso tra i giorni 804 e 837, l'impianto è stato alimentato in modalità batch. Per l'intera durata di tale periodo non è stato possibile raccogliere informazioni ed effettuare misure relativamente ai parametri normalmente monitorati;
- ✚ il giorno 836 della sperimentazione è stato sostituito il misuratore di biogas, in quanto un malfunzionamento sul preesistente misuratore causava periodicamente un ritorno di flusso idrico dal comparto aerobico verso il comparto anaerobico. Tale fenomeno induceva la presenza di miscela aerata all'interno della vasca anaerobica causando provvisori e ricorrenti innalzamenti del potenziale redox anaerobico (che in alcuni casi raggiungeva anche valori positivi) inficiando le prestazioni dell'impianto;
- ✚ lo stesso giorno (836), si è provveduto a ridurre la resistenza applicata al circuito esterno, portandola da un valore di 250 Ohm a 168 Ohm. In tal modo si è ottenuta una riduzione della tensione applicata e contemporaneamente un aumento del flusso di elettroni lungo il circuito esterno (con conseguente aumento della corrente prodotta);
- ✚ il giorno 859 è stata spenta la sonda scaldante situata nel primo comparto anaerobico, portando la temperatura interna della sezione anaerobica da 37 a 25 °C. Tale modifica è stata effettuata con l'obiettivo di rallentare l'attività metabolica della biomassa anaerobica, e ottenere un accumulo di VFA (prodotti intermedi del processo di metano-genesi) e COD nel comparto anaerobico;
- ✚ successivamente allo spegnimento della sonda scaldante e ad un incremento del carico organico a 42 gCOD d<sup>-1</sup>, si è osservato un incremento del COD nel comparto aerobico, ipotizzando di conseguenza un accrescimento della biomassa adesa al catodo in grafite granulare, responsabile di scarsa ossigenazione dell'elettrodo e di una progressiva diminuzione del potenziale di semicella catodica.

Per garantire una sufficiente ossigenazione al catodo (necessaria il completamento delle reazioni di riduzione), il giorno 886 è stato inserito un tubo di aerazione all'interno della rete di contenimento della grafite granulare;

- ✚ il giorno 899 è stato misurato un pH anaerobico intorno a 5,5. Tale valore indica normalmente condizioni di acidità, che costituiscono causa dei fenomeni di inibizione delle attività microbiche e ostacolo al corretto svolgimento del processo di digestione anaerobica. Si è provveduto quindi a sospendere provvisoriamente l'alimentazione alla MFC, e successivamente a riattivarla con un carico organico in ingresso inferiore ai 30 gCOD d<sup>-1</sup>. Tali accorgimenti hanno consentito la ripresa di una corretta attività della biomassa microbica, con conseguente ripristino delle condizioni ottimali di pH nel comparto anaerobico.

### **8.1 Prestazioni depurative dell'impianto**

Al fine di valutare l'efficienza depurativa della MFC, ottenuta in seguito alle diverse strategie di carico e di lavoro adottate durante la sperimentazione, sono stati rilevati i rendimenti di rimozione della sostanza organica all'uscita del comparto anaerobico e sull'effluente finale dell'impianto, l'andamento della produzione giornaliera di biogas e metano, nonché i rendimenti di rimozione dell'azoto ammoniacale. I risultati ottenuti vengono analizzati nei seguenti paragrafi.

#### **8.1.1 Rimozione della sostanza organica (COD)**

Per l'intera durata della Fase VI della campagna sperimentale è stato monitorato l'andamento dei valori di carico organico misurati rispettivamente sulla sezione in ingresso all'impianto, in uscita al comparto anaerobico e sull'effluente finale, come riportato in Figura 8.1.

Il carico organico in ingresso è stato fatto variare nell'ambito di ogni step, al raggiungimento di condizioni di stabilità, al fine di poter determinare i rendimenti di rimozione della sostanza organica e quindi verificare le prestazioni dell'impianto nelle diverse condizioni di lavoro e con l'ulteriore scopo di individuare una possibile correlazione tra parametri chimici (COD, VFA) ed elettrici (Corrente elettrica).

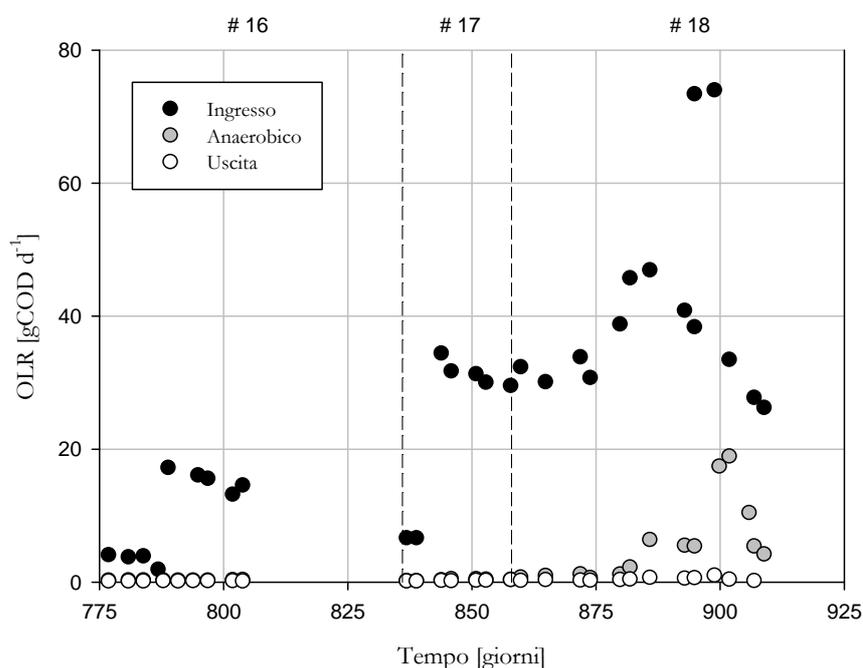


Figura 8.1 Andamento del carico organico misurato sull'alimento (Ingresso), sull'effluente del comparto anaerobico (Anaerobico) e sull'effluente finale dell'impianto (Uscita).

Nella fase iniziale di lavoro (step #16), è stato realizzato l'avviamento della MFC, alimentata con refluo reale (la cui composizione è riportata in § 5.1.3), ad una portata di 2,5 l d<sup>-1</sup>, corrispondente ad un carico organico entrante di 15,2 gCOD d<sup>-1</sup>, mentre a partire dal giorno 804 l'impianto è stato fatto funzionare in modalità batch.

Per tutta la durata dello step #16, l'impianto ha mostrato un'ottima capacità depurativa; la biomassa microbica si è adattata velocemente al

nuovo alimento permettendo di ottenere elevati valori di efficienza depurativa (come riportato in Tabella 8.1).

Nello step #17 è stato misurato il rendimento di rimozione della sostanza organica ottenuto in seguito ad un aumento del carico organico entrante, pari a 31,3 gCOD d<sup>-1</sup>. I risultati ottenuti e riassunti in Tabella 8.1, permettono di affermare che l'efficienza depurativa della MFC rimane elevata per tutta la durata dello step. Infatti, i valori misurati in uscita dal comparto anaerobico si mantengono inferiori a 104 mg l<sup>-1</sup> e quelli dell'effluente finale al di sotto di 30 mg l<sup>-1</sup>.

Nello step #18 si è deciso di spegnere la resistenza scaldante, impostando una temperatura all'interno del comparto anaerobico intorno ai 25 °C. La biomassa presente in tale comparto è di tipo mesofilo, cioè in grado di svolgere attività metabolica ad una temperatura compresa tra 20 e 45 °C, ma si trova in condizioni ottimali per valori di temperatura tra 30 e 37 °C. Pertanto, dal punto di vista biochimico, un abbassamento della temperatura comporta una riduzione della cinetica delle reazioni operate dai microrganismi costituenti la biomassa stessa. Questo può portare ad un aumento del contenuto di sostanza organica (carico organico anaerobico) presente nel comparto, nelle condizioni in cui il carico organico entrante è maggiore della velocità di degradazione del substrato da parte della biomassa microbica.

Un aumento del carico organico anaerobico (i cui valori sono indicati nel grafico di Figura 8.1) è stato ottenuto nel corso dello step #18, dopo che il carico entrante è stato portato inizialmente a 42 gCOD d<sup>-1</sup> e successivamente a 73,6 gCOD d<sup>-1</sup> (periodo compreso tra i giorni 879 e 899). In questo intervallo è stato ottenuto un valore di concentrazione massimo di 35 g l<sup>-1</sup> del COD nel comparto anaerobico.

All'aumento del carico organico anaerobico è seguito un aumento della concentrazione di acidi grassi volatili (VFA), in quanto questi ultimi sono prodotti intermedi del processo di metanogenesi.

L'accumulo di acidi nel comparto anaerobico e l'aumento del COD anaerobico hanno pertanto reso necessaria una nuova diminuzione del carico organico in ingresso, realizzata dapprima dimezzando la portata e poi diminuendola ulteriormente fino ad un valore di  $3,7 \text{ l d}^{-1}$ , corrispondente ad un carico in ingresso di  $27 \text{ gCOD d}^{-1}$ .

In Tabella 8.1 sono sintetizzate le prestazioni ottenute durante la sperimentazione e relative alle diverse condizioni di lavoro adottate, espresse in termini di rendimenti di rimozione del COD del comparto anaerobico e dell'impianto, rispettivamente determinate valutando i seguenti due parametri:

$$\eta_{anaer} = \frac{COD_{in} - COD_{anaer}}{COD_{in}} = 1 - \frac{COD_{anaer}}{COD_{in}}$$

$$\eta_{tot} = \frac{COD_{in} - COD_{out}}{COD_{in}} = 1 - \frac{COD_{out}}{COD_{in}}$$

Tabella 8.1 Rimozione del carico organico come COD nel comparto anaerobico e nell'impianto nel suo complesso.

Step	Portata	Carico organico	Rimozione COD [%]	
	[ $\text{l d}^{-1}$ ]	[ $\text{g COD d}^{-1}$ ]	Anaerobico	Totale

---

---

#16	2,52	15,2	96,79	99,56
<hr/>				
#17	3,07	10,7	99,10	99,47
	5,47	31,3	99,00	99,52
<hr/>				
#18	6,01	31,7	97,51	99,46
	9	42	90,40	98,98
	9	73,6	56,52	98,75
	4,31	33,4	70,40	99,09
	3,76	26,9	79,60	99,58

---

Dalla tabella è possibile riscontrare come le prestazioni depurative all'uscita dell'impianto non risentano della diminuzione di efficienza di rimozione di COD del comparto anaerobico, facendo registrare una efficienza di rimozione di COD sull'effluente finale minima del 98,75 %. Il COD misurato sull'effluente finale dell'impianto ha raggiunto un valore massimo di 102 mg l<sup>-1</sup>, al di sotto dei limiti di legge per scarichi in acque superficiali.

### 8.1.2 Produzione di metano

Il grafico di Figura 8.2 illustra l'andamento della produzione giornaliera di biogas e metano.

E' possibile osservare che, durante lo step #16, in cui si è voluta verificare l'efficienza depurativa dell'impianto rispetto al refluo reale, ad un carico organico entrante di 15,2 gCOD d<sup>-1</sup>, è corrisposta una produzione di biogas media di 8,6 l d<sup>-1</sup>; il metano era presente all'interno del biogas con una percentuale media pari al 56,4 %, da cui si desume una produzione media di metano di 4,8 l d<sup>-1</sup>.

Il giorno 836 è stato installato un nuovo misuratore del tipo “wet tip gas flow meter” al posto di quello preesistente, che aveva dato dei segnali di malfunzionamento. In particolare non garantiva una fuoriuscita continua e graduale del biogas prodotto, determinandone un accumulo eccessivo all’interno della camera anaerobica. Il rilascio di biogas avveniva in modo discontinuo, determinando dunque un eccesso di volume scaricato. Inoltre, tale fenomeno interferiva con l’idraulica dell’impianto, poiché i livelli idrici interni erano mantenuti all’equilibrio in funzione del battente di liquido impostato manualmente sul misuratore. Infatti, il normale e corretto trasferimento di flusso dal comparto anaerobico in direzione del comparto aerobico, realizzato in fase di accumulo del biogas, veniva ostacolato e alterato da un parziale ritorno del flusso stesso verso monte, in corrispondenza di ogni fase di rilascio del biogas attraverso il misuratore.

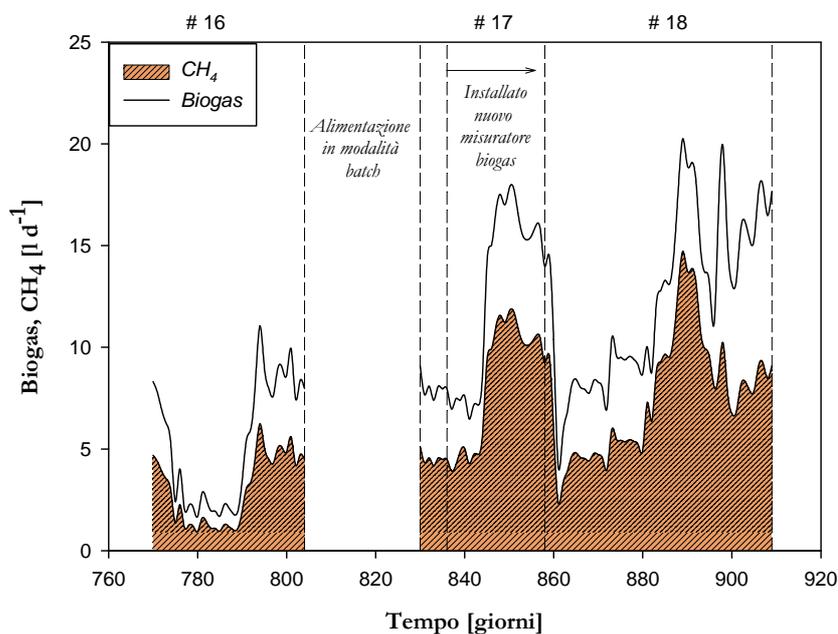


Figura 8.2 Andamento della produzione giornaliera di biogas e di CH<sub>4</sub> durante la sperimentazione.

Nello step #17 è stato misurato il rendimento di rimozione della sostanza organica ottenuto in seguito ad un aumento del carico organico entrante, pari a  $31,3 \text{ gCOD d}^{-1}$ . Come conseguenza, il biogas prodotto aumentava fino a  $15,9 \text{ l d}^{-1}$ , con una percentuale di metano misurata del 63,1%. Il volume giornaliero di metano prodotto nell'ambito di tale periodo è stato di  $10 \text{ l d}^{-1}$ .

L'inizio dello step #18 è stato caratterizzato dallo spegnimento della sonda scaldante (giorno 859), inserita nel II comparto anaerobico. L'attività della biomassa microbica in essa contenuta ha subito di conseguenza un notevole rallentamento, come evidenziato dall'andamento delle curve di produzione di biogas e di metano riportate in Figura 8.2, con una sensibile riduzione dei valori medi, rispettivamente  $7,4$  e  $4,2 \text{ l d}^{-1}$  (gg. 861-871).

Nei giorni successivi (gg. 872-879) si è osservato però un incremento della produzione giornaliera di biogas, indice del riadattamento della biomassa microbica al nuovo valore di temperatura della camera anaerobica ( $25 \text{ °C}$ ); ciò ha reso possibile incrementare il carico entrante a  $42 \text{ gCOD d}^{-1}$ , ottenendo la massima capacità di produzione di biogas (gg. 889-892) pari a  $18,8 \text{ l d}^{-1}$ , con un contenuto di metano misurato pari al 72,65% e quindi una produzione media di metano di  $13,7 \text{ l d}^{-1}$ .

Tuttavia, a partire dal giorno 893, è stata rilevata una nuova riduzione della produzione di biogas, effetto di un nuovo incremento del carico entrante a  $73,6 \text{ g COD d}^{-1}$  (giorno 895), con un minimo di  $11,1 \text{ l d}^{-1}$  di biogas prodotto. Tale andamento era prevedibile, considerando che nello stesso periodo si osservava un abbassamento del pH ad un valore di 5,8 e la presenza nel comparto anaerobico di una elevata concentrazione di acidi grassi volatili ( $1,8 \text{ g l}^{-1}$ ), indice di un rallentamento della velocità di degradazione del substrato.

Nei giorni conclusivi della sperimentazione, il carico organico entrante è stato ridotto fino a  $26,9 \text{ gCOD d}^{-1}$ , il pH nella camera anaerobica è risalito ad un valore di 6,6 e la produzione di biogas e di metano si è assestata intorno a valori medi di 16,5 e 8,5 rispettivamente, con una percentuale di metano nel biogas del 51,43%.

### 8.1.3 Rimozione del contenuto di azoto

Durante l'intero periodo di sperimentazione, oltre alla concentrazione di sostanza organica, si è deciso di monitorare anche la concentrazione di azoto, espresso sotto forma di azoto ammoniacale e nitrico, nelle principali sezioni dell'impianto, poiché tale elemento risulta tra i costituenti essenziali per la crescita dei microrganismi.

Nella Figura 8.3 sono visibili gli andamenti dell'azoto ammoniacale misurato nelle tre sezioni caratteristiche dell'impianto (Ingresso, Effluente anaerobico, Effluente impianto).

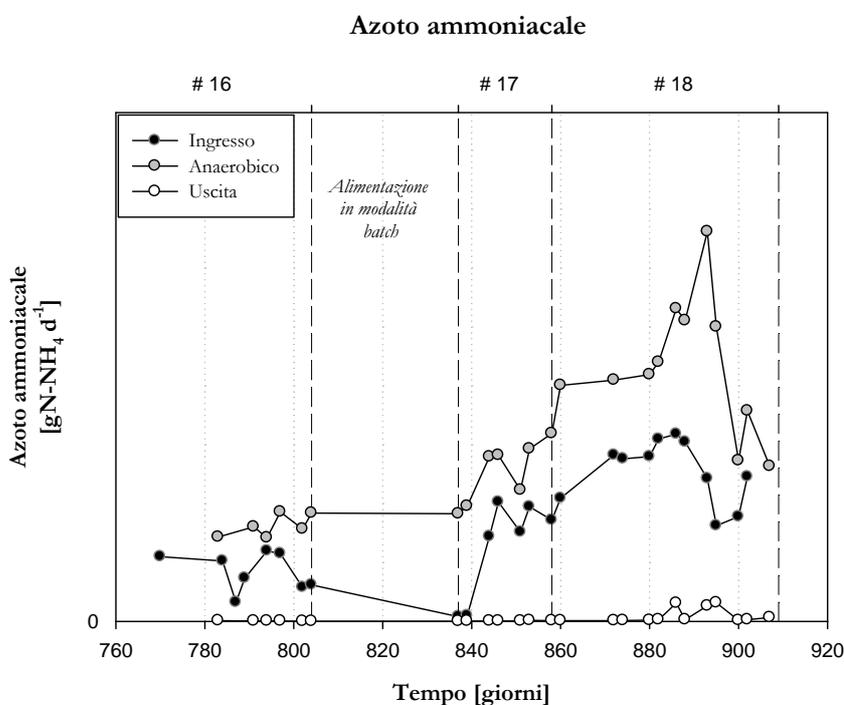


Figura 8.3 Andamento dell'azoto ammoniacale espresso come  $gN - NH_4 d^{-1}$ .

L'andamento dell'azoto ammoniacale misurato all'ingresso dell'impianto è variabile in conseguenza delle variazioni di carico organico e della natura del refluo alimentato, eterogeneo nella composizione, con caratteristiche che variano tra i diversi prelievi effettuati presso l'impianto di depurazione.

Dall'analisi degli andamenti illustrati è possibile osservare che la concentrazione di azoto ammoniacale presente nella vasca anaerobica è costantemente superiore a quella in ingresso.

Infatti, l'azoto presente nel refluo alimentato all'impianto si trova normalmente in parte sotto forma di ione ammonio ( $NH_4^+$ ) e in parte contenuto in molecole organiche complesse, in particolare *proteine* e *amminoacidi*. Le reazioni enzimatiche dei microrganismi consentono la trasformazione di queste molecole organiche in strutture semplici, ne deriva pertanto che gran parte dell'azoto organico contenuto nel refluo passa rapidamente in forma ammoniacale, determinando un incremento del carico di azoto ammoniacale nel passaggio del refluo all'interno del comparto anaerobico.

In condizioni aerobiche, il liquame in trattamento subisce le azioni di degradazione attuate da parte dei microrganismi nitrificanti. Nel comparto aerobico l'azoto è in parte assimilato dagli stessi microrganismi per la loro crescita ed in parte ossidato a nitrito e nitrato.

L'andamento del contenuto di azoto ammoniacale nell'effluente finale dell'impianto, mostrato in Figura 8.3, indica un rendimento molto elevato nella rimozione dell'azoto ammoniacale ad opera dei microrganismi che si trovano all'interno del comparto aerobico.

## Capitolo 8

---

Come riportato in Tabella 8.2, in uscita dall'impianto si registrano infatti valori mediamente inferiori ai  $0,5 \text{ mg l}^{-1}$  ( $2 \text{ mgN-NH}_4 \text{ d}^{-1}$ ) con un valore massimo di  $4 \text{ mg l}^{-1}$  ( $36 \text{ mgN-NH}_4 \text{ d}^{-1}$ ).

Si può affermare pertanto che l'impianto effettua una rimozione quasi completa dell'azoto ammoniacale e che il comparto aerobico svolge una funzione di affinamento dei processi di degradazione.

Tabella 8.2 Efficienze depurative in termini di  $\text{N-NH}_4^+$ .

Step	Portata	Azoto ammoniacale [g N-NH <sub>4</sub> /d]			Rimozione N-NH <sub>4</sub> [%]
	[l d <sup>-1</sup> ]	In	Anaer	Out	Totale
#16	2,52	0,098	0,188	0,001	99,50
#17	3,07	0,010	0,219	0,001	99,75
	5,47	0,200	0,323	0,001	99,61
#18	6,01	0,296	0,418	0,002	99,62
	9	0,312	0,591	0,019	96,81
	4,31	0,245	0,365	0,003	99,23
	3,76	0,174	0,305	0,008	97,41

In particolare, si precisa che i valori delle efficienze di depurazione sopra riportati sono stati calcolati mediante le seguenti relazioni:

$$\eta_{\text{anaer}} = \frac{N - \text{NH}_4^+_{\text{in}} - N - \text{NH}_4^+_{\text{anaer}}}{N - \text{NH}_4^+_{\text{in}}} = 1 - \frac{N - \text{NH}_4^+_{\text{anaer}}}{N - \text{NH}_4^+_{\text{in}}}$$

$$\eta_{\text{tot}} = \frac{N - \text{NH}_4^+_{\text{in}} - N - \text{NH}_4^+_{\text{out}}}{N - \text{NH}_4^+_{\text{in}}} = 1 - \frac{N - \text{NH}_4^+_{\text{out}}}{N - \text{NH}_4^+_{\text{in}}}$$

Nel grafico di Figura 8.4 sono riportati gli andamenti del contenuto di azoto ammoniacale misurato sull'effluente anaerobico, posto a confronto con il contenuto di azoto nitrico misurato sull'effluente finale dell'impianto. Come detto in precedenza, il carico di azoto in uscita dal comparto anaerobico viene degradato nel comparto aerobico ad opera dei microrganismi nitrificanti, che trasformano l'azoto ammoniacale ( $\text{NH}_4^+$ ) in azoto nitrico ( $\text{NO}_3^-$ ).

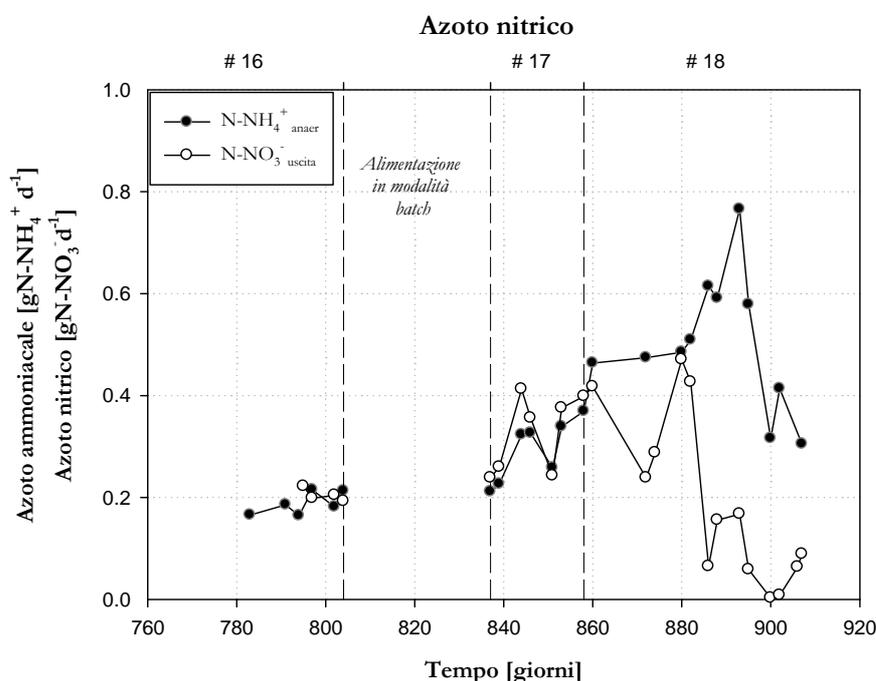


Figura 8.4 Andamento del carico di azoto nitrico ( $\text{NO}_3^-$ ) in uscita dall'impianto e del carico di azoto ammoniacale in uscita dal comparto anaerobico, entrambi misurati durante l'intero periodo di sperimentazione.

Il grafico sopra riportato mostra come negli step #16 e #17, all'interno del comparto aerobico, si siano instaurate condizioni di elevata efficienza di trasformazione dell'azoto ammoniacale in azoto nitrico. Tuttavia, l'impianto non è dotato di un comparto di denitrificazione pertanto, al termine del trattamento, l'effluente finale è caratterizzato dalla presenza di un elevato contenuto di nitrati. In particolare, i massimi valori di carico e di concentrazione raggiunti durante lo step #17, sono risultati rispettivamente pari a  $0,41 \text{ g N-NO}_3^- \text{ d}^{-1}$  e  $84,5 \text{ mg l}^{-1}$ .

Durante la sperimentazione sviluppata nello step #18, si è osservato come gli andamenti delle grandezze in esame divergono in alcuni punti, e l'azoto nitrico contenuto nell'effluente finale si presenta in diminuzione nonostante l'aumento del carico di azoto ammoniacale in ingresso al comparto aerobico.

Tale effetto è dovuto probabilmente all'instaurarsi di processi di denitrificazione biologica sul fondo del comparto di sedimentazione a causa di un'eccessiva nitrificazione (rising). Infatti, a monte della sezione di sfioro dell'effluente finale chiarificato, il flusso idrico attraversa il letto di fango presente sul fondo del comparto di sedimentazione. L'assenza di un comparto di denitrificazione dedicato può portare ad un anomalo accumulo di nitrati nel sedimentatore che, in presenza di contemporanee condizioni anossiche e presenza di substrato rapidamente biodegradabile, dà luogo al processo di conversione dell'azoto nitrico presente ad azoto gas ( $\text{N}_2$ ), determinando una sensibile diminuzione del contenuto di nitrato nell'effluente finale.

Il diagramma di Figura 8.4 mostra come tale fenomeno si sia verificato in corrispondenza del giorno 872, nel periodo successivo allo spegnimento della sonda scaldante e nei giorni successivi al massimo incremento di carico (gg 886-906).

### 8.1.4 Altri parametri monitorati

Durante la campagna sperimentale, oltre alla concentrazione di sostanza organica ed al contenuto di azoto ammoniacale e nitrico, sono stati monitorati anche gli andamenti di altri parametri, quali la concentrazione di ossigeno disciolto (DO) all'interno del comparto aerobico, il pH, l'alcalinità e la presenza di acidi grassi volatili (VFA) nel comparto anaerobico.

In particolare, la concentrazione di ossigeno disciolto (DO) all'interno del comparto aerobico è stata misurata durante tutto il periodo di sperimentazione. Regolando opportunamente il sistema di aerazione, è stato possibile mantenere valori di ossigeno disciolto superiori ai  $6 \text{ mg l}^{-1}$ , necessari per lo sviluppo ed il completamento delle reazioni catodiche.

Nell'ambito dello step #18, e precisamente intorno al giorno 886, è stato riscontrato un problema al sistema di aerazione del comparto aerobico; in quel periodo la concentrazione di ossigeno disciolto (DO) era scesa a  $3,8 \text{ mg l}^{-1}$ , ed è stato pertanto necessario procedere alla sostituzione del tubo di aerazione nel comparto aerobico, ottenendo un immediato ripristino delle condizioni ottimali di aerazione. In seguito, nel periodo di lavoro della MFC caratterizzato dal massimo carico organico alimentato ( $73,6 \text{ gCOD d}^{-1}$ , tra i gg. 895 e 899), si è osservata una nuova diminuzione della concentrazione di ossigeno disciolto, fino ad un minimo di  $1,1 \text{ mg l}^{-1}$ . Come sarà chiarito nel paragrafo successivo, entrambi i periodi caratterizzati da scarsa ossigenazione al comparto catodico hanno avuto conseguenze negative sulle prestazioni elettriche.

Al fine di effettuare un controllo completo del processo è stato costantemente monitorato anche l'andamento del pH del refluo in ingresso, dell'effluente del comparto anaerobico e dell'effluente finale. Di maggiore importanza si è rivelato il controllo dei valori di pH del comparto

anaerobico, poiché esso rappresenta un importante parametro indicativo del corretto svolgimento del processo di digestione anaerobica.

Si evidenzia che successivamente ad un incremento di carico a 73,6 g COD d<sup>-1</sup> (giorno 895) è stato registrato un abbassamento del pH fino ad un valore minimo di 5,8. A partire dal giorno 899 il carico organico entrante è stato ridotto fino a 26,9 g COD d<sup>-1</sup>. In seguito a tale modifica il pH nella camera anaerobica è risalito ad un valore di 6,6.

Durante gli altri periodi della sperimentazione l'andamento del pH non ha subito forti variazioni, mantenendosi normalmente all'interno dell'intervallo 6,7 - 7,0.

Nella Figura 8.5 sono inoltre illustrati gli andamenti dell'alcalinità totale (espressa in mg CaCO<sub>3</sub>) e degli acidi grassi volatili (VFA) misurati sull'effluente anaerobico durante gli step #17 e #18.

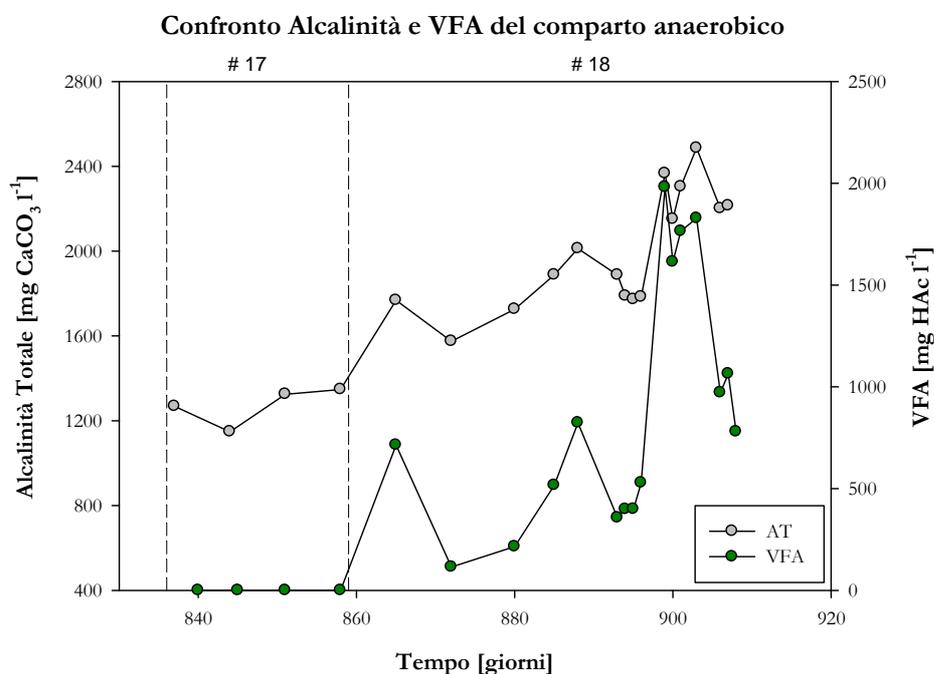


Figura 8.5 Andamento dell'Alcalinità totale e dei VFA dell'effluente anaerobico durante gli step #17 e #18.

A partire dallo step #17, è stata attuata una strategia di lavoro che aveva l'obiettivo di determinare un aumento progressivo della concentrazione dei VFA nel comparto anaerobico, al fine di individuare una possibile correlazione tra parametri chimici (COD, VFA) ed elettrici (Corrente elettrica). Tale aspetto sarà meglio chiarito nel Capitolo 10.

L'aumento progressivo della concentrazione di VFA è ben visibile dal grafico, da cui si osserva come, a partire da una concentrazione pressoché nulla di acidi grassi volatili (step #17), si rileva un primo picco (concentrazione pari a  $0,71 \text{ g l}^{-1}$ ), nella fase iniziale dello step #18, a seguito dello spegnimento della resistenza scaldante e della conseguente riduzione della temperatura del comparto anaerobico da  $37$  a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  (giorno 859). Dopo un periodo di stabilità caratterizzato da una diminuzione della concentrazione dei VFA (che indica un adattamento della biomassa anaerobica alle nuove condizioni di temperatura), è osservabile un secondo picco (giorno 888, concentrazione pari a  $0,82 \text{ g l}^{-1}$ ), ottenuto come conseguenza di un incremento del carico organico entrante, portato a  $42 \text{ gCOD d}^{-1}$ .

Dopo aver verificato il ripristino di condizioni di stabilità (caratterizzate dallo smaltimento dell'eccesso di VFA da parte delle differenti specie batteriche che intervengono nel processo di digestione anaerobica), è stato nuovamente aumentato il carico organico entrante fino ad un valore di  $73,6 \text{ gCOD d}^{-1}$ : ciò ha determinato un terzo aumento nella concentrazione dei VFA, che ha registrato un valore medio di  $1,8 \text{ g l}^{-1}$  (gg 899-903).

Infine, a seguito di una riduzione del carico organico entrante ( $27 \text{ gCOD d}^{-1}$ ), la concentrazione dei VFA si è ridotta fino ad un valor medio di  $0,94 \text{ g l}^{-1}$ .

Come sarà chiarito nel Capitolo 10, il raggiungimento, in alcuni periodi della sperimentazione, di differenti livelli di concentrazione di VFA, ha consentito di ottenere valori medi per i quali si è reso possibile determinare una correlazione con i valori medi delle grandezze elettriche misurate negli stessi intervalli.

### **8.2 Prestazioni elettriche dell'impianto**

In questo paragrafo sono presentati gli andamenti delle grandezze elettriche acquisite per l'intero periodo di sperimentazione con cadenza oraria e archiviate in un dispositivo di archiviazione dati (Datalogger).

#### **8.2.1 Andamento di tensione, corrente e potenza prodotte dalla MFC**

Nelle pagine seguenti sono riportati i risultati relativi alle prestazioni dell'impianto ricavate in termini di corrente, tensione e potenza prodotte, mettendo in relazione i relativi andamenti con i diversi periodi di lavoro.

Nell'ambito della sperimentazione oggetto del presente capitolo, a seguito dell'alimentazione dell'impianto con un refluo reale e a fronte del raggiungimento di ottime capacità depurative, non sono state ottenute prestazioni elettriche elevate quanto quelle ottenute nella campagna sperimentale precedente, quando l'impianto veniva alimentato con un refluo sintetico.

Ciò è evidente dall'andamento dei parametri elettrici già a partire dal primo step (#16) della sperimentazione: il valore di corrente prodotta diminuisce con continuità a partire dal valore iniziale massimo di 3,3 mA (valore medio di corrente generata alimentando la MFC con un refluo sintetico) a 2 mA. Analogamente, la tensione prodotta diminuisce da un valore iniziale di 500 mV a 150 mV.

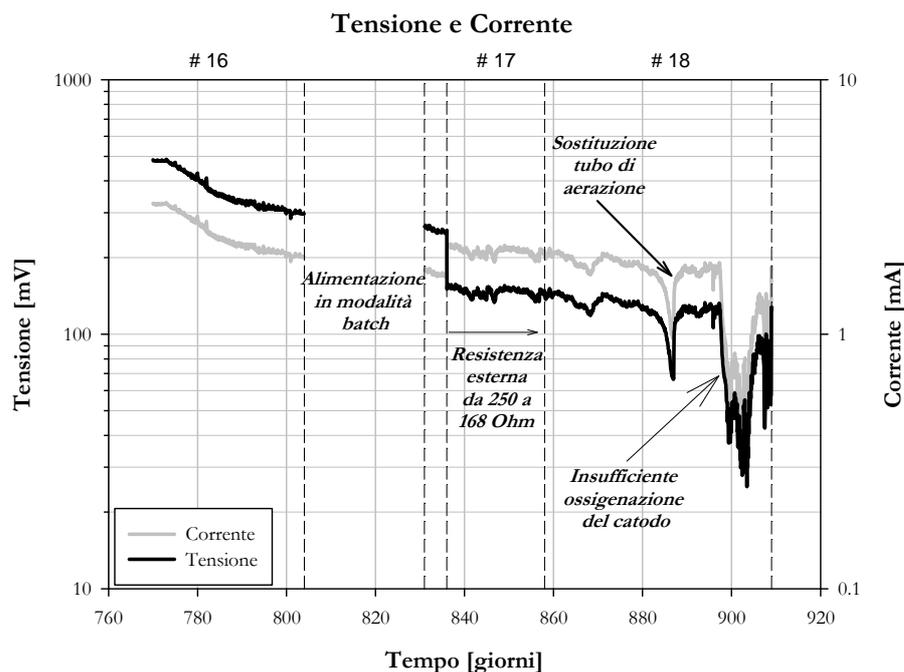


Figura 8.6 Andamenti della Corrente e della Tensione

Durante lo step #17 si è quindi deciso di diminuire la resistenza applicata al circuito esterno da un valore di 250 Ohm a 168 Ohm. In corrispondenza del giorno 836, infatti, si osserva un netto aumento di corrente da 1,7 a 2,2 mA, conseguenza diretta della minore resistenza al flusso di elettroni sul circuito esterno. Contemporaneamente si osserva una brusca diminuzione della tensione da 256 a 150 mV.

I valori di tensione e corrente generata dalla MFC, si sono poi mantenuti pressoché costanti fino al giorno 859 (inizio dello step #18), quando è stata spenta la resistenza scaldante posizionata nel comparto anaerobico. Il conseguente rallentamento delle attività microbiche nel comparto anaerobico (anodo della MFC), che ne ha determinato come detto in precedenza una diminuzione delle prestazioni depurative, ha influito negativamente anche sulle prestazioni elettriche ed in particolare sulle prestazioni del comparto catodico. Ciò è dovuto essenzialmente al fatto che un elevato apporto di COD al comparto aerobico (dovuto alla

inefficacia dell'abbattimento della sostanza organica ad opera dei batteri anaerobi), vi genera un aumento delle attività microbiche e quindi un eccesso nel consumo di ossigeno, la cui concentrazione deve essere superiore ai  $6 \text{ mg l}^{-1}$  affinché siano completate le reazioni di riduzione al catodo.

I giorni 885 e 886 sono state quindi apportate modifiche al sistema di aerazione, provvedendo ad inserire un nuovo tubo di aerazione con l'obiettivo di favorire l'ossigenazione al catodo.

Tali accorgimenti non sono stati sufficienti a prevenire una diminuzione della concentrazione di ossigeno disciolto nel periodo caratterizzato dal maggior carico organico entrante, cui corrisponde un valore elevato del COD in uscita dal comparto anaerobico (valore medio di  $2,2 \text{ gCOD l}^{-1}$ , valore massimo  $3,6 \text{ gCOD l}^{-1}$ ). Infatti è evidente, dall'andamento relativo all'ultimo periodo della sperimentazione mostrato in Figura 8.6, come una insufficiente ossigenazione al catodo abbia influito in modo fortemente negativo sulle prestazioni elettriche determinandone una netta diminuzione e una forte variabilità, infatti, tra i giorni 899 e 904 il valore di corrente media prodotta è stato di  $0,6 \text{ mA}$ , con un minimo di  $0,45 \text{ mA}$ , mentre il valore medio di tensione prodotta è stato di  $41,9 \text{ mV}$ , con un minimo di  $25 \text{ mV}$ .

Le prestazioni elettriche si sono riportate su valori più elevati quando il carico organico entrante è stato diminuito (ultimi giorni di sperimentazione, al termine dello step #18), generando un incremento della corrente prodotta fino ad un valore di  $1,8 \text{ mA}$  e di tensione fino a  $127 \text{ mV}$ .

L'andamento della potenza prodotta dall'impianto (Figura 8.7) riproduce gli andamenti di tensione e corrente. I relativi valori sono stati

determinati come potenza normalizzata rispetto alla superficie totale degli elettrodi in grafite vetrosa.

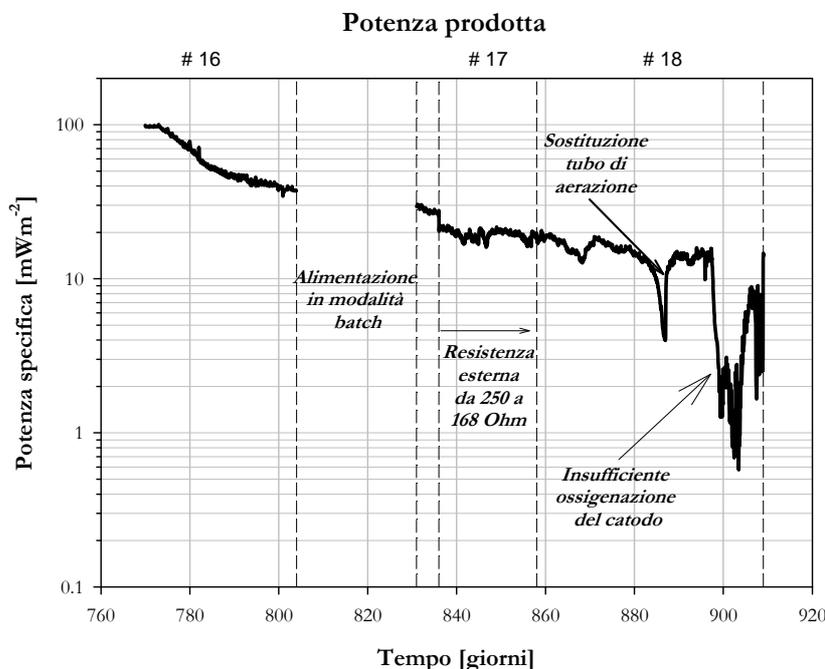


Figura 8.7 Andamento nel tempo della potenza normalizzata rispetto alla superficie degli elettrodi in grafite vetrosa.

Come per la corrente e la tensione, anche la potenza è diminuita con continuità da un valore iniziale di 98 mW m<sup>-2</sup> a un valore di 27 mW m<sup>-2</sup>. Ha poi registrato un ulteriore diminuzione in corrispondenza della variazione della resistenza esterna passando ad un valore di 20 mW m<sup>-2</sup>, che è rimasto pressoché costante durante lo step #17. Nello step #18, a seguito dello spegnimento della resistenza scaldante i valori della potenza generata sono ulteriormente diminuiti al valore di 14 mW m<sup>-2</sup> nel periodo 888-895, raggiungendo un minimo di 0,6 mW m<sup>-2</sup> il giorno 903.

### 8.2.2 Ulteriori parametri elettrici determinati

È possibile determinare l'andamento del carico organico convertito in corrente considerando che l'area sottesa dalla curva dell'intensità di

corrente, misurata nell'arco di una giornata, è direttamente proporzionale alla quantità di sostanza organica, espressa in termini di COD, convertita in elettricità (cfr. paragrafo 5.3.2):

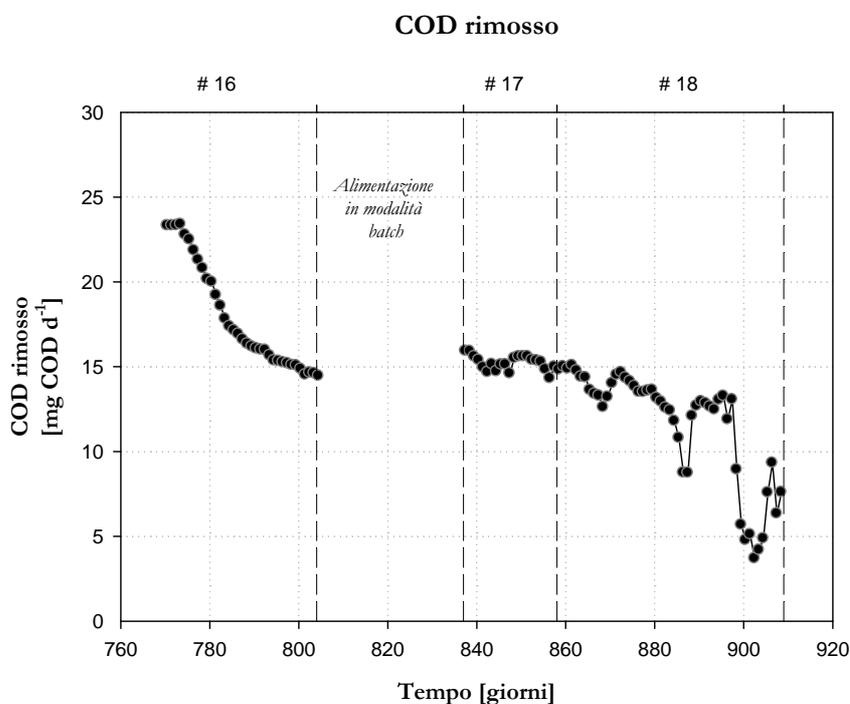


Figura 8.8 Andamento del COD rimosso determinato teoricamente dai valori di corrente.

Come si può notare dal grafico sopra riportato, la quantità di sostanza organica rimossa e convertita in elettricità risulta massima nella fase iniziale dello step #16, in corrispondenza della massima produzione di corrente elettrica (cfr. Figura 8.6). Durante lo step #17, i risultati ottenuti presentano un andamento pressoché costante, mentre nello step #18 si rileva una netta diminuzione, conseguente con buona probabilità alla diminuzione della temperatura operata sul comparto anaerobico, nonché alle nuove condizioni di lavoro imposte alla MFC (in riferimento all'accumulo di VFA, come indicato in Figura 8.5).

Di particolare interesse si rivela l'andamento dell'efficienza Coulombica (cfr. § 4.2.2, esprime la percentuale di COD rimosso e

convertito in corrente elettrica rispetto al valore di COD presente): tale grandezza è stata calcolata sul COD del secondo comparto anaerobico (e non sul COD in ingresso), poiché la maggior parte della sostanza organica è degradata nel primo comparto anaerobico, risultando quindi non disponibile per la produzione di corrente.

In Figura 8.9 è illustrato l'andamento dell'efficienza Coulombica ottenuta dalla MFC.

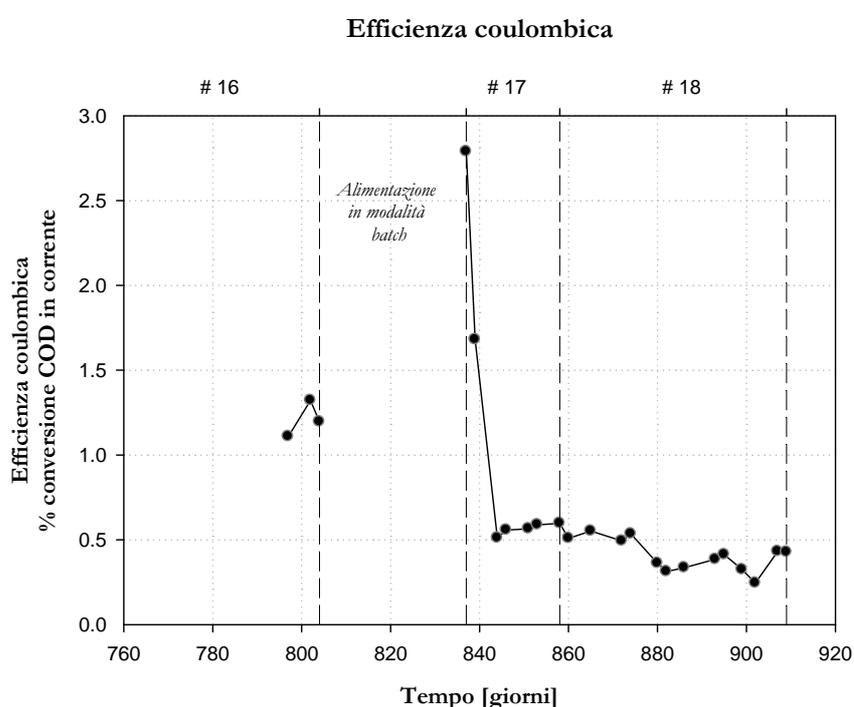


Figura 8.9 Efficienza Coulombica come percentuale di COD convertito in corrente

In fase di avviamento dell'impianto (step #16), l'efficienza Coulombica raggiunge un valore pari a circa 1,2 %. Nello step #17 si evidenzia inizialmente un valore massimo (pari a 2,8 %), che decrescere rapidamente allo 0,56 %. Tale andamento è collegato alla precedente fase di lavoro in batch della MFC nella quale, alla scarsità di substrato residuo, corrisponde una elevata produzione di corrente. A seguito del ripristino dell'alimentazione in continuo dell'impianto, si determina un notevole



*Figura 8.10 Andamento dei potenziali di semicella catodica ed anodica*

La tensione della MFC è espressa, infatti, in base alla differenza di potenziale che si instaura tra i due elettrodi. Essa è individuabile, sul grafico precedente, come l'area compresa tra le curve dei potenziali di semicella dei due elettrodi, e può essere calcolata come la somma algebrica dei valori corrispondenti dei due andamenti. Pertanto, maggiore è la distanza tra le due curve (tensione anodica e tensione catodica), tanto più è elevata la tensione della MFC (si confrontino le due curve sopra riportate con l'andamento della tensione della MFC mostrato in Figura 8.6). Quando invece i due potenziali di semicella assumono valori simili, la produzione elettrica è minima, come mostrato nella Figura 8.10 nell'ambito dello step #18.

## 9 *Utilizzo della MFC per il monitoraggio on-line del processo di digestione anaerobica*

### **Introduzione**

La maggioranza degli studi riportati in letteratura riguardano la possibilità di utilizzare una MFC come dispositivo capace di degradare la sostanza organica presente in un refluo (e quindi la sua depurazione) e produrre al contempo energia elettrica. Alcuni Autori (Kim H. J. et al., 1999; Kang et al., 2003; Kim B.H. et al., 2003; Kim M. et al., 2003; Chang et al., 2004; Kang et al., 2004; Moon et al., 2004; Pham et al., 2004; Chang et al., 2005; Moon et al., 2005; Shantaram et al., 2005; Kim B.H. et al., 2006; Kim M. et al., 2006; Moon et al., 2006; Kim M. et al., 2007; Kumlanghan et al., 2007; Du et al., 2007; Kumlanghan et al., 2008; Tront et al., 2008) hanno verificato la possibilità di utilizzare una MFC come biosensore in grado di misurare e monitorare, attraverso l'osservazione delle prestazioni elettriche, il quantitativo di sostanza organica presente in un refluo, espresso in termini di COD o BOD<sub>5</sub>.

La possibilità di utilizzare un dispositivo basato sul principio di funzionamento di una MFC si rivela di grande interesse per il monitoraggio di un processo di depurazione ed in particolare per un processo di digestione anaerobica. Infatti uno dei principali parametri che regolano il processo è rappresentato dalla concentrazione di acidi grassi volatili (cosiddetti VFA acronimo anglosassone di Volatile Fatty Acids). La determinazione dei VFA prevede il prelievo del campione ed il successivo trasporto presso un laboratorio opportunamente attrezzato. Normalmente tra il prelievo del campione e la determinazione analitica dei VFA può trascorrere un tempo relativamente breve (dell'ordine di alcuni giorni), tale già da non poter intervenire in tempo reale, nel caso di valori inaccettabili,

a ristabilire gli equilibri richiesti dal processo. Riveste pertanto particolare interesse lo sviluppo di una MFC finalizzata ad un monitoraggio on-line del processo di digestione anaerobica.

I risultati della sperimentazione condotta sulla MFC nelle precedenti Fasi V e VI (riassunti nei Capitoli 7 e 8), seppur non tali da considerare fattibile nel breve termine un'applicazione in piena scala della configurazione con elettrodi in grafite granulare, hanno evidenziato l'esistenza di una correlazione tra la corrente prodotta ed i VFA presenti nel digestore (che è stato alimentato sia con refluo sintetico (Fase V) che con refluo proveniente da un'industria di lavorazione di prodotti caseari (Fase VI).

Nel presente lavoro è stata verificata la possibilità di utilizzare una MFC per il monitoraggio in continuo dei parametri fondamentali di processo di digestione anaerobica.

### **9.1 Condizioni operative di funzionamento della MFC**

La fase di sperimentazione oggetto di questo capitolo è stata sviluppata per una durata complessiva di circa 9 mesi. Durante i primi 5 mesi di sperimentazione, l'impianto è stato alimentato con un refluo sintetico, mentre per i successivi 4 mesi con un refluo reale (le caratteristiche dei reflui sono riportate nel Capitolo 5). La gestione dell'impianto è stata condotta con l'obiettivo di realizzare differenti condizioni stazionarie cui corrispondono differenti concentrazioni di VFA e COD nel comparto anaerobico; in particolare è stato variato il carico organico in alimentazione all'impianto da  $(10,7 \pm 1,0$  a  $73,6 \pm 0,4 \text{ g}_{\text{COD}}\text{d}^{-1})$  ed il funzionamento della sonda scaldante (la temperatura del comparto anaerobico è stata fatta variare da 37 °C a 25 °C, in tal modo viene rallentata l'attività metanogenica e favorito l'accumulo di VFA).

## **9.2 Elaborazione dei risultati**

Come detto, durante la sperimentazione sono stati variati i carichi organici in ingresso all'impianto e la temperatura del comparto anaerobico, monitorando le principali misure elettriche e la concentrazioni di COD<sub>anaer</sub> e VFA all'interno dei singoli comparti.

Gli andamenti della concentrazione di COD<sub>anaer</sub> nel comparto anaerobico ed i mA prodotti dalla MFC riportati nelle Figure 10.1 a e b sono stati ottenuti alimentando l'impianto dapprima con refluo sintetico (Figura 10.1 a) e poi con refluo reale (Figura 10.1 b).

Nel corso della sperimentazione sono stati individuati complessivamente 9 intervalli di tempo in cui le misure elettriche e le concentrazioni di sostanza organica presentavano andamenti uniformi e condizioni di stabilità (indicati nelle Figure 10.1 a e b, rispettivamente, con i numeri da 1 a 4 e da 5 a 9). In entrambi i grafici riportati, sono poi indicati in verde i valori di COD<sub>anaer</sub> misurati, mentre in rosso sono messi in evidenza i corrispondenti valori di corrente generata.

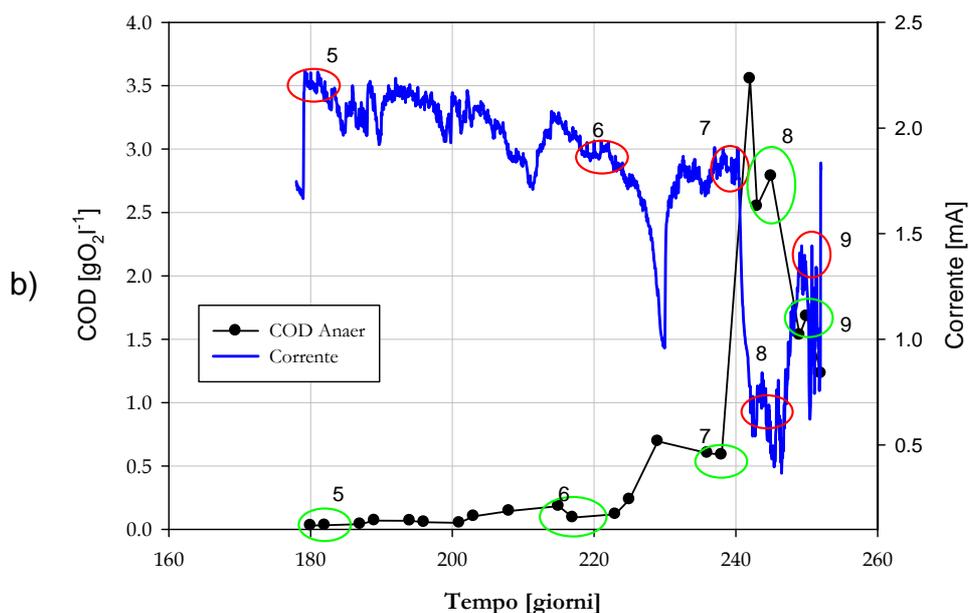
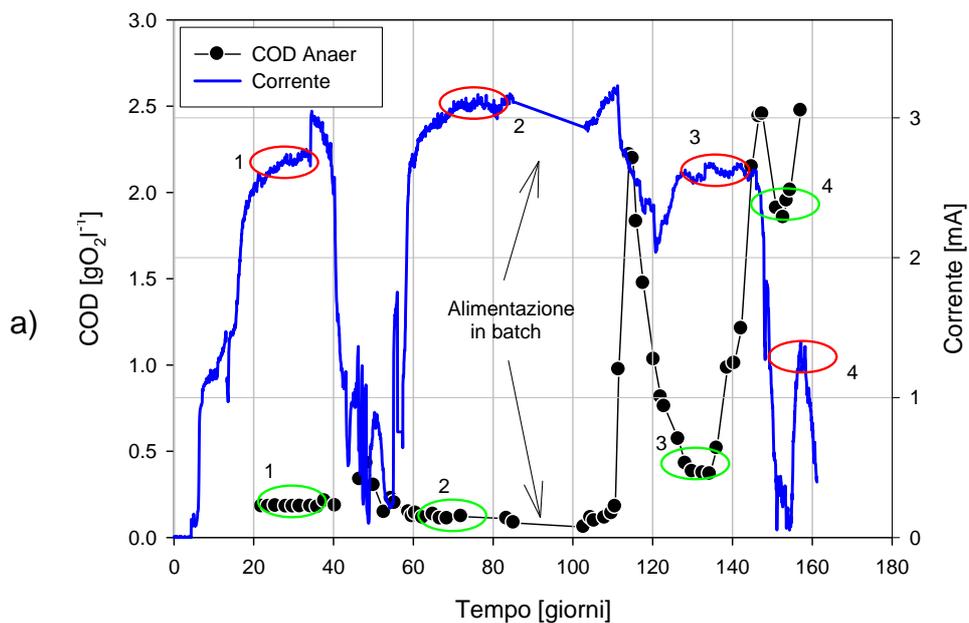


Figura 10.1. a) Confronto tra gli andamenti della corrente generata e del CODanaer misurato nel comparto anaerobico della MFC, alimentata con refluo sintetico; b) confronto tra gli andamenti della corrente generata e del CODanaer misurato nel comparto anaerobico della MFC, alimentata con refluo reale. In entrambi i grafici, sono stati indicati in rosso e in verde, rispettivamente, gli intervalli di correlazione tra valori di corrente e

*COD<sub>anaer</sub>, ricavati in condizioni di stabilità (gli intervalli di tempo caratterizzati da condizioni di stabilità sono indicati con numeri riportati in ordine consecutivo).*

In Tabella 10.1 sono riportati per ciascun intervallo di tempo i valori medi rilevati di corrente prodotta, COD<sub>anaer</sub> disciolto, VFA (espressi in termini di acido acetico equivalente), il carico organico in alimentazione all'impianto e la temperatura del II comparto anaerobico.

*Tabella 10.1 Condizioni operative, concentrazioni di COD<sub>anaer</sub>, VFA e corrente prodotta per ciascuno dei 9 intervalli di tempo individuati.*

	Intervallo di tempo	Corrente media mA	COD <sub>anaer</sub> medio gO <sub>2</sub> l <sup>-1</sup>	VFA medi gl <sup>-1</sup>	Carico organico medio [g <sub>COD</sub> d <sup>-1</sup> ]	Temperatura media comp. anodico °C
Refluo sintetico	1	2,75±0,03	0,18±0,06	0,11±0,04	24,4±0,7	37±0,1
	2	3,15±0,10	0,12±0,03	0,03±0,005	33,3±1,5	37±0,2
	3	2,61±0,05	0,37±0,02	0,22±0,02	18,8±2,9	25±0,4
	4	1,27±0,07	2,15±0,07	0,90±0,03	15,2±1,5	24,8±0,2
Refluo reale	5	2,21±0,03	0,03±0,001	0,01±0,0	10,7±1,0	37±0,2
	6	1,92±0,06	0,11±0,02	0,16±0,07	31,3±1,9	37±0,1
	7	1,80±0,04	0,59±0,01	0,38±0,02	42,0±4,0	37±0,1
	8	0,74±0,04	2,67±0,17	1,80±0,15	73,6±0,4	25±0,1
	9	1,35±0,07	1,61±0,10	0,94±0,15	33,4±1,1	25,1±0,2

### **9.3 Costruzione e analisi delle curve di correlazione**

Sulla base dei risultati ottenuti è stato possibile costruire l'andamento delle curve di correlazione che legano la corrente prodotta dalla MFC, alimentata inizialmente con refluo sintetico (Figura 10.2 a) poi con refluo reale (Figura 10.2 b), con la concentrazione di sostanza organica rilevata nel comparto anaerobico, espressa in termini di COD<sub>anaer</sub> e di VFA (illustrate rispettivamente a sinistra e a destra nelle Figg. 10.2 a e b).

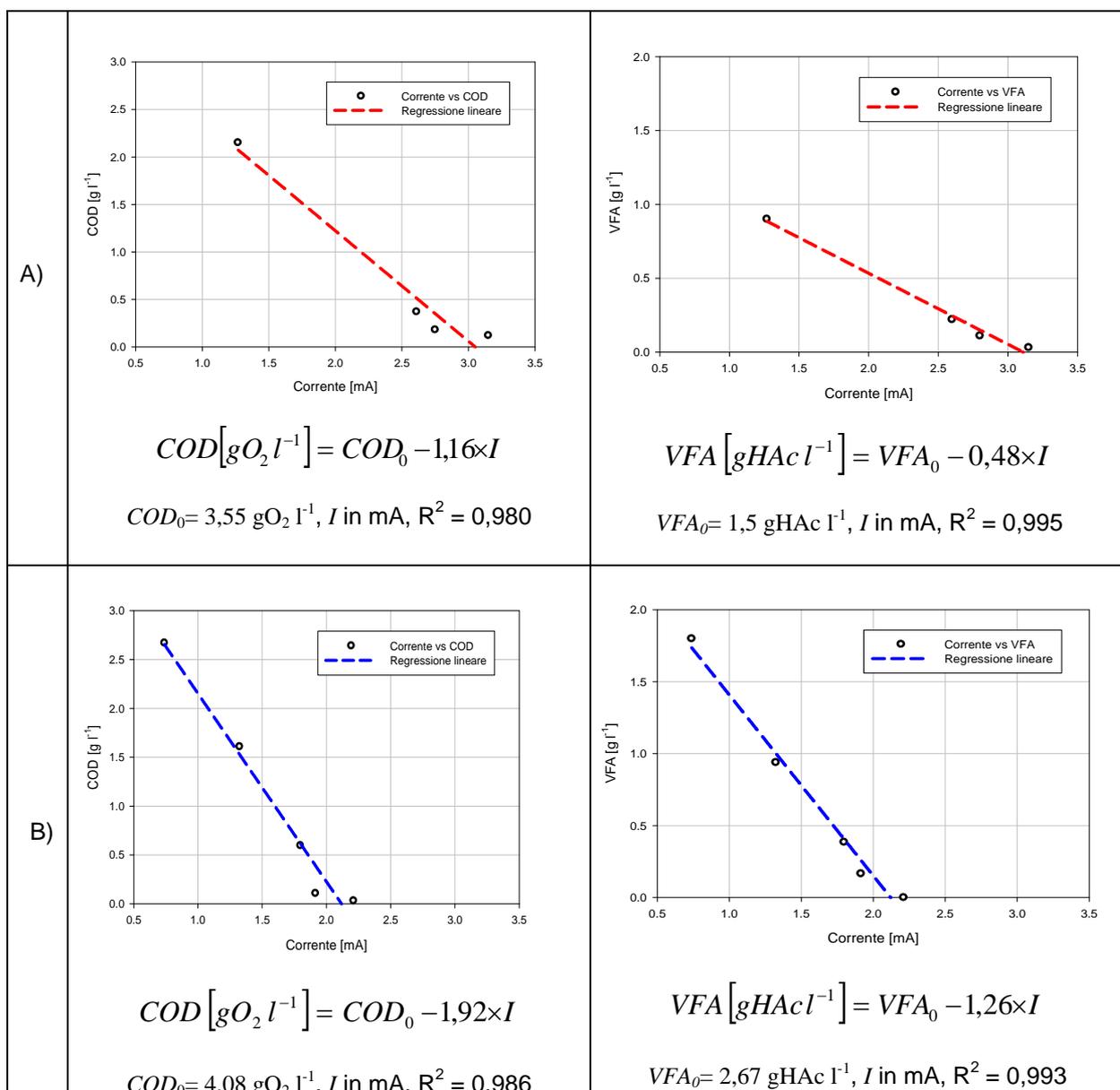


Figura 10.2 a) Curva di correlazione tra i valori medi di COD<sub>Danaer</sub> (a sinistra) e VFA (a destra) misurati nel comparto anaerobico e la corrente generata dalla MFC alimentata con refluo sintetico; b) Curva di correlazione tra i valori medi di COD<sub>Danaer</sub> (a sinistra) e VFA (a destra) misurati nel comparto anaerobico e la corrente generata dalla MFC alimentata con refluo reale. Tutte le grandezze sono ottenute in intervalli di stabilità. Ogni diagramma è rappresentato completo di retta di regressione e coefficiente di correlazione.

Gli andamenti delle curve riportate in Figura 10.2, mostrano una proporzionalità di tipo lineare tra la corrente prodotta e la concentrazione di sostanza organica misurata nel comparto anaerobico. Tale evidenza è stata precedentemente riportata anche da altri Autori (Liu et al., 2004; Logan et al., 2005; Tront et al., 2008; Jadhav e Ghangrekar, 2009) che hanno verificato tale comportamento fino ad una concentrazione massima di COD pari a 600 mg l<sup>-1</sup>.

A differenza dei risultati riportati in letteratura, nel presente studio è stata verificata l'esistenza di una proporzionalità inversa tra corrente prodotta e concentrazione di sostanza organica: in corrispondenza di valori elevati di corrente generata, si osservano bassi valori sia in termini di COD<sub>anaer</sub> che di VFA nel comparto anaerobico. Al contrario, bassi valori della corrente prodotta individuano un aumento del contenuto di sostanza organica e un accumulo di VFA nel comparto anaerobico (parametri che indicano la presenza di difficoltà nel corretto svolgimento del processo di digestione anaerobica).

Tale andamento può essere giustificato con il fatto che ad elevate concentrazioni di VFA si instaurano meccanismi di tossicità per i microrganismi elettrofilo riducendosi in tali condizioni la corrente prodotta (Liu et al. (2005), affermano che elevate concentrazioni di acetato e condizioni anaerobiche favoriscono la produzione di metano nel comparto anaerobico, a discapito della corrente prodotta). Tuttavia ulteriori studi sono necessari per confermare tale comportamento ed approfondire il meccanismo di tossicità che si instaura all'aumentare della concentrazione di VFA.

### **9.4 Evidenze sperimentali**

I risultati riportati nel presente studio consentono la realizzazione di previsioni ottimali sul contenuto di COD<sub>anaer</sub> e sui valori di VFA presenti nel comparto anaerobico di una MFC, noti i valori di corrente generata.

Pertanto, la sperimentazione condotta mostra la fattibilità della configurazione di MFC proposta come sistema per il monitoraggio on-line del processo di degradazione anaerobica finalizzato alla produzione di metano.

Lo scopo della sperimentazione è stato di valutare la possibilità di utilizzo della MFC per il monitoraggio on-line del COD e degli acidi grassi volatili (VFA) prodotti all'interno di un digestore anaerobico. L'obiettivo è stato dunque di verificare l'esistenza di una correlazione tra i dati elettrici registrati in continuo e le concentrazioni di COD<sub>anaer</sub> e VFA misurate in diversi periodi della sperimentazione, caratterizzati da condizioni operative differenti. Lo spegnimento della sonda che scalda il comparto anaerobico, insieme alla variazione periodica del carico organico entrante, hanno consentito di riprodurre condizioni di stress della biomassa presente nel comparto anaerobico, riducendone il tasso di degradazione del substrato con un conseguente accumulo di VFA (prodotti intermedi del processo di metanogenesi).

I valori medi registrati delle grandezze elettriche sono stati confrontati con i corrispondenti valori medi di concentrazione di VFA e COD<sub>anaer</sub> misurati in uscita dal comparto anaerobico, ottenendo delle curve di correlazione.

I coefficienti di correlazione delle curve ottenute confermano l'esistenza di una correlazione lineare tra i valori di VFA e di corrente nell'intervallo di concentrazione di VFA fino a 3 g HAc l<sup>-1</sup>, nonché di COD<sub>anaer</sub> e di corrente nell'intervallo di concentrazione di COD<sub>anaer</sub> fino a 4 g O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>.

Noto il valore di corrente registrata dall'impianto, dai grafici e dalle espressioni ottenute è possibile ricavare il corrispondente valore di VFA e COD<sub>anaer</sub> presenti nel comparto anaerobico. La possibilità di monitorare in continuo, attraverso misure di corrente, i parametri fondamentali di processo, può quindi fornire un contributo significativo alla gestione della digestione anaerobica.

## 10 *Refluo reale ed elettrodi in parallelo - Analisi e commento dei dati sperimentali – Fase VII*

### **Generalità**

La sperimentazione condotta sulla MFC nelle fasi precedenti, oggetto dei Capitoli 6, 7 e 8, è stata suddivisa essenzialmente in tre parti:

✚ Prime 4 Fasi, in cui sono stati utilizzati elettrodi costituiti da lastre realizzate in grafite vetrosa. Le prestazioni ottenute, sia in termini di efficienza depurativa che di rendimento elettrico, sono state più che soddisfacenti: l'impianto rimuoveva infatti il 98% del carico organico in ingresso, producendo una corrente continua massima pari a 2,8 mA (corrispondente ad una corrente massima specifica di  $175 \text{ mA m}^{-2}$ ), ed una tensione massima di 421 mV;

✚ Fase V, ipotizzando che ad un aumento della superficie disponibile per gli scambi di elettroni corrispondesse un incremento della corrente prodotta dalla MFC, si è deciso di inserire gli elettrodi già esistenti all'interno di grafite granulare contenuta da un'apposita rete di contenimento. La superficie utile per la produzione di corrente elettrica è passata da  $160 \text{ cm}^2$  a  $2029 \text{ m}^2$ . In queste condizioni l'impianto ha continuato a dimostrare efficienze depurative superiori al 99% sui valori di carico organico entrante, producendo una corrente massima pari a 3,2 mA ed una tensione massima di 480 mV;

✚ Fase VI, in cui sono stati utilizzati gli stessi elettrodi della Fase V (realizzati in grafite granulare), variando tuttavia l'alimentazione dell'impianto. Si è infatti deciso di sostituire il refluo sintetico utilizzato per alimentare l'impianto durante tutta la campagna sperimentale precedentemente condotta, con un refluo reale a matrice zuccherina. In queste condizioni l'impianto ha continuato a dimostrare efficienze

depurative del 99% sui valori di carico organico entrante, producendo una corrente massima pari a 2 mA ed una tensione massima di 150 mV.

Oggetto del presente capitolo è la sperimentazione condotta durante la Fase VII, caratterizzata dall'utilizzo di elettrodi collegati tra loro secondo uno schema elettrico in parallelo (cfr. par. 5.1.4). In particolare, i 2 elettrodi realizzati in grafite granulare e posizionati rispettivamente nel comparto anodico e catodico (utilizzati nella Fase VI), sono stati sostituiti da elettrodi costituiti ciascuno (rispettivamente anodo e catodo) da 3 fogli (totale 6 fogli) realizzati in grafite vetrosa e collegati fra loro in parallelo (Figura 9.1). L'alimentazione dell'impianto è avvenuta invece, utilizzando la medesima tipologia di refluo reale (a matrice zuccherina), utilizzato nella Fase VI.

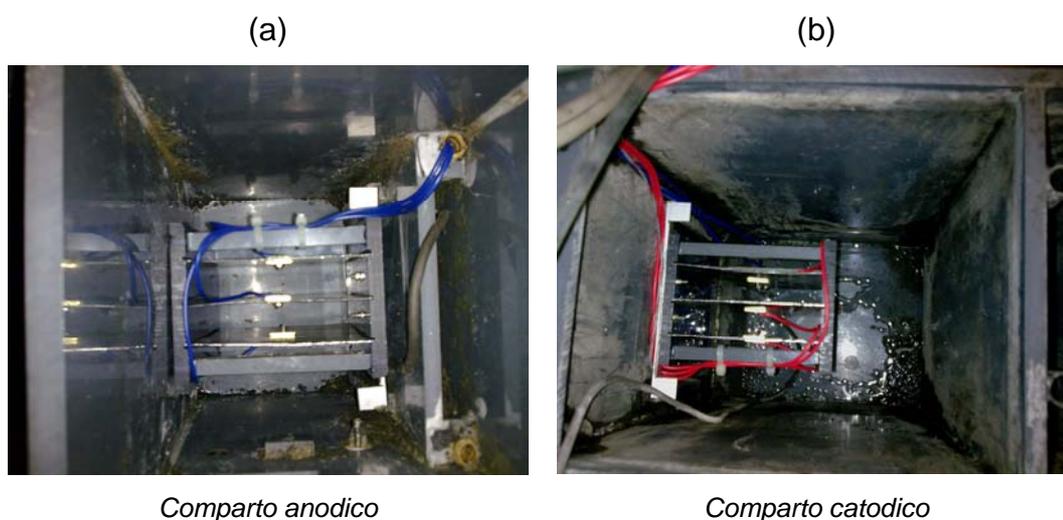


Figura 9.1 (a) Vista dall'alto della seconda camera anaerobica (anodo) con i 3 elettrodi collegati in parallelo già posizionati e (b) Vista dall'alto della camera aerobica (catodo) con i 3 elettrodi collegati in parallelo già posizionati.

Si precisa che nel collegamento elettrico in parallelo si connettono tra loro tutti i poli positivi (nel caso in esame i 3 elettrodi in grafite vetrosa posizionati nel comparto catodico), e tutti i poli negativi (i 3 elettrodi in grafite vetrosa posizionati nel comparto anodico).

Questa modifica è stata realizzata ipotizzando che si assista ad un incremento della corrente prodotta dalla MFC, poiché nel collegamento in parallelo l'intensità di corrente è data dalla somma delle correnti dei singoli elementi che compongono l'elettrodo.

Come precedentemente riportato (Capitolo 5) gli elettrodi (catodo ed anodo) sono chiusi su una resistenza iniziale di 168 Ohm, mediante comuni cavi in rame (di colore azzurro per l'anodo e rosso per il catodo). Le piastrine di collegamento elettrodo-cavo sono realizzate in ottone e pertanto non è stato previsto il loro isolamento dalla componente fluida mediante resina epossidica, come invece era stato fatto durante la realizzazione degli elettrodi utilizzati nelle prime 4 fasi di sperimentazione (cfr. par.5.1.1).

Nel corso della sperimentazione, sono state rilevate le principali grandezze chimiche ed elettriche al fine di stabilire le prestazioni dell'impianto. Esse vengono presentate e discusse in due distinti paragrafi.

Nel presentare le elaborazioni delle misure effettuate, si fa riferimento agli step che hanno caratterizzato l'attività sperimentale così come esplicitati in Tabella 9.1.

Per meglio comprendere gli andamenti delle grandezze misurate e per precisare le strategie di carico e di lavoro, si evidenziano i problemi e le scelte tecnico/gestionali che hanno caratterizzato il periodo di funzionamento dell'impianto:

🚧 il giorno 914 l'impianto è stato trovato svuotato a causa del malfunzionamento della pompa di ricircolo posizionata nel comparto aerobico. Si è reso necessario procedere ad un nuovo inoculo di circa 10 l di fango aerobico ed al ripristino dei volumi di lavoro;

✚ per l'intera durata del periodo compreso tra i giorni 915 e 953, si sono osservati bassi valori di concentrazione di SSV nel comparto aerobico, che denotano una scarsa presenza di biomassa nel comparto stesso. Tale fenomeno è da ricondursi alle caratteristiche di scarsa sedimentabilità del fango aerobico utilizzato nell'inoculo. Tale inoculo era infatti stato prelevato da un impianto di trattamento di reflui di tipo civile, che in quel periodo presentava una scarsa efficienza di trattamento.

Si sono resi pertanto necessari sia l'introduzione, con cadenza settimanale, nel comparto aerobico di alcuni litri di fango aerobico, e l'alimentazione diretta nel comparto stesso mediante glucosio, al fine di stimolare l'accrescimento e lo sviluppo della biomassa (incremento dei SSV).

✚ il giorno 956, a seguito di un improvviso arresto della produzione di corrente elettrica da parte della MFC (tutte le grandezze elettriche hanno subito una flessione, portandosi a valori prossimi allo 0), si è deciso di estrarre tutti gli elettrodi (anodo e catodo), che presentavano alcuni fili elettrici staccati e la presenza di fenomeni di corrosione interessanti le piastrine di collegamento (come meglio precisato nel paragrafo 8.2.1). Si è proceduto pertanto all'aggiunta di resina epossidica a protezione delle piastrine corrose e al successivo reinserimento (giorno 963) degli elettrodi nei rispettivi comparti e al riavvio dell'impianto;

✚ il giorno 990 si è provveduto a variare la resistenza applicata al circuito esterno, portandola da un valore di 168 Ohm a 250 Ohm. In tal modo si è ottenuto un incremento della tensione applicata e contemporaneamente una riduzione del flusso di elettroni lungo il circuito esterno (con conseguente decremento della corrente prodotta);

✚ il giorno 998 si è osservato un nuovo improvviso abbassamento delle prestazioni elettriche fornite dalla MFC (che si sono ridotte ad un terzo dei valori precedenti). Si è deciso pertanto di verificare nuovamente lo stato di funzionamento degli elettrodi costituenti il catodo, constatando che la resina epossidica precedentemente applicata risultava “sollevata” dalle piastrine in ottone (in tal modo nuovamente sottoposte a corrosione). Si è proceduto all'estrazione del catodo e alla sostituzione delle piastrine in ottone con nuove piastrine in rame, ricoperte con resina epossidica. L'impianto è stato fatto ripartire in giorno stesso utilizzando temporaneamente i due elettrodi in grafite vetrosa impiegati precedentemente (Fasi I-IV) nella sperimentazione.

### **10.1 Prestazioni depurative dell'impianto**

Al fine di valutare l'efficienza depurativa della MFC, ottenuta in seguito alle diverse strategie di carico e di lavoro adottate durante la sperimentazione, sono stati rilevati i rendimenti di rimozione della sostanza organica all'uscita del comparto anaerobico e sull'effluente finale dell'impianto, l'andamento della produzione giornaliera di biogas e metano, nonché i rendimenti di rimozione dell'azoto ammoniacale. I risultati ottenuti vengono analizzati nei seguenti paragrafi.

#### **10.1.1 Rimozione della sostanza organica (COD)**

Per l'intera durata della Fase VII della campagna sperimentale è stato monitorato l'andamento dei valori di carico organico misurati rispettivamente sulla sezione in ingresso all'impianto, in uscita al comparto anaerobico e sull'effluente finale, come riportato in Figura 9.2.

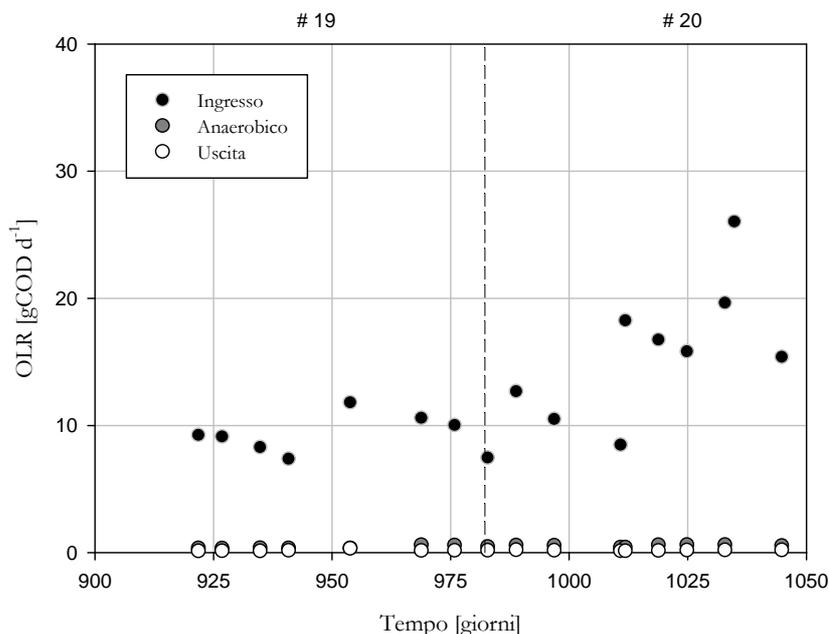


Figura 9.2 Andamento del carico organico misurato sull'alimento (Ingresso), sull'effluente del comparto anaerobico (Anaerobico) e sull'effluente finale dell'impianto (Uscita).

Nella fase iniziale di lavoro (step #19), è stato realizzato l'avviamento della MFC con la nuova configurazione di elettrodi, e alimentata con refluo reale (la cui composizione è riportata in § 3.4), ad una portata di  $2,5 \pm 0,13 \text{ l d}^{-1}$ , corrispondente ad un carico organico entrante di  $9,2 \pm 1,5 \text{ gCOD d}^{-1}$ .

Per tutta la durata dello step #19, l'impianto ha mostrato un'ottima capacità depurativa, ottenendo valori di efficienza depurativa pari al 96% per il comparto anaerobico e 98,8% sull'effluente finale (come riportato in Tabella 9.1. e corrispondenti a valori di  $0,37 \pm 0,1$  e  $0,11 \pm 0,06 \text{ gCOD d}^{-1}$  rispettivamente).

Nello step #20 è stato misurato il rendimento di rimozione della sostanza organica ottenuto in seguito ad un aumento del carico organico entrante, pari a  $15,9 \pm 5,2 \text{ gCOD d}^{-1}$ . I risultati ottenuti e riassunti in Tabella 9.1, permettono di affermare che l'efficienza depurativa della MFC rimane

elevata per tutta la durata dello step. Infatti, i valori misurati in uscita dal comparto anaerobico hanno raggiunto valori pari a  $0,49 \pm 0,08$  gCOD d<sup>-1</sup> e quelli dell'effluente finale pari a  $0,05 \pm 0,01$  gCOD d<sup>-1</sup>.

In Tabella 9.1 sono sintetizzate le prestazioni ottenute durante la sperimentazione e relative alle diverse condizioni di lavoro adottate, espresse in termini di rendimenti di rimozione del COD del comparto anaerobico e dell'impianto, rispettivamente determinate valutando i seguenti due parametri:

$$\eta_{anaer} = \frac{COD_{in} - COD_{anaer}}{COD_{in}} = 1 - \frac{COD_{anaer}}{COD_{in}}$$

$$\eta_{tot} = \frac{COD_{in} - COD_{out}}{COD_{in}} = 1 - \frac{COD_{out}}{COD_{in}}$$

Tabella 9.1 Rimozione del carico organico come COD nel comparto anaerobico e nell'impianto nel suo complesso.

Step	Portata	Carico organico	Rimozione COD [%]	
	[l d <sup>-1</sup> ]	[g COD d <sup>-1</sup> ]	Anaerobico	Totale
#19	2,50±0,13	9,2±1,5	96,0%	98,8%
#20	2,99±0,17	15,9±5,2	96,9%	99,3%

### 10.1.2 Produzione di metano

Il grafico di Figura 9.3 illustra l'andamento della produzione giornaliera di biogas e metano misurati durante la Fase VI di sperimentazione.

E' possibile osservare che, durante lo step #19, in cui si è voluta verificare l'efficienza depurativa dell'impianto rispetto al refluo reale, ad un carico organico entrante di  $9,2 \pm 1,5 \text{ gCOD d}^{-1}$ , è corrisposta una produzione di biogas media di  $7,5 \text{ l d}^{-1}$ ; il metano era presente all'interno del biogas con una percentuale media pari al 51,43 %, da cui si desume una produzione media di metano di  $3,9 \text{ l d}^{-1}$ .

Il giorno 965 si sono verificati problemi agli elettrodi, per i quali si è rivelato necessario un intervento di manutenzione che ha obbligato allo spegnimento temporaneo dell'impianto. L'alimentazione è stata interrotta, le pompe di ricircolo e la sonda scaldante situata nel comparto anaerobico sono state spente, così come l'acquisizione dei dati. Pertanto, in tale periodo, i quantitativi di biogas e metano prodotti non sono stati monitorati, come si osserva in Figura 9.3.

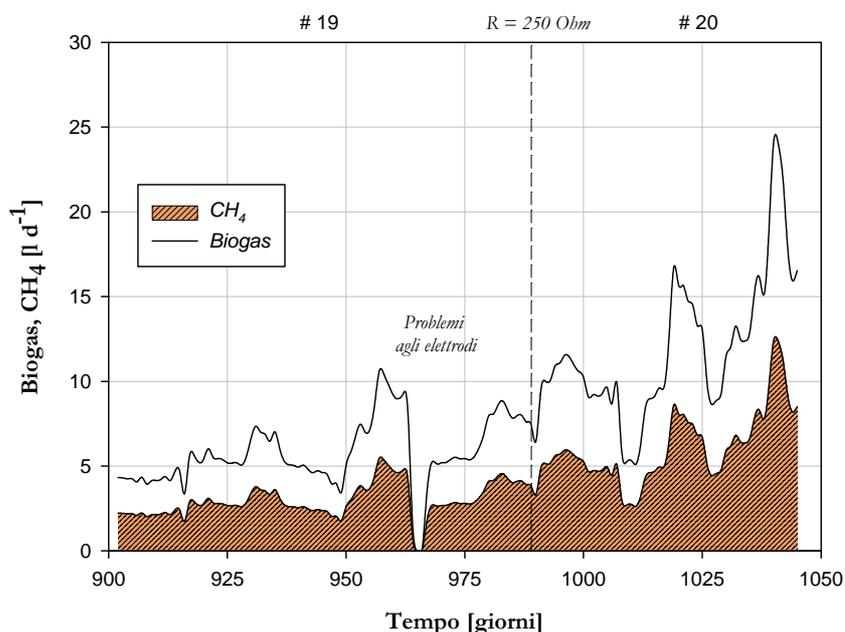


Figura 9.3 Andamento della produzione giornaliera di biogas e di  $CH_4$  durante la sperimentazione.

Nello step #20 è stato misurato il rendimento di rimozione della sostanza organica ottenuto in seguito ad un aumento del carico organico entrante, pari a  $15,9 \pm 5,2$  gCOD  $d^{-1}$ . Come conseguenza, il biogas prodotto aumentava a  $11,9$   $l d^{-1}$ , con una percentuale di metano misurata del 52,8%. Il volume giornaliero di metano prodotto nell'ambito di tale periodo è stato di  $6,3$   $l d^{-1}$ .

Nei giorni conclusivi della sperimentazione, il carico organico entrante è stato aumentato fino ad valore massimo di  $25,9$  gCOD  $d^{-1}$ , determinando un incremento della produzione di biogas e di metano, che ha raggiunto valori di  $24,1$  e  $12$   $l d^{-1}$  rispettivamente, con una percentuale di metano nel biogas del 50%.

### 10.1.3 Rimozione del contenuto di azoto

Durante l'intero periodo di sperimentazione, oltre alla concentrazione di sostanza organica, si è deciso di monitorare anche la concentrazione di azoto, espresso sotto forma di azoto ammoniacale e nitrico, nelle principali sezioni dell'impianto, poiché tale elemento risulta tra i costituenti essenziali per la crescita dei microrganismi.

Nella Figura 9.4 sono visibili gli andamenti dell'azoto ammoniacale misurato nelle tre sezioni caratteristiche dell'impianto (Ingresso, Effluente anaerobico, Effluente impianto).

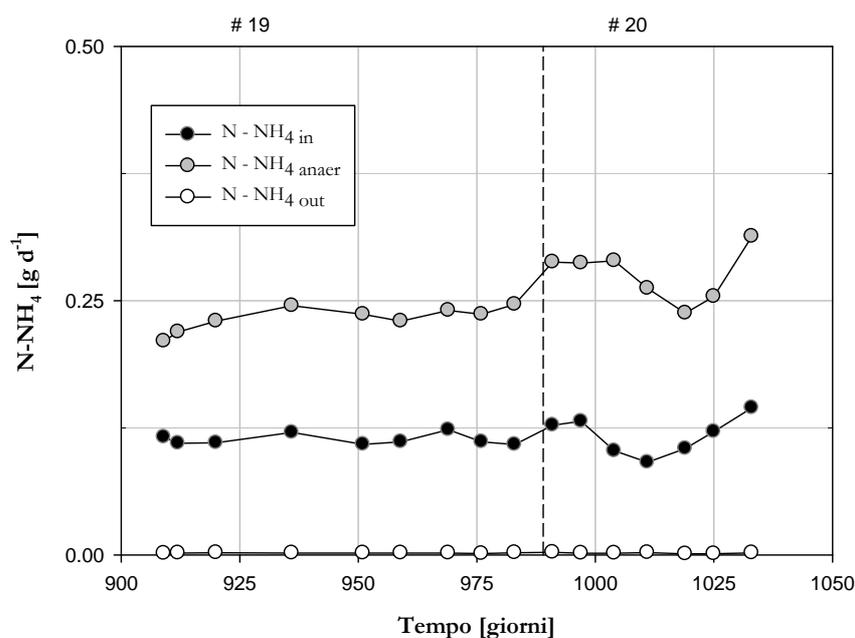


Figura 9.4 Andamento dell'azoto ammoniacale espresso come  $gN - NH_4 d^{-1}$ .

L'andamento dell'azoto ammoniacale misurato all'ingresso dell'impianto è variabile in conseguenza delle variazioni di carico organico e della natura del refluo alimentato, eterogeneo nella composizione, con caratteristiche che variano tra i diversi prelievi effettuati presso l'impianto di depurazione.

Dall'analisi degli andamenti illustrati è possibile osservare che la concentrazione di azoto ammoniacale presente nella vasca anaerobica è costantemente superiore a quella in ingresso, in accordo a quanto precedentemente riportato nel Capitolo 8 (cfr. par.8.1.3).

L'andamento del contenuto di azoto ammoniacale nell'effluente finale dell'impianto, mostrato in Figura 9.4, indica un rendimento molto elevato nella rimozione dell'azoto ammoniacale ad opera dei microrganismi che si trovano all'interno del comparto aerobico (nitrificanti) la cui presenza, rivelata tramite osservazione di campioni al microscopio, risulta particolarmente notevole.

Come riportato in Tabella 9.2, in uscita dall'impianto si registrano infatti valori mediamente inferiori ai  $0,75 \pm 0,1 \text{ mg l}^{-1}$  ( $2 \text{ mgN-NH}_4 \text{ d}^{-1}$ ) con un valore massimo di  $0,88 \text{ mg l}^{-1}$  ( $2,8 \text{ mgN-NH}_4 \text{ d}^{-1}$ ).

Si può affermare pertanto che l'impianto effettua una rimozione pressoché completa dell'azoto ammoniacale e che il comparto aerobico svolge una funzione di affinamento dei processi di degradazione.

Tabella 9.2 Efficienze depurative in termini di  $\text{N-NH}_4^+$ .

Step	Portata	Azoto ammoniacale			Rimozione $\text{N-NH}_4^+$
	[ $\text{l d}^{-1}$ ]	In	Anaer	Out	[%]
#19	$2,50 \pm 0,13$	$0,113 \pm 0,005$	$0,233 \pm 0,012$	$0,002 \pm 0$	99,20
#20	$2,99 \pm 0,17$	$0,118 \pm 0,019$	$0,276 \pm 0,026$	$0,002 \pm 0$	99,34

Nel grafico di Figura 9.5 sono riportati gli andamenti del contenuto di azoto ammoniacale misurato sull'effluente anaerobico, posto a confronto con il contenuto di azoto nitrico misurato sull'effluente finale dell'impianto. Come detto in precedenza, il carico di azoto in uscita dal comparto anaerobico viene degradato nel comparto aerobico ad opera dei microrganismi nitrificanti, che trasformano l'azoto ammoniacale ( $\text{NH}_4^+$ ) in azoto nitrico ( $\text{NO}_3^-$ ).

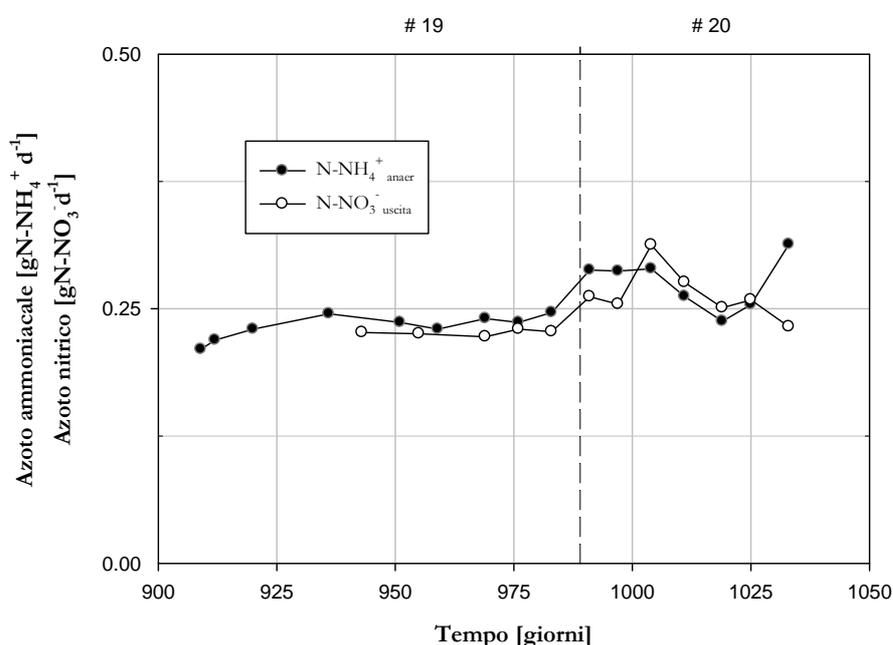


Figura 9.5 Andamento del carico di azoto nitrico ( $\text{NO}_3^-$ ) in uscita dall'impianto e del carico di azoto ammoniacale in uscita dal comparto anaerobico, entrambi misurati durante l'intero periodo di sperimentazione.

Il grafico sopra riportato mostra come negli step #19 e #20, all'interno del comparto aerobico, si siano instaurate condizioni di elevata efficienza di trasformazione dell'azoto ammoniacale in azoto nitrico.

### **10.1.4 Altri parametri monitorati**

Durante la campagna sperimentale, oltre alla concentrazione di sostanza organica ed al contenuto di azoto ammoniacale e nitrico, sono stati monitorati anche gli andamenti di altri parametri, quali la concentrazione di ossigeno disciolto (DO) all'interno del comparto aerobico e il pH.

In particolare, la concentrazione di ossigeno disciolto (DO) all'interno del comparto aerobico è stata misurata durante tutto il periodo di sperimentazione. Regolando opportunamente il sistema di aerazione, è stato possibile mantenere valori di ossigeno disciolto superiori ai 6 mg l<sup>-1</sup>, necessari per lo sviluppo ed il completamento delle reazioni catodiche.

Al fine di effettuare un controllo completo del processo è stato costantemente monitorato anche l'andamento del pH del refluo in ingresso, dell'effluente del comparto anaerobico e dell'effluente finale. Di maggiore importanza si è rivelato il controllo dei valori di pH del comparto anaerobico, poiché esso rappresenta un importante parametro indicativo del corretto svolgimento del processo di digestione anaerobica.

Durante l'intera sperimentazione l'andamento del pH non ha subito forti variazioni, mantenendosi normalmente all'interno dell'intervallo 6,71 - 7,2.

### **10.2 Prestazioni elettriche dell'impianto**

In questo paragrafo sono presentati gli andamenti delle grandezze elettriche acquisite per l'intero periodo di sperimentazione con cadenza oraria e archiviate in un dispositivo di archiviazione dati (Datalogger).

### 10.2.1 Andamento di tensione, corrente e potenza prodotte dalla MFC

Nelle pagine seguenti sono riportati i risultati relativi alle prestazioni dell'impianto ricavate in termini di corrente, tensione e potenza prodotte, mettendo in relazione i relativi andamenti con i periodi di lavoro.

Nell'ambito della sperimentazione oggetto del presente lavoro di tesi, a seguito del raggiungimento di ottime capacità depurative, non sono state ottenute prestazioni elettriche elevate quanto quelle ottenute nella campagna sperimentale precedente.

I valori di tensione e corrente generata dalla MFC, misurati durante l'intervallo di tempo che comprende gli step #19 e #20, riguardanti l'avviamento e il pieno regime della configurazione adottata nella Fase VII (elettrodi disposti in parallelo), presentano l'andamento riportato in Figura 9.6.

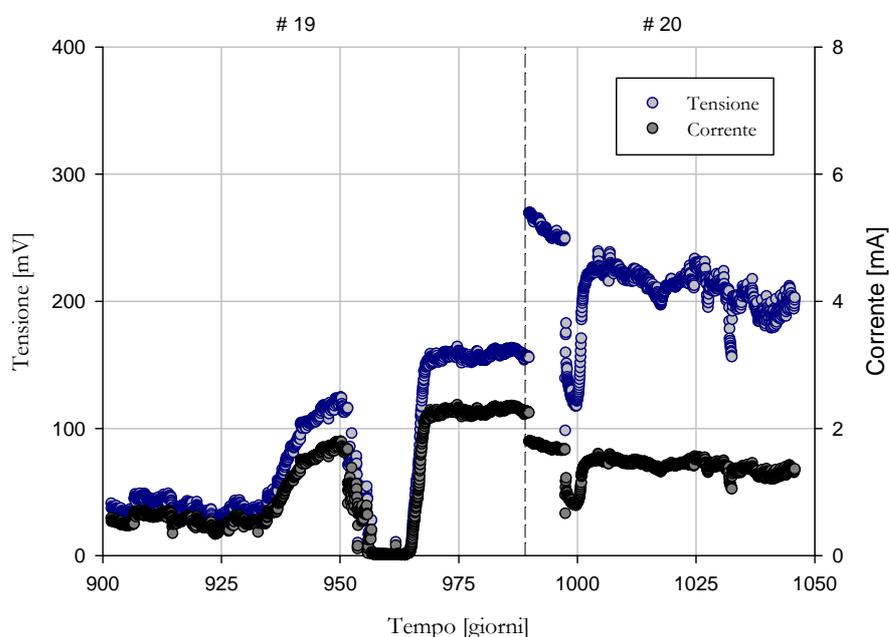


Figura 9.6 Andamenti della Corrente e della Tensione prodotte.

Al termine della fase di avviamento, si osserva un deciso incremento dei valori di tensione e corrente generata nella MFC, dovuto probabilmente alla colonizzazione dei nuovi elettrodi da parte della biomassa presente nell'impianto: nell'arco dello step #19 infatti, la corrente generata passa da 0 mA a 2,36 mA, mentre la tensione passa da 0 mV a 164 mV.

Tuttavia alcuni problemi di natura tecnica hanno impedito il raggiungimento delle prestazioni ottimali della MFC:

Dopo 56 giorni dall'avviamento della MFC con elettrodi disposti in parallelo (giorno 956), si è assistito ad un improvviso arresto della produzione di corrente elettrica (tutte le grandezze elettriche hanno subito una flessione, portandosi a valori prossimi allo 0). Si è deciso di estrarre tutti gli elettrodi (anodo e catodo), che presentavano alcuni cavi elettrici staccati e la presenza di danneggiamenti interessanti le piastrine di collegamento (Figura 9.7 a e b). Si ritiene opportuno ricordare che, in questa fase di lavoro, i collegamenti elettrici non sono stati protetti mediante resina epossidica.





Figura 9.7 a) Immagine ripresa dall'alto degli elettrodi estratti dalla MFC (il catodo è mostrato a sinistra mentre l'anodo a destra) il giorno 956 della sperimentazione, a seguito dell'improvvisa diminuzione delle prestazioni elettriche. Si osservino in particolare le piastrine di collegamento interposte tra i cavi in rame e le lastre di grafite vetrosa. Le piastrine appartenenti al catodo (a sinistra, cavi rossi) risultano interamente ricoperte di una patina bianco-verde; b) Ripresa frontale degli elettrodi, si osserva con chiarezza la patina che interessa l'elettrodo catodico, la cui presenza è presumibilmente correlata al completo distacco, dalle lastre di grafite, dei cavi costituenti il circuito elettrico.

In particolare, da una attenta osservazione degli elettrodi si nota che i danni arrecati agli stessi consistono essenzialmente nella presenza di una patina bianco-verde, e nel completo distacco dalle lastre di grafite, dei cavi costituenti il circuito elettrico, come mostrato in Figura 9.7 a e b. Si rileva inoltre che tali manifestazioni hanno interessato esclusivamente l'elettrodo posizionato nel comparto catodico. In Figura 9.8 a e b è possibile osservare con maggior dettaglio la presenza di depositi sulle piastrine appartenenti al comparto catodico (Figura 9.8 a) ove si rileva l'assenza dei cavi di collegamento, staccatisi completamente dall'elettrodo. Al contrario l'elettrodo anodico non presenta depositi e i cavi

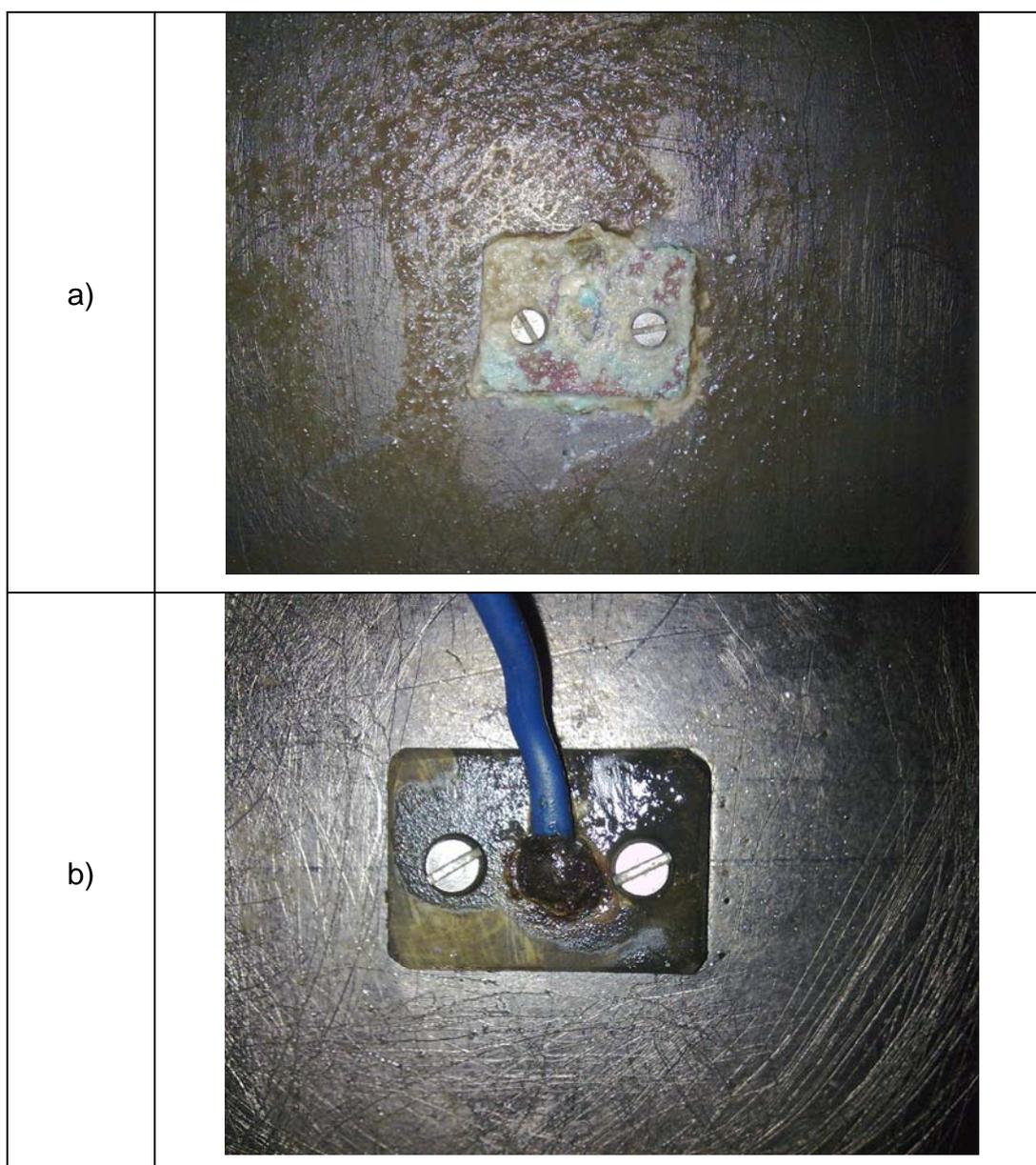
elettrici (indicati in blu, Figura 9.8 b) appaiono saldamente collegati alle lastre di grafite.

Gli effetti sopra descritti possono essere provocati da numerosi fattori. Tra i principali si riportano: ambiente acquoso e ricco di biomassa; presenza di ossigeno, ammoniaca e solfuro d'idrogeno; presenza di siero di latte.

In particolare, il rame e l'ottone (lega costituita principalmente di rame e zinco) sono soggetti a fenomeni di corrosione se è presente ossigeno o ammoniaca. In particolare, l'ottone può essere facilmente attaccato dall'ammoniaca, anche a basse concentrazioni, che ne causa corrosione di tipo intergranulare (in elettronica questi problemi possono portare a gravi variazioni elettriche quale l'aumento della resistenza interna del circuito e possono causare anche fenomeni di corto circuito). Il rame reagisce facilmente con gli alogeni e con il solfuro di idrogeno e, come detto, può venire attaccato dalle soluzioni acquose di ammoniaca e sali di ammonio o cianuri alcalini. In presenza di tali sostanze il rame si ricopre rapidamente di un sottile film di ossido rameoso, che si trasforma poi lentamente in una patina verdastra di solfato basico di rame e carbonato (talvolta anche cloruro) basico di rame.

Alcuni Autori riportano testimonianze relative agli effetti corrosivi del siero di latte su numerosi metalli (Colin G. et al., 1931; Hunziker O. F. et al., 1928) e lo studio condotto da Antonopoulou G. et al. (2009), riporta una configurazione di MFC alimentata mediante siero di latte che prevede l'utilizzo di cavi in argento (anziché in rame) a costituire il circuito elettrico, collegati agli elettrodi (realizzati in grafite) mediante una resina epossidica all'argento. Infine, la presenza di biomassa batterica comporta la formazione di un "biofilm" sulle superfici metalliche immerse in acqua (la formazione di biofilm è più probabile nei punti dove il flusso d'acqua è basso), in grado di interagire attivamente con il materiale stesso. Allo stato

attuale della sperimentazione non appaiono chiare le modalità d'interazione e d'incidenza dei fattori sopra elencati, sulle prestazioni elettriche della MFC oggetto di studio.



*Figura 9.8 a) Particolare di una piastrina di collegamento interposta tra il cavo in rame e una lastra di grafite vetrosa appartenente al catodo. Si osserva la presenza di una patina bianco-verde e l'assenza del cavo di collegamento, staccatosi dall'elettrodo; b) Particolare di una piastrina di collegamento interposta tra il cavo in rame e una lastra di grafite vetrosa appartenente all'anodo. Il cavo elettrico (indicato in blu) appare*

*saldamente collegato alla lastra di grafite e si nota l'assenza di qualsiasi sostanza o deposito sulla piastrina di collegamento.*

Come conseguenza dell'osservazione dei fenomeni sopra riportati, si è reso necessario interrompere temporaneamente il funzionamento dell'impianto, al fine di operare gli opportuni interventi di pulizia delle piastrine di collegamento e il ripristino dei contatti elettrici, procedendo inoltre all'aggiunta di resina epossidica isolante a tutte le lastre.

A seguito del nuovo avvio dell'attività sperimentale, le prestazioni elettriche hanno mostrato una crescita tempestiva, portandosi a valori superiori a quelli precedenti l'interruzione. Tale incremento si è verificato probabilmente perché durante gli interventi di manutenzione, la biomassa adesa non è stata staccata dagli elettrodi, che sono stati conservati in acqua per l'intero periodo.

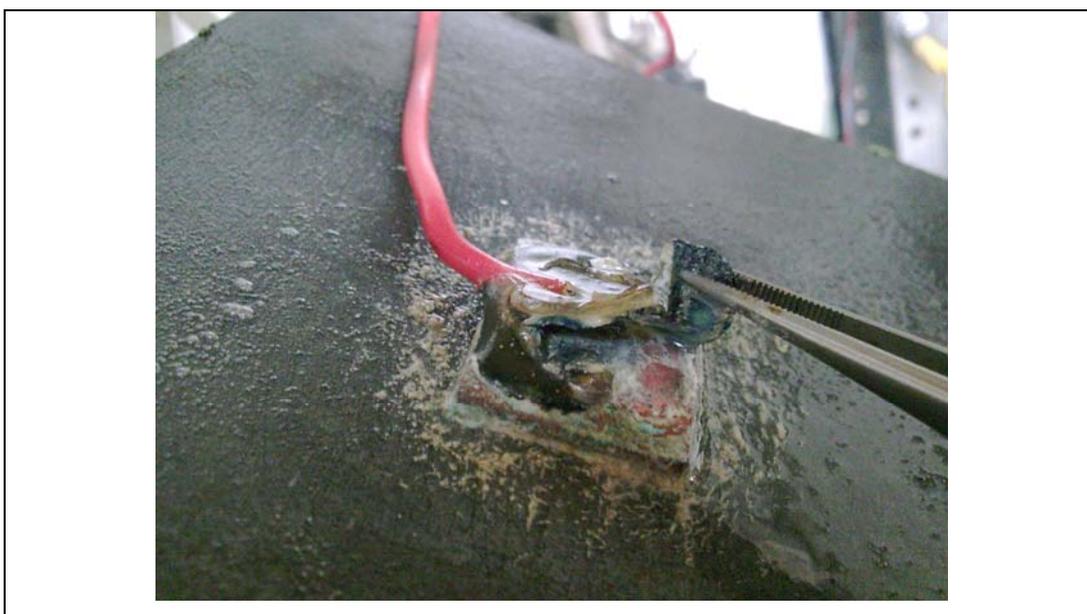
Solo dopo 65 giorni dall'inizio della Fase descritta nel presente capitolo, l'impianto ha cominciato a funzionare in modo regolare.

Le prestazioni raggiunte durante lo step #19, espresse in termini di corrente prodotta, sono le migliori ottenute dalla MFC con la configurazione prevista. Il valore massimo di corrente è risultato pari a 2,36 mA, mentre la tensione raggiunta è risultata pari a 164 mV.

Nello step #20 (giorno 989) si è deciso di aumentare la resistenza applicata al circuito esterno da un valore di 168 Ohm a 250 Ohm, al fine di massimizzare i valori di tensione ottenibili. In corrispondenza del giorno 989, infatti, si osserva una diminuzione della corrente prodotta da 2,36 a 1,8 mA, conseguenza diretta della maggiore resistenza al flusso di elettroni sul circuito esterno. Contemporaneamente si osserva un sensibile aumento della tensione, che passa da 155 a 269 mV, che rappresenta il valore massimo raggiunto dalla MFC, in termini di tensione misurata sul circuito elettrico, durante l'intera Fase VII della sperimentazione.

---

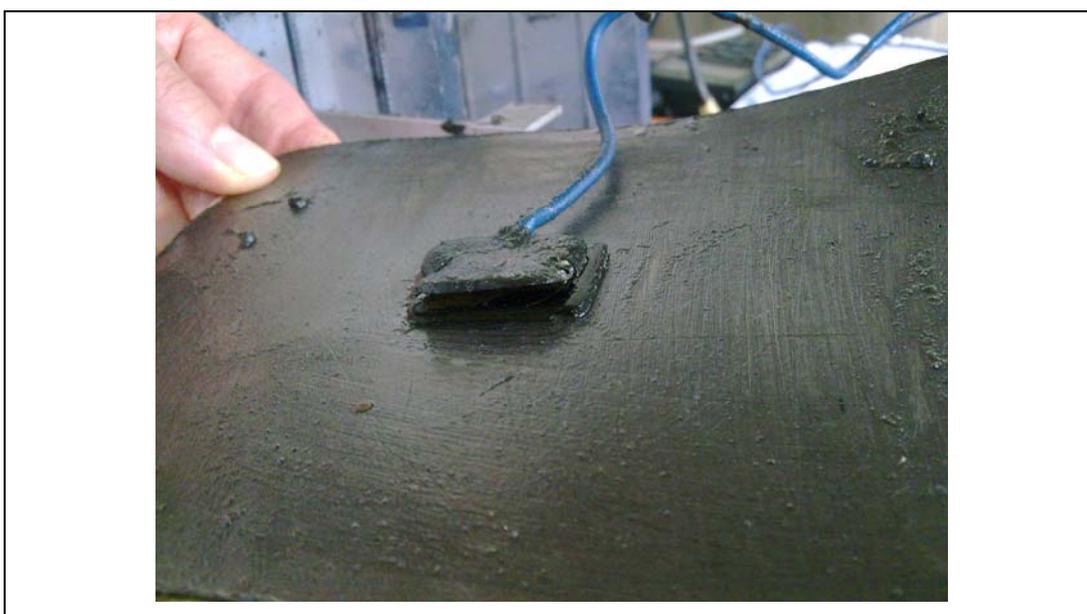
Tuttavia, il giorno 998 si è osservato un nuovo improvviso abbassamento delle prestazioni elettriche fornite dalla MFC (che si sono ridotte ad un terzo dei valori precedenti). Si è deciso pertanto di verificare nuovamente lo stato di funzionamento degli elettrodi catodici, constatando che la resina epossidica precedentemente applicata risulta “sollevata” dalle piastrine in ottone (ponendo in tal modo il cavo elettrico in rame a contatto con il mezzo fluido). Ipotizzando che il problema potesse essere collegato alla natura del materiale costituente le piastrine stesse, si è proceduto all'estrazione del catodo (Figura 9.9) e alla sostituzione delle piastrine in ottone con nuove piastrine in rame, ricoperte con resina epossidica. L'impianto è stato fatto ripartire il giorno stesso utilizzando temporaneamente due elettrodi in grafite vetrosa, impiegati precedentemente (Fasi I-IV) nella sperimentazione.



*Figura 9.9 Particolare di una piastrina di collegamento interposta tra il cavo in rame e una lastra di grafite vetrosa appartenente al catodo. Si osserva ancora la presenza di una patina bianco-verde e la resina epossidica appare sollevata, non garantendo pertanto alcuna protezione del cavo elettrico dal mezzo fluido.*

Dopo la sostituzione delle piastrine di collegamento inserite nell'elettrodo catodico, le prestazioni dell'impianto non hanno però mostrato alcuna crescita, come avvenuto invece a seguito del primo intervento, arrestandosi (come mostrato in Figura 9.6) a valori medi di tensione pari a  $210 \pm 29$  mV e corrente prodotta media di  $1,42 \pm 0,2$  mA.

Si è deciso pertanto di verificare le condizioni di funzionamento degli elettrodi anodici. Il giorno 1045 si è proceduto all'estrazione degli elettrodi inseriti nel comparto anodico, constatando che, anche questi ultimi, presentano danni: la resina epossidica applicata durante l'intervento precedente risulta "sollevata" dalle piastrine in ottone e i cavi elettrici in rame sono danneggiati, poiché a contatto con il mezzo fluido (Figura 9.10).



*Figura 9.10 Particolare di una piastrina di collegamento interposta tra il cavo in rame e una lastra di grafite vetrosa appartenente all'anodo. Si osserva che anche in questo elettrodo la resina epossidica appare sollevata, non garantendo pertanto alcuna protezione del cavo elettrico dal mezzo fluido.*

Per quanto riguarda l'andamento della potenza prodotta dall'impianto (Figura 9.11), si osserva che esso riproduce gli andamenti di tensione e corrente.

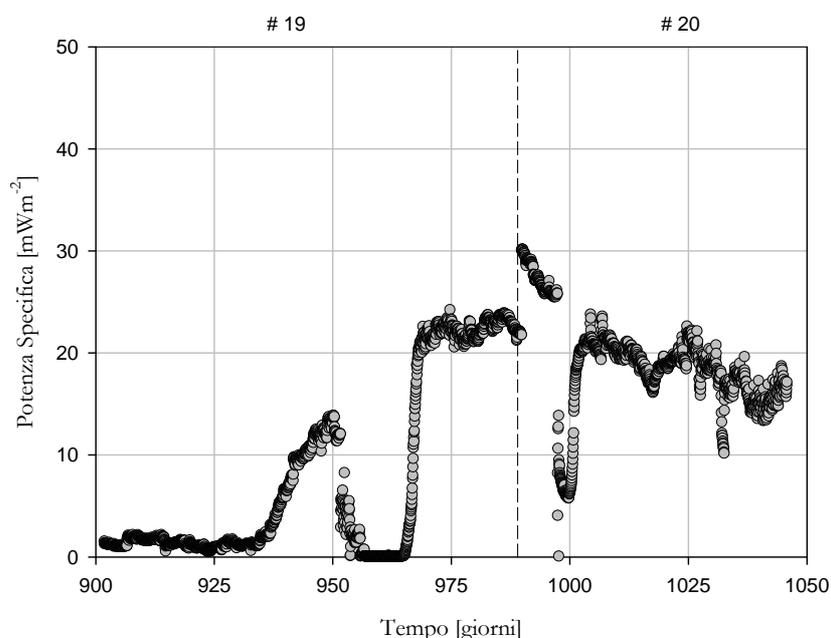


Figura 9.11 Andamento nel tempo della potenza prodotta dalla MFC durante la Fase VII della sperimentazione.

La potenza prodotta ha raggiunto un valore massimo in condizioni di stabilità pari a  $24,15 \pm 3 \text{ mW m}^{-2}$ , durante lo step #19. A seguito della variazione della resistenza applicata al circuito esterno (step #20), il valore di potenza specifica generata è passato a circa  $30 \text{ mW m}^{-2}$ . Tuttavia tale rendimento non è stato mantenuto nel tempo e, a causa delle problematiche precedentemente descritte, la potenza media prodotta dalla MFC è risultata pari a  $18,9 \pm 4,7 \text{ mW m}^{-2}$ .

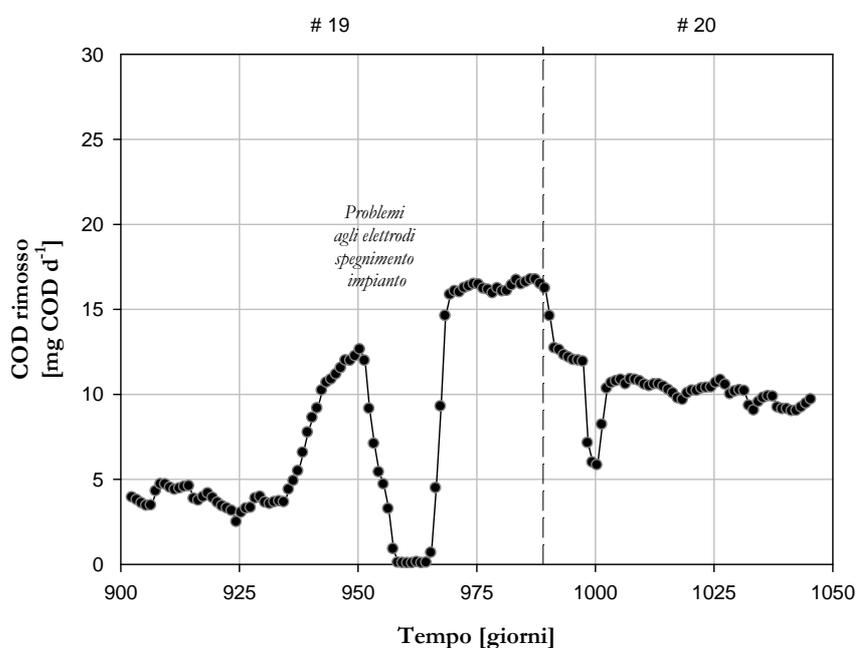
Appare evidente che le prestazioni ottenute dalla MFC nella Fase VII di sperimentazione, caratterizzata da una configurazione con elettrodi in grafite vetrosa disposti in parallelo, risultano inferiori a quelle ottenute con

la configurazione caratterizzata da singoli elettrodi in grafite vetrosa (FASI I-IV, cfr. Capitolo 6).

A complemento di quanto riportato, gli effetti negativi riscontrati a carico degli elettrodi costituiscono, per l'impianto oggetto di sperimentazione, una ulteriore difficoltà di ordine pratico-applicativo che non permette di ottenere, in queste condizioni, un reale incremento delle prestazioni elettriche.

### 10.2.2 Ulteriori parametri elettrici determinati

Nell'ambito dell'attività svolta nella Fase VII di sperimentazione, è stato possibile determinare l'andamento del carico organico convertito in corrente, considerando che l'area sottesa dalla curva dell'intensità di corrente, misurata nell'arco di una giornata, è direttamente proporzionale alla quantità di sostanza organica, espressa in termini di COD, convertita in elettricità (cfr paragrafo 5.3.2).



*Figura 9.12 Andamento del COD rimosso, determinato in base ai valori di corrente misurata sulla MFC oggetto di studio, durante la Fase VII di sperimentazione.*

Come si può notare dal grafico sopra riportato (Figura 9.12), la quantità di sostanza organica rimossa e convertita in elettricità risulta massima nella fase finale dello step #19, in corrispondenza della massima produzione di corrente elettrica (cfr. Figura 9.6). Durante lo step #20, tale fattore si presenta in netta diminuzione e i risultati ottenuti mostrano un andamento pressoché costante, corrispondente all'andamento delle grandezze elettriche misurate nel medesimo intervallo di tempo.

Di particolare interesse si rivela l'andamento dell'Efficienza Coulombica (cfr. § 4.2.2, esprime la percentuale di COD rimosso e convertito in corrente elettrica rispetto al valore di COD presente): tale grandezza è stata calcolata sul COD del secondo comparto anaerobico (e non sul COD in ingresso), poiché la maggior parte della sostanza organica è degradata nel primo comparto anaerobico, risultando quindi non disponibile per la produzione di corrente.

In Figura 9.13 è illustrato l'andamento dell'Efficienza Coulombica ottenuta dalla MFC durante la Fase VII di sperimentazione.

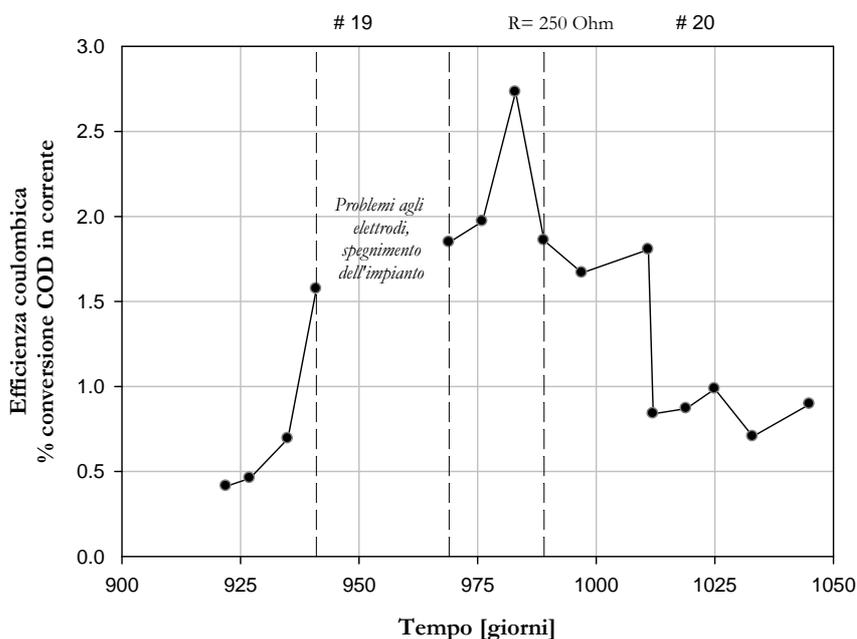


Figura 9.13 Efficienza Coulombica espressa come percentuale di COD convertito in corrente, calcolata in base ai valori di COD misurato nel secondo comparto anaerobico della MFC oggetto di sperimentazione.

Nella fase finale dello step #19 di sperimentazione, l'efficienza Coulombica raggiunge un valore massimo pari a circa 2,73 %. Tuttavia, nello step #20 decrescere rapidamente portandosi a valori pari allo 0,86 %. Tale andamento è collegato alle condizioni di malfunzionamento degli elettrodi sopra descritte che, a fronte di un quantitativo pressoché uniforme del COD presente nel secondo comparto anaerobico, sono responsabili della scarsa produzione di corrente elettrica.

In Figura 9.14 sono riportati i potenziali di semicella dei due elettrodi (anodo e catodo, misurati rispetto ad un terzo elettrodo di riferimento al calomelano, sistemato nel comparto aerobico), i cui andamenti sono legati alla tensione della MFC.

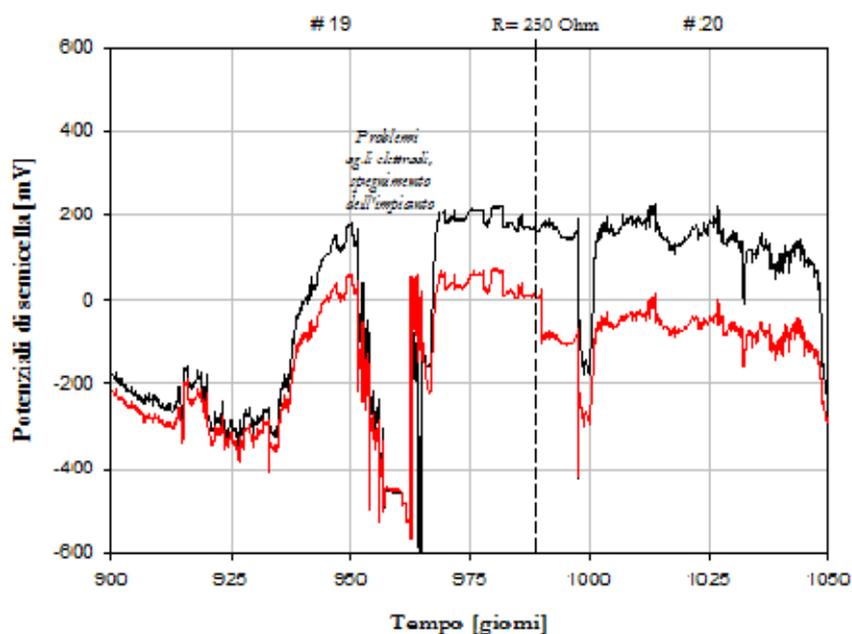


Figura 9.14 Andamento dei potenziali di semicella catodica ed anodica misurati durante la Fase VII di sperimentazione.

La tensione della MFC è espressa, infatti, in base alla differenza di potenziale che si instaura tra i due elettrodi. Essa è individuabile, sul grafico precedente, come l'area compresa tra le curve dei potenziali di semicella dei due elettrodi, e può essere calcolata come la somma algebrica dei valori corrispondenti dei due andamenti. Pertanto, maggiore è la distanza tra le due curve (tensione anodica e tensione catodica), tanto più è elevata la tensione della MFC (si confrontino le due curve sopra riportate con l'andamento della tensione della MFC mostrato in Figura 9.6). Quando invece i due potenziali di semicella assumono valori simili, la produzione elettrica è minima, come mostrato nella Figura 9.14 nell'ambito dello step #19.

# *Conclusioni*

Il lavoro di Tesi di Dottorato descritto nel presente elaborato si colloca nell'ambito della ricerca riguardante le fonti energetiche alternative rinnovabili. Studi recenti prevedono la forte riduzione o l'esaurimento dei giacimenti di combustibili fossili entro i prossimi 40-50 anni, rendendo necessario lo sviluppo e l'utilizzo di nuove risorse energetiche. Negli ultimi anni quindi è stata rivolta sempre maggiore attenzione all'applicazione di energie rinnovabili per una gestione sostenibile dell'ambiente.

Un interessante sviluppo stanno avendo le tecnologie che utilizzano i processi biologici per ottenere energia. Tra queste, la tecnologia delle Microbial Fuel Cell, seppure sia ancora in una fase di ricerca, sembra avere interessanti prospettive per garantire una produzione di energia sostenibile dal punto di vista ambientale. Le MFC sono, infatti, dei dispositivi in grado di convertire energia chimica in energia elettrica, ed il loro sviluppo riveste un notevole interesse poiché, teoricamente, ogni substrato organico biodegradabile può essere convertito in elettricità, senza la necessità di specifici ceppi batterici né particolari composti chimici.

Il presente lavoro sperimentale, svolto in collaborazione al laboratorio PROT.-IDR. della sede ENEA di Bologna, riporta i risultati dell'attività di ricerca condotta su una MFC (Microbial Fuel Cell) a doppio stadio biologico per il trattamento di reflui ad elevato carico organico e produzione continua di energia elettrica.

L'attività di Tesi di Dottorato ha inizialmente riguardato il monitoraggio dei consumi energetici di alcuni tipi di impianti di depurazione municipali e industriali operanti con diverse tecnologie, poiché la necessità di realizzare elevate efficienze depurative si accompagna ad altrettanto elevati consumi energetici e le attuali tendenze della ricerca in questo settore sono volte alla riduzione dei consumi energetici a parità di

## Conclusioni

---

prestazioni depurative, ambito nel quale si pone l'interesse per l'applicabilità della tecnologia delle Microbial Fuel Cell.

Le principali finalità della successiva attività sperimentale intrapresa hanno riguardato in particolare:

- ✚ Verifica dell'applicabilità della configurazione proposta per la depurazione di un refluo (sintetico e reale) caratterizzato da elevato carico organico e per la produzione di corrente elettrica;
- ✚ Valutazione delle condizioni operative a cui corrispondono i massimi rendimenti in termini depurativi (rimozione di COD e azoto ammoniacale) e le massime prestazioni elettriche ottenibili al variare della configurazione degli elettrodi, per differenti valori del carico organico applicato e della temperatura nel comparto anaerobico;
- ✚ Valutazione delle prestazioni della MFC in assenza di biomassa adesa al catodo e successiva valutazione del tempo necessario per raggiungere nuovamente le condizioni di regime;
- ✚ Individuazione degli effetti dei fattori limitanti la potenza prodotta nella MFC mediante la determinazione dell'andamento di Potenza e Resistenza Sostenibile (secondo la procedura di Menicucci et al., 2006);
- ✚ Valutazione del possibile utilizzo della MFC come sistema per il monitoraggio on-line del processo di degradazione anaerobica;
- ✚ Caratterizzazione e definizione del ruolo della biomassa presente nella MFC mediante osservazione di immagini al microscopio, applicazione di tecniche di sequenziamento e analisi filogenetica "Denaturing Gradient Gel Electrophoresis" (DGGE).

I risultati conseguiti sono stati di rilevante interesse ed incoraggianti per una futura applicazione di tale tecnologia in scala maggiore per impianti industriali.

## Conclusioni

---

E' stata provata l'applicabilità della MFC con entrambi i comparti biotici utilizzando elettrodi di grafite non trattata ottenendo, con un carico organico in ingresso di circa  $9 \text{ g d}^{-1}$ , valori di potenza massima prodotta che si attestano su  $74 \text{ mWm}^{-2}$ , corrente elettrica massima generata di  $175 \text{ mA m}^{-2}$  ad una tensione di 421 mV, ed una conversione di COD in elettricità pari a  $1,2 \text{ gCODm}^{-2}\text{d}^{-1}$ , che rientra nell'intervallo di carico organico specifico con cui vengono dimensionati i sistemi di trattamento anaerobici tradizionali a colture adese (Upflow Packed Bed Attached Growth Reactor), secondo Metcalf & Eddy (2003).

I risultati sono stati molto positivi per quanto riguarda le prestazioni depurative ottenute dalla MFC. L'efficienza di depurazione misurata durante il funzionamento della MFC alimentata con refluo sintetico (FASI I-II-III-IV e V) ha raggiunto un valore massimo del 98% di rimozione del COD in ingresso, mentre la concentrazione di azoto ammoniacale nell'effluente raccolto all'uscita del sedimentatore è sempre stata inferiore a  $1 \text{ mgN-NH}_4^+\text{l}^{-1}$ , evidenziandone quindi una efficienza di rimozione pari al 98%. Inoltre si aveva una produzione giornaliera media di metano pari a  $10,5 \text{ l d}^{-1}$  e una percentuale di metano nel biogas del 55% circa.

Allo stesso modo, alimentando l'impianto con un refluo reale a matrice zuccherina (FASI VI e VII), la massa microbica si è adattata velocemente al nuovo alimento ed i livelli depurativi sono rimasti molto elevati. Infatti l'impianto ha rimosso il 98,75% del COD entrante nelle condizioni più gravose (carico organico entrante pari a  $73,6 \text{ g COD d}^{-1}$ ) e l'abbattimento minimo dell'azoto ammoniacale è stato del 96,81%. La produzione di metano è stato alquanto variabile in funzione del carico entrante e ha raggiunto un valore massimo di circa  $15 \text{ l d}^{-1}$ .

Al contrario, le prestazioni elettriche non hanno fornito indicazioni altrettanto positive. Con l'utilizzo del refluo reale infatti, i valori di tensione, corrente e potenza generata sono diminuiti rispetto a quanto l'impianto produceva con un refluo sintetico. Tali valori si sono stabilizzati intorno a circa 2,2 mA per la corrente, 150 mV per la tensione e  $20 \text{ mW m}^{-2}$  di

## Conclusioni

---

potenza prodotta, con una resistenza applicata al circuito esterno di 168 Ohm ed un carico organico entrante di 31 g COD d<sup>-1</sup>.

In particolare, le prestazioni ottenute dalla MFC con la configurazione caratterizzata da elettrodi in grafite granulare si sono rivelate inferiori a quelle ottenute con la configurazione caratterizzata da elettrodi in grafite vetrosa. L'uso di grafite granulare ha presentato, per l'impianto oggetto di sperimentazione, difficoltà di ordine pratico-applicativo legate probabilmente alla struttura dell'elettrodo (effetto "filtro" generato dalla presenza della rete di contenimento della grafite granulare, assenza di intimo contatto tra la biomassa e la superficie conduttiva, scarsità di ossigeno nel comparto catodico) che non ha comportato in queste condizioni, un reale incremento delle prestazioni elettriche.

Il raggiungimento di prestazioni elettriche ottimali, ottenibili dalla MFC con la configurazione caratterizzata da elettrodi in grafite vetrosa disposti in parallelo, è stato impedito, a causa di alcuni problemi legati a differenti fattori quali un ambiente acquoso e ricco di biomassa, la presenza di ossigeno, ammoniaca e solfuro d'idrogeno, la presenza di siero di latte nel refluo reale. Tali fattori, in assenza di resina epossidica isolante, hanno comportato il danneggiamento degli elettrodi, compromettendone le connessioni elettriche ed il passaggio di elettroni sul circuito. La potenza prodotta ha raggiunto un valore massimo in condizioni di stabilità pari a  $24,15 \pm 3 \text{ mW m}^{-2}$ , con una produzione di corrente pari a circa  $2,36 \text{ mA m}^{-2}$  e tensione di 164 mV.

La sperimentazione condotta ha consentito altresì di affermare che:

- ✚ in assenza di sostanza organica nel refluo in alimentazione alla MFC si realizza un annullamento delle grandezze elettriche, confermando che la corrente è prodotta dalla biomassa;

- ✚ la superficie degli elettrodi è un elemento determinante per la produzione di corrente, in quanto le grandezze elettriche non aumentano

## Conclusioni

---

in maniera lineare con il carico organico in ingresso alla MFC;

- ✚ l'elettrodo limitante della MFC oggetto di sperimentazione, determinato in base allo studio delle curve di polarizzazione e dell'andamento dei potenziali di semicella, risulta essere l'anodo;

- ✚ i tempi necessari per la colonizzazione di un elettrodo pulito nel comparto aerobico sono relativamente brevi e pari a circa 15 giorni.

Sulla base dei risultati ottenuti nelle prime fasi di sperimentazione è stato elaborato un bilancio energetico relativo all'impianto oggetto di studio, valutato nell'ipotesi di un completo trasferimento agli elettrodi dell'energia ottenibile dall'attività biologica e in termini di massima superficie anodica, introducibile fisicamente nella seconda camera del comparto anaerobico (pari a 4,5 m<sup>2</sup>). Alimentando l'impianto con un carico di circa 54 g COD d<sup>-1</sup>, è possibile recuperare circa il 21% della potenza fornita al sistema di aerazione del bacino aerobico. Inoltre, considerando che il substrato organico non convertito in elettricità viene trasformato, nella sezione anaerobica, in biogas con un rendimento di rimozione del COD pari al 90%, è possibile produrre circa 15,3 l CH<sub>4</sub> d<sup>-1</sup>.

Al fine di individuare gli effetti dei fattori limitanti la potenza prodotta nella MFC oggetto di studio, è stato necessario determinare l'andamento di Resistenza e Potenza sostenibile, calcolate seguendo la procedura empirica sviluppata da Menicucci et al. (2006). La determinazione della resistenza sostenibile indica un legame tra la potenza prodotta nella MFC e l'efficienza del processo di trasferimento degli elettroni all'anodo. A bassi valori di resistenza sostenibile corrisponde un elevato flusso di elettroni all'interfaccia elettrodo/biomassa adesa, che favorisce quelle specie batteriche caratterizzate da elevata capacità di trasferimento degli elettroni, portando ad una maggiore produzione di potenza elettrica. Al contrario, valori di resistenza sostenibile elevati (ridotto flusso di elettroni) risultano sfavorevoli alla biomassa elettro-attiva, incidendo negativamente

## Conclusioni

---

sulle prestazioni elettriche della MFC. Allo stato attuale delle conoscenze, questo andamento costituisce la prima prova di un effetto diretto dell'applicazione di differenti valori di resistenza esterna ad una MFC alimentata con acque reflue. In particolare, la determinazione della potenza sostenibile indica un legame tra la potenza prodotta nella MFC e l'efficienza del processo di trasferimento degli elettroni all'anodo.

Tra gli obiettivi posti all'inizio della sperimentazione si è rivelata di notevole interesse la valutazione del possibile utilizzo della MFC come sistema per il monitoraggio on-line del COD e degli acidi grassi volatili (VFA) prodotti all'interno di un digestore anaerobico. L'obiettivo è stato dunque di verificare l'esistenza di una correlazione tra i dati elettrici registrati in continuo e le concentrazioni di COD<sub>anaer</sub> e VFA misurate in diversi periodi della sperimentazione, caratterizzati da condizioni operative differenti. Lo spegnimento della sonda che scalda il comparto anaerobico, insieme alla variazione periodica del carico organico entrante, hanno consentito di riprodurre condizioni di stress della biomassa presente nel comparto anaerobico, riducendone il tasso di degradazione del substrato con un conseguente accumulo di VFA (prodotti intermedi del processo di metanogenesi). I valori medi registrati delle grandezze elettriche sono stati confrontati con i corrispondenti valori medi di concentrazione di VFA e COD<sub>anaer</sub> misurati in uscita dal comparto anaerobico, ottenendo delle curve di correlazione. I coefficienti di correlazione delle curve ottenute hanno confermato l'esistenza di una correlazione lineare tra i valori di VFA e di corrente nell'intervallo di concentrazione di VFA fino a 3 g HAc l<sup>-1</sup>, nonché di COD<sub>anaer</sub> e di corrente nell'intervallo di concentrazione di COD<sub>anaer</sub> fino a 4 g O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>. Noto il valore di corrente registrata dall'impianto, dai grafici e dalle espressioni ottenute è quindi possibile ricavare il corrispondente valore di VFA e COD<sub>anaer</sub> presenti nel comparto anaerobico. La possibilità di monitorare in continuo, attraverso misure di corrente, i parametri

## Conclusioni

---

fondamentali di processo, può pertanto fornire un contributo significativo alla gestione della digestione anaerobica.

Le osservazioni microbiologiche condotte sul fango anaerobico e aerobico selezionato nei compartimenti della MFC e adeso agli elettrodi, hanno portato alla luce alcune difficoltà connesse alla struttura molto compatta dei campioni di biomassa osservati, che determina un elevato background ed ostacola l'osservazione in epifluorescenza. Inoltre, le considerazioni morfologiche svolte sulle fotografie scattate nel corso della sperimentazione hanno permesso di affermare che non è riscontrabile una significativa differenza tra la biomassa sospesa nei compartimenti e quella adesa agli elettrodi, sia nel comparto anodico che in quello catodico.

L'analisi DGGE della biomassa catodica ha fornito uno strumento analitico utile allo studio della diversità della comunità microbica sospesa ed adesa al catodo e ha confermato la forte similarità delle specie batteriche riconosciute nei campioni analizzati. In particolare, le bande di sequenziamento ottenute sono affiliate ai gruppi batterici *Firmicutes*,  $\alpha$ -*Proteobacteria*,  $\beta$ -*Proteobacteria*,  $\gamma$ -*Proteobacteria* e *Bacteroidetes*. Nell'ambito di altri studi, che hanno esaminato la comunità microbica presente nel biocato, è stata rilevata la presenza di una simile diversità genetica mentre i membri del gruppo *Firmicutes* sono stati rilevati per la prima volta. La presenza di questa specie batterica nel comparto catodico potrebbe essere collegata all'alimentazione del sistema mediante glucosio. Inoltre, poiché la maggior parte dei batteri elettroattivi sono stati individuati tra i *Proteobacteria*, questo risultato conferma che le condizioni operative adottate hanno selezionato al catodo biomassa elettroattiva (microorganismi responsabili della produzione corrente).

Da quanto emerso dalla sperimentazione condotta si può pertanto concludere che ad oggi le MFC sono in fase di evoluzione rispetto ai primi prototipi utilizzati per lo studio delle comunità microbiche e per la

---

## Conclusioni

---

comprensione dei meccanismi di trasferimento elettronico. Sfruttarne la potenza prodotta in maniera commerciale diviene una grande sfida per il futuro, ed è opinione comune che le prime applicazioni pratiche delle MFC saranno come fonte di recupero energetico per i dispositivi utilizzati per il monitoraggio dell'ambiente e per il trattamento delle acque reflue.

## *Bibliografia*

- Aelterman P., Rabaey K., Pham H. T., Boon N. e Verstraete W. (2006). Environ. Sci. Technol. Vol. 40, 3388-3394.
- Allen R.M. e Bennetto H.P. (1993). Microbial Fuel-Cells Electricity production from carbohydrates. Applied Biochemistry and Biotechnology, 39-40, 27-40.
- Angenent L.T., Karim K., Al-Dahhan M.H., Wrenn B.A. e Domìguez-Espinosa R. (2004). Production of bioenergy and biochemicals from industrial and agricultural Wastewater. Trends in Biotechnology, 22, 9.
- Antonopoulou, G. Gavala, H.N. Skiadas, I.V. Angelopoulous, K. Lyberatos, G. (2008). Biofuels generation from sweet sorghum: Frementative hydrogen production and anaerobic digestion of the relmaining biomass. Bioresource Technol. 99, 100-119.
- Amann R.I. (1995). In situ identification of microorganisms by whole cell hybridisation with rRNA-targeted nucleic acid probes. Molecular microbial ecology manual, 3.3.6, 1-15.
- Appleby A. J. e Foulkes F. R. (1989). Fuel Cell Handbook. Van Nostrand Reinhold, New York.
- APHA (1999). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19th ed. Amer. Public Health Assoc., Washington, D.C. (1995).
- Ben Aim, R.M. and Semmens, M.J. Membrane bioreactors for wastewater treatment and reuse: a success story. Water Science and Technology 47(1), 1-5.
- Bergel A., Feron D., Mollica A. (2005). Catalysis of oxygen reduction in PEM fuel cell by seawater biofilm. Electrochem. Commun., 7, 900-904.
- Biffinger J.C., Pietron J., Ray R., Little B., Ringeisen B.R. (2006). A biofilm enhanced miniature microbial fuel cell using Shewanella oneidensis DSP10 and oxygen reduction cathodes. Biosensor & Bioelectronics, 22, 1672-1679.

## Bibliografia

---

- Bond R.D. e Lovley D.R. (2003). Electricity Production by *Geobacter sulfurreducens* Attached to Electrodes. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 3, 1548 – 1555.
- Boone, D.R. Bryant, M.P. (1980). Propionate-Degrading Bacterium, *Syntrophobacter wolinii* sp. nov. gen. nov., from Methanogenic Ecosystems. *Appl Environ Microbiol.* 40 (3), 626-632.
- Bourrain, M., Achouak, W., Urbain, V., Heulin, T. (1999). DNA Extraction from Activated Sludges. *Current Microbiol.* 38 (6), 315-319.
- Bradley, R. Ray, R. Little, B. (2006). A miniature microbial fuel cell operating with an aerobic anode chamber. U.S. Naval Research Laboratory, 4555 Overlook Ave. SW WA, DC 20375, United States. doi: 10.1016/j.jpowsour.2006.10.026
- Brouwer, H Klapwijk, A Keesman, KJ (1998) Identification of activated sludge and wastewater characteristics using respirometric batch-experiments. *Water Research*, 32 (4), 1240-1254.
- Bullen R.A., Arnot T.C., Lakeman J.B. e Walsh F.C. (2006). Biosensor and Bioelectronics, 2015-2045.
- Chang I.S., Jang J.K., Gil G. C., kim M., Kim H. J., Cho B. W. e e Kim B.H. (2003). Continuous determination of biochemical oxygen demand using microbial fuel cell type biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*, 19, 607– 613.
- Chang, I.S., Jang, J.K., Gil, G.C., Kim, M., Kim, H.J., Cho, B.W., Kim, B.H. (2004). Continuous determination of biochemical oxygen demand using microbial fuel cell type biosensor. *Biosensors and Bioelectronics* 19 (6), 607–613.
- Chang I.S., Moon H., Jang J.K. e Kim B.H. (2005). Improvement of a microbial fuel cell performance as a BOD sensor using respiratory inhibitors. *Biosensors and Bioelectronics*, 20, 1856 – 1859.
- Chaudhuri S.K. e Lovley D. R. (2003). Electricity generation by direct oxidation of glucose in mediatorless microbial fuel cells. *Nature Biotechnology*, 21, 10, 1229 – 1232.
- Chen, G.W., Choi, S.J., Lee, T.H., Lee,G.Y.,Cha, J.H., Kim, C.W. (2008). Application of biocathode in microbial fuel cells: cell performance and microbial community. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 79, 379-388.

## Bibliografia

---

- Cheng S., Liu H. e Logan B.E. (2006\_a). Power Densities Using Different Cathode Catalysts (Pt and CoTMPP) and Polymer Binders (Nafion and PTFE) in Single Chamber Microbial Fuel Cells. *Environ. Sci. Technol.*, 40, 364-369.
- Cheng S., Liu H. e Logan B.E. (2006\_b). Increased Power Generation in a Continuous Flow MFC with Advective Flow through the Porous Anode and Reduced Electrode Spacing. *Environ. Sci. Technol.*, 40, 2426-2432.
- Cheng S., Liu H. e Logan B.E. (2006\_c). Increased performance of single-chamber microbial fuel cells using an improved cathode structure. *Electrochemistry Communications* 8, 489-494.
- Clauwaert P., Rabaey K., Aelterman P., De Schampelaire L., Pham T.H., Boeckx P., Boon N., Verstraete W. (2007). Biological denitrification in microbial fuel cells. *Environ. Sci. Technol.* 41, 3354-3360.
- Clauwaert, P., Van Der Ha, D., Boon, N., Verbeken, K., Verhaege, M., Rabaey, K., Verstraete, W. (2007\_a). Open air biocathode enables effective electricity generation with microbial fuel cells. *Environ. Sci. Technol.* 41, 7564-7569.
- Colin G. F. and Frederick A. R. (1931). The corrosion of metals by milk. Division of Electrochemistry, Columbia University, New York. July, 3.1-14.
- Cossu R. (2002). Fenomeni di inquinamento delle acque. Università degli studi di Padova, dipartimento IMAGE. 8-9; 26-28.
- Cremonesi, L., Firpo, S., Ferrari, M., Righetti, PG., Gelfi, C. (1997). Double-gradient DGGE for optimized detection of DNA point mutations. *BioTechniques*, 22 (2), 326-330.
- Daims H., Lucer S., Wagner M. (2006). DAIME, a novel image program for microbial ecology and biofilm research. *Environmental Microbiology*. Vol. 8, 200-213.
- Delaney G.M., Benetto H.P., Mason J.R., Roller S.D., Stirling J.L. e Thurston S.C. (1984). Electron-transfer coupling in microbial fuel cells. 2. Performance of fuel cells containing selected microorganism-mediator-substrate combinations. *J.Chem. Tech. Biotechnol.*, 34B, 13 – 27.

## Bibliografia

---

- Dentel S.K., Strogon B. e Chiu P. (2004). Direct generation of electricity from sludges and other liquid wastes. *Water Science and Technology*, 50, 9, 161–168.
- Di Cello, F., Bevivino, A., Chiarini, L., Fani, R., Paffetti, D., Tabacchioni, S., Dalmastrì, C. (1997). Biodiversity of a Burkholderia Cepacia population isolated from the maize rhizosphere at different plant growth stages. *Appl. Environ. Microbiol.* 63 (11), 4485-4493.
- Droste, R.L. (1998) Endogenous decay and bioenergetics theory for aerobic wastewater treatment. *Water research* 32(2), 410-418.
- Du, Z.W., Li, H.R., Gu, T.Y. (2007). A State of the Art Review on Microbial Fuel Cells: a Promising Technology for Wastewater Treatment and Bioenergy. *Biotechnol. Adv.* 25 (5), 464-482.
- El Fantroussi, S., Verschuere, L., Verstraete, W., Top, E. M. (1999). Effect of Phenylurea Herbicides on soil microbial communities estimated by analysis of 16S rRNA gene fingerprints and community-level physiological profiles. *Appl. Environ. Microbiol.* 65 (3), 982-988.
- Freguia S., Rabaey K., Yuan Z., Keller J. (2007\_a). Non-catalyzed cathodic oxygen reduction at graphite granules in microbial fuel cells. *Electrochimica Acta*, 53, 598-603.
- Freguia S., Rabaey K., Yuan Z., Keller J. (2007\_b). Electron and carbon balance in microbial fuel cells reveal temporary bacterial storage behaviour during electricity generation. *Environ. Sci. Technol.* 41, 2915-2921.
- Freguia S., Rabaey K., Yuan Z., Keller J. (2007\_c). Sequential anode-cathode configuration improves cathodic oxygen reduction and effluent quality of microbial fuel cells. *Water Research*.
- Frølund B., Palmgren R., Keiding K., Nielsen PH. (1996). Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin. *Water Res.* 30 (8), 1749–1758.
- Fuel Cell Handbook (Seventh Edition) by EG&G Technical Services, Inc. for the National Energy Technology Lab (NETL). 2004.
- Ghangrekar, M.M., Shinde, V.B. (2007). Performance of membrane-less microbial fuel cell treating wastewater and effect of electrode

- distance and area on electricity production. *Bioresour. Technol.* 98 (15), 2879-2885.
- Gil G. C., Chang I.S., Kim B.H., Kim M., Jang J.K., Park H. S. e Kim H.J. (2003). Operational parameters affecting the performance of a mediato-less microbial fuel cell. *Biosensors and Bioelectronics*, 18, 327 – 334.
- Gorby Y.A., Yanina S., McLean J.S., Rosso K.M., Moyles D., Dohnalkova A., Beveridge T.J., Chang I.S., Kim B.H., Kim K.S., Culley D.E., Reed S.B., Romine M.F., Saffarini D.A., Hill E.A., Shi L., Elias D.A., Kennedy D.W., Pinchuk G., Watanabe K., Ischii S. Logan B., Neilson K.H. and Fedrickson J.K. (2006). Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms. *PNAS*, Vol. 103, N° 30 11358-11363.
- Hansen, M. C., Nielsen T. T., Givskov, M., Molin, S. (1998). Biased 16S rDNA PCR amplification caused by interference from DNA flanking the template region. *FEMS Microbiol. Ecol.* 26 (2), 141-149.
- He Z., Angenent L.T. (2006\_a). Application of bacterial biocathodes in microbial fuel cells. *Electroanalysis*, 18, 2009-2015.
- He Z., Minteer S. D. e Angenent L.T. (2005) Electricity Generation from Artificial Wastewater Using an Upflow Microbial Fuel Cell. *Environ. Sci. Technol.* Vol. 39, 5262-5267.
- He Z., Wagner N., Minteer S. D. e Angenent L.T. (2006\_b). An Upflow Microbial Fuel Cell an Interior Cathode : Assessment of the Internal Resistance by Impedance Spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* Vol. 40, 5212-5217.
- Heijne A. T., Hamelers H. V. M., De Wilde V., Rozendal R. A. e Buisman C. J. N. (2006). A Bipolar Membrane Combined with Ferric Iron Reduction as an Efficient Cathode System in Microbial Fuel Cell. *Environ. Sci. Technol.* Vol. 40, 5200-5205.
- Henze, M. Harremoës, P. Jansen, J.I.C. Arvin, E. (1997). *Biological and Chemical Processes* (2nd Edition).
- Henze, M. Sözen, S. Ubay Çokgör, E. Orhon, D. (1986) *Respirometric analysis of activated sludge behaviour—II. Heterotrophic growth*

## Bibliografia

---

- under aerobic and anoxic conditions. *Water research* 32(2), 476-488.
- Holmes D.E., Bond D.R., O'Neil R.A., Reimers C.E., Tender L.R. e Lovley D.R. (2003). Microbial communities associated with electrodes harvesting electricity from a variety of aquatic sediments. *Springer Science + Business Media*, 48, 178 – 190.
- Hu, H.Y. Goto, N. Fujie, K. (2000) Statistical analyses of operating conditions and power consumption characteristics in small-scale conventional activated sludge plants for sewage treatment. *Environmental Technology*, Vol. 21. pp 1167-1172.
- Hug T., Gujer W. e Siegrist H. (2005). Rapid quantification of bacteria in activated sludge using fluorescence in situ hybridization and epifluorescence microscopy. *Water Research* Vol. 39, 3837-3838.
- Hunziker, O. F. Cordes W. A. Nissen B. H. (1928). Studies on Butter Salts *Journal of Dairy Science*, 11 (5), 333-351.
- Ieropoulos I.A., Greenman J., Melhuish C. e Hart J. (2005). Comparative study of three types of microbial fuel cell. *Enzyme and Microbial Technology*, 37, 238 – 245.
- Istituto di Ricerca sulle Acque I.R.S.A.-C.N.R. (Roma, luglio 2006). Il problema del bulking filamentoso e delle schiume biologiche negli impianti a Fanghi attivati. Quaderni 110. (ISSN 0390-6329).
- Jadhav, G.S. e Ghangrekar, M.M. (2009). Performance of microbial fuel cell subjected to variation in pH, temperature, external load and substrate concentration. *Bioresour. Technol.* 100 (2), 717-723.
- Jang J.K., Pham T.H., Chang I.S., Kang K.H., Moon H., Cho K.S. e Kim B.H. (2003). Construction and operation of a novel mediator-and membrane-less microbial fuel cell. *Process Chemistry*, 39, 1007 – 1012.
- Kang, K.H., Jang, J.K., Lee, J., Moon, H., Chang, I.S., Kim, J.M., Kim, B.H. (2004). A low BOD sensor using a microbial fuel cell. *Journal of KSEE* 26, 58-63.
- Kang K.H., Jang J.K., Pham T.H., Moon H., Chang I.S. e Kim B.H. (2003). A microbial fuel cell with improved cathode reaction as a low

## Bibliografia

---

- biochemical oxygen demand sensor. *Biotechnology Letters*, 25, 1357 – 1361.
- Kim B.H., Chang I.S., Gil G.C., Park H.S., Kim H.J. (2003). Novel BOD (biological oxygen demand) sensor using mediator-less microbial fuel cell. *Biotechnology Letters*, 25, 541-545.
- Kim, B.H., Chang, I.S., Moon, H. (2006). Microbial Fuel Cell-Type Biochemical Oxygen Demand Sensor. *Encyclopedia of Sensors* 10, 1-12.
- Kim, B.H., Park, H.S., Kim, H.J., Kim, G.T., Chang, I.S., Lee, J., Phung, N.T. (2004). Enrichment of Microbial Community Generating Electricity Using a Fuel-Cell-Type Electrochemical Cell. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 63 (6), 672-681.
- Kim, H.J., Hyun, M.S., Chang, I.S., Kim, B.H. (1999). A microbial fuel cell type lactate biosensor using a metal-reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 9 (3), 365-367.
- Kim J. R., Min B., e Logan B.E. (2005). Evaluation of procedures to acclimate a microbial fuel cell for electricity production. *Applied Microbiology and Biotechnology*.
- Kim, M., Youn, S.M., Shin, S.H., Jang, J.G., Han, S.H., Hyun, M.S., Gadd, G.M., Kim, H.J. (2003). Practical field application of a novel BOD monitoring system. *J. Environ. Monit.* 5 (4), 640–643.
- Kim M., Hyun M.S., Gadd G.M., Kim H.J. (2007). A novel biomonitoring system using microbial fuel cells. *Journal of Environmental Monitoring*, 9, 1323-1328.
- Kim, M., Park, H.S., Jin, G.J., Cho, W.H., Lee, D.K., Hyun, M.S., Choi, C.H., Kim, H.J. (2006). A novel combined biomonitoring system for BOD measurement and toxicity detection using microbial fuel cells. *IEEE Sensors*, October 22-25, 1247-1248.
- Kim N., Choi Y., Jung S. e Kim S. (2000). Effect of initial carbon sources on the performance of microbial fuel cells containing *Proteus vulgaris*. *Biotechnology and Bioengineering*, 70, 1, 109 – 114.
- Kumlanghan, A., Liu, J., Thavarungkul, P., Kanatharana, P., Mattiasson, B. (2007). Microbial fuel cell-based biosensor for fast analysis of

## Bibliografia

---

- biodegradable organic matter. *Biosensors and Bioelectronics* 22 (12), 2939–2944.
- Kumlanghan, A., Kanatharana, P., Asawatreratanakul, P., Mattiasson, B., Thavarungkul, P. (2008). Microbial Bod Sensor for Monitoring Treatment of Wastewater From a Rubber Latex Industry. *Enzyme Microb. Technol.* 42 (6), 483-491.
- Kuske, C. R.; Barns, S.M. Bush, J. D. (1997) Diverse uncultivated bacterial groups from soils of the arid Southwestern United States that are present in many geographic regions. *Applied and Environmental Microbiology.* 63 (9), 3614-3621.
- Lee N. (2006). "Fixation protocols for Prokaryotes (for FISH)". Division Microbial Systems Ecology & Engineering Department of Microbiology. Technical University of Munich.
- Lettinga, G. M. van Velsen, A. F. W. Hobma, S. de Zeeuw, W. Klapwijk A. (1980) Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment. *Biotechnology and Bioengineering* 22 (4), 699-734.
- Lettinga, G.M. van Lier, J.B., Grolle, K.C.F. Stams, A.J.M. de Macario, E.C. (1995) Start-up of a thermophilic upflow anaerobic sludge bed (UASB) reactor with mesophilic granular sludge. *Applied Microbiology and Biotechnology* 37(1), 130-135.
- Liang, P., Huang, X., Fan, M. Z., Cao, X. X., Wang, C. (2007). Composition and Distribution of Internal Resistance in Three Types of Microbial Fuel Cells. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 77 (3), 551-558.
- Liu H., Cheng S. e Logan B.E. (2005). Production of electricity from acetate or butyrate using a single-chamber microbial fuel cell. *Environ. Sci. Technol.*, 39, 658 – 662.
- Liu H. e Logan B.E. (2004\_b). Electricity generation using an air-cathode single Chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane. *Environ. Sci. Technol.*, 38, 4040-4046.
- Liu H., Ramnarayanan R. e Logan B.E. (2004\_a). Production of Electricity during Wastewater Treatment Using a Single Chamber Microbial Fuel Cell. *Environ. Sci. Technol.*, 38, 2281 – 2285.

## Bibliografia

---

- Liu J., Dazzo F.B., Glagoleva O., Yu B. e Jain A. K. (2001). CMEIAS: A Computer-Aided System for the Image Analysis of Bacterial Morphotypes in Microbial Communities. *Microb. Ecol.* Vol. 41, 173-194.
- Liu, Z.D., Du, Z.W., Lian, J., Zhu, X.Y., Li, S.H., Li, H.R. (2007). Improving energy accumulation of microbial fuel cells by metabolism regulation using *Rhodospirillum rubrum* as biocatalyst. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 44 (4), 393–398.
- Logan B.E. (2004). Extracting Hydrogen and electricity from renewable resources. *Environmental Science & Technology*, 161A – 167A.
- Logan B.E. (2005\_a). Simultaneous wastewater treatment and biological electricity generation. *Water Science & Technology*, 52, 1-2, 31–37.
- Logan B.E., Kappe S. e Kappe F. (2005\_b). Generating electricity from wastewater treatment. *Editorial*, 211.
- Logan B.E., Hamelers B., Rozendal R., Schroder U., Keller J., Freguia S., Aelterman P., Verstraete W. e Rabaey K. (2006). Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology. *Environmental Science & Technology*. Vol. 40, N° 17.
- Logan B. E., Murano C., Scott K., Gray N. D. e Head I. M. (2004\_b). Electricity generation from cysteine in a microbial fuel cell. *Water Research*, 39, 942–952.
- Logan, B.E., Regan, J.M. (2006). Electricity-producing Bacterial Communities in Microbial Fuel Cells. *Trends in Biotechnol.* 14 (12), 512-518.
- Lovley D. R. (2006), *Microbial fuel cells: novel microbial physiologies and engineering approaches*. Elsevier, Vol. 17: 327-332.
- Malina, F.J., Pohland, F.G. (1992). *Design of Anaerobic Process for the Treatment of Industrial and Municipal Wastes*. *Water Quality Management Library*, Vol. 7, 169.
- Marsili, E., Baron, D.B., Shikhare, I.D., Coursolle, D., Gralnick, J.A., Bond, D.R. (2008). *Shewanella Secretes Flavins That Mediate Extracellular Electron Transfer*. *Proceeding National Academy of Sciences*. 105 (10), 3968–3973.

## Bibliografia

---

- Menicucci J., Beyenal H., Marsili E., Rajaan R., Veluchamy A., Demir G. e Lewandowski Z. (2006). Procedure for determining maximum sustainable power generated by microbial fuel cells. *Environ. Sci. Technol.*, 40, 1016 – 1068.
- Metcalf & Eddy. (Fourth Edition). *Ingegneria delle acque reflue – Trattamento e riuso*. Mc.Graw Hill, 2003.
- Min B., Cheng S. e Logan B.E. (2005\_a). Electricity generation using membrane and salt bridge microbial fuel cells. *Water Research*, 39, 1675–1686.
- Min B., Kim J.R., Oh S.E., Regan J.M. e Logan B.E. (2005\_b). Electricity generation from swine wastewater using microbial fuel cells. *Water Research*, 39, 4961–4968.
- Min B. e Logan B.E. (2004). Continuous electricity generation from domestic wastewater and organic substrates in a plate microbial fuel cell. *Environ. Sci. Technol.*, 38, 5809 – 5814.
- Moon, H., Chang, I.S., Kang, K.H., Jang, J.K., Kim, B.H. (2004). Improving the Dynamic Response of a Mediator-Less Microbial Fuel Cell as a Biochemical Oxygen Demand (Bod) Sensor. *Biotechnology Letters* 26 (22), 1717-1721.
- Moon H., Chang I. S. e Kim B. H. (2005\_a). Continuous electricity production from artificial wastewater using a mediator-less microbial fuel cell. *Bioresource Technology*. Vol. 97, 621-627.
- Moon H., Chang I. S., Jang J. K. e Kim B. H. (2005\_b). Residence time distribution in microbial fuel cell and its influence on COD removal with electricity generation. *Biochemical Engineering Journal*. Vol. 27, 59-65.
- Moon, H., Chang, I.S., Kim, B.H. (2006). Continuous Electricity Production From Artificial Wastewater Using a Mediator-Less Microbial Fuel Cell. *Bioresour. Technol.* 97 (4), 621-627.
- Niessen. J., Schröder U., Harnish F. e Scholz F. (2005). Gaining electricity from in situ oxidation of hydrogen produced by fermentative cellulose degradation. *Letters in Applied Microbiology*, 41, 286–290.

## Bibliografia

---

- Oh S., Min B. e Logan B.E. (2004). Cathode performance as a factor in electricity generation in microbial fuel cells. *Environ. Sci. Technol.*, 38, 4900 – 4904.
- Oh S. e Logan B.E. (2005). Hydrogen and electricity production from a food processing wastewater using fermentation and microbial fuel cell technologies. *Water Research*, 39, 4673–4682.
- Park, Hyun D., Park Y.K. e So C.E. (2004). Application of single-compartment bacterial fuel cell (SCBFC) using modified electrodes with metal ions to wastewater treatment reactor. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 14, 1120 – 1128.
- Park D.H. e Zeikus J.G. (2000). Electricity generation in microbial fuel cells using neutral red as an electronophore. *Applied and Environmental Microbiology* , 66, 4, 1292 – 1297.
- Park D.H. e Zeikus J.G. (2003). Improved fuel cell and electrode designs for producing electricity from microbial degradation. *Biotechnology and Bioengineering*, 81, 3, 348 – 355.
- Pham T.H., Rabaey K., Aelterman P., Clauwaert P., De Schamphelaire L., N. Boon e Verstraete W. (2006). Microbial Fuel Cells in relation to Conventional Anaerobic Digestion Technology. *Eng. Life Sci*, 6, N°3.
- Pham T. H., Jang J.K., Chang I.S. e Kim B.H. (2004). Improvement of cathode reaction of a mediatorless microbial fuel cell. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 14, 324 – 329.
- Rabaey K. e Varstraete W. (2005\_a), Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. Elsevier Vol. 23, N°6.
- Rabaey K., Boon N., Höfte M. e Varstraete W. (2005\_a), Microbial phenazine production enhanced electron transfer in biofuel cells. *Environ. Sci. Technol.*, 39, 3401 – 3408.
- Rabaey K., Boon N., Siciliano S.D., Verhaege M. e Verstraete W. (2004). Biofuel cells selected for microbial consortia that self-mediate electron transfer. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 9, 5373 – 5382.

## Bibliografia

---

- Rabaey K., Clauwaert P., Aelterman P. e Verstraete W. (2005). Tubular Microbial Fuel Cells for Efficient Electricity Generation. *Environ. Sci. Technol.* Vol. 39, 8077-8082.
- Rabaey K., Lissens G., D. S. e S. & W. Verstraete (2003). A microbial fuel cell capable of converting glucose to electricity at high rate and efficiency. *Biotechnology Letters*, 25, 1531–1535.
- Rabaey K., Ossieur W., Verhaege M. e Verstraete W. (2005). Continuous microbial fuel cells convert carbohydrates to electricity. *Water Science & Technology*, 52, 1-2, 515–523.
- Rabaey, K., Read, S.T , Clauwaert, P., Freguia, S., Bond, P.L., Blackall, L.L., Keller, J. (2008). Cathodic oxygen reduction catalyzed by bacteria in microbial fuel cells. *ISME J.* 2, 519-527.
- Rabaey, K., Verstraete, W. (2005). Microbial Fuel Cells: Novel Biotechnology for Energy Generation. *Trends Biotechnol.* 23 (6), 291-298.
- Rabaey K., Van De Sompel K., Maignien L., Boon N., Aelterman P., Clauwaert P., De Schampelaire L., Pham H. T., Vermeulen J., Verhaege M., Lens P. e Verstraete W. (2006). *Environ. Sci. Technol.* Vol. 40, 5218-5224.
- Reguera, G., McCarthy, K. D., Mehta, T., Nicoll, J. S., Tuominen, M. T., Lovley, D. R. (2005). Extracellular Electron Transfer Via Microbial Nanowires. *Nature*, 435 (7045), 1098-1101.
- Reguera G., McCarthy K.D., Mehta T., Nicoll J.S., Tuominen M. T. e Lovley D.R. (2006). Extracellular electron transfer via microbial nanowires. *Nature*. Vol. 435, 23.
- Rhoads A., Beyenal H. e Lewandowski Z. (2005). Microbial fuel cell using anaerobic respiration as an anodic reaction and biomineralized manganese as a cathodic reactant. *Environ. Sci. Technol.*, 39, 4666 – 4671.
- Renè A., Rozendal H. V. M. Hamelers e Buisman C. J. N. (2006) Effects of Membrane Cation Transport on pH and Microbial Fuel Cell Performance. *Environ. Sci. Technol.* Vol. 40, 5206-5211.
- Ringeisen B. R., Henderson E., Wu P. K., Pietron J., Ray R., Little B., Biffinger J. C. e Jones-Meehan J. M. (2006). High Power Density
-

## Bibliografia

---

- from a Miniature Microbial Fuel Cell Usig *Swewanell oneidensis* DSP10. *Environ. Sci. Technol.* Vol. 40, 2629-2634.
- Roller, S.D., Bennetto, H.P., Delaney, G.M., Mason, J.R., Stirling, J.L., Thurston, C.F. (1984). Electron-Transfer Coupling in Microbial Fuel-Cells .1. Comparison of Redox-Mediator Reduction Rates and Respiratory Rates of Bacteria. *J. Chem. Technol. Biotechnol. B-Biotechnology* 34 (1), 3-12.
- Rozendal R.A., Jieremiasse A.W., Hamelers H.V.M., Buisman C.J.N. (2008) Hydrogen production with a microbial biocathode. *Environ. Sci. Technol.*, 42, 629-634.
- Schröder U., Nießen J. e Scholz F. (2003). A generation of microbial fuel cells with current outputs boosted by more than one order of magnitude. *Angew. Chem. Int.*, 42, 2880 – 2883.
- Shantaram A., Beyenal H., Raajan R., Veluchamy A. e Lewandowski Z. (2005). Wireless sensors powered by microbial fuel cells. *Environ. Sci. Technol.*, 39, 5037 – 5042.
- Shimotori, T., Bond, D.R., Lapara, T.M., Hozalski, R.M. (2007). Model of microbial fuel cells in which bacteria employ a direct electron transfer strategy. 234th ACS Natl. Meet. Book Abstr., 19 August 2007 - 23 August 2007.
- Shin S., Choi Y., Na S., Jung S. e Kim S. (2006). Development of Bipolar Plate Stack Type Microbial Fuel Cells. *Bull. Korean Chem. Soc.* Vol. 27, N° 2.
- Sollfrank, U. Gujer, W. (1991) Characterization of domestic wastewater for mathematical modelling of the activated sludge process. *Water Science and Technology*, 23(4/6), 1057-1066.
- Standard Methods (1989). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (17th edition). APHA, AWWA, WPCF, Clesceri L.S., Greemberg A.E., Trussel R.R.
- Stante, L. Cellamare, C. M. Malaspina, F. Bortone, G. Tilche, A. (1997). Biological phosphorus removal by pure culture of *Lampropedia* spp. *Water Res.* 31(6), 1317-1324.

## Bibliografia

---

- Sunamura M. e Maruyama A. (2005). A digital imaging procedure for seven-probe-labeling FISH (Rainbow-Fish) and its application to estuarine microbial communities. *Microbial Ecol.* Vol. 55, 159-166.
- Tartakovsky B. e Guiot S.R. (2006). A Comparison of Air and Hydrogen Peroxide Oxygenated Microbial Fuel Cell Reactors. *Biotechnol. Prog.*, 22, 241 – 246.
- Tchobanoglous G., Burton F.L. and Stensel HD (2003). *Wastewater Engineering, treatment and reuse / Metcalf & Eddy, Inc. McGraw-Hill 4th ed. / revised.*
- Topcagic S., Minteer D.S. (2006). Development of a membraneless ethanol/oxygen biofuel cell. *Electrochimica Acta*, 51, 2168-2172.
- Tront, J.M., Fortner, J.D., Plotze, M., Hughes, J.B., Puzrin, A.M. (2008). Microbial fuel cell biosensor for in situ assessment of microbial activity. *Biosensors and Bioelectronics* 24 (4), 586–590.
- Tsujimura S., Kamitaka Y., Kano K. (2007). Diffusion-controlled oxygen reduction on multi-copper oxidase-adsorbed carbon aerogel electrodes without mediator. *Fuel cells*, 6, 463-469.
- Van der Gucht, K., Vandekerckhove, T., Vloemans, N., Cousin, S., Muylaert, K., Sabbe, K., Gillis, M., Declerk, S., De Meester, L., Vyverman W. (2005). Characterization of bacterial communities in four freshwater lakes differing in nutrient load and food web structure. *FEMS Microbiol. Ecol.* 53 (2), 205-220.
- You, S. J., Zhao, Q. L., Jiang, J. Q., Zhang, J. N. (2007). Treatment of Domestic Wastewater With Simultaneous Electricity Generation in Microbial Fuel Cell Under Continuous Operation. *Chem. Biochem. Eng. Q.* 20 (4), 407-412.
- Zhao, F. Harnisch, F. Schroder, U. Scholz, F. Bogdanoff, P. Herrmann, I. (2005). Application of Pyrolysed Iron(II) Phthalocyanine and Cobalt Based Oxygen Reduction Catalysts as Cathode Materials in Microbial Fuel Cells. *Electrochem. Commun.* 7 (12), 1405-1410.
- Zhou, J., Bruns, M.A., Tiedje, J.M. (1996). DNA recovery from soils of diverse composition. *Appl. Environ. Microbiol.* 62 (2), 316-322.

## Bibliografia

---

Zuo Y., Maness P. e Logan B. E. (2006). Electricity Production from Steam-Exploded Corn Stover Biomass. *Energy & Fuel*. Vol. 20, 1716-1721.

Wagner M., Horn M. e Daims H. (2003). Fluorescence in situ hybridisation for the identification and characterisation of prokaryotes. Elsevier, Vol. 6: 302-309.

Wagner. W. (2002). "2° International Course on Identification of Microorganisms by Fluorescence In Situ Hybridization (FISH)".

## Software

Operator Manual "Daime". Digital image analysis in microbial ecology. Holger Daims.

Operator Manual "CMEIAS". Center for Microbial Ecology Image Analysis System, Michigan State University.