

DETERMINAZIONE DELLE COSTANTI CINETICHE DI REAZIONE NELLA FERMENTAZIONE ANAEROBICA DEL SIERO DI LATTE (SCOTTA) PER PRODURRE METANO

MARINELLA BROGLIA, FRANCESCO PETRAZZUOLO

ENEA – Unità Tecnica per lo Sviluppo Sostenibile ed Innovazione del Sistema Agro-Industriale
Laboratorio Innovazione Agro-Industriale
Centro Ricerche Casaccia, Roma



AGENZIA NAZIONALE PER LE NUOVE TECNOLOGIE,
L'ENERGIA E LO SVILUPPO ECONOMICO SOSTENIBILE

DETERMINAZIONE DELLE COSTANTI CINETICHE DI REAZIONE NELLA FERMENTAZIONE ANAEROBICA DEL SIERO DI LATTE (SCOTTA) PER PRODURRE METANO

MARINELLA BROGLIA, FRANCESCO PETRAZZUOLO

ENEA – Unità Tecnica per lo Sviluppo Sostenibile ed Innovazione del Sistema Agro-Industriale
Laboratorio Innovazione Agro-Industriale
Centro Ricerche Casaccia, Roma

I Rapporti tecnici sono scaricabili in formato pdf dal sito web ENEA alla pagina
<http://www.enea.it/it/produzione-scientifica/rapporti-tecnici>

I contenuti tecnico-scientifici dei rapporti tecnici dell'ENEA rispecchiano l'opinione degli autori e non necessariamente quella dell'Agenzia.

The technical and scientific contents of these reports express the opinion of the authors but not necessarily the opinion of ENEA.

DETERMINAZIONE DELLE COSTANTI CINETICHE DI REAZIONE NELLA FERMENTAZIONE ANAEROBICA DEL SIERO DI LATTE (SCOTTA) PER PRODURRE METANO

MARINELLA BROGLIA, FRANCESCO PETRAZZUOLO

Riassunto

Si riportano i risultati delle prove di produzione anaerobica di metano da siero di latte con reattore CSTR (Continuously Stirred Tank Reactor – reattore a serbatoio continuamente agitato), utilizzando un'apparecchiatura scala laboratorio (reattore dal volume totale di circa 15,6 litri).

Nello specifico si sono determinate le costanti cinetiche della fermentazione anaerobica del siero di latte secondo i modelli di Monod e di Contois. I valori di tali grandezze sono necessari alla progettazione e/o alla interpretazione del funzionamento di un fermentatore.

Parole chiave: cheese whey anaerobic digestion, Monod kinetic model, Contois kinetic model,

Abstract

In bench scale laboratory Continuously Stirred Tank Reactor (CSTR), cheese whey anaerobic fermentation has been done to determining kinetic values for Monod kinetic and Contois kinetic fermentation models. Such values are useful to predict the anaerobic digester performance.

Keywords: *cheese whey anaerobic digestion, Monod kinetic model, Contois kinetic model,*

INDICE

Premessa	pag. 7
1. Introduzione	7
2. Breve descrizione del processo di digestione anaerobica	7
3. Oggetto del documento	8
4. Materiali e metodi	9
4.1. Siero utilizzato	9
4.2. Apparato di reazione	9
4.3. Macro e micro nutrienti aggiunti al feed	10
4.4. Regolazione del pH (Aggiunta di NaHCO_3 o NaOH)	10
4.5. COD e sostanze volatili nel feed (substrato alimentato al reattore)	12
4.6. Modalità di alimentazione	12
4.7. Analisi del gas	13
4.8. Analisi dei liquidi	13
4.8.1. Determinazione del COD	13
4.8.2. Analisi HPLC	14
4.8.3. Analisi per gascromatografia	15
4.8.4. Misura del pH e degli acidi volatili e dell'alcalinità col metodo titrimetrico	16
4.9. Determinazione dei solidi totali, disciolti e volatili	17
5. Elaborazione dei dati sperimentali: note di teoria	18
5.1. Bilancio di massa della biomasse	18
5.2. Bilancio di massa del substrato	19
5.3. Calcolo di $Y_{X/S}$ (resa biomasse/substrato) e di K_d (costante di decadimento)	19
5.4. Calcolo della concentrazione di biomassa	19
5.5. Calcolo costanti cinetiche	20
5.5.1. Calcolo di μ_{\max} e K_s (costanti cinetiche della equazione di Monod)	20
5.5.2. calcolo C e μ_{\max} della equazione di Contois	20
5.6. Calcolo della produttività e del potenziale biologico di metano	21
6. Ricapitolando	21
7. Conclusioni	22
Riferimenti	23
APPENDICE :Dati sperimentali della fermentazione anaerobica del siero di latte	24
A1. Substrato espresso in unità di COD	24
A2. Substrato espresso in unità di sostanza volatile	31

Premessa

I grossi impianti di digestione anaerobica richiedono un'attenta valutazione delle biomasse e dei reflui disponibili nel bacino territoriale in cui l'impianto viene realizzato. Talvolta gli elevati costi del conferimento all'impianto delle biomasse residuali e dell'acquisto di colture energetiche portano alla insostenibilità economica degli impianti.

E' nostra convinzione che la tecnologia della digestione anaerobica ha un promettente e praticabile futuro nella realizzazione di impianti di piccola dimensione per risolvere in loco, presso le fattorie e le aziende agroindustriali, la necessità dello smaltimento dei reflui e dei rifiuti organici a forte carico inquinante. L'associata produzione di energia connessa con lo smaltimento biologico dei reflui e dei rifiuti è questione secondaria, ma non per questo marginale, della tecnologia degli impianti di digestione anaerobica. Le piccole aziende agro-industriali hanno necessità di smaltire in modo sicuro ed economico i loro rifiuti, meglio se con il guadagno economico sulla loro bolletta energetica apportato con la produzione di biogas.

Considerata la facilità di approvvigionamento di siero di latte (per la vicinanza di un caseificio) e la utilità di mettere a punto il processo della digestione anaerobica su tale scarto (un digestore anaerobico calato nella realtà agroindustriale dei piccoli caseifici riscuoterebbe grande interesse di mercato) è stata avviata l'attività riportata nel presente documento.

1. Introduzione

Il siero di caseificazione costituisce ciò che rimane dal latte a seguito del processo di cagliatura necessario alla produzione casearia di ogni tipo.

Disfarsi del siero è un grosso problema. Viene ancora considerato come un fastidioso prodotto di scarto: smaltito in mare, disperso sul terreno o utilizzato come alimento per animali; nonostante le nuove tecnologie permettano di estrarre sostanze ad elevato valore aggiunto di interesse alimentare e farmaceutico. Le piccole aziende casearie non hanno la possibilità economica né la dimensione di mercato per poter sostenere i costi di queste nuove tecnologie ⁽¹⁾. Lo smaltimento del siero come alimento per maiali è la via più economica attuata. Tuttavia laddove la presenza di allevamenti suinicoli viene a mancare, lo smaltimento del siero diventa un problema ambientale non indifferente. Si stima che un caseificio trattante 100 t di latte al giorno produce, approssimativamente, lo stesso carico inquinante generato da una città con 55000 residenti ⁽²⁾.

La digestione anaerobica degli scarti agroindustriali ricchi di materia organica biodegradabile, ivi compresi gli scarti dei caseifici, offre una duplice soluzione, ambientale ed energetica, in quanto consente la distruzione sicura di residui ad alto contenuto inquinante e il contemporaneo recupero di energia con la produzione di biogas ricco in metano.

2. Breve descrizione del processo di digestione anaerobica

La digestione (o fermentazione) anaerobica della materia organica, a produrre metano, necessita l'azione cooperativa di un consorzio batterico in cui i vari ceppi sono in delicato e complesso equilibrio fra di loro ⁽³⁾. Nel consorzio batterico agiscono:

- batteri idrolitici, che demoliscono le sostanze organiche complesse in unità semplici,
- batteri acidogeni, che producono idrogeno, acidi grassi e lunga e a corta catena (acidi volatili),
- batteri acetogeni, che producono acido acetico,
- batteri metanogeni, che convertono l'idrogeno in metano (tramite reazione di omoacetogenesi) e l'acido acetico in metano e anidride carbonica.

Sono le differenti necessità nutrizionali e ambientali dei diversi batteri a rendere delicati e complessi gli equilibri che fra essi si devono instaurare con opportune azioni di controllo e regolazione (si pensi ad es. ai tempi di ricambio delle soluzioni, alla temperatura, al pH e ai ratei di carico del substrato che bisogna ottimizzare nella conduzione della fermentazione).

La separazione dei batteri idrolitici, acidogeni e acetogeni dai batteri metanogeni con l'utilizzo di due stadi diversi e consecutivi di reazione porta al vantaggio di un più semplice ed appropriata regolazione dei parametri di esercizio della degradazione anaerobica complessiva del substrato, sia pure con una maggiore complessità impiantistica.

3. Oggetto del documento

Per gli scopi appena descritti, usando reattori CSTR (Continuously Stirred Tank Reactor – reattore a serbatoio continuamente agitato), è stato programmato un piano di lavoro finalizzato alla definizione delle condizioni per trasformare, il siero di latte:

- in metano con reattore monostadio,
- in idrogeno con reattore monostadio,
- in idrogeno e metano con stadi consecutivi e separati. Gli effluenti (ricchi di acidi volatili) del reattore di produzione dell'idrogeno fanno da substrato per il reattore di produzione del metano.

Nel presente rapporto tecnico si riportano i risultati delle prove di produzione di metano da siero di latte con reattore monostadio utilizzando un'apparecchiatura scala laboratorio (reattore dal volume totale di circa 15,6 litri).

Nello specifico si sono determinate le costanti cinetiche della fermentazione anaerobica del siero di latte secondo i modelli di Monod e di Contois. I valori di tali grandezze sono necessari alla progettazione e/o alla interpretazione del funzionamento di un fermentatore.

4. Materiali e metodi

4.1. Siero utilizzato

Il siero è stato prelevato in più riprese presso un caseificio sito in S. Maria di Galeria - Roma (Caseificio S. Maria dei F.lli Punturi) in quantitativi di circa 40 litri per volta. Si è trattato di siero risultante dalla produzione di ricotta, un sottoprodotto della produzione del formaggio: il siero che rimane dopo la formazione della cagliata, viene recuperato e riscaldato a oltre 72°C (spesso fino a 90°C); questo provoca la precipitazione delle proteine seriche (lattalbumina, lattoglobuline, ecc.) che, separate dalla parte acquosa, formano la ricotta. Pertanto è appropriato parlare di scotta e non di siero.

Dopo filtrazione grossolana, a rimuovere granuli di ricotta, la scotta, posta in bottiglie di plastica da 500 ml, è stata conservata alla temperatura di -20°C e scongelata al momento dell'utilizzo. La tabella 1 riporta le caratteristiche medie della scotta utilizzata.

Tabella 1: Alcune caratteristiche del siero (scotta) utilizzato

PARAMETRO	VALORE
pH	6,26
COD	58,17 gO ₂ /L
solidi totali	55,16 g/L
solidi volatili	49,38 g/L
lattosio	3,35 %
alcalinità totale (neutralizzata a pH 4)	1010 mgCaCO ₃ /L

Si tratta di siero dolce per il quale $5,9 < \text{pH} < 6,3$ proveniente dalla produzione di formaggi duri, semiduri e molli. Questo siero si differenzia dal siero acido ($4,3 < \text{pH} < 4,6$) dove la coagulazione della caseina avviene utilizzando acidi.

Il siero, o scotta che si voglia o si debba dire, non è stato utilizzato nella sua concentrazione in COD così come prelevato al caseificio. Dopo prove preliminari di fermentazione, nelle quali a partire da siero molto diluito si è innalzata gradualmente la concentrazione del siero (espressa in gCOD/L), ci si è orientati a preparare soluzioni di feed con conc. di 38,25 gCOD/L (approssimativamente 1/3 di acqua e 2/3 di siero). Anche perché, volendo lavorare con un feed a concentrazione costante, ci si è messi nelle condizioni di concentrazione inferiore alla minima concentrazione fornita dal caseificio. Naturalmente, volendo limitare il consumo di acqua e volendo recuperare alcalinità, è possibile ricircolare, per le operazioni di diluizione del siero, il liquido effluente dal reattore dopo decantazione del fango.

4.2. Apparato di reazione

Per le prove si è utilizzato un reattore a serbatoio continuamente agitato (CSTR) costituito da un boccione di vetro del volume complessivo di 15,6 litri ma riempito per 14 litri. Il boccione presenta tre aperture superiori: due aperture per tappi a vite e una per una flangia ampia. Su ciascun tappo a vite sono innestate tre valvole utilizzate per l'immissione/emissione di liquidi e gas. Il collo della bottiglia molto ampio è stato chiuso da una flangia a tenuta, anch'essa portante valvole di ingresso e di uscita per i fluidi di processo. L'agitazione del liquido è avvenuta tramite ricircolo con pompa compressore del gas stesso prodotto dalla fermentazione. Per la immissione/emissione dei liquidi (feed e scarico) si è fatto uso di pompe peristaltiche azionate per un minuto a intervalli di tempo e portate effettive prestabilite a generare la portata media giornaliera voluta.

Il gas è stato raccolto in cilindro di plexiglas allagato con soluzione di NaCl 20% + acido citrico 5%. In questa soluzione la solubilità della CO₂ è molto bassa sicché la misura della composizione del biogas non viene inficiata. Nel corso della fermentazione il biogas generato sposta il liquido dal cilindro inviandolo in un serbatoio di raccolta collegato al fondo del cilindro (vasi comunicanti). La pressione del biogas nel boccione si è mantenuta sempre prossima a quella atmosferica perché il

serbatoio di raccolta poggiava su piastre elevatrici la cui altezza veniva regolata a stretti intervalli di tempo per mantenere uguali i livelli di liquido nel cilindro di raccolta gas e nel serbatoio di raccolta del liquido spostato dal biogas. Si veda figura 1. Al riempimento completo di biogas del cilindro (svuotamento di liquido) la situazione veniva resettata sfiatando il biogas in aria, tramite piccola guardia idraulica, e innalzando il serbatoio di raccolta liquido. Nel corso di questa operazione, di rapida esecuzione, il reattore veniva isolato dai cilindri.

Il boccione (reattore) è stato tenuto in un bagno di acqua nel quale era immersa una serpentina di tubo rame attraversata da acqua calda a mantenere la temperatura nel boccione pari a 35°C. La figura 1 riporta lo schema dell'apparato di reazione.

4.3. Macro e micro nutrienti aggiunti al feed

Il siero non è stato analizzato nel contenuto di azoto e di fosforo. Trattandosi di scotta, cioè di siero da cui sono state precipitate le proteine seriche, si è ipotizzata l'assenza di azoto.

Nel feed (siero diluito con acqua a produrre un COD nominale di 38,25 g/L) si è prodotta una concentrazione di azoto e fosforo con l'aggiunta di NH_4Cl e KH_2PO_4 ad ottenere approssimativamente un rapporto : COD : N : P = 400 : 5 : 1 ⁽⁴⁾.

Per favorire le sintesi enzimatiche necessarie alla digestione anaerobica, al siero, al momento della diluizione a 38,25 gCOD, sono stati aggiunti 10 mL/L (mL di soluzione per L di siero utilizzato) di una soluzione contenente i microelementi necessari come riportato in tabella 2 (modificata dal riferimento ⁽⁵⁾).

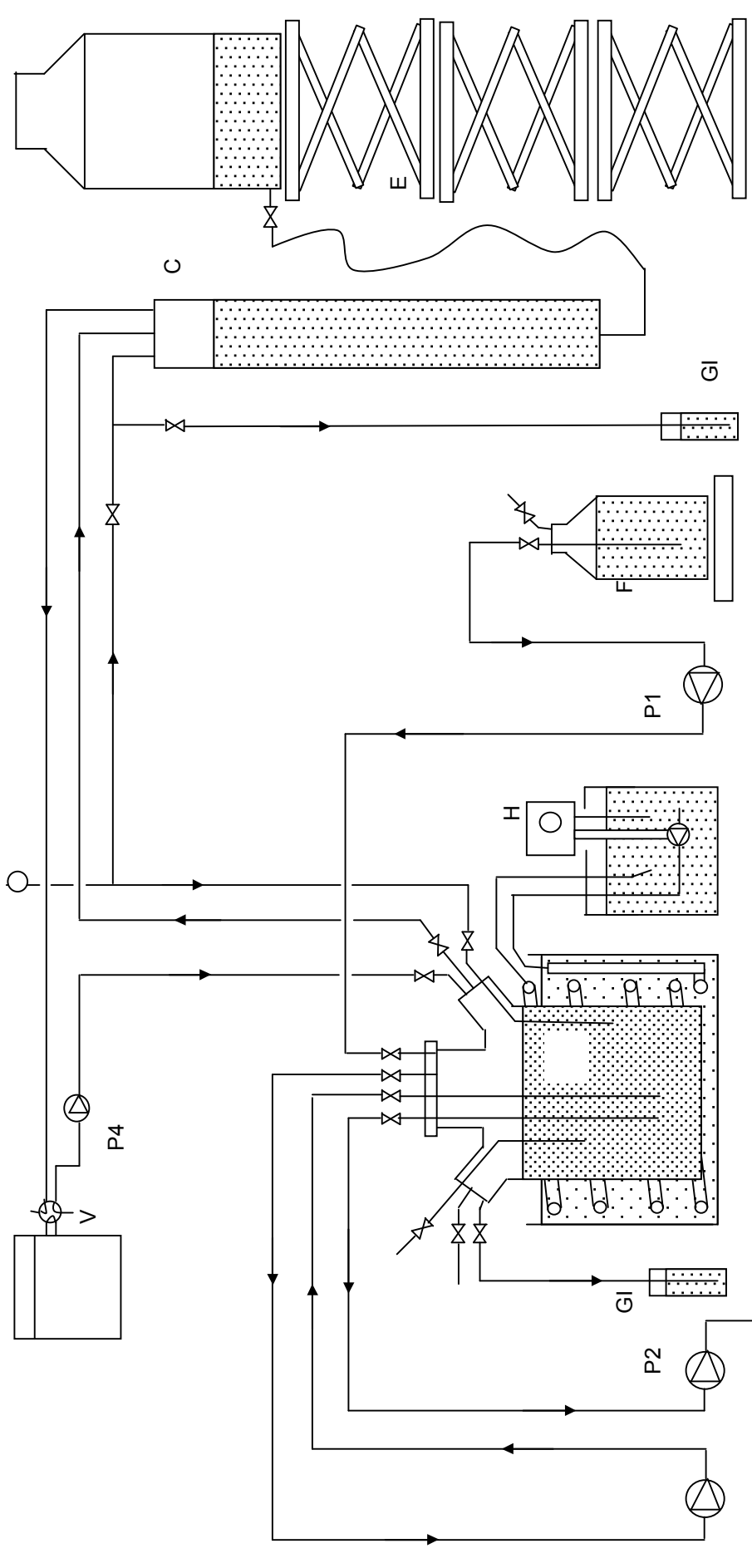
Tabella 2: Soluzione di microelementi aggiunti al feed

Composto	conc. mg/L
$\text{MgCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$	16200
$\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$	1800
$\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	2700
H_3BO_3	513
$\text{CuCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$	243
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	230
ZnCl_2	189
$\text{NiCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	350
$\text{FeCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$	900

4.4. Regolazione del pH (Aggiunta di NaHCO_3 o NaOH)

Con la fermentazione anaerobica, nei suoi stadi intermedi, si producono acidi organici volatili che abbassano il pH del liquido fermentante producendo condizioni di vita impossibili alla riproduzione della biomassa, pertanto è necessario mantenere questo parametro nell'intorno dei valori ottimali al consorzio batterico. Valori di pH compresi nell'intervallo $6,8 < \text{pH} < 7,2$ risultano idonei per una buona produzione di biogas ⁽³⁾. Le modalità per contrastare l'abbassamento di pH possono essere due: aggiungere una base direttamente alla carica del feed oppure installare un sensore di pH nel reattore e con questi pilotare l'aggiunta di una soluzione basica o acida a correggere gli scostamenti del pH dal range ottimale. Pur disponendo di un sistema di controllo e regolazione automatica del pH, per l'impossibilità di poter inserire un elettrodo di pH nel reattore (mancanza di una sede di inserzione), ma anche per la curiosità di provare ad individuare il giusto dosaggio di base da aggiungere direttamente al feed (operazione che semplifica la gestione dell'apparato complessivo di prova), si è rinunciato al controllo e alla regolazione automatica del pH.

Il siero è caratterizzato da una bassa alcalinità e da sostanze facilmente idrolizzabili, la rapidità delle reazioni di acidogenesi prevale sulla rapidità delle successive reazioni di metanogenesi per cui in mancanza di alcalinità tampone la soluzione diviene rapidamente acida: il consorzio batterico si sbilancia e la funzionalità del reattore è compromessa.



LEGENDA

R = reattore immerso in bagno d'acqua riscaldato da acqua circolante in serpentina di rame	C = cilindro raccolta e misura biogas
P1 = pompa peristaltica di alimentazione	S = serbatoio di raccolta liquido
P2 = pompa peristaltica di estrazione effluenti	E = piastre elevatrici
P3 = pompa di ricircolo gas a mescolare il liquido	GC = gas cromatografo (rivelatore TCD)
P4 = pompa campionamento gas	V = valvola campionamento gas
Ar = argon per la inertizzazione	H = riscaldatore con pompa ricircolo acqua calda
Sc = tanica di raccolta effluenti	F = bottiglia con il feed su piastra agitatrice
	GI = guardia idraulica

Figura 1: Schema dell'apparato sperimentale

Per la neutralizzazione si è usato NaHCO_3 e poi NaOH aggiunti in forma solida al feed. Inizialmente si è optato per l' NaHCO_3 però lo si è sostituito con l' NaOH perché considerato gli stretti diametri (circa 4 mm) dei tubicini (in teflon) di adduzione del feed alla pompa peristaltica e al reattore, la sezione dei tubicini si ostruiva per la deposizione di grassi e di scaglie di materiale carbonatico sulle pareti dei tubicini. Usando NaHCO_3 era necessaria una pulizia abbastanza frequente dei tubicini.

Una ricetta tipo del feed prevedeva l'aggiunta di 2,1-2,2 g di NaOH /litro feed per mantenere il pH nella boccia di reazione nell'intervallo idoneo di $6,8 < \text{pH} < 7,2$ (con feed a 38,25 g COD e 29,41 gSV/L).

4.5. COD e sostanze volatili nel feed (substrato alimentato al reattore)

Come si è avuto modo di dire, la scotta è stata diluita con acqua ad abbassare il COD ad un valore di 38,25 gCOD/L. La soluzione di feed, tenuta a temperatura ambiente, veniva preparata e rinnovata ogni giorno. Pur se le analisi del COD sul feed hanno sostanzialmente confermato il valore nominale di 38,25 gCOD/L, si è notata una diminuzione di COD sul residuo di feed alla rimozione a indicare la degradazione del substrato già nella bottiglia del feed, pertanto sarebbe stato opportuno mantenere il feed a bassa temperatura. Comunque il feed, tranne che per i week-end, è stato preparato per il quantitativo minimo giornaliero e rinnovato quindi ogni giorno.

L'analisi della sostanza volatile del feed, eseguita almeno tre volte a settimana ha dato un valore compreso fra 32,8 e 25,45 gSV/L con valore medio di $29,41 \pm 2,01$. Vale lo stesso discorso fatto per il COD: una certa perdita di SV si è notata man mano che il feed si invecchiava sulla piastra di agitazione magnetica sulla quale era collocato.

4.6. Modalità di alimentazione

Il reattore è stato alimentato in modo semicontinuo. L'estrazione del liquido di reazione e l'adduzione della soluzione di substrato è avvenuta in genere ad intervalli di tre ore o di due ore ad opera di pompe peristaltiche (Masterflex).

Con cicli di lavoro di due ore si avevano 119 minuti OFF, 1 minuto ON. La pompa dell'Input si attivava un minuto dopo lo spegnimento della pompa dell'OUT. Quindi in totale le pompe rimanevano inserite per 12 minuti al giorno (12 volte per un minuto). La portata delle pompe è stata regolata in modo da avere l'HRT richiesto dalla prova in corso (con HRT si indica il tempo necessario a fluire un volume di liquido pari al volume presente nel reattore).

La soluzione del feed è stata agitata (rimescolata) prima (10 min) e durante l'aspirazione per la immissione al reattore, infatti la piastra di agitazione magnetica su cui era posta la bottiglia del feed era collegata ad un temporizzatore che si attivava ai giusti tempi in sincronia con la pompa peristaltica.

Sono stati provati 4 valori di HRT: 20, 18, 15 e 12 giorni per i quali, considerando una concentrazione in ingresso di 38,25 gCOD/L, o 29,41 gSV/L, risulta un rateo di carico organico (OLR = Organic Loading Rate) riportato in tabella 3:

Tabella 3: Ratei di carico organico al variare dell'HRT

HRT	VOLUME (L)	FLUSSO (L/die)	ORL gCOD/(L die)	ORL gSV/(L die)
20	14	0,70	1,91	1,47
18	14	0,78	2,13	1,63
15	14	0,93	2,55	1,96
12	14	1,17	3,19	2,45

4.7. Analisi del gas

Il biogas prodotto dalla fermentazione anaerobica è stato analizzato con gascromatografo munito di rivelatore a termoconducibilità. Le condizioni analitiche sono riportate nella tabella 4.

Tabella 4 – Condizioni analitiche per l'analisi gascromatografica del biogas

strumentazione	DANI DPC 1000
colonna	Acciaio, L = 6 m; Ø int.= 2,1 mm
fase stazionaria	Hayesep Q, 80 - 100 mesh
gas di trasporto	argon
flusso del gas di trasporto	25 ml/min
rivelatore	termoconducibilità
temperatura iniettore	100°C
temperatura colonna	110°C
temperatura rivelatore	125°C
tensione rivelatore	5,00 V
corrente rivelatore	95 mA
volume gas campionato a pressione atmosferica e T23°C	125 µL

Il campionamento avviene con piccola pompa a membrana (KNF) tramite ricircolo del gas con aspirazione sul cilindro di raccolta e mandata nel cielo del reattore. La valvola di campionamento viene azionata manualmente immediatamente dopo aver spento la pompa.

I cromatogrammi sono stati acquisiti ed elaborati con software CSW32 Data Apex Ltd.

Le curve di calibrazione sono state realizzate con miscele di gas CH₄ in argon (5, 25, 50, 75%) e con miscele di gas H₂ in CO₂ (H₂ = 5, 20, 40, 60, 80%).

Nel corso delle prove, con andamento ottimale della fermentazione (pH e ratei di produzione stabili), la concentrazione del biogas è risultata: CH₄ ~ 55%, resto CO₂.

La produzione giornaliera di gas è stata quantificata misurando il gas generato per ogni carica di feed nelle ore diurne (volume di gas prodotto ogni due o tre ore a seconda dell'intervallo di tempo o comunque fra un feed ed il successivo) ed estrapolata alle 24 ore. I risultati delle analisi del gas, tempo di misura circa 10 minuti, sono stati memorizzati ed elaborati in tempo reale con foglio di lavoro excel ad ottenere per (CH₄ e CO₂): volume totale (mL), volume parziale (mL), rateo parziale specifico (riferito alla unità di volume del reattore mL/mL/h o m³/m³/die), composizione percentuale media e istantanea prodotta.

A parità di OLR, l'effetto della diminuzione dei tempi del ciclo di feed è stato quantificato con il confronto fra un ciclo di 120 min e un ciclo di 72 min (fermo restando i tempi di un minuto di attivazione effettiva delle pompe peristaltiche per ciclo). Non si è notata una maggiore produzione di gas ma il prevedibile appiattimento della escursione del valore del rateo di produzione (valore max nei tempi immediatamente successivi all'alimentazione del substrato e valori minimi alla fine del ciclo del feeding). Si veda figura 2 .

4.8. Analisi dei liquidi

4.8.1. Determinazione del COD

Il COD è stato determinato con il metodo classico della retrotitolazione di K₂Cr₂O₇ con Fe(NH₄)₂(SO₄)₂ dopo digestione dei campioni con K₂Cr₂O₇, acido solforico, HgSO₄, e AgSO₄ in beuta da 250 ml e condensazione dei vapori con refrigerante a ricadere ⁽⁶⁾. Il COD su siero e su soluzioni di feed al CSTR è stato determinato su soluzioni diluite 100 volte, per rientrare nel range di utilizzo del metodo. Il COD delle soluzioni di effluente tal quale dal digestore è stato determinato su soluzioni diluite 10 volte. Il COD solubile delle soluzioni effluenti dal reattore è

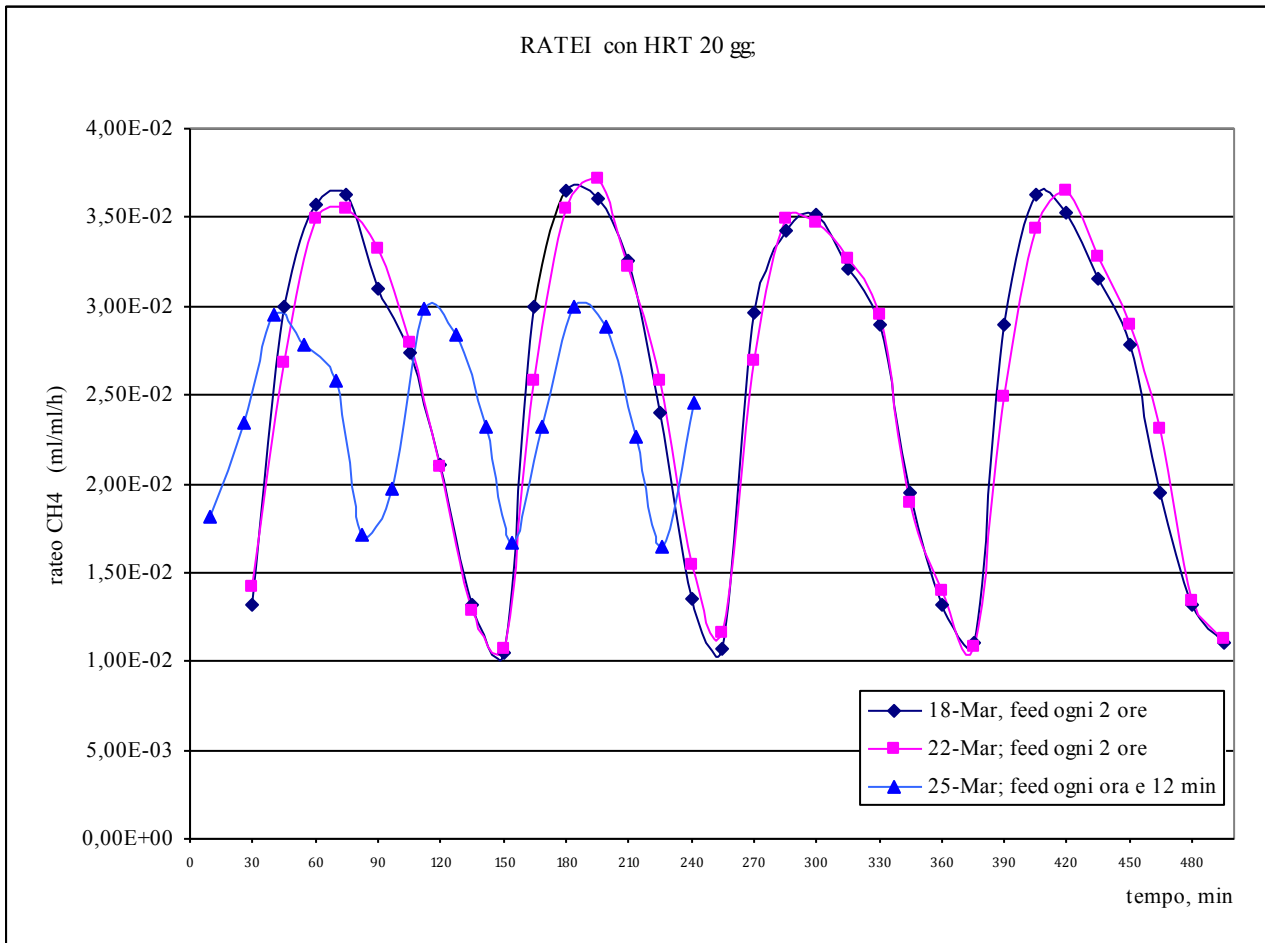


Figura 2 – Andamento del rateo di produzione del metano nei cicli di feed del substrato

stato determinato su soluzioni centrifugate e filtrate (filtro con pori da 0,2 μ) e senza alcuna diluizione.

4.8.2. Analisi HPLC

Il siero e i liquidi di fermentazione sono stati analizzati con strumentazione HPLC, colonna adatta per zuccheri e acidi organici volatili. Il siero è stato analizzato per il contenuto di lattosio; i liquidi di fermentazione per il contenuto degli acidi e degli alcoli tipici dei pathways di fermentazione che si diramano dal nodo dell'acido piruvico nelle fermentazioni anaerobiche dei carboidrati. Le condizioni analitiche sono riportate nella tabella 5.

Tabella 5: Condizioni dell'analisi HPLC

colonna	Alltech IOA-1000 Organic Acid Column
dimensioni colonna	300 x 7,8 mm
fase mobile	H ₂ SO ₄ conc. 0,01 N
flusso fase mobile	0,5 ml/min
temperatura di lavoro	70°C
rivelatore	a indice di rifrazione
volume di campione iniettato in colonna	50 μ L

I cromatogrammi sono stati acquisiti ed elaborati ancora con software CSW32 Data Apex Ltd. L'analisi è stata eseguita elaborando i cromatogrammi con il metodo dello standard interno (SI).

I campioni dei liquidi di fermentazione sono stati così preparati per l'analisi HPLC: centrifugazione a rimuovere i solidi sospesi, il surnatante è stato filtrato con filtri Vivaspin 500 (Sartorius Stedim), con taglio molecolare di 5000 MW, utilizzati in centrifuga a 15000 giri/min per 15 min. Poi a 100 µL di liquido centrifugato e filtrato si aggiungono 100 µL di una soluzione di standard interno di fruttosio allo 0,5%.

Le curve di calibrazione sono state realizzate con soluzioni a titolo noto di lattosio e degli analiti di interesse nel range (0,001% – 2%).

Gli analiti determinabili sono: lattosio, glucosio, acido succinico, acido lattico, acido acetico, acido propionico, acetoina, butandiolo, acido isobutirrico, acido butirrico, alcool etilico, isopropanolo, acido isovalerianico, butanolo, acido caproico.

La analisi HPLC sul filtrato effluente non hanno evidenziato picchi identificabili

4.8.3. Analisi per gascromatografia

Il liquido di fermentazione è stato analizzato anche per gascromatografia e rivelatore a ionizzazione di fiamma (FID). La tabella 6 riporta le condizioni analitiche dell'analisi gascromatografica delle soluzioni in fermentazione.

Tabella 6. Condizioni di analisi dei liquidi al gascromatografo con la ionizzazione di fiamma (FID)

Strumentazione	VARIAN GC 3600 autocampionatore Varian 8100
colonna cromatografica in vetro	L = 2 m, diametro interno = 2 mm
fase stazionaria	carbowax 20 M su carbograph B-DA , 60 – 80 mesh
gas di trasporto	azoto
flusso del gas di trasporto	5 ml min a 40°C
temperatura della colonna programmata	iniziale 100°C per 3 min, poi rampa di 55°C/min fino a 175°C mantenuti per 55 min.
flussi di aria/idrogeno al Fid	300 ml/min / 30 ml/min

I campioni centrifugati e filtrati, come per l'analisi HPLC, sono stati diluiti e addizionati di standard interno prima di essere iniettati in colonna: 100 µl di campione + 350 µl di acqua + 50 µl di standard interno. Per standard interno si è usato acido trimetilacetico in 2500 ppm di acido ossalico. Campione iniettato in colonna : 1 µL.

Analiti determinabili: alcool etilico, acetone, alcool isopropilico, acido acetico, alcool butilico, acetoina, acido propionico, butandiolo, acido butirrico, acido succinico, acido lattico, acido valerianico, acido caproico.

I cromatogrammi sono stati acquisiti ed elaborati sempre con software CSW32 Data Apex Ltd.

Le tabelle da 7 a 10 riportano i valori dei prodotti solubili di fermentazione determinati sugli effluenti dal reattore ai vari HRT di prova.

Tabella 7

HRT	ANALITA	FID	HPLC
20 die	Alcool etilico		Non si sono notati picchi identificabili
	ac. acetico		
	ac. propionico	0,015%	

Tabella 8

HRT	ANALITA	FID	HPLC
18 die	alcool etilico		Non si sono notati picchi identificabili
	ac. acetico	0,001%	
	ac. propionico	0,004%	

Tabella 9

HRT	ANALITA	FID	HPLC
15 die	alcool etilico		Non si sono notati picchi identificabili
	ac. acetico		
	ac.propionico	0,00015 %	

Tabella 10

HRT	ANALITA	FID	HPLC
12 die	alcool etilico	0,001%	Non si sono notati picchi identificabili
	ac. acetico	0,001%	
	ac.propionico	0,010%	

Il contenuto di analiti solubili nell'effluente è stato ai limiti di rivelabilità del metodo, indicando una fermentazione abbastanza spinta del substrato, almeno nel campo dei valori di HRT sperimentati (12 – 20 die). Non si è compresa la natura del contributo al COD nell'effluente solubile, non essendo compensato il COD del filtrato dal valore degli analiti se convertiti in COD.

4.8.4. Misura del pH e degli acidi volatili e dell'alcalinità col metodo titrimetrico⁽⁷⁾

Con cadenza giornaliera si è misurato il pH e il rapporto FOS/TAC:

Il pH del reattore è stato tenuto sempre nell'intervallo ottimale di 6,8 – 7,2, dosando nel feed accuratamente NaHCO₃ o NaOH,

Con il metodo di Nordmann dell'analisi titrimetrica⁽⁷⁾, si è misurato il rapporto FOS/TAC, dove FOS sta per acidi volatili (acronimo del tedesco Fluchtige Organische Sauren) e TAC per alcalinità inorganica totale (Totales Anorganisches Carbonat). Il FOS espresso in meq di acido acetico per litro (meq_{Ac}/L) e il TAC espresso in mg CaCO₃/L. Il rapporto FOS/TAC è da tempo conosciuto come parametro chiave per la valutazione dei processi di fermentazione. La sua misura permette di individuare presto uno sbilanciamento nei processi biologici della digestione e di prendere immediate contromisure.

La determinazione è stata ottenuta con una titolazione manuale attraverso i seguenti passi operativi:

- campionamento di un campione rappresentativo del substrato in fermentazione nel reattore,
- dosaggio di 20 ml,
- posizionamento del campione su agitatore magnetico e agitazione lenta ma continua durante la titolazione,
- titolazione con H₂SO₄ 0,1 N fino a pH = 5,0 e annotazione del volume (mL) impiegato,
- continuazione della titolazione con H₂SO₄ fino a pH = 4,4 e annotazione del volume (mL) di acido,
- calcolo dei valori FOS e del TAC e del loro rapporto con le formule empiriche di seguito riportate:

$$\text{FOS} = [1,66 \cdot (V_{\text{pH}5} - V_{\text{pH}4}) - 0,15] \cdot 500$$

$V_{\text{pH}5}$ = volume di titolante 0,1N per avere pH 5

$V_{\text{pH}4}$ = volume di titolante 0,1N per avere pH 4

$$\text{TAC} = 250 \cdot V_{\text{pH}5}$$

Un valore del rapporto FOS/TAC compreso fra 0,3 e 0,4 viene considerato ottimale⁽⁷⁾, tuttavia ogni impianto stabilisce il proprio rapporto ottimale che può essere determinato solo con osservazioni di lungo periodo e con incrementi molto cauti del rateo di alimentazione del reattore.

Al Water Pollution Control Federation considerano giusto un rapporto FOS/TAC compreso fra 0,1 e 0,2⁽⁸⁾.

Per le prove condotte con il siero di latte, un FOS/TAC compreso fra 0,1 e 0,2 è risultato il più adatto alle operazioni di fermentazione. Con FOS/TAC superiore a 0,2 la composizione del metano nel biogas diminuiva al di sotto del 50%. Valore tipico ottenuto con FOS/TAC < 0,2 = 55% di CH₄. Nel corso delle prove, ai vari HRT, valori ottimali del FOS e del TAC per una stabile produzione di biogas sono stati: FOS ≤ 500 meqAc/L e TAC ≤ 3000 mg CaCO₃/L

4.9. Determinazione dei solidi totali, disciolti e volatili

La mancanza sia di una bilancia analitica con sensibilità inferiore o almeno pari al decimo di mg che di idonei filtri in fibre di vetro non ha reso possibile la determinazione dei solidi totali, disciolti e volatili come da protocolli consolidati nelle analisi delle acque di scarico ⁽⁹⁾. Filtri in microfibra di vetro, disponibili in laboratorio, non sono risultati idonei al filtraggio dei campioni di liquidi sui quali determinare i solidi.

Pertanto, in alternativa, i solidi totali (i disciolti più i sospesi) sono stati determinati portando in capsula di porcellana un peso noto di campione (circa 100 g) di liquido della soluzione fermentante (densità del campione considerata approssimativamente pari a 1 g/ml) ed essiccando il tutto in stufa per una notte a 105°C. Il peso del residuo rapportato al volume di liquido campionato esprime la concentrazione dei solidi totali ST (g/L).

I solidi sospesi (SS) e i solidi volatili sospesi (VSS) sono stati determinati centrifugando circa 50 g di campione, in provetta da 50 ml, in centrifuga a 5000 giri/min per 30 minuti. Il surnatante è stato ulteriormente centrifugato, a più riprese, in 10 provette da 1,5 ml, in centrifuga a 15000 giri/min per 5 min. I residui solidi, sia della provetta da 50 ml che delle provette da 1,5 ml, sono stati lavati, sempre in centrifuga, con acqua distillata, prima di essere trasferiti in capsula di porcellana. Si è determinato il peso secco dopo aver essiccato una notte in stufa a 105°C. Il peso del residuo rapportato al volume di campione esprime la concentrazione dei solidi sospesi SS (g/L). La capsula contenente i solidi sospesi è stata posta per circa 4 ore in muffola a 550°C a incenerire le sostanze volatili. Il peso delle ceneri residue sottratto al peso dei solidi sospesi fornisce il peso dei solidi volatili sospesi.

Il peso dei solidi disciolti è stato determinato sottraendo dai solidi totali i solidi sospesi.

Anche sul siero tal quale e sul feed (siero diluito e addizionato di macro, micronutrienti e NaOH) i Solidi Totali, Sospesi e Sospesi Volatili sono stato determinati allo stesso modo.

5. Elaborazione dei dati sperimentali: note di teoria

5.1. Bilancio di massa della biomassa

Le equazioni del bilancio di massa sono applicate alla biomassa (X) e al substrato (S). La biomassa si accresce a spese del substrato. Si considera l'effetto globale del consorzio batterico approssimandolo ad un ceppo puro.

Nel volume di reattore del tipo CSTR (Continuously Stirred Tank Reactor ovvero Reattore a Serbatoio Continuamente Miscelato) avviene il ricambio continuo (o semicontinuo) della soluzione reagente con immissione di soluzione di substrato (generalmente sterile cioè senza biomassa, a meno che non ci sia ricircolo della stessa) ed emissione di liquido di reazione. La miscelazione si considera istantanea.

Il rapporto V/Q , con V = volume del reattore (Litri) e Q portata del ricambio della soluzione fermentante (L/die), viene indicato con HRT = tempo idraulico di residenza (Hydraulic Residence Time). Non si tratta di un reattore a flusso con profilo a pistone del fronte di liquido avanzante, per cui teoricamente una particella entrata nel CSTR potrebbe rimanere nel reattore anche per un tempo infinito se casualmente non dovesse mai capitare nel flusso dell'effluente, per questo si parla di tempo idraulico di residenza e non di tempo di residenza.

Per la biomassa possiamo scrivere la seguente condizione di bilancio:

variazione di biomassa = biomassa entrante – biomassa uscente + biomassa prodotta dalla reazione autocatalitica della crescita batterica – biomassa che scompare per decadimento endogeno.

Valutiamo in dettaglio, in forma analitica, ogni singola voce di bilancio:

variazione di biomassa = VdX (g)

V = volume del reattore (L),

dX = variazione della concentrazione di biomassa nel reattore (gVSS/L). La biomassa viene assimilata ai solidi volatili sospesi (VSS);

biomassa entrante nel reattore = $Q \cdot X_0 \cdot dt$

con Q = portata volumetrica dell'influente (L/die),

X_0 = concentrazione di biomassa nell'influente (gVSS/L),

dt = intervallo di tempo in cui si considera il bilancio;

biomassa uscente dal reattore = $Q \cdot X \cdot dt$

con Q = portata volumetrica dell'effluente (L/die). Naturalmente, dovendo rimanere costante il volume di liquido nel reattore, il valore di Q è lo stesso sia per l'influente che per l'effluente;

X = concentrazione di biomassa presente nell'effluente (uguale alla concentrazione di biomassa presente nel reattore) (gVSS/L);

biomassa prodotta dalla azione autocatalitica della crescita batterica = $\mu \cdot X \cdot V \cdot dt$

μ è un coefficiente che esprime la biomassa formata dalla unità di biomassa nell'unità di tempo e nell'unità di volume, viene indicato come rateo specifico di crescita (die^{-1});

biomassa che scompare per decadimento endogeno = $K_d \cdot X \cdot V \cdot dt$

K_d = è un coefficiente che esprime la biomassa scomparsa dalla unità di biomassa nell'unità di tempo e nell'unità di volume, viene indicato come rateo specifico di decadimento (die^{-1});

per cui l'equazione completa del bilancio di massa è:

$$VdX = Q X_0 dt - Q X dt + \mu X V dt - K_d X V dt \quad [1]$$

$$dX/dt = (X_0 - X) \cdot Q/V + \mu X - K_d X$$

$Q/V = HRT$. Nel caso di alimentazione sterile $X_0 = 0$

$$dX/dt = -X / HRT + \mu X - K_d X \quad [2]$$

in condizioni stazionarie: $dX / dt = 0$, e

$$X \cdot (-1 / \text{HRT} + \mu - K_d) = 0$$

con $X \neq 0$, si ha:

$$-1 / \text{HRT} + \mu - K_d = 0$$

$$\mu = 1 / \text{HRT} + K_d \quad [3]$$

5.2. Bilancio di massa del substrato

Il bilancio di massa relativo al substrato non è dissimile dal bilancio di massa visto per la biomassa. La trasformazione del substrato è opera della attività biologica della biomassa pertanto si deve far uso, in questo caso, del coefficiente stechiometrico $Y_{X/S}$ (biomass/substrate yield = resa biomassa / substrato) che indica la quantità di biomassa che si forma dalla unità di substrato distrutta. $Y_{X/S}$ viene espresso in gVSS/gCOD o gVSS/gSV.

$$V \cdot dS = Q \cdot S_0 \cdot dt - Q \cdot S \cdot dt - \mu \cdot X \cdot V \cdot dt / Y_{X/S} \quad [4]$$

$V \cdot dS$ = variazione del substrato (gCOD o g SV) nel volume V (Litri) del reattore;

S = concentrazione del substrato (gCOD/L o gSV/L);

$Q \cdot S_0 \cdot dt$ = substrato entrante nel reattore nel tempo dt ,

$Q \cdot S \cdot dt$ = substrato uscente dal reattore nel tempo dt ,

$\mu \cdot X \cdot V \cdot dt / Y_{X/S}$ = quantità di substrato che scompare generando la quantità di biomassa $\mu \cdot X \cdot V \cdot dt$;

$$dS / dt = (S_0 - S) Q / V - \mu \cdot X / Y_{X/S}$$

in condizioni stazionarie $dS / dt = 0$ e si ha $(S_0 - S) / \text{HRT} - \mu \cdot X / Y_{X/S} = 0$

$$(S_0 - S) / \text{HRT} = \mu \cdot X / Y_{X/S} \quad [5]$$

inserendo la [3] nella [5]: $(S_0 - S) / \text{HRT} = (1 / \text{HRT} + K_d) \cdot X / Y_{X/S}$

$$(S_0 - S) / (X \cdot \text{HRT}) = (1 / Y_{X/S}) \cdot (1 / \text{HRT}) + K_d / Y_{X/S} \quad [6]$$

5.3. Calcolo di $Y_{X/S}$ (resa biomasse/substrato) e di K_d (costante di decadimento)

La [6] ci consente di calcolare i valori di $Y_{X/S}$ e di K_d . Infatti stabilendo il valore di S_0 (concentrazione del substrato influente nel reattore) si conseguono per differenti valori di HRT le condizioni di stato stazionario e si determinano nell'effluente, ossia nel reattore, i valori di X e di S (concentrazione di biomassa, gVSS/L, e di substrato, gCOD/L o g SV/L, rispettivamente);

Riportando in grafico, sulle ascisse, i valori di $1 / \text{HRT}$ e, sulle ordinate, i valori di $(S_0 - S) / (X \cdot \text{HRT})$, la retta interpolatrice (dei minimi quadrati) avrà pendenza pari a $1 / Y_{X/S}$ e intercetta pari a $K_d / Y_{X/S}$. L'inverso della pendenza ci dà $Y_{X/S}$ che moltiplicato per l'intercetta rende K_d .

5.4. Calcolo della concentrazione di biomassa

Dalla [6] possiamo ricavare il valore teorico della concentrazione di biomassa presente nel reattore al conseguimento degli stati stazionari alle varie concentrazioni influenti di substrato per vari HRT di lavoro di un reattore. Infatti risulta:

$$X = (S_0 - S) \cdot Y_{X/S} / (1 + K_d \cdot \text{HRT}) \quad [7]$$

5.5. Calcolo costanti cinetiche

In fase di progettazione di un impianto, conoscendo i coefficienti cinetici, possiamo fare, in una analisi di previsione, il calcolo della concentrazione di substrato nell'effluente e la produttività di biogas se conosciamo il fattore stechiometrico $Y_{G/S}$, ossia la quantità di biogas che si produce per unità di substrato trasformata ($NL_{\text{biogas}}/g\text{COD}$ o $NL_{\text{biogas}}/g\text{SV}$).

5.5.1. Calcolo di μ_{max} e K_s (costanti cinetiche della equazione di Monod)

Il coefficiente μ secondo la cinetica di Monod assume la forma:

$$\mu = \mu_{\text{max}} \cdot S / (K_s + S) \quad [8]$$

μ_{max} = massimo rateo specifico di crescita (die^{-1})

S = concentrazione del substrato ($g\text{COD}/L$ o $g\text{SV}/L$). In genere il substrato che fa da nutriente principale per la biomassa in crescita è di natura organica varia e complessa e viene espresso nella sua concentrazione, in forma cumulativa, o dalla quantità di ossigeno richiesta da un litro di soluzione per la ossidazione chimica a CO_2 e H_2O ($g\text{COD}/L = g\text{ Chemical Oxygen Demand}/\text{Litro}$) o dalla quantità di sostanza organica volatilizzata per riscaldamento in muffola a 550°C ($g\text{SV}/L = \text{grammi di sostanza volatile per litro}$);

K_s = costante di semirateo che indica il valore di S per il quale $\mu = \mu_{\text{max}}/2$ ($g\text{COD}/L$ o $g\text{SV}/L$).

Uguagliando la [3] alla [8]:

$$1/\text{HRT} + K_d = \mu_{\text{max}} \cdot S / (K_s + S) \quad [9]$$

eseguendo i reciproci:

$$\text{HRT} / (1 + \text{HRT} \cdot K_d) = (K_s + S) / (\mu_{\text{max}} \cdot S) = (K_s / \mu_{\text{max}}) \cdot (1/S) + 1/\mu_{\text{max}} \quad [10]$$

La [10] ci consente di calcolare i valori di μ_{max} e di K_s . Infatti, conseguendo per differenti valori di HRT le condizioni di stato stazionario, si determina nell'effluente, ossia nel reattore, il valore di S (concentrazione di substrato, $g\text{COD}/L$ o $g\text{SV}/L$);

Riportando in grafico, sulle ascisse, i valori di $1/S$ e, sulle ordinate, i valori di:

$\text{HRT} / (1 + \text{HRT} \cdot K_d)$ la retta interpolatrice (dei minimi quadrati) avrà pendenza pari a K_s / μ_{max} e intercetta pari a $1/\mu_{\text{max}}$. L'inverso della intercetta ci dà μ_{max} che moltiplicato per la pendenza rende K_s .

Dalla [9] si calcola il valore di S :

$$S = K_s \cdot (1 + \text{HRT} \cdot K_d) / (\text{HRT} \cdot \mu_{\text{max}} - 1 - \text{HRT} \cdot K_d) \quad [11]$$

Il risultato a cui si perviene è che la concentrazione di substrato residuo nell'effluente, cioè nel reattore CSTR, è indipendente dalla concentrazione del substrato nell'influente. Questa situazione non sempre si verifica. In particolare non si verifica per substrati complessi difficili da idrolizzare e a convertire in prodotti semplici di facile trasformazione in biogas e in biomassa.

5.5.2. calcolo C e μ_{max} della equazione di Contois

Una equazione di crescita batterica alternativa alla equazione di Monod è l'equazione di Contois secondo la quale il rateo specifico di crescita (μ) dipende anche dalla concentrazione della biomassa:

$$\mu = \mu_{\text{max}} \cdot S / (C \cdot X + S) \quad [12]$$

C = costante di Contois, di difficile interpretazione fisica ($g\text{COD}/g\text{VSS}$ o $g\text{SV}/g\text{VSS}$)

Uguagliando la [3] alla [12]:

$$1 / \text{HRT} + K_d = \mu_{\max} \cdot S / (C \cdot X + S) \quad [13]$$

facendo i reciproci:

$$\text{HRT} / (1 + K_d \cdot \text{HRT}) = (C \cdot X + S) / (\mu_{\max} \cdot S) = (C/\mu_{\max}) (X/S) + 1/\mu_{\max} \quad [14]$$

La [14] ci consente di calcolare i valori di μ_{\max} e di C . Infatti stabilendo il valore di S_0 (concentrazione del substrato influente nel reattore) si conseguono per differenti valori di HRT le condizioni di stato stazionario e si determinano nell'effluente, ossia nel reattore, i valori di X e di S (concentrazione di biomassa, gVSS/L, e di substrato, gCOD/L o g SV/L, rispettivamente);

Riportando in grafico, sulle ascisse, i valori di X/S e, sulle ordinate, i valori di $\text{HRT} / (1+K_d \cdot \text{HRT})$ la retta interpolatrice (dei minimi quadrati) avrà pendenza pari a C/μ_{\max} e intercetta pari a $1/\mu_{\max}$. L'inverso della intercetta ci dà μ_{\max} che moltiplicato per la pendenza rende C .

Inserendo la [8] nella [13] si ricava il valore della concentrazione di substrato effluente nel caso di cinetica di Contois:

$$S = S_0 \cdot C \cdot Y_{X/S} / ((\mu_{\max} - K_d) \cdot \text{HRT} + C \cdot Y_{X/S} - 1) \quad [15]$$

Come si vede, nel modello di Contois la concentrazione del substrato nell'effluente non è indipendente dalla concentrazione del substrato nell'influente.

5.6. Calcolo della produttività e del potenziale biologico di metano

Se indichiamo con γ il valore della produttività specifica di biometano (riferita alla unità di volume di reattore e alla unità di tempo) espressa in $\text{NL}_{\text{CH}_4}/(\text{L}_{\text{reattore}} \text{ die})$.

$$V \cdot \gamma = B_0 \cdot (S_0 - S) \cdot Q \quad [16]$$

V = volume del reattore (L)

B_0 (indicato anche con $Y_{G/X}$) = coefficiente di resa del biometano o potenziale di biometano, ($\text{NL}_{\text{CH}_4}/\text{gCOD}$ o $\text{NL}_{\text{CH}_4}/\text{gSV}$),

Q = portata influente ed effluente nel reattore (L/die),

S_0 = concentrazione di substrato influente nel reattore (gCOD/L o gSV/L),

S = concentrazione di substrato effluente da reattore (gCOD/L o gSV/L),

$(S_0 - S) \cdot Q$ = quantità di substrato che entra nel reattore in un tempo unitario (gCOD/die o gSV/die).

$$\gamma = B_0 \cdot (S_0 - S) \cdot Q/V = B_0 \cdot (S_0 - S) / \text{HRT} \quad [17]$$

graficando la [17], cioè portando in ordinata i valori di γ , determinati sperimentalmente per vari HRT di lavoro, e i valori di $(S_0 - S) / \text{HRT}$ in ascissa, imponendo come condizione aggiuntiva che passi per l'origine, si ricava la retta interpolatrice la cui pendenza è B_0 (coefficiente di resa del biometano o potenziale di biometano).

6. Ricapitolando

Conoscendo i coefficienti cinetici:

$Y_{X/S}$, K_d , μ_{\max} , K_s nel caso della ipotesi di cinetica di Monod e

$Y_{X/S}$, K_d , μ_{\max} , C nel caso della ipotesi di cinetica di Contois,

noto il valore iniziale della concentrazione influente nel reattore, calcoliamo la concentrazione di substrato effluente dal reattore per un determinato HRT (eq. [11] e [15]).

Poi noto il valore di B_0 e il valore di S sopra ricavati determiniamo la produttività specifica γ di biometano del reattore (eq. [17]).

7. Conclusioni

Per le costanti cinetiche della fermentazione secondo i modelli di Monod ($\mu = \mu_{\max} S/(K_s + S)$) e di Contois

($\mu = \mu_{\max} S/(C X + S)$) si sono ottenuti i valori riportati nella seguente tabella 11:

Tabella 11: Valori ottenuti per le costanti cinetiche

μ_{\max} (die ⁻¹)		K_s (gCOD/L)	C (gCOD/gVSS)	Y (gVSS/gCOD)	K_d (die ⁻¹)
Monod	Contois				
0,137	0,143	0,190	0,041	0,151	0,008

La fermentazione è ben simulata sia dalla cinetica di Monod che dalla cinetica di Contois. Nel siero prevalgono i carboidrati (lattosio), facilmente idrolizzabili, rispetto ai grassi e alle proteine.

Nel campo dei valori di tempo idraulico di ritenzione compresi fra 12 e 20 giorni si è avuta una produzione di metano variabile fra i 15,5 e i 17 normal-litri per litro di siero utilizzato (siero con COD e sostanza volatile media pari a 58,5 gCOD/L e 49,38 g/L rispettivamente).

Il rateo di carico organico (OLR) non è stato alto: OLR max = 3,19 gCOD/(L die) o 2,45 gSV/(L die). D'altra parte i reattori CSTR senza ricircolo di biomassa, a differenza dei reattori UASBR (Upper Flow Anaerobic Sludge Blanket Reactor), non sono idonei a trattare alti ratei di carico organico.

La produttività del siero (potenziale di metano: $Y_{CH_4/S}$) nella conversione a metano, è risultata in 0,354 NL_{CH4}/gCOD distrutto (valore teorico 0,35) e 0,459 NL_{CH4}/gSV distrutto. Invece se consideriamo il COD o la SV in alimentazione meno il COD o la SV solubile (cioè consideriamo la parte di COD che va in biomassa per la produzione di metano, la produttività del siero è stata di 0,2804 NL_{CH4}/gCOD o di 0,376 NL_{CH4}/gSV.

Seguono, in appendice, tabelle e grafici che riportano i dati acquisiti nel corso delle prove e la loro elaborazione.

Riferimenti

- 1 - F. Malaspina et al: Anaerobic Treatment of cheese whey with a downflow-upflow hybrid reactor. *Bioresourcsc Technology* 55 (1996) 131 – 139.
- 2 - T. Sienkiewicz, C. L. Riedel: *Whey and Whey utilization*. Th. Mann Germany.
- 3 - M. H. Gerardi: *The Microbiology of Anaerobic Digesters*. John Wiley & Sons, Inc. 2003
- 4 - O. Ince : Performance of two-phase anaerobic digestion when treating dairy wastewater. *Wat. Res.* Vol. 32. n°9, pp 2707 – 2713 (CNP)
- 5 - G. Antonipoulos et al.: Biohydrogen and Methane Production from Cheese Whey in Two-Stage Anaerobic Peocess. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2008, 47, 5227 – 5233.
- 6 - *Metodi analitici per le acque*. Istituto di ricerca sulle acque - CNR. Roma 1970.
- 7 - Opuscolo Hach Lange United for Water Quality. Report applicativo TIM 849/845_Dati tecnici.
- 8 - H.W. Zhao, T. Viaraghawan: Analysis of the performance of an anaerobic digestion system at the Regina wastewater treatment plant. *Bioresorce technology* 95 (2004) 301 – 307.
- 9 - *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. APHA (1995) Washington DC USA.
- 10 - W.C.Hu et al.: A kinetic study of the anaerobic digestion of ice-cream wastewater. *Process Biochem.* 37 (2002) 965-971.

APPENDICE I

DATI SPERIMENTALI DELLA FERMENTAZIONE ANAEROBICA DEL SIERO DI LATTE

SUBSTRATO ESPRESSO IN UNITA' DI COD

Dati di esercizio:

6,8 < pH < 7,2 ; T = 35°C; 0,15 < FOS < 0,20 (metodo di Nordmann);

400 < FOS < 600 mg acido acetico / L

2800 < TAC < 3200 mg CaCO₃/ L (neutralizzazione a pH 5)

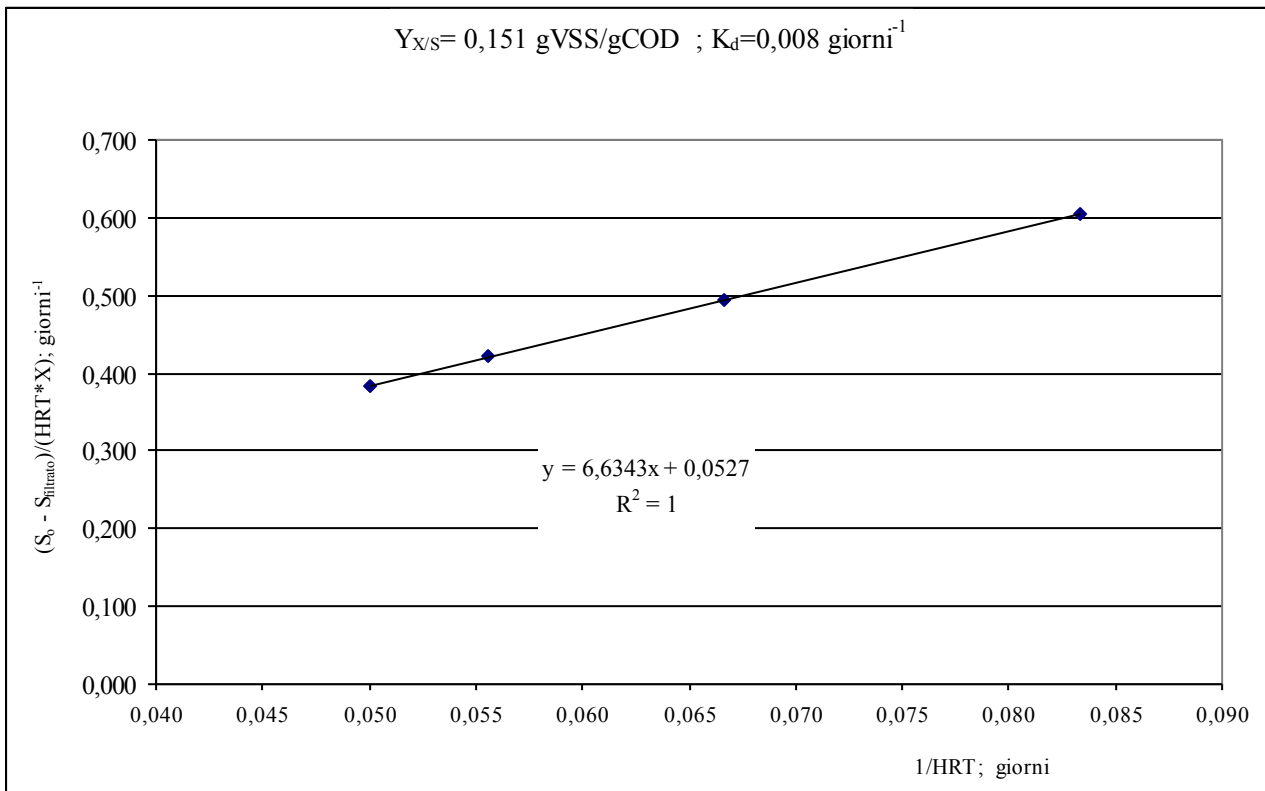
alcalinità totale a pH di neutralizzazione 3,8 = 3144 +/- 242 mg CaCO₃/L

PARAMETRO	UNITA' DI MISURA	VALORI			
HRT (tempo idraulico di residenza)	giorni	20	18	15	12
So (influyente)	gCOD/L	38,25	38,25	38,25	38,25
Volume reattore	L	14	14	14	14
Organic Loading Rate	gCOD/(L die)	1,91	2,13	2,55	3,19
S (COD effluente tal quale)	gCOD/L	7,32	7,66	8,00	8,76
S (COD effluente filtrato)	gCOD/L	0,14	0,17	0,21	0,40
X (VSS)	g/L	4,96	5,02	5,12	5,21
Solidi totali (ST) influenti	g/L	36,693	36,693	36,693	36,693
ST solidi totali effluenti	g/L	12,671	12,85	14,02	14,6
So – S tal quale	gCOD/L	30,93	30,59	30,25	29,49
So – S filtrato	gCOD/L	38,11	30,08	38,04	37,85
1/HRT	giorni ⁻¹	0,050	0,056	0,067	0,083
(S _o – S _{tal quale})/(HRT * X)	giorni ⁻¹	0,312	0,339	0,394	0,472
(S _o – S _{filtrato})/(HRT * X)	giorni ⁻¹	0,384	0,421	0,495	0,605
Rateo CH ₄	Nml _{CH₄} /die	7897,00	8331,41	9976,14	12091,91
Rateo specifico CH ₄	Nml _{CH₄} /(L reatt * die)	564,07	595,10	712,58	863,71
Rateo di CH ₄ per unità di VSS	Nml _{CH₄} /(gVSS * die)	113,72	118,75	139,18	165,78
Efficienza di digestione	(S _o – S _{eff tal q})/S _o %	80,86	79,97	79,08	77,10
Produzione gas/siero	L _{CH₄} /L _{siero}	16,96	16,10	16,07	15,58

Calcolo resa biomasse da substrato ($Y_{X/S}$) e costante di decadimento (K_d)

PARAMETRO	UNITA' DI MISURA	VALORI			
HRT (tempo idraulico di residenza)	giorni	20	18	15	12
S_o (influyente)	gCOD/L	38,25	38,25	38,25	38,25
1/HRT	giorni ⁻¹	0,050	0,056	0,067	0,083
S (COD effluente filtrato)	gCOD/L	0,14	0,17	0,21	0,40
$(S_o - S_{filtrato})/(HRT * X)$	giorni ⁻¹	0,384	0,421	0,495	0,605

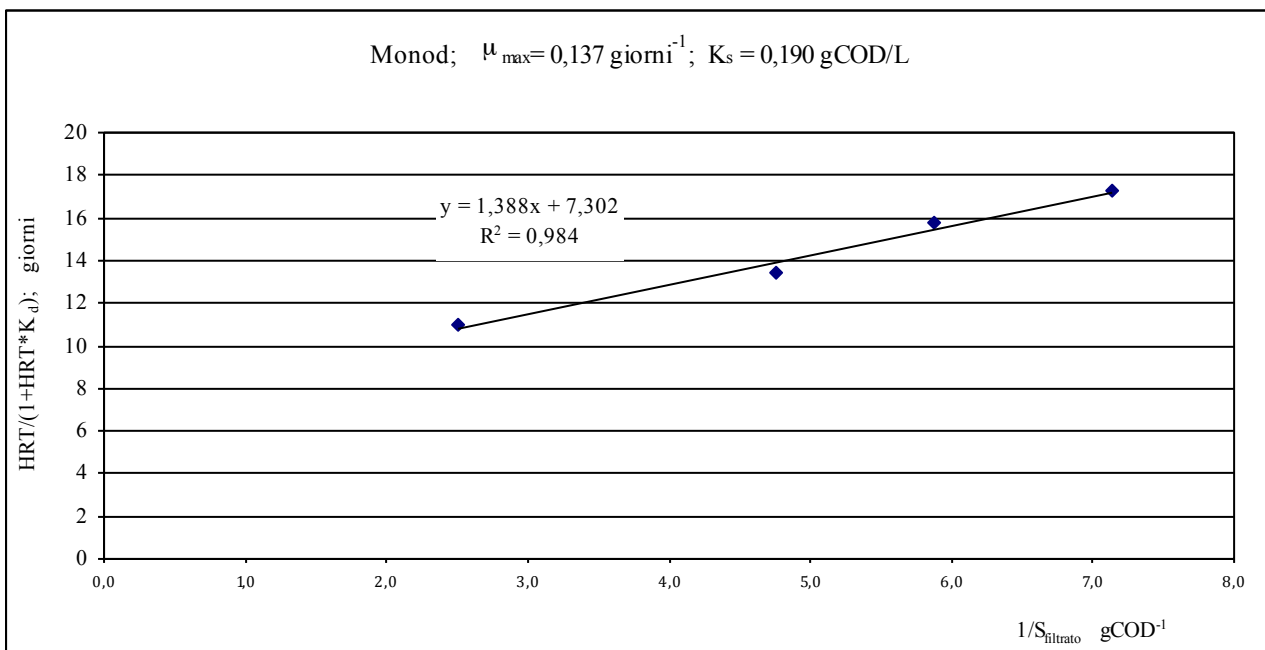
1/ $Y_{X/S}$		6,634
$Y_{X/S}$	gVSS/gCOD	0,151
$K_d/Y_{X/S}$		0,0527
K_d	giorni ⁻¹	0,008



Cinetica di Monod: $\mu = \mu_{\max} S / (K_s + S)$

PARAMETRO	UNITA' DI MISURA	VALORI			
HRT (tempo idraulico di residenza)	giorni	20	18	15	12
1/S (effluente filtrato)	1/gCOD/L	7,14	5,88	4,76	2,50
HRT/(1 + HRT * K _d)	giorni	17,26	15,75	13,40	10,96

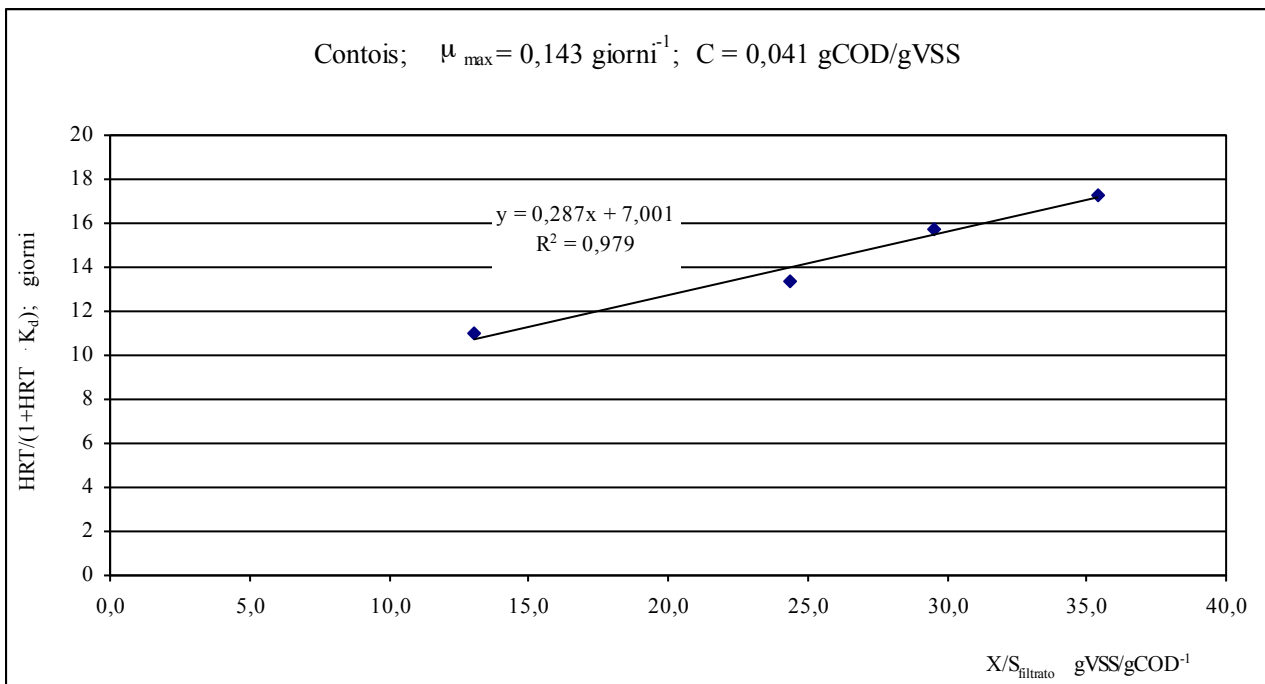
1/ μ_{\max}		7,302
μ_{\max}	giorni	0,137
K _s / μ_{\max}		1,388
K _s	gCOD/L	0,190
Y _{X/S}	VSS/gCOD	0,151
K _d	giorni ⁻¹	0,008



Cinetica di Contois: $\mu = \mu_{\max} \cdot S / (C X + S)$

PARAMETRO	UNITA' DI MISURA	VALORI			
		20	18	15	12
HRT (tempo idraulico di residenza)	giorni	20	18	15	12
So influente	gCOD/L	38,25	38,25	38,25	38,25
X (VSS solidi volatili sospesi)	g/L	4,96	5,02	5,12	5,21
S (COD effluente filtrato)	gCOD/L	0,14	0,17	0,21	0,40
X/S filtrato	gVSS/gCOD	35,429	29,529	24,381	13,025
HRT/(1 + HRT * K _d)	giorni	17,26	15,75	13,40	10,96

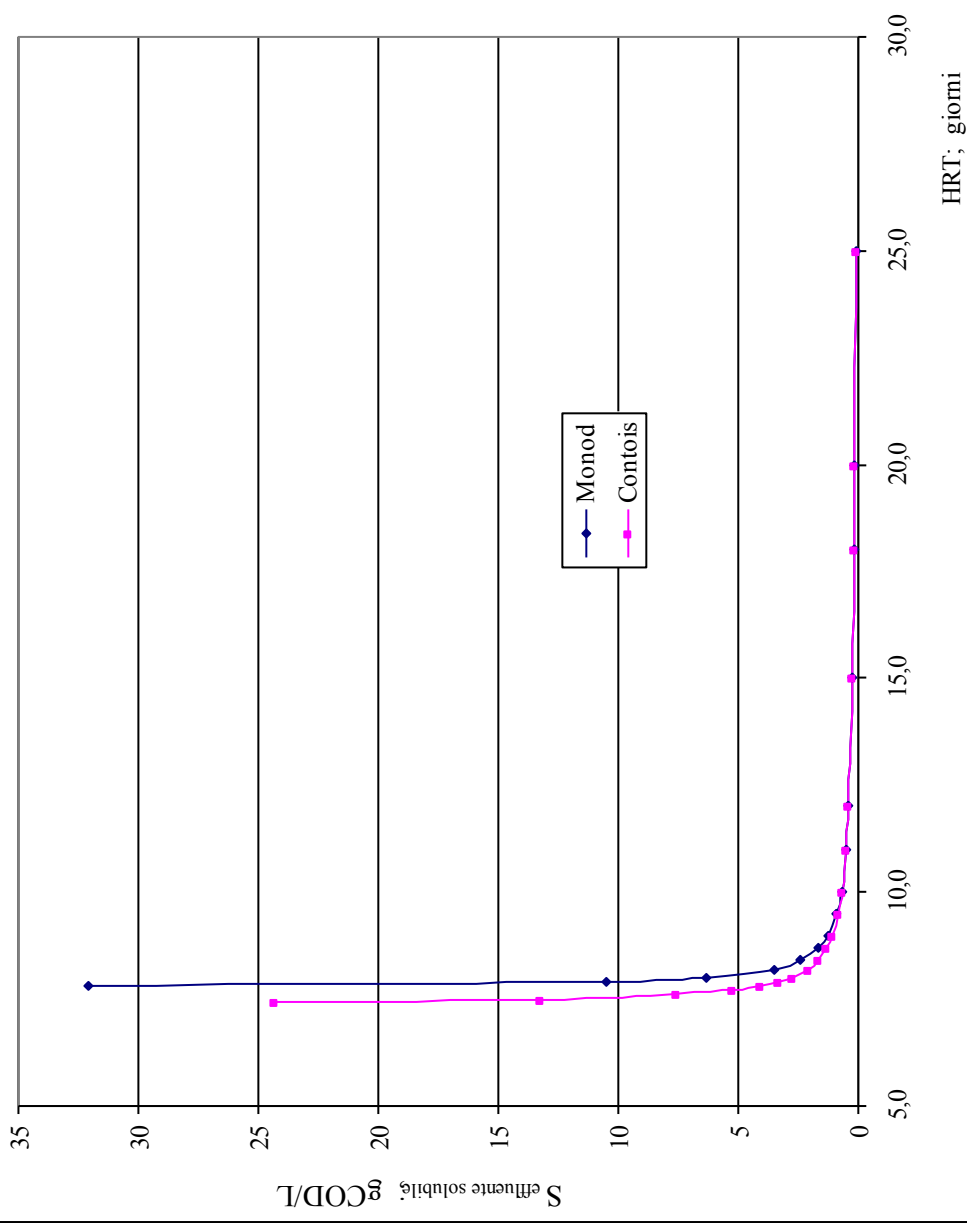
$1/\mu_{\max}$		7,001
μ_{\max}	giorni ⁻¹	0,143
C/μ_{\max}		0,287
C	gCOD/gVSS	0,041
$Y_{X/S}$	VSS/gCOD	0,151
K _d	giorni ⁻¹	0,008



(substrato infl. = 38,25 gCOD/L)

S effluente solubile calcolato		
HRT giorni	Monod gCOD/L	Contois gCOD/L
25,0	0,102	0,099
20,0	0,139	0,139
18,0	0,164	0,165
15,0	0,227	0,229
12,0	0,380	0,378
11,0	0,493	0,482
10,0	0,707	0,665
9,5	0,906	0,821
9,0	1,264	1,073
8,7	1,660	1,315
8,4	2,423	1,697
8,2	3,497	2,105
8,0	6,300	2,771
7,9	10,528	3,292
7,8	32,102	4,054
7,7		5,275
7,6		7,550
7,5		13,274
7,4		24,349

Effluente solubile calcolato

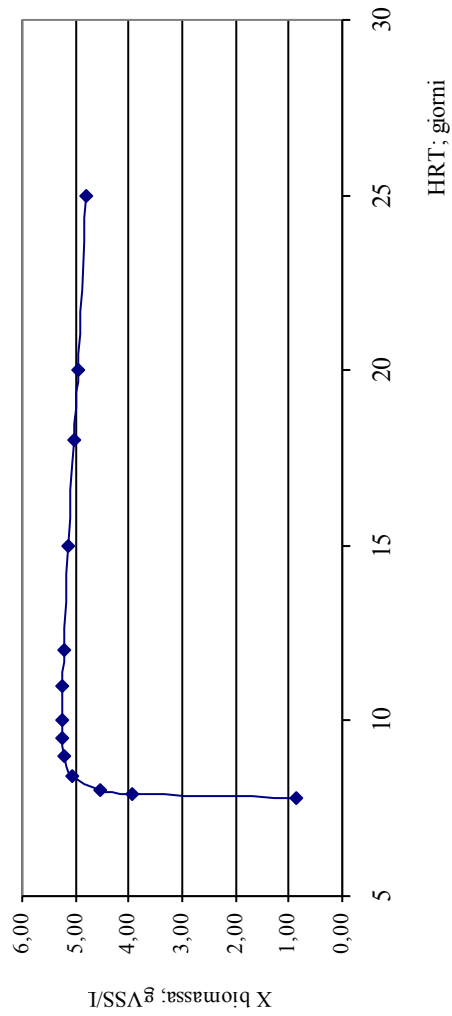


La fermentazione è ben simulata sia dalla cinetica di Monod che dalla cinetica di Contois. Nel siero prevalgono i carboidrati, facilmente idrolizzabili, rispetto ai grassi e alle proteine

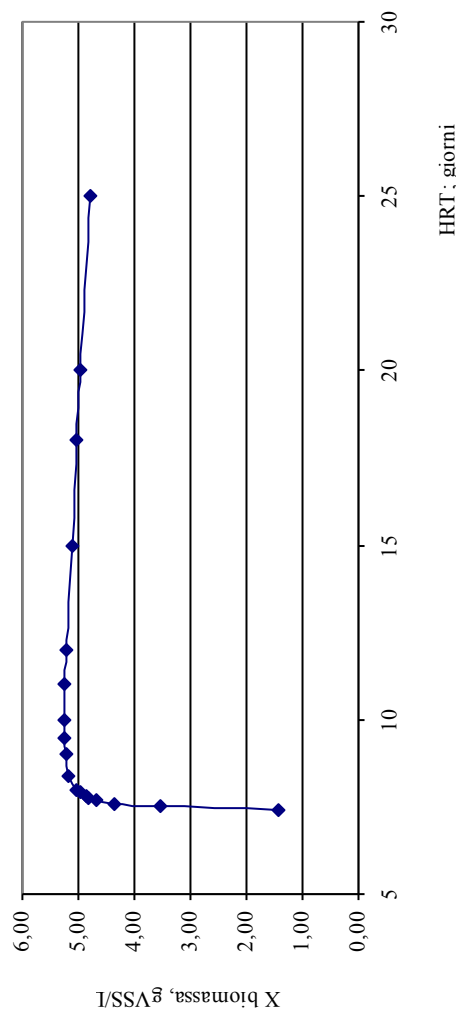
Calcolo della concentrazione di biomasse effluente

HRT giorni	Biomassa effluente		
	Monod gVSS/L	Contois gVSS/L	Sperimen. gVSS/L
25	4,80	4,80	
20	4,96	4,96	4,96
18	5,02	5,02	5,02
15	5,12	5,12	5,12
12	5,21	5,21	5,21
11	5,23	5,24	
10	5,24	5,25	
9,5	5,23	5,25	
9	5,20	5,23	
8,4	5,06	5,16	
8	4,53	5,03	
7,9	3,93	4,96	
7,8	0,87	4,85	
7,78		4,83	
7,7		4,68	
7,6		4,36	
7,5		3,55	
7,43		1,42	

Monod; biomassa effluente calcolata

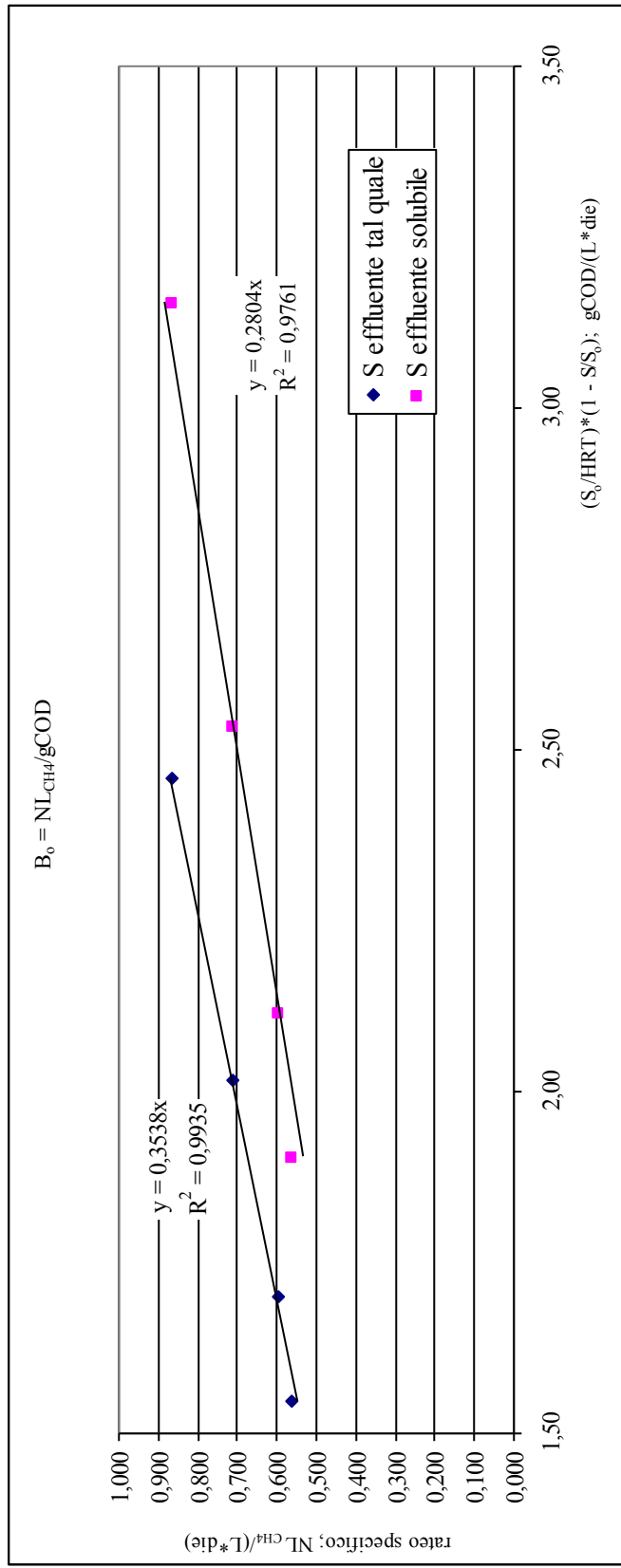


Contois; biomassa effluente calcolata



Calcolo del potenziale di metano

HRT	giorni	20	18	15	12
S ₀ (influyente)	gCOD/L	38,25	38,25	38,25	38,25
Volume reattore	L	14	14	14	14
Organic Loading Rate	gCOD/(L * die)	1,91	2,13	2,55	3,19
S (COD effl. tal quale)	gCOD/L	7,32	7,66	8,00	8,76
S (COD effl. filtrato)	gCOD/L	0,14	0,17	0,21	0,40
(S ₀ /HRT)*(1-S _{tal,quale} /S ₀)	gCOD/(L*die)	1,547	1,699	2,017	2,458
(S ₀ /HRT)*(1-S _{solubile} /S ₀)	gCOD/(L*die)	1,906	2,116	2,536	3,154
Rateo CH ₄	NmL _{CH₄} /die	7.897,00	8.331,41	9.976,14	12.091,91
γ Rateo specifico CH ₄	NL _{CH₄} /(L _{reatt.} * die)	0,564	0,595	0,713	0,864

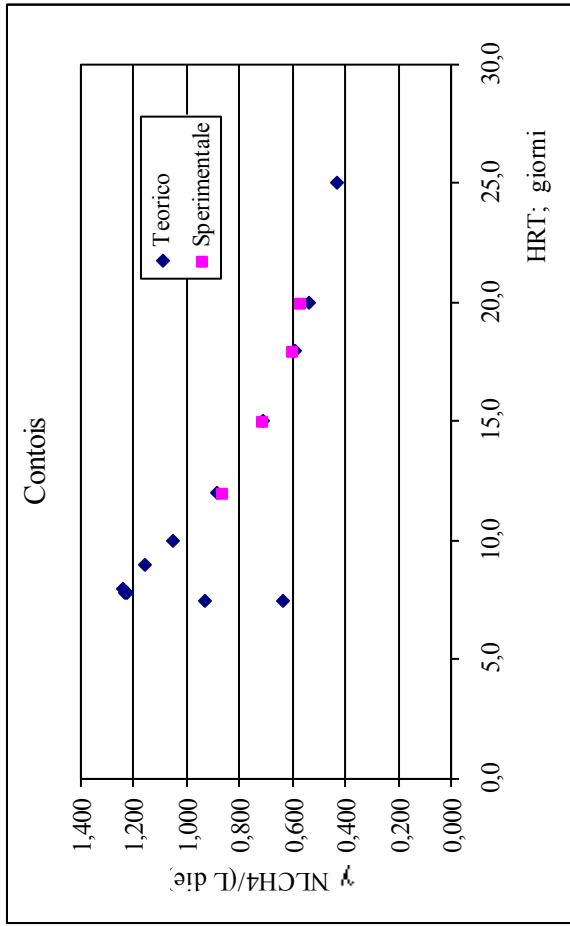
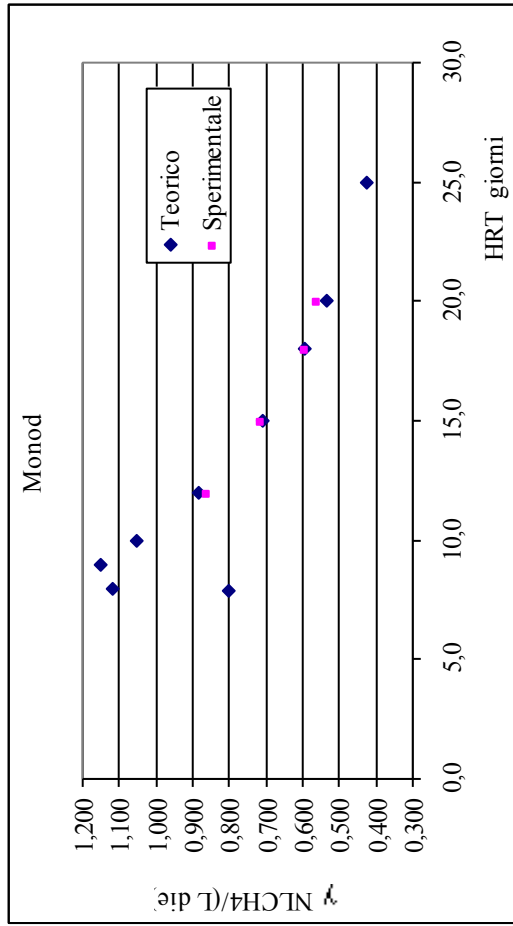


$B_0 =$ coefficiente di resa del metano (NL_{CH₄}/gCOD); $B_0 = 0,354$ NL_{CH₄}/gCOD (valore teorico = 0,35)

$B_0 = 0,2804$ NL_{CH₄}/gCOD

Calcolo del rateo specifico volumetrico di metano (g = NLCH₄/(L die))

S ₀ infl. = 38,25 gCOD/L		gCOD/L		Rateo specifico		
B ₀ = 0,2804 NL _{CH₄} /gCOD		NL _{CH₄} /gCOD		NL _{CH₄} /(L die)		
S effluente solubile calcolato						
HRT	Monod	Contois	Monod	Contois	teorico	sperimentale
giorni	gCOD/L	gCOD/L	gCOD/L	gCOD/L		
25,0	0,10	0,10	0,428	0,428	0,428	
20,0	0,14	0,14	0,534	0,534	0,534	0,564
18,0	0,16	0,16	0,593	0,593	0,593	0,595
15,0	0,23	0,23	0,711	0,711	0,711	0,713
12,0	0,38	0,38	0,885	0,885	0,885	0,864
10,0	0,71	0,67	1,053	1,054	1,054	
9,0	1,26	1,07	1,152	1,158	1,158	
8,0	6,30	2,77	1,120	1,244	1,244	
7,850	15,85	3,63	0,800	1,237	1,237	
7,790	40,39	4,15		1,227	1,227	
7,500		13,27		0,934	0,934	
7,450		21,38		0,635	0,635	



DATI SPERIMENTALI DELLA FERMENTAZIONE ANAEROBICA DEL SIERO DI LATTE

A2-SUBSTRATO ESPRESSO IN UNITA' DI SOSTANZA VOLATILE

Dati di esercizio:

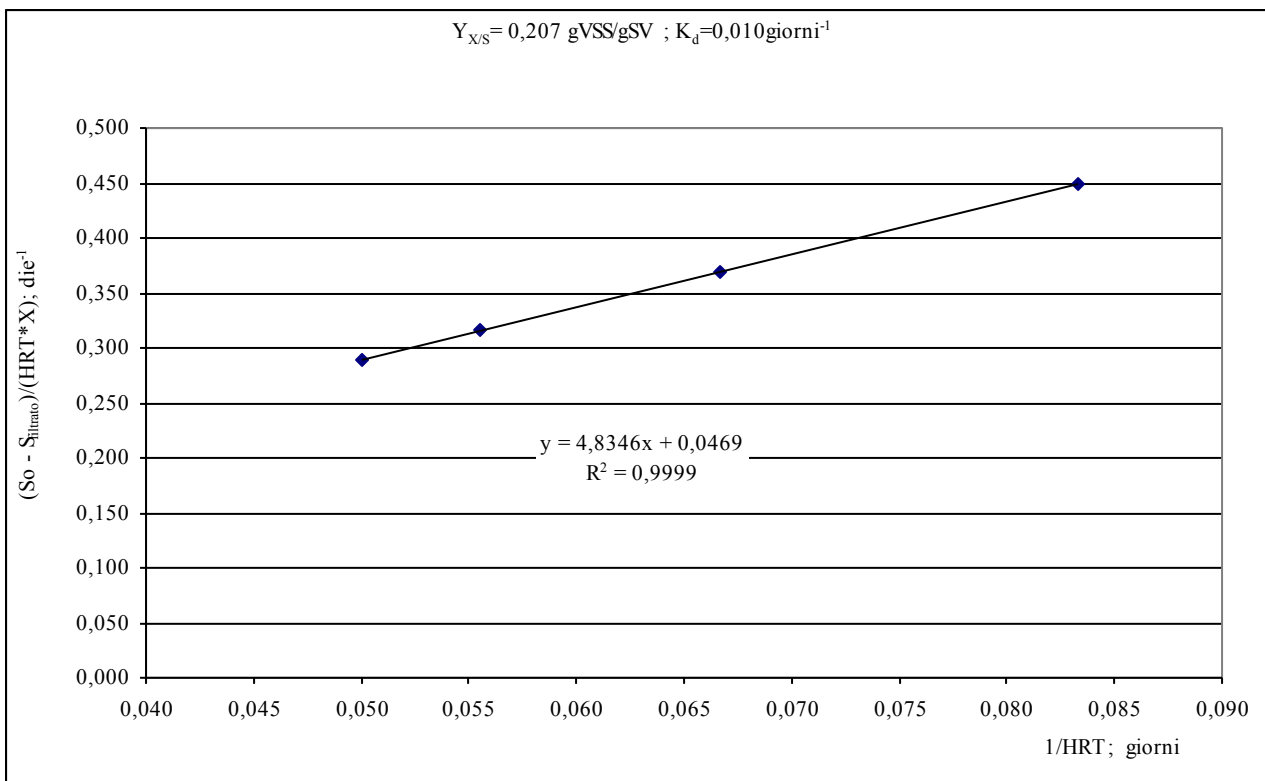
6,8 < pH < 7,2 ; T = 35°C; 0,15 < FOS < 0,20 (metodo di Nordmann);
 400 < FOS < 600 mg acido acetico / L
 2800 < TAC < 3200 mg CaCO₃/ L (neutralizzazione a pH 5)
 alcalinità totale a pH di neutralizzazione 3,8 = 3144 +/- 242 mg CaCO₃/L

PARAMETRO	UNITA' DI MISURA	VALORI			
		20	18	15	12
HRT (tempo idraulico di residenza)	giorni	20	18	15	12
Solidi Volatili So (influyente)	g/L	29,41	29,41	29,41	29,41
Volume reattore	L	14	14	14	14
Organic Loading Rate	gSV/(L die)	1,47	1,63	1,96	2,45
SV (effluente tal quale)	g/L	5,75	5,88	6,23	6,53
SV (effluente filtrato)	g/L	0,79	0,86	1,11	1,33
X (VSS)	g/L	4,96	5,02	5,12	5,21
Solidi totali (ST) influenti	g/L	36,69	36,69	36,69	36,69
ST solidi totali effluenti	g/L	12,67	12,85	14,02	14,6
SV _o – SV _{tal quale}	g/L	23,66	23,53	23,18	22,88
SV _o – SV _{filtrato}	g/L	28,62	28,55	28,30	28,08
1/HRT	giorni ⁻¹	0,050	0,056	0,067	0,083
(SV _o – SV _{tal quale})/(HRT * X)	giorni ⁻¹	0,239	0,260	0,302	0,367
(SV _o – SV _{filtrato})/(HRT * X)	giorni ⁻¹	0,289	0,316	0,368	0,450
Rateo CH ₄	Nml _{CH4} /die	7897,00	8331,41	9976,14	12091,91
Rateo specifico CH ₄	Nml _{CH4} /(L reatt * die)	564,07	595,10	712,58	863,71
Rateo di CH ₄ per unità di VSS	Nml _{CH4} /(gVSS * die)	113,72	118,75	139,18	165,78
Efficienza di digestione	(SV _o – SV _{eff tal q})/SV _o %	80,45	80,01	78,82	77,80
Produzione gas/siero	L _{CH4} /L _{siero}	16,96	16,10	16,07	15,58

Calcolo resa biomasse da substrato ($Y_{X/S}$) e costante di decadimento (K_d)

PARAMETRO	UNITA' DI MISURA	VALORI			
HRT (tempo idraulico di residenza)	giorni	20	18	15	12
SV_o (influyente)	gSV/L	29,41	29,41	29,41	29,41
1/HRT	giorni ⁻¹	0,050	0,056	0,067	0,083
S (SV effluente del filtrato)	gSV/L	0,14	0,17	0,21	0,40
$(SV_o - SV_{filtrato})/(HRT * X)$	giorni ⁻¹	0,289	0,316	0,368	0,450

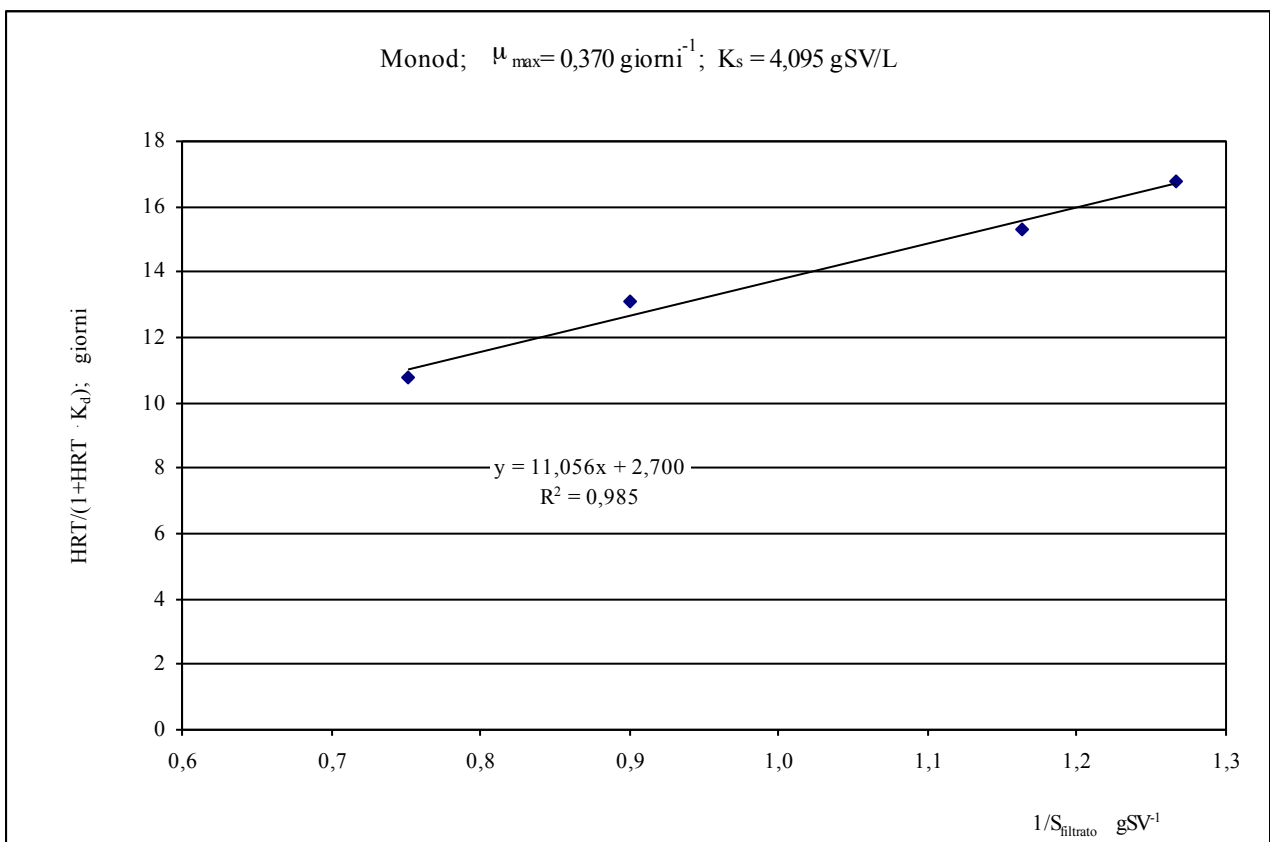
$1/Y_{X/S}$		4,835
$Y_{X/S}$	gVSS/gSV	0,207
$K_d/Y_{X/S}$		0,0469
K_d	giorni ⁻¹	0,010



Cinetica di Monod: $\mu = \mu_{\max} S / (K_s + S)$

PARAMETRO	UNITA' DI MISURA	VALORI			
HRT (tempo idraulico di residenza)	giorni	20	18	15	12
1/S (effluente filtrato)	1/gSV/L	1,27	1,16	0,90	0,75
HRT/(1 + HRT * K _d)	giorni	16,75	15,33	13,10	10,75

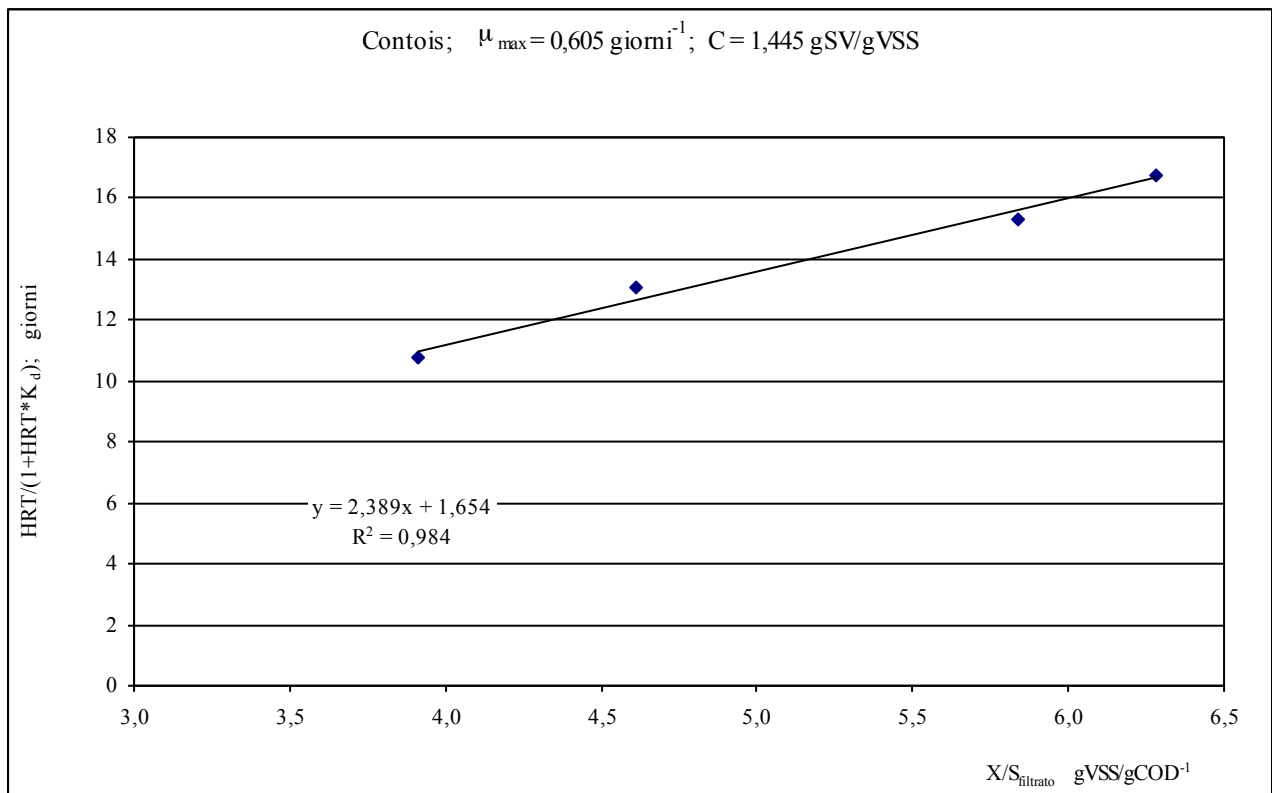
1/ μ_{\max}		2,700
μ_{\max}	giorni	0,370
K _s / μ_{\max}		11,056
K _s	gSV/L	4,095
Y _{X/S}	VSS/gSV	0,207
K _d	giorni ⁻¹	0,010



Cinetica di Contois: $\mu = \mu_{\max} \cdot S / (C X + S)$

PARAMETRO	UNITA' DI MISURA	VALORI			
		20	18	15	12
HRT (tempo idraulico di residenza)	giorni	20	18	15	12
So influente	gSV/L	29,41	29,41	29,41	29,41
X (VSS solidi volatili sospesi)	g/L	4,96	5,02	5,12	5,20
S (SV effluente filtrato)	gSV/L	0,79	0,86	1,11	1,33
X/S filtrato	gVSS/gSV	6,278	5,837	4,613	3,910
HRT/(1 + HRT * K _d)	giorni	16,752	15,326	13,096	10,750

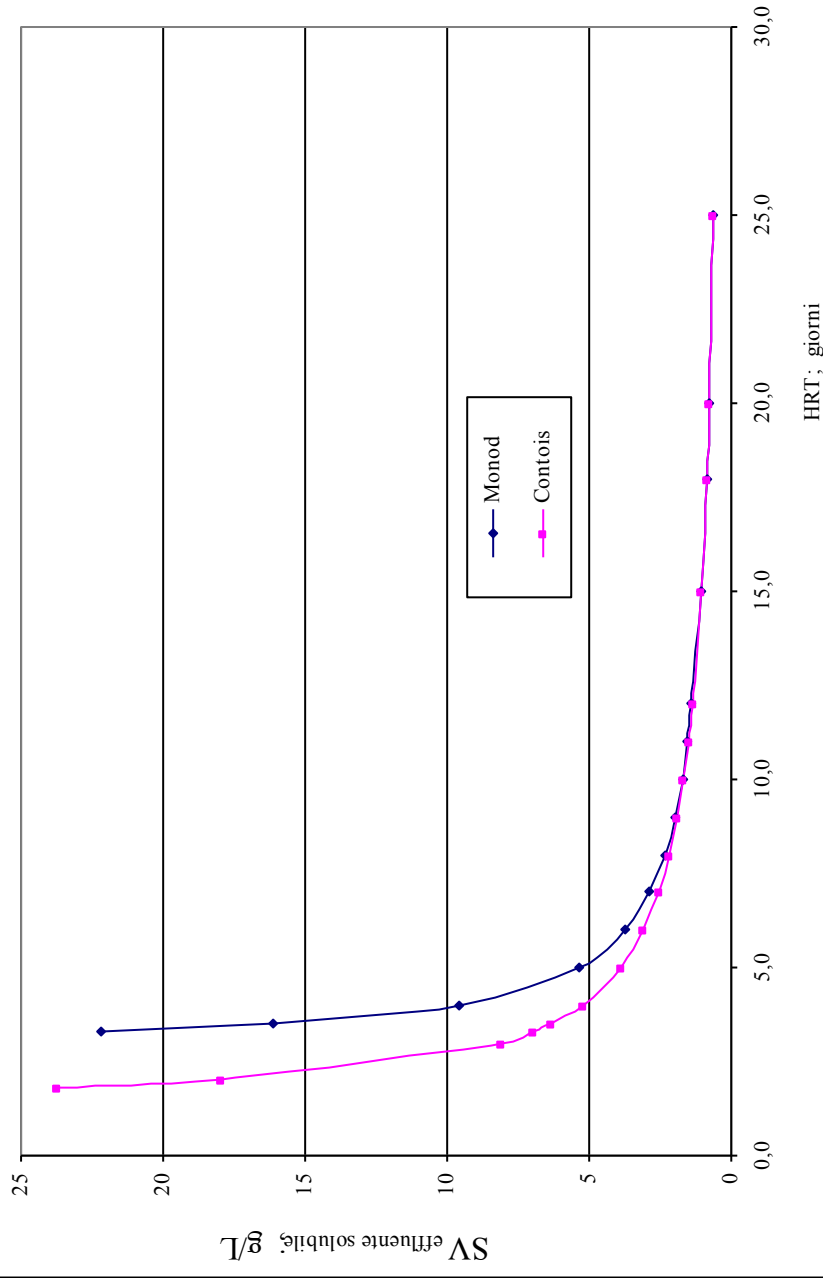
$1/\mu_{\max}$		1,654
μ_{\max}	giorni ⁻¹	0,605
C/μ_{\max}		2,389
C	gSV/gVSS	1,445
$Y_{X/S}$	VSS/gSV	0,207
K _d	giorni ⁻¹	0,010



(substrato infl. = 38,25 gCOD/L)

S effluente solubile calcolato		
HRT giorni	Monod gSV/L	Contois gSV/L
25,0	0,635	0,620
20,0	0,787	0,785
18,0	0,876	0,878
15,0	1,063	1,069
12,0	1,373	1,365
11,0	1,527	1,504
10,0	1,723	1,674
9,0	1,982	1,889
8,0	2,340	2,165
7,0	2,868	2,537
6,0	3,722	3,064
5,0	5,344	3,865
4,0	9,609	5,235
3,5	16,139	6,363
3,3	22,218	6,962
3,0		8,109
2,0		17,98
1,8		23,767

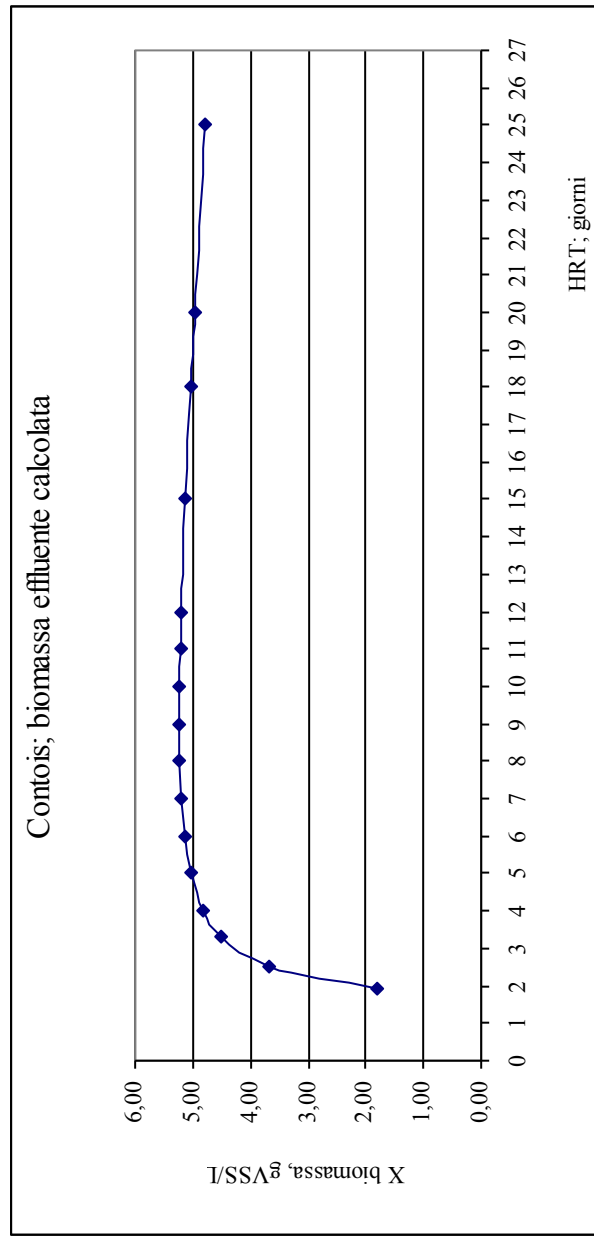
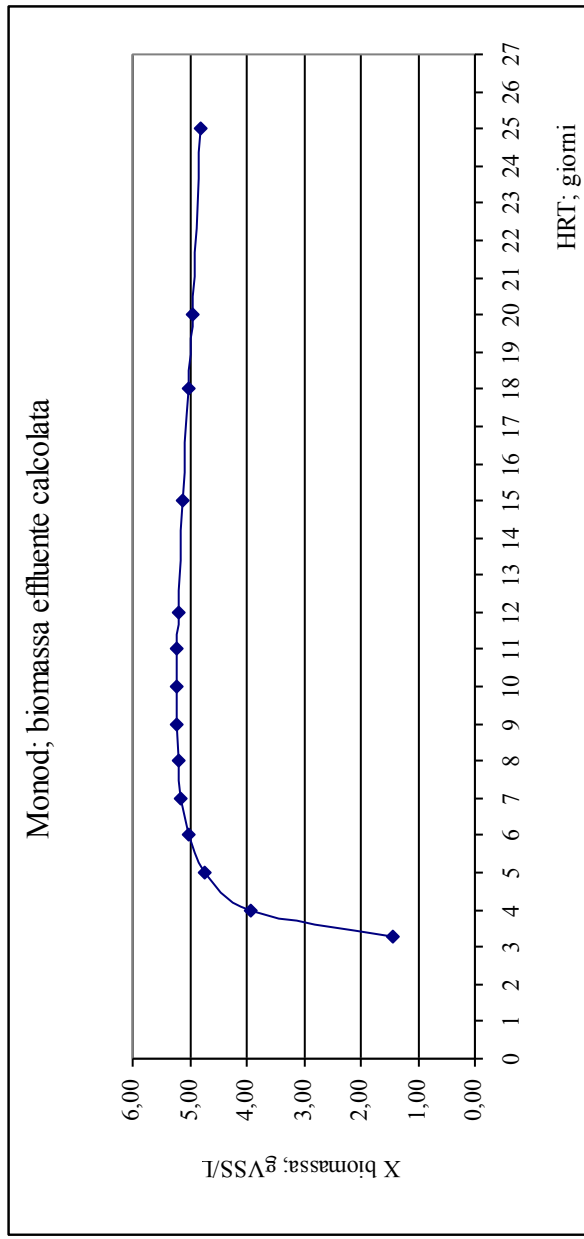
Solidi Volatili nell'effluente



La fermentazione è ben simulata sia dalla cinetica di Monod che dalla cinetica di Contois. Nel siero prevalgono i carboidrati, facilmente idrolizzabili, rispetto ai grassi e alle proteine

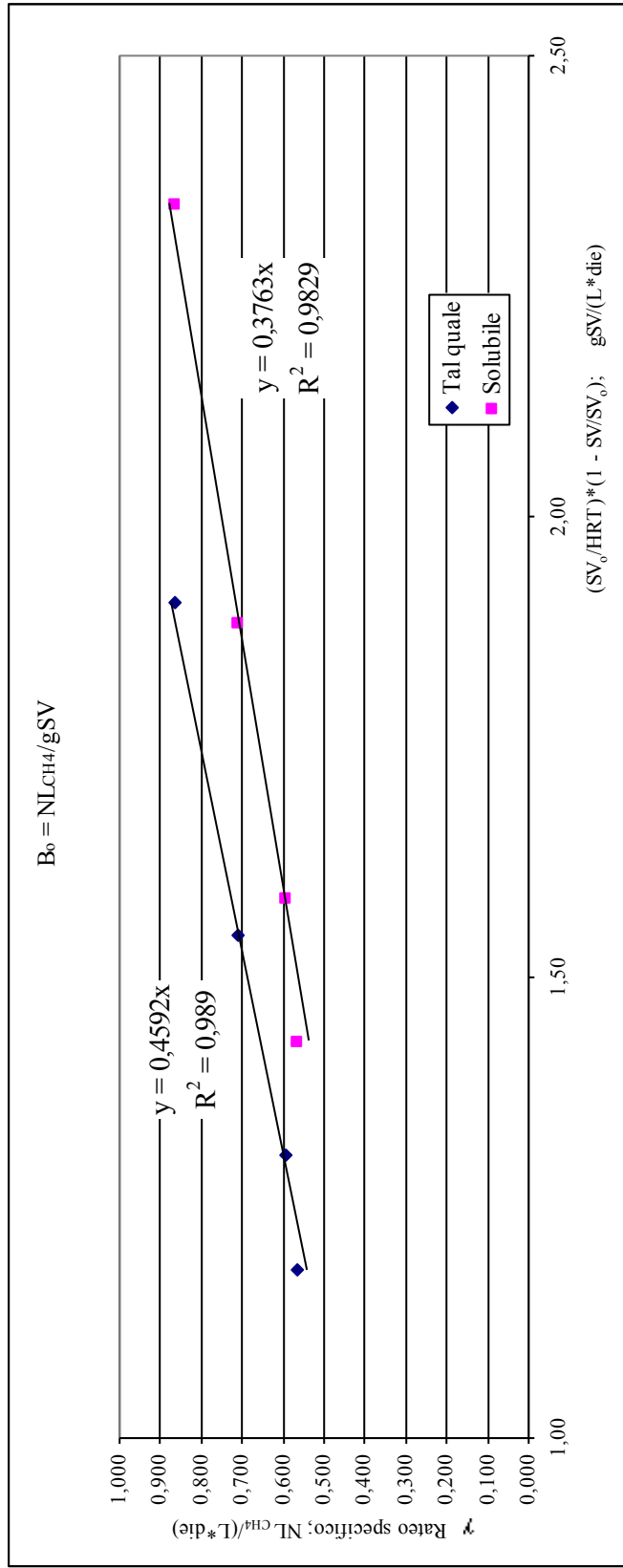
Calcolo della concentrazione di biomassa effluente

HRT giorni	Biomassa effluente	
	Monod gVSS/L	Contois gVSS/L
25	4,79	4,80
20	4,96	4,96
18	5,03	5,02
15	5,12	5,12
12	5,19	5,21
11	5,21	5,24
10	5,22	5,25
9	5,22	5,25
8	5,20	5,23
7	5,14	5,16
6	5,02	5,03
5	4,75	4,96
4	3,94	4,85
3,3	1,44	4,83
2,5		4,68
1,9		4,36



Calcolo del potenziale di metano. $B_0 = NL_{CH_4}/gSV$

HRT	giorni	20	18	15	12
SV _o (influyente)	g/L	29,41	29,41	29,41	29,41
Volume reattore	L	14	14	14	14
Organic Loading Rate	gSV/(L * die)	1,47	1,63	1,96	2,45
SV (effl. tal quale)	gCOD/L	5,75	5,88	6,23	6,53
SV (effl. filtrato)	gCOD/L	0,79	0,86	1,11	1,33
$(SV_o / HRT) * (1 - SV_{tal\ quale} / SV_o)$	g/(L*die)	1,183	1,307	1,545	1,907
$(SV_o / HRT) * (1 - SV_{solubile} / SV_o)$	g/(L*die)	1,431	1,586	1,887	2,340
Rateo CH ₄	NmL _{CH₄} /die	7.897,00	8.331,41	9.976,14	12.091,91
γ Rateo specifico CH ₄	NL _{CH₄} /(L _{reatt.} * die)	0,564	0,595	0,713	0,864



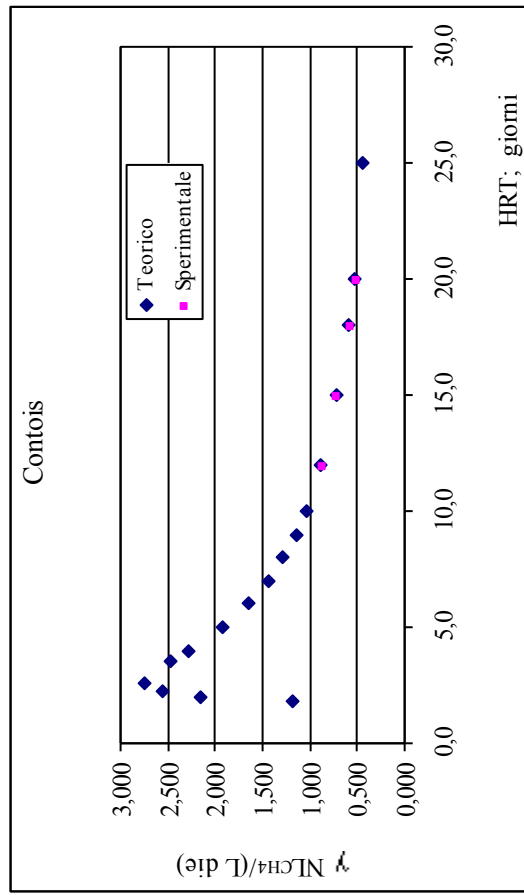
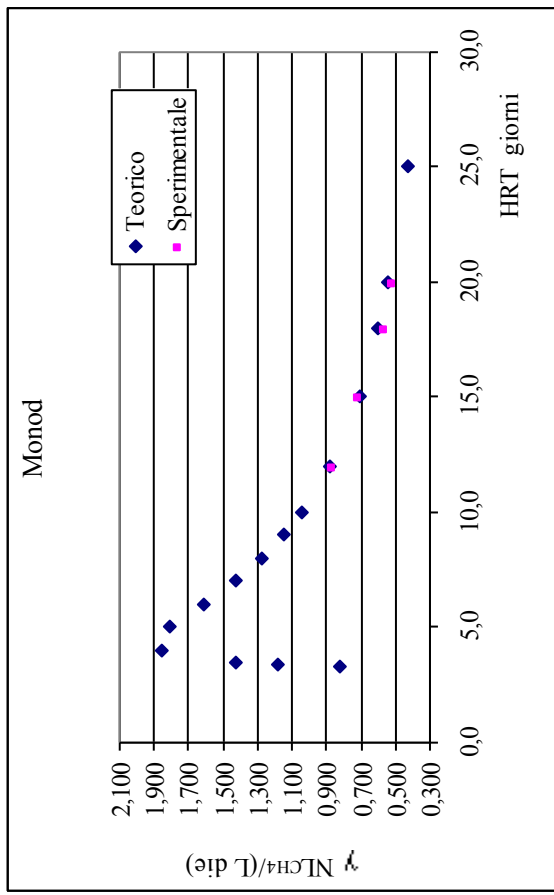
Calcolo del rateo specifico volumetrico di metano

$$(\gamma = NL_{CH_4}/(L \text{ die}))$$

$$S_0 \text{ infl.} = 29,41 \text{ gSV/L}$$

$$B_0 = 0,3761 \text{ NL}_{CH_4}/\text{gSV}$$

HRT giorni	S effluente solubile calcolato		Rateo specifico NL _{CH₄} /(L die)	
	Monod gSV/L	Contois gSV/L	Monod	Contois
25,0	0,635	0,620	0,433	0,433
20,0	0,787	0,785	0,538	0,538
18,0	0,876	0,878	0,596	0,596
15,0	1,063	1,069	0,711	0,711
12,0	1,373	1,365	0,879	0,879
10,0	1,723	1,674	1,041	1,043
9,0	1,982	1,889	1,146	1,150
8,0	2,340	2,165	1,273	1,281
7,0	2,868	2,537	1,426	1,444
6,0	3,722	3,064	1,610	1,651
5,0	5,344	3,865	1,810	1,921
4,0	9,609	5,235	1,862	2,273
3,5	16,139	6,363	1,426	2,477
3,4	18,694	6,649	1,185	
3,3	22,218	6,962	0,820	
3,2	27,391	7,307	0,237	
2,8		9,109		
2,6		10,391		2,751
2,4		12,092		
2,2		14,460		2,556
2,0		17,980		2,149
1,8		23,767		1,179



Edito dall' **ENEA**
Servizio Comunicazione

Lungotevere Thaon di Revel, 76 - 00196 Roma

www.enea.it

Stampa: Tecnografico ENEA - CR Frascati
Pervenuto il 15.5.2014

Finito di stampare nel mese di giugno 2014