



Politecnico di Milano

SCUOLA DI INGEGNERIA CIVILE, AMBIENTALE E TERRITORIALE
Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria per l'Ambiente e il Territorio
Tecnologie di Risanamento Ambientale

TESI DI LAUREA MAGISTRALE

**Misura dell'attività specifica idrogenotrofa:
Impatto dei parametri operativi
e modellazione del processo**

Candidato:
Luca Schiattareggia
Matricola 944338

Relatore:
Prof.ssa Francesca Malpei
Correlatore:
Ing. Anna Santus

Anno Accademico 2020–2021

RINGRAZIAMENTI

Ringrazio innanzitutto la professoressa Francesca Malpei, per avermi proposto e accompagnato in questa esperienza formativa, per la disponibilità e la pazienza dimostrata nei miei confronti e per avermi fornito preziosi consigli, sia di carattere scientifico-tecnico, sia sulla vita di tutti i giorni.

Ringrazio Mirko Trionfini e Anna Santus, per essere stati dei punti di riferimento lungo il percorso di tesi e non solo. In particolare ringrazio Anna per avermi sostenuto in questi ultimi mesi di sprint finale, per i birroni del gioveDICA, per avermi ascoltato e consigliato anche nei momenti più difficili.

Ma soprattutto la ringrazio per l'immancabile panino "bocconcino di grano duro" dell'Esselunga che mi offriva ad ogni pranzo. A loro due mando un sincero augurio, per la vita e per la futura carriera che verrà.

Ringrazio tutti i miei amici di Vittuone, che sono la mia seconda famiglia, Intro, Magi detto "er Pablo", Franci Bianchi, Chri, la Mairim, l'Ali e la Fe.

Grazie per esserci sempre stati, grazie per il sostegno, per le birre, per le esperienze di vita che abbiamo vissuto e continuiamo a vivere insieme ogni giorno.

Ringrazio i miei amici dell'uni Kuba, Frampa, Pol, Ganz con i quali ho condiviso esperienze dentro e fuori dall'università. In particolare ringrazio

Kuba, ultimo rimasto della vecchia cumpa della triennale, con il quale c'è sempre stata una grande intesa; e anche se è un po' scemo gli voglio bene e lo ringrazio per la presenza costante.

Ringrazio Matteo Baldelli, vicino di casa, amico da sempre e fratello acquisito.

Persona con cui sono cresciuto e su cui so di poter sempre contare nel momento del bisogno.

Ringrazio Michela. Anche se i nostri destini si sono incrociati ma non uniti, le auguro tutto il bene del mondo e le auguro che possa trovare ciò che le permetta davvero di realizzarsi nella vita.

Infine, un sincero ringraziamento va alla mia famiglia. Ringrazio i miei genitori per il sostegno quotidiano, per avermi sempre ascoltato, anche quando palesemente non avrei voluto parlare, per non essere stati indifferenti, per avermi rimproverato quando necessario ed infine per avermi aiutato a diventare la persona che sono oggi. Ringrazio mio fratello Fabio che, a sua insaputa, mi ha dato e mi dà la forza di andare avanti in tante situazioni.

Sommario

Le misure sperimentali di attività specifica idrogenotrofa (SHMA) rappresentano un utile strumento nel caratterizzare l'attività dei fanghi biologici anaerobici. Esse sono un metodo economico e rapido per monitorare il funzionamento di reattori su scala pilota e su scala industriale per la produzione e l'upgrading del biogas. Le attività svolte nel presente elaborato di tesi magistrale hanno riguardato due obiettivi: il primo attiene allo studio dell'effetto della variazione dei parametri operativi (pressione iniziale, miscelazione e volume di fango) sulla misura dell'SHMA, tramite due diversi apparati sperimentali, unitamente alla misura in linea delle concentrazioni dei gas disciolti, attraverso l'adozione di uno spettrometro di massa a membrana; le analisi prevedono l'utilizzo di un fango ad alta attività derivante da un reattore pilota di upgrading ex-situ in configurazione CSTR, operante in condizioni di mesofilia; il secondo riguarda l'elaborazione di un modello matematico per la simulazione della prova di SHMA, accompagnato dall'identificazione parametrica della K_L del sistema e della K_s della biomassa; ciò prevede l'adozione di un metodo di trasformazione lineare frazionaria (LFT), utilizzando come vettori di uscita misurata la pressione nello spazio di testa, l'idrogeno e il metano disciolti. In particolare per il primo obiettivo si riportano i materiali e i metodi utilizzati, al fine di indentificare il dominio dei parametri operativi scelti, il set-up delle prove sperimentali di SHMA e dell'analisi dei gas disciolti, i passaggi necessari al calcolo del valore di SHMA dalla misura della variazione di pressione nello spazio di testa (sulla base della cinetica per la conversione H_2/CO_2 in metano); il confronto tra i valori di SHMA misurati dai due apparati viene accompagnato dal bilancio di massa del COD, svolto per verificare l'accuratezza delle misure. Per il modello invece si è dimostrato un buon fit dei dati sperimentali (indice TIC < 0,3); è stato ribadito come la K_L sia molto dipendente dalla miscelazione imposta, mentre si è stimato un valore medio di K_s pari a $1,42 \cdot 10^{-5} \text{ mol}_{H_2}/L$, confermando gli ordini di grandezza riportati in letteratura.

Abstract

Experimental hydrogenotrophic specific activity (SHMA) measurements are a useful tool in characterizing the activity of anaerobic biological sludge. They are a cost-effective tool to monitor the operation of pilot and industrial scale reactors for biogas production and upgrading. The activities carried out in the present master thesis have focused on two objectives: the first one concerns the study of the effect of the variation of operating parameters (initial pressure, mixing and volume of sludge) on the measurement of SHMA, by means of two different experimental devices, together with the on-line measurement of dissolved gas concentrations through the adoption of a membrane mass spectrometer; the analysis involves the use of a high activity sludge from an ex-situ pilot upgrading reactor in CSTR configuration, operating under mesophilic conditions; the second concerns the development of a mathematical model for the simulation of the SHMA test, accompanied by the parametric identification of the K_{La} of the system and the K_s of the biomass; this involves the adoption of a method of linear fractional transformation (LFT), using as output vectors measured headspace pressure, dissolved hydrogen and methane. In particular, for the first objective we report the materials and methods used, in order to identify the domain of the operating parameters chosen, the set-up of the experimental tests of SHMA and the analysis of dissolved gases, the steps necessary to calculate the value of SHMA from the measurement of the pressure variation in the headspace (based on the kinetics for the conversion H_2/CO_2 to methane); the comparison between the values of SHMA measured by the two devices is accompanied by the mass balance of COD, carried out to verify the accuracy of the measurements. On the other hand, a good fit of the experimental data was demonstrated for the model (TIC index $< 0,3$); it was reiterated that the K_{La} is strongly dependent on the imposed mixing while an average value of K_s equal to $1,42 \cdot 10^{-5} \text{ mol}_{H_2}/L$ was estimated, confirming the orders of magnitude reported in literature.

Indice

SOMMARIO	iii
ABSTRACT	v
INDICE DELLE FIGURE	xv
INDICE DELLE TABELLE	xix
1 INTRODUZIONE	1
2 STATO DELL'ARTE	5
2.1 Digestione anaerobica	5
2.2 Biogas e biometano	8
2.2.1 Biogas, composizione e caratteristiche	8
2.2.2 Biogas e biometano, sviluppo attuale e prospettive future	9
2.2.3 Biometano nel panorama italiano	12
2.2.4 Standard di qualità del biometano	14
2.3 Tecnologie di upgrading fisico-chimiche	15
2.4 Tecnologie di upgrading biologiche	22
2.4.1 Upgrading chemoautotrofo	23
2.4.2 Reazioni primarie, secondarie e fenomeni di competizione	24
2.4.3 Modellistica del processo	27
2.4.4 Parametri operativi di processo	30
2.4.5 Parametri prestazionali	38
2.5 Configurazioni reattoristiche	40
2.5.1 In-situ biogas upgrading	40
2.5.2 Ex-situ biogas upgrading	44
2.6 Specific Methanogenic Activity	52
2.6.1 SHMA - Definizione e scopo	52
2.6.2 Metodi di misura e di calcolo	54
2.6.3 Problematiche della misura	57
2.7 Trasferimenti di massa gas-liquido	60
2.7.1 Teoria del doppio film	60

2.7.2	Influenza dei parametri di processo	62
3	MATERIALI E METODI	71
3.1	Prove di SHMA	71
3.1.1	Materiali	73
3.1.1.1	Apparato 1 - OxiTop [®]	73
3.1.1.2	Apparato 2 - Methan Tube [®]	74
3.1.1.3	Apparato 3 - HPR-40 DSA	75
3.1.2	Fango	76
3.1.2.1	Composizione microbica del fango	76
3.1.2.2	Concentrazione della biomassa	77
3.1.3	Metodi	79
3.1.3.1	Design of Experiment, (DOE)	81
3.1.3.2	Allestimento delle prove	83
3.1.4	Prove al contorno	85
3.1.5	Analisi	92
3.1.5.1	Analisi dei gas disciolti	93
3.1.6	Calcoli e elaborazioni	95
3.1.6.1	Valutazioni condizioni limitanti	95
3.1.6.2	Elaborazione dati di pressione e calcolo SHMA	96
3.1.6.3	Calcolo SHMA reattore di origine	99
3.1.6.4	Elaborazioni delle concentrazioni dei gas disciolti	100
3.1.6.5	Bilancio del COD	100
3.1.7	Analisi statistiche	105
3.2	Modellazione prove di SHMA	108
3.2.1	Materiali	108
3.2.2	Metodi	110
3.2.2.1	Parametri e variabili	111
3.2.2.2	Matrice di Petersen	115
3.2.2.3	Equazioni	118
3.2.2.4	Identificazione parametrica - LFT	122
4	RISULTATI E DISCUSSIONE	127
4.1	Prove preliminari di validazione	127
4.1.1	Effetto della temperatura	127
4.1.2	Concentrazioni a saturazione (HPR-40 DSA)	128
4.1.3	Verifica condizioni non limitanti	131

4.1.4	Bilancio del COD	133
4.2	Risultati delle prove di SHMA	135
4.2.1	Riepilogo valori e statistiche delle prove	135
4.2.2	Considerazioni teoriche	138
4.3	Discussione dei risultati	140
4.3.1	Correlazioni	140
4.3.2	Analisi dei parametri operativi	143
4.3.2.1	Statistica descrittiva Apparato 2	143
4.3.2.2	Analisi dei profili di pressione e dei gas disciolti	147
4.3.2.3	Regressione lineare multipla	150
4.3.3	Confronti	157
4.3.3.1	Prove corrispondenti tra apparati	157
4.3.3.2	Confronto dell'attività batterica nell'inoculo e nel reattore di origine	160
4.3.4	Modello ed identificazione parametrica	162
5	CONCLUSIONI E SVILUPPI FUTURI	167
	APPENDICE	171
A	Regressione multipla	171
B	Script MATLAB : LFT e modello	172
B.1	Main	172
B.2	Funzione LFT	173
B.3	Script modello LFT semplificato	174
	BIBLIOGRAFIA	175

Indice delle figure

2.1	Schema di digestore anaerobico in configurazione CSTR (reattore completamente miscelato).	6
2.2	Schema generale delle fasi che compongono la via di degradazione anaerobica.	8
2.3	Sviluppo del numero di impianti di biogas in Europa (2009-2019).	10
2.4	Sviluppo del numero di impianti di biometano in Europa (2011-2019).	10
2.5	a) Quota percentuale e b) numero di impianti di produzione totale di biometano per tipo di materia prima: colture energetiche (colture dedicate) vs. flussi di rifiuti e residui nell'UE.	12
2.6	a) Distribuzione cumulativa degli impianti rispetto alla tecnica di upgrading nel 2019 sulla base del numero totale di impianti (576) e capacità totale (261.000 m ³ /h) e b) Cambiamento cumulativo, negli ultimi dieci anni, rispetto alle tecniche utilizzate per il biogas upgrading.	16
2.7	Schema del processo di water scrubbing.	17
2.8	Schema di processo del chemical scrubbing; in ordine da sinistra si nota l'unità operativa di assorbimento costituita da una torre a riempimento accoppiata a un'unità di recupero del solvente	18
2.9	Schema di processo del physical scrubbing	18
2.10	Sistema di separazione a membrana; i) schema generale, ii) configurazione a uno stadio, iii) configurazione a due stadi con un ciclo di ricircolo, iv) configurazione a due stadi con sweep e v) configurazione a tre stadi con sweep	19
2.11	Schema del processo PSA	20
2.12	Schema dell'upgrading biologico in-situ, ex-situ e ibrido	25
2.13	Percorsi metabolici della metanogenesi basata sull'idrogeno	26
2.14	Diagramma di Bjerrum dell'equilibrio calcio carbonico in acqua a 25°C e 5000 ppm di salinità	31
2.15	Relazione tra alcalinità, pH e CO ₂ in un reattore anaerobico	32

2.16	Effetto della temperatura sulle cinetiche di degradazione anaerobica. In tratteggio, sono indicati gli intervalli ottimali di lavoro e, in grigio, quelli non ottimali	34
2.17	Effetto della temperatura sulla concentrazione disciolta di idrogeno e sulla concentrazione a saturazione	34
2.18	Configurazione in-situ, con reattore anaerobico di tipo UASB con membrana di desorbimento della CO ₂ posta nell'unità di degassificazione esterna	42
2.19	Schema delle tipologie di reattori per biometanazione: a) CSTR, b) AF, c) TBR	45
2.20	Schemi delle due configurazioni CSTR utilizzate dagli autori, a) Kougias et al. (2017) e b) Bassani et al. (2015).	46
2.21	a) Allestimento dell'esperimento secondo Thapa et al. (2022) b) Grafico delle percentuali in volume dei gas in uscita campionati	47
2.22	Schema del reattore upflow in serie secondo lo studio di Kougias et al. (2017)	48
2.23	Schema della colonna a bolle secondo lo studio di Kougias et al. (2017)	49
2.24	Schema di un sistema Venturi utilizzato per l'iniezione dell'H ₂ nel reattore anaerobico	50
2.25	Grafico che riassume i dati di pressione e le relative moli di metano calcolate, usando come strumento un trasduttore di pressione per monitorare l'attività idrogenotrofica	56
2.26	Energia libera delle reazioni nell'ultima fase del processo AD: r ₁ = metanogeni acetoclasti, r ₂ = metanogeni idrogenotrofi, r ₃ = SAO, r ₄ = omoacetogeni	59
2.27	Profilo di concentrazione del gas durante l'assorbimento di un composto gassoso in una fase liquida come rappresentato dalla teoria del doppio film.	63
2.28	Panoramica della relazione tra i parametri di processo discussi e il trasferimento di massa H ₂ gas-liquido.	63
2.29	Dettaglio dei gradienti di concentrazione dell'H ₂ nell'intorno dell'interfaccia gas-liquido.	65
2.30	Figura che riporta un esempio numerico dell'applicazione della formula di Merchuk	66

2.31	Generazione dell'area specifica di interfaccia in reattori a dispersione di bolle (A), a membrana (B) e TBR (C).	67
3.1	Fotografia dell'Apparato 1 durante una fase di prova	73
3.2	a) Fotografia dell'Apparato 2 durante una fase di prova, b) dettaglio degli attacchi pneumatici sulla testa dell'Apparato 2	74
3.3	a) Immagine dello spettrometro di massa a membrana HPR-40 DSA b) dettaglio della membrana presente sulla sonda	76
3.4	Elaborazione dei risultati delle analisi PCR effettuate sui campioni di fango	77
3.5	Andamento delle concentrazioni dei solidi totali (ST) e dei solidi volatili (SV) all'interno del reattore.	78
3.6	Box-Behnken Design a 3 fattori, utilizzato per definire le prove per l'Apparato 2	81
3.7	a) Grafico che mostra le variazioni di pressione nella prova di tenuta dell'Apparato 2 in un arco temporale di 10 ore, b) dettaglio dell'oscillazione del valore di pressione a causa della variazione di temperatura	87
3.8	a) profilo della pressione nella prova di tenuta con la sonda dei gas disciolti, b) dettaglio della variazione di pressione nelle prime due ore del test	89
3.9	Sovrapposizioni spettrali tra i gas analizzati nella prova di SHMA. (M/Z) rappresenta il rapporto massa atomica rispetto alla carica	93
3.10	Profilo di pressione di una prova di SHMA e relativo profilo della pendenza utilizzando come timestep 5 minuti e timestep 1 ora	98
3.11	A sinistra profilo e pendenza corrispondente della concentrazione di idrogeno disciolto rilevati durante una prova di SHMA; a destra profilo e pendenza del metano.	101
3.12	Interpolazione lineare tra dati sperimentali delle diffusività reperite in letteratura a differenti temperature	113
3.13	Schema concettuale (non in scala) della prova di SHMA modellata	116
3.14	Schema a blocchi per la simulazione di un sistema LFT. Data la variabile di input $u(t)$, esso permette la computazione dell'uscita stimata e delle funzioni di sensitività.	126

4.1	a) effetto della variazione di pressione legato alla variazione di temperatura nella fase iniziale della prova e b) profilo della temperatura misurata durante il transitorio ad inizio prova	128
4.2	Profili dei gas disciolti (H_2 e CO_2) durante la prova di controllo sull'Apparato 2	129
4.3	Profilo delle pressioni parziali relativo alla prova di SHMA 200 mL, 2 bar e 800 rpm per l'Apparato 2	132
4.4	Profilo delle pressioni parziali relativo alla prova di SHMA 53,5 mL, 1,2 bar e 800 rpm per l'Apparato 1	132
4.5	A sinistra, profilo delle frazioni volumetriche dei gas durante la prova di SHMA (200 mL, 2 bar, 800 rpm) e a destra corrispondente profilo del COD in fase gas rispetto al COD totale	134
4.6	Esempio di curva di pressione per l'Apparato 1 e l'Apparato 2 e relativi differenziali (pendenze) stimati su un'ora di dati	139
4.7	Matrice di correlazione sull'intero dataset dell'Apparato 2	141
4.8	Confronto grafico attraverso scatterplot tra i valori dei tempi di lag relativi alle prove di SHMA dell'Apparato 2 della fase I e della fase II	142
4.9	Confronto grafico attraverso la realizzazione di una heat map tra i valori medi di SHMA relativi alle prove di SHMA dell'Apparato 2 della fase I e ai valori medi dell'intero set (fase I+II)	144
4.10	Da sinistra a destra heat map dei valori medi di SHMA (fase I + II) al variare dei parametri operativi.	145
4.11	Boxplot delle prove dell'Apparato 2 a differente volume, considerando il solo periodo I di prove e l'insieme del periodo I e II	145
4.12	Boxplot delle prove dell'Apparato 2 a differente miscelazione, considerando il solo periodo I di prove e l'insieme del periodo I e II	146
4.13	Boxplot delle prove dell'Apparato 2 a differente pressione, considerando il solo periodo I di prove e l'insieme del periodo I e II	147
4.14	Profili rilevati sperimentalmente dei gas disciolti e della pressione nello spazio di testa	148

4.15	Matrice dei coefficienti di correlazione lineare tra le variabili predittive X_1 , X_2 e X_3 , (in grassetto si riportano i valori dei coefficienti $\rho_{i,j}$)	151
4.16	Grafico delle SHMA stimate dal modello rispetto a quelle misurate sperimentalmente	154
4.17	q-qplot per i residui standardizzati della stima del modello per verificarne la normalità da un punto di vista grafico	155
4.18	Grafico dell'SHMA stimata dal modello rispetto ai residui standardizzati per verifica grafica dell'omoschedasticità	156
4.19	Confronto grafico attraverso la realizzazione di una heat map tra i valori medi di SHMA relativi alle prove corrispondenti fra i due apparati sperimentali	157
4.20	Boxplot delle prove corrispondenti tra l'Apparato 2 e l'Apparato 1 della fase I, raggruppate per il volume e la miscelazione	158
4.21	Confronto tra le distribuzioni di probabilità dei due strumenti attraverso istogramma realizzato con il software SPSS	159
4.22	Rappresentazione grafica del trend di valori di SHMA calcolati dalle prove batch della fase II ed i valori di SHMA del reattore di origine	161
4.23	Confronto tra profili reali(misurati) rispetto a quelli stimati dal modello post-identificazione parametrica della pressione nello spazio di testa, della CO_2 disciolta, dell'idrogeno disciolto e del metano disciolto	164
A	Script MATLAB, utilizzato come primo step per ricercare i valori di K_{La} e K_s	172
B	Script MATLAB della funzione LFT per la stima della K_{La} e K_s	173
C	Script MATLAB relativo al modello di SHMA implementato . .	174

Indice delle tabelle

2.1	Velocità di smaltimento del substrato delle singole fasi	7
2.2	Concentrazioni dei gas componenti la miscela di biogas, considerando come origine fanghi di depurazione delle acque	9
2.3	Panoramica dei valori di costo (2018) per i parametri più importanti nel processo di produzione della digestione anaerobica del biometano	12
2.4	Standard di Francia e Germania come riportati da Corbellini et al. (2015), Kapoor et al. (2019) e dagli standard italiani di rete SNAM.	14
2.5	Confronto tra diverse tecnologie di biogas upgrading, basandosi su dati relativi da letteratura, riferiti sia ad impianti pilota che full scale	21
2.6	Intervallo di pH e temperatura di alcune specie metanogeniche che utilizzano come substrati di crescita H_2 e CO_2 secondo Strevett et al. (1995)	33
2.7	Confronto tra diversi reattori di biogas upgrading in-situ, i dati sono presi principalmente da studi eseguiti a scala di laboratorio e riportano alcuni dei parametri operativi e prestazionali di confronto	43
2.8	Confronto tra diversi reattori di biogas upgrading ex-situ, i dati sono presi principalmente da studi eseguiti a scala di laboratorio e riportano alcuni dei parametri operativi e prestazionali di confronto	51
2.9	Caratteristiche principali dei protocolli di SHMA presenti in letteratura, valori rielaborati da Corbellini et al. (2019)	55
2.10	Valori di SHMA ($NmL CH_4/gSV/d$) reperiti in letteratura per diverse condizioni operative e tipologia di inoculo	57
2.11	Valori delle costanti di semi-saturazione relative a H_2 e CO_2 in funzione della tipologia di biomassa e della condizione di temperatura	59
3.1	Set di prove di SHMA eseguite per i due apparati e rispettivi codici identificativi (colonna N°)	72

3.2	Set di parametri utilizzato per l'allestimento delle prove per l'analisi dei gas disciolti sull'Apparato 2 e rispettivi codici identificativi (#)	72
3.3	Caratteristiche tecniche delle due strumentazioni utilizzate . . .	75
3.4	Concentrazioni di SV e ST durante le fasi della sperimentazione	78
3.5	Set di parametri utilizzato nell'allestimento delle prove per l'Apparato 1	80
3.6	Set di parametri utilizzato nell'allestimento delle prove per l'Apparato 2	80
3.7	Set di prove eseguite per i due apparati a) Apparato 1 e b) Apparato 2	83
3.8	Valori delle costanti di Henry calcolate alla temperatura operativa di 37°C per l'anidride carbonica e l'idrogeno	91
3.9	Analisi effettuate durante la sperimentazione, con metodo e frequenza di realizzazione	92
3.10	Set di parametri utilizzato per l'allestimento delle prove per l'analisi dei gas disciolti sull'Apparato 2	94
3.11	Simboli, valori ed unità di misura delle costanti e delle variabili utilizzate nel bilancio del COD	102
3.12	Simbolo, definizione e unità di misura delle variabili di stato del modello	110
3.13	Simbolo, definizione, valore e unità di misura dei coefficienti stechiometrici	112
3.14	Simbolo, definizione, valore e unità di misura dei parametri biologici	113
3.15	Simbolo, definizione, valore e unità di misura dei parametri chimico fisici	114
3.16	Coefficienti di trasferimento di massa gas-liquido riferiti alla temperatura operativa	114
3.17	Costanti di Henry trasformate in riferimento alla temperatura operativa	115
3.18	Coefficienti degli equilibri acido-base riferiti alla temperatura operativa	115
3.19	Matrice di Petersen del modello semplificato della prova di SH-MA, a pH costante	117
4.1	Indici statistici calcolati per la prova al contorno relativa all'effetto della temperatura	128

4.2	Concentrazioni a saturazione disciolte dell'H ₂ e della CO ₂ misurate nella prova di controllo, utilizzando la sonda dei gas disciolti	130
4.3	Rapporti fra le concentrazioni a saturazione teoriche e rilevate rispetto alle pressioni imposte	130
4.4	Rapporti fra concentrazioni a saturazioni teoriche e misurate a pari pressione imposta	131
4.5	Valori limite ($P_{p,limite}$) e misurati ($P_{p,misurata}$) delle pressioni parziali a fine prova relativi all'Apparato 2 e all'Apparato 1	131
4.6	Risultati finali relativi al bilancio del COD sulla prova di SHMA	133
4.7	Riepilogo dei valori di SHMA, media e CV ottenuti per le prove effettuate sull'Apparato 1 durante la fase I	135
4.8	Riepilogo degli eventi che hanno caratterizzato le fasi della sperimentazione	135
4.9	Riepilogo dei valori di SHMA, media e CV ottenuti per le prove effettuate sull'Apparato 2	136
4.10	Legenda con cui interpretare i colori della Tabella 4.8	136
4.11	Set di prove utilizzate nell'analisi dei gas disciolti e corrispondenti valori di SHMA calcolati	150
4.12	Riepilogo statistiche della regressione	152
4.13	Riepilogo tabella Anova dell'F-test sull'intero modello di regressione	152
4.14	Riepilogo delle statistiche del t-test sul modello di regressione	153
4.15	Tabella dei coefficienti β_i standardizzati	153
4.16	Riepilogo statistiche del test U di Mann-Whitney	158
4.17	Risposta del test all'ipotesi nulla di appartenenza alla stessa popolazione	159
4.18	Confronto temporale delle prove di SHMA batch, effettuate con l'Apparato 2 rispetto all'attività valutata nel reattore di origine	160
4.19	Riepilogo dei parametri stimati e degli indici statistici TIC e MARE del modello della prova di SHMA attraverso l'utilizzo del metodo LFT	165
A	Dataset utilizzato per la regressione multipla	171

1 | INTRODUZIONE

La maggiore consapevolezza del cambiamento climatico in atto e il conseguente aumento dei livelli di protezione dell'ambiente, impongono di incrementare l'uso di risorse rinnovabili per ridurre così la dipendenza dall'energia fossile. La crisi climatica rappresenta una sfida epocale per l'Europa e per il mondo e i futuri anni saranno decisivi per intraprendere azioni concrete, allo scopo di mitigare gli impatti dell'uomo sull'ambiente. Nel sesto rapporto di valutazione dell'IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change) del 2021 e dagli accordi presi durante la COP (Conference of the Parties) tenutasi a Glasgow nel 2021 si evidenzia che rimanere entro 1.5 °C di innalzamento delle temperature medie globali entro l'anno 2050, rispetto il periodo pre-industriale, sia fondamentale per evitare cambiamenti irreversibili nel sistema climatico, che impatterebbero in maniera severa su ogni ecosistema e sulla popolazione mondiale [1].

Il Green Deal europeo, presentato nel dicembre 2019, punta a raggiungere la neutralità carbonica nel continente entro il 2050; tutti i 27 Stati membri per raggiungere questo traguardo si sono impegnati a ridurre le emissioni di almeno il 55% entro il 2030, rispetto ai livelli del 1990. Il dato più recente registrato dagli inventari delle emissioni redatti dall'Unione Europea, riferito all'anno 2019, mostra che la produzione di energia elettrica e calore siano responsabili in quell'anno del 20,2% delle emissioni totali di gas serra e dell'82% delle emissioni di gas serra provenienti dal settore energetico industriale [2].

Risulta quindi evidente che intraprendere politiche economiche che incentivino l'utilizzo di fonti di energia rinnovabili sia di fondamentale importanza per ridurre le emissioni derivanti da attività antropiche. È in questa prospettiva futura di neutralità carbonica che si inserisce perfettamente la digestione anaerobica, tecnologia che è in grado di generare un combustibile biogenico, il biogas, attraverso il contestuale trattamento per via biologica della frazione organica derivante da reflui municipali, industriali, zootecnici e/o da scarti alimentari.

Tale miscela contiene principalmente una frazione volumetrica di CH₄, che rappresenta il gas combustibile della miscela, che varia tra 50 - 70 % v/v; la restante parte è occupata dall'anidride carbonica che occupa una frazione pari al 30 - 50 % v/v e possibili ulteriori frazioni volumetriche di gas presenti in basse percentuali. La presenza della CO₂ costituisce una zavorra termodinamica del

sistema nei processi di combustione, in quanto non è un composto ulteriormente ossidabile.

Diventa quindi chiaro che migliorare la qualità del biogas sia di fondamentale importanza, in quanto permetterebbe di sfruttare a pieno un vettore energetico, che potrebbe essere utilizzato per autotrazione, per teleriscaldamento o immesso direttamente nella rete nazionale del metano, diminuendo così il contributo dei combustibili di origine fossile utilizzati. Al giorno d'oggi sul mercato è disponibile un portfolio di tecnologie che si basano su processi fisici, chimici, chimico-fisici e biologici, che permettono di separare o convertire la CO_2 del sistema e che rientrano sotto la categoria di "biogas upgrading" o "biogas cleaning". Questi processi consentono di aumentare la frazione volumetrica del metano, quindi il potere calorifico della miscela. Il prodotto finale di questo procedimento può essere considerato biometano che, secondo il decreto Biometano del 2 marzo 2018 del Ministero dello Sviluppo Economico, è definito come il combustibile ottenuto dal biogas che, a seguito di opportuni trattamenti chimico fisici, soddisfa le caratteristiche fissate dall'Autorità per l'energia elettrica, il gas e il servizio idrico, ed è quindi idoneo alla successiva fase di compressione per l'immissione nella rete del gas naturale e per i successivi utilizzi. In tale definizione si include anche il combustibile prodotto tramite processi di metanazione dell'idrogeno, ottenuto da fonti rinnovabili e della CO_2 presente nel biogas [3]. Il seguente elaborato di tesi di laurea magistrale si concentra sull'upgrading del biogas da digestione anaerobica a biometano per via biologica. Tale tecnologia, ancora limitata alla scala pilota, si basa sulla nota reazione Sabatier, che in questo caso viene catalizzata da un gruppo di microrganismi metanogeni, facenti parte della famiglia degli *archaea* idrogenotrofici. Essi sfruttano l'idrogeno per ridurre la CO_2 a CH_4 , ricavando energia utile, che viene utilizzata per il mantenimento e la crescita cellulare. Per fare in modo che l'intero processo risulti ad impronta carbonica nulla, l'idrogeno deve essere prodotto da fonti rinnovabili. L'elettrolisi dell'acqua alimentata dal surplus energetico derivante da energia eolica o solare rappresenta tipicamente la soluzione adottata per tale scopo.

L'obiettivo della sperimentazione, svolta all'interno del progetto PerFORM Water 2030, è studiare, formalizzare e modellare prove batch di SHMA, alimentate con una miscela 4:1 di H_2 e CO_2 , le quali permettono la definizione dell'attività specifica di metanazione della biomassa idrogenotrofa e rappresentano un utile strumento per la corretta gestione di un sistema di upgrading del biometano. Si cercherà inoltre di indagare nel dettaglio e di modellare una delle

problematiche principali dell'upgrading ex-situ e delle prove di SHMA stesse, ovvero il trasferimento di massa gas-liquido dell'idrogeno all'interno del sistema, il quale risulta spesso essere il fenomeno limitante dell'intero processo. Il fango per le analisi sperimentali è stato campionato da un reattore di upgrading ex-situ, operante in condizioni di mesofilia, alimentato in continuo con CO₂ o con il biogas dal digestore anaerobico a piena scala, collocato all'interno del depuratore di San Giuliano Milanese Ovest gestito da CAP Holding S.p.A.

Il primo capitolo presenta lo stato dell'arte dell'upgrading del biogas a partire da una breve descrizione del processo di digestione anaerobica, con un focus sulla composizione del biogas prodotto e sui possibili trattamenti. Si procede poi con una panoramica dello sviluppo del biogas e biometano in Italia e in Europa, con uno sguardo agli scenari futuri e con una breve descrizione delle tecnologie di upgrading chimico-fisico attualmente sul mercato. Obiettivo principale del primo capitolo è fornire una trattazione approfondita della ricerca in corso sull'upgrading biologico, in-situ ed ex-situ e sulle prove di SHMA, passando in rassegna la letteratura scientifica disponibile. Accanto alla descrizione del processo dal punto di vista biologico, ci si concentra sulle possibili configurazioni reattoristiche in fase di studio per il processo ex-situ e sulle problematiche che rendono il processo ancora relegato alla scala pilota. Si analizzano nel dettaglio le prove di SHMA, il loro scopo e utilizzo in prospettiva di gestione di un impianto di upgrading biologico e le problematiche ad esse connesse, infine si propone un focus sul trasferimento di massa gas-liquido dell'idrogeno nei sistemi Power-to-Gas, che è stato identificato come chiave di volta per sviluppare una biometanazione tecnicamente ed economicamente fattibile su scala industriale.

Il secondo capitolo tratterà in maniera dettagliata i materiali e i metodi utilizzati nello svolgere l'attività sperimentale, le ipotesi fatte, i calcoli e le modellazioni effettuate. Si riporta nel dettaglio la descrizione delle diverse fasi che hanno caratterizzato gli esperimenti.

Il terzo capitolo presenta i risultati ottenuti dall'attività sperimentale e la relativa discussione.

Si conclude l'elaborato con il riepilogo del lavoro effettuato e degli obiettivi raggiunti, con uno sguardo ai possibili sviluppi futuri.

2 | STATO DELL'ARTE

L'upgrading biologico del biogas a biometano pone le sue basi sulla ben nota tecnologia della digestione anaerobica, concentrandosi unicamente sulla fase finale di metanogenesi idrogenotrofa catalizzata dagli *archaea* idrogenotrofi. In questo capitolo viene inizialmente presentato un quadro generale sulla digestione anaerobica, sullo sviluppo e sull'utilizzo del biogas e biometano nel panorama europeo e sulle tecnologie di biogas upgrading attualmente presenti sul mercato e/o riportate nella letteratura scientifica. Si passa poi alla presentazione delle prove sperimentali di SHMA, riportando la definizione, lo scopo, le metodologie operative di set up degli esperimenti e di calcolo, basandosi su studi recenti presenti in letteratura scientifica. Si conclude con una panoramica sui trasferimenti di massa gas - liquido, i quali ricoprono un ruolo fondamentale e di estremo interesse in questa tecnologia.

2.1 Digestione anaerobica

La digestione anaerobica (AD) è un processo biologico catalizzato da una vasta gamma di microrganismi che agiscono sinergicamente in assenza di ossigeno. Il carbonio organico viene convertito, attraverso successive ossidazioni e riduzioni, nel suo stato più ossidato (CO_2) e nella sua forma più ridotta (CH_4) [4]. Questa tecnologia viene adottata nel trattamento di scarti da attività zootecniche e agricole o della FORSU (Frazione Organica del Rifiuto Solido Urbano) e nella depurazione delle acque reflue di origine municipale o industriale; si presta molto bene alla stabilizzazione di matrici organiche caratterizzate da un'elevata concentrazione di substrato biodegradabile. Nella depurazione delle acque reflue municipali trova invece applicazione per la stabilizzazione dei fanghi. In **Figura 2.1** è presentato uno schema di un digestore anaerobico.

I vantaggi di tale tecnologia, rispetto ad un trattamento aerobico, risiedono nel fatto che si unisce alla depurazione anche la concomitante possibilità di recupero energetico. Inoltre vi si aggiungono ulteriori plus, quali: minori rese di crescita cellulare e quindi minore produzione di biomassa - con conseguenti minori costi di smaltimento dell'effluente residuo -, assenza di fornitura di os-

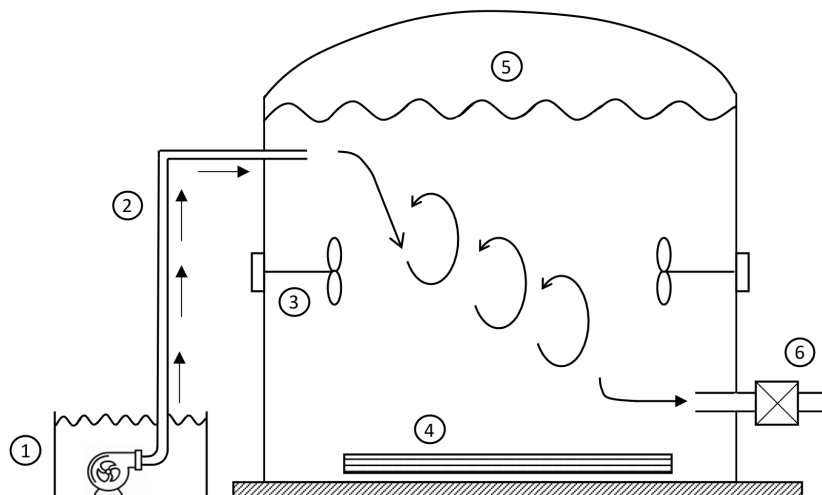


Figura 2.1: Schema di digestore anaerobico in configurazione CSTR (reattore completamente miscelato), 1: stazione di pompaggio influente, 2: tubazione di mandata influente, 3: mixer, 4: scambiatore di calore, 5: spazio di testa di raccolta biogas, 6: tubazione scarico effluente

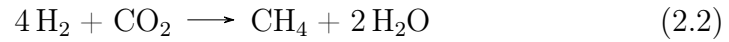
sigeno e possibilità di funzionamento dell'unità operativa in discontinuo; grazie al fatto che, anche in presenza di basse concentrazioni di substrato, le cinetiche di decadimento sono lente. Per contro alcuni dei principali svantaggi sono una forte sensibilità ad eventuali shock per la presenza di sostanze inibitorie - con conseguente lentezza nella ripresa dell'attività microbica -, l'incapacità di rimozione dell'azoto ammoniacale, la difficoltà nel rispettare limiti stringenti in uscita. Lo schema generale delle fasi che compongono la via di degradazione anaerobica è riportato in **Figura 2.2**. Le quattro fasi principali sono:

1. Idrolisi: fase deputata alla degradazione delle macromolecole complesse a monomeri solubili in grado di attraversare la membrana cellulare.
2. Acidogenesi: fase in cui i monomeri vengono trasformati in intermedi acidi, i VFAs (Volatile Fatty Acids), ammoniaca e contestuale produzione di idrogeno e anidride carbonica.
3. Acetogenesi: fase in cui avviene la conversione dei VFAs in acido acetico e formico e ulteriore produzione di H_2 e CO_2 .
4. Metanogenesi: fase in cui avviene la produzione di metano dai prodotti dell'acetogenesi ad opera dei microrganismi *archaea*, in cui si distinguono due vie di produzione:

- Metanogenesi acetoclastica: operata dagli *archaea* acetoclasti secondo la reazione catabolica (2.1); tale via contribuisce a circa il 70% del metano complessivo;



- Metanogenesi Idrogenotrofa: operata dagli *archaea* idrogenotrofi secondo la reazione catabolica (2.2); tale via contribuisce a circa il 30% del metano complessivo;



Essendo questo sistema costituito da quattro fasi in serie, se si analizza il bilancio delle velocità di ciascuna fase secondo quanto riportato in **Tabella 2.1**, la relazione da rispettare per la buona riuscita del processo e quindi la produzione regolare di metano è la (2.3).

Tabella 2.1: Velocità di smaltimento del substrato delle singole fasi

Fase	Simbolo	U.M.
Idrolisi	α	kgCOD _{monomeri} /d
Acidogenesi	β	kgCOD _{VFA} /d
Acetogenesi	γ	kgCOD _{acetato} /d
Metanogenesi	δ	kgCOD _{CH₄} /d

$$\alpha \leq \beta \leq \gamma \leq \delta \quad (2.3)$$

In ogni applicazione risulta quindi di vitale importanza identificare la fase limitante del processo, che è dipendente dal tipo di substrato, dalle reazioni biochimiche, dalle reazioni legate agli equilibri chimico - fisici che si instaurano all'interno del processo e dalla temperatura.

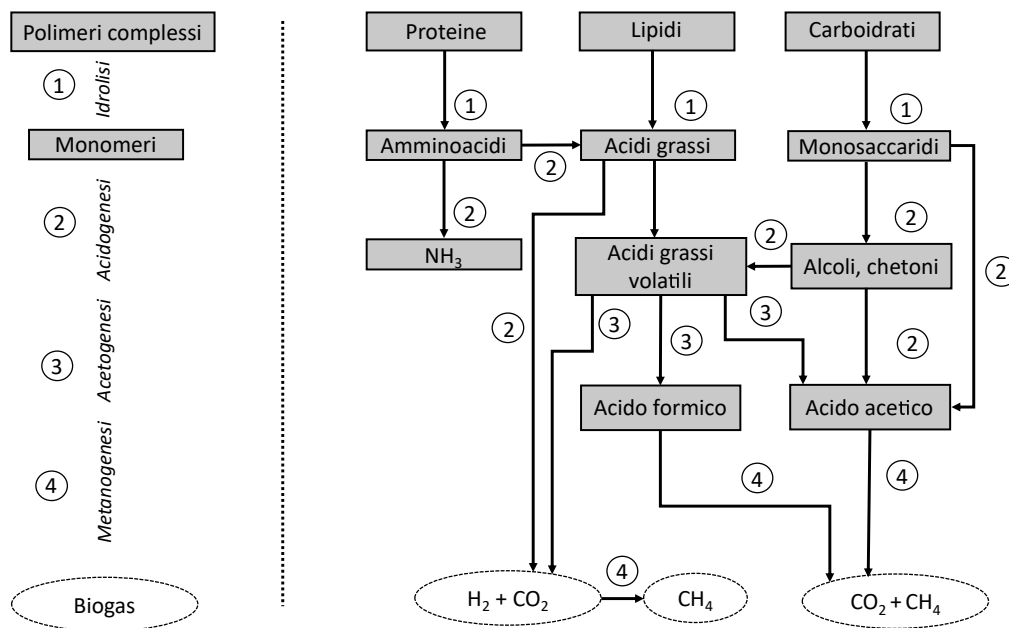


Figura 2.2: Schema generale delle fasi che compongono la via di degradazione anaerobica. [5]

2.2 Biogas e biometano

2.2.1 Biogas, composizione e caratteristiche

La produzione di biogas in digestione anaerobica è funzione di:

- natura e degradabilità del substrato;
- condizioni di processo (carichi organici applicati, tempi di permanenza, equilibri chimico-fisici del processo, pH, temperatura).

Diventa quindi chiaro che in letteratura non vengono forniti valori esatti delle percentuali volumetriche dei gas componenti la miscela, ma vengono presentati valori medi all'interno di range, come riportato in **Tabella 2.2**.

Escludendo il CH_4 , tutti gli altri gas contenuti nel biogas sono indesiderati e sono considerati inquinanti. Il contenuto energetico del metano descritto dal potere calorifico inferiore (PCI) è $50.4 \text{ MJ/kg}_{\text{CH}_4}$ o $36 \text{ MJ/Nm}^3_{\text{CH}_4}$ (alle condizioni normali di 0°C e 1 atm). Quindi un aumento di qualsiasi altro gas nella miscela porta ad un effetto di diluizione del PCI, con conseguente peggioramento della qualità del combustibile, quindi del suo sfruttamento energetico. L' H_2S e l' NH_3 risultano tossici ed estremamente corrosivi e danneggiano l'unità di cogenerazione (CHP), oltre che le parti metalliche nella combustione; inoltre è noto che

Tabella 2.2: Concentrazioni dei gas componenti la miscela di biogas, considerando come origine fanghi di depurazione delle acque.

Composto	Range	U.M.
CH ₄	50 - 70	% v/v
CO ₂	30 - 50	% v/v
N ₂	0 - 3	% v/v
H ₂ O	5 - 10	% v/v
O ₂	0 - 1	% v/v
H ₂ S	0 - 10.000	ppm _V
NH ₃	0 - 100	ppm _V
Idrocarburi	0 - 200	mg/m ³
Silossani	0 - 41	mg/m ³

Valori di riferimento secondo Muñoz et al. (2015) [6]

la presenza di silossani, anche a basse concentrazioni, durante la combustione produce ossidi di silicio i quali tendono a depositarsi sugli organi meccanici e sui motori, causando malfunzionamenti e/o guasti. Fatte queste considerazioni, risulta evidente la necessità ed i vantaggi di effettuare operazioni di "cleaning" e "upgrading" sul biogas. Con "biogas cleaning" ci si riferisce in letteratura alla rimozione di composti nocivi e/o tossici (come H₂S, composti organici volatili (COV), silossani, CO e NH₃). Il secondo trattamento detto di "biogas upgrading" mira ad aumentare il PCI del biogas e quindi a convertirlo in un carburante a standard più elevati [7].

2.2.2 Biogas e biometano, sviluppo attuale e prospettive future

Da quanto emerge dai report statistici stilati dalle associazioni di bioenergie riconosciute a livello internazionale, negli ultimi 20 anni la produzione mondiale di biogas da AD ha conseguito una forte crescita. Tra il 2000 e il 2017, la produzione globale di biogas è più che quadruplicata, passando da 78 a 364 TWh: è ripartita principalmente tra Europa (54%), Asia (31%) e Americhe (14%) [8]. La produzione di biogas e il suo utilizzo mostrano grandi disparità tra i Paesi in via di sviluppo e quelli sviluppati. Per i primi il biogas è prodotto principalmente da impianti domestici a bassa tecnologia su piccola scala per scopi alimentari e per l'illuminazione [9]. Per i secondi il biogas viene prodotto da impianti su larga scala, con processi automatizzati e monitorati, valorizzato sotto forma di elettricità o biometano, con produzione energetica che viene generalmente

immessa nelle reti nazionali del gas [10]. Con 18.943 impianti di biogas [11] e 12,6 GW installati nel 2019, l'Europa è il leader mondiale nella produzione di elettricità da biogas, molto più avanti degli USA (2,4 GW) e della Cina (0,6 GW) [12]. La produzione europea di elettricità da biogas rappresenta il 68% della capacità elettrica globale da impianti di biogas stimata in 18,1 GW. Quest'ultimo valore rappresenta solo lo 0,7% di quota della produzione mondiale di elettricità rinnovabile (2351 GW), dominata principalmente dall'idroelettrico (52%), dall'eolico onshore (23%) e dal solare (20%), evidenziando lo spazio di crescita rispetto alle altre forme di energia rinnovabile. Osservando le **Figura 2.3** e **Figura 2.4** raffiguranti la situazione europea, si può notare che nel corso degli ultimi anni il trend di nuovi impianti di biogas si sta stabilizzando, mentre le installazioni di impianti di biometano è in continua crescita.



Figura 2.3: Sviluppo del numero di impianti di biogas in Europa, (2009-2019)[11]

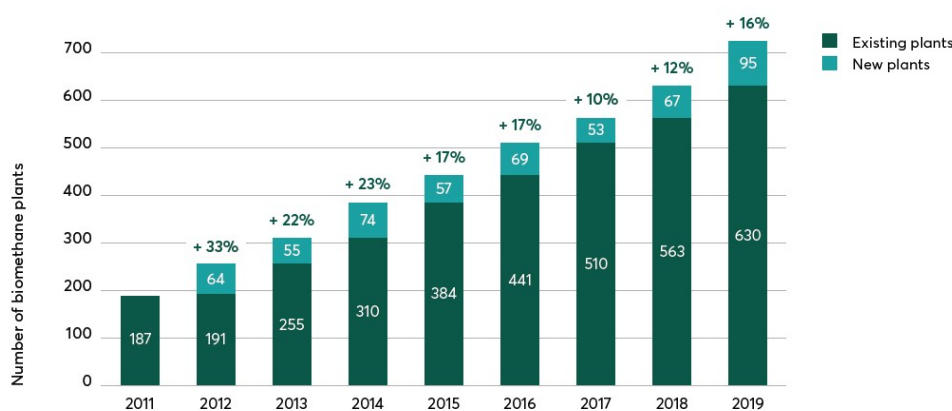


Figura 2.4: Sviluppo del numero di impianti di biometano in Europa, (2011-2019)[11]

Il trend della **Figura 2.3** è spiegato dalle politiche energetiche intraprese dai Paesi membri nel periodo 2000-2015, basate su incentivi statali erogati per questo tipo di tecnologia. Tuttavia il recente calo dei livelli di sovvenzione può spiegare il rallentamento dell'industria del biogas negli ultimi anni. Inoltre vanno considerati tre fattori che hanno portato a questo rallentamento:

1. L'uso estensivo delle colture energetiche ha portato alla diffusione della monocoltura di mais su milioni di ettari con intrinseci effetti collaterali negativi, come la lisciviazione dei nitrati, la degradazione del suolo, l'uso di pesticidi, la bassa biodiversità e l'alto consumo di acqua [13];
2. Il costo di produzione di elettricità dal biogas rimane alto in confronto ad altri tipi di energie rinnovabili. Infatti il solare fotovoltaico e l'eolico onshore hanno registrato una costante diminuzione negli anni dell'LCOE (Levelized Cost of Energy), mentre L'LCOE del biogas è rimasto pressoché costante (intorno ai 10 €cent/kWh); [14]
3. La mancanza di un utilizzo efficiente del calore prodotto dalle unità CHP, soprattutto nelle zone rurali [15].

Nonostante ciò il numero di impianti di biometano, **Figura 2.4**, nell'UE è più che triplicato, passando da 187 a più di 660 principalmente grazie all'attuazione di politiche di incentivazione in diversi Stati membri. Questo è spiegato dal fatto che la trasformazione del biogas in biometano attraverso l'upgrading, è stata identificata come una buona alternativa alla generazione di energia e calore, poiché il biometano può essere immagazzinato nella rete del gas naturale, oppure essere utilizzato per il trasporto o in unità di cogenerazione urbana [16]. Questo sviluppo è stato accompagnato da una modifica dell'utilizzo delle materie prime, spostandosi da colture energetiche dedicate a flussi di rifiuti e residui, come si evidenzia in **Figura 2.5**.

I costi di produzione del biometano via digestione anaerobica in Europa sono all'interno del range 50-90 €/MWh (\simeq 0,50-0,90 €/m³). I fattori di costo per la produzione di biogas includono gli investimenti capitali (CAPEX) ed i costi operativi (OPEX), la dimensione del digestore, la tecnica di produzione e il costo della materia prima di approvvigionamento; inoltre i costi di produzione del biometano includono anche l'unità di upgrading. [17]. In **Tabella 2.3** si riassumono i principali driver dei costi con riferimento ai dati riportati dall'IEA (International Energy Agency).

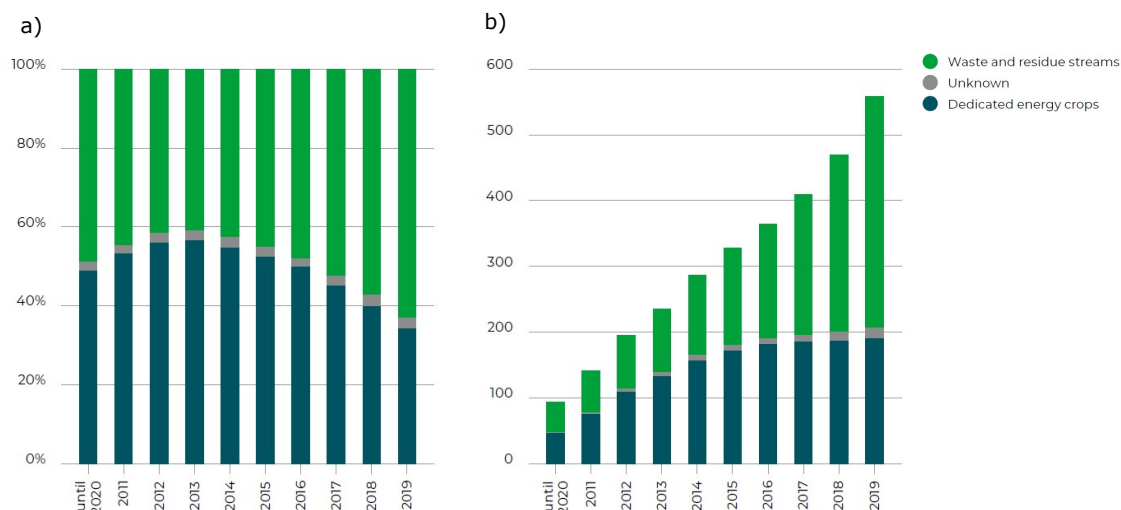


Figura 2.5: a) Quota percentuale e b) numero di impianti di produzione totale di biometano per tipo di materia prima: colture energetiche (colture dedicate) vs. flussi di rifiuti e residui nell'UE [11].

Tabella 2.3: Panoramica dei valori di costo (2018) per i parametri più importanti nel processo di produzione della digestione anaerobica del biometano [17]

	Dimensioni digestore (Nm ³ /h)	CAPEX* (€/MWh)	OPEX* (€/MWh)	Upgrading* (€/MWh)	Feedstock* (€/tDM)
Piccolo	100	25	22		
Medio	500	20	17		
Grande	1.000	15	12	5 - 12 media in UE	19 - 36 media in UE
Molto grande	> 2.000 - 3.000	-	-		

* Costi convertiti da dollari a euro con tasso di cambio: \$1 = €0,85

2.2.3 Biometano nel panorama italiano

L'Italia è attualmente il paese europeo che si mostra più disposto a sviluppare il biometano. L'Italia ha sviluppato il suo settore del biogas in modo simile alla Germania, dove la maggior parte del biometano è utilizzato per la produzione di energia elettrica in impianti di cogenerazione. Tale utilizzo è favorito da un meccanismo di incentivazione, che prevede, per gli impianti che generano elettricità da biogas, una tariffa per tutta l'energia prodotta e immessa in rete (FIT, Feed-in Tariff). L'Italia in passato possedeva la FIT più alta in Europa, ovvero, 280 €/MWh.

Gli incentivi promossi tra il 2008 e il 2012 per la valorizzazione del biogas hanno quindi permesso un rapido miglioramento del settore, grazie in particolare allo sviluppo di colture energetiche. Tuttavia le revisioni dello schema di sovvenzione applicate nel 2013 (FIT più basso e l'incitamento ad utilizzare sottoprodotti invece di colture energetiche) hanno poi rallentato la crescita del settore. Alla fine del 2017 1655 impianti di biogas erano presenti in Italia, ma solo uno produceva biometano. Questa situazione rifletteva una lacuna nella legislazione sul biometano che è stata recentemente colmata. Infatti nel marzo 2018 è stato adottato il Decreto Biometano.

Esso mira a sostenere lo sviluppo del biometano e dei biocarburanti avanzati per il settore dei trasporti. Con tale aggiornamento normativo è stato stanziato un fondo di 4,7 miliardi di euro messo a disposizione ai fornitori di carburanti, che per fruire delle sovvenzioni devono soddisfare l'aumento dell'obbligo di miscelazione dei biocarburanti. Questa dotazione finanziaria prevista per il periodo dal 2018 al 2022 dovrebbe coprire lo sviluppo del settore del biometano (impianti, infrastrutture e stazioni di servizio) fino a 1,1 miliardi di m³/anno.

Gli incentivi consistono in un reddito minimo per la produzione di biometano, che può variare in funzione del tipo e della quantità di materie prime utilizzate. Il reddito più alto è offerto al biometano avanzato, che può essere ottenuto da specifici tipi di biomassa (letame, colture sequenziali, sottoprodotti agricoli, frazione organica dei rifiuti solidi urbani). Un recente studio [18] ha dimostrato che gli incentivi del Decreto Biometano stanno rendendo redditizi gli investimenti in tecnologie di valorizzazione per gli impianti di biogas esistenti (il tempo di ritorno dell'investimento sarebbe compreso tra i 3 e i 6 anni). All'inizio del 2019 già 168 richieste, corrispondenti a un potenziale di 1 miliardo di m³/anno di biometano, sono state formalizzate dalla SNAM (gestore della rete gas italiana) e una decina di nuovi impianti di biometano sono entrati in funzione.

La rapida crescita del biometano per i trasporti in Italia aprirà la strada all'utilizzo del biometano in altri settori, in particolare attraverso la creazione e lo sviluppo di garanzie di origine per il biometano iniettato [18]. In conclusione per puntare ad un sistema energetico neutrale, l'utilizzo del biometano sarà determinante per conseguire l'obiettivo di riduzione delle emissioni di gas serra "Fit For 55" (55% entro il 2030). Il settore del biometano è una realtà commerciale ed industriale in rapida crescita in tutta l'UE, ma per mantenere tali trend di crescita sono richiesti maggiori investimenti, sostegno politico, riduzione dei costi e ottimizzazione delle entrate complessive per i produttori [18].

2.2.4 Standard di qualità del biometano

Al momento non esiste ancora una normativa unica che definisca degli standard di qualità per il biometano/gas naturale validi su tutto il mercato europeo. Nelle normative dei singoli paesi uno dei fattori più importanti che viene considerato è l'indice di Wobbe (MJ/Nm^3), definito dal rapporto tra il PCS (potere calorifico superiore) e la radice quadrata della densità relativa del gas rispetto alla densità dell'aria. Si segnala inoltre che in alcuni Paesi, come Germania e Francia, ci sono specifiche differenti a seconda che si tratti di un'immissione limitata o illimitata del biogas/biometano nella rete. In Francia e Germania le immissioni limitate o illimitate sono rispettivamente note come Rete-H e Rete-L. Per l'Italia invece si prendono come riferimento le specifiche tecniche per l'immissione in rete stabilite da SNAM. Si riassumono nella **Tabella 2.4**.

Tabella 2.4: Standard di Francia e Germania come riportati da Corbellini et al. (2015) [19], Kapoor et al. (2019) [20] e dagli standard italiani di rete SNAM.

Parametri	Francia	Germania	Italia
PCS (MJ/Nm^3)	38,5 - 46,1 (Rete-H) 34,2 - 37,8 (Rete-L)	30,4 - 47,2 -	36,8 - 47,7 -
Wobbe (MJ/Nm^3) ¹	48,2 - 56,5 (Rete-H) 46,1 - 56,5 (Rete-L)	48,2 - 56,5 (Rete-H) 42,5 - 46,8 (Rete-L)	49,9 - 55,2 -
CO ₂ (% v/v)	< 2,5	< 6	≤ 3
O ₂ (% v/v)	< 0,01	< 3	≤ 0,6
H ₂ (% v/v)	< 6	< 5	≤ 0,5
H ₂ S (mg/Nm^3)	< 5 mg/m^3	< 5 mg/m^3	≤ 6,9
Silossani (ppm_{Si})	-	-	≤ 5
S (mg/Nm^3) ²	< 15	< 30	≤ 158,2

¹ Indice di Wobbe

² S = Zolfo totale

2.3 Tecnologie di upgrading fisico-chimiche

Attualmente esistono cinque tecnologie a scala commerciale che si basano su processi chimico/fisici per la separazione/trasformazione della CO_2 dal CH_4 e che comprendono processi di assorbimento, adsorbimento e separazione a membrana; inoltre ci sono altre tecnologie basate sul processo criogenico o sull'idrogenazione chimica, sfruttando specifici catalizzatori, che sono ancora in fase di sviluppo.

In generale, il recupero del metano dai processi fisico-chimici può conseguire valori $> 96\%$, ma per raggiungere tale livello è necessario agire sui parametri operativi che aumentano i costi operazionali di tali tecnologie quali, l'alta pressione, la temperatura o l'aggiunta di sostanze chimiche, per garantire una biometanazione efficiente [7]. Di seguito si elencano le tecnologie che verranno indagate:

1. lavaggio fisico con acqua (water scrubbing);
2. lavaggio chimico con ammine (chemical scrubbing);
3. lavaggio fisico con solventi organici (physical scrubbing);
4. separazione con membrane (membrane separation);
5. Pressure Swing Adsorption (PSA)

I più comuni impianti di upgrading nell'UE sono basati sulle tecniche di membrane separation, di water scrubbing e di chemical scrubbing. Nell'ultimo decennio la separazione a membrana è stata sempre più adottata ed è ora la tecnica di upgrading più comune, con una quota di mercato di circa il 34% delle installazioni cumulative al 2019 [17], come riportato in **Figura 2.6**.

Di seguito vengono sinteticamente riassunte le principali caratteristiche di tali tecnologie, le loro configurazioni impiantistiche, i loro parametri principali di confronto, il loro livello di sviluppo, ed infine i principali vantaggi e svantaggi riportati in letteratura.

Water scrubbing

Tale processo si basa sulla separazione della CO_2 dal biogas, grazie alla maggiore solubilità in acqua rispetto al CH_4 (secondo la legge di Henry, la solubilità dell'anidride carbonica in acqua a $25\text{ }^\circ\text{C}$ è circa 26 volte superiore rispetto al

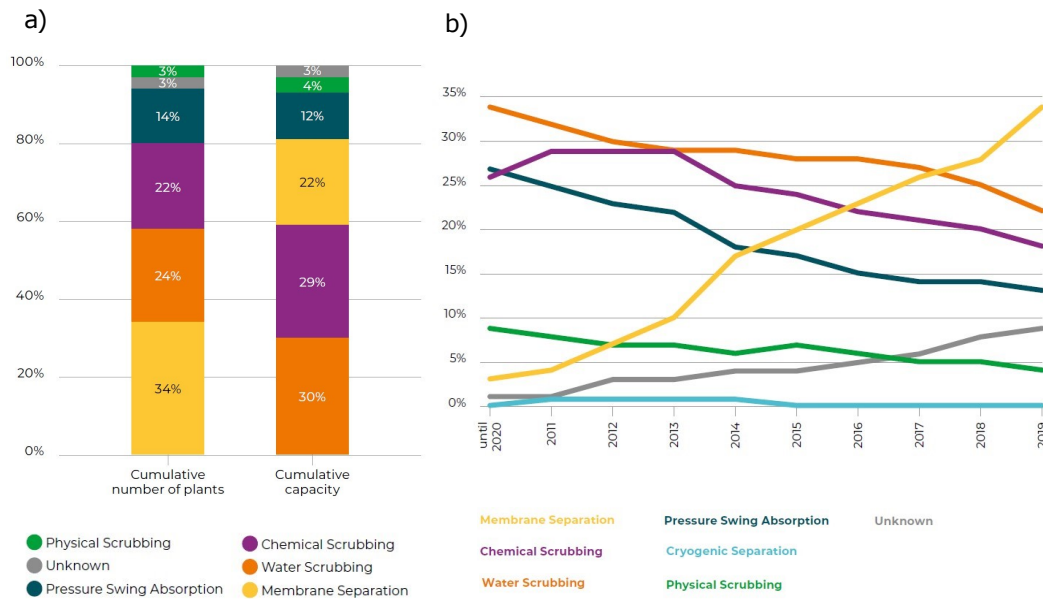


Figura 2.6: a) Distribuzione cumulativa degli impianti rispetto alla tecnica di upgrading nel 2019 sulla base del numero totale di impianti (576) e capacità totale (261.000 m³/h) e b) Cambiamento cumulativo, negli ultimi dieci anni, rispetto alle tecniche utilizzate per il biogas upgrading. [11].

metano). I due flussi di acqua e gas scorrono in controcorrente scambiandosi il contaminante, la CO₂ rimane nel flusso liquido, mentre il CH₄ è allontanato con la fase gas. Risulta tuttavia inevitabile che avvenga una contestuale solubilizzazione di una certa percentuale di metano (methane slip), con conseguente perdita di biometano e produzione di gas effetto serra. Nonostante queste problematiche il water scrubbing è una delle tecnologie privilegiate nell'upgrading, grazie alla sua semplicità di funzionamento ed alla capacità di rimuovere anche altri contaminanti presenti nel biogas come l'H₂S. L'efficacia del processo può variare in funzione delle condizioni operative della colonna (pressione in genere tra i 4 e i 10 bar e temperatura variabile attorno ai 10°C), ma può anche raggiungere livelli di purificazione elevati, con tenori di metano tra 95-99%, mentre il methane slip, dipendente dalla tecnologia utilizzata per la colonna, può variare tra 1-4%.

Si riporta in **Figura 2.7** uno schema del processo.

Chemical scrubbing

Dal punto di vista impiantistico lo scrubbing chimico è un processo simile al processo di water scrubbing, anche se i principi di funzionamento sono differenti. L'acqua viene sostituita da solventi organici a base amminica, a cui l'anidride

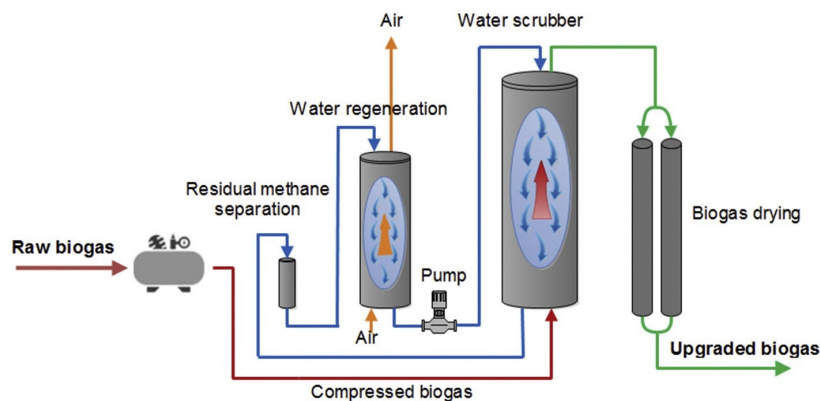


Figura 2.7: Schema del processo di water scrubbing, in ordine sono presenti: la fase di pompaggio del gas, lo scrubber, in cui acqua e biogas scorrono controcorrente, lo step di rimozione dell'umidità, indispensabile per il pompaggio nella linea gas naturale, e il circuito di ricircolo e pulizia dell'aria [7].

carbonica si lega chimicamente, ottenendo quindi efficienze maggiori (efficienza di recupero del CH_4 nel range 99,5-99,9%). Il funzionamento del processo a bassa pressione (1-2 bar nella colonna di assorbimento e 1,5-3 bar nella colonna di stripping) comporta consumi energetici inferiori per le fasi di compressione e pompaggio. La maggiore efficacia a pressioni e a temperature inferiori si riflette in una riduzione dei costi operazionali e ciò permette la realizzazione di impianti di dimensioni ridotte, privi d'acqua di scarto. Questi vantaggi comportano però un maggiore consumo energetico nella fase successiva, con la necessità di trattare termicamente il solvente in una colonna separata, in modo da rigenerare la soluzione amminica utilizzata e rompere i legami formati con la CO_2 .

In **Figura 2.8** si riporta uno schema del processo.

Physical scrubbing

Il lavaggio fisico, o adsorbimento fisico su solventi organici, è un processo analogo al water scrubbing, ma in questo caso l'acqua viene sostituita da solventi di natura organica, i quali hanno una elevata affinità nei confronti della CO_2 e dell' H_2S , permettendo così una forte riduzione della dimensione dell'impianto e dei flussi in gioco, portando infine ad una riduzione dei costi di investimento ed operazionali. A differenza dello scrubbing ad acqua, l'uso di solventi organici richiede una fase di condizionamento del gas per rimuovere il vapore acqueo e diverse fasi di riscaldamento per promuovere un efficiente desorbimento della

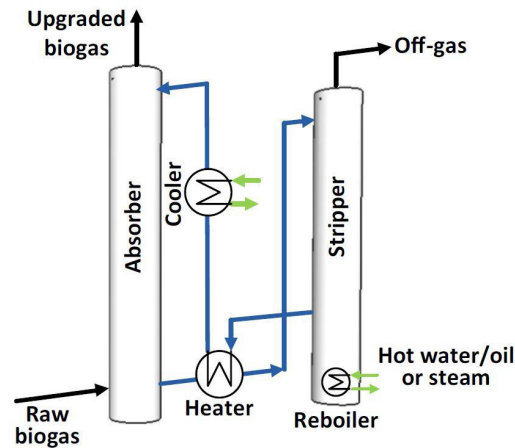


Figura 2.8: Schema di processo del chemical scrubbing; in ordine da sinistra si nota l'unità operativa di assorbimento costituita da una torre a riempimento accoppiata a un'unità di recupero del solvente [6].

CO₂ a 40°C. Con questa tecnologia è possibile ottenere un biometano con una percentuale tra 96-98,5% di CH₄, con un methane slip < del 2%.

In **Figura 2.9** si riporta uno schema del processo.

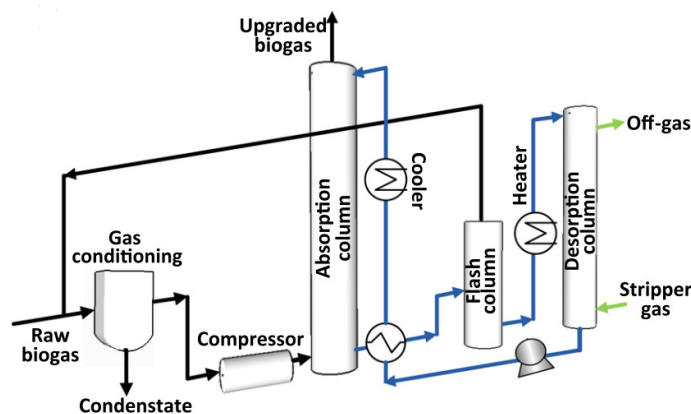


Figura 2.9: Schema di processo del physical scrubbing [6].

Membrane separation

Le tecnologie di upgrading basate sulla separazione con membrana si fondano sul principio della permeazione selettiva dei componenti del biogas attraverso una membrana semipermeabile. Le membrane convenzionali per l'upgrading del biogas trattengono CH₄ e N₂, e facilitano la permeazione preferenziale di O₂, H₂O, CO₂ e H₂S. I materiali polimerici, come l'acetato di cellulosa, sono preferiti per la fabbricazione di membrane di separazione del biogas rispetto ai materiali

non polimerici, a causa del loro costo inferiore, della facilità di fabbricazione, della stabilità alle alte pressioni. Generalmente il biogas all'inizio viene pretrattato rimuovendo contaminanti, quali vapore acqueo e H_2S , per evitare problemi legati alla corrosione. In seguito il biogas viene compresso a 5-20 bar prima della sua iniezione nell'unità a membrana. L'entità della rimozione dei gas dipenderà dalla selettività della tipologia di membrana, dalla forza motrice del processo (costituita da un differenziale di pressione tra i due lati della membrana) e dal numero di fasi utilizzate. Recuperi di CH_4 del 98-99% possono essere raggiunti in unità gas-liquido o unità gas-gas a due stadi, con ricircolo del permeato dal secondo modulo. Recuperi del 99-99,5% richiedono progetti più complessi, con ricircolo, sia del permeato del secondo stadio, che del retentato dalla filtrazione del permeato del primo modulo.

In **Figura 2.10** si riporta uno schema delle possibili configurazioni adottabili.

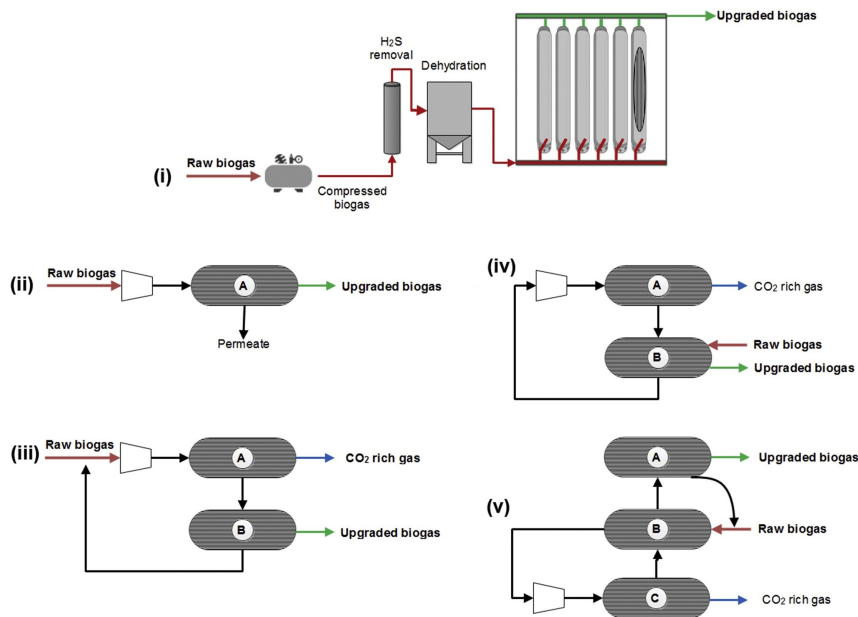


Figura 2.10: Sistema di separazione a membrana; i) schema generale, ii) configurazione a uno stadio, iii) configurazione a due stadi con un ciclo di ricircolo, iv) configurazione a due stadi con sweep e v) configurazione a tre stadi con sweep [7].

Pressure Swing Adsorption

Il PSA si basa sull'adsorbimento selettivo di CO_2 rispetto al metano CH_4 , utilizzando adsorbenti porosi con un'elevata area superficiale specifica come il carbone attivo, il gel di silice, la zeolite e specifici adsorbenti polimerici. L'esclusione dimensionale e l'affinità di adsorbimento costituiscono i meccanismi di

separazione di questa tecnologia. Oltre ad un elevato adsorbimento selettivo di CO_2 , gli adsorbenti in PSA devono essere non pericolosi, facilmente disponibili, stabili nel funzionamento a lungo termine e devono presentare un'isoterma di adsorbimento lineare. Questi adsorbenti sono spesso installati in colonne verticali operanti in un regime ciclico di pressurizzazione, alimentazione, scarico e spurgo, che richiede la disposizione di quattro colonne interconnesse in parallelo, operanti in uno dei quattro stadi descritti. In questa tecnologia lo slip di metano si aggira attorno a 2,5-6% per i reattori più moderni, con tenori di CH_4 in uscita tra il 96-97%.

In **Figura 2.11** si riporta uno schema del processo.

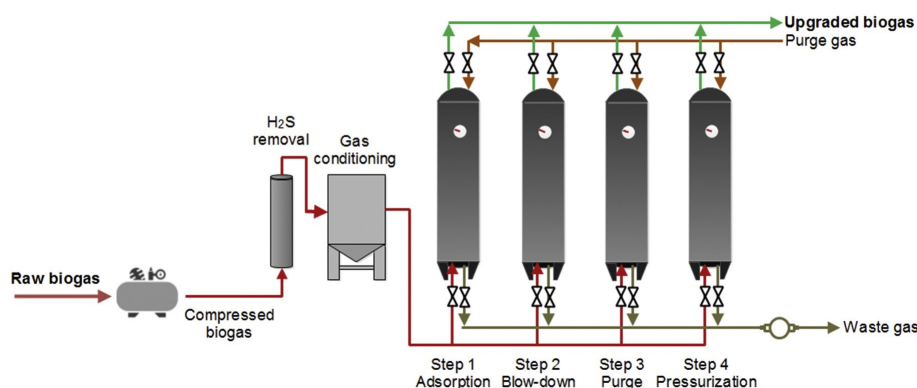


Figura 2.11: Schema del processo PSA, quando la colonna viene saturata con CO_2 , la fase di blowdown inizia, riempiendo la colonna di adsorbimento adiacente, precedentemente rigenerata, con il gas in uscita dalla colonna saturata, che rappresenta la fase di pressurizzazione di questa nuova colonna di adsorbimento operativa. La colonna saturata viene infine sfiata a pressione ambiente e spurgata con il biogas purificato per completare la rigenerazione del letto adsorbente [7].

In **Tabella 2.5** si riporta un riepilogo delle tecnologie appena esposte con alcuni dei principali parametri di riferimento, secondo quanto riportato in letteratura scientifica.

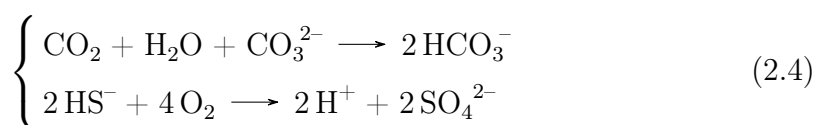
Tabella 2.5: Confronto tra diverse tecnologie di biogas upgrading, basandosi su dati relativi da letteratura, riferiti sia ad impianti pilota che full scale [7].

	PSA	Water scrubbing	Physical scrubbing	Chemical scrubbing	Membrane separation
Energia richiesta media (kWh/Nm ³)	0,25 - 0,30	0,25 - 0,30	0,2 - 0,3	0,05 - 0,15	0,18 - 0,20
Richiesta di calore (kWh/Nm ³)	No	No	< 0,2	0,5 - 0,75	No
Temperatura di lavoro (°C)	-	-	55 - 80	Elevata	Elevata
Costo	Medio	Medio	Medio	Elevato	Elevato
Perdite di CH ₄ (%)	< 4	< 2	2 - 4	< 0,1	<0,6
Efficienza di conversione CH ₄ (%)	96 - 98	96 - 98	96 - 98	96 - 99	96 - 98
Pre-purificazione	Si	Consigliato	Consigliato	Si	Consigliato
Co-rimozione H ₂ S	Possibile	Si	Possibile	Contaminante	Possibile
Co-rimozione di N ₂ , O ₂	Possibile	No	No	No	Parziale
Pressioni operative (bar)	3 - 10	4 - 10	4 - 8	Atmosferica	5 - 8
Pressioni in uscita (bar)	4 - 5	7 - 10	1,3 - 7,5	4 - 5	4 - 6

2.4 Tecnologie di upgrading biologiche

Le tecnologie biologiche di biogas upgrading sono classificate in funzione della tipologia di metabolismo utilizzato dal consorzio microbico per effettuare le reazioni biochimiche. Esse si possono dividere in chemoautotrofe e fotosintetiche. La maggior parte di queste configurazioni sono state inizialmente allestite sperimentalmente, mentre ora si registrano principalmente implementazioni a scala pilota. La via chemoautotrofa pone le sue basi nella conversione della CO_2 attraverso la reazione Sabatier (2.5), sfruttando il metabolismo batterico; essa ha il ruolo di reazione di ossido-riduzione che fornisce energia ai microrganismi, i quali producono gli enzimi in grado di catalizzarla già a basse pressioni e temperature; quindi a differenza del processo chimico, non ha la necessità di operare ad elevate pressioni (50 - 200 bar), elevate temperature (300 - 550 °C) o di adoperare catalizzatori costituiti da costosi materiali.

La via fotosintetica, basata su organismi fotoautotrofi, vede come protagonisti le alghe ed i cianobatteri. Questi vengono coltivati in fotobioreattori dove, ricevendo energia dalla luce solare, assimilano l'anidride carbonica all'interno della propria biomassa, rilasciando ossigeno molecolare. I vantaggi di questo processo risiedono nella rimozione simultanea di H_2S (grazie alla presenza di elevate concentrazioni di O_2 che ne accelerano la conversione) e CO_2 dal biogas, rappresentata nel sistema (2.4); mentre gli svantaggi si identificano negli elevati costi di investimento, mediamente più elevati rispetto a quelli delle tecnologie di upgrading fisico-chimiche [21].



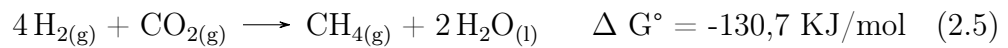
In alcuni studi presenti in letteratura si riportano tassi di rimozione della CO_2 maggiori del 98% [7] e tenori di metano del gas in uscita maggiori del 90% [22]. Per quanto tale tecnologia sia sicuramente di interesse, le applicazioni attuali si limitano alla scala di laboratorio, con qualche applicazione semi-industriale [22]. Il controllo del livello di ossigeno nel biogas purificato, il rapporto liquido/biogas, il pH, l'alcalinità, la crescita ottimale delle microalghe indipendentemente dalle variazioni di temperatura stagionali e il trasferimento di massa di CO_2 , rappresentano le sfide principali per poter rendere tale processo competitivo a scala industriale [23].

Per completezza si riporta che in letteratura sono presenti studi riguardan-

ti metodi alternativi che sfruttano il metabolismo batterico per l'upgrading del biogas, in particolare si evidenziano i metodi bioelettrochimici e di elettrolisi biologica, come riportato negli studi di Vidales et al. (2019) [24] e Zhen et al. (2015) [25]. Di seguito viene indagato esclusivamente l'upgrading chemoautotrofo, dato che rappresenta la tecnologia riguardante gli studi di questo elaborato di tesi, cercando di fornire una presentazione sintetica ma efficace di tale tecnologia.

2.4.1 Upgrading chemoautotrofo

I metodi di upgrading del biogas chemoautotrofo si basano sull'azione di microrganismi metanogeni idrogenotrofi che sfruttano la CO_2 come fonte di carbonio per la crescita e la reazione catabolica di ossido-riduzione esotermica (2.5) ($\Delta G^\circ < 0$ riferito alle condizioni standard: 25°C e 1 bar).



Prendendo in esame anche l'attività anabolica, la reazione metabolica completa proposta da McCarty et al. (2001) [26] assume la forma dell'equazione (2.6), considerando una biomassa idrogenotrofa costituita dalla formula chimica $\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$.



Secondo questa reazione, per ogni mole di idrogeno si hanno 0,008 mol di biomassa, corrispondenti a $0,008 \text{ mol}_{\text{biomassa}}/\text{mol}_{\text{H}_2} \cdot 113 \text{ g}/\text{mol}_{\text{biomassa}} = 0,904 \text{ g}/\text{mol}_{\text{H}_2}$ di nuova biomassa sintetizzata, mentre la produzione di metano cala a $0,23 \text{ mol}_{\text{CH}_4}/\text{mol}_{\text{H}_2}$, contro il rapporto 1:1 della reazione catabolica.

Il notevole vantaggio di questa tecnologia risiede nel fatto che la CO_2 viene convertita in metano, invece di essere rimossa dalla miscela, così da ottenere un duplice vantaggio: l'aumento della portata di biometano e il risparmio dello smaltimento della CO_2 separata. Tuttavia, per rendere il metodo di upgrading biologico rinnovabile, l'idrogeno richiesto nella reazione deve derivare da una fonte anch'essa rinnovabile. In questo contesto si inserisce la nuova tecnologia power to gas (P2G), ovvero l'utilizzo dell'eccesso di energia elettrica prodotto dalle fonti rinnovabili (in particolare solare ed eolico); con tale surplus si procede

alla produzione di H_2 , immagazzinando poi tale energia in un vettore energetico come il biometano, che può essere facilmente immesso nella rete nazionale o utilizzato in un secondo momento per produrre nuova energia. Al giorno d'oggi è stata identificata l'elettrolisi dell'acqua, come sola tecnologia sostenibile per installazioni a larga scala, destinata alla produzione dell'idrogeno "verde" usato in biometanazione [6]. Nella comunità scientifica si parla di biometanazione sfruttando l'idrogeno, perché allo stato attuale il suo utilizzo come vettore energetico presenta una serie di problematiche non ancora risolte che ne limitano il suo uso diretto:

- l' H_2 presenta una densità volumetrica più bassa rispetto al metano ($10,88 \text{ MJ/m}^3$ contro 36 MJ/m^3) e questo comporta volumi di stoccaggio maggiori;
- mancanza di una rete di distribuzione sviluppata quanto quella del metano;
- lo stoccaggio in fase liquida dell'idrogeno non è stabile (vista la bassissima temperatura di ebollizione -253°C); per mantenerlo è necessario sottrargli calore, il che implica il consumo di una certa quantità di energia.

Quindi l'upgrading biologico del biogas si configura sia come una valida alternativa sia come un metodo capace di integrare ed utilizzare in modo efficiente più fonti di energia rinnovabile con funzione di "buffer". Esistono tre soluzioni impiantistiche attualmente disponibili che si basano su processi biologici chemoautotrofi: sistemi in-situ ed ex-situ e sistemi ibridi. I primi due sono sviluppati a scala pilota e di laboratorio con qualche implementazione a scala dimostrativa, mentre i sistemi ibridi che integrano le caratteristiche delle altre due configurazioni, rappresentano invece una realtà ancora in fase di sviluppo.

In **Figura 2.12** si riporta una rappresentazione schematica delle tre configurazioni.

2.4.2 Reazioni primarie, secondarie e fenomeni di competizione

La reazione esotermica (2.5) rappresenta il percorso di metanogenesi principale dato che possiede un'energia libera di Gibbs in valore assoluto decisamente elevato rispetto alle reazioni secondarie presenti. Elevate concentrazioni di idrogeno possono indurre la trasformazione spontanea della popolazione batterica

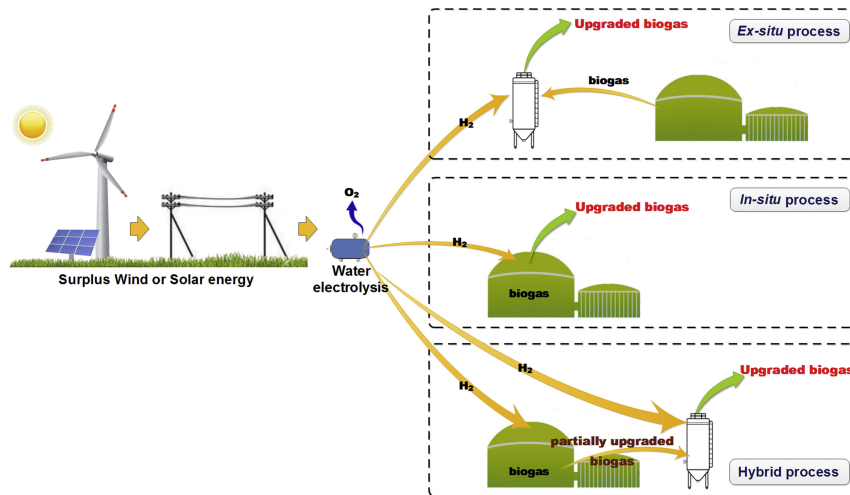
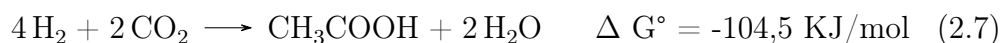


Figura 2.12: Schema dell'upgrading biologico in-situ, ex-situ e ibrido [7].

[7], agendo da forzante del processo, promuovendo lo spostamento della comunità microbica verso una selezione degli organismi più adatti ad ottenere energia per l'anabolismo, sfruttando così tale gas, a discapito delle specie incapaci di assicurare la propria sopravvivenza. Infatti il minore contributo alla metanogenesi apportato dagli *archaea* idrogenotrofi nella digestione anaerobica non è dovuto alla ridotta capacità produttiva, quanto invece alla presenza di condizioni limitanti in termini di quantità di substrato disponibile. Ma all'interno del consorzio microbico vi possono essere dei fenomeni che competono con gli *archaea* idrogenotrofi, perciò è fondamentale assicurare la riuscita del processo, garantendo le condizioni ottimali per l'attività di tali microrganismi. Come evidenziato in **Figura 2.13** vi sono altri meccanismi che concorrono alla via metabolica primaria.

Il secondo metabolismo responsabile dell'upgrading del biogas chemoautotrofo è indiretto; coinvolge i batteri omoacetogenici e si basa sulla conversione di CO_2 in acetato ed è anch'esso un processo esotermico. L'aumento delle concentrazioni di H_2 tende a favorire il metabolismo dei batteri omoacetogeni, secondo il percorso Wood-Ljungdah delle reazioni (2.7), (2.8):



Tale percorso è generalmente sfavorito nella digestione anaerobica, dato che l'elevata presenza di acido acetico induce il processo inverso di conversione di CH_3COOH , ad opera dei Syntrophic Acetate Oxidizers (SAO) secondo la (2.9)

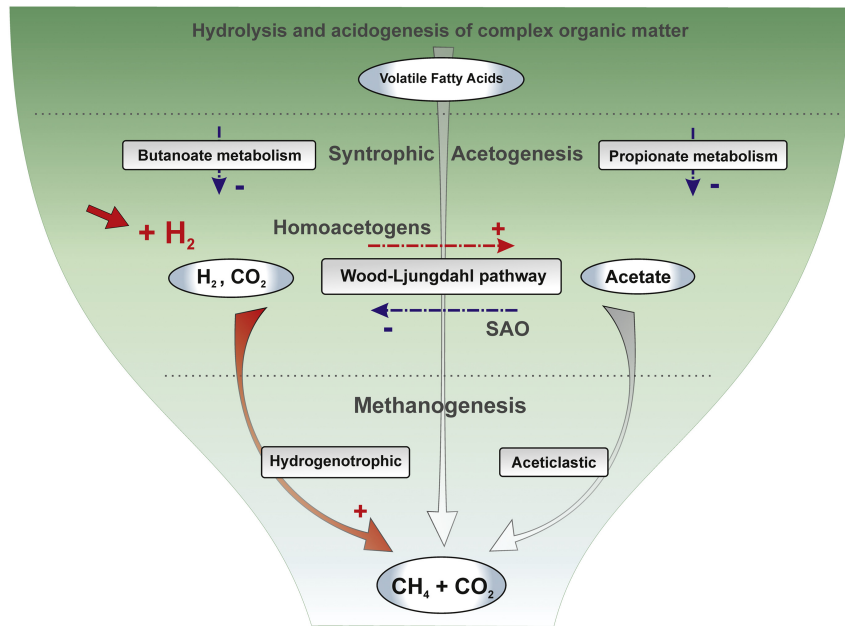


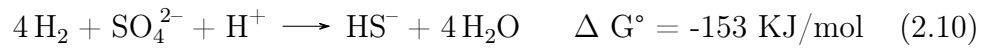
Figura 2.13: Percorsi metabolici della metanogenesi basata sull'idrogeno [7].

:



Dal punto di vista biochimico la via indiretta di produzione del metano, legata ad un effetto sinergico dei microrganismi omoacetogeni e di quelli acetoclasti, ha bisogno di consumare più energia per il mantenimento e la crescita cellulare, rispetto alla via diretta dei microrganismi idrogenotrofici. Di conseguenza quasi tutto l' H_2 dell'acetogenesi viene convertito in CH_4 dal processo principale. Per questo motivo un modo ideale per facilitare il consumo di idrogeno sarebbe quello di far avvenire la reazione (2.5) ed inibire il meccanismo indiretto delle reazioni (2.7), (2.8), [27]. Inoltre è necessario prestare attenzione nel processo, visto che la produzione di VFA nelle colture miste e la loro successiva conversione a metano e anidride carbonica secondo la (2.8), non sono sempre assicurate, dato che è necessario lo sviluppo di una popolazione acetoclasta capace di degradare l'acetato prodotto, con possibile rischio di accumulo di acidi volatili e conseguente abbassamento del pH. Un ulteriore problema gestionale risiede nel fatto che la presenza di un maggior numero di colonie di microrganismi si riflette in un aumento del dosaggio di nutrienti, a seguito dei fenomeni competitivi in atto, con un incremento dei costi operazionali. Un altro ceppo di microrganismi che può competere con gli idrogenotrofi sono i batteri solfato-riduttori

(Sulphate-Reducing Bacteria, SRB). Secondo la reazione (2.10) essi utilizzano idrogeno per ridurre composti dello zolfo quali SO_4^{2-} , SO_3^{2-} .



Analizzando il ΔG° di reazione si nota un leggero vantaggio termodinamico da tale reazione nei confronti della (2.5), quindi ci si può aspettare un possibile consumo parassita di idrogeno a sfavore degli idrogenotrofi. Ecco perché risulta importante non dosare nutrienti che liberino zolfo in forma ossidata, in modo da minimizzare il più possibile tale meccanismo competitivo.

2.4.3 Modellistica del processo

L'upgrading biologico del biogas è una realtà recente ancora in fase di sviluppo, quindi le attività di modellazione riguardanti questo argomento non sono numerose. Generalmente i modelli che si occupano dell'upgrading del biogas si basano sull'ADM1, da cui vengono poi aggiunti/sottratti una serie di processi. Per citare alcuni studi presenti, Lovato et al. (2017) hanno proposto un modello per l'upgrading biologico del biogas in-situ [28], mentre Trisha et al. (2021) hanno sviluppato e validato un modello per il biogas upgrading ex-situ, utilizzando un reattore TBR [29].

La seguente sezione ha lo scopo di fornire una panoramica delle caratteristiche principali, delle teorie alla base della modellistica dei processi biologici e delle trasformazioni fisico-chimiche, oltre che di presentare in modo sintetico il modello ADM1.

Modellistica dei processi anaerobici

Nel contesto della modellistica dei processi anaerobici ed in particolare della biometanazione è importante sottolineare il lavoro di Pauss et al. (1990) [30]. Il suo gruppo di lavoro si è concentrato sullo studio delle limitazioni del trasferimento di massa gas-liquido che avviene all'interno di questi sistemi, fornendo basi per la modellistica del processo e per la stima dei parametri più rappresentativi, tra cui il coefficiente globale di trasferimento K_{La} . In generale quando si parla di modellistica dei processi biologici anaerobici e viene considerato un sistema alimentato in continuo completamente miscelato, nel quale si considerano le fasi liquide e gassose omogenee tra di loro, i bilanci di massa dei metaboliti

gassosi possono essere stabiliti per entrambi gli stadi liquido e gassoso (2.11) e gas (2.12), secondo le seguenti equazioni:

$$\begin{aligned} \frac{d[gas]_L}{dt} \cdot V_L = Q_L \cdot ([gas_{L,in}] - [gas_{L,out}]) \pm biological\ rate \\ \pm physicochemical\ rate + K_{La} \cdot ([gas]_L^* - [gas]_L) \cdot V_L \end{aligned} \quad (2.11)$$

$$\frac{d[gas]_G}{dt} \cdot V_G = [n_{g,in}] - [n_{g,out}] - K_{La} \cdot ([gas]_L^* - [gas]_L) \cdot V_L \quad (2.12)$$

Tale bilancio rielaborato da Pauss et al. (1990) esprime la variazione delle moli nell'unità di tempo all'interno del volume di controllo considerato; infatti i termini tra parentesi quadre rappresentano le concentrazioni molari delle specie coinvolte [mol/L] rispetto alla loro fase (pedice L = fase liquida, pedice G = fase gas), Q_L rappresenta la portata liquida alimentata, V_L [L] e V_G [L] sono i volumi della fase liquida e gas, K_{La} è il coefficiente globale di trasferimento di massa gas-liquido per la specie considerata e il termine $[gas]_L^*$ [mol/L] rappresenta la concentrazione a saturazione in equilibrio tra le fasi. Il termine *biological rate* rappresenta la variazione delle moli legata all'attività della biomassa rispetto al substrato considerato e può essere espressa in termini generici dalla cinetica di Monod secondo la (2.13)

$$biological\ rate = -\nu_{max} \cdot \frac{S}{S + K_s} \cdot X \cdot V_L \quad (2.13)$$

Dove ν_{max} è la velocità specifica di rimozione del substrato $[\frac{mol_{rimossa}}{g_{biomassa} \cdot d}]$, S e K_s sono rispettivamente le concentrazioni del substrato e la costante di semisaturazione espresse in [mol/L] e X è la concentrazione della biomassa [g/L]. Mentre il termine *physicochemical rate* raggruppa all'interno tutti quei fenomeni chimico fisici che si instaurano nel volume di controllo, oltre al trasferimento di massa gas-liquido. Tali equazioni forniscono la base per la modellazione nei processi anaerobici e sono l'ossatura su cui si fonda l'ADM1.

Anaerobic Digestion Model No. 1

Il modello di digestione anaerobica n. 1 (ADM1) consiste in un sistema di equazioni che ha lo scopo di modellizzare il processo di digestione anaerobica della sostanza organica. Può essere implementato come sistema di equazio-

ni differenziali (DE) o come un sistema di equazioni differenziali e algebriche (DAEs); è costituito da 24 variabili di stato dinamiche, che coinvolgono 19 processi biochimici, 3 trasferimenti gas-liquido e reazioni acido-base, che possono essere sia differenziali che algebriche. Tuttavia, anche se l'ADM1 è uno strumento di successo nel campo della ricerca, non lo è ancora come vero strumento di progettazione [31]. Il modello considera:

- tre fasi biochimiche (acidogenesi, acetogenesi e metanogenesi), una fase di disintegrazione extracellulare e una fase di idrolisi extracellulare;
- trasferimenti di massa gas-liquido di CH_4 , CO_2 e H_2 ;
- reazioni acido-base.

Il consumo di substrato e la crescita della biomassa sono descritti dalla cinetica di Monod, mentre il decadimento è formalizzato da una cinetica del primo ordine. Un esempio di cinetica di Monod, riguardante la variazione nel tempo della biomassa idrogenotrofa $\frac{d[X_{h2}]}{dt}$ che utilizza come substrato l'idrogeno, è riportata nella (2.14):

$$\frac{d[X_{h2}]}{dt} = \mu_{max,X_{h2}} \cdot \frac{S_{h2}}{K_{S,h2} + S_{h2}} \cdot X_{h2} \cdot I_{12} - k_{dec,X_{h2}} \cdot X_{h2} \quad (2.14)$$

Dove $\mu_{max,X_{h2}}$ rappresenta la massima velocità specifica di crescita della biomassa idrogenotrofa [d^{-1}], S_{h2} è la concentrazione del substrato in fase liquida [$\text{kg}_{COD}/\text{m}^3$], $K_{S,h2}$ è la costante di semisaturazione [$\text{kg}_{COD}/\text{m}^3$], X_{h2} è la concentrazione della popolazione microbica che utilizza H_2 come substrato [$\text{kg}_{COD}/\text{m}^3$], I_{12} è un fattore di inibizione, funzione del pH. Le interazioni gas-liquido sono descritte dalla legge di Henry, perché la fase liquida è relativamente diluita e le fasi gassose e liquide a contatto raggiungono uno stato stazionario l'una rispetto all'altra:

$$K_H \cdot p_{gas,i,ss} - S_{liq,i,ss} = 0 \quad (2.15)$$

Dove $S_{liq,i,ss}$ è la concentrazione della fase liquida allo stato stazionario per il componente i [$\text{kmol} \cdot \text{m}^3$]; $p_{gas,i,ss}$ è la pressione parziale della fase gassosa allo stato stazionario del componente i [bar]; e K_H è la costante di Henry ($\text{kmol} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{bar}^{-1}$). La cinetica dei trasferimenti di massa gas-liquido è spiegata dalla teoria del doppio film (paragrafo 2.7.1); nel modello il rateo di trasferimento di massa relativo alla componente i , $\rho_{T,i}$ [$\text{kg}_{COD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$] è espresso dalla (2.16):

$$\rho_{T,i} = K_L a_i \cdot (S_{liq,i} - K_H \cdot p_{gas,i}) \quad (2.16)$$

Infine le reazioni acido-base sono descritte attraverso equazioni algebriche, utilizzando le costanti di dissociazione acido-base caratteristiche per ogni specie chimica. La peculiarità di tali equazioni algebriche è che evolvono molto rapidamente rispetto alle equazioni differenziali che sono presenti nel modello; difatti possono sempre essere considerate all'equilibrio. Per concludere l'ADM1 è un modello che è costituito da tanti processi interconnessi tra di loro, che ne aumentano quindi la complessità, ma rimane un buon punto di partenza per provare a modellizzare sistemi biochimici, quali appunto le prove sperimentali di SHMA.

2.4.4 Parametri operativi di processo

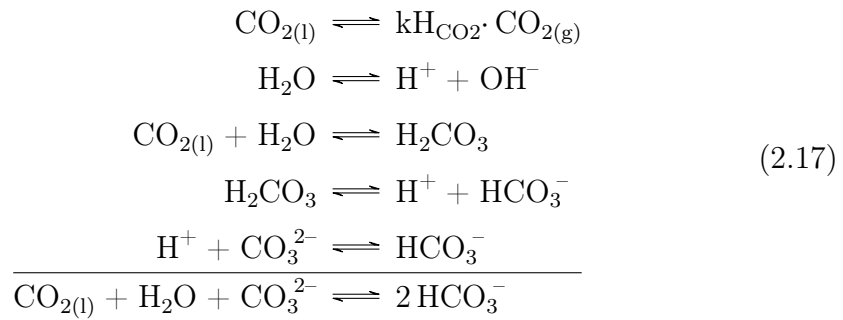
Prima di presentare le tipologie di processi di biogas upgrading biologico (configurazioni in-situ e ex-situ), le loro caratteristiche e le tipologie di reattori che sono stati implementati, è importante delineare quali sono i parametri operativi di maggior interesse nell'ambito della biometanazione, ovvero quei parametri che possono essere modificati durante le operazioni di gestione del sistema. Di seguito sono elencati i parametri operativi dei quali verranno forniti significati e implicazioni pratiche nelle loro regolazioni:

- pH, alcalinità ed equilibrio calcio-carbonico;
- temperatura;
- nutrienti;
- tempo di residenza idraulico (Hydraulic Retention Time, HRT) e tempo di residenza cellulare (Sludge Retention Time, SRT);
- tempo di residenza del gas nel reattore (Gas retention time, GRT);

pH, alcalinità ed equilibrio calcio-carbonico

Nella metanogenesi idrogenotrofa pH ed equilibrio calcio-carbonico risultano parametri di vitale importanza. Il pH permette la sopravvivenza di una popolazione batterica idrofila, mentre il secondo è correlato alla concentrazione dell'anidride carbonica disciolta in acqua, che rappresenta uno dei due substrati necessari, affinché gli *archaea* compiano metanogenesi idrogenotrofa [32]. La

CO₂ non si discioglie semplicemente in acqua seguendo la legge di Henry, ma reagisce con essa, formando acido carbonico H₂CO₃, che a sua volta, essendo un acido debole, si dissocia in funzione del pH in ione bicarbonato HCO₃⁻ e ione carbonato CO₃²⁻, secondo il sistema definito dell'equilibrio calcio-carbonico (2.17):



La trasposizione grafica di tale equilibrio chimico è rappresentata nel diagramma di Bjerrum dell'equilibrio calcio-carbonico in acqua, riportato in **Figura 2.14**.

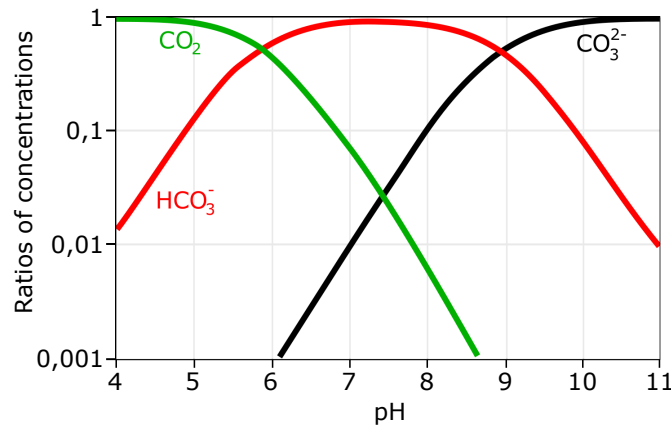


Figura 2.14: Diagramma di Bjerrum dell'equilibrio calcio carbonico in acqua a 25°C e 5000 ppm di salinità

Si può notare come ad un aumento del pH si ha uno spostamento dell'equilibrio dalla CO₂ disciolta verso la formazione di ioni bicarbonato e carbonato. La relazione che lega pH e alcalinità è ampiamente nota e studiata nell'ambito del trattamento acque ed è dovuta all'equilibrio formato tra l'anidride carbonica, il bicarbonato e il carbonato. McCarty (1964) affronta la questione in maniera empirica attraverso l'elaborazione di un grafico che correla la presenza di CO₂

nello spazio di testa con il pH e l'alcalinità del reattore, **Figura 2.15**. Un in-

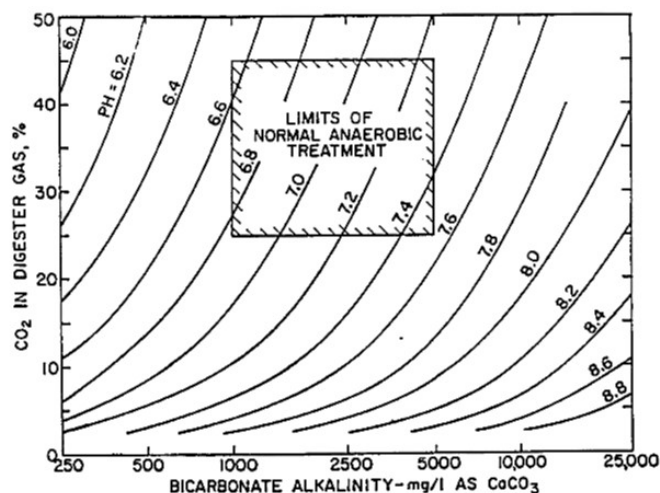


Figura 2.15: Relazione tra alcalinità, pH e CO₂ in un reattore anaerobico [33]

cremento della portata di CO₂ alimentata, non bilanciato da un aumento nei consumi da parte della biomassa batterica, causerebbe in base al sistema (2.17) un innalzamento della sua concentrazione in fase acquosa e, di conseguenza, la formazione di nuova alcalinità accompagnata ad un abbassamento del pH. Gli idrogenotrofi mostrano spesso un intervallo di pH ottimale tra 6,5-8,2 fino ad un massimo di 8,5 [34], sia in condizioni di mesofilia, che di termofilia. Risulta evidente che, per poter ottenere substrato in forma di CO₂ disciolta, il pH adatto alla sopravvivenza non possa superare la soglia di 8,5, oltre cui si raggiunge la quasi completa assenza della CO₂ in forma disciolta, a favore dei carbonati e bicarbonati. Il grafico di **Figura 2.15** permette quindi di determinare la quantità di alcalinità richiesta al mantenimento del pH ai livelli ottimali per il metabolismo idrogenotrofico, in presenza di un certo tenore di CO₂ nello spazio di testa. Per ottenere concentrazioni di CO₂ inferiori al 5 %, richieste da un processo di upgrading, risulta necessario avere alcalinità di circa 750 - 1250 mg CaCO₃/L, per pH di processo di 7,4 - 7,8. È quindi importante mantenere le condizioni ottimali per la vita batterica e per il funzionamento del reattore; ad esempio, una bassa alcalinità potrebbe compromettere la sua stabilità; infatti essa ha la funzione di potere tampone nei confronti di cambi repentini di pH, dovuti ad esempio a dosaggi errati di reagenti o ad inibizioni dell'attività dei microrganismi. Mentre a pH ed alcalinità più elevate, si osserva una minore presenza della CO₂ nello spazio di testa, ma questo non garantisce sempre le migliori prestazioni della biomassa idrogenotrofa; infatti studi recenti hanno dimostrato

che l'attività di tale biomassa è sì funzione del pH, ma anche dipendente dalla temperatura di lavoro e allo stesso tempo funzione specifica della tipologia di microrganismi che si sviluppano nel reattore. In **Tabella 2.6** sono riportati a titolo d'esempio alcune tipologie di microrganismi e il loro pH ottimale di lavoro in condizioni di mesofilia, in base a studi riportati in letteratura.

Tabella 2.6: Intervallo di pH e temperatura di alcune specie metanogeniche che utilizzano come substrati di crescita H_2 e CO_2 secondo Strevett et al. (1995) [35]

Specie metanogenica autotrofa considerata	Temperatura ottimale [°C]	pH ottimale
Methanobacterium		
Formicicum	37	6,8 - 7,8
Bryantii	37	6,9 - 7,2
Uliginosum	37 - 40	6,8 - 8,5
Methanococcus		
Vannielli	36 - 40	7,0 - 9,0
Deltae	37	7,0
Moripaludis	35 - 39	6,8 - 7,2
Methanosarcina		
Vacuolata	37 - 40	7,5
Barkeri	30 - 40	7,0

Temperatura

È stato dimostrato che la temperatura operativa è un parametro importante per l'efficienza della biometanazione, comportando una modifica della popolazione microbica; organismi caratterizzati dalle cinetiche più favorevoli tendono a competere e scalzare le specie meno adatte a quelle condizioni (generalmente le cinetiche risultano più favorevoli all'aumentare della temperatura, come si può notare in **Figura 2.16**). Si può quindi distinguere tra *archaea* mesofili (35-45°C), termofili (55-60°C) e ipertermofili (fino a 65 °C).

È importante sottolineare che l'incremento della temperatura comporta a livello teorico un decremento della solubilità dell'idrogeno, come osservabile dalla **Figura 2.17**.

Tuttavia studi recenti hanno dimostrato che la maggiore velocità di rimozione del substrato potrebbe stimolare maggiormente il gradiente del trasferimento di massa gas-liquido, andando quindi a compensare in parte la minor solubilità indotta dall'aumento della temperatura [36]. Tuttavia, indipendentemente dalle

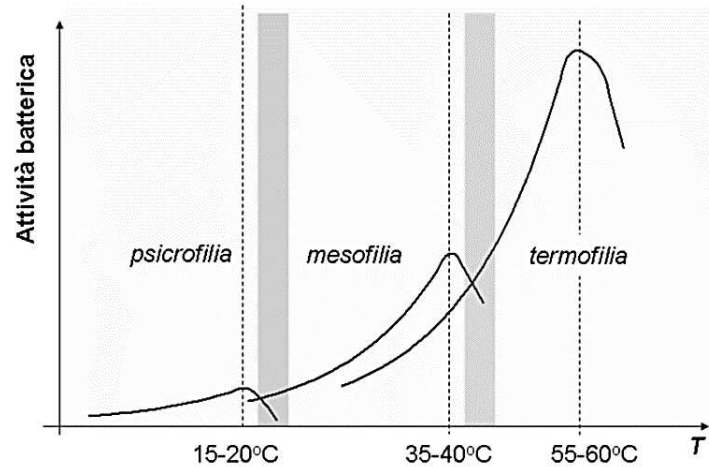


Figura 2.16: Effetto della temperatura sulle cinetiche di degradazione anaerobica. In tratteggio, sono indicati gli intervalli ottimali di lavoro e, in grigio, quelli non ottimali [5]

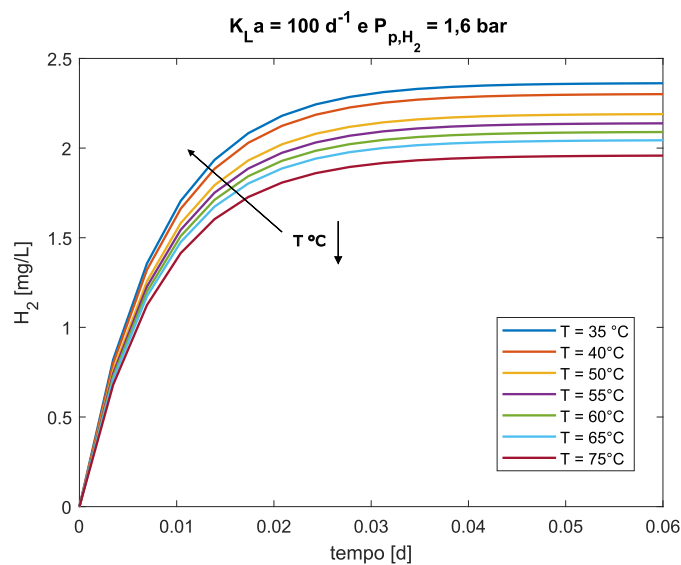


Figura 2.17: Effetto della temperatura sulla concentrazione disciolta di idrogeno e sulla concentrazione a saturazione, ipotizzando di adottare una $K_L a$ pari a 100 d^{-1} e una pressione parziale dell' H_2 pari a 1,6 bar, e costante di Henry calcolata alla temperatura di riferimento con la legge di van't Hoff. Si può notare come un aumento di temperatura, comporta al pari delle altre condizioni operative, una diminuzione della concentrazione a saturazione, e allo stesso tempo un minor gradiente di trasferimento, producendo quindi al medesimo istante temporale una concentrazione di idrogeno disciolta minore.

condizioni di temperatura, un periodo di adattamento è necessario per i microrganismi, in modo da essere in grado di metabolizzare efficientemente i gas CO_2 e H_2 .

In letteratura sono presenti studi che riportano prestazioni molto differenti: ad esempio nello studio di Nanshi Dong et al. (2018) [36], sono state confrontate le performance di colture idrogenotrofe in sistemi batch alimentati con CO_2 e H_2 , in condizioni termofile e ipertermofile (55°C , 65°C e 70°C). È stato riscontrato che il tasso di produzione di metano a 70°C era oltre 4 volte superiore a quello a 55°C , risultando quindi migliorata l'attività dei metanogeni idrogenotrofi, anche se è stato rilevato un maggiore tempo di lag. Anche Luo e Angelidaki (2012) [37] hanno dimostrato che la resa di CH_4 in condizioni termofile (55°C) era del 60% superiore a quella in condizioni mesofile (37°C), utilizzando un reattore anaerobico contenente una coltura idrogenotrofa arricchita e alimentato con biogas e idrogeno.

Nutrienti

Uno dei fattori che acquisisce notevole importanza nel caso dell'upgrading, in particolare nel caso dell'upgrading ex-situ, è rappresentato dall'apporto di nutrienti al sistema, dal momento che è tipicamente assente un alimento liquido da degradare che assicuri i carichi di substrati ed elementi essenziali alla crescita batterica [38]. Le sostanze in questione vengono classificate in base ai quantitativi richiesti e alla natura chimica. Tra i fattori inorganici si possono distinguere i macronutrienti, necessari in quantità relativamente elevate, quali N, P e S, come agenti principali costituenti del materiale cellulare (proteine, DNA, RNA, carboidrati) ([39],[40]), seguiti poi da elementi quali Cl, K, Fe, Mg e Na, dai micronutrienti, assimilati in quantità minori, fanno parte di quest'ultima categoria Al, B, Co, Cu, Mn, Mo, Ni, Se, W e Zn.

Organismi autotrofi quali gli *archaea* sono tuttavia costretti a ricavare dall'ambiente esterno anche composti organici essenziali, che non sono in grado di sintetizzare in modo indipendente. Essi sono detti fattori di crescita organici, utilizzati in quantità variabili da organismo a organismo, come precursori o costituenti del materiale cellulare, i quali possono essere suddivisi in tre classi: gli aminoacidi, le basi azotate e le vitamine [41].

Non è sufficiente che un elemento sia presente nell'ambiente di crescita per poter essere metabolizzato dalla biomassa; infatti, a prescindere dal sistema di trasporto con il quale il nutriente attraversa la membrana cellulare, esso deve essere biodisponibile. La biodisponibilità implica che un dato elemento possa risultare assimilabile da parte dei microorganismi solo se esistente nella fase corretta e nella forma chimica adatta: la concentrazione dell'elemento, quelle di

altre specie chimiche (carbonati, fosfati, solfuri), il potenziale redox, il pH, la temperatura, l'HRT del sistema, i fenomeni di complessazione e di adsorbimento rappresentano fattori rilevanti ed in alcuni casi interdipendenti nel definire la biodisponibilità dei nutrienti ([38], [42]).

HRT e SRT

L'HRT è un parametro che descrive il tempo medio di permanenza di una molecola liquida nel reattore, definito dalla (2.18):

$$HRT = \frac{V_{reattore}}{Q_L} \quad (2.18)$$

Dove $V_{reattore}$ è il volume [L] del reattore e Q_L [L/d] la portata alimentata. Nei processi di biometanazione generalmente le portate liquide di lavoro non sono elevate, ma in ogni caso è necessario fornire ai reattori nutrienti, correttivi acidi e basici e acqua. l'SRT rappresenta invece il tempo medio di permanenza della biomassa nel reattore, calcolato come il rapporto tra la biomassa presente nel reattore ($Biomassa_{in}$) e la biomassa uscente da esso ($Biomassa_{out}$) secondo la (2.19):

$$SRT = \frac{Biomassa_{in}}{Biomassa_{out}} \quad (2.19)$$

Nei sistemi di upgrading che utilizzano reattori CSTR, l'HRT e l'SRT coincidono. Mentre nei reattori che utilizzano tecnologie con biomassa adesa è possibile disaccoppiare tali parametri. L'HRT rappresenta un importante parametro di gestione, in quanto in un sistema CSTR definisce anche il tempo medio di permanenza della biomassa. Esso ad esempio può essere regolato, agendo sulla portata alimentata, per dilavare popolazioni microbiche che potrebbero svilupparsi all'interno del reattore e che potrebbero competere con gli organismi idrogenotrofici. Ovviamente sarà necessario identificare l'SRT limite di processo della popolazione idrogenotrofa e quindi l'HRT limite, il quale dovrà risultare maggiore. l'SRT limite è possibile calcolarlo utilizzando le formule a disposizione nella modellazione dei processi biologici della depurazione delle acque che definiscono:

$$SRT_{lim} = \frac{1}{\mu_{max} - k_d} \quad (2.20)$$

Dove μ_{max} [1/d] è la massima velocità di crescita della biomassa, espressa

in condizioni di substrato non limitante, funzione della temperatura di processo e k_d [1/d] è la costante di scomparsa della biomassa, anch'essa funzione della temperatura, entrambi i parametri sono specifici della popolazione microbica considerata.

Gas retention time (GRT)

Tale parametro determina il tempo medio di permanenza di una molecola gassosa all'interno del reattore. Tuttavia la sua definizione non può essere formulata in modo univoco, in quanto nel processo di metanogenesi idrogenotrofa la portata di gas varia tra la sezione di ingresso e la sezione di uscita, dato che, basandosi sulla stechiometria della (2.5), si ha un consumo di cinque moli di reagenti gassosi rispetto alla produzione di una mole di CH_4 . In letteratura alcuni studiosi hanno in ogni caso riportato un metodo di calcolo per il GRT, Rusmanis et al. (2019) [43] lo hanno definito nel seguente modo:

$$GRT = \frac{V_{testa}}{\frac{Q_{in} + Q_{out}}{2}} \quad (2.21)$$

Dove V_{testa} [L] rappresenta il volume dello spazio di testa e il denominatore riporta la media delle portate entranti ed uscenti [L/d], espresse nelle condizioni effettive di lavoro. Il volume da considerare dovrebbe essere teoricamente la somma del volume dello spazio di testa e del volume delle bolle di gas che si formano nella risalita, ma data l'impossibilità della misurazione, si accetta per approssimazione l'utilizzo del solo volume dello spazio di testa. Tale parametro governa, sia la volumetria del reattore, che l'efficienza stessa del sistema di upgrading, in quanto un minore GRT permette di avere reattori più compatti, ma questo influisce sul tempo medio di residenza del gas, quindi sulla sua disponibilità ad essere disciolto ed utilizzato dai microrganismi. Pertanto è evidente che, per un funzionamento ottimale del sistema che comporti una minimizzazione dei costi ed una massimizzazione delle prestazioni, sia necessario trovare un modo per disaccoppiare il GRT dalla volumetria. Vengono in aiuto, in questo senso, i ricircoli dello spazio di testa del gas, i quali permettono di mantenere pressochè invariata la volumetria, intervenendo sull'efficienza di upgrading; inoltre forniscono al sistema un ulteriore grado di libertà per la modifica della $K_L a$.

2.4.5 Parametri prestazionali

Con parametri prestazionali si intende tutta una serie di benchmarks che definiscono in modo rapido la produttività dei reattori e le loro prestazioni, in modo da poter stabilire un confronto fra differenti sistemi. Tali processi perseguono l'obiettivo di massimizzare le produzioni, minimizzando i volumi, quindi i costi di investimento ed i costi di gestione. Di seguito vengono elencati alcuni dei parametri che vengono utilizzati per definire le capacità dei sistemi di upgrading biologico:

- Methane Evolution Rate (MER);
- Methane Yield (MY) ;
- efficienza di conversione dell'H₂;
- efficienza di conversione della CO₂;
- qualità del metano prodotto.

Methane Evolution Rate (MER)

Il MER fornisce una rapida quantificazione delle prestazioni del processo di upgrading biologico, in quanto rappresenta la produttività volumetrica del reattore. MER [L_N CH₄/L_{reattore}/d] viene calcolato, sulla base della portata volumetrica media giornaliera di metano generato ($QCH_{4,out} - CH_{4,in}$) [L_N/d] e il volume del reattore V_R, in accordo alla (2.22).

$$MER = \frac{CH_{4,out} - CH_{4,in}}{V_R} \quad (2.22)$$

Methane Yield (MY)

Il Methane Yield quantifica invece la resa di metanazione dell'idrogeno entrante. Il valore di Y_{CH₄} [L_N CH₄/L_N H₂], in un sistema ad alta efficienza, dovrebbe tendere al massimo teorico di 0,230 - 0,239, sulla base della reazione metabolica completa di metanogenesi idrogenotrofica proposta da Rittmann e McCarty (2001). Tale parametro si calcola, sulla base della portata volumetrica media giornaliera di metano generato [L_N/d] e di idrogeno entrante H_{2,in}, [L_N/d], in accordo alla (2.23).

$$MY = \frac{CH_{4,out} - CH_{4,in}}{H_{2,in}} \quad (2.23)$$

Efficienza di conversione dell' H_2

L'efficienza di conversione dell' H_2 (η_{H_2} [%]) quantifica l'idrogeno gassoso che è stato trasferito nel liquido e poi utilizzato nei processi biologici o eventualmente accumulato nel liquido. L'efficienza di utilizzazione è quindi funzione, sia delle capacità di trasferimento del sistema, che dell'attività della biomassa [44] ed è calcolato attraverso la (2.24), rispetto alle portate volumetriche di idrogeno entranti $H_{2,in}$ [L_N/d] ed uscenti $H_{2,out}$ [L_N/d]:

$$\eta_{H_2} = \frac{H_{2,in} - H_{2,out}}{H_{2,in}} \quad (2.24)$$

Efficienza di conversione della CO_2

Tale parametro ha lo stesso significato dell' η_{H_2} , anche se, in ragione dei molteplici equilibri chimico-fisici che si instaurano nel sistema calcio-carbonico, solamente dopo un accurato conteggio nei bilanci di massa della CO_2 , calcolati i contributi della CO_2 sequestrata sotto forma di bicarbonati e carbonati, è possibile utilizzare questa quantità per esprimere in maniera accurata la produzione di metano che è correlabile al consumo di anidride carbonica, secondo la reazione (2.5). L'efficienza di conversione η_{CO_2} [%] è calcolata attraverso la (2.25) rispetto alle portate volumetriche di anidride carbonica entranti $CO_{2,in}$ [L_N/d] ed uscenti $CO_{2,out}$ [L_N/d]:

$$\eta_{CO_2} = \frac{CO_{2,in} - CO_{2,out}}{CO_{2,in}} \quad (2.25)$$

Qualità del metano prodotto

I sistemi Power-to- CH_4 generalmente mirano a produrre gas equivalente al gas naturale fossile per sfruttare l'infrastruttura di gas naturale esistente. Le deviazioni nella qualità del gas prodotto dagli standard del gas naturale richiedono la purificazione del gas a valle, per conformarsi all'infrastruttura del gas naturale, il che aumenta il costo complessivo del processo. Ecco perché la concentrazione del metano nel prodotto finale, CH_4 (% v/v), risulta uno dei parametri prestazionali chiave del processo.

2.5 Configurazioni reattoristiche

In questa sezione sono presentate le due tipologie di upgrading biologiche chemoautotrofo maggiormente trattate in letteratura nell'ultimo decennio: upgrading in-situ ed ex-situ. Di seguito saranno trattate le teorie, le configurazioni, i vantaggi e gli svantaggi che caratterizzano queste due tecnologie. Infine si forniscono alcuni dei risultati riportati nei casi di studio presenti in letteratura scientifica, focalizzandosi maggiormente sull'upgrading ex-situ, essendo la configurazione del reattore pilota presente nella sperimentazione effettuata.

2.5.1 In-situ biogas upgrading

Nei sistemi in-situ l' H_2 viene iniettato all'interno di un reattore di biogas per essere accoppiato con la CO_2 endogena, che viene prodotta nel digestore anaerobico, per essere convertita in CH_4 dall'azione di *archaea* metanogeni autoctoni [45]. Il processo può portare fino al 99% [7] di recupero di metano, nei casi in cui i parametri operativi (ad esempio il pH) sono completamente monitorati e controllati. Una delle principali sfide tecniche che questa tecnologia deve affrontare è legata all'aumento del livello di pH a valori superiori a 8,5, che porta all'inibizione della metanogenesi. L'aumento del pH è attribuito alla rimozione del bicarbonato, che è il buffer chiave nel processo di upgrading del biogas. Come mostrato nella (2.26), la CO_2 disciolta nella fase liquida del reattore è dissociata in H^+ e HCO_3^- . L'utilizzo di CO_2 porterà a una diminuzione di H^+ , causando un aumento concomitante del pH:



Esperimenti precedenti in reattori di upgrading in situ hanno mostrato una leggera inibizione della metanogenesi dovuta al consumo di bicarbonato [46], verificando la tesi che, nei sistemi convenzionali di produzione di biogas, un pH di 8,5 è la soglia per un processo ottimale di biometanazione, sia per condizioni mesofile, che termofile. Per alleviare questa sfida tecnica, è stata proposta la co-digestione con rifiuti acidi, allo scopo di arrestare l'aumento del pH [47]. Un'altra questione importante, che deve essere considerata durante il processo in-situ, è legata all'ossidazione degli acidi grassi volatili (VFA) e degli alcoli, che è termodinamicamente fattibile solo nei casi in cui la concentrazione di H_2 è molto bassa (≤ 10 Pa). Introducendo improvvise ed elevate concentrazioni di H_2

nel reattore di biogas, ci si aspetta che la degradazione dei VFA non sia più possibile. Di conseguenza il sistema potrebbe diventare squilibrato o, addirittura, nel caso peggiore potrebbe essere totalmente deteriorato, a causa di un eccesso di acidificazione prodotto dall'accumulo di VFA. Un ulteriore parametro chiave è la solubilizzazione dell' H_2 nella fase liquida, poiché i microrganismi possono utilizzare solamente il gas in forma disciolta. Dato che la solubilità dell' H_2 è molto bassa (costante di Henry a $25^\circ C$ pari a $7,8 \cdot 10^{-4} \text{ [mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{bar}^{-1}]$), si ha una limitazione al trasferimento di massa gas-liquido che ostacola le prestazioni del bioreattore e questo deriva dal fatto che i digestori anaerobici non sono progettati per massimizzare il trasferimento di massa gas-liquido (una miscelazione eccessiva potrebbe danneggiare la struttura e la funzionalità dei flocculi anaerobici); il che potrebbe limitare le prestazioni della bioconversione in-situ di CO_2 su larga scala. Ecco quindi che diventa fondamentale la scelta dei materiali e della tipologia di dispositivo utilizzati per la diffusione dell'idrogeno all'interno del sistema, come pure la scelta dei rapporti di ricircolo della fase gas e della fase liquida, e della tipologia di reattore, in modo da poter implementare un biogas upgrading in-situ che dia risultati soddisfacenti. I reattori più diffusi a scala di laboratorio e/o pilota presenti in letteratura sono i sistemi batch, CSTR e UASB. Di seguito, a seconda della tipologia di reattore utilizzato, vengono forniti i valori del tenore di metano nel gas di uscita riportate negli studi consultati. Utilizzando un sistema batch, Agneessens et al.(2017) [48] hanno osservato che il tasso di assorbimento dell'idrogeno è aumentato rapidamente per concentrazioni di $CO_2 < 12\%$. Tale fatto ha condotto all'aumento del contenuto massimo di CH_4 nel biogas, il quale ha raggiunto un tenore pari all'89% [49]. Per contro, utilizzando un reattore alimentato in continuo nel quale l'idrogeno è stato iniettato tramite membrane a fibra cava, Luo e Angelidaki (2013) [50] hanno raggiunto tenori di metano nel gas in uscita pari al 96%. La sperimentazione di Luo et al. (2014) [51] rappresenta un'innovazione nell'utilizzo delle configurazioni UASB (Up-flow Anaerobic Sludge Blanket) applicate nell'upgrading in-situ. In questo lavoro è stato allestito un reattore anaerobico in configurazione UASB, riportato in **Figura 2.18**, dove è stata utilizzata una membrana a fibra cava sommersa, installata in un'unità di degassificazione esterna, allo scopo di strappare la CO_2 dalla fase liquida. I risultati hanno mostrato che il ricircolo della fase liquida alimentato, all'unità di desorbimento della CO_2 , ha incrementato il tenore di metano, raggiungendo il 71,6%, 90% e 94%, utilizzando quindi un ricircolo liquido rispettivamente pari a 0,21, 0,42 e 0,63 L/h.

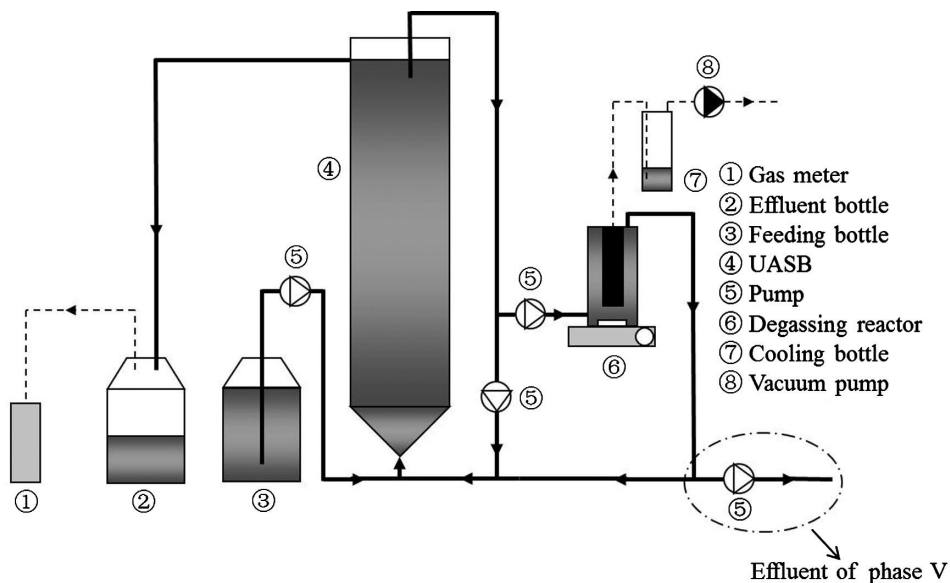


Figura 2.18: Configurazione in-situ, con reattore anaerobico di tipo UASB con membrana di desorbimento della CO_2 posta nell'unità di degassificazione esterna [51]

Di seguito si riporta in **Tabella 2.7** un riepilogo dei parametri prestazionali e operativi di alcuni studi scientifici riguardanti l'upgrading in-situ reperiti in letteratura.

Tabella 2.7: Confronto tra diversi reattori di biogas upgrading in-situ, i dati sono presi principalmente da studi eseguiti a scala di laboratorio e riportano alcuni dei parametri operativi e prestazionali di confronto [7]

Reattore	Substrato	T [°C]	HLR [d]	Portata H ₂ [L/(L · d)]	CH ₄ [%v/v]	Rimozione CO ₂ %	pH	η H ₂ [%v/v]	rif.
Batch	Foglie di mais	52	-	-	89,4	66 - 70	7,0 - 8,0	100	[49]
UASB	Amido di patate	55	7	1,8	82	76	8,38	67	[52]
CSTR	Letame del bestiame	55	14	0,68	65	-	8,3	> 90	[53]
CSTR	Fanghi	38	20	0,3- 1,7	76,8 - 100	43 - 100	7,89 - 8,43	58 - 99	[48]
CSTR	Siero di latte	55	15	0,93 - 1,76	78,4 - 96,1	53 - 91	7,61 - 8,31	-	[50]
CSTR	Fanghi di depurazione	37	10	0,92	98,9	99	8	96	[54]
CSTR	Letame e amido di patate	55	-	0,41	86,4	-	8.6	96	[55]

2.5.2 Ex-situ biogas upgrading

Il biogas upgrading ex-situ si basa sulla fornitura di CO_2 e H_2 da fonti esterne in un reattore anaerobico che contiene una coltura idrogenotrofica (pura o arricchita), con conseguente successiva conversione in CH_4 . Questo metodo nasce dalla necessità di superare le problematiche emerse con il processo in-situ, cercando di disaccoppiare il processo di upgrading dall'obiettivo di stabilizzare la sostanza organica in AD. Esso ha diversi vantaggi rispetto al processo in-situ, in quanto:

- garantisce la stabilità del processo perché l'upgrading avviene in un'unità separata;
- il processo biochimico è più semplice, poiché non c'è degradazione del substrato organico, in quanto le fasi iniziali della digestione anaerobica, come l'idrolisi e l'acidogenesi, non sono presenti;
- è un processo indipendente dalla biomassa, in quanto vi è un'unica popolazione indipendente di organismi;
- può essere utilizzata un'altra fonte esterna di CO_2 (ad esempio syngas, CO_2 da gassificazione o pirolisi), rendendo il processo più flessibile [45].

L'efficienza di conversione del biogas è dipendente dal tipo di reattore e può risultare in un contenuto finale di metano tra il 79 e il 98%, [7]. Nello studio di Lecker et al. (2017) [56] vengono individuate tre configurazioni impiantistiche per le quali si evidenziano una buona efficienza di conversione e il possibile scale-up: i reattori completamente miscelati (Completely Stirred Tank Reactors, CSTR), i reattori a letto fisso, anche detti filtri anaerobici (Anaerobic Filters, AF, o Biological Filter Reactors, FBR) e i letti percolatori (Trickle Bed Reactors, TBR). In **Figura 2.19** si riporta uno schema delle configurazioni. Di seguito vengono esposti i principi di funzionamento di tali reattori, abbinando alla descrizione tecnica anche dei risultati quantitativi delle prestazioni degli stessi in base agli studi emersi dalla letteratura.

CSTR

Sono sistemi a biomassa sospesa, solitamente costituiti da un volume cilindrico, al cui interno viene praticata miscelazione attraverso l'impiego di agitatori meccanici, agevolando una miscelazione ed una temperatura omogenea nel reattore. Favoriscono inoltre la solubilizzazione dei composti gassosi, incrementando

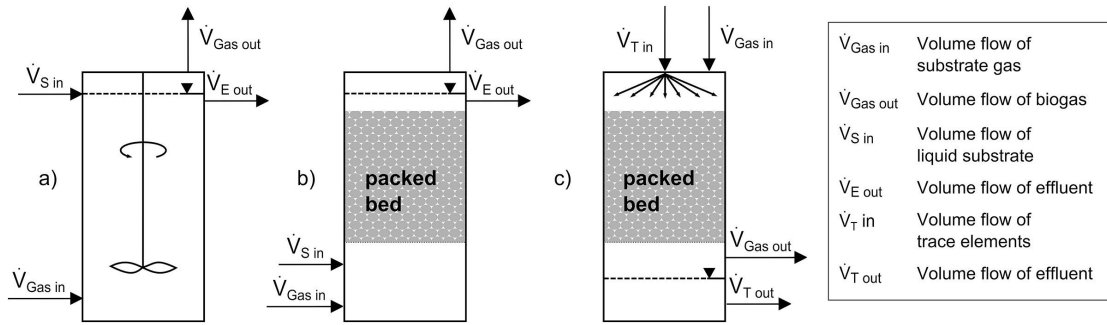


Figura 2.19: Schema delle tipologie di reattori per biometanazione: a) CSTR, b) AF, c) TBR, [56].

la superficie di contatto tra le due fasi [38]. Per aumentare l'efficienza di trasferimento del gas alla fase liquida, viene spesso adottato un sistema di ricircolo del gas dallo spazio di testa. Secondo lo studio di Kougiass et al. (2017) [45], nel quale è stato riprodotto un reattore CSTR a scala di laboratorio operante in condizioni di termofilia, si evince che il principale collo di bottiglia del processo è rappresentato dalla limitazione del trasferimento di massa gas-liquido. Il sistema utilizza un agitatore magnetico rotante ad una velocità di 300 rpm e un diffusore gas in acciaio inossidabile con dimensione pori di $2\ \mu\text{m}$. In questo studio si sono raggiunti tenori di metano in uscita pari al 79%, operando però con una portata di ricircolo gas pari ad ottanta volte la portata in ingresso, a conferma del fatto che il diffusore adottato e la miscelazione del sistema non siano sufficienti per fornire un adeguato trasferimento. Un risultato migliore è stato riportato nello studio di Bassani et al. (2015) [34], dove viene raggiunto un contenuto di metano in uscita più elevato, utilizzando diffusori con dimensione dei pori inferiore a $2\ \mu\text{m}$. La configurazione reattoristica sperimentata prevede due CSTR in serie: il primo ($V = 1,5\ \text{L}$) è adibito a digestione anaerobica e fornisce biogas e digestato in alimento al secondo ($V = 2\ \text{L}$), che invece costituisce l'unità di upgrading. La sperimentazione, condotta in condizioni di mesofilia e termofilia, ha ottenuto contenuti di metano allo stato stazionario in uscita pari rispettivamente all'89% e all'85%. In **Figura 2.20** si riportano gli schemi delle due configurazioni utilizzate dagli autori.

AF

I filtri anaerobici a letto fisso sono costituiti da materiali di riempimento in grado di fornire un supporto alla crescita dei microrganismi, così da permettere la formazione di un biofilm che garantisca l'attecchimento della biomassa sulla superficie di tali materiali, massimizzando il contatto tra le fasi gas e liquida e la

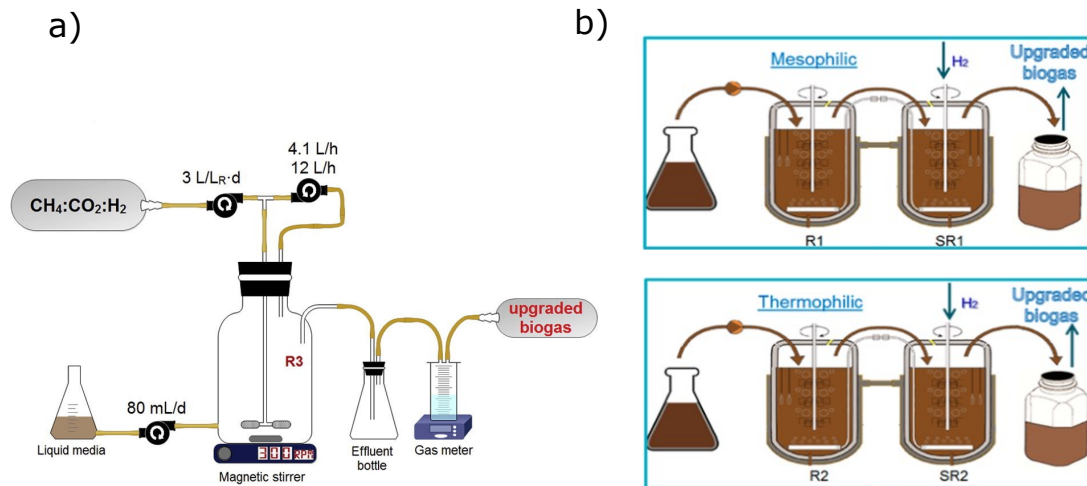


Figura 2.20: Schemi delle due configurazioni CSTR utilizzate dagli autori, a) Kougias et al. (2017) e b) Bassani et al. (2015) [45], [34]

biomassa stessa. Tale tecnologia rientra nei processi definiti a biomassa adesa, caratterizzati dalla capacità di svincolare il tempo di ritenzione della biomassa (SRT) dal tempo di residenza idraulico (HRT), con il conseguente beneficio di poter adottare reattori con volumetrie ridotte ed evitare il dilavamento della biomassa idrogenotrofa, più specializzata nell'upgrading del biogas. Nello studio di Alitalo et al. (2015) [57] si sono raggiunti tenori di metano superiori al 90% v/v, a conferma delle buone prestazioni di questi sistemi.

TBR

La presenza della biomassa adesa è assicurata anche dai reattori TBR, i quali si differenziano dagli AF per la mancanza del completo allagamento della camera in cui avviene la reazione, dato che la fase liquida viene alimentata sottoforma di gocce che percolano per gravità verso la base del sistema, ricoprendo la superficie del materiale di riempimento senza saturarne le porosità. Ciò consente in generale di incrementare le rese di trasferimento di massa, come riportato a titolo di esempio nello studio di Thapa et al. (2022) [58]. Nel loro lavoro il reattore di upgrading, operante in condizioni di mesofilia, contenente il materiale di riempimento e poggiante su una base costituita da materiale poroso, ospita un volume liquido di 0,65 L, il quale viene prelevato da una pompa peristaltica a una velocità di flusso di 35 mL/min per gocciolare in modo continuo sul letto. Durante le due fasi di sperimentazione è stata insufflata prima una miscela di H₂:CO₂ 4:1, mentre poi è stato usato un rapporto 6:1. I risultati hanno mostrato tenori di metano medi rispettivamente del 65% e del 94%, con valori massimo

del 98%. L'aumento della percentuale di metano conseguente all'aumento del rapporto stechiometrico ha favorito una maggiore dissoluzione dell'idrogeno ed una maggiore riduzione della CO_2 che era rimasta accumulata nella prima fase. In **Figura 2.21** si riporta uno schema del processo.

Altri studi presenti in letteratura riportano in ogni caso un elevato rendimento di conversione, utilizzando questo tipo di reattori con tenori di metano che possono raggiungere valori del 96-98% ([59],[60]).

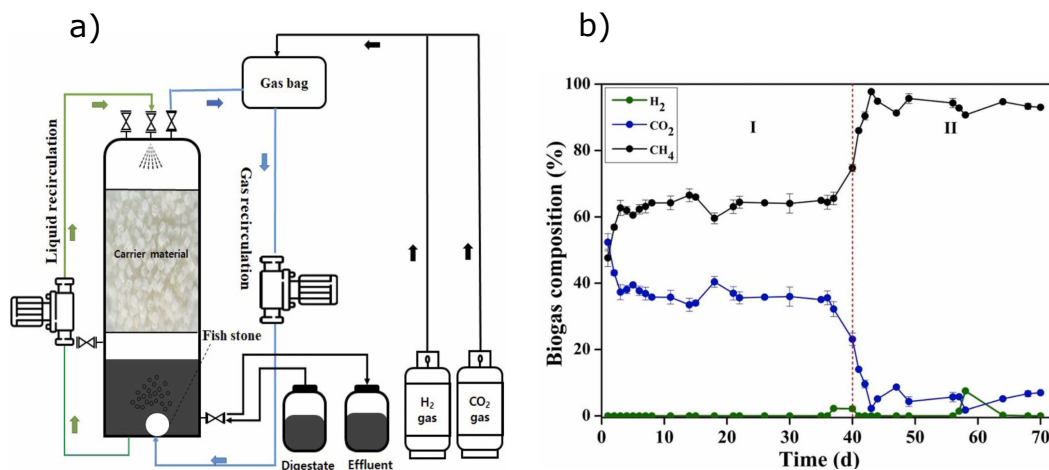


Figura 2.21: a) Allestimento dell'esperimento secondo Thapa et al. (2022) b) Grafico delle percentuali in volume dei gas in uscita campionati [58]

Oltre alle tre tipologie di reattori sopra descritte, sono state proposte ulteriori soluzioni per poter superare e migliorare la problematica limitante del processo, ovvero il trasferimento gas-liquido. Una di queste è rappresentata dalle configurazioni upflow. Questi sono reattori a biomassa sospesa ad asse verticale, di sezione rettangolare o circolare, con flusso gassoso ascendente, ove la miscelazione non avviene mediante organi meccanici, ma tramite la continua risalita del gas, che attraversa la fase liquida contenente la popolazione microbica e dei liquidi eventualmente alimentati. Nell'estremità superiore dei reattori un separatore consente la captazione del gas prodotto, che viene convogliato in un sistema di raccolta. Nello studio di Kougias et al. (2017) [45] è stato allestito un sistema upflow costituito da due reattori posti in serie, con l'aggiunta di un ricircolo della fase gas. In **Figura 2.22** si riporta uno schema dell'esperimento. Secondo tale studio si sono potute raggiungere concentrazioni di metano in uscita superiori al 98%, anche iniettando l' H_2 attraverso diffusori in acciaio convenzionali, invece di moduli a membrana avanzati.

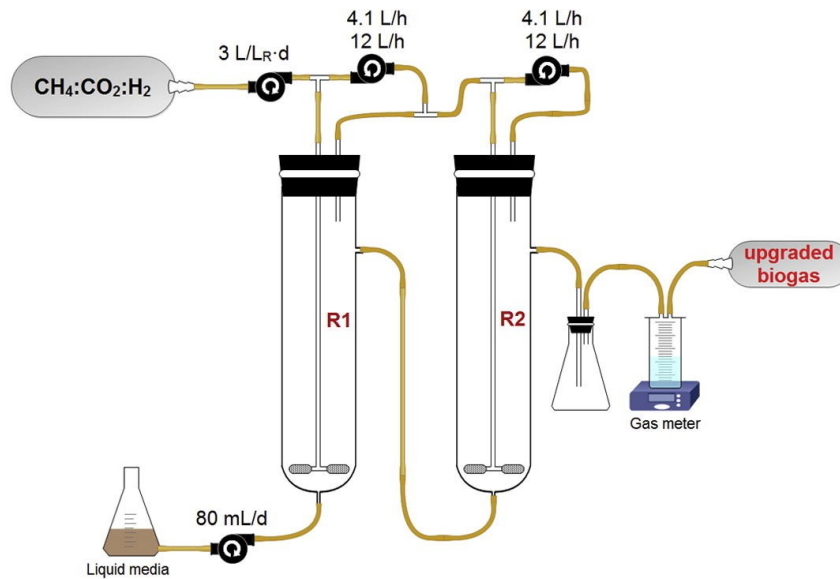


Figura 2.22: Schema del reattore upflow in serie secondo lo studio di Kougiias et al. (2017) [45]

Un'ulteriore alternativa è rappresentata dalle colonne a bolle, le quali sono costituite da corpi cilindrici, estesi soprattutto nella direzione verticale. Il gas viene alimentato alla base, all'interno della fase liquida attraverso un diffusore. L'obiettivo di tale configurazione è di migliorare il trasferimento di massa, aumentando la superficie e il tempo di contatto tra le bolle di gas e la fase liquida. Kougiias et al. (2017), operando in condizioni di termofilia e aumentando, anche in questo caso, la portata di ricircolo gas da 4 a 12 L/h, sono riusciti ad ottenere contenuti di metano in uscita del 97 - 98%. In **Figura 2.23** si riporta lo schema del processo.

Un'altra alternativa sono i reattori a fibre cave (Hollow Fiber Reactors, HFR), i quali rientrano nella categoria dei reattori a membrana (Membrane Biological Reactors - MBR); essi presentano la possibilità di raggiungere elevate rese di solubilizzazione, grazie all'impiego di membrane a fibra cava, immerse nel liquido ospitante la biomassa. Le microscopiche porosità, di cui sono provviste, consentono di alimentare il gas che le attraversa con un diametro medio delle molecole molto ridotto, favorendone la solubilizzazione e rendendolo (data la dimensione quasi molecolare delle bolle) immediatamente disponibile per i microrganismi. A conferma di questa tesi, nello studio di Luo et al. (2013) [50] è stato implementato un modulo di membrana a fibra cava per fornire H₂ ad un reattore anaerobico per l'upgrading del biogas, sono stati poi registrati tenori di metano superiori al 90%. Tuttavia va riportato che l'impiego di membrane

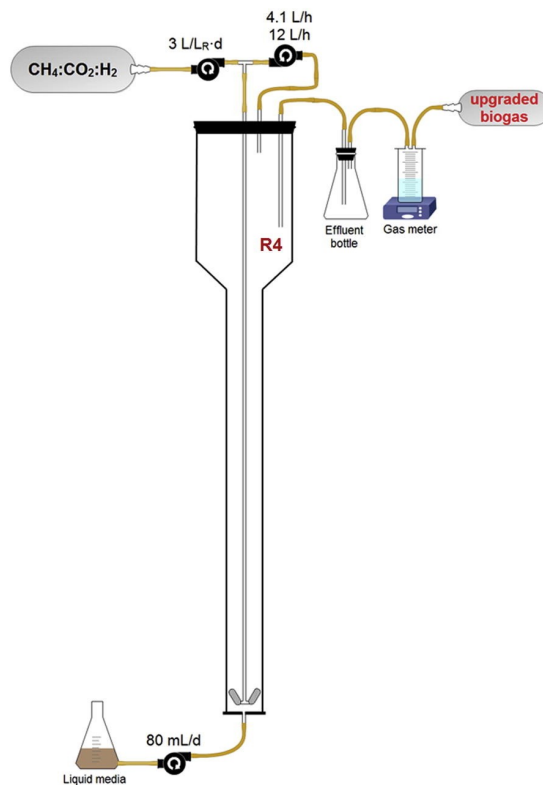


Figura 2.23: Schema della colonna a bolle secondo lo studio di Kougiyas et al. (2017) [45]

comporta una serie di svantaggi, tra i quali gli alti costi di investimento e di gestione, oltre al fenomeno del fouling. In ultimo si possono individuare i sistemi Venturi o eiettori. Il loro funzionamento si basa sul teorema di Bernoulli: il passaggio da un ugello convergente ad uno divergente crea una zona di depressione che trascina il fluido aspirato presente a pressione inferiore rispetto a quella del fluido motore. Sorpassata la zona della gola dell'eiettore, il fluido miscelato tende ad espandersi e la sua velocità si riduce, comportando un aumento della pressione della miscela: si converte quindi l'energia cinetica, dovuta alla velocità del fluido, in energia dovuta all'aumento della pressione, in accordo con il principio di Bernoulli. La loro applicazione risulta essere interessante soprattutto considerandone la semplicità, mancando di organi in movimento, oltre che per la flessibilità, dato che possono essere adottati, sia come sistemi principali di iniezione, che come circuiti per il ricircolo della fase gas.

In **Figura 2.24** si riporta uno schema di un sistema Venturi. In **Tabella 2.8** si riporta un riepilogo dei dati reperiti in letteratura riguardanti alcune tipologie di reattori di upgrading ex-situ; la tabella è stata rielaborata consultando

il lavoro di Spinelli et al. (2021) [44]; vengono riportati alcuni dei principali parametri di confronto.

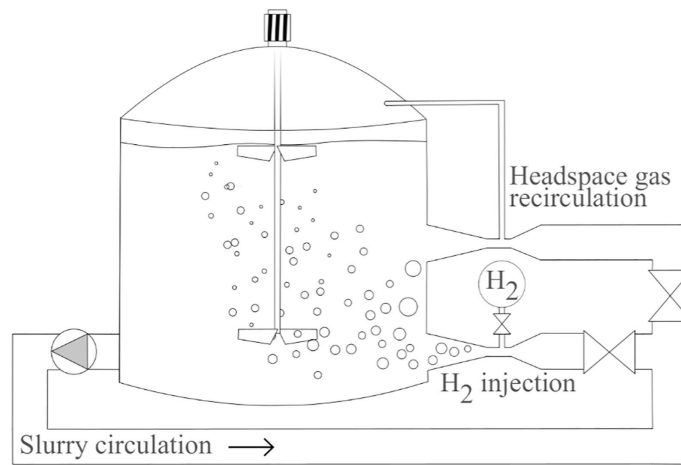


Figura 2.24: Schema di un sistema Venturi utilizzato per l'iniezione dell'H₂ nel reattore anaerobico [61]

Tabella 2.8: Confronto tra diversi reattori di biogas upgrading ex-situ, i dati sono presi principalmente da studi eseguiti a scala di laboratorio e riportano alcuni dei parametri operativi e prestazionali di confronto.

Reattore	Substrato liquido	Substrato gas	T [°C]	GRT [h]	pH	η H ₂ [%]	η CO ₂ [%]	CH ₄ max [% v/v]	MER max [$\frac{NL_{CH_4}}{L_{reattore} \cdot d}$]	rif.
CSTR	Digestato	H ₂ /Biogas	52	8	8	≈ 60	≈ 33	79	-	[45]
CSTR	Digestato	H ₂ /Biogas	35	-	8,2	99	69	92	0,10	[34]
CSTR	letame animale Digestato	H ₂ /Biogas	55	-	8,5	92	77	91	0,36	[34]
Upflow in serie	letame animale Digestato	H ₂ /Biogas	52	16	8,5	≈ 100	≈ 50	> 98	-	[45]
Upflow	Coltura idrogenotrofa arricchita	H ₂ /Biogas	55	4 - 15	8,0 - 8,8	96,8 - 100	85,5 - 100	89,5 - 96,3	0,82	[62]
MBR	Fango anaerob. adattato	H ₂ /CO ₂	55	-	-	95	-	95	8,84	[63]
MBR	Fango anaerob. adattato	H ₂ /CO ₂	55	-	6,8 - 7,9	95	-	-	6,6	[64]
Colonna a bolle	Digestato	H ₂ /Biogas	52	8	8,3	≈ 100	≈ 83	97 - 98	-	[45]
FBR	Digestato fango depurazione	H ₂ /CO ₂	37	-	6,8 - 8,1	-	-	100	36	[65]
TBR	Consorzio batterico adattato	H ₂ /Biogas	37	2,5 - 3,5	7,4 - 7,7	-	> 96	> 97	2,52	[59]

2.6 Specific Methanogenic Activity

Per decenni i ricercatori hanno studiato i processi coinvolti nella AD di substrati organici, in particolare, la metanogenesi, considerata la fase limitante, quando l'idrolisi è favorita. Comprendere le fasi di trasformazione che portano alla produzione di metano è fondamentale per ottimizzare le condizioni operative dei reattori anaerobici e per migliorare la produzione di biogas. L'uso di strumenti microbiologici potrebbe fornire informazioni sulla composizione e la quantità della popolazione microbica e distinguere tra microrganismi attivi e non attivi, a seconda della tecnica applicata (per esempio, tramite la quantificazione dell'mRNA). Tuttavia questi strumenti non possono quantificare l'attività di tali microrganismi [66]. L'attività metanogenica specifica (SMA) è uno di questi strumenti, definito come il tasso massimo di metano prodotto da un substrato ed espresso per massa di solidi sospesi volatili (SSV), i quali rappresentano una stima approssimativa della biomassa presente. L'attività metanogenica specifica (Specific Methane Activity, SMA) è quindi uno strumento utile nel caratterizzare l'attività biologica dei fanghi biologici anaerobici; esso rappresenta un metodo economico e rapido per monitorare l'attività di reattori su scala pilota e su scala reale per la produzione e l'upgrading del biogas.

Si distinguono due differenti attività metanogeniche che possono essere indagate, a seconda della via metabolica che si sta analizzando nel processo di digestione anaerobica: attività metanogeniche acetoclastiche e idrogenotrofe specifiche (SAMA e SHMA rispettivamente). Esse misurano indirettamente i tassi di consumo di acetato e H_2 , permettendo così di ottenere informazioni riguardanti le cinetiche di conversione. Così questi due valori di attività possono fornire informazioni su uno squilibrio del sistema associato all'inibizione dei metanogeni (attività basse), oltre a trovare opportunità per aumentare il carico organico applicato ad un reattore (attività alte).

2.6.1 SHMA - Definizione e scopo

L'attività metanogenica idrogenotrofica specifica (Specific Hydrogenotrophic Methane activity, SHMA), è misurata attraverso un test che viene effettuato in condizioni batch di laboratorio, cercando di simulare nel modo più affidabile possibile le condizioni operative, quali pH, temperatura e miscelazione del sistema originario. Il test consiste in una fase iniziale nella quale viene fornita alla biomassa idrogenotrofa presente all'interno di un apposito apparato un

substrato gassoso costituito generalmente dalla miscela H_2 e CO_2 , utilizzando il rapporto stechiometrico 4:1. Tale test permette la misurazione e la quantificazione del rateo di produzione di metano, conseguente al consumo dei substrati, secondo la (2.5), espresso come NmL di CH_4 per unità di massa di solidi sospesi volatili presenti [$NmL_{CH_4}/(gSSV \cdot d)$]. Inizialmente, quando l'upgrading del biogas a biometano non era ancora diventata una realtà consolidata, i test di SHMA erano stati pensati per fornire un feedback sulle prestazioni della biomassa all'interno dei digestori anaerobici. Ad esempio, in caso di avvelenamento da ammonio nel reattore, con concentrazioni tra 1-5 [g/L], è stato appurato che gli organismi idrogenotrofi continuano la metanogenesi idrogenotrofa, mentre gli acetoclasti sono inibiti [67]. Quindi, effettuando una prova di SHMA sul fango del digestore, si sarebbe notata una diminuzione di pressione dello spazio di testa a seguito della reazione (2.2), non bilanciata dall'aumento di pressione dato dalla (2.1), quindi, una minore attività acetoclastica a favore di quella idrogenotrofa, segnale di uno squilibrio presente all'interno del digestore. Le prove di SHMA applicate ai reattori di upgrading biologico del biogas sono fondamentali, poiché sono un utile strumento per la gestione ottimale del processo, in quanto che possono dare informazioni salienti riguardanti:

- lo stato della biomassa;
- la gestione dei carichi di Biogas/ CO_2 , H_2 alimentati, se incrementarli o meno;
- possibili inibizioni presenti nel reattore;
- informazioni su possibili problematiche relative alla miscelazione interna al reattore;
- informazioni sulle pressioni di lavoro del reattore, se sono adeguate o meno.

È importante sottolineare che per il test dell'attività acetoclastica (SAMA) vengono applicati protocolli consolidati, utilizzando acetato come substrato [68], [69]. Tuttavia il test dell'attività idrogenotrofica (SHMA) rimane meno diffuso e non è standardizzato.

2.6.2 Metodi di misura e di calcolo

Nella letteratura scientifica si sono distinti due metodi tra i più consolidati fino ad ora: quelli di Dolfing e Bloeman (1985) e Coates et al. (1996).

Quello di Dolfing e Bloeman (1985) [68] raccomanda una metodologia basata sulla misurazione della pressione nello spazio di testa combinata con l'analisi della composizione dei campioni di gas mediante gascromatografia (GC). Quando sono state testate queste condizioni, si sono però riscontrati i seguenti inconvenienti:

- poiché la pressione dello spazio di testa era diminuita non solo a causa della conversione H_2/CO_2 in metano, secondo la (2.5), ma anche a causa del campionamento del gas, il sistema doveva essere ripressurizzato con H_2/CO_2 , aumentando i rischi per la sicurezza, la perdita di gas e la lunghezza del periodo di analisi;
- durante il primo periodo del test, è stato riscontrato che il limite di rilevamento era vicino ai valori di concentrazione ottenuti per il metano; quando si analizza un campione di gas con la GC; aumentando l'errore sperimentale relativo associato alle prime misure.

D'altra parte Coates et al. (1996) [70] hanno proposto una metodologia basata sulla misurazione della pressione dello spazio di testa, all'interno di un sistema chiuso, mediante pressostato/trasduttore di pressione. L'abbassamento di pressione è stato correlato alla generazione di metano, usando la relazione stechiometrica per la conversione chimica di H_2/CO_2 in metano espressa dall'equazione (2.5). In questa sezione verranno spiegati i passaggi per il calcolo dell'SHMA secondo il metodo di Coates et al. (1996), rielaborato dal Politecnico di Milano, dato che quest'ultimo metodo si è dimostrato più pratico, meno dispendioso in termini di tempo e più sicuro, rispetto al metodo proposto da Dolfing e Bloeman (1985) ed è stato inoltre utilizzato per condurre prove sperimentali utili al perseguimento degli obiettivi di questo elaborato.

Nella **Tabella 2.9** vengono riportate le informazioni principali dei protocolli di SHMA proposti in letteratura.

Riportando nuovamente in chiaro l'equazione (2.5):

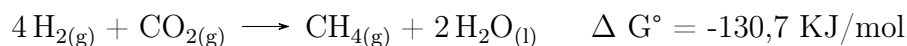


Tabella 2.9: Caratteristiche principali dei protocolli di SHMA presenti in letteratura, valori rielaborati da Corbellini et al. (2019) [55]

	Dolfing & Bloeman (1985) [68]	Coates et al. (1996) [70]	Ripoll et al. (2020) [66]
Pressione iniziale prova	1 atm	1.5 bar	1 atm
$\frac{H_2}{CO_2}$ [%v/v]	80:20	80:20	80:20
Tipologia fango	Granulare	Granulare	Granulare e disperso
$\frac{V_{gas}}{V_{liquido}}$ [-]	n.d.	1:2	1:5
Concentrazione fango [gSSV/L]	2-5	3	n.d.
Temperatura [°C]	30	37	30
Durata della prova [h]	< 24	10 - 12	8 - 10
Velocità di miscelazione [rpm]	n.d.	180 - 250	180 ¹

¹ Shaker orbitale

Durante la conversione si osserva una diminuzione del numero totale di moli (5 moli nei reagenti e 1 mole nei prodotti) associata alle specie gassose, che produce, secondo la legge dei gas perfetti, un abbassamento della pressione nello spazio di testa, quando la reazione viene effettuata in un sistema chiuso. Quindi le moli di metano Δn_{CH_4} [mol] prodotte da H_2/CO_2 , durante un certo intervallo di tempo Δt [giorni], possono essere calcolate come espresso dal sistema di equazioni (2.27):

$$\begin{cases} \Delta n_{gas} = \frac{\Delta P \cdot V_{testa}}{R \cdot T} \\ \Delta n_{CH_4} = -\frac{\Delta n_{gas}}{4} \end{cases} \quad (2.27)$$

Nella prima equazione Δn_{gas} [mol] è calcolato sfruttando la nota legge dei gas

perfetti, ΔP [bar] rappresenta la variazione di pressione registrata dal pressostato nel periodo di campionamento Δt dello strumento, R rappresenta la costante dei gas perfetti pari a $0,083145 [L \cdot \text{bar}/(\text{mol} \cdot K)]$, T la temperatura operativa [K] e V_{testa} è il volume del gas che occupa lo spazio di testa del reattore utilizzato [L]. Considerato che, dalla stechiometria si ha un passaggio da 5 moli di gas ad 1 mole di gas, quindi il delta è rappresentato da 4 moli, nella seconda equazione si riportano le moli di metano prodotte dalla variazione delle moli di gas e il segno meno viene utilizzato per convenzione, dato che il ΔP risulta negativo. Il valore di SHMA [$NmL_{CH_4}/(gSV \cdot d)$] viene così ricavato dalla (2.28):

$$SHMA = \frac{\Delta n_{CH_4}}{\Delta t \cdot c_{sv} \cdot V_f} \cdot \frac{22,414}{1000} \quad (2.28)$$

Dove $22,414 [LN/mol]$ rappresenta il volume molare in condizioni normali del gas, $c_{sv} [g/L]$ rappresenta la concentrazione di solidi volatili e $V_f [L]$ è il volume di fango utilizzato nella prova. Un esempio di visualizzazione grafica dei risultati di una prova di SHMA condotta da Coates et al. (1996) è fornito nella **Figura 2.25**. Quindi la definizione di SHMA viene rappresentata a livello grafico dalla pendenza della curva di produzione cumulata del metano, normalizzata rispetto alla massa di solidi volatili presenti nel reattore; il punto di massima pendenza è l'SHMA rappresentativa della prova.

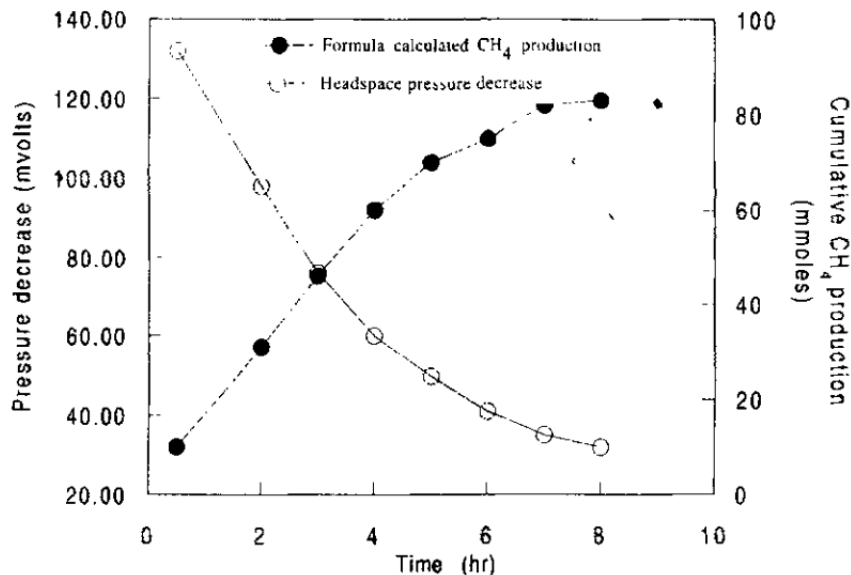


Figura 2.25: Grafico che riassume i dati di pressione e le relative moli di metano calcolate, usando come strumento un trasduttore di pressione per monitorare l'attività idrogenotrofica, Coates et al. (1996), [70]

In **Tabella 2.10** si riportano a titolo di esempio dei valori di SHMA reperiti in letteratura scientifica, a seconda delle condizioni operative e della tipologia di biomassa utilizzate per la prova.

Tabella 2.10: Valori di SHMA (NmLCH₄/gSV/d) reperiti in letteratura per diverse condizioni operative e tipologia di inoculo (Valori rielaborati da Spinelli (2021) [44])

Condizioni	Inoculo	SHMA	Rif.
Mesofilia	Fango anaerobico granulare	307,2	[70]
Mesofilia	Sistema chemostato	200 - 240	[71]
Termofilia	Coltura pura	14980	[72]
Mesofilia	Fango da impianto ex-situ	240 - 4750	[50]
Mesofilia	Digestato arricchito da processo in-situ	359 ± 29	[55]
Mesofilia	Fango da impianto di trattamento in sistema UASB	130-180	[73]

2.6.3 Problematiche della misura

Una delle problematiche principali nella determinazione di questo valore, riportata anche nello studio di Ripoll et al. (2020) [66], è la necessità, al fine di ottenere un dato rappresentativo, di rendere la biomassa capace di sviluppare la sua massima attività possibile. In diverse condizioni due fanghi dall'attività specifica differente potrebbero dare luogo allo stesso valore di metano prodotto nell'unità di tempo; ad esempio potrebbe capitare nel caso di un fango ad alta attività, ma in condizioni limitanti, che viene comparato con uno a bassa attività, ma in condizioni ottimali. Al fine di rimuovere l'effetto legato all'apparato sperimentale utilizzato per condurre la prova, risulta necessario l'ottenimento di condizioni di test quanto più prossime a quelle ideali, in modo da poter ottenere una misura puramente legata al comportamento della biomassa. Questo si traduce nell'operare la prova in condizioni di substrato non limitante, quindi utilizzando come parametro la cinetica di Monod, che viene utilizzata ampiamente all'interno della modellazione dei processi biologici. Deve essere soddisfatta la condizione $S \gg K_S$, come definito nella (2.29). Dove con S [g/L] si intende la

concentrazione del substrato in fase liquida e K_S [g/L] è la costante di semisaturazione, funzione del tipo di substrato e della popolazione microbica, μ [d⁻¹] è il rateo di crescita specifico della biomassa in condizioni stazionarie per il sistema considerato e μ_{max} [d⁻¹] è il rateo massimo di crescita della biomassa in condizioni non limitanti da substrato.

In **Tabella 2.11** si riportano valori di K_S estratti dalla letteratura scientifica per H₂ e CO₂:

$$\mu = \begin{cases} \mu_{max} \cdot \frac{S}{S + K_S} & \text{se } S \simeq K_S \\ \mu_{max} & \text{se } S \gg K_S \end{cases} \quad (2.29)$$

In questo modo si avrà che i microrganismi analizzati andranno ad esprimere $\mu = \mu_{max}$, ovvero un parametro cinetico, funzione esclusiva delle caratteristiche della biomassa stessa e non delle condizioni dell'esperimento, dando così luogo all'espressione della loro effettiva attività specifica di metanogenesi idrogenotrofa. Questo discorso si connette al secondo problema presente nelle prove di SHMA: dato che i substrati utilizzati dalla biomassa sono alimentati in forma gassosa (CO₂ e H₂), la capacità di solubilizzazione del sistema diventa fondamentale per poter soddisfare le condizioni di cinetica di ordine 0, soprattutto per quanto riguarda l'idrogeno caratterizzato da una bassa concentrazione a saturazione. Risulta pertanto necessario determinare il set di parametri di prova ottimali (pressione imposta, velocità di miscelazione, volume liquido di fango), capace di ottimizzare il trasferimento del gas per gli apparati considerati, senza che ciò possa causare sforzi o condizioni eccessive, che i microrganismi sopporterebbero con difficoltà.

Durante il test dovrebbe essere assicurata un'altra condizione, ovvero che la crescita della biomassa risulti trascurabile, presupposto che generalmente viene garantito, dato il basso tasso di crescita della popolazione idrogenotrofa per unità di substrato utilizzato (Y_{h_2} risulta pari a 0,06 [gCOD_{SSV}/gCOD_{substrato}]), secondo i dati reperiti dall'Anaerobic Digestion Model NO.1, (ADM1) [75] ed utilizzati anche nello studio di Ripoll et al. (2020) [66]. In ogni caso studi in letteratura hanno consigliato di non eccedere con il tempo di svolgimento della prova, onde non incorrere in valori di SHMA distorti, a causa della non più trascurabile crescita cellulare. Un'ultima problematica riguarda, come già esposto nella sezione dei fenomeni competitivi, l'impatto che la popolazione omoacetogena può avere sulla stima dei valori di SHMA.

Tabella 2.11: Valori delle costanti di semi-saturazione relative a H_2 e CO_2 in funzione della tipologia di biomassa e della condizione di temperatura, valori rielaborati da Poletti (2020) [38]

Parametro	Valore	U.M	Biomassa	Condizione	rif.
K_{S,H_2}	$1,2 \cdot 10^{-6}$	mol/L	n.d.	Mesofilia	[74]
	$4,75 \cdot 10^{-6}$	mol/L	n.d.	n.d.	[75]
	5,81 - 7,3	μM	<i>M. hungatei</i>	n.d.	[76]
	$1 \cdot 10^{-6}$	mol/L	<i>M. smithii</i>	Mesofilia	[77]
	$3,75 \cdot 10^{-5}$	mol/L	n.d.	n.d.	[55]
K_{S,CO_2}	11	% v/v	n.d.	Termofilia	[78]
	$1,3 \cdot 10^{-6}$	mol/L	n.d.	Mesofilia	[74]

n.d = non disponibile; M = mol/L

In **Figura 2.26** si riportano gli step finali della metanogenesi con le energie libere di Gibbs dei processi coinvolti.

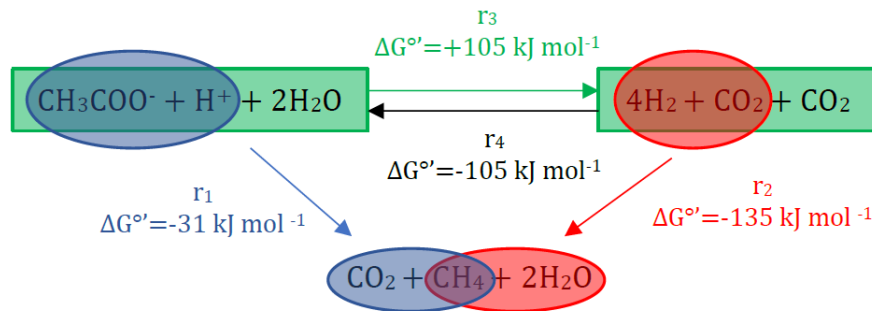


Figura 2.26: Energia libera delle reazioni nell'ultima fase del processo AD: r_1 = metanogeni acetoclasti, r_2 = metanogeni idrogenotrofi, r_3 = SAO, r_4 = omoacetogeni, [66]

Il contributo di questa popolazione microbica, nei confronti del consumo dei substrati e nella possibile produzione di metano dovrebbe, essere stimato ed escluso nei bilanci di massa effettuati, rispetto ai substrati consumati ed ai prodotti di reazione, in modo da poter valutare i parametri cinetici corrispondenti esclusivamente ai metanogeni idrogenotrofi, per poter così eseguire una modellazione adeguata del processo.

2.7 Trasferimenti di massa gas-liquido

L'avanzamento delle tecnologie biologiche di metanazione Power-to-Gas su larga scala richiede un focus dedicato al trasferimento di massa H_2 gas-liquido, che generalmente limita la conversione di H_2 in CH_4 . Vari studi presenti in letteratura hanno identificato tale fenomeno come la sfida principale per sviluppare una biometanazione tecnicamente ed economicamente fattibile su scala industriale. I metanogeni possono convertire solo l' H_2 disciolto, ma il tasso di assorbimento dell' H_2 è ostacolato dal basso partizionamento liquido e dalla difficoltà di distribuire l' H_2 in modo efficiente nella fase liquida del reattore, specialmente nei reattori a larga scala di maggiori dimensioni [79].

Il tasso di trasferimento di massa gas-liquido per l'idrogeno è descritto dalla seguente equazione:

$$r_t = 22,414 \cdot k_{La} \cdot (H_{2L,sat} - H_{2L}) \quad (2.30)$$

dove r_t è il tasso di trasferimento di massa gas-liquido H_2 [L/(L_{Reattore} · day)], 22,414 è il volume corrispondente che occupa una mole di gas a condizioni normali di temperatura e pressione [L/mol], k_{La} è il coefficiente globale di trasferimento [day⁻¹], $H_{2L,sat}$ è la massima concentrazione di H_2 nella fase liquida all'equilibrio con la fase gas descritta dalla legge di Henry [mol/L] e infine H_{2L} esprime la concentrazione di H_2 disciolto nella fase liquida [mol/L].

In questa sezione vengono riprese le basi teoriche che caratterizzano i trasferimenti di massa gas-liquido fondati sulla ben nota teoria del doppio film, quindi vengono analizzati i principali parametri operativi che influenzano il trasferimento di massa gas-liquido dell'idrogeno, prendendo in considerazione alcune delle configurazioni reattoristiche già citate nelle sezioni precedenti.

2.7.1 Teoria del doppio film

Il trasferimento di massa gas-liquido, raffigurato in **Figura 2.27**, si verifica fondamentalmente perché le fasi bulk gas e liquida non sono tra loro in equilibrio. Tale teoria presuppone che le concentrazioni nel bulk gas e nel bulk liquido contengano quantità omogenee del composto gassoso a causa della convezione, mentre il trasferimento di massa nei film avviene solo per diffusione molecolare, attraverso i due film, liquido e gas, a contatto tra loro [79].

I film costituiscono quindi le resistenze al trasferimento di massa gas-liquido. La teoria del doppio film presuppone lo stato stazionario, ovvero che il flusso di gas dal bulk gas al bulk liquido J_T [mol/(m² · s)] sia uguale al flusso di gas attraverso i singoli film, J_g e J_l [mol/(m² · s)]:

$$J_T = J_g = J_l \quad (2.31)$$

Utilizzando la prima legge di Fick della diffusione, è possibile esprimere il flusso attraverso i film gas e liquido come il prodotto tra i coefficienti di trasferimento di massa lato gas (k_g) e liquido (k_l) e le forzanti del processo lato gas e liquido, rappresentate rispettivamente dalla differenza tra le pressioni parziali tra il bulk gas e l'interfaccia gas-liquido ($P_g - P_{g,i}$), mentre ($C_{l,i} - C_l$) esprime la differenza di concentrazioni del gas disciolto tra l'interfaccia gas-liquido e il bulk liquido:

$$\begin{cases} J_g = k_g \cdot (P_g - P_{g,i}) \\ J_g = k_l \cdot (C_{l,i} - C_l) \end{cases} \quad (2.32)$$

Si suppone che le fasi gassosa e liquida siano in equilibrio all'interfaccia e possano essere correlate alla legge di Henry. Va sottolineato che per gas poco solubili quali l'idrogeno, è possibile approssimare la $P_{g,i} = P_g$ e quindi trascurare la resistenza diffusoria nel film fase gas. Assumendo l'ipotesi di assenza di limitazione nel film gas, è possibile calcolare le concentrazioni all'equilibrio sull'interfaccia secondo la (2.33), dove H_A [(atm · m³)/mol] rappresenta la costante di Henry del gas:

$$P_{g,i} = P_g = H_A \cdot C_{l,i} \quad (2.33)$$

Integrando la prima legge di Fick con gradiente di concentrazione costante attraverso un film diffusivo, il modello del doppio film esprime i coefficienti di trasferimento di massa k_l e k_g come funzioni dei coefficienti di diffusione del gas e degli spessori dei film:

$$\begin{cases} k_g = \frac{D_g}{\delta_g} \\ k_l = \frac{D_l}{\delta_l} \end{cases} \quad (2.34)$$

Dove D_g e D_l sono i coefficienti di diffusione molecolare dei gas [m² · s⁻¹], rispettivamente nelle fasi gas e liquida. L'interfaccia gas-liquido non ha volume,

quindi è impossibile determinare le concentrazioni all'interfaccia ($P_{g,i}$ e $C_{l,i}$). Il flusso complessivo dal bulk gas al bulk liquido (J_T) è invece legato a concentrazioni misurabili nelle fasi gas e liquido e descritto dal prodotto tra coefficiente globale di trasferimento di massa K_L [$m^3 \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$] e forzante complessiva di processo ($C_i^* - C_l$):

$$J_T = K_L \cdot (C_i^* - C_l) \quad (2.35)$$

Dove $C_i^* = P_g/H_A$ è la concentrazione del gas disciolto all'equilibrio nel bulk gas, considerando la sua pressione parziale P_g .

Mettendo a sistema la (2.31), le equazioni del sistema (2.32) e la (2.35), è possibile ottenere la (2.36):

$$\frac{1}{K_L} = \frac{1}{k_g \cdot H_A} + \frac{1}{k_l} \quad (2.36)$$

Considerando gas poco solubili, il film gas è in equilibrio con il bulk, per tale motivo, secondo la (2.32), il coefficiente k_g tende ad infinito, portando ad annullare il primo termine a destra dell'uguale della (2.36). Per tale ragione nel caso dell'idrogeno è possibile approssimare $K_L \simeq k_l$. Al contrario, la resistenza del film gassoso controlla la velocità di trasferimento di massa dei composti con un alto partizionamento del liquido, perché nel film liquido si stabiliscono elevati gradienti di concentrazione, raggiungendo rapidamente le concentrazioni a saturazione, portando quindi all'annullamento del termine $1/k_l$ della (2.36).

Infine è possibile correlare J_T al rateo di trasferimento di massa volumetrica gas-liquido r_{g-l} [$mol \cdot m^{-3} \cdot s^{-1}$], moltiplicando per l'area specifica di interfaccia gas-liquido a [$m^2 \cdot m^{-3}$], attraverso la (2.37):

$$r_{g-l} = K_L a \cdot (C_i^* - C_l) \quad (2.37)$$

Il tasso di trasferimento di massa H_2 gas-liquido è funzione del gradiente di concentrazione, del coefficiente di trasferimento di massa e dell'area specifica disponibile per la diffusione dell'idrogeno, ognuno dei quali dipende dal design e dalle condizioni del processo, come riassunto in **Figura 2.28**.

2.7.2 Influenza dei parametri di processo

Alcune delle specifiche generali del processo limitano i gradi di libertà nella selezione delle condizioni operative per l'ottimizzazione del trasferimento di massa. Le specifiche delle concentrazioni di CH_4 e H_2 nel gas prodotto e la

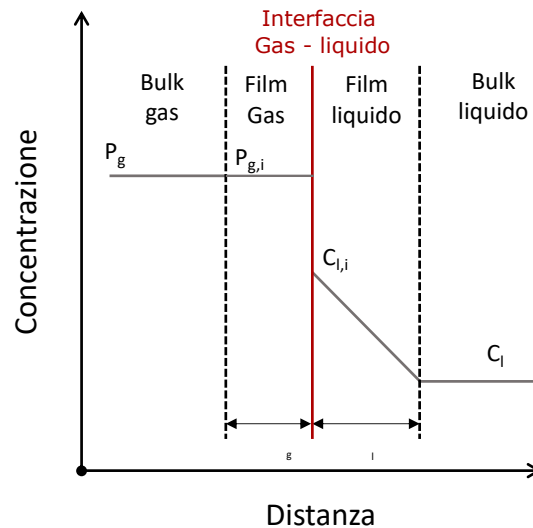


Figura 2.27: Profilo di concentrazione del gas durante l'assorbimento di un composto gassoso in una fase liquida, come rappresentato dalla teoria del doppio film: P_g è la pressione parziale del gas nella fase del bulk gas; $P_{g,i}$ è la pressione parziale del gas all'interfaccia gas-liquido (per gas poco solubili si assume non vi sia limitazione al trasferimento nel film gas e quindi risulta $= P_g$); $C_{l,i}$ è la concentrazione di gas disciolto all'interfaccia gas-liquido; C_l è la concentrazione di gas disciolto nel liquido bulk. δ_g e δ_l sono rispettivamente lo spessore dello strato limite di gas e di liquido [79]

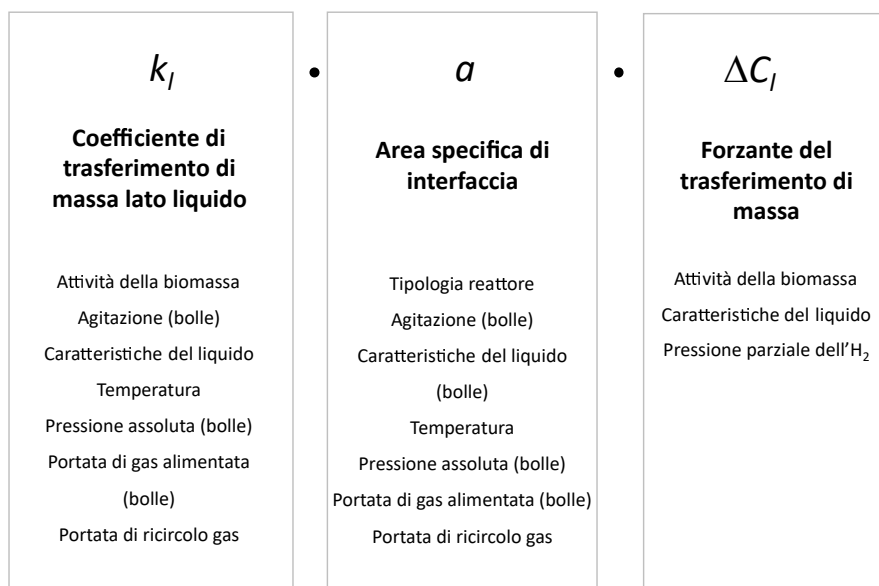


Figura 2.28: Panoramica della relazione tra i parametri di processo discussi e il trasferimento di massa H_2 gas-liquido. Molti dei parametri di processo elencati sono altamente correlati, come la temperatura e l'attività microbica o la temperatura e le caratteristiche del liquido. L'influenza specifica dei singoli parametri dipende dal reattore e dal design del processo. La notazione di "bolle" indica la rilevanza per i reattori in cui l' H_2 è disperso come bolle. [79]

purezza della fonte di CO₂ sono esempi di tali condizioni limite, che influenzano nella biometanazione la forzante per il trasferimento di massa H₂ gas-liquido. In generale, il tipo di sistema di biometanazione (in-situ o ex-situ) influenza notevolmente i gradi di libertà nella fase di progettazione. I parametri di processo sono scelti più liberamente nella biometanazione ex-situ che nella biometanazione in-situ, per i motivi già citati nelle sezioni precedenti. Di seguito verranno definiti alcuni dei parametri che caratterizzano i trasferimenti di massa, che non sono stati trattati nelle sezioni precedenti e che richiedono una più accurata definizione, al fine di comprendere meglio le influenze delle condizioni operative adottate e della configurazione reattoristica in un processo di biometanazione. Di seguito verranno trattate:

- attività della biomassa;
- area specifica di interfaccia gas-liquido (a);
- miscelazione;
- pressione totale di esercizio;
- portata di ricircolo gas.

Attività della biomassa

Anche se l'attività della biomassa non è un parametro operativo a tutti gli effetti, essa gioca un ruolo fondamentale nei processi di biometanazione interessati dal trasferimento di massa gas-liquido. Questo grazie al fatto che la biomassa converte l'H₂ all'interno della cellula, quindi può convertire il gas disciolto già all'interno del film liquido stagnante, che separa l'interfaccia gas-liquido dal bulk, in quanto è proprio in questo strato che si osservano dimensioni delle particelle molto ridotte, quindi una maggiore semplicità di ingresso nella membrana cellulare, come spiegato in **Figura 2.29**. Questo permette di aumentare il gradiente diffusionale rispetto ai processi puramente fisici di trasferimento, andando ad apportare un ulteriore incremento della forzante ($C_l^* - C_l$) del processo [79].

Da un punto di vista matematico questo concetto si traduce nell'esprimere l'incremento della capacità di trasferimento, utilizzando un fattore (E) che rappresenta il rapporto tra il rateo di trasferimento con conversione biologica nel film liquido (r_{g-l}) e in sua assenza (r_{g-l}). Per la definizione della E , in letteratura sono presenti molte formulazioni: viene riportata quella di Merchuk [80]

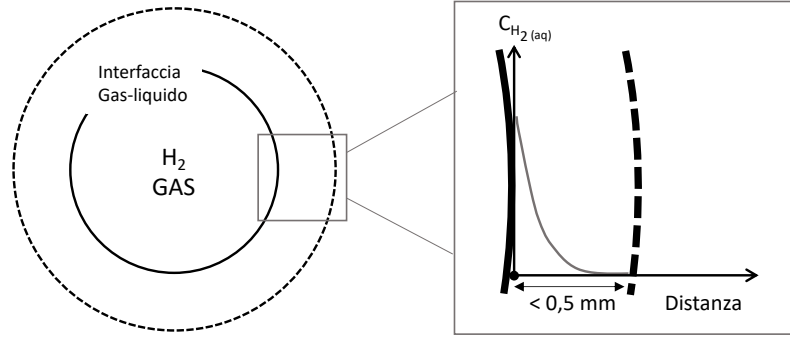


Figura 2.29: Dettaglio dei gradienti di concentrazione dell' H_2 nell'intorno dell'interfaccia gas-liquido. Alcuni studi effettuati con microsensori hanno suggerito che la conversione dell' H_2 nei sistemi di biometanazione avvenga in una zona ristretta vicino all'interfaccia gas-liquido, a causa di una combinazione di bassa solubilità dell' H_2 e alta capacità di conversione microbica [79].

ripresa da Jensen et al. (2021), utilizzata per i trasferimenti dell' O_2 e riportata nel sistema di equazioni (2.38):

$$\begin{cases} r_{g-l} = E \cdot K_L a \cdot (C_l^* - C_l) \\ E = 1 + \left(\frac{q_x \cdot x_b \cdot D_l}{2 \cdot k_l^2 \cdot (C_l^* - C_l)} \right) \cdot f(x_b) \end{cases} \quad (2.38)$$

Dove q_x [$mol_{substrato}/g_{biomassa}/s$] rappresenta la velocità specifica di rimozione del substrato, x_b è la concentrazione della biomassa [$g_{biomassa}/m^3$], D_l è il coefficiente di diffusione molecolare nello strato liquido [m^2/s], k_l il coefficiente di trasferimento di massa nel film liquido [m/s], $(C_l^* - C_l)$ è la driving force del trasferimento [mol/m^3] e $f(x_b)$ è funzione della distribuzione cellulare della biomassa nel film liquido. La rappresentazione grafica del sistema (2.38) è riportata in **Figura 2.30**.

L'azione della biomassa nel film liquido si riduce al crescere della k_l (ovvero per decrementi dello spessore del film liquido δ_l) e all'aumento del gradiente di trasferimento $(C_l^* - C_l)$, presentando un asintoto pari ad 1.

Area specifica di interfaccia gas-liquido (a)

L'area specifica di interfaccia gas-liquido (a) è un parametro primario alla base della scelta del tipo di reattore. Il modo più comune ed efficace di generare area per lo scambio di massa gas-liquido è attraverso la dispersione di bolle nella fase liquida. Nei reattori con dispersione a bolle, quelle di idrogeno possono essere disperse attraverso diversi tipi di diffusori o sistemi di iniezione, come tra gli altri gli iniettori Venturi. L'area volumetrica di interfaccia gas-liquido è

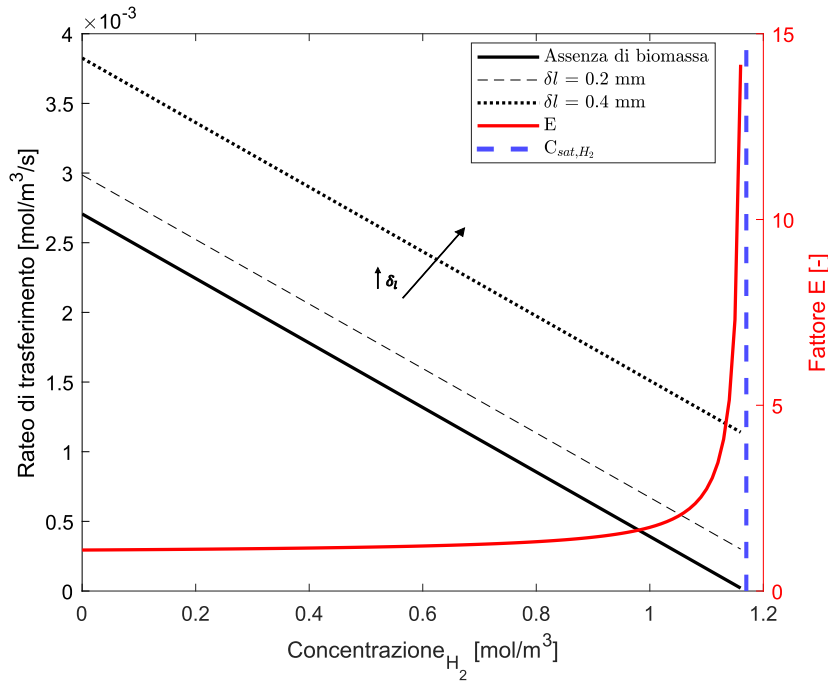


Figura 2.30: Figura che riporta un esempio numerico dell'applicazione della formula di Merchuk, al variare della concentrazione dell'idrogeno disciolto. $C_{sat,H_2} = 1,17$ [mol/m³]; $P_{pH_2} = 1,6$ [bar]; $T = 37^\circ\text{C}$, $K_{H,H_2} = 7,31 \cdot 10^{-4}$ [mol/L], $c_{sv} = 1,5$ [g/L], $K_{La} = 2,31 \cdot 10^{-3}$ [s⁻¹], $q_x = 3,42 \cdot 10^{-5}$ [molH₂/gsv/s], $D_{H_2} = 8,5 \cdot 10^{-9}$ [m²/s].

inversamente proporzionale rispetto al diametro della bolla, secondo la (2.39), dove ϵ "gas holdup" - parametro che rappresenta l'accumulo di gas - è definito come il rapporto tra il volume di gas nella dispersione gas-liquido (V_g), rispetto al volume totale della dispersione gas-liquido (V_t), e d_{mean} è il diametro medio delle molecole di gas. Il tempo di ritenzione della bolla nella fase liquida si modifica anch'esso in funzione della dimensione della bolla, poiché durante la risalita si ha un fenomeno di coalescenza, legato alla diminuzione della pressione idrostatica, comportando un aumento della velocità di risalita della stessa [79].

$$\begin{cases} a = \frac{6 \cdot \epsilon}{(1 - \epsilon) \cdot d_{mean}} \\ \epsilon = \frac{V_g}{V_t} \end{cases} \quad (2.39)$$

Nei reattori basati sulla dispersione di bolle tale parametro è influenzato da diversi fattori, tra cui l'agitazione, la velocità di ricircolo del gas, la temperatura, la pressione e le caratteristiche reologiche del liquido; mentre nei sistemi basati sul trasferimento con utilizzo di una membrana, la (a) è determinata dall'area superficiale del modulo a fibra cava sommerso. La penalità dal punto di

vista del trasferimento di massa è la resistenza diffusionale aggiuntiva al trasferimento di massa H_2 gas-liquido nel materiale della membrana, che dipende dalle caratteristiche della stessa, come la dimensione dei pori e l'idrofilia. Un altro problema già discusso nelle sezioni precedenti è la possibile formazione di "fouling" sulla membrana causato ad esempio dallo sviluppo di un biofilm che comporta un ulteriore aumento della resistenza diffusionale. Nei reattori TBR l'area di interfaccia per il trasferimento di massa è indipendente dalla miscelazione gas-liquido e il tempo di ritenzione del gas è completamente controllato dalla portata gassosa alimentata. La superficie attiva è costituita da quella del materiale di riempimento, il quale è coperto dal biofilm. In **Figura 2.31** si riporta uno schema della formazione dell'area specifica di interfaccia nelle tre configurazioni reattoristiche sopra descritte.

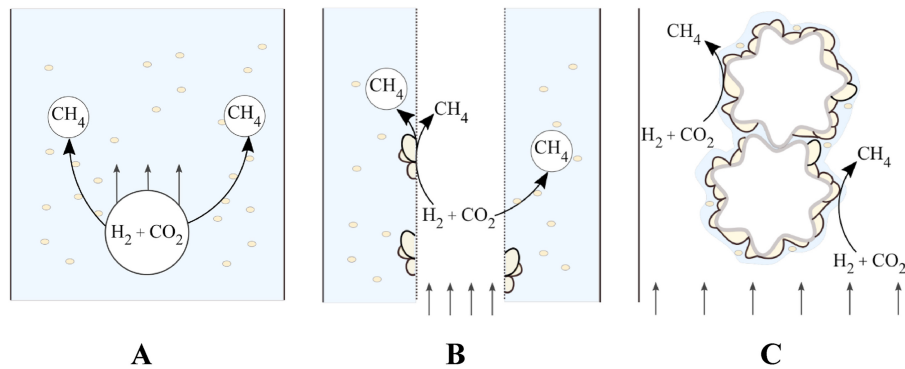


Figura 2.31: Generazione dell'area specifica di interfaccia in reattori a dispersione di bolle (A), a membrana (B) e TBR (C). La figura non è in scala e raffigura la biomassa. Il diametro delle bolle può variare dal micrometro al centimetro e dipende dalle condizioni di processo applicate [79].

Miscelazione

La miscelazione è usata per promuovere il trasferimento di massa nei reattori sommersi con dispersione delle bolle. Generalmente la velocità del miscelatore e il design della girante sono i principali parametri operativi che influenzano il trasferimento di massa gas-liquido nei CSTR. Le giranti servono ad aumentare l'area dell'interfaccia gas-liquido (a), rompendo le bolle in sfere più piccole, influenzando quindi il d_{mean} , (2.39) e creando percorsi di miscelazione che forzano meccanicamente le bolle di gas ascendenti a rimanere nel liquido, quindi ad aumentare il gas holdup (ϵ). Inoltre gli sforzi tangenziali generati dalla miscelazione possono aumentare ulteriormente il coefficiente di trasferimento di massa lato liquido (k_l), riducendo lo spessore del film liquido all'interfaccia gas-liquido

(δ_l , (2.34)). L'influenza generale dell'agitazione sul coefficiente globale del trasferimento di massa è dimostrata dalla correlazione di Van't Riet, generalmente utilizzata per i trasferimenti gas-liquido dell'ossigeno, ma che rimane valida a livello teorico anche per l'idrogeno:

$$K_L a = A \cdot \left(\frac{P}{V} \right)^B \cdot v_s^C \quad (2.40)$$

Dove P è la potenza dissipata per l'agitazione [Watt], V è il volume del reattore [m^3], v_s è la velocità superficiale del gas [$\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$], definita come il rapporto tra la portata volumetrica di gas alimentato e la sezione trasversale del reattore e A , B e C sono costanti empiriche.

Pressione totale di esercizio

Il tasso volumetrico di produzione di metano generalmente cresce all'aumentare della pressione di esercizio del reattore, come riportato da diversi studi sulla biometanazione. Questo perché un incremento della pressione del reattore aumenta il gradiente del trasferimento di massa H_2 gas-liquido proporzionalmente alla crescita della pressione parziale di H_2 , quindi alla massima concentrazione a saturazione che è possibile ottenere. Tuttavia l'aumento della pressione porta ad una riduzione della $K_L a$, soprattutto nei sistemi con diffusori a bolle [79]. Assumendo di operare a portata massica costante, l'aumento della pressione del gas si traduce in una sua compressione e quindi in una maggiore densità e in una minore velocità di risalita del gas v_s . Nonostante una diminuzione del diametro medio (d_{mean}) delle bolle che dovrebbe favorire l'aumento della a , secondo la (2.39) la diminuzione della v_s potrebbe altresì compensare tale effetto positivo [79], in quanto si avrebbe un minore numero di bolle che verrebbero disperse nell'unità di tempo, perciò si avrebbe anche un abbassamento del gas holdup (ϵ , (2.39)), con conseguente abbassamento della $K_L a$.

Portata di ricircolo gas

Il ricircolo del gas dello spazio di testa contenente H_2 non convertito è una strategia comune per aumentare i tassi di trasferimento di massa nei reattori di biometanazione ex-situ. Esso può accrescere il trasferimento dell'idrogeno, aumentando la portata di iniezione di gas nel liquido, permettendo di incrementare l'area di interfaccia (a), portando allora ad una migliore miscelazione del reattore, quindi ad un maggiore gas holdup (ϵ), con conseguente crescita della $K_L a$. Come testimoniato anche nello studio di Bassani et al. (2017) [62], è stato

osservato un aumento del 36% nella K_La , raddoppiando la portata di ricircolo gas in un reattore di biometanazione ex-situ termofilo dotato di diffusori in acciaio inossidabile, combinati con spugna/membrana di ceramica di allumina per l'iniezione del gas. Per contro, nel momento in cui venisse ricircolato il gas presente nello spazio di testa costituito da una bassa concentrazione volumetrica di idrogeno (come dovrebbe avvenire nel caso di un processo di biometanazione efficiente), si otterrebbe una riduzione della pressione parziale dello stesso, quindi un possibile peggioramento nel trasferimento di massa gas-liquido. In conclusione incrementare la portata di ricircolo migliora la K_La del sistema, tuttavia, per apprezzarne un vantaggio dal punto di vista dell'efficienza del processo di biometanazione, occorrono analisi caso per caso.

3 | MATERIALI E METODI

In questo capitolo viene presentato il lavoro sperimentale svolto ai fini della stesura di questo elaborato di tesi di laurea. Di seguito vengono espone: le tappe che hanno caratterizzato l'attività sperimentale, la strumentazione utilizzata e il set up delle prove, le tecniche di analisi dei dati, corredate delle relative ipotesi e la struttura dei modelli proposti. L'attività di ricerca è composta da una parte sperimentale caratterizzata da attività sul campo e in laboratorio, e da una seconda parte di interpretazione dei risultati, svolta anche grazie ai modelli sviluppati.

3.1 Prove di SHMA

Lo scopo della parte sperimentale si è concretizzato tramite la realizzazione di prove di SHMA su un fango ad alta attività, derivante da un impianto pilota di upgrading ex-situ, operante presso l'impianto di depurazione di San Giuliano Ovest - gestito dalla CAP Holding S.p.a. - con l'ausilio di differenti apparati sperimentali. Si è cercato di identificare il livello dei parametri di prova, pressione, miscelazione, volume e le condizioni ottimali, per trarre utili indicazioni sulla conduzione delle prove. Sono state effettuate analisi matematico-statistiche, al fine di identificare correlazioni tra i diversi parametri operativi della prova, in modo da comprendere quali fossero le variabili che avrebbero avuto un impatto determinante rispetto al valore di SHMA misurato e, di conseguenza, stabilire i limiti massimi di quantificazione dell'SHMA per il set di parametri utilizzato. Un altro obiettivo è stato quello di indagare, su due differenti apparati di misura, l'effetto dell'applicazione delle medesime condizioni operative, al fine di valutare, sia la riproducibilità delle prove, che la possibilità di alternare il loro utilizzo. Inoltre è stato valutato il confronto tra i valori di SHMA ottenuti sperimentalmente, rispetto ai valori misurati nel reattore di origine, in modo da effettuare una comparazione per evidenziare le possibili problematiche di trasferimento di massa gas-liquido. Infine, in concomitanza alle prove di SHMA, è stata condotta la misura dei gas disciolti (H_2 , CO_2 e CH_4) attraverso apposita strumentazione. Tale analisi è stata fondamentale, poiché ha permesso di comprendere meglio le dinamiche che avvengono all'interno della prova rispetto ai substrati solubili.

Questa misura ha fornito un set di dati impiegato per la simulazione dei risultati del modello sviluppato, al fine di valutare la capacità dello stesso di simulare le prove di SHMA e calibrare i valori dei due parametri K_{La} e K_s .

In **Tabella 3.1** e **Tabella 3.2** sono riportati gli schemi riassuntivi e completi delle prove fatte e dei codici di riferimento utilizzati nel seguito della trattazione.

Tabella 3.1: Set di prove di SHMA eseguite per i due apparati e rispettivi codici identificativi (colonna #) con Vol = volume, Pre = pressione e Mix = miscelazione.

(a) Apparato 1 - OxiTop				(b) Apparato 2 - Methan Tube			
#	Vol [mL]	Pre [bar]	Mix [rpm]	#	Vol [mL]	Pre [bar]	Mix [rpm]
OX1	53,5	1,2	400	MT1	200	1,2	400
OX2	160,0	1,2	400	MT2	600	1,2	400
OX3	53,5	1,2	0	MT3	200	1,6	0
OX4	160,0	1,2	0	MT4	600	1,6	0
OX5	53,5	1,2	800	MT5	200	1,6	800
OX6	160,0	1,2	800	MT6	600	1,6	800
OX7	106,5	1,2	0	MT7	400	1,2	0
OX8	106,5	1,2	800	MT8	400	1,2	800
OX9	106,5	1,2	400	MT9	400	1,6	400
				MT10	200	2,0	400
				MT11	600	2,0	400
				MT12	400	2,0	0
				MT13	400	2,0	800
				MT14	200	2,0	800

Tabella 3.2: Set di parametri utilizzato per l'allestimento delle prove per l'analisi dei gas disciolti sull'Apparato 2 e rispettivi codici identificativi (colonna #)

#	Volume [mL]	Pressione [bar]	Miscelazione [rpm]
a	400	1,2	800
b	400	1,6	800
c	400	2	800
d	400	1,2	400
e	400	1,6	400
f	400	2	400

3.1.1 Materiali

Per la misura dell'SHMA sono stati utilizzati due differenti apparati sperimentali: il primo, definito Apparato 1, è quello per cui il Politecnico di Milano ha sviluppato il suo metodo standard di misura dell'SHMA; il secondo, definito Apparato 2, è il nuovo sistema utilizzato per la realizzazione delle prove di metanogenesi idrogenotrofa, caratterizzato da più ampi range di pressione e di temperatura applicabili, il sistema è stato fornito dall'azienda Biological Care e risponde al nome con marchio registrato di Methan Tube[®]. Per la misura dei gas disciolti è stato utilizzato uno spettrometro di massa con sonda di ingresso a membrana (Membrane Inlet Mass Spectrometer - MIMS), modello HPR-40 DSA fornito dall'azienda HIDEN Analytical.

3.1.1.1 Apparato 1 - OxiTop[®]

L'Apparato 1 ha utilizzato il sistema di misura OxiTop[®], dotato di range di misura 500-1350 hPa per la determinazione della variazione di pressione nello spazio di testa delle bottiglie con un timestep di un dato ogni 12 minuti. Oltre a ciò si è fatto utilizzo di una serie di bottiglie di vetro a 3 colli (volume totale 323 mL) con teste laterali avvitabili, costituite da setti in gomma estraibili, dotate di un foro centrale utilizzato per l'iniezione del gas attraverso apposito ago cannula di diametro 0,9 mm e testa centrale, su cui viene assemblato il trasduttore di pressione OxiTop[®]. Inoltre si è fatto utilizzo di un miscelatore magnetico Cimarec[™] con range 0-1000 rpm, di ancorette magnetiche a rocchetto da 40mm e di un termostato VELP, necessario al mantenimento della temperatura di esercizio della prova, con range di funzionamento 0-40°C.

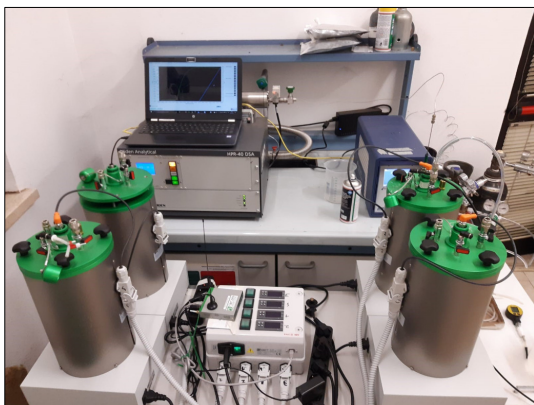


Figura 3.1: Fotografia dell'Apparato 1 durante una fase di prova

3.1.1.2 Apparato 2 - Methan Tube[®]

Il secondo apparato ha fatto utilizzo dello strumento di misura dei BMP Methan Tube[®]. Il dispositivo, di forma cilindrica, è composto da un corpo in alluminio coibentato, dotato di tracciatura capace di mantenere una temperatura costante, nel range di $\pm 1^\circ\text{C}$ e di una copertura su cui sono montati sonde ed attacchi pneumatici per il carico e lo scarico del gas. Le prove eseguibili con questo apparato sono di tipo batch, poiché il materiale viene caricato solo all'inizio; l'apparato è stato progettato per realizzare misure della durata di alcune decine di giorni con range di temperatura da 25 a 70°C.

a)



b)



Figura 3.2: a) Fotografia dell'Apparato 2 durante una fase di prova, b) dettaglio degli attacchi pneumatici sulla testa dell'Apparato 2

Al fine di una corretta esecuzione dell'SHMA, data la necessità di inertizzare lo spazio di testa della prova e di procedere con l'insufflazione di una miscela di H_2 e CO_2 , sulla copertura dello strumento sono presenti tre valvole che permettono l'ingresso e l'uscita di gas e l'alloggiamento del pressostato. Il serbatoio cilindrico che funge da digestore ha una capacità pari a 3,76 litri e le prove al suo interno possono arrivare ad una pressione massima di 4 bar relativi; per questo motivo sulla testa del dispositivo è presente un quarto foro, in cui è alloggiata una valvola di sicurezza che permette lo scarico del gas, qualora esso dovesse raggiungere pressioni troppo elevate. Inoltre sono stati utilizzati 4 agitatori magnetici VELP con range da 0-1200 rpm e 4 ancorette magnetiche cilindriche da 9,5x80 mm per la miscelazione del fango immesso. L'acquisizione dei dati del pressostato avviene tramite modem connesso al server dell'azienda, capace di registrare un dato ogni 4 minuti. Si riporta che a causa di una manutenzione del server da parte dell'azienda, in seguito ad alcune problematiche relative alla

registrazione dati, è stato modificato il tempo di acquisizione delle informazioni ogni 5 minuti. In **Tabella 3.3** si riepilogano le caratteristiche tecniche delle due strumentazioni utilizzate per le prove di SHMA.

Tabella 3.3: Caratteristiche tecniche delle due strumentazioni utilizzate

Parametro	Apparato 1	Apparato 2	U.M.
Volume totale	323	3760	mL
Diametro interno (D)	6,6	12,8	cm
Superficie di trasferimento (S_T) ¹	34	129	cm ²
Altezza (H)	9,5	29,1	cm
H/D	1,44	2,27	-
Materiale	vetro	alluminio	-
Riscaldamento	esterno	tracciatura	-
Pressione max	1,35	5	bar
Miscelazione	ancorette magnetiche	ancorette magnetiche	-

$$^1 S_T = \pi \cdot D^2 / 4$$

3.1.1.3 Apparato 3 - HPR-40 DSA

Lo spettrometro di massa a membrana HPR-40 DSA, **Figura 3.3**, può rilevare i gas disciolti nella fase liquida, fino a concentrazioni dell'ordine delle parti per bilione (ppb) con un range di massa standard di 200 amu. Questo spettrometro di massa è stato adottato in quanto particolarmente adatto alle applicazioni di monitoraggio di gas disciolti presenti a basse concentrazioni, quali appunto l'idrogeno e il metano, che sono gas poco solubili, caratterizzati da concentrazioni a saturazione (considerando le pressioni di esercizio di questa sperimentazione) dell'ordine di grandezza di $10^0 - 10^1$ parti per milione (ppm). Lo strumento registra i dati in modo autonomo una volta fissato un intervallo di tempo, che può essere scelto dall'utente tra 10, 15 o 25 secondi, in base alle impostazioni settate.

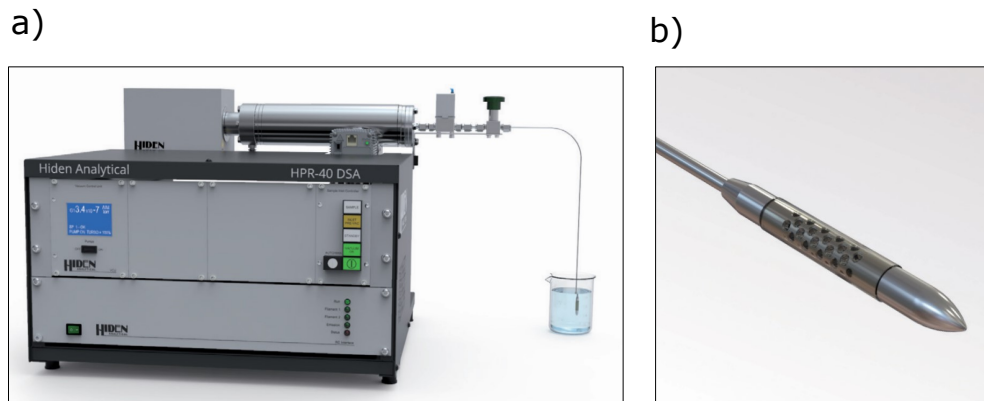


Figura 3.3: a) Immagine dello spettrometro di massa a membrana HPR-40 DSA e b) dettaglio della membrana presente sulla sonda di ingresso, [81]

3.1.2 Fango

3.1.2.1 Composizione microbica del fango

Il fango utilizzato nel corso delle prove è stato campionato da un reattore di upgrading ex-situ, operante in condizioni di mesofilia, presente presso l'impianto di trattamento delle acque reflue di San Giuliano Milanese Ovest. Il suddetto reattore è stato alimentato con miscele di micronutrienti, idrogeno e anidride carbonica gassosi, dal mese di novembre 2020, con l'intento di favorire lo sviluppo di una colonia predominante di *archaea* idrogenotrofi. Come è desumibile dalla **Figura 3.4**, a seguito di analisi genomiche di tipologia real time PCR, effettuate sui campioni nei laboratori di microbiologia dell'Università degli Studi di Milano-Bicocca, si può notare che progressivamente la specie predominante della famiglia *archaea* sia divenuta quella dei microrganismi *Methanobacterium*, i quali sono per l'appunto metanogeni idrogenotrofici.

A seguito di queste analisi è stato possibile conferire al campione la nomenclatura di fango ad alta attività, data l'abbondanza di idrogenotrofi presente. Dato che la sperimentazione delle prove di SHMA è partita nel giorno 298 (si veda **Figura 3.5**), uno degli obiettivi della ricerca svolta è stato anche quello di verificare la capacità delle strumentazioni disponibili di effettuare la misura di SHMA di fanghi ad alta attività, che necessitano di un elevato trasferimento di idrogeno.

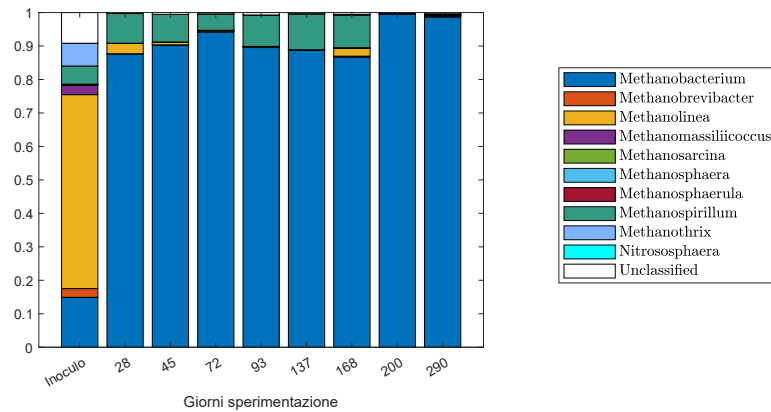


Figura 3.4: Elaborazione dei risultati delle analisi PCR effettuate sui campioni di fango. La figura riporta sull'asse delle ascisse i giorni progressivi di campionamento della sperimentazione, sull'asse delle ordinate invece è presente la percentuale di ogni specie relativa al giorno di campionamento, rispetto alla famiglia dei microrganismi *archaea*.

3.1.2.2 Concentrazione della biomassa

La concentrazione della biomassa è variata durante l'intero periodo di sperimentazione, a causa di una serie di eventi che hanno portato ad una modifica della stessa e che hanno poi impattato la misura di SHMA. Nel primo periodo di prove (I), che è durato dal giorno 298 al 371 (dal 17/09/21 al 29/11/21) il reattore è stato assoggettato a diverse operazioni di manutenzione straordinaria durante il periodo dal 17 settembre al 2 novembre 2021 (dal giorno 298 al giorno 344), quindi è stato utilizzato in maniera discontinua, con iniezioni dei gas solo impulsive, congiuntamente ai campionamenti legati alle prove ed a varie analisi sperimentali effettuate. Ciò ha causato una riduzione temporanea della concentrazione di solidi totali e volatili, il cui valore ha ripreso a crescere alla riattivazione del carico continuo con H_2 e CO_2 , avvenuto intorno al giorno di sperimentazione 344 (02/11/21), come osservabile in **Figura 3.5**. Durante il secondo periodo di prove (II), che è partito dal giorno 423 fino al giorno 464 (21/01/22 al 04/03/22), il reattore è stato operato per tutta la durata con un carico di H_2 e CO_2 alimentato in maniera continua. In **Tabella 3.4** si riporta la concentrazione in termini di SV e ST rilevata durante la sperimentazione.

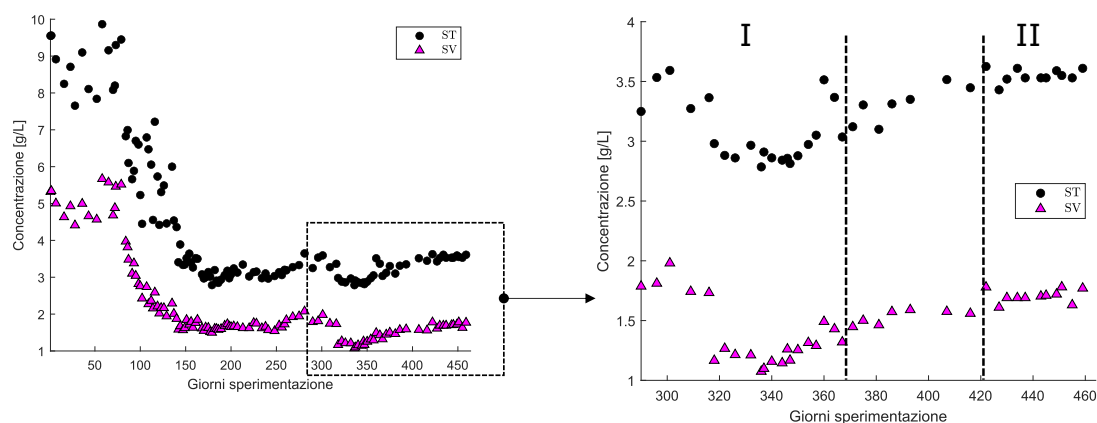


Figura 3.5: A sinistra andamento delle concentrazioni dei solidi totali (ST) e dei solidi volatili (SV) all'interno del reattore durante l'intero periodo di attività, a destra dettaglio dell'andamento nel solo periodo delle prove di SHMA.

Tabella 3.4: Concentrazioni di SV e ST durante le fasi della sperimentazione

(a) Fase I			(b) Fase II		
Data	SV [g/L]	ST [g/L]	Data	SV [g/L]	ST [g/L]
17/09/21	1,91	3,47	20/01/22	1,78	3,63
20/09/21	1,98	3,59	24/01/22	1,61	3,43
28/09/21	1,74	3,27	27/01/22	1,69	3,52
05/10/21	1,73	3,36	31/01/22	1,69	3,61
07/10/21	1,17	2,98	03/02/22	1,69	3,53
11/10/21	1,27	2,88	09/02/22	1,70	3,53
15/10/21	1,21	2,86	11/02/22	1,71	3,53
21/10/21	1,21	2,97	15/02/22	1,72	3,59
25/10/21	1,07	2,79	17/02/22	1,78	3,55
26/10/21	1,10	2,91	21/02/22	1,63	3,53
29/10/21	1,16	2,86	25/02/22	1,77	3,61
02/11/21	1,14	2,84	02/03/22	1,72	3,58
04/11/21	1,26	2,86	04/03/22	1,75	3,60
05/11/21	1,17	2,81			
08/11/21	1,25	2,88			
12/11/21	1,31	2,97			
15/11/21	1,29	3,05			
18/11/21	1,49	3,51			
22/11/21	1,43	3,37			
25/11/21	1,32	3,04			
29/11/21	1,45	3,12			

3.1.3 Metodi

Al fine di determinare il set di parametri ottimale per la prova si sono considerate le strumentazioni ed i loro estremi di comportamento, determinando un range di variazione che non causasse problemi al sistema. Sono stati selezionati tre parametri operativi che sarebbero stati modificati nel corso degli esperimenti: miscelazione, volume liquido del campione e pressione iniziale della miscela di H_2 e CO_2 insufflata. Per entrambi gli apparati e per ogni prova, sono stati preparati:

- due test di misura;
- due test bianchi di confronto.

In ogni caso sono state mantenute valide le prove caratterizzate da un minimo di 2 test di misura ed 1 test bianco di confronto, per l'insorgenza di problematiche legate alla strumentazione, che hanno reso inutilizzabile uno dei reattori dell'Apparato 2.

Considerando l'Apparato 1, si sono fatti variare solamente 2 parametri: il volume liquido e la miscelazione. Il volume liquido, è stato fatto variare in un range compreso tra quello utilizzato nello standard sviluppato da Politecnico di Milano, ovvero tra 1/2 del volume totale, e quello sviluppato da Coates et al. (1996) [70], di 1/6 del volume totale. Per la miscelazione, invece, si è utilizzato un range compreso tra 0 ed il massimo applicabile sul sistema per consentire una miscelazione stabile delle bottiglie, ovvero 800 rpm. Mentre per la pressione, dato il limite strumentale del pressostato installato sulle teste OxiTop[®], capace di leggere le misure fino ad un massimo 1,35 bar assoluti e dato che le bottiglie sono realizzate in vetro, si è stati costretti a lavorare con pressioni pari a 1,2 bar assoluti per ogni prova, in modo da poter permettere al sistema di resistere ad eventuali incrementi della pressione durante la prova.

Per l'Apparato 2 si è scelto di effettuare una variazione di tutti e 3 i parametri, andando così a sfruttare le maggiori potenzialità di questo sistema, dato che il limite superiore della pressione dello strumento è di 5 bar assoluti. Si è quindi mantenuto, per comparazione, lo stesso range di miscelazione e si sono determinati i volumi liquidi tali per cui le prove effettuate sulle due strumentazioni mantengano lo stesso rapporto tra volume liquido e superficie di trasferimento (determinata ipotizzando il liquido in condizioni statiche). È stata fatta questa

scelta, in quanto il rapporto tra superficie e volume viene considerato più rappresentativo per la prova, data la sua capacità di influenzare il trasferimento di gas (in particolare è stata effettuata al fine di compensare il diverso rapporto altezza rispetto al diametro (H/D) delle strumentazioni). Dopo avere trovato i valori, questi sono stati arrotondati ed utilizzati nell'allestimento delle prove. Per quanto riguarda la pressione è stata scelto un livello minimo pari al massimo applicato nell'Apparato 1, e come livello massimo 2 bar assoluti. Nella **Tabella 3.5** si riportano i parametri riguardanti l'Apparato 1 e in **Tabella 3.6** quelli riguardanti l'Apparato 2.

Tabella 3.5: Set di parametri utilizzato nell'allestimento delle prove per l'Apparato 1

Apparato 1	Volume [mL]	Miscelazione [rpm]	Pressione [bar]
Valore minimo	53,5	0	1,2
Valore medio	106,5	400	1,2
Valore massimo	160,0	800	1,2

Tabella 3.6: Set di parametri utilizzato nell'allestimento delle prove per l'Apparato 2

Apparato 2	Volume [mL]	Miscelazione [rpm]	Pressione [bar]
Valore minimo	200	0	1,2
Valore medio	400	400	1,6
Valore massimo	600	800	2,0

L'esecuzione di tutti i test necessari ad ottenere ogni permutazione possibile dei parametri, da operare in doppio e con i rispettivi bianchi, avrebbe richiesto la realizzazione di un totale di 108 test (3^3 combinazioni \cdot 4 prove), a cui sono da aggiungere ulteriori test accessori, quali test di tenuta della strumentazione e test per verificare l'effetto della temperatura sulle prove. Essendo sorta la necessità di determinare un set di parametri ottimale, che portasse a risultati rappresentativi senza perdita di informazioni rilevanti - in modo da poter svolgere l'attività sperimentale nei tempi prestabiliti -, si è scelto di applicare la metodologia matematico-statistica nota come Design of Experiment (DOE).

3.1.3.1 Design of Experiment, (DOE)

In un esperimento vengono modificate le variabili o fattori in ingresso " X_i " di uno o più processi, in modo da poter osservare differenti effetti sulle variabili di risposta del sistema " Y_i ", quindi per trarne delle relazioni. Perciò risulta di fondamentale importanza la scelta del metodo statistico con cui si intende condurre le prove, dato che la complessità del sistema e il dispendio di risorse crescono all'aumentare del numero di fattori che si decide di indagare. In questo contesto i metodi statistici DOE, con cui è possibile modellizzare un esperimento, forniscono uno strumento utile alla pianificazione delle prove, in modo da poter collezionare esiti in maniera valida ed efficiente per la successiva elaborazione di risultati e conclusioni. Si è quindi deciso di fare utilizzo del Box-Behnken Design a 3 fattori, **Figura 3.6**. Nel Box-Behnken Design ogni fattore, o variabile indipendente, è posto ad uno dei tre valori equamente distanziati, generalmente codificati come $[-1, 0, +1]$. Tale metodo consiste nel creare un dominio del set di parametri in modo da poter effettuare l'esecuzione di tutti i punti privi di combinazioni di fattori di estremo. Con questa metodologia i tre fattori scelti ($X_1 = \text{volume}$, $X_2 = \text{pressione}$ e $X_3 = \text{miscelazione}$) vengono codificati con la terna di valori $[-1, 0, +1]$, che rappresentano rispettivamente i valori minimo, medio e massimo dei fattori X_i .

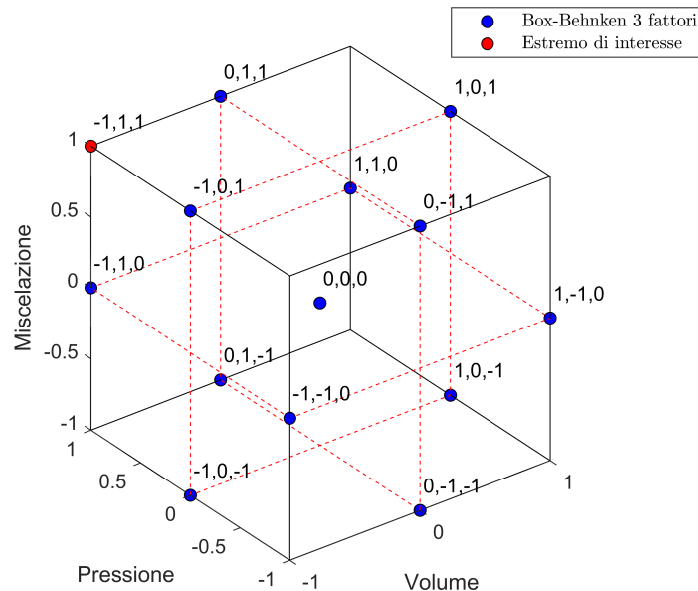


Figura 3.6: Box-Behnken Design a 3 fattori, utilizzato per definire le prove per l'Apparato 2

Attraverso tale metodologia è stato possibile ridurre il numero di test da effettuare sull'Apparato 2 da 81 a 39 (13 combinazioni ripetute in doppio per le prove e 13 combinazioni di prove bianche di controllo). Si è però ritenuta di particolare interesse l'analisi della prova caratterizzata dal set di parametri che massimizza il trasferimento gas-liquido, ovvero minimo volume liquido, massima pressione e massima miscelazione ($[-1, 1, 1]$); portando le combinazioni da 13 a 14 e quindi ad un totale di 42 prove. Le combinazioni per l'Apparato 1, data la presenza di solo due fattori di variazione, si riducono grandemente e considerano sostanzialmente le permutazioni del volume e della miscelazione, fissando il piano del Box-Behnken delimitato dalla pressione di 1,2 bar, ovvero del fattore X_2 pari a -1. In **Tabella 3.7** si riporta la lista completa delle prove eseguite per i due apparati, mostrando la rispettiva corrispondenza tra le prove. Il limite di questa metodica risulta essere l'approssimazione nel confronto tra le prove corrispondenti tra i due apparati. Si osserva, infatti, l'esistenza di due gruppi di prove di confronto:

- prove identiche tra i due apparati, ovvero le prove OX1-MT1, OX2-MT2, OX7-MT7, OX8-MT8, caratterizzate da range di miscelazione, range di volume e pressione identici;
- prove simili tra i due apparati, ovvero OX3-MT3, OX4-MT4, OX5-MT5, OX6-MT6, OX9-MT9. In questo caso si hanno identici range di miscelazione e di volume, ma nel caso dell'Apparato 1 la pressione iniziale è di 1,2 bar, mentre per l'Apparato 2 è di 1,6 bar.

Il metodo applicato per il secondo gruppo di prove consiste nel traslare i punti corrispondenti dell'Apparato 2 presenti sul piano $X_2 = 0$ (pressione = 1,6 bar) sul piano a 1,2 bar, evitando di incrementare il numero di prove da allestire per tale apparato, mantenendo così il Box-Behnken design iniziale a 3 fattori. Si è consapevoli che l'adozione di tale ipotesi abbia ridotto leggermente la significatività dei test statistici effettuati, in quanto non vi è stata una corrispondenza perfetta di tutti e 3 i fattori fra le prove; l'impostazione è stata comunque mantenuta, poiché meno rilevante rispetto alla necessità di valutare con accuratezza il miglior set di parametri utilizzabile.

Tabella 3.7: Set di prove eseguite per i due apparati: a) Apparato 1 e b) Apparato 2. Le prove dalla N°1 (MT1 e OX1) alla N°9 (MT9 e OX9) rappresentano le prove corrispondenti tra i due apparati. Il fattore X_2 per l'Apparato 1 non è riportato dato che è sempre pari a -1, come spiegato nelle sezioni precedenti.

(a) Apparato 1					(b) Apparato 2						
#	X_1	X_3	Vol [mL]	Mix [rpm]	#	X_1	X_2	X_3	Vol [mL]	Pre [bar]	Mix [rpm]
OX1	-1	0	53,5	400	MT1	-1	-1	0	200	1,2	400
OX2	1	0	160,0	400	MT2	1	-1	0	600	1,2	400
OX3	-1	-1	53,5	0	MT3	-1	0	-1	200	1,6	0
OX4	1	-1	160,0	0	MT4	1	0	-1	600	1,6	0
OX5	-1	1	53,5	800	MT5	-1	0	1	200	1,6	800
OX6	1	1	160,0	800	MT6	1	0	1	600	1,6	800
OX7	0	-1	106,5	0	MT7	0	-1	-1	400	1,2	0
OX8	0	1	106,5	800	MT8	0	-1	1	400	1,2	800
OX9	0	0	106,5	400	MT9	0	0	0	400	1,6	400
					MT10	-1	1	0	200	2,0	400
					MT11	1	1	0	600	2,0	400
					MT12	0	1	-1	400	2,0	0
					MT13	0	1	1	400	2,0	800
					MT14	-1	1	1	200	2,0	800

3.1.3.2 Allestimento delle prove

La preparazione delle prove ha richiesto specifico addestramento tecnico, siccome sono stati utilizzati gas altamente infiammabili ed esplosivi. Di seguito vengono elencati in maniera riassuntiva gli step effettuati necessari all'allestimento degli esperimenti, in modo da permettere al lettore una più chiara visione di insieme. La procedura di preparazione di entrambi gli apparati vede la separazione tra dispositivi incaricati di effettuare prove di controllo (bianchi) e dispositivi insufflati con una miscela di H_2 e CO_2 (80% H_2 e 20% CO_2 in modo da rispettare il rapporto stechiometrico 4:1 richiesto dalla reazione (2.5)).

Step 1 - Campionamento, incubazione e degasazione:

Il campione liquido è stato prelevato e successivamente posto in termostato, regolato alla stessa temperatura del reattore di provenienza. Tale operazione è risultata utile per mantenere il fango in temperatura e minimizzare il tempo di lag di attivazione della biomassa, durante l'avviamento della prova. Nel caso di fanghi con elevato contenuto organico, quindi, elevato BMP residuo, degasare il digestato è consigliabile perché permette di ridurre la variazione di pressione legata a questo fenomeno. Tale procedu-

ra, che per fanghi ad elevato BMP residuo, ha generalmente una durata di almeno due giorni, è stata effettuata ponendo il campione in termostato e lasciando il contenitore ospitante il campione non ermeticamente chiuso (in modo da evitare che la pressione del gas generato possa deformare o rompere il contenitore). Dato che l'entità del BMP residuo del fango proveniente dal reattore è risultata trascurabile, il tempo dedicato a questa fase di degasazione è stato ridotto a 1-2 ore.

Step 2 - Preparazione dei bianchi:

I bianchi sono stati effettuati per avere una prova di controllo che abbia duplice valenza:

- A** : analizzare comportamenti anomali a cui potrebbero essere soggette le prove: sbalzi termici repentini nella stanza delle prove e/o impatti accidentali con le apparecchiature;
- B** : utilizzare i valori di pressione misurati dai bianchi e sottrarli punto per punto con il valore di pressione registrato dalle prove. Ciò è utile per ottenere un dato di pressione netto, che tenga conto dell'oscillazione della temperatura nel sistema (a causa della tracciatura elettrica dell'Apparato 2) e/o di un impatto legato alla possibile presenza di BMP residuo del fango. Tale sottrazione risulta necessaria al fine di evitare interferenze rilevanti nel calcolo dei valori di SHMA.

Dopo il riempimento con il volume liquido i bianchi sono stati insufflati con gas inerte (N_2), in modo da garantire il ricambio dello spazio di testa dell'apparato ed assicurare così le condizioni anaerobiche. Il gas è stato immesso utilizzando bombole in pressione dotate di riduttore bistadio. Per l'Apparato 2 si è utilizzato un raccordo flessibile connesso al rispettivo attacco pneumatico sulla testa dello strumento. Per l'Apparato 1 si è fatto uso di raccordi flessibili dotati di aghi a cannula omologati. Il tempo di ricambio dello spazio di testa è stato valutato in maniera empirica per entrambi gli apparati. Utilizzando l'Apparato 2 sono state allestite delle prove in cui è stato campionato il gas con una gas sampling bag (modello SupelTM-Inert Multi-Layer Foil Sigma-Aldrich[®] da 2 L), al termine dell'insufflazione, il gas dallo spazio di testa, con l'adozione di tempi di ricambio tra 8 e 12 minuti. Dopodichè è stato verificato con un gas cromatografo (GC) che la percentuale in volume di N_2 nello spazio di testa fosse prossima al 100%. Con un tempo pari a 10 minuti la percentuale in volume

dell'azoto è risultata \geq del 98-99%; quindi è stato scelto questo tempo medio di ricambio. Il tempo di ricambio dello spazio di testa dell'Apparato 1 è stato determinato anch'esso in maniera empirica adottando a favore di sicurezza un tempo medio di 6 minuti, in quanto il volume dello spazio di testa è nettamente inferiore.

Step 3 - Preparazione delle prove (iniezione miscela H₂ e CO₂):

Dopo il riempimento con il volume liquido, i dispositivi incaricati di condurre le prove sono stati insufflati con la miscela di H₂ e CO₂, utilizzando le tempistiche identiche alle prove in bianco, al fine di garantire il ricambio dello spazio di testa della fase gas e di assicurare le condizioni anaerobiche. Al termine di tale fase si è passati all'insufflazione della miscela alla pressione caratteristica della prova pari a 1,2, 1,6 o 2 bar per l'Apparato 2 e 1,2 bar per l'Apparato 1; la verifica del raggiungimento di tale livello è avvenuta collegando un manometro manuale per la misurazione della pressione alle rispettive valvole di uscita del gas. Durante le fasi di insufflazione e di carico, è stata azionata la miscelazione in modo da favorire la solubilizzazione dei gas (considerando la scarsa solubilità dell'idrogeno). Tale operazione è stata condotta al fine di avere a disposizione, nel momento di avvio della registrazione dei dati della prova, una concentrazione disciolta dell'H₂ e della CO₂ quanto più prossima alla condizione di saturazione.

Step 4 - Avviamento della prova:

Con avviamento della prova si intende il momento in cui avviene la registrazione del dato di pressione da parte della strumentazione. Per entrambi gli apparati l'avviamento è stato attivato una volta terminate le fasi di insufflazione dentro ogni dispositivo.

3.1.4 Prove al contorno

Le prove al contorno sono una serie di prove effettuate al fine di verificare l'accuratezza delle misure sperimentali. Esse sono state effettuate solamente sull'Apparato 2 e sullo spettrometro di massa a membrana, in quanto era la prima volta che venivano utilizzati per effettuare prove di SHMA.

Per l'Apparato 2 si sono rese necessarie le seguenti prove al contorno:

- una prova di tenuta, considerando il limite superiore delle pressioni utilizzate;

- alcune prove di controllo per valutare l'effetto dell'incremento della temperatura sulla variazione di pressione nella fase iniziale della prova, essendo il dispositivo dotato di tracciatura;
- una prova di tenuta, utilizzando all'interno la sonda per la misura dei gas disciolti.

Mentre per lo spettrometro di massa HPR-40 DSA, si rileva:

- test relativo alla capacità e affidabilità dello strumento di misurare le concentrazioni di H_2 e CO_2 , durante le prove condotte sull'Apparato 2.

Prova di tenuta - Methan Tube

Per verificare la tenuta dell'Apparato 2 nei confronti di un gas ad alta permeabilità quale l'idrogeno, è stata effettuata una prova utilizzando acqua deionizzata e non acqua di rete, come volume liquido, in modo da non avere interferenze con possibili interazioni chimico-fisiche relativamente all'equilibrio calcio-carbonico. È stata quindi insufflata la miscela di H_2 e CO_2 (4:1) fino alla pressione assoluta di 2,6 bar (considerando il 30% in più rispetto al limite superiore delle prove pari a 2 bar) e mantenendo attivo il test per un totale di 3 giorni, essendo il tempo medio normalmente previsto per le prove di SHMA. In **Figura 3.7** si mostra il grafico relativo al test di tenuta effettuato in data 06/08/2021, che ha dato esito positivo, eseguito prima della partenza delle prove. Siccome l'Apparato 2 è costituito da un sistema di tracciatura che permette di mantenere la temperatura costante all'interno di un range di $\pm 1^\circ C$ (36,7 - 37,6 °C), è normale osservare un'oscillazione della pressione all'interno di un range ristretto di valori, a causa della variazione continua di tale parametro, poiché la misurazione viene registrata ogni quattro minuti.

Effetto della temperatura

Il fenomeno dell'oscillazione dei valori di pressione legati ad una variazione della temperatura nell'Apparato 2 è stato indagato anche nella fase di start up delle prove. Anche se il fango è stato mantenuto in temperatura all'interno del termostato successivamente al campionamento, le fasi di riempimento del volume liquido e di insufflazione dei gas sono state condotte all'esterno; nonostante che il sistema di tracciatura elettrica di cui sono dotati i dispositivi sia stato mantenuto attivo durante questa fase, la temperatura del fango è comunque sempre scesa (la stanza di alloggiamento delle bombole di gas è stata sempre sottoposta a

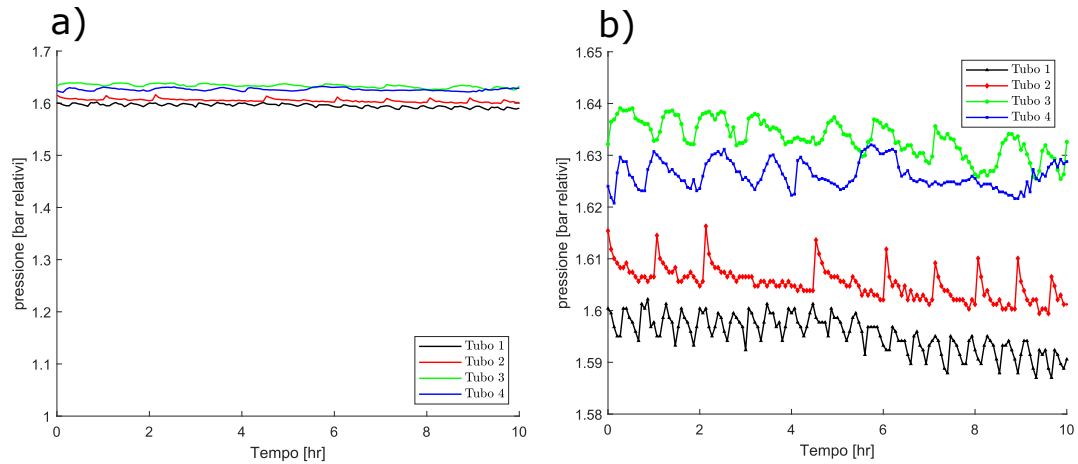


Figura 3.7: a) Grafico che mostra le variazioni di pressione nella prova di tenuta dell'Apparato 2 in un arco temporale di 10 ore, b) dettaglio dell'oscillazione del valore di pressione a causa della variazione di temperatura

ventilazione e gran parte della sperimentazione è stata condotta durante i mesi invernali). È stata successivamente allestita una prova al contorno che avesse un duplice scopo:

- indagare l'entità dell'incremento di pressione in relazione all'aumento di temperatura nel sistema, fino al raggiungimento della temperatura di regime, in modo da poter ottenere il profilo di pressione e il tempo medio per il raggiungimento delle condizioni stazionarie;
- permettere di disaccoppiare e comprendere meglio il comportamento delle prove in bianco, in quanto durante la prova un aumento di pressione dovuto unicamente al riscaldamento avrebbe potuto mascherare altri fenomeni, quali il possibile rilascio di metano residuo, oppure un effetto di degasazione della CO_2 o del metano presenti nel fango, che avrebbe comportato un aumento della pressione.

Per quantificare il fenomeno si è utilizzata la legge dei gas perfetti, analizzando una trasformazione isocora, in quanto il sistema è chiuso e il volume del gas rimane costante. La legge si trasforma così secondo il sistema (3.1).

$$\left\{ \begin{array}{l} P_i \cdot V = n \cdot R \cdot T_i \\ P_{i+i} \cdot V = n \cdot R \cdot T_{i+i} \\ \frac{n \cdot R}{V} = cost \\ \frac{P_{i+i}}{P_i} = \frac{T_{i+i}}{T_i} \end{array} \right. \quad (3.1)$$

Dove i pedici i e $i+1$ identificano due stati differenti del sistema, in due istanti di tempo successivi. Per analizzare tale fenomeno è stata allestita una prova di controllo eseguita in doppio (Prova 1 e Prova 2) sullo stesso dispositivo che è stato utilizzato per effettuare le prove in bianco durante la sperimentazione (Tubo N°3), utilizzando acqua deionizzata con un volume liquido di 400 mL. È stato azionato il riscaldamento e misurata la temperatura del gas con un termometro digitale (TP 101 Digital Thermometer, con range di misurazione [-50°C; +300°C]) ad inizio prova e, successivamente, ogni 5 minuti, in modo da correlare direttamente i dati di pressione e la temperatura con il medesimo timestep. La prova è stata interrotta quando il differenziale di pressione in **Figura 4.1** ha raggiunto lo stato stazionario, il quale ha permesso di identificare il massimo innalzamento della pressione derivante dal raggiungimento della temperatura di regime. La prova è stata quindi validata andando a verificare se vi fosse correlazione tra le misure di temperatura e l'aumento della pressione, valutando l'entità dell'errore tra valori di pressione sperimentali e teorici, calcolati utilizzando il sistema (3.1), computando ad ogni timestep la pressione stimata in funzione del valore di temperatura misurato. Per valutare l'accuratezza della stima fra dati osservati e dati stimati è stato calcolato l'indice statistico MARE (Mean Absolute Relative Error), espresso dalla (3.2).

$$MARE = \sum_{i=1}^n \frac{|\hat{y}_i - x_i|}{n} \quad (3.2)$$

Tale indice rappresenta la media aritmetica dei rapporti tra il valore assoluto dell'errore tra la previsione (\hat{y}_i) e il valore misurato (x_i) in n istanti di tempo (tutti di uguale durata). Tale indice ha l'unità di misura delle grandezze in gioco e rappresenta quindi l'errore medio che si commette in ogni stima puntuale; più l'indice ha un valore di piccola entità, maggiore è la bontà della stima. Inoltre è stato utilizzato il software Microsoft Excel per valutare la correlazione tra temperatura misurata e pressione stimata attraverso l'apposita funzione disponibile

su tale applicazione. In **Tabella 4.1**, nel capitolo dei risultati, si mostrano quelli degli indici statistici per le due prove, in concomitanza coi profili di pressione stimati e misurati.

Prova di tenuta con sonda per la misura dei gas disciolti

La possibilità di avere a disposizione una strumentazione che permettesse la misura delle concentrazioni dei gas disciolti, ha presentato la necessità di effettuare un'ulteriore verifica rispetto alla tenuta dei sistemi, in quanto la sonda non era omologata per gli attacchi pneumatici installati sulla testa dell'Apparato 2. Dopo aver attuato quindi una modifica al corpo della sonda che ne consentisse il suo utilizzo nel sistema, ne è stata verificata la tenuta nei confronti della miscela di H_2 e CO_2 , utilizzando acqua deionizzata come campione liquido e caricando a 2 bar il dispositivo (Tubo N°2) che è stato utilizzato per la misura dei gas disciolti. Si è imposta una pressione pari a 2 bar, in quanto limite superiore delle prove da effettuare. Nella **Figura 3.8** si mostra il profilo di pressione della prova.

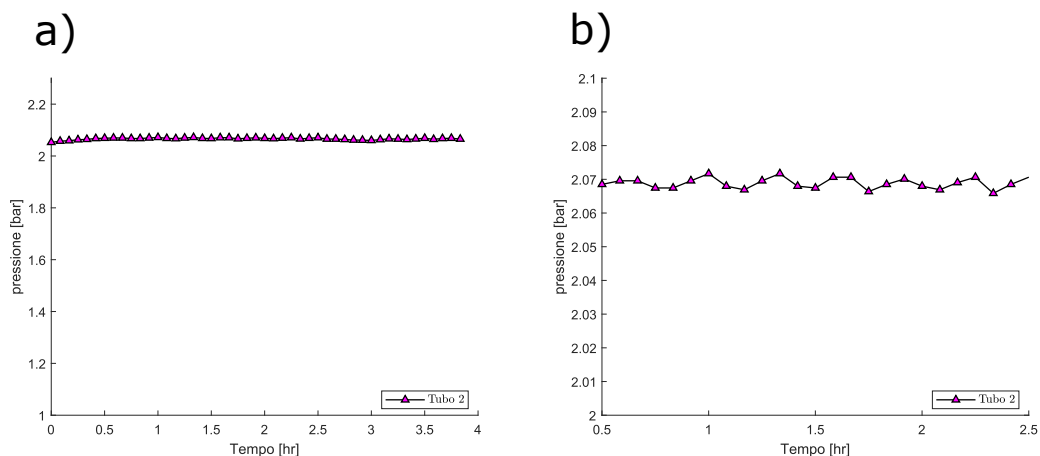


Figura 3.8: a) profilo della pressione nella prova di tenuta con la sonda dei gas disciolti, b) dettaglio della variazione di pressione nelle prime due ore del test

Prove al contorno - HPR-40 DSA

Le prove al contorno per testare la capacità dello strumento nel rilevare le concentrazioni di H_2 e CO_2 sull'Apparato 2 sono state effettuate con un duplice obiettivo:

- valutare se la concentrazione misurata a saturazione in acqua fosse pari alle condizioni ideali teoriche;

- valutare il profilo dell'idrogeno e dell'anidride carbonica in assenza di biomassa e consumo dei substrati.

È stata preparata la soluzione di prova costituita da acqua deionizzata, avente alcalinità pari a quella media misurata durante il periodo di analisi dei gas disciolti. Si è operato con un volume liquido di 400 mL, ed una miscelazione di 800 rpm (in modo da massimizzare il trasferimento), procedendo con l'insufflazione della miscela per un periodo di dieci minuti, assicurando così il ricambio dello spazio di testa. Al termine di questa fase si sono avviate le prove imponendo una pressione successiva di 1,2 bar (Fase I), 1,6 bar (Fase II) e 2 bar (Fase III), raggiungendo per ogni fase le concentrazioni a saturazione.

Le concentrazioni a saturazione ($C_{sat_{i,t}}$) teoriche [ppm] sono state calcolate utilizzando la legge di Henry (3.3), applicando le dovute conversioni (moltiplicando per il peso molecolare della sostanza i -esima PM_i [g/mol] e per il fattore di conversione 1000) e calcolando le pressioni parziali dei due composti (pp_i) con la (3.4).

$$C_{sat_i} = pp_i \cdot H_i \cdot PM_i \cdot 1000 \quad (3.3)$$

$$pp_i = x_i \cdot P_{tot} \quad (3.4)$$

Dove x_i rappresenta la frazione molare del composto i -esimo e P_{tot} la pressione totale della miscela. Le costanti di Henry (H_i) [mol/L/bar] (**Tabella 3.17**) sono state trasformate alla temperatura di lavoro della prova di 37°C, utilizzando la legge di van't Hoff riportata nella (3.5), che esprime la variazione della costante di equilibrio di una reazione chimica in funzione del variare della temperatura, mantenendo costante la pressione esterna. I pedici 1 e 2 rappresentano rispettivamente la condizione iniziale e finale della trasformazione considerata, ΔH è l'entalpia della reazione, R la costante dei gas perfetti e T la temperatura.

$$\ln\left(\frac{H_1}{H_2}\right) = -\frac{\Delta H}{R} \cdot \left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1}\right) \quad (3.5)$$

Le costanti di Henry così calcolate sono riportate in **Tabella 3.8**.

Le elaborazioni effettuate al termine dell'esperimento relative ai profili dei gas disciolti sono riportate in **Figura 4.2**, in concomitanza alle concentrazioni rilevate a saturazione riportate in **Tabella 4.2** (Capitolo 4 - Risultati e discussio-

Tabella 3.8: valori delle costanti di Henry calcolate alla temperatura operativa di 37°C per l'anidride carbonica e l'idrogeno

Composto	Valore	U.M.
CO ₂	$2,59 \cdot 10^{-2}$	mol/L/bar
H ₂	$7,31 \cdot 10^{-4}$	mol/L/bar

ne), le quali sono state confrontate con le concentrazioni a saturazione teoriche derivanti dalla legge di Henry (anch'esse riportate nella medesima tabella).

3.1.5 Analisi

La campagna sperimentale di raccolta dati ha previsto la realizzazione delle analisi riassunte in **Tabella 3.9**. Tali indagini sono risultate utili per calcolare il valore di SHMA e comprendere meglio i fenomeni che possono avvenire durante la prova oltre che per scopi modellistici. Le analisi sono riportate secondo il metodo utilizzato, la frequenza di realizzazione e alcune note specifiche. Di seguito si riporta una sezione dedicata riguardante l'analisi dei gas disciolti.

Tabella 3.9: Analisi effettuate durante la sperimentazione, con metodo e frequenza di realizzazione

Analisi	Metodo	Frequenza	Note
SV, ST	Standard Methods (APHA, 2005)	Pre-prova e post-prova SHMA	1
SST, SSV	Standard Methods (APHA, 2005)	Ogni 2 settimane	-
VFA totali	Test in cuvetta HACH LANGE LCK 365	Pre-prova e post-prova SHMA	1
N-NH ₄ ⁺	Test in cuvetta HACH LANGE LCK 302	Pre-prova e post-prova SHMA	1
Alcalinità	Titolazione con H ₂ SO ₄ 0,1 N	Pre-prova SHMA	1
pH	Rilevazione con multimetro HACH®	Pre-prova e post-prova di SHMA	1
Composizione gas	INFICON Micro GC Fusion®	2/3 volte a settimana	2
Concentrazione dei gas disciolti	Spettrometro di massa Hiden HPR-40 DSA (MIMS)	Durante la prova SHMA	-

¹ In assenza di prove di SHMA 2/3 volte a settimana

² Campionamento con gas sampling bag dal REM2

3.1.5.1 Analisi dei gas disciolti

L'analisi dei gas disciolti ha visto l'utilizzo dello strumento HPR-40 DSA.

Calibrazione dello strumento

La calibrazione dello strumento nei confronti dei gas CH_4 , CO_2 e H_2 è stata realizzata con l'ausilio di un software specifico (QGA Professional). Tale programma, grazie alle librerie di spettri di massa di gas/vapori e la sottrazione automatica delle sovrapposizioni spettrali (**Figura 3.9**), consente una registrazione precisa del modello di frammentazione. Il software, fornito dall'azienda produttrice, è connesso direttamente allo spettrometro e consente il calcolo delle concentrazioni disciolte dei gas i -esimi attraverso la formulazione (3.6).

$$P_{i,c} = (P_{i,r} - val_{Bk} - val_{sp}) \cdot RS \quad (3.6)$$

Partendo da una misurazione della pressione eseguita senza calibrazione ($P_{i,r}$), viene sottratto un valore di concentrazione di background dello strumento (val_{Bk}) e sottratto un termine relativo alle sovrapposizioni spettrali (val_{sp}); il risultato viene poi moltiplicato per un termine RS (Relative sensitivity value) che rappresenta un fattore moltiplicativo adimensionale, che riporta il rapporto dei valori post calibrazione ed in assenza della calibrazione, così da ottenere valori di pressione parziale corretti ($P_{i,c}$); quindi il programma calcola le concentrazioni in ppm o nell'unità di misura desiderata.

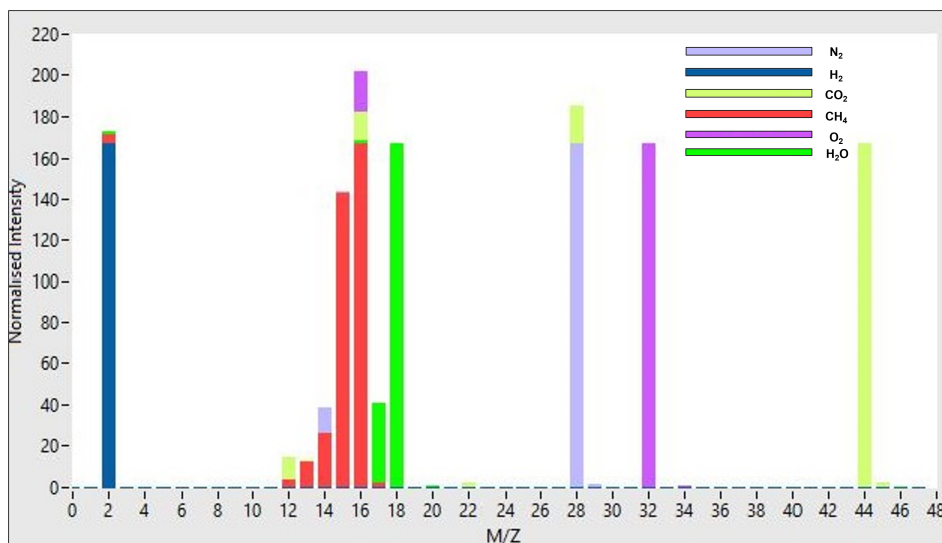


Figura 3.9: Sovrapposizioni spettrali tra i gas analizzati nella prova di SHMA. (M/Z) rappresenta il rapporto massa atomica rispetto alla carica

Per ottenere i valori di background è stata utilizzata una bombola di N₂ (100% v/v); il gas è stato insufflato all'interno di un recipiente contenente la sonda fino a raggiungere le condizioni stazionarie. Tale valore è stato salvato e registrato come val_{Bk} . Per la calibrazione dei gas sono state utilizzate le seguenti bombole di miscela:

1. per l'idrogeno è stata utilizzata una bombola di H₂ (100% v/v);
2. per il metano è stata fornita dall'azienda Sapio una bombola di miscela preparata ad hoc, composta rispettivamente da: N₂ (10% v/v), CO₂ (25% v/v) H₂ (5% v/v) O₂ (1% v/v) e CH₄ (59% v/v);
3. per l'anidride carbonica è stata utilizzata una bombola di CO₂ (100 %v/v).

Set di prove indagato

Questa analisi è stata effettuata durante il secondo periodo di prove che è durato dal giorno 423 (20/01/22) fino al giorno 460 (26/02/22), poiché durante il primo periodo una serie di problemi informatici non hanno consentito l'utilizzo del software adibito alla calibrazione.

Per ragioni legate a vincoli geometrici (volume minimo necessario per la sommergenza completa della sonda pari a 400 mL) e temporali, i set di prove svolte, in cui è stata effettuata la misura in tempo reale dei gas disciolti durante le prove di SHMA, sono stati 6 e sono riportati in **Tabella 3.10**.

Tabella 3.10: Set di parametri utilizzato per l'allestimento delle prove per l'analisi dei gas disciolti sull'Apparato 2

# prova	Volume [mL]	Pressione [bar]	Miscelazione [rpm]
a	400	1,2	800
b	400	1,6	800
c	400	2	800
d	400	1,2	400
e	400	1,6	400
f	400	2	400

Le prove dalla *a* alla *f* sono state allestite in modo da poter verificare, a pari condizione di volume, l'impatto dei due parametri restanti (pressione e miscelazione) sulle concentrazioni dei gas disciolti.

In un'ottica di prova batch nella quale si voglia conseguire l'obiettivo di massimizzare il trasferimento di massa gas-liquido (r_{g-l}), è necessario operare sui parametri dell'equazione (3.7).

$$r_{g-l} = K_L a \cdot (C_l^* - C_l) \quad (3.7)$$

L'equazione sopra riportata permette una migliore comprensione delle scelte effettuate, in quanto la presenza di un minore volume liquido facilita la dissoluzione del gas; per tale motivo si è scelto di condurre le prove a 400 mL e non a 600 mL. Allo stesso modo una maggiore miscelazione a pari volume scelto aumenta la superficie di scambio gas-liquido quindi la $K_L a$; questo ha portato alla scelta di effettuare le prove a 400 e 800 rpm. Per quanto riguarda la pressione, essa è correlata alla massima concentrazione a saturazione C_l^* che si può avere ad inizio prova; una maggiore C_l^* nel sistema promuove il gradiente di trasferimento. Sono state analizzate tutte e 3 le combinazioni (1,2 bar, 1,6 bar, 2 bar), in quanto è risultato di interesse osservare gli effetti di una differente miscelazione, rispetto a prove con medesima pressione e viceversa.

3.1.6 Calcoli e elaborazioni

In questa sezione vengono presentate le ipotesi, i metodi e i calcoli utilizzati al fine di ottenere i valori di SHMA dalle prove effettuate e per verificare il bilancio del COD implementato per l'Apparato 2.

3.1.6.1 Valutazioni condizioni limitanti

Come già citato nel paragrafo 2.6.3 la cinetica di consumo dell' H_2 e della CO_2 da parte della biomassa idrogenotrofa può essere considerata una cinetica di Monod. Per poter misurare la massima attività specifica, quindi l'SHMA, il test deve assicurare condizioni di substrato non limitante sia per l' H_2 che per la CO_2 nella fase liquida, dunque, una cinetica di ordine zero, garantendo $S \gg K_S$. Per confermare l'ipotesi di condizioni non limitanti è possibile calcolare la pressione parziale limite dell'idrogeno e della CO_2 ($pp_{H_2,lim}$, $pp_{CO_2,lim}$) [bar], per cui si avrebbero concentrazioni di substrato limitante (S_{lim}) [mol/L] in fase acquosa. Utilizzando la legge di Henry e le relative costanti alla temperatura operativa di $37^\circ C$ (H_i), riportate in **Tabella 3.8**, è possibile calcolare attraverso il sistema (3.8) la pressione parziale limite delle due componenti, sostituendo, a favore di sicurezza, alla $S_{lim,i}$ il valore più conservativo, quindi maggiore di K_S ,

riportato in **Tabella 2.11**, pari a $3,75 \cdot 10^{-5}$ [mol/L] per l'H₂ e $1,30 \cdot 10^{-6}$ per la CO₂ [mol/L].

$$\begin{cases} pp_{H_2,lim} = \frac{S_{lim,H_2}}{H_{H_2}} \\ pp_{CO_2,lim} = \frac{S_{lim,CO_2}}{H_{CO_2}} \end{cases} \quad (3.8)$$

Questo calcolo porta ad una pressione parziale dell'H₂ di 0,05 [bar] e $5 \cdot 10^{-5}$ [bar] per la CO₂. In tutte le prove si è perciò verificato il valore della pressione parziale finale, per accertare di essere in condizioni non limitanti. Si specifica che le condizioni limitanti non si verificano unicamente nel momento in cui il valore della concentrazione di substrato risulta pari a K_s ; se $S = K_s$ si è certi della presenza di una limitazione, in quanto secondo la cinetica di Monod (si veda paragrafo 2.6.3 equazione (2.29)), la velocità di crescita si dimezza. Quindi la scelta della K_s come valore indicativo delle condizioni limitanti è stata fatta in modo da utilizzare un valore di riferimento riportato in letteratura, sapendo che il suo raggiungimento avrebbe mostrato chiare e rilevanti limitazioni del substrato. Nel capitolo dei risultati e delle discussioni si riportano i valori calcolati. Si anticipa che le pressioni parziali calcolate a fine prova sono state sempre superiori a 0,05 [bar] per l'H₂ e maggiori di $5 \cdot 10^{-5}$ [bar] per la CO₂.

3.1.6.2 Elaborazione dati di pressione e calcolo SHMA

Il primo passo della procedura di calcolo è quello di sottrarre la produzione di gas, anche se trascurabile, delle prove in bianco. Ad ogni step temporale i , il valore della pressione del bianco ($P_{b,i}$) viene sottratto al valore della pressione di prova (P_i), come riportato nell'equazione (3.9); in questo modo si ottiene un dato di pressione netto (P_{net}).

$$P_{net} = P_i - P_{b,i} \quad (3.9)$$

Successivamente si calcola il differenziale di pressione $\Delta P_{net}/\Delta t$, andando a calcolare la variazione di pressione (ΔP_{net}) tra l'istante i e $i+1$ con la (3.10), tale calcolo da come risultato un valore negativo, in quanto si ha un abbassamento della pressione collegato alla rimozione di 5 moli di gas ($4 H_2 + CO_2$), per formarne una di metano, come riportato nella (2.5).

$$\frac{\Delta P_{net,i}}{\Delta t} = \frac{P_{net,i+1} - P_{net,i}}{\Delta t} \quad (3.10)$$

Dato che all'interno dell'Apparato 2 è presente un sistema di tracciatura elettrica per il controllo della temperatura, la valutazione della velocità di abbassamento della pressione, calcolata con la (3.10), è stata fortemente influenzata dalle oscillazioni legate all'effetto della temperatura descritto nelle sezioni precedenti. Infatti nel caso di utilizzo di un timestep di 5 minuti, pari all'intervallo di registrazione del dato da parte dello strumento, il differenziale non è risultato stabile. Per superare tale problema sono stati adottati i seguenti due provvedimenti:

1. la strumentazione è stata posta in un ambiente termicamente stabile, evitando così fluttuazioni più lunghe legate alla variazione della temperatura esterna al sistema. Ciò ha reso in particolar modo stabile la frequenza di oscillazione del sistema con un periodo medio di circa 30 minuti;
2. la pendenza calcolata con la (3.10) è stata stimata sulla base di un set di dati di 1 ora, assorbendo così le variazioni legate alla temperatura, permettendo infine l'ottenimento di un differenziale più stabile, come riportato in **Figura 3.10**. Tale scelta è stata mantenuta anche per l'Apparato 1, in modo da uniformare così la metodologia di calcolo.

Va quindi ora ricercata la massima pendenza in valore assoluto, considerando il profilo di abbassamento della pressione nell'arco di tempo della prova; tale pendenza corrisponde alla massima produzione di metano nell'unità di tempo. Utilizzando quindi la (3.11), si è ricercato il massimo assoluto tra tutte le pendenze calcolate, avvalendosi del software di calcolo di Microsoft Excel.

$$\frac{\Delta P_{net,max}}{\Delta t} = \max \left\{ \frac{|\Delta P_{net,i}|}{\Delta t} \right\} \quad (3.11)$$

Ricerca la massima pendenza è possibile calcolare la massima quantità di gas rimosso in termini di moli giornaliere [mol/d] ($gas_{rim,max}$), sfruttando la legge dei gas perfetti attraverso la (3.12):

$$\begin{cases} gas_{rim,max} = -\frac{\Delta P_{net,max}}{\Delta t} \cdot \frac{V_{gas}}{R \cdot T} \\ V_{gas} = V_{tot} - V_L \end{cases} \quad (3.12)$$

Dove V_{gas} rappresenta il volume del gas nello spazio di testa dell'apparato, calcolabile come differenza tra il volume totale V_{tot} e il volume liquido V_L . Le moli di gas rimosso sono correlabili alle moli di metano prodotte, come indicato

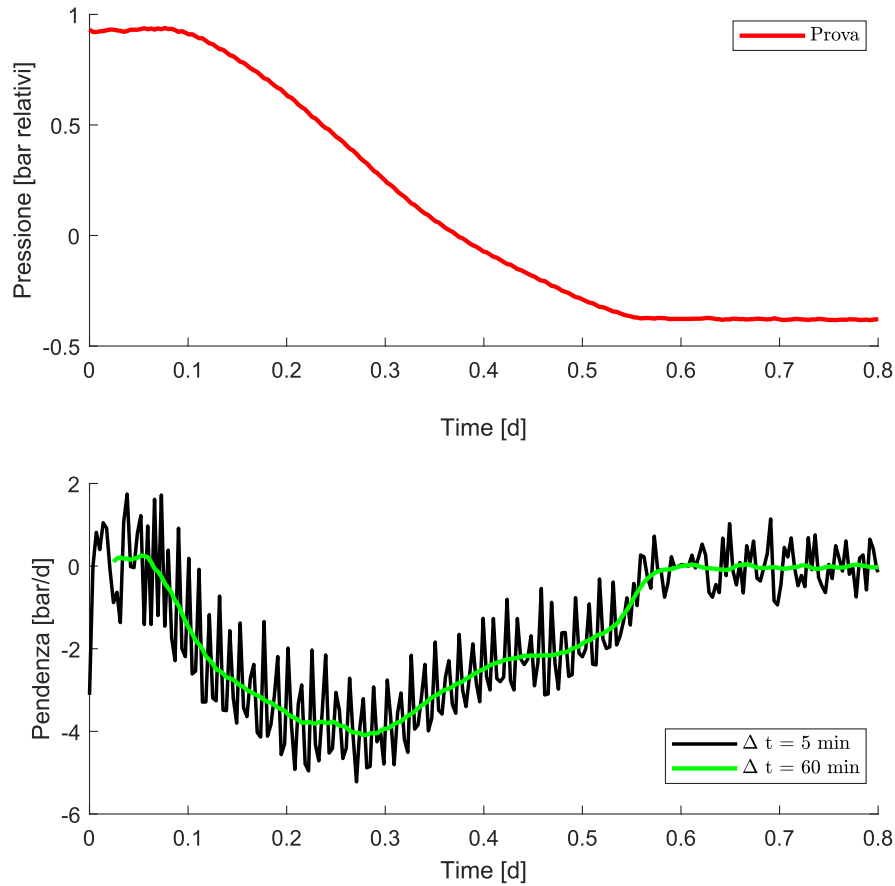


Figura 3.10: Profilo di pressione di una prova di SHMA e relativo profilo della pendenza utilizzando come timestep 5 minuti e timestep 1 ora

da Coates et al. (1996) [70], sfruttando la stechiometria di reazione. Le moli di metano prodotte giornaliere ($CH_{4,prod,max}$) [mol/d] sono calcolate con la (3.13):

$$CH_{4,prod,max} = \frac{gas_{rim,max}}{4} \quad (3.13)$$

Dalla (3.13) si utilizza il volume molare del metano in condizioni normali, pari a 22,414 NLCH₄/mol, effettuando successivamente la conversione a NmL di CH₄ giornalieri ($NmLCH_{4,max}$). (3.14).

$$NmLCH_{4,max} = CH_{4,prod,max} \cdot 22,414 \cdot 10^3 \quad (3.14)$$

A questo punto si calcola la massa di solidi volatili (SV) presenti nel volume liquido con la (3.15), moltiplicando la concentrazione di SV [g/L] per il volume liquido.

$$SV = c_{SV} \cdot V_L \quad (3.15)$$

Infine si valuta l'SHMA espressa come $[NmLCH_4/gSV/d]$, dividendo la produzione massima di metano giornaliera per la massa di solidi volatili presenti nel volume liquido secondo la (3.16)

$$SHMA = \frac{NmLCH_{4,max}}{SV} \quad (3.16)$$

Valutazione del tempo di lag

Il tempo di lag è stato considerato come il tempo durante il quale non si osserva una decrescita della pendenza del profilo di pressione, dipeso principalmente dal tempo richiesto alla biomassa per acclimatarsi alle condizioni della prova.

Il limite inferiore di misurazione della pressione dello strumento, oppure il momento di esaurimento del substrato nella prova, impongono al profilo della pressione una pendenza nulla, perciò la ricerca del valore del tempo di lag deve essere eseguita utilizzando come vincolo logico quello riportato in (3.17), dove con t_{SHMA} si intende il tempo corrispondente all'SHMA calcolata con la (3.11).

$$t_{lag} = \max \left\{ \frac{\Delta P_{net,i}}{\Delta t} \geq 0 \cap t \leq t_{SHMA} \right\} \quad (3.17)$$

3.1.6.3 Calcolo SHMA reattore di origine

Il calcolo della SHMA, o più correttamente, della cinetica di produzione del metano nel reattore pilota, da cui è stato prelevato l'inoculo, è stato effettuato utilizzando i trend giornalieri delle portate in ingresso ed in uscita e le percentuali volumetriche dei gas presenti nello spazio di testa, misurate con il gas cromatografo INFICON Micro GC Fusion[®]. Dato che nel capitolo dei risultati viene proposto un confronto tra valori di SHMA del reattore rispetto all'Apparato 2, di seguito si fornisce l'equazione (3.18) utilizzata per il calcolo della SHMA nel reattore ($SHMA_{REM2}$).

$$SHMA_{REM2} = \frac{Q_{out_{tot}} \cdot x_{ch4} \cdot 1000}{C_{SV} \cdot V_{L,REM2}} \quad (3.18)$$

Dove C_{SV} è la concentrazione di SV espressa in $[g/L]$, $V_{L,REM2}$ è il volume liquido operativo del reattore REM2 pari a 379,9 [L], $Q_{out_{tot}}$ è la portata totale di gas misurata in uscita e già trasformata in condizioni normali $[Nm^3/d]$, mentre x_{ch4} è la frazione volumetrica del metano dello spazio di testa $[\%v/v]$.

3.1.6.4 Elaborazioni delle concentrazioni dei gas disciolti

Le concentrazioni dei gas disciolti ottenute grazie all'utilizzo dello spettrometro a membrana ha visto la necessità di effettuare una serie di elaborazioni per poter rendere il dataset conforme alle successive analisi. Nel seguito vengono elencati per punti gli step effettuati:

Step 1: raggruppamento dei dati di concentrazione rilevati ogni 5 minuti, così da avere una diretta corrispondenza temporale tra i dati dei gas disciolti e i dati di pressione ottenuti dall'Apparato 2;

Step 2: omissione dei dati di gas disciolti antecedenti la condizione a saturazione iniziale, in quanto non utile ai fini dell'inferenza statistica dei dati sperimentali nella modellazione (dato che la registrazione dei valori delle concentrazioni è stata azionata durante l'insufflazione del gas per il ricambio dello spazio di testa);

Step 3: rilevazione di un possibile tempo di lag nelle prove e relativa esclusione dei dati antecedenti il tempo limite per il quale si sia rilevata una concentrazione di metano diversa da 0. (tale operazione è stata necessaria in quanto la presenza di un possibile tempo di lag non è stata implementata nel modello, si veda la sezione 3.2);

Step 4: calcolo della pendenza relativa ai profili di concentrazioni dei gas disciolti, utilizzando, per il calcolo della derivata prima, un dataset che comprendesse un'ora di dati. In questo modo si è potuto uniformare il procedimento di calcolo della pendenza rispetto a quello eseguito anche nelle prove di SHMA sull'Apparato 2. Inoltre la pendenza calcolata sul differenziale utilizzando un dataset di un'ora, ha potuto assorbire e smorzare eventuali comportamenti anomali della sonda, come ad esempio le possibili collisioni tra la sonda e l'ancoretta magnetica interna.

In **Figura 3.11** si riporta un esempio di profilo di concentrazioni disciolte durante la prova, considerando il dataset ripulito. Nel Capitolo 4 si presenteranno i risultati delle elaborazioni eseguite accompagnate dalla descrizione dei fenomeni che avvengono nella fase gas e nella fase liquida.

3.1.6.5 Bilancio del COD

Il bilancio del COD sulla prova di SHMA è stato effettuato per verificare la correttezza della misurazione del dato di pressione e del metodo utilizzato nel

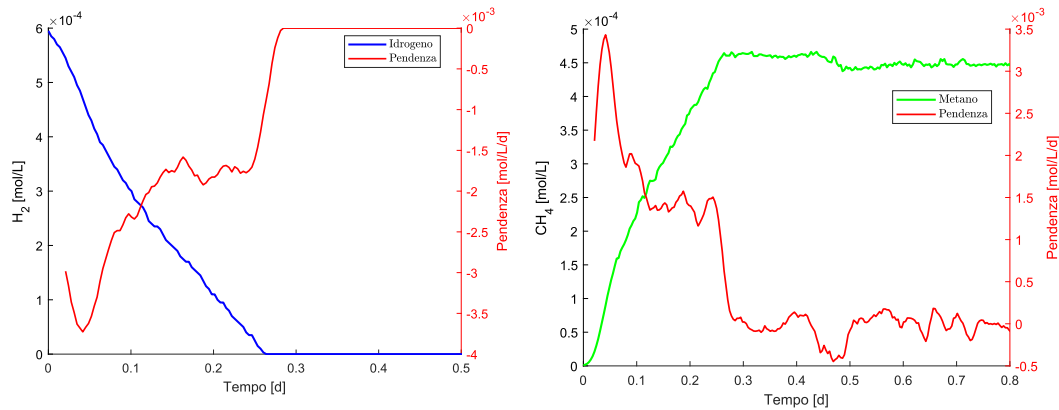


Figura 3.11: A sinistra profilo e pendenza corrispondente della concentrazione di idrogeno disciolto rilevati durante una prova di SHMA; a destra profilo e pendenza del metano.

calcolo del valore di SHMA; inoltre ha permesso di stimare il tasso di crescita della biomassa idrogenotrofa (Y_{h_2}), così da confrontare tale valore con quello riportato nell'ADM1. Per effettuare i calcoli sono stati utilizzati i dati di pressione sperimentali di 10 prove, effettuate nel periodo 24/01/21 - 02/02/22, con l'aggiunta del dato dei solidi volatili di inizio e fine prova. Per effettuare il bilancio sono state adottate le seguenti ipotesi:

- il bilancio è effettuato considerando la stechiometria della reazione catabolica (2.5);
- in assenza della misura in linea dei solidi volatili, si considera, in via semplificativa, il valore finale e iniziale della misura dei solidi per quantificare la componente del COD utilizzata dalla biomassa per la sintesi di nuovo materiale cellulare;
- essendo il bilancio effettuato rispetto alle condizioni stazionarie di inizio e fine prova, le concentrazioni in fase liquida possono essere calcolate attraverso la legge di Henry;
- non si considera un possibile effetto competitivo di omoacetogenesi nella prova;
- dato che il $COD_{solubile}$ misurato sperimentalmente (valori nel range 100-150 mg/L) è risultato di un ordine di grandezza inferiore rispetto al COD dell'idrogeno e del metano in fase gas, si trascura tale contributo;
- il metano al tempo iniziale è nullo;

- non si considera la pressione parziale del vapore acqueo nel calcolo delle frazioni volumetriche dei gas durante la prova;
- si considera ai fini del calcolo che la misura dei solidi volatili (SV) coincida con la misura dei solidi sospesi volatili (SSV), in virtù di un rapporto ($SSV/SV >$ del 90-94%) rilevato dalle analisi sperimentali.

In **Tabella 3.11** si riportano i simboli e le unità di misura delle variabili utilizzate nel seguito della trattazione.

Tabella 3.11: Simboli, valori ed unità di misura delle costanti e delle variabili utilizzate nel bilancio del COD

Simbolo	Valore	U.M.
Costanti		
R	0,083145	bar · L/(mol · K)
T_{op}	310,15	K
COD_{H_2}	16	gCOD _{H₂} /mol
COD_{CH_4}	64	gCOD _{CH₄} /mol
$i_{COD,SSV}$	1,42	gCOD/gSSV
K_{H,H_2}	$7,31 \cdot 10^{-4}$	mol/(L · bar)
K_{H,CH_4}	$1,12 \cdot 10^{-3}$	mol/(L · bar)
Variabili		
$COD_{gas,iniziale}$	-	gCOD
$COD_{L,iniziale}$	-	gCOD
$COD_{iniziale,SV}$	-	gCOD
$COD_{gas,finale}$	-	gCOD
$COD_{finale,L}$	-	gCOD
$COD_{finale,SV}$	-	gCOD
$COD_{H_2,gas,iniziale}$	-	gCOD
$COD_{CH_4,gas,iniziale}$	-	gCOD
$COD_{H_2,gas,finale}$	-	gCOD
$COD_{CH_4,gas,finale}$	-	gCOD
$COD_{H_2,L,iniziale}$	-	gCOD
$COD_{H_2,L,finale}$	-	gCOD
$COD_{CH_4,L,iniziale}$	-	gCOD
$COD_{CH_4,L,finale}$	-	gCOD
V_L	-	L
V_{gas}	-	L
$PP_{CH_4,t}$	-	bar
$PP_{CO_2,t}$	-	bar
$PP_{H_2,t}$	-	bar
$P_{tot,iniziale}$	-	bar
$P_{tot,finale}$	-	bar
$x_{CH_4,t}$	-	%v/v
$x_{CO_2,t}$	-	%v/v
$x_{H_2,t}$	-	%v/v
$c_{SV,finale}$	-	g/L
$c_{SV,iniziale}$	-	g/L

La formulazione utilizzata per la verifica del bilancio del COD espresso in [gCOD] tra le condizioni di inizio e fine prova è la seguente:

$$COD_{gas,iniziale} + COD_{L,iniziale} + COD_{iniziale,SV} = COD_{gas,finale} + COD_{finale,L} + COD_{finale,SV} \quad (3.19)$$

Dove i pedici (L) e (gas) si riferiscono alla fase liquida e gassosa. In base alle ipotesi adottate le componenti da considerare nel sistema sono: l'idrogeno, il metano e la biomassa. Nel dettaglio, durante la prova si ha una parte del COD che viene trasformato in prodotti di reazione (ovvero il metano), attraverso la reazione (2.5) ed una parte che viene utilizzato dalla biomassa per sintesi di nuovo materiale cellulare (ΔCOD_{SV}).

$$COD_{gas,iniziale} = \left(COD_{H_2,gas,iniziale} + COD_{CH_4,gas,iniziale} \right) \quad (3.20)$$

$$COD_{gas,finale} = \left(COD_{H_2,gas,finale} + COD_{CH_4,gas,finale} \right) \quad (3.21)$$

$$COD_{L,iniziale} = \left(COD_{H_2,L,iniziale} + COD_{CH_4,L,iniziale} \right) \quad (3.22)$$

$$COD_{L,finale} = \left(COD_{H_2,L,finale} + COD_{CH_4,L,finale} \right) \quad (3.23)$$

$$\Delta(COD_{SV}) = \left(COD_{finale,SV} - COD_{iniziale,SV} \right) \quad (3.24)$$

Le concentrazioni in fase gas e in fase liquida durante il transitorio della prova del metano e dell'idrogeno sono state calcolate a partire dall'elaborazione dei dati di pressione totale registrati dall'apparato, al netto della componente di pressione dei bianchi, sfruttando la stechiometria di reazione. Al fine di ottenere i valori di COD al termine della prova, è necessario calcolare ad ogni istante di tempo (t) le pressioni parziali dei gas. In questo modo è possibile calcolare la frazione molare ($x_{i,t}$) di ogni componente attraverso il sistema di equazioni

(3.25).

$$\left\{ \begin{array}{l} pp_{ch4,t} = pp_{ch4_{t-1}} + \frac{\Delta P_t}{4} \\ pp_{co2,t} = pp_{co2_{t=0}} - pp_{ch4_t} \\ pp_{h2,t} = pp_{h2_{t=0}} - 4 \cdot pp_{ch4_t} \\ x_{CH_4,t} = \frac{pp_{ch4,t}}{P_{tot,t}} \\ x_{CO_2,t} = \frac{pp_{co2,t}}{P_{tot,t}} \\ x_{H_2,t} = \frac{pp_{h2,t}}{P_{tot,t}} \end{array} \right. \quad (3.25)$$

Per calcolare il valore di Y_{h2} , che rappresenta il tasso di crescita cellulare della biomassa ($g_{SSV}/g_{COD,substrato,rimosso}$), si è invece utilizzata la (3.26), dove il numeratore rappresenta il COD utilizzato dalla biomassa per sintetizzare nuovo materiale cellulare e il denominatore rappresenta il COD rimosso dalla biomassa.

$$Y_{h2} = \frac{\Delta(COD_{sv})}{(COD_{H2,iniziale} - COD_{H2,finale})} \quad (3.26)$$

Per valutare il discostamento tra i valori iniziali e finali di COD calcolati, è stato valutato l'errore relativo assoluto percentuale attraverso la formulazione seguente:

$$e_r\% = \frac{|(COD_{iniziale} - COD_{finale})|}{COD_{iniziale}} \cdot 100 \quad (3.27)$$

Di seguito si riporta il sistema completo delle equazioni utilizzate nel bilancio del COD, mentre nella **Tabella 4.6** (Capitolo 4 - risultati e discussioni) si riporta il riepilogo dei risultati ottenuti.

$$\left\{ \begin{array}{l}
COD_{H_2,gas,iniziale} = x_{H_2,iniziale} \cdot \frac{P_{tot,iniziale}}{R \cdot T_{op}} \cdot COD_{h_2} \cdot V_{gas} \\
COD_{CH_4,gas,iniziale} = 0 \\
COD_{CH_4,L,iniziale} = 0 \\
COD_{H_2,L,iniziale} = x_{H_2,iniziale} \cdot P_{tot,iniziale} \cdot K_{H,H_2} \cdot COD_{h_2} \cdot V_L \\
COD_{H_2,gas,finale} = x_{H_2,finale} \cdot \frac{P_{tot,finale}}{R \cdot T_{op}} \cdot COD_{h_2} \cdot V_{gas} \\
COD_{CH_4,gas,finale} = x_{CH_4,finale} \cdot \frac{P_{tot,finale}}{R \cdot T_{op}} \cdot COD_{ch_4} \cdot V_{gas} \\
COD_{H_2,L,finale} = x_{H_2,finale} \cdot P_{tot,finale} \cdot K_{H,H_2} \cdot COD_{h_2} \cdot V_L \\
COD_{CH_4,L,finale} = x_{CH_4,finale} \cdot P_{tot,finale} \cdot K_{H,CH_4} \cdot COD_{ch_4} \cdot V_L \\
\Delta(COD_{SV}) = \left(c_{SV,finale} - c_{SV,iniziale} \right) \cdot i_{COD,SSV} \cdot V_L
\end{array} \right. \quad (3.28)$$

3.1.7 Analisi statistiche

Sul dataset raccolto durante la sperimentazione sono state effettuate una serie di analisi statistiche, al fine di valutare l'impatto dei parametri indagati e verificare le ipotesi di riproducibilità delle prove tra differenti apparati. Tali analisi hanno permesso di supportare le considerazioni elaborate sul dataset; i risultati vengono presentati nel capitolo 4 - Risultati e discussione. Di seguito vengono illustrati i metodi che hanno caratterizzato tali analisi.

Analisi grafiche della distribuzione del campione di dati

Per analizzare da un punto di vista grafico il dataset sono stati utilizzati diagrammi boxplot, realizzati tramite il software (MATLAB[®]), i quali permettono di esaminare la distribuzione dei dati di un campione tramite semplici indici di dispersione e di posizione.

Regressione multipla

Per analizzare i risultati delle prove di SHMA è stata effettuata una regressione multipla, al fine di identificare quali dei parametri fossero più significativi e avessero un impatto maggiore rispetto al valore di SHMA ottenuto, utilizzando il dataset completo delle prove effettuate. A questo scopo si è costruito un modello che stima il valore di SHMA (\hat{Y}) in base alla combinazione lineare dei 3 para-

metri operativi (variabili indipendenti X_i), che rappresentano rispettivamente: X_1 il volume, X_2 la pressione e X_3 la miscelazione.

La formulazione utilizzata per la costruzione del modello di regressione multipla lineare è la seguente:

$$\hat{Y}_i = \beta_0 + \beta_1 \cdot X_1 + \beta_2 \cdot X_2 + \beta_3 \cdot X_3 + \epsilon_i \quad (3.29)$$

Dove:

\hat{Y}_i : variabile dipendente i-esima di risposta del modello;

β_0 : intercetta;

β_1 : inclinazione di Y rispetto alla variabile X_1 tenendo costanti le variabili X_2 e X_3 ;

β_2 : inclinazione di Y rispetto alla variabile X_2 tenendo costanti le variabili X_1 e X_3 ;

β_3 : inclinazione di Y rispetto alla variabile X_3 tenendo costanti le variabili X_1 e X_2 ;

ϵ_i : errore in corrispondenza dell'osservazione i-esima

Per la validazione del modello sono stati eseguiti i seguenti step:

Step 1: verifica dell'indipendenza stocastica tra le variabili predittive (X_1 , X_2 e X_3), attraverso analisi della matrice di correlazione lineare;

Step 2: verifica della normalità dei residui del modello attraverso grafico q-qplot (grafico che riporta i quantili di una distribuzione normale rispetto ai residui del modello) e un test di Shapiro-Wilk (con livello di significatività $\alpha = 0,05$) e verifica grafica dell'omoschedasticità dei residui;

Step 3: test statistico di tipo ANOVA, utilizzando l'F-test sull'intero modello (con livello di significatività $\alpha = 0,05$) per valutare l'adeguatezza del modello di regressione lineare multipla, quindi per verificare che le variabili indipendenti del modello fossero significative per la rappresentazione di un modello lineare. Questo test permette di testare l'ipotesi nulla H_0 e l'alternativa H_1 , definite come segue:

- $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \dots = \beta_j = 0$;

- H_1 : $\beta_j \neq 0$, per almeno un valore di j

Step 4: T-test (con livello di significatività $\alpha = 0,05$) per testare la significatività di ogni coefficiente β_i della regressione. Si usano le seguenti ipotesi nulla H_0 e alternativa H_1 :

- H_0 : $\beta_1 = \beta_2 = \dots = \beta_j = 0$;
- H_1 : $\beta_j \neq 0$, per almeno un valore di j

Step 5: analisi dei coefficienti angolari β_i standardizzati, per poter comprendere quale dei parametri abbia un impatto maggiore rispetto agli altri sulla variabile \hat{Y}_i stimata.

In **Appendice A** si riporta il dataset utilizzato per effettuare la regressione multipla.

Test non parametrico di Mann-Whitney

Per valutare la riproducibilità delle prove, con l'adozione di apparati differenti è stato eseguito un test statistico utilizzando il set di prove corrispondenti (dalla N°1 alla N°9) tra l'Apparato 1 e l'Apparato 2. Nel dettaglio si è fatto uso del test non parametrico di Mann-Whitney, realizzato attraverso il software di statistica SPSS, al fine di valutare se i due set di dati appartengano alla stessa popolazione. È stato scelto questo test dopo aver osservato che il dataset non presentava normalità tra i dati. Questo test va a valutare se le mediane dei due sottogruppi siano significativamente differenti oppure no. Il test, effettuato con un livello di significatività (α) pari a 0,05, verifica l'ipotesi nulla (H_0) e l'alternativa (H_1):

- H_0 : appartenenza dei campioni alla stessa popolazione (mediane non significativamente differenti);
- H_1 : uno dei campioni sia più grande in maniera stocastica (mediane significativamente differenti).

3.2 Modellazione prove di SHMA

La fase di modellazione delle prove ha perseguito due obiettivi principali:

- permettere di identificare, sulla base del comportamento della curva del differenziale di pressione e della concentrazione dei gas disciolti, la bontà e la riproducibilità del modello, al variare delle condizioni della prova di SHMA, calcolando e verificando il discostamento tra dati osservati e stimati attraverso gli indici statistici Theil's Inequality Coefficient (TIC) e MARE;
- la stima della K_{La} del sistema e della K_S della biomassa, utilizzando il metodo statistico - matematico (LFT), così da poter verificare e confrontare i valori dei medesimi parametri riportati nella letteratura scientifica e fornire una baseline di partenza per future sperimentazioni.

Nelle successive sezioni vengono riportati i materiali e i metodi logico-matematici che hanno condotto alla realizzazione del modello e all'identificazione parametrica.

3.2.1 Materiali

Come materiale è stato utilizzato il modello di biogas upgrading sviluppato da Anna Santus nel suo lavoro di tesi magistrale, che è stato derivato dall'ADM1, Batstone et al. (2002) [82]. Per tutti i dettagli relativi alla costruzione e alle ipotesi alla base del modello si rimanda al lavoro di tesi di Santus (2019) [31]. Da tale modello è stata derivata una versione semplificata, allo scopo di agevolare l'applicazione del metodo di stima LFT per i parametri K_{La} e K_s , che viene riportato al paragrafo 3.2.2.4. La scrittura del modello e l'identificazione parametrica tramite metodo LFT sono state realizzate attraverso il software MATLAB[®].

Di seguito sono riportate, sia le ipotesi utilizzate per riadattare il modello alla prova di SHMA, sia le semplificazioni introdotte:

- tutti i substrati organici non sono considerati nella fase liquida, poiché si assume che non sia presente nessun substrato organico in concentrazioni rilevanti nel sistema;

- il sistema è considerato come un reattore CSTR (Continuous Stirred-Tank); essendo però la prova di tipo batch, nel modello non sono presenti i flussi di massa entranti ed uscenti;
- la temperatura operativa del modello è $T_{op} = 37$ °C, quindi il sistema lavora in condizioni mesofile;
- in via semplificativa non viene modellato un possibile effetto di competizione della popolazione omoacetogena nei confronti di quella idrogenotrofa;
- considerando il pH con il quale sono state condotte le prove, il carbonio inorganico disciolto viene considerato come la somma della CO_2 disciolta e dello ione bicarbonato, trascurando il contributo dello ione carbonato;
- non sono stati valutati fenomeni di inibizione per la popolazione idrogenotrofa, legati al pH di lavoro, perché tali fenomeni risultano di entità trascurabile nei range di pH delle prove condotte (range di pH misurato tra 6,9 e 7,4);
- viene considerata la sola costante di semisaturazione relativa all'idrogeno nei termini di crescita e consumo dei substrati, in quanto si assume che la CO_2 non sia mai presente ad una concentrazione limitante;
- si trascura in via semplificativa la pressione parziale del vapore acqueo e si traslascia anche la produzione di acqua che deriva dalla reazione di metanogenesi;
- si ipotizza, in via semplificativa, che il pH rimanga costante durante la prova;
- si ipotizza, in via semplificativa, di non introdurre una variabile di stato che modellizzi i macronutrienti e i micronutrienti utilizzati dalla biomassa.

3.2.2 Metodi

Il modello è costituito da un sistema di equazioni differenziali e algebriche di bilancio di massa per le variabili:

- X_{h2} = biomassa idrogenotrofa;
- S_{h2} = idrogeno disciolto;
- S_{IC} = carbonio inorganico disciolto;
- S_{ch4} = metano disciolto;
- $S_{gas,h2}$ = idrogeno in fase gas;
- $S_{gas,ch4}$ = metano in fase gas;
- $S_{gas,co2}$ = anidride carbonica in fase gas;

In **Tabella 3.12** sono riportate le variabili introdotte nel modello, corredate del simbolo utilizzato per rappresentarle e delle unità di misura. Le equazioni e le reazioni modellate sono riportate al paragrafo 3.2.2.3.

Tabella 3.12: Simbolo, definizione e unità di misura delle variabili di stato del modello

Variabile	Definizione	U.M.
X_{h2}	Metanogeni idrogenotrofi	gCOD L ⁻¹
S_{h2}	Idrogeno gas disciolto	gCOD L ⁻¹
S_{ch4}	Metano gas disciolto	gCOD L ⁻¹
S_{IC}	Carbonio inorganico disciolto	molC L ⁻¹
$S_{h2,gas}$	Concentrazione dell'H ₂ nello spazio di testa	gCOD L ⁻¹
$S_{ch4,gas}$	Concentrazione del CH ₄ nello spazio di testa	gCOD L ⁻¹
$S_{co2,gas}$	Concentrazione della CO ₂ nello spazio di testa	molC L ⁻¹
$p_{h2,gas}$	Pressione parziale dell'idrogeno	bar
$p_{ch4,gas}$	Pressione parziale del metano	bar
$p_{co2,gas}$	Pressione parziale della CO ₂	bar
p_{gas}	Pressione totale nello spazio di testa	bar
S_{hco3}	Concentrazione dello ione bicarbonato HCO ₃ ⁻	molC L ⁻¹
S_{co2}	Concentrazione molare della CO ₂ disciolta	molC L ⁻¹
pH		[-]

3.2.2.1 Parametri e variabili

Nella sezione seguente viene riportata la spiegazione del procedimento utilizzato per l'ottenimento dei diversi parametri biologici e chimico-fisici introdotti nel modello. Le variabili vengono mano a mano riportate in formato tabellare, mostrandone il simbolo, il valore (se presente a priori) e l'unità di misura.

Dal punto di vista stechiometrico è stata assunta una composizione standard della cellula batterica ($C_5H_7O_2N$), costituita da un peso molecolare PM pari a 113 [gSSV/mol]. Tale composizione è quella generalmente utilizzata per descrivere la cellula batterica nei processi biologici del trattamento delle acque reflue, assumendo che la cellula batterica sia composta prevalentemente da proteine. Dal sistema (3.30) è possibile calcolare il rapporto gCOD/gSSV (i_COD_SSV), a cui corrisponde la biomassa, come segue.

$$\begin{cases} C_5H_7O_2N + 5 O_2 \longrightarrow 5 CO_2 + NH_3 + 2 H_2O \\ i_COD_SSV = \frac{5 \text{ mol}_{O_2}}{\text{mol}_{C_5H_7O_2N}} \cdot \frac{16 \text{ gCOD}}{\text{mol}_{O_2}} \cdot \frac{1 \text{ mol}_{C_5H_7O_2N}}{113 \text{ gSSV}} \end{cases} \quad (3.30)$$

Dall'equazione precedente è possibile calcolare anche il contenuto in termini di carbonio presente nella biomassa (C_{bac}), come segue.

$$C_{bac} = \frac{5 \text{ mol}_C}{\text{mol}_{C_5H_7O_2N}} \cdot \frac{1 \text{ mol}_{C_5H_7O_2N}}{160 \text{ gCOD}} \quad (3.31)$$

Infine il contenuto di carbonio presente nel metano (C_{ch4}) è calcolabile attraverso la (3.32)

$$C_{ch4} = \frac{1 \text{ mol}_C}{\text{mol}_{CH_4}} \cdot \frac{1 \text{ mol}_{CH_4}}{64 \text{ gCOD}} \quad (3.32)$$

In **Tabella 3.13** si riportano i risultati dei calcoli effettuati.

I parametri biologici (Y_{h2} e k_d) presenti in **Tabella 3.14** sono stati reperiti dal modello ADM1 [82], i quali sono già riferiti alle condizioni operative di 37°C. Per il valore della costante di semisaturazione $K_{S,h2}$ della popolazione idrogenotrofa è stato fornito il range di valori reperito in letteratura e riportato già nelle sezioni precedenti; tale parametro è stato stimato a posteriori attraverso il metodo LFT, utilizzando i dati sperimentali, quindi è variabile in funzione delle condizioni operative della prova di SHMA. Il valore di $SHMA_{max}$ è direttamente correlabile alla massima velocità specifica di rimozione del substrato (ν_{max}), per quanto esposto nelle sezioni precedenti. Essendo tale valore connesso alla

Tabella 3.13: Simbolo, definizione, valore e unità di misura dei coefficienti stechiometrici

Variabile	Definizione	Valore	U.M.
C_{ch4}	Contenuto del carbonio nel metano	0,0156	molC/gCOD _{ch4}
C_{bac}	Contenuto del carbonio nella cellula batterica	0,03125	molC/gCOD _{ssv}
N_{bac}	Contenuto dell'azoto nella cellula batterica	0,00625	molN/gCOD _{ssv}
i_COD_SSV	Contenuto di COD nella biomassa	1,42	gCOD _{ssv} /gSSV

tipologia di biomassa che si sta studiando ed essendo un valore che esprime la massima velocità di consumo, in assenza di condizioni substrato-limitanti, si è scelto di utilizzare nel modello il massimo valore di SHMA calcolato durante la sperimentazione (corrispondente alla prova condotta a 2 bar, 200 mL e 800 rpm), poiché si è fatta l'ipotesi di assumere tale valore come quello massimo asintotico per la biomassa studiata.

Il valore di (ν_{max}) [d^{-1}] è calcolabile a partire dal valore di SHMA con la (3.33). Nel calcolo si approssimano i solidi sospesi volatili (SSV) ai solidi volatili (SV), alla luce di un rapporto (SSV/SV) rilevato dalle analisi sperimentali > del 90% per tutto l'arco della sperimentazione. Inoltre tale approssimazione permette di rimanere a favore di sicurezza nel calcolo, evitando di sovrastimare la (ν_{max}) .

$$\nu_{max} = \frac{5710 \text{ NmLCH}_4}{g_{SV} \cdot d} \cdot \frac{64 \text{ gCOD}}{\text{mol}_{CH_4}} \cdot \frac{1 \text{ molCH}_4}{22,414 \text{ NL}_{CH_4}} \cdot \frac{1 \text{ NL}}{10^3 \text{ NmL}_{CH_4}} \cdot \frac{1 \text{ gsv}}{1,42 \text{ gCOD}} \quad (3.33)$$

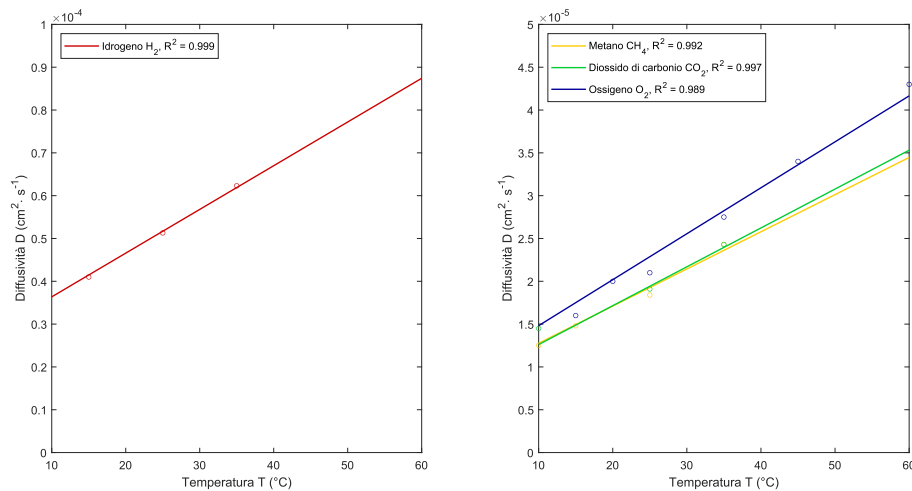
Dal valore di ν_{max} sperimentale si è poi risaliti al valore di μ_{max} attraverso la (3.34).

$$\mu_{max} = \nu_{max} \cdot Y_{h2} \quad (3.34)$$

Tabella 3.14: Simbolo, definizione e unità di misura dei parametri biologici

Variabile	Definizione	Valore	U.M.
Y_{h2}	Tasso di crescita cellulare idrogenotrofa	0,06	$\frac{gCOD_{ssv}}{gCOD_{h2}}$
k_d	Velocità di decadimento della biomassa	0,02	d^{-1}
$K_{S,h2}$	Costante di semisaturazione per l' H_2	10^{-5} - 10^{-6}	gCOD/L
$SHMA_{max}$	SHMA massima sperimentale	5710	$\frac{NmlCH_4}{gSV \cdot d}$
μ_{max}	Massima velocità specifica di crescita idrogenotrofa	0,7	d^{-1}
ν_{max}	Massima velocità specifica di consumo del substrato	11,5	d^{-1}

I parametri chimico-fisici sono riportati in **Tabella 3.15**. I coefficienti di diffusione molecolare dell' H_2 , O_2 , CO_2 e CH_4 , riferiti alla temperatura operativa di $37^\circ C$ e riportati in **Tabella 3.15**, sono stati stimati attraverso un'interpolazione lineare (si veda **Figura 3.12**) dei valori sperimentali reperiti in letteratura dagli studi di Jähne et al. (1987) [83] e Xing et al. (2014) [84], riferiti a differenti temperature.

**Figura 3.12:** Interpolazione lineare tra dati sperimentali delle diffusività reperite in letteratura a differenti temperature

La valutazione dei coefficienti globali di trasferimento di massa gas-liquido presenti in **Tabella 3.16**, rispetto alle componenti n (dove $n = H_2, CH_4, CO_2$), si

Tabella 3.15: Simbolo, definizione e unità di misura dei parametri chimico fisici

Variabile	Definizione	Valore	U.M.
R	Costante universale dei gas perfetti	0,083145	$\frac{bar \cdot L}{mol \cdot K}$
T_{ref}	Temperatura di riferimento (25°C)	298,15	K
V_{tot}	Volume totale utile dell'Apparato 1	3,76	L
V_L	Volume liquido del campione	0,2 - 0,6	L
V_{gas}	Volume dello spazio di testa	$V_{tot} - V_L$	L
T_{op}	Temperatura operativa (37°C)	310,15	K
P_{atm}	Pressione atmosferica	1,013	bar
$p_{h_2o,gas}$	Pressione parziale del vapore acqueo alla T_{op}	0,062	bar
D_{O_2}	Coefficiente di diffusione molecolare dell'O ₂ alla T_{op}	$3,3e^{-5}$	$cm^2 \cdot s^{-1}$
D_{H_2}	Coefficiente di diffusione molecolare dell'H ₂ alla T_{op}	$6,6e^{-5}$	$cm^2 \cdot s^{-1}$
D_{CH_4}	Coefficiente di diffusione molecolare del CH ₄ alla T_{op}	$4,89e^{-5}$	$cm^2 \cdot s^{-1}$
D_{CO_2}	Coefficiente di diffusione molecolare della CO ₂ alla T_{op}	$2,47e^{-5}$	$cm^2 \cdot s^{-1}$

basa sulla legge elaborata nello studio di Pauss et al. (1990) [30]. Tali parametri cambiano al variare del coefficiente di trasferimento gas-liquido dell'O₂, il quale è stato stimato attraverso il metodo LFT sulla base dei dati sperimentali delle prove di SHMA. Questa modalità è stata implementata perché in questo modo nella LFT si riduce il numero di parametri da stimare: infatti viene stimato il solo valore della k_{LaO_2} , mentre le restanti K_{La} variano di conseguenza.

Tabella 3.16: Coefficienti di trasferimento di massa gas-liquido riferiti alla temperatura operativa

Variabile	Valore	U.M.
K_{LaO_2}	100 - 1000	d^{-1}
K_{LaH_2}	$K_{LaO_2} \cdot \sqrt{\frac{D_{H_2}}{D_{O_2}}}$	d^{-1}
K_{LaCH_4}	$K_{LaO_2} \cdot \sqrt{\frac{D_{CH_4}}{D_{O_2}}}$	d^{-1}
K_{LaCO_2}	$K_{LaO_2} \cdot \sqrt{\frac{D_{CO_2}}{D_{O_2}}}$	d^{-1}

Le costanti di Henry dei gas riportate in **Tabella 3.17** e le costanti di disso-

ciazione acido-base presenti in **Tabella 3.18** sono ricavate dall'ADM1 e vengono trasformate alla temperatura operativa attraverso la legge di van't Hoff.

Tabella 3.17: Costanti di Henry trasformate in riferimento alla temperatura operativa

Parametro	Valore	U.M
$K_{H_{H_2}}$	$7,8e^{-4} \cdot \exp\left(-\frac{4180}{R} \cdot \left(\frac{1}{T_{ref}} - \frac{1}{T_{op}}\right)\right)$	$M_{liq} \text{ bar}^{-1}$
$K_{H_{CH_4}}$	$0,0014 \cdot \exp\left(-\frac{14240}{R} \cdot \left(\frac{1}{T_{ref}} - \frac{1}{T_{op}}\right)\right)$	$M_{liq} \text{ bar}^{-1}$
$K_{H_{CO_2}}$	$0,035 \cdot \exp\left(-\frac{19410}{R} \cdot \left(\frac{1}{T_{ref}} - \frac{1}{T_{op}}\right)\right)$	$M_{liq} \text{ bar}^{-1}$

* $M_{liq} = \text{mol/L}$

Tabella 3.18: Coefficienti degli equilibri acido-base riferiti alla temperatura operativa

Parametro	Valore	U.M
K_{a,CO_2}	$10^{-6,35} \cdot \exp\left(\frac{7646}{R} \cdot \left(\frac{1}{T_{ref}} - \frac{1}{T_{op}}\right)\right)$	M
K_w	$10^{-14} \cdot \exp\left(\frac{55900}{R} \cdot \left(\frac{1}{T_{ref}} - \frac{1}{T_{op}}\right)\right)$	M

3.2.2.2 Matrice di Petersen

La matrice di Petersen è una realizzazione schematica e completa usata per descrivere tutte le reazioni biochimiche che avvengono all'interno di un reattore. Il numero di colonne dipende da quanti componenti (i) sono coinvolti (prodotti chimici, gas, inquinanti, biomassa, ecc.), mentre il numero di righe (j) dipende dai processi considerati (trasferimento gas-liquido, decadimento della biomassa, assorbimento del substrato, ecc). L'ultima colonna riporta l'equazione che descrive il rateo delle reazioni. Il principio di conservazione della massa per ogni processo è espresso nelle righe della matrice. Se tutti i componenti sono inclusi, allora il principio di conservazione della massa per ogni processo afferma che:

$$\sum_{j=1}^n \nu_{i,j} = a_{i,j} \cdot r_{i,j} \quad (3.35)$$

Dove con $a_{i,j}$ si intende il processo i -esimo riferito alla componente j -esima e $r_{i,j}$ rappresenta il rateo corrispondente. Per un sistema CSTR vale l'equazione (3.36), che esprime il bilancio di massa rispetto ad un componente i -esimo (C_i) all'interno del volume di controllo. Il primo termine rappresenta la massa

entrante nel sistema, il secondo termine la massa uscente e il terzo termine le variazioni del componente i -esimo, associate ai ratei di reazione che si quantificano all'interno del volume di controllo.

$$\frac{dC_i}{dt} = \frac{Q_{in}}{V_L} \cdot C_{in} - \frac{Q_{out}}{V_L} \cdot C_i + \sum_{j=1}^n \nu_{i,j} \quad (3.36)$$

Essendo una prova batch, l'alimentazione del substrato avviene solamente all'inizio della prova. Ciò porta ad elidere i termini relativi alle masse entranti ed uscenti dei componenti i -esimi, per ogni variabile di stato considerata nel modello. Quindi la (3.36) si trasforma nella (3.37). Dove il bilancio di massa del componente i -esimo è descritto unicamente dalla somma dei ratei delle reazioni biochimiche e chimico-fisiche che avvengono all'interno del sistema.

$$\frac{dC_i}{dt} = \sum_{j=1}^n \nu_{i,j} \quad (3.37)$$

Nella **Tabella 3.19** si riporta la matrice di Petersen del modello realizzato, mentre in **Figura 3.13** viene presentato lo schema concettuale attraverso il quale è stata modellata la prova di SHMA.

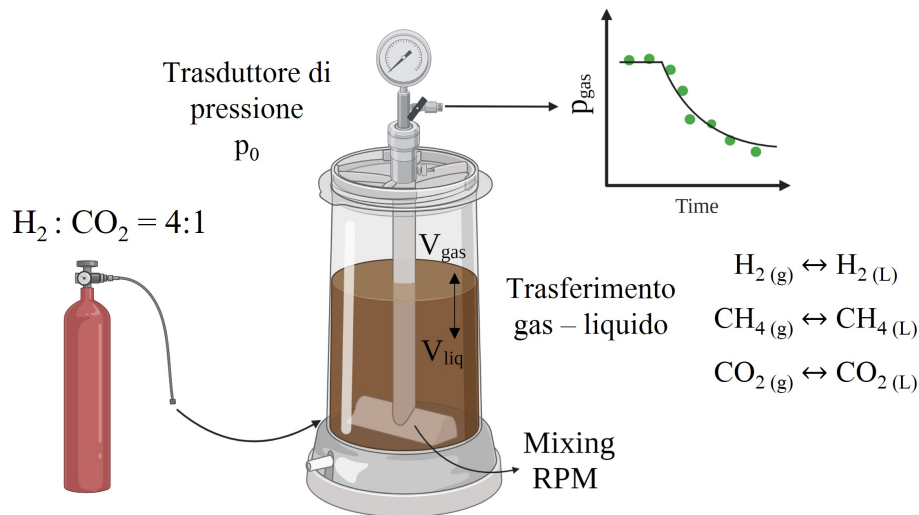


Figura 3.13: Schema concettuale (non in scala) della prova di SHMA modellata

Tabella 3.19: Matrice di Petersen del modello semplificato della prova di SHMA, a pH costante

Componente → i		1	2	3	4	5	6	7	rateo $\rho_{i,j}$: $\left[\frac{gCOD}{L \cdot d}\right]$ e $\left[\frac{mol}{L \cdot d}\right]$
j	Processo ↓	X_{h2}	S_{h2}	S_{IC}	S_{ch4}	$S_{gas,h2}$	$S_{gas,ch4}$	$S_{gas,co2}$	
1	Consumo di H ₂ disciolto	+1	$-\frac{1}{Y_{h2}}$	- K_{IC}	$\frac{1-Y_{h2}}{Y_{h2}}$				$\mu_{max} \cdot \frac{S_{h2}}{S_{h2}+K_{S,h2}} \cdot X_{h2}$
2	Decadimento biomassa	- 1		+ C_{bac}					$k_d \cdot X_{h2}$
3	Trasferimento gas - liquido H ₂		- 1			+ $\frac{V_L}{V_{gas}}$			$k_L a_{H_2} \cdot (S_{h2} - 16 \cdot K_{H_{h2}} \cdot p_{h2,gas})$
4	Trasferimento gas - liquido CO ₂			- 1				+ $\frac{V_L}{V_{gas}}$	$k_L a_{CO_2} \cdot (S_{co2} - K_{H_{co2}} \cdot p_{co2,gas})$
5	Trasferimento gas - liquido CH ₄				- 1		+ $\frac{V_L}{V_{gas}}$		$k_L a_{CH_4} \cdot (S_{ch4} - 64 \cdot K_{H_{ch4}} \cdot p_{ch4,gas})$

- K_{IC} rappresenta il consumo di carbonio inorganico calcolato come: $K_{IC} = \left(C_{bac} + C_{ch4} \cdot \frac{1 - Y_{h2}}{Y_{h2}}\right) \left[\frac{molC}{gCOD}\right]$;
- S_{co2} è la CO₂ disciolta, che per le ipotesi considerate, è pari alla differenza tra il carbonio inorganico disciolto S_{IC} e lo ione bicarbonato S_{hco3} ;
- sostituendo è possibile esprimere la S_{co2} come: $S_{co2} = S_{IC} - S_{hco3} = S_{IC} \cdot \left(1 - \frac{K_{a,co2}}{K_{a,co2} + 10^{-pH}}\right) \left[\frac{molC}{L}\right]$.

3.2.2.3 Equazioni

Modellando un sistema di tipo batch, le equazioni del modello non considerano la presenza di flussi di massa entranti ed uscenti dal sistema, quindi la (2.11) e la (2.12) (paragrafo 2.4.3), utilizzate per descrivere il bilancio di massa rispetto alla fase liquida e fase gassosa di un componente in un sistema CSTR operante in continuo, si trasformano nella formulazione seguente:

$$\frac{d[gas]_L}{dt} \cdot V_L = \pm \text{rateo biologico} \pm \text{rateo fisico-chimico} - K_L a \cdot ([gas]_L - [gas]_L^*) \cdot V_L \quad (3.38)$$

$$\frac{d[gas]_G}{dt} \cdot V_G = +K_L a \cdot ([gas]_L - [gas]_L^*) \cdot V_L \quad (3.39)$$

Applicando la (3.38) e la (3.39) al modello della prova di SHMA realizzato, le equazioni, suddivise tra la fase gas e la fase liquida, diventano:

Fase liquida - equazioni differenziali

$$\frac{dX_{h2}}{dt} = \mu_{max} \cdot \frac{S_{h2}}{S_{h2} + K_{S,h2}} \cdot X_{h2} - k_d \cdot X_{h2} \quad (3.40)$$

$$\frac{dS_{h2}}{dt} = -\frac{\mu_{max}}{Y_{h2}} \cdot \frac{S_{h2}}{S_{h2} + K_{S,h2}} \cdot X_{h2} - k_L a_{H_2} \cdot (S_{h2} - 16 \cdot K_{H_{h2}} \cdot p_{h2,gas}) \quad (3.41)$$

$$\frac{dS_{ch4}}{dt} = \frac{1 - Y_{h2}}{Y_{h2}} \cdot \mu_{max} \cdot \frac{S_{h2}}{S_{h2} + K_{S,h2}} \cdot X_{h2} - k_L a_{CH_4} \cdot (S_{ch4} - 64 \cdot K_{H_{ch4}} \cdot p_{ch4,gas}) \quad (3.42)$$

$$\frac{dS_{IC}}{dt} = [-(1 - Y_{h2}) \cdot C_{ch4} - Y_{h2} \cdot C_{bac}] \cdot \frac{\mu_{max}}{Y_{h2}} \cdot \frac{S_{h2}}{(S_{h2} + K_{S,h2})} \cdot X_{h2} + C_{bac} \cdot k_{dec} \cdot X_{h2} - k_L a_{CO_2} \cdot (S_{co2} - K_{H_{co2}} \cdot p_{co2,gas}) \quad (3.43)$$

Fase gas - equazioni differenziali

$$\frac{dS_{h2,gas}}{dt} = k_L a_{H_2} \cdot (S_{h2} - 16 \cdot K_{H_{h2}} \cdot p_{h2,gas}) \cdot \frac{V_L}{V_{gas}} \quad (3.44)$$

$$\frac{dS_{ch4,gas}}{dt} = k_L a_{CH_4} \cdot (S_{ch4} - 64 \cdot K_{H_{ch4}} \cdot p_{ch4,gas}) \cdot \frac{V_L}{V_{gas}} \quad (3.45)$$

$$\frac{dS_{co2,gas}}{dt} = k_L a_{CO_2} \cdot (S_{co2} - K_{H_{co2}} \cdot p_{co2,gas}) \cdot \frac{V_L}{V_{gas}} \quad (3.46)$$

Fase gas - equazioni algebriche

$$p_{co2,gas} = S_{co2,gas} \cdot R \cdot T_{op} \quad (3.47)$$

$$p_{h2,gas} = S_{h2,gas} \cdot R \cdot \frac{T_{op}}{16} \quad (3.48)$$

$$p_{ch4,gas} = S_{ch4,gas} \cdot R \cdot \frac{T_{op}}{64} \quad (3.49)$$

$$p_{gas} = p_{h2,gas} + p_{ch4,gas} + p_{co2,gas} \quad (3.50)$$

I ratei biologici sono derivati dall'ADM1 [75] e si basano su una cinetica di consumo del substrato di tipo Monod.

I ratei chimico-fisici riguardano gli equilibri delle specie chimiche di interesse associabili al pH.

Il rateo di trasferimento di massa gas-liquido è stato modellato attraverso la teoria del doppio film. Il trasferimento di massa del componente i-esimo ($\rho_{T,i}$) dalla fase gas a quella liquida viene quindi espresso dalle equazioni: (3.51) e (3.52).

Considerando la componente i-esima nel volume liquido:

$$\rho_{T,i} = -K_L a_i \cdot (S_i - K_{H,i} \cdot p_{gas,i}) \quad (3.51)$$

Considerando la componente i-esima nel volume gas:

$$\rho_{T,i} = +K_L a_i \cdot (S_i - K_{H,i} \cdot p_{gas,i}) \cdot \frac{V_L}{V_{gas}} \quad (3.52)$$

La direzione di tale trasferimento è governata dal gradiente del processo ($S_i -$

$K_{H,i} \cdot p_{gas,i}$): se la concentrazione a saturazione è maggiore della concentrazione disciolta della componente i -esima, allora si avrà dissoluzione nel volume liquido, viceversa avverrà uno strippaggio del componente dalla fase liquida a quella gassosa. La pressione parziale del componente i -esimo ($p_{gas,i}$) [bar] è ricavabile utilizzando la legge dei gas perfetti (equazioni (3.48), (3.49) e (3.47)).

Di seguito vengono analizzati per ogni parametro i differenti ratei biologici e/o chimico fisici presenti nelle equazioni (3.38) e (3.39).

- X_{h2} :

La variazione della concentrazione della biomassa idrogenotrofa è espressa unicamente dal rateo biologico di crescita e decadimento definito dal sistema di equazioni (3.53), utilizzando una cinetica di tipo Monod.

$$\begin{cases} \frac{dX_{h2}}{dt} = \frac{dX_{crescita}}{dt} - \frac{dX_{scomparsa}}{dt} \\ \frac{dX_{crescita}}{dt} = \mu_{max} \cdot \frac{S_{h2}}{K_{S,h2} + S_{h2}} \cdot X_{h2} \\ \frac{dX_{scomparsa}}{dt} = -k_d \cdot X_{h2} \end{cases} \quad (3.53)$$

- S_{h2} :

Nel caso dell'idrogeno disciolto i termini presenti nel bilancio di massa sono il rateo biologico di consumo da parte della biomassa e il rateo di trasferimento di massa gas-liquido.

$$\begin{cases} \text{Rateo biologico consumo:} & = -\frac{\mu_{max}}{Y_{h2}} \cdot \frac{S_{h2}}{S_{h2} + K_{S,h2}} \cdot X_{h2} \\ \text{Trasferimento gas-liquido:} & = -k_{LA_{CH_4}} \cdot (S_{ch4} - 64 \cdot K_{H_{ch4}} \cdot p_{ch4,gas}) \end{cases} \quad (3.54)$$

- S_{ch4} :

Per il metano disciolto i termini presenti nel bilancio di massa sono il rateo biologico di produzione da parte della biomassa, secondo la reazione di metanogenesi e il rateo di trasferimento di massa gas-liquido.

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{Rateo biologico produzione:} \\ \text{Trasferimento gas-liquido:} \end{array} \right. = \begin{array}{l} \frac{1-Y_{h2}}{Y_{h2}} \cdot \mu_{max} \cdot \frac{S_{h2}}{S_{h2}+K_{S,h2}} \cdot X_{h2} \\ -k_L a_{H_2} \cdot (S_{h2} - 16 \cdot K_{H_{h2}} \cdot p_{h2,gas}) \end{array} \quad (3.55)$$

- S_{IC} :

Nel caso del carbonio inorganico disciolto S_{IC} i termini presenti nel bilancio di massa sono il rateo biologico, il rateo di trasferimento di massa gas-liquido e le trasformazioni chimiche delle forme del carbonio inorganico disciolto, che si suddividono tra ione bicarbonato e anidride carbonica. Il rateo biologico si suddivide a sua volta in una parte associata al consumo di substrato ed una parte di produzione dello stesso.

La parte relativa al consumo di substrato, riportato nella matrice di Petersen con il termine K_{IC} , come descritto dall'ADM1, rappresenta il consumo di carbonio inorganico dei metanogeni idrogenotrofi e tiene conto del carbonio necessario per generare nuova biomassa (C_{bac}), più il carbonio utilizzato per formare CH_4 .

$$K_{IC} = \left(C_{bac} + C_{ch4} \cdot \frac{1 - Y_{h2}}{Y_{h2}} \right) \quad (3.56)$$

La parte di produzione è associata al residuo endogeno del decadimento della biomassa, che torna a ricostituire nuovo substrato.

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{Rateo biologico consumo:} \\ \text{Rateo biologico produzione:} \\ \text{Trasferimento gas-liquido:} \\ \text{Equilibri chimici:} \end{array} \right. = \begin{array}{l} -K_{IC} \cdot \mu_{max} \cdot \frac{S_{h2}}{(S_{h2}+K_{S,h2})} \cdot X_{h2} \\ +C_{bac} \cdot k_{dec} \cdot X_{h2} \\ -k_L a_{CO_2} \cdot (S_{co2} - K_{H_{co2}} \cdot p_{co2,gas}) \\ \rightarrow S_{co2} = S_{IC} - S_{hco3} = \\ = S_{IC} \cdot \left(1 - \frac{K_{a,co2}}{K_{a,co2} + 10^{-pH}} \right) \end{array} \quad (3.57)$$

- $S_{co2,gas}$, $S_{h2,gas}$, $S_{ch4,gas}$:

Per le componenti in fase gassosa nel bilancio di massa è presente solamente il termine relativo al trasferimento di massa gas-liquido.

$$\text{Trasferimento gas-liquido:} = -k_L a_{CO_2} \cdot (S_{co2} - K_{H_{co2}} \cdot p_{co2,gas}) \quad (3.58)$$

3.2.2.4 Identificazione parametrica - LFT

Il modello creato risulta non lineare, a causa del termine $\frac{S}{S + K_s}$ presente nella cinetica di Monod; perciò l'identificazione dei parametri non può essere effettuata attraverso metodi classici, basati generalmente su modelli lineari tempo-invarianti (LTI). Si è quindi deciso di fare utilizzo di una trasformazione lineare frazionaria (LFT), come descritto da Della Bona et al. (2015) [85]. Questa tecnica, sviluppata dal Dipartimento di Elettronica, Informazione e Bioingegneria del Politecnico di Milano (DEIB), permette di linearizzare la dipendenza dei parametri da identificare, riformulando le equazioni del modello, così da applicare poi un'identificazione lineare basata sul metodo di 'Massima Verosimiglianza' [86]. Tale metodo consente di calcolare le derivate delle funzioni di sensitività rispetto ai parametri, quindi dovrebbe risultare più efficace rispetto ai metodi alternativi di calibrazione dei modelli, senza ricorrere a inefficienti approssimazioni a differenze finite [87]. Di seguito si fornisce una descrizione non dettagliata di tale metodo, concentrandosi sulle equazioni utilizzate per la trasformazione lineare del modello semplificato realizzato. Per maggiori approfondimenti sul metodo si rimanda agli articoli di Della Bona et al. (2015) [85], e Hsu et al. (2008) [87]. In **Figura 3.14** si fornisce un esempio dello schema a blocchi concettuale con il quale opera un sistema LFT.

Considerando il generico sistema dinamico non-lineare tempo-invariante riportato nel sistema di equazioni 3.59:

$$\begin{cases} \dot{\mathbf{x}}(t) = \mathbf{f}(\mathbf{x}(t); \mathbf{u}(t); \boldsymbol{\delta}_0) & \mathbf{x}(0) = \mathbf{x}_0 \\ \mathbf{y}(t) = \mathbf{g}(\mathbf{x}(t); \mathbf{u}(t); \boldsymbol{\delta}_0) \end{cases} \quad (3.59)$$

Dove \mathbf{f} e \mathbf{g} sono funzioni note, $\mathbf{x}(t)$ il vettore delle variabili di stato, $\mathbf{u}(t)$ e $\mathbf{y}(t)$ rispettivamente ingresso e uscita del sistema, $\boldsymbol{\delta}$ i parametri del modello di cui $\boldsymbol{\delta}_0$ il valore esatto. La forma generica di un modello LFT diventa:

$$\begin{cases} \dot{\mathbf{x}}(t) &= \mathbf{A}\mathbf{x}(t) + \mathbf{B}_1\mathbf{w}(t) + \mathbf{B}_2\boldsymbol{\zeta}(t) + \mathbf{B}_3\mathbf{u}(t) \\ \mathbf{z}(t) &= \mathbf{C}_1\mathbf{x}(t) + \mathbf{D}_{11}\mathbf{w}(t) + \mathbf{D}_{12}\boldsymbol{\zeta}(t) + \mathbf{D}_{13}\mathbf{u}(t) \\ \mathbf{w}(t) &= \mathbf{C}_2\mathbf{x}(t) + \mathbf{D}_{21}\mathbf{w}(t) + \mathbf{D}_{22}\boldsymbol{\zeta}(t) + \mathbf{D}_{23}\mathbf{u}(t) \\ \mathbf{y}(t) &= \mathbf{C}_3\mathbf{x}(t) + \mathbf{D}_{31}\mathbf{w}(t) + \mathbf{D}_{32}\boldsymbol{\zeta}(t) + \mathbf{D}_{33}\mathbf{u}(t) \\ \mathbf{w}(t) &= \boldsymbol{\Delta}\mathbf{z}(t) = \text{diag}\{\delta_1\mathbf{I}_{r_1}, \dots, \delta_q\mathbf{I}_{r_q}\}\mathbf{z}(t) \\ \boldsymbol{\zeta}(t) &= \boldsymbol{\Theta}(\mathbf{w}(t)) \end{cases} \quad (3.60)$$

Dove $\mathbf{z} \in \mathbb{R}^{n_z}$, $\boldsymbol{\omega} \in \mathbb{R}^{n_\omega}$, $\mathbf{w} \in \mathbb{R}^{n_w}$, $\boldsymbol{\zeta} \in \mathbb{R}^{n_\zeta}$ sono vettori di variabili ausiliarie, \mathbf{A} , \mathbf{B}_i , \mathbf{C}_i , \mathbf{D}_{ij} sono matrici di costanti note, r_i è la dimensione delle matrici identità \mathbf{I}_{r_i} nel $\boldsymbol{\Delta}$ blocco e $\boldsymbol{\Theta}(\boldsymbol{\omega}) : \mathbb{R}^{n_\omega} \rightarrow \mathbb{R}^{n_\zeta}$ è una funzione non lineare vettoriale nota.

Per prima cosa è necessario verificare che ciascun parametro incognito δ_i moltiplichi una variabile. Se così non fosse è necessario modificare opportunamente il modello, garantendo ovviamente l'equivalenza dello stesso, come riportato nell'esempio della (3.61).

$$\frac{x_1}{x_1 + \delta_1} \rightarrow \frac{x_1^2}{x_1^2 + \delta_1 \cdot x_1} \quad (3.61)$$

Successivamente, se nel modello ogni parametro δ_i compare sempre moltiplicato per la stessa funzione $f_i(\cdot)$, si può porre:

$$\begin{cases} w_i = \delta_i \cdot f_i(\cdot) \\ z_i = f_i(\cdot) \end{cases} \quad (3.62)$$

Altrimenti:

$$\begin{bmatrix} w_{(r_1+\dots+r_{i-1})+1} \\ \cdot \\ \cdot \\ \cdot \\ w_{(r_1+\dots+r_{i-1})+r_i} \end{bmatrix} = \delta_i \begin{bmatrix} z_{(r_1+\dots+z_{i-1})+1} \\ \cdot \\ \cdot \\ \cdot \\ z_{(r_1+\dots+r_{i-1})+r_i} \end{bmatrix}; \quad \forall i, \dots, q \quad (3.63)$$

Nella pagina seguente si riporta il sistema di equazioni relativo al modello, modificato usando la linearizzazione del sistema attraverso metodo LFT, ricordando che i parametri da stimare (ovvero le δ_i) sono la K_{LaO_2} del sistema e la K_s della biomassa relativa all'idrogeno. In **Appendice B** si riporta il codice relativo al modello implementato in MATLAB[®].

$$x = \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ x_3 \\ x_4 \\ x_5 \\ x_6 \\ x_7 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X_{h2} \\ S_{h2} \\ S_{ch4} \\ S_{IC} \\ S_{h2,gas} \\ S_{ch4,gas} \\ S_{co2,gas} \end{bmatrix}; \quad \delta = \begin{bmatrix} \delta_1 \\ \delta_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} K_{S,h2} \\ K_{LaO_2} \end{bmatrix}; \quad w = \begin{bmatrix} w_1 \\ w_2 \\ w_3 \\ w_4 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \delta_1 \cdot z_1 \\ \delta_2 \cdot z_2 \\ \delta_2 \cdot z_3 \\ \delta_2 \cdot z_4 \end{bmatrix}$$

$$z = \begin{bmatrix} z_1 \\ z_2 \\ z_3 \\ z_4 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} x_2 \\ \sqrt{\frac{D_{H_2}}{D_{O_2}}} \cdot (x_2 - KH_{h2} \cdot R \cdot T_{op} \cdot x_5) \\ \sqrt{\frac{D_{CH_4}}{D_{O_2}}} \cdot (x_3 - KH_{ch4} \cdot R \cdot T_{op} \cdot x_6) \\ \sqrt{\frac{D_{CO_2}}{D_{O_2}}} \cdot (x_4 \cdot \frac{10^{-pH}}{K_{a,co2} + 10^{-pH}} - KH_{co2} \cdot R \cdot T_{op} \cdot x_7) \end{bmatrix}$$

$$\omega = \begin{bmatrix} \omega_1 \\ \omega_2 \\ \omega_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ w_1 \end{bmatrix} \quad \xi = \begin{bmatrix} \xi_1 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{\omega_1 \cdot \omega_2^2}{\omega_2^2 + \omega_3} \end{bmatrix}$$

$$y = \begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \\ y_3 \\ y_4 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} p_{gas} \\ S_{h2} \\ S_{ch4} \\ S_{co2} \end{bmatrix} =$$

$$\begin{bmatrix} \frac{S_{gas,h2} \cdot R \cdot T_{op}}{16} + \frac{S_{gas,ch4} \cdot R \cdot T_{op}}{64} + S_{gas,co2} \cdot R \cdot T_{op} \\ S_{h2} \\ S_{ch4} \\ S_{IC} \cdot \frac{10^{-pH}}{K_{a,co2} + 10^{-pH}} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{x_5 \cdot R \cdot T_{op}}{16} + \frac{x_6 \cdot R \cdot T_{op}}{64} + x_7 \cdot R \cdot T_{op} \\ x_2 \\ x_3 \\ x_4 \cdot \frac{10^{-pH}}{K_{a,co2} + 10^{-pH}} \end{bmatrix}$$

Di conseguenza il sistema di equazioni trasformato linearmente diventa:

$$\begin{cases} \dot{x}_1 = Y_{h2} \cdot km_{h2} \cdot \xi_1 - k_d \cdot x_1 \\ \dot{x}_2 = -km_{h2} \cdot \xi_1 - w_2 \\ \dot{x}_3 = (1 - Y_{h2}) \cdot km_{h2} \cdot \xi_1 - w_3 \\ \dot{x}_4 = -C_{ch4} \cdot km_{h2} \cdot \xi_1 - C_{bac} \cdot Y_{h2} \cdot km_{h2} \cdot \xi_1 + C_{bac} \cdot k_d \cdot x_1 - w_4 \\ \dot{x}_5 = \frac{V_{liq}}{V_{gas}} \cdot w_2 \\ \dot{x}_6 = \frac{V_{liq}}{V_{gas}} \cdot w_3 \\ \dot{x}_7 = \frac{V_{liq}}{V_{gas}} \cdot w_4 \end{cases} \quad (3.64)$$

Per quanto riguarda l'implementazione in MATLAB[®] è necessario fornire al solver il vettore delle uscite misurate, che nel caso particolare del modello semplificato è dato unicamente da 3 componenti: la pressione nello spazio di testa, il metano disciolto e l'idrogeno disciolto. La CO₂ non viene fornita in input, in quanto essa dipende dagli equilibri dettati dalla variazione del pH, che non vengono considerati in tale modello (pH assunto costante). Caricati i vettori di output, si deve definire un range di valori relativo ai parametri da identificare, in modo da facilitare le iterazioni svolte dall'algoritmo il quale, una volta lanciato, va a ricercare le soluzioni che minimizzano lo scarto tra i dati stimati e sperimentali. Terminato tale step, si riprocede alla simulazione del modello, adottando i valori di K_{La} e K_s stimati.

Infine si è deciso di verificare la bontà del modello identificato, quantificandola attraverso i coefficienti MARE, di cui è già stata fornita una spiegazione al paragrafo 3.1.4 e di Theil (TIC), definito dalla (3.65).

$$TIC = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - y_{m,i})^2}}{\sqrt{\sum_{i=1}^n y_i^2} + \sqrt{\sum_{i=1}^n y_{m,i}^2}} \quad (3.65)$$

Dove y_i e $y_{m,i}$ rappresentano rispettivamente i valori dell'uscita simulata e misurata (reale) per $i = 1, \dots, n$ con n dati. Un valore dell'indice TIC inferiore di 0,3 indica una buona corrispondenza con i dati misurati [88].

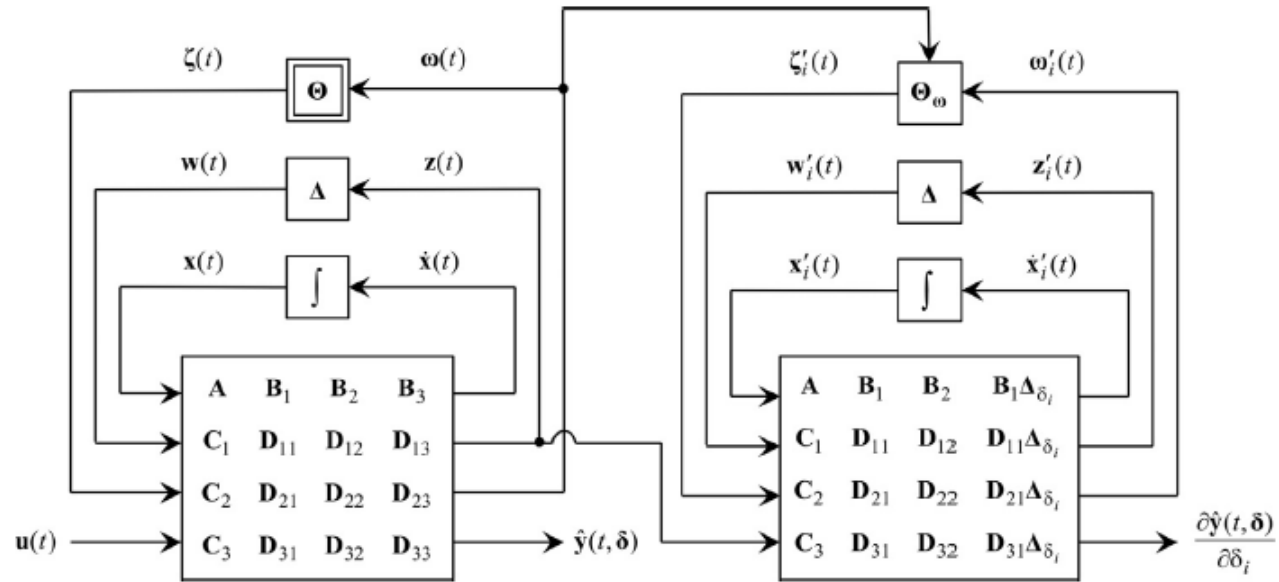


Figura 3.14: Schema a blocchi per la simulazione di un sistema LFT. Data la variabile di input $u(t)$, esso permette la computazione dell'uscita stimata e delle funzioni di sensitività.

4 | RISULTATI E DISCUSSIONE

Vengono qui riportati i risultati conseguiti a partire dalle prove sperimentali condotte, oltre che dall'applicazione dei modelli descritti nel Capitolo 3. Essi vengono presentati, sia in forma numerica, che grafica, al fine di assicurarne una sintetica visualizzazione. Attraverso le valutazioni che accompagnano i vari contenuti vengono discussi il significato e le implicazioni correlate ai risultati ottenuti. Inoltre, in prospettiva di future ulteriori elaborazioni, si focalizza l'attenzione sui principali punti di forza dei metodi applicati, così come sugli aspetti da migliorare e sui limiti che andranno superati per conseguire una loro maggiore affidabilità e praticità.

4.1 Prove preliminari di validazione

4.1.1 Effetto della temperatura

In base a quanto descritto al paragrafo 3.1.4 si riportano di seguito i risultati relativi all'Apparato 2 in merito alle prove al contorno, al fine di quantificare l'effetto dell'incremento di temperatura intercorrente tra $T_{iniziale} = 25^{\circ}\text{C}$ e $T_{finale} = 37^{\circ}\text{C}$ e il conseguente aumento di pressione rilevato ad inizio prova.

Il grafico di **Figura 4.1** mostra che la pressione registrata al raggiungimento della temperatura finale è stata circa pari a 1,13 bar, con una differenza di pressione tra inizio (1,08 bar) e fine prova (1,13 bar) pari a 0,05 bar; tale fatto è coerente con quanto atteso applicando la legge dei gas perfetti per una trasformazione isocora. In termini cinetici si vede che il conseguimento delle condizioni stazionarie avviene dopo circa un'ora di attivazione della tracciatura. Si può notare come i valori stimati riescano a ben simulare il valore di pressione registrato dallo strumento, a conferma che l'aumento di pressione entro i valori registrati sia direttamente correlato all'aumento della temperatura. In **Tabella 4.1** si riportano gli indici MARE e di correlazione di Pearson, che mostrano appunto il buon fit tra i dati sperimentali e l'implementazione della legge dei gas perfetti.

Si segnala che sono state registrate delle variazioni fra i valori di temperatura al medesimo timestep fra le due prove, a causa degli errori accidentali avvenuti

Tabella 4.1: Indici statistici calcolati per la prova al contorno relativa all'effetto della temperatura

Indice	Prova 1	Prova 2	U.M.
MARE	0,5%	0,8%	bar
Correlazione	99%	99%	-

durante la registrazione manuale della misura (ad esempio a causa della differente profondità del puntale del termometro digitale sulla testa del dispositivo).

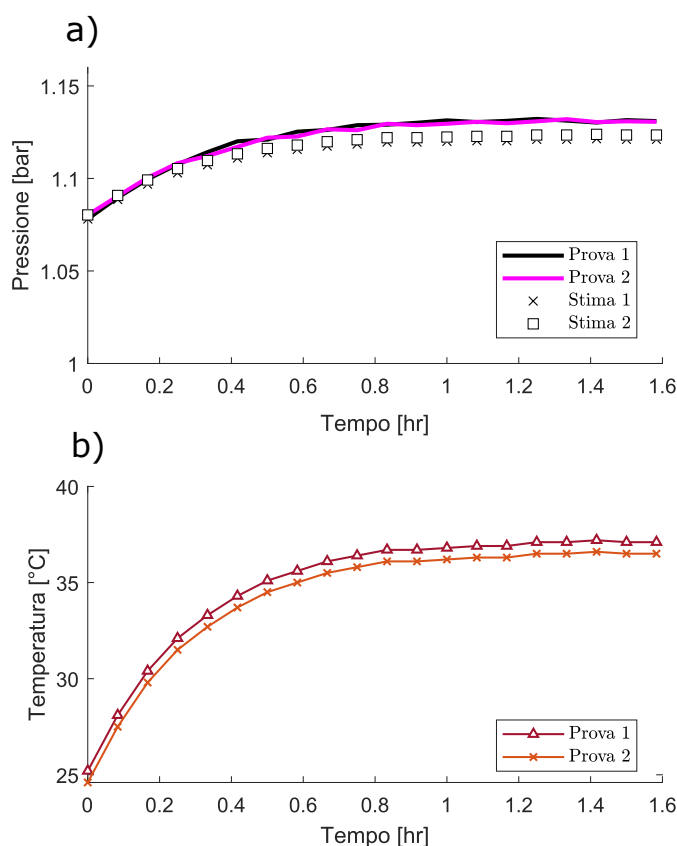


Figura 4.1: a) effetto della variazione di pressione legato alla variazione di temperatura nella fase iniziale della prova e b) profilo della temperatura misurata durante il transitorio ad inizio prova

4.1.2 Concentrazioni a saturazione (HPR-40 DSA)

Si riportano qui di seguito i risultati delle prove effettuate sull'Apparato 2, per quantificare la capacità e l'accuratezza dello spettrometro di massa nel rilevare le concentrazioni dei gas disciolti. Tali prove (paragrafo 3.1.4) sono state effettuate su acqua deionizzata avente stessa alcalinità del fango

Dalla **Figura 4.2** si riportano i profili delle concentrazioni disciolte misurate di H_2 e CO_2 , distinguendo le 3 fasi della prova contraddistinte dall'aumento progressivo della pressione totale applicata (1,2 bar - 1,6 bar - 2 bar).

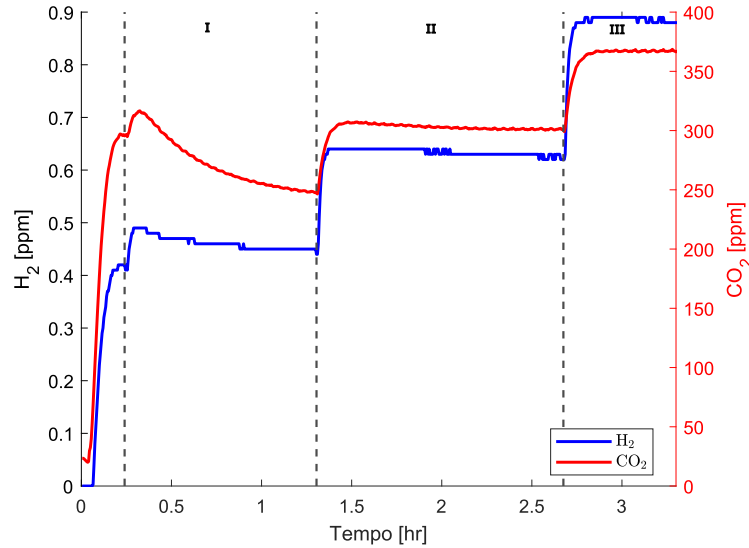


Figura 4.2: Profili dei gas disciolti (H_2 e CO_2) durante la prova di controllo sull'Apparato 2, utilizzando la sonda dei gas disciolti

Dalla figura si può osservare che, la stabilizzazione della concentrazione misurata nelle 3 fasi, avviene temporalmente in circa 1 ora. Di seguito si riporta il commento dei profili misurati nelle fasi di prova:

- **Fase I:** nella fase I si notano due picchi raggiunti da entrambe le specie gassose appena dopo l'insufflazione a 1,2 bar. La CO_2 raggiunge una concentrazione massima di circa 320 ppm, dopo di che rapidamente decresce (probabilmente a causa degli equilibri legati al sistema calcio-carbonico), conseguendo un valore di equilibrio pari a circa 273 ppm. L' H_2 raggiunge un picco iniziale pari a 0,5 ppm, seguito da una lieve discesa che porta ad una stabilizzazione ad un valore di 0,45 ppm;
- **Fase II:** nella fase II, a seguito dell'insufflazione a 1,6 bar, vengono raggiunti due picchi di concentrazione seguiti dalla successiva raggiunta delle condizioni di equilibrio. La CO_2 realizza una concentrazione massima di circa 310 ppm, stabilizzandosi poi a 302 ppm. L' H_2 raggiunge un picco iniziale pari a circa 0,65 ppm, seguito dalla stabilizzazione ad un valore di 0,63 ppm;

- **Fase III:** nella fase III, a seguito dell'insufflazione a 2 bar, vengono raggiunti due picchi di concentrazione seguiti dalla successiva raggiunta delle condizioni di equilibrio. La CO₂ consegue una concentrazione massima di circa 400 ppm, stabilizzandosi poi a 367 ppm. L'H₂ raggiunge un picco iniziale pari a circa 0,9 ppm, seguito dalla stabilizzazione ad un valore di 0,88 ppm

Confrontando i valori riportati in **Tabella 4.2**, si nota però l'elevata differenza tra concentrazioni misurate e quelle a saturazione teoriche.

Tabella 4.2: Concentrazioni a saturazione disciolte dell'H₂ e della CO₂ misurate nella prova di controllo, utilizzando la sonda dei gas disciolti. Il pedice t sta a significare valore teorico e il pedice m misurato

(a) Idrogeno			(b) Anidride carbonica		
P [bar]	Csat _{t} [ppm]	Csat _{m} [ppm]	P [bar]	Csat _{t} [ppm]	Csat _{m} [ppm]
1,2	1,40	0,45	1,2	273	248
1,6	1,87	0,63	1,6	364	302
2	2,34	0,88	2	455	367

Calcolando i rapporti tra le concentrazioni a saturazione fra due successivi incrementi di pressione, così come riportato in **Tabella 4.3**, si nota che non vi sia una grande differenza tra i valori dei rapporti teorici rispetto a quelli sperimentali (variazioni percentuali nel range 3 - 11%).

Tabella 4.3: Rapporti fra le concentrazioni a saturazione teoriche e rilevate rispetto alle pressioni imposte

(a) Idrogeno			(b) Anidride carbonica		
Rapporto Csat ₁ /Csat ₂	Teorico [-]	Misurato [-]	Rapporto Csat ₁ /Csat ₂	Teorico [-]	Misurato [-]
$\frac{C_{sat}(1,2)}{C_{sat}(1,6)}$	0,75	0,72	$\frac{C_{sat}(1,2)}{C_{sat}(1,6)}$	0,75	0,82
$\frac{C_{sat}(1,6)}{C_{sat}(2)}$	0,80	0,72	$\frac{C_{sat}(1,6)}{C_{sat}(2)}$	0,80	0,82

Inoltre, osservando i rapporti tra le concentrazioni a saturazione teoriche e misurate (si veda **Tabella 4.4**), si nota che il discostamento dell'idrogeno sia molto più marcato rispetto alla CO₂.

Tabella 4.4: Rapporti fra concentrazioni a saturazioni teoriche e misurate a pari pressione imposta

P [bar]	CO ₂ $\frac{C_{sat_{i,t}}}{C_{sat_{i,m}}}$	H ₂ $\frac{C_{sat_{i,t}}}{C_{sat_{i,m}}}$
1,2	1,10	3,12
1,6	1,21	2,97
2	1,24	2,66

L'analisi di questi fattori porta a concludere che, in particolare per le letture dell'H₂, vi sia una differenza rilevante tra il valore misurato e quello teorico a saturazione, ma abbastanza sistematica e non dipendente dalla pressione imposta.

4.1.3 Verifica condizioni non limitanti

In base a quanto descritto al paragrafo 3.1.6.1, per verificare l'assenza di condizioni limitanti durante la prova di SHMA, si riporta il profilo delle pressioni parziali nelle **Figura 4.3** e **Figura 4.4**, calcolato come descritto al paragrafo 3.1.6. Di seguito si riportano in **Tabella 4.5** i valori delle pressioni parziali dell'H₂ e della CO₂ riscontrate per tali prove ed un confronto con le rispettive pressioni parziali limite definite in base al valore di K_s selezionato ($3,75 \cdot 10^{-5}$ [mol/L] per l'H₂ e $1,30 \cdot 10^{-6}$ per la CO₂ [mol/L]).

Tabella 4.5: Valori limite ($P_{p,limite}$) e misurati ($P_{p,misurata}$) delle pressioni parziali a fine prova relativi all'Apparato 2 e all'Apparato 1

Composto	$P_{p,limite}$ [bar]	$P_{p,misurata}$ [bar]
Apparato 2		
CO ₂	5E ^{-0,5}	0,04
H ₂	0,05	0,15
Apparato 1		
CO ₂	5E ^{-0,5}	0,04
H ₂	0,05	0,14

Per fornire una sintesi grafica efficace dei calcoli effettuati, si è scelto di riportare unicamente il profilo risultante dalle prove che hanno registrato le minime pressioni parziali dell'idrogeno e della CO₂ (nell'intero arco della sperimentazione) per entrambi gli apparati; ovvero relative alla prova caratterizzata dal massimo trasferimento gas-liquido, situazione che ha comportato la massima

SHMA misurata per l'Apparato 2 (prova: 200 mL, 2 bar, 800 rpm del 02/03/22 - codice #MT14) e per l'Apparato 1 (prova: 53,5 mL, 1,2 bar, 800 rpm del 11/10/21 - codice # OX5). Dato che queste prove hanno mostrato il minimo della pressione parziale, possono essere utilizzate per identificare, almeno da un punto di vista teorico, il limite inferiore e per escludere quindi condizioni substrato limitanti per ogni prova condotta.

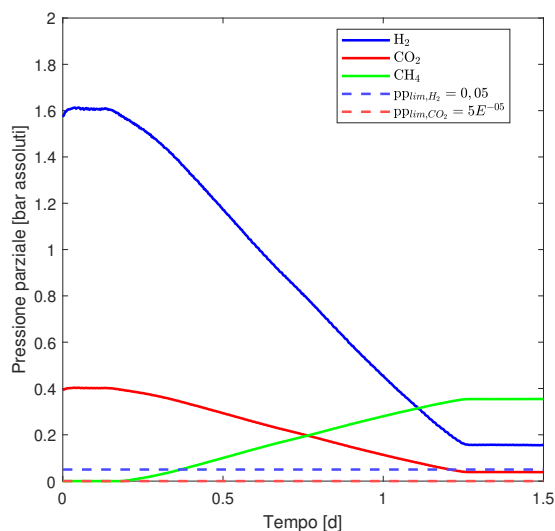


Figura 4.3: Profilo delle pressioni parziali relativo alla prova di SHMA 200 mL, 2 bar e 800 rpm per l'Apparato 2

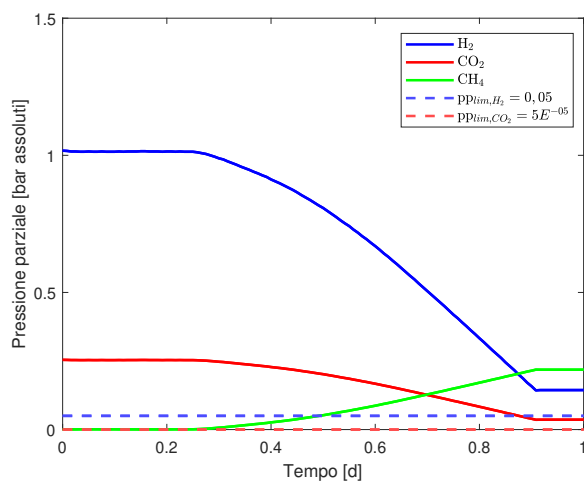


Figura 4.4: Profilo delle pressioni parziali relativo alla prova di SHMA 53,5 mL, 1,2 bar e 800 rpm per l'Apparato 1

4.1.4 Bilancio del COD

Sulla base dei calcoli riportati nel paragrafo 3.1.6.5 vengono di seguito presentati i risultati relativi al bilancio del COD effettuato e della stima della Y_{h2} della biomassa.

Tabella 4.6: Risultati finali relativi al bilancio del COD sulla prova di SHMA

#	Data	Vol [mL]	Pre [bar]	mix [rpm]	COD iniziale [gCOD]	COD finale [gCOD]	e_r [%]	Y_{h2} [$\frac{gCOD_{SSV}}{gCOD_{h2}}$]
MT2	24-gen	600	1,2	400	3,23	3,26	0,9	0,02
MT9	27-gen	400	1,6	400	3,61	3,63	0,7	0,02
MT9	31-gen	400	1,6	400	3,65	3,69	1,0	0,03
MT13	03-feb	400	2	800	4,23	4,27	1,0	0,05
MT13	09-feb	400	2	800	4,22	4,27	1,1	0,03
MT10	11-feb	200	2	400	3,92	3,96	1,0	0,04
f	17-feb	400	2	400	4,31	4,33	0,6	0,02
b	21-feb	400	1,6	800	3,55	3,63	2,1	0,09
d	25-feb	400	1,2	400	2,96	2,98	0,6	0,03
MT14	02-mar	200	2	800	3,99	4,02	0,6	0,03
Media								0,04
Dev.std								2,2%

Osservando la **Tabella 4.6**, si può affermare che il bilancio del COD risulti verificato, a meno di un errore assoluto percentuale tra i valori di COD iniziale e finale sempre minore del 2,5%. Tale difetto scaturisce dalle molteplici ipotesi semplificative adottate per effettuare il bilancio ed è causa di quelli che possono essere gli errori sistematici commessi dall'operatore nel calcolo dei solidi volatili pre e post prova. Per quanto riguarda il valore del tasso di crescita Y_{h2} , esso è risultato nell'ordine di grandezza del valore definito dall'ADM1 ($0,06 [gCOD_{SSV} \cdot gCOD_{h2}^{-1}]$); questa evidenza conferma la bontà dei calcoli effettuati ed in generale del set up delle prove di SHMA condotte. In particolare si nota come tale valore oscilli all'interno di un range tra lo 0,02 e 0,09, mentre il valore medio risulti pari a $0,04 [gCOD_{SSV} \cdot gCOD_{h2}^{-1}]$, leggermente inferiore al valore standard definito dell'ADM1

In **Figura 4.5** viene riportato un esempio del profilo delle frazioni volumetriche e della variazione del COD nella fase gas relativo alla prova # MT14 (200 mL - 2 bar - 800 rpm), calcolate secondo quanto riportato al paragrafo 3.1.6.5

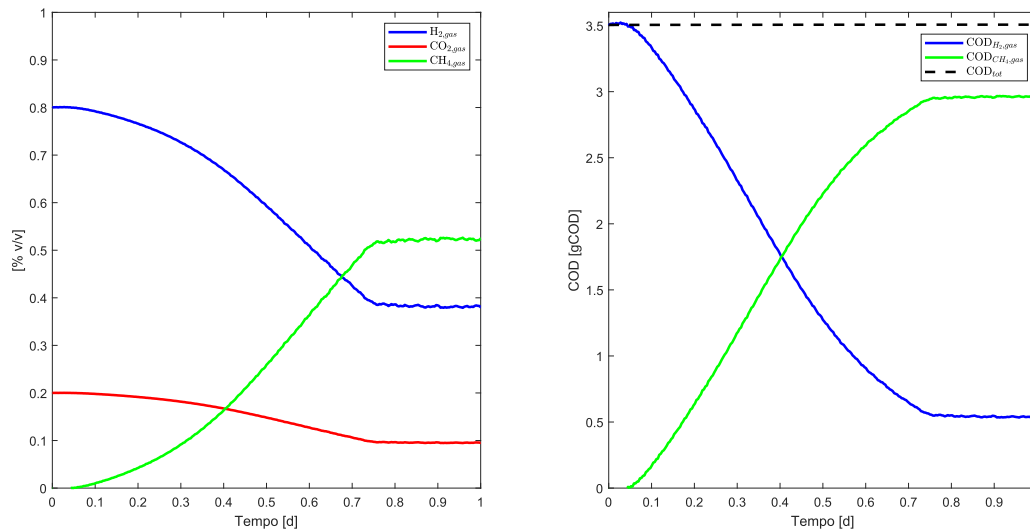


Figura 4.5: A sinistra, profilo delle frazioni volumetriche dei gas durante la prova di SHMA (200 mL, 2 bar, 800 rpm) e a destra, corrispondente profilo del COD in fase gas rispetto al COD totale (si omette nel grafico il COD dell'idrogeno e del metano in fase liquida all'inizio e alla fine della prova, in quanto il valore è risultato di 2 ordini di grandezza inferiore)

4.2 Risultati delle prove di SHMA

4.2.1 Riepilogo valori e statistiche delle prove

Sulla base del valore massimo del differenziale di pressione, attraverso le equazioni mostrate al paragrafo 3.1.6, sono stati ricavati i valori di SHMA per i due apparati ed i rispettivi valori medi e coefficienti di variazione (*CV*) delle prove, che sono costituite da repliche.

Per l'Apparato 1 i risultati delle elaborazioni sono riportati in **Tabella 4.7**.

Tabella 4.7: Riepilogo dei valori di SHMA, media e CV ottenuti per le prove effettuate sull'Apparato 1 durante la fase I

#	Vol [mL]	Pre [bar]	mix [rpm]	P1 [$\frac{NmLCH_4}{gSV \cdot d}$]	P2 [$\frac{NmLCH_4}{gSV \cdot d}$]	Media [$\frac{NmLCH_4}{gSV \cdot d}$]	CV [%]
OX1	53,5	1,2	400	2032	2175	2104	4,8
OX2	160	1,2	400	268	584	426	52,4
OX3	53,5	1,2	0	304	304	304	0
OX4	160	1,2	0	176	121	148	26,5
OX5	53,5	1,2	800	3087	3087	3087	0
OX6	160	1,2	800	2321	2317	2319	0,1
OX7	106,5	1,2	0	163	227	195	23,1
OX8	106,5	1,2	800	1199	1208	1204	0,5
OX9	106,5	1,2	400	886	1098	992	15,0

Per l'Apparato 2 i risultati delle elaborazioni sono riportati nella pagina seguente, in **Tabella 4.9**.

In **Tabella 4.8** si riporta il riepilogo degli eventi che hanno caratterizzato le fasi (I e II) della sperimentazione.

Tabella 4.8: Riepilogo degli eventi che hanno caratterizzato le fasi della sperimentazione

	Data	Evento
Fase I	17/09/21	Inizio Fase I prove SHMA (REM 2 operato in discontinuo)
	02/09/21	Ritorno ad operatività in continuo del REM2
	29/11/21	Termine Fase I sperimentazione SHMA
Fase II	20/01/22	Inizio Fase II prove SHMA e analisi dei gas disciolti
	02/03/22	Termine sperimentazione

Tabella 4.9: Riepilogo dei valori di SHMA, media e CV ottenuti per le prove effettuate sull'Apparato 2. Con il simbolo I si intende un valore della media e il relativo CV calcolato per le prove eseguite nel primo periodo di sperimentazione (celle bianche e marroni), mentre con I+II si effettuano i calcoli, utilizzando tutte le celle della riga per valutare media e CV, considerando l'insieme delle fasi

N°	Vol [mL]	Pre [bar]	mix [rpm]	P1 [$\frac{NmLCH_4}{gSV \cdot d}$]	P2 [$\frac{NmLCH_4}{gSV \cdot d}$]	P3 [$\frac{NmLCH_4}{gSV \cdot d}$]	P4 [$\frac{NmLCH_4}{gSV \cdot d}$]	P5 [$\frac{NmLCH_4}{gSV \cdot d}$]	Media SHMA (I)	Media SHMA (I+II)	CV(I) [%]	CV (I+II) [%]
MT1	200	1,2	400	1914	1787	-	-	-	1851	1851	5	5
MT2	600	1,2	400	119	n.d.	261	293	-	119	224	-	41
MT3	200	1,6	0	394	315	-	-	-	355	355	16	16
MT4	600	1,6	0	166	n.d.	187	-	-	166	176	-	8
MT5	200	1,6	800	n.d.	n.d.	2767	4551	-	2767	3659	-	34
MT6	600	1,6	800	245	n.d.	838	927	-	542	670	77	55
MT7	400	1,2	0	419	81	-	-	-	250	250	96	96
MT8	400	1,2	800	1413	1099	3436	-	-	1256	1983	18	64
MT9	400	1,6	400	1036	901	768	881	-	968	896	10	12
MT10	200	2,0	400	n.d.	n.d.	5433	4259	2296	5433	3996	-	40
MT11	600	2,0	400	n.d.	625	438	-	-	625	532	-	25
MT12	400	2,0	0	448	393	-	-	-	421	421	9	9
MT13	400	2,0	800	n.d.	n.d.	1693	4149	4303	1693	3382	-	43
MT14	200	2,0	800	2960	2423	5118	4597	5709	3774	4161	34	34

Tabella 4.10: Legenda con cui interpretare i colori della **Tabella 4.9**

Legenda	
n.d.	Prove eseguite nella fase I, con il reattore REM2 alimentato in maniera discontinua (prove comprese tra il 17/09/21 e il 02/11/21)
	Prove eseguite nella fase I, con il reattore REM2 alimentato in maniera discontinua di cui non è stato possibile risalire al dato (prove comprese tra il 17/09/21 e il 02/11/21)
	Prove eseguite nuovamente nella fase I dopo la ripresa dell'operatività del REM2 in modalità continua (prove comprese tra il 02/11/21 e il 29/11/21)
	Prove eseguite nella fase II con funzionamento del REM2 in continuo (prove comprese tra il 20/01/22 e il 02/03/22)

In ognuna delle prove riportate in **Tabella 4.7**, eseguite nella Fase I della sperimentazione, si distinguono i valori di SHMA "P1" e "P2" delle repliche. Si nota che i coefficienti di variazione maggiori sono associabili alle prove che hanno fornito bassi valori di SHMA, ad indicare quello che potrebbe essere, un errore sistematico nella loro preparazione, ovvero una variabilità intrinseca, oppure una incapacità del sistema di misurare con accuratezza valori così bassi di SHMA. L'effetto della diversità dei parametri sui valori di SHMA ottenuti viene discusso al paragrafo 4.3.2.

In ognuna delle prove relative all'Apparato 2, riportate in **Tabella 4.9**, eseguite nella Fase I e Fase II di sperimentazione, si distinguono i valori di SHMA delle repliche "Pi" (con $i = \{1, 2, 3, 4, 5\}$).

Come spiegato nel capitolo 3, durante la Fase I, a causa delle problematiche relative all'acquisizione del dato di pressione da parte del server, non è stato possibile reperire una serie di dati, obbligando di fatto a ripetere alcune delle prove in un giorno differente da quello inizialmente previsto. Questo fatto è avvenuto in concomitanza con la ripresa dell'operatività in continuo del reattore REM2, in quanto per un primo periodo di prove è stato soggetto solo ad iniezioni impulsive di H₂ e CO₂ (fino al giorno 02/11/21). Tuttavia la replica delle prove non ha permesso di ottenere, per questioni legate alle tempistiche delle prove stesse di SHMA (durata media 1-3 giorni), un doppio per ogni misura.

I valori così ottenuti, riportati nella **Tabella 4.9**, rappresentati dalle celle color marrone, seppur in numero limitato, risultano mediamente più alti di quelli delle colonne "P1" e "P2". Pur causando un peggioramento delle statistiche raccolte, questo risulta comunque un fenomeno generalmente positivo, ad indicare la capacità della misura di identificare la variazione delle condizioni nel reattore di origine.

Durante la Fase II si è deciso di ripetere alcune delle prove effettuate in precedenza (riportate in colore verde in tabella), allo scopo di:

- verificare l'impatto del ritorno all'operatività in continuo del reattore;
- rispettare il piano delle prove inizialmente pensato (almeno 2 prove ed 1 bianco) rifacendo quindi le prove prive di doppio.

La scelta di ripetere le prove è stata dettata dal seguente fatto: quelle ad 800 rpm ottimizzano meglio il trasferimento gas-liquido; difatti è stato osservato che ripetendo alcune delle prove della prima fase, si è notato un incremento del valore medio di SHMA osservabile nella **Tabella 4.9**. Ma tale fatto non ha permesso

di comprendere se ciò dipendesse da un problema di attività-limitante, collegato quindi a delle possibili problematiche relative all'acclimatazione della biomassa nel reattore REM2 oppure dipendesse da una problematica substrato-limitante, ovvero collegata alle condizioni operative della prova (ad esempio la miscelazione che impatta sul trasferimento di massa gas-liquido).

Per quanto riguarda i coefficienti di variazione riportati in **Tabella 4.9**, non avendo a disposizione tutte le prove in doppio non è stato possibile confrontare tali valori in maniera completa; quindi ci si è limitati ad osservare che le prove operate nel primo periodo per l'Apparato 1 - caratterizzate da un basso valore di SHMA -, quindi MT6-P1 rispetto a MT6-P3 e MT7-P1 rispetto a MT7-P2, hanno riportato CV molto elevati, ad indicare anche in questo caso un possibile errore sistematico di misura o una incapacità del sistema nel rilevare con accuratezza valori bassi di SHMA.

4.2.2 Considerazioni teoriche

Lo scopo di questo paragrafo è quello di spiegare ed interpretare, per entrambi gli apparati, gli andamenti tipici di alcuni esempi di profili di pressione e dei differenziali corrispondenti, ottenuti nelle prove sperimentali e riportati nella **Figura 4.6(a)** e nella **Figura 4.6(b)**. L'analisi teorica sarà limitata all'Apparato 2 in quanto, grazie alla maggiore pressione iniziale, per esso sono meglio identificabili le diverse fasi della prova. Analoghe considerazioni potranno essere fatte per i dati relativi all'Apparato 1.

Analizzando quindi la curva di pressione dell'Apparato 2 nella **Figura 4.6(a)** di destra, per la prova 1 (P1), si possono identificare quattro zone di comportamento:

- I** : una zona iniziale di crescita della pressione, dovuta al riscaldamento del gas interno ai serbatoi in seguito alle operazioni di carico della prova (0-0,1 [d]);
- II** : una seconda zona di lag e attivazione del fango, che si può ipotizzare essere legata al tempo necessario per la formazione o attivazione degli enzimi, in seguito al raffreddamento subito durante il set-up della prova o a condizioni non ottimali del fango presente nel reattore REM2, da cui si è effettuato il campionamento (0,1-0,5 [d]);
- III** : una zona successiva, a pendenza quasi costante, di maggiore interesse per il test, in cui il fango esprime la sua massima attività (0,8-1,4 [d]);

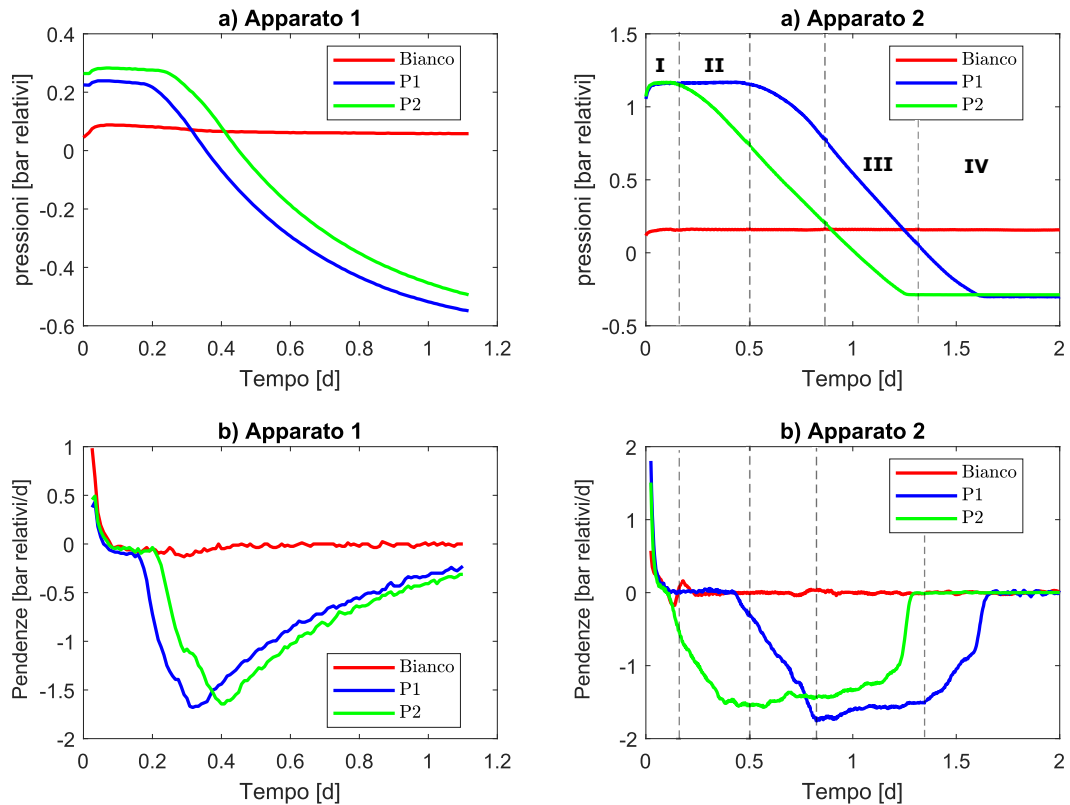


Figura 4.6: Esempio di curva di pressione per l'Apparato 1 e l'Apparato 2 e relativi differenziali (pendenze) stimati su un'ora di dati

IV : una zona finale caratterizzata dalla decrescita dell'attività misurata, identificabile nella curva di pendenza e attribuibile alla riduzione del substrato disponibile.

La prova viene infine interrotta nel momento in cui la pressione esce dal range di misura del pressostato a -0,3 bar relativi.

Dal punto di vista della cinetica del processo biologico, l'andamento della curva descritto pare rappresentare la seguente situazione; la velocità del processo cresce, per una prima fase, fino a raggiungere il minimo valore del differenziale di pressione, quindi il massimo valore di velocità, per poi ridursi. Questo profilo ha un comportamento anomalo rispetto all'andamento tipico di una prova batch dove, superato il periodo di acclimatazione iniziale, si dovrebbe notare una decrescita della velocità, per via della riduzione del substrato disponibile. In queste prove invece si nota che, in un primo momento, la velocità cresce nonostante la decrescita della pressione, quindi del substrato disponibile. Tale fatto è dipeso dal trasferimento di massa gas-liquido, evidenziando che nella prima fase ci sia un incremento del trasferimento di massa dell'idrogeno dalla fase gas alla fase

liquida.

Ulteriori considerazioni riguardanti la velocità del processo possono essere fatte analizzando nel dettaglio i differenziali di pressione dei due apparati.

- nella curva di **Figura 4.6(b)**, relativa all'Apparato 1, è evidente il raggiungimento di un minimo assoluto (0,3 [d]). Tuttavia, raggiunto il punto di minimo, si nota l'immediata presenza di un flesso con successiva risalita ed una tendenza del differenziale ad un valore nullo. Questo fenomeno può essere ritenuto indicativo di una condizione per cui la decrescita di S influenzi il comportamento dell'attività batterica;
- nella curva di **Figura 4.6(b)**, relativa all'Apparato 2, è evidente il raggiungimento di un minimo assoluto, seguito però da una condizione semi-stazionaria (0,4-1,2 [d]), con derivata prima quasi costante. Questo risulta possibile nel caso di una cinetica di Monod, solo alla condizione per cui S risulti strettamente maggiore di K_s e, di conseguenza, si possa osservare una cinetica di ordine 0 che, una volta integrata, fornisca l'equazione di una retta, quindi di un tratto a pendenza costante, dando pertanto luogo ad una fase in cui la prova esprime dentro tale periodo una condizione di $\mu = \mu_{max}$, portando infine alla misura effettiva della SHMA batterica, al netto di influenze legate alle capacità di trasferimento del sistema.

4.3 Discussione dei risultati

Questa sezione ha lo scopo di spiegare, visualizzare ed interpretare, i risultati delle prove di SHMA, quelli del modello ed infine quelli dell'identificazione parametrica.

4.3.1 Correlazioni

Per comprendere le cause che hanno portato ad un aumento dei valori medi di SHMA riscontrato per l'Apparato 2 e per valutare gli impatti dei parametri operativi, si sono analizzate le relazioni tra una serie di parametri ed il valore misurato di SHMA. Sono state valutate le correlazioni più significative attraverso la realizzazione della matrice di correlazione lineare. I parametri scelti sono stati:

- volume;

- pressione;
- miscelazione;
- tempo di lag;
- data;
- temperatura del reattore di origine;
- concentrazione di solidi volativi (SV).

Le correlazioni tra tali parametri ed il valore di SHMA sono riportate nella matrice di correlazione lineare in **Figura 4.7**, realizzata attraverso il software RStudio. L'analisi della correlazione è stata fatta sull'intero dataset, comprensivo di entrambe le fasi della sperimentazione (Fase I+II).

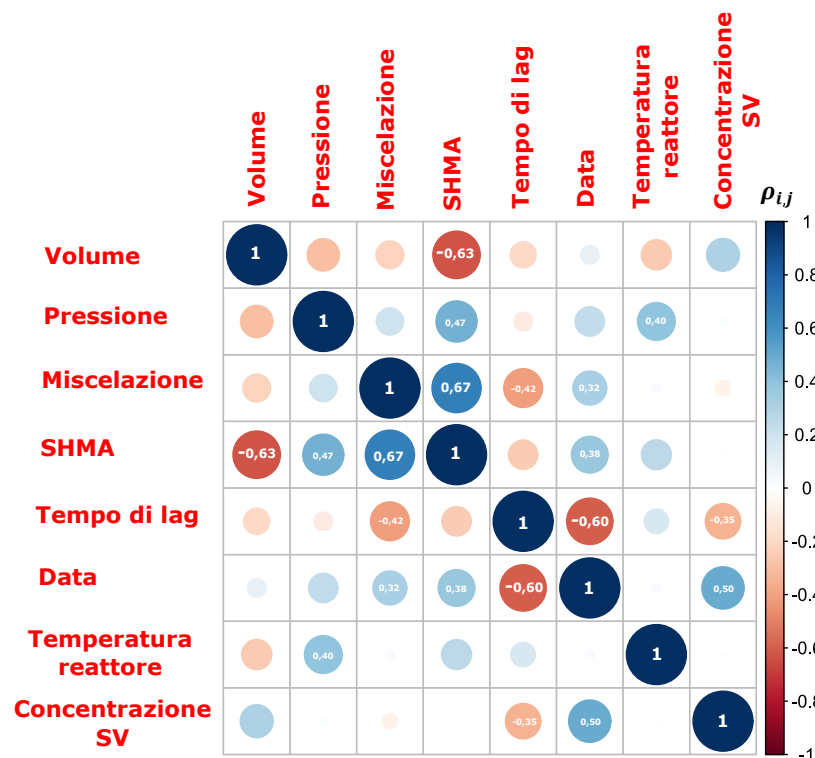


Figura 4.7: Matrice di correlazione sull'intero dataset dell'Apparato 2; ogni cella rappresenta il coefficiente $\rho_{i,j}$ [$i = \text{riga}, j = \text{colonna}$]; il colore di ogni cella è dipendente dal valore della cella attraverso l'applicazione di una formattazione condizionale a scala di colori, mentre il raggio di ogni cerchio è proporzionale al valore di $\rho_{i,j}$. Si riportano unicamente i valori più significativi.

Dall'analisi della matrice di correlazione, si può notare che le correlazioni più significative con il valore di SHMA sono quelle connesse ai parametri operativi

della prova, quali miscelazione con $\rho_{i,j} = 0,67$, volume con $\rho_{i,j} = -0,63$ e pressione con $\rho_{i,j} = 0,47$. La temperatura del reattore di origine non mostra correlazioni importanti con nessun parametro (a parte un $\rho_{i,j} = -0,4$ con la pressione di inizio prova, che però rappresenta una correlazione spuria senza nesso causale). La concentrazione di SV mostra una correlazione con la data delle prove ($\rho_{i,j} = -0,50$) mentre non presenta correlazioni significative con il valore di SHMA misurato. Il tempo di lag sembra essere correlato debolmente con la miscelazione ($\rho_{i,j} = -0,42$), ma non con il valore misurato di SHMA. Per il tempo di lag la correlazione più significativa è rappresentata dalla colonna "Data" ($\rho_{i,j} = -0,60$), che spiega un effetto legato all'inoculo della prova. Questo fatto è osservabile nella **Figura 4.8**, dove si può osservare un confronto tra i tempi di lag di alcune prove tra la Fase I e la Fase II.

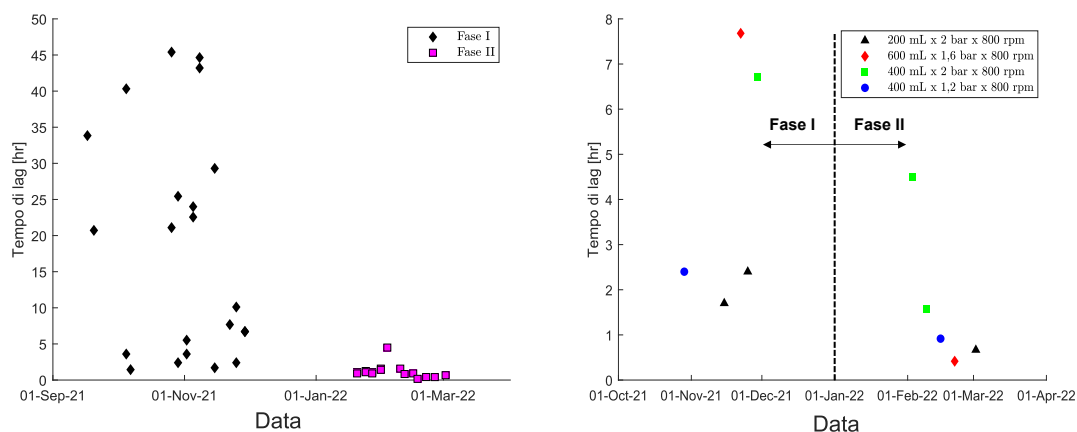


Figura 4.8: Confronto grafico attraverso scatterplot tra i valori dei tempi di lag relativi alle prove di SHMA dell'Apparato 2 della fase I e della fase II

La variazione del tempo di lag rispetto alla data, quindi alle condizioni dell'inoculo, è giustificata e ragionevole tenendo conto delle diverse condizioni operative in cui ha operato il REM2 durante le fasi della sperimentazione. In particolare, nella Fase I, il reattore è stato sottoposto a frequenti interruzioni, che hanno portato ad operarlo in modalità discontinua con iniezioni impulsive di H_2 e CO_2 . Inoltre, durante le fasi di stop va segnalato che anche le pompe di dosaggio dei nutrienti sono state fermate, ed è quindi probabile che la biomassa sia stata in carenza di nutrienti nella prima fase di sperimentazione, almeno fino al giorno 2 novembre 2021. Un altro effetto è probabilmente dovuto alle temperature ambiente più basse di alcune prove, che hanno comportato un maggior tempo per raggiungere le temperature di prova idonee.

Dalla matrice emerge che le correlazioni più significative con i valori di SHMA si riscontrino con i parametri operativi della prova, volume, miscelazione e pressione (rispettivamente di tipo negativo/inverso e positivo). Le correlazioni tra volume e miscelazione sono risultate di entità simile, mentre l'entità della pressione è risultata un po' minore. Si è quindi proceduto ad approfondire tali correlazioni mediante l'adozione di tre differenti approcci:

- uno volto alla statistica descrittiva dell'Apparato 2 e dei dati raccolti al fine di rilevare, sintetizzare e rappresentare quelle che possono essere le relazioni colte tra i parametri e i valori di SHMA;
- uno volto all'osservazione dei profili di pressione e dei gas disciolti raccolti nella sperimentazione per l'Apparato 2;
- uno volto alla statistica inferenziale, attraverso lo sviluppo del modello di regressione lineare multipla applicato sull'Apparato 2, al fine di individuare, elaborare e quantificare relazioni interdipendenti tra i valori campionari e i parametri operativi.

4.3.2 Analisi dei parametri operativi

4.3.2.1 Statistica descrittiva Apparato 2

Per quanto riguarda l'Apparato 2 viene mostrata la differenza tra i valori medi ottenuti nelle Fase I di sperimentazione e i valori medi ottenuti sull'intero set (Fase I+II).

Si è riscontrato un valore di SHMA generalmente crescente all'aumento della capacità di solubilizzazione del sistema, ovvero per V decrescente, P crescente e Mix crescente. Tale fenomeno risulta qualitativamente osservabile analizzando i risultati riportati in **Figura 4.9**, cui è stata applicata, tramite software Excel, una formattazione condizionale con colore variabile in funzione del valore mostrato. Si è optato di utilizzare tale metodo di rappresentazione per fare vedere l'impatto sulla variabile continua SHMA, essendo in presenza di un iperpiano in 3 dimensioni, più la quarta dimensione rappresentata dal valore di SHMA; è parso il modo più intuitivo e semplice per esporre i dati in maniera grafica.

Per analizzare da un punto di vista qualitativo l'impatto del set di parametri, si è poi scelto di riportare, per i singoli termini, il risultato per mezzo di grafico boxplot, che suddivide il set di dati in quartili e fornisce una stima dei

valori outlier, oltre che l'andamento del valore medio durante le diverse fasi della sperimentazione.

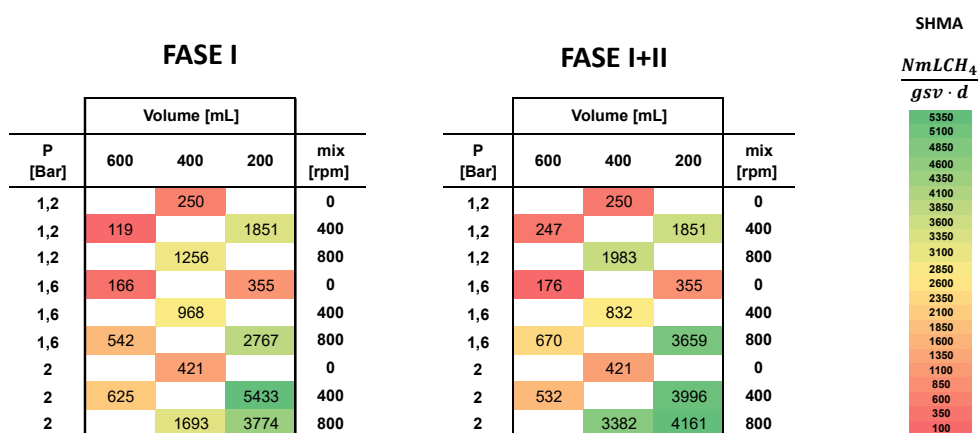


Figura 4.9: Confronto grafico attraverso la realizzazione di una heat map tra i valori medi di SHMA relativi alle prove di SHMA dell'Apparato 2 della fase I e ai valori medi dell'intero set (fase I+II)

Dalla **Figura 4.9** si possono esprimere le seguenti osservazioni qualitative:

- il passaggio dalla prima fase alla seconda ha portato ad un aumento dell'attività specifica media della biomassa, soprattutto per i valori relativi alle condizioni di massimo trasferimento, confermando invece i valori medi relativi a condizioni di peggiore trasferimento;
- le rare inconsistenze osservabili nella prima fase (es. SHMA pari a 5433 per una condizione di 2 bar - 200 mL - 400 rpm, maggiore dell'SHMA a 2 bar - 200 mL - 800 rpm, risultata pari a 3774) non si rilevano sull'intero campione completo, grazie al fatto che, per ogni prova, sono presenti i duplicati.

Si utilizza la rappresentazione grafica di **Figura 4.10**, nella quale viene riportata la matrice ricostruita dei valori medi del set completo (Fase I+II), in modo che, muovendosi lungo le colonne, emerga la variazione di 2 su 3 parametri, sia in **a)** (colonne a V costante), che in **b)** (colonne a mix costante), che in **c)** (colonne a P costante). Si osserva una risposta del sistema coerente con quanto ci si aspetti dalla teoria del trasferimento di massa gas-liquido, ovvero un incremento del valore medio di SHMA per volumi decrescenti, miscele crescenti e pressioni crescenti.

Attraverso il grafico boxplot è poi possibile comprendere in maniera qualitativa questo comportamento, dato che, raggruppando all'interno di una categoria

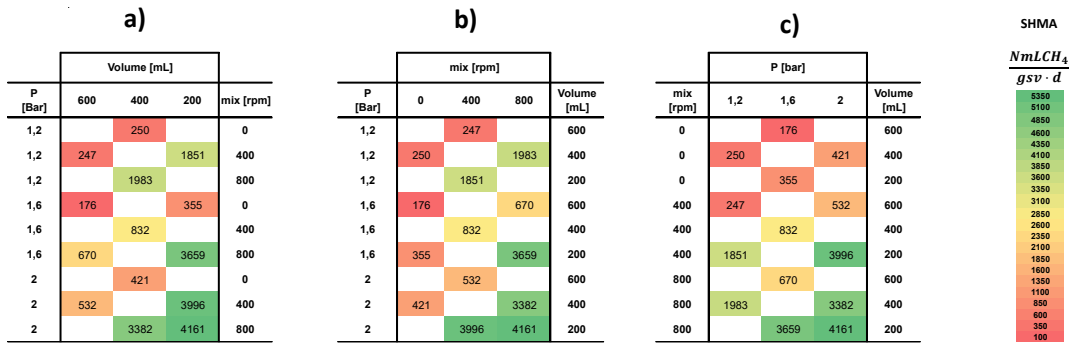


Figura 4.10: Da sinistra a destra heat map dei valori di SHMA (fase I + II) al variare dei parametri operativi: fissando la riga i-esima, si può notare come la modifica del parametro della colonna j-esima impatti sul valore di SHMA, mantenendo fissati i restanti 2 parametri.

tutti i valori di SHMA rispetto a quella categoria, è possibile osservare in modo qualitativo il comportamento di una variabile rispetto alla variazione simultanea delle altre.

Ad esempio osservando il grafico boxplot relativo al raggruppamento in base al volume liquido, si dimostra come un incremento del volume abbia portato sempre ad una diminuzione dei valori medi rilevati di SHMA.

Valori maggiori del volume liquido hanno però portato ad una variabilità minore tra i dati.

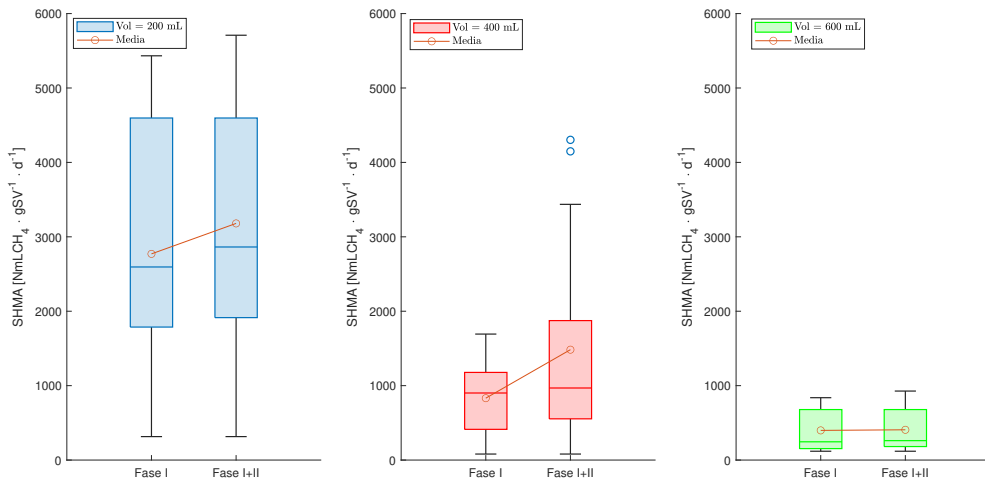


Figura 4.11: Boxplot delle prove dell'Apparato 2 a differente volume, considerando il solo periodo I di prove e l'insieme del periodo I e II

Per quanto riguarda i boxplot relativi alla miscelazione si osserva anche in questo caso come un aumento di tale parametro produca un incremento medio

del valore di SHMA (**Figura 4.12**).

Analizzando invece l'ampiezza del boxplot, ovvero la variabilità della distribuzione dei dati, si osserva come un aumento del valore di miscelazione comporti un aumento della variabilità del campione.

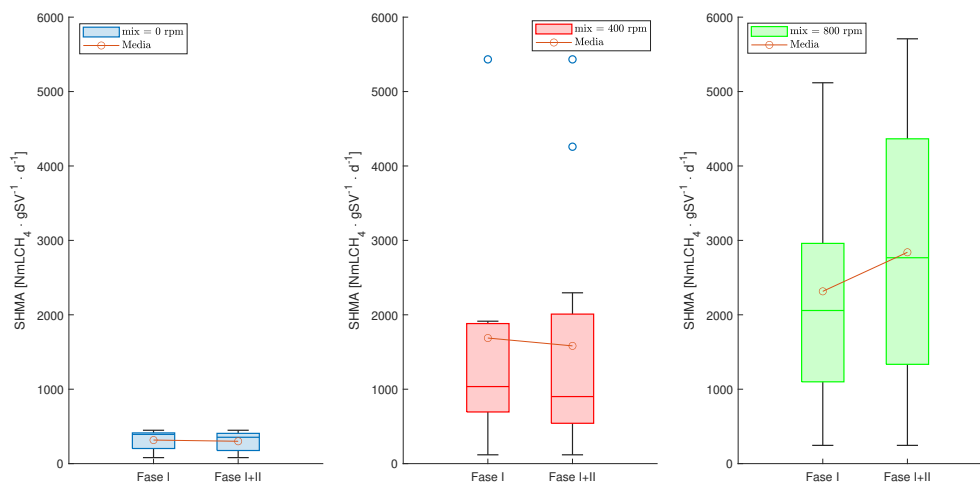


Figura 4.12: Boxplot delle prove dell'Apparato 2 a differente miscelazione, considerando il solo periodo I di prove e l'insieme del periodo I e II

Il boxplot dei dati suddivisi per pressione, riportato in **Figura 4.13**, sembra non mostrare un andamento strettamente crescente dei valori medi di SHMA all'aumento della pressione. Questo dato, accoppiato alla variabilità dei boxplot che non sembra seguire un trend lineare al miglioramento delle condizioni di trasferimento (da 1,2 bar a 2 bar), ha portato ad ipotizzare come tale parametro risenta molto della variazione contemporanea degli altri 2 parametri.

Osservando i boxplot dei valori di SHMA tra i 3 parametri si conferma quindi quanto mostrato dai valori della matrice di correlazione di **Figura 4.7**. L'effetto della variazione del volume e della miscelazione sul valore di SHMA è risultato di peso confrontabile, meno chiaro risulta invece l'effetto della variazione della pressione.

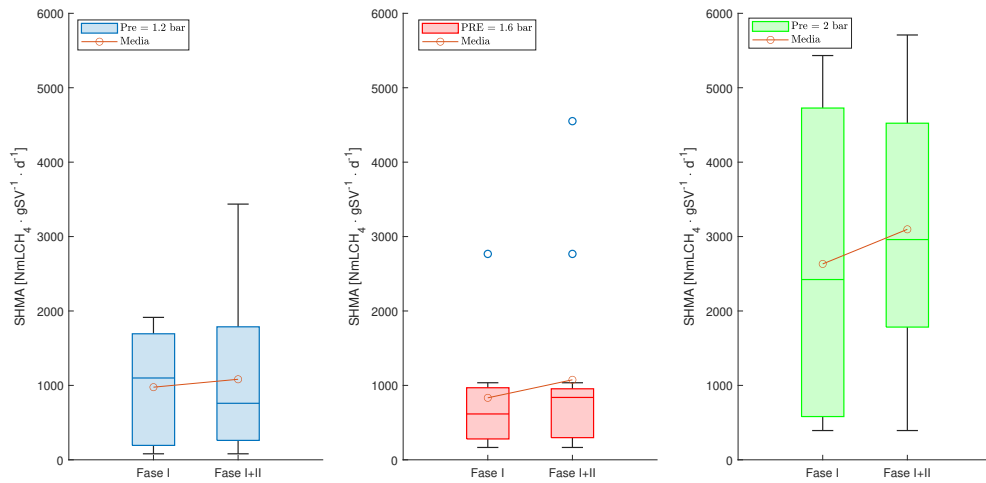


Figura 4.13: Boxplot delle prove dell'Apparato 2 a differente pressione, considerando il solo periodo I di prove e l'insieme del periodo I e II

4.3.2.2 Analisi dei profili di pressione e dei gas disciolti

L'impatto dei parametri operativi è stato valutato in maniera qualitativa anche dall'osservazione dei profili di pressione del gas e delle concentrazioni disciolte dei gas. Si ricorda che il dataset per effettuare la misura dei gas disciolti (**Tabella 3.10**, capitolo 3) è stato costruito mantenendo il medesimo volume (400 mL) per ogni prova, facendo variare unicamente pressione e miscelazione, in modo da poter osservare le variazioni dell'impatto di questi due soli parametri. In **Figura 4.14** si riportano tali profili, confrontando prove ad eguale pressione, ma a differente miscelazione (muovendosi lungo la riga), o prove ad eguale miscelazione, ma a differente pressione (muovendosi lungo la colonna).

L'aumento della pressione totale imposto alla prova dovrebbe assicurare, secondo la teoria del trasferimento di massa gas-liquido, una maggiore concentrazione a saturazione, quindi un aumento del gradiente di trasferimento, permettendo alla biomassa di avere a disposizione un maggiore quantitativo di substrato per unità di tempo nella fase liquida. Tale fatto è ben visibile osservando i profili di H₂ e di CO₂ a 800 rpm, al variare della pressione, riportati nelle figure di sinistra (**a**), (**b**), (**c**)). Si può notare che, spostandosi dalle figure superiori a quelle inferiori, i profili siano meno ripidi, e che si allunghi il tempo di esaurimento al crescere della pressione. Si segnala che le differenze più marcate si riscontrino nel passaggio da 1,2 a 1,6 bar. Questo potrebbe indicare che un aumento di pressione, oltre certi range di valori, apporti solamente un beneficio marginale

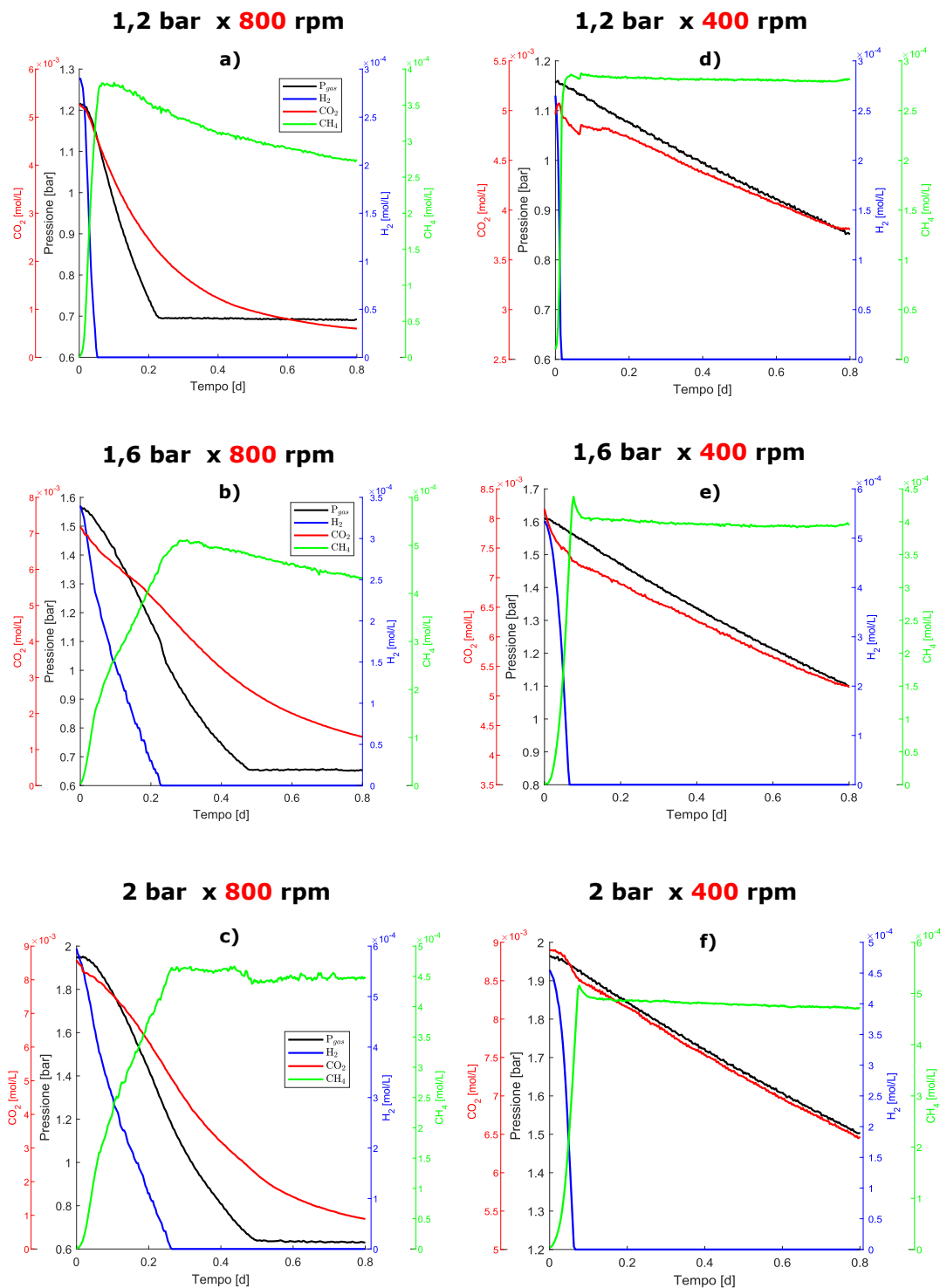


Figura 4.14: Profili rilevati sperimentalmente dei gas disciolti e della pressione nello spazio di testa. Lungo la colonna si mantiene costante la miscelazione della prova variandone la pressione; lungo la riga avviene l'opposto.

alla forzante di trasferimento.

Per quanto riguarda il parametro miscelazione, nel caso di 400 rpm, i valori

massimi e minimi di concentrazioni disciolte sono uguali o solo di poco inferiori al caso 800 rpm, mentre il profilo di discesa della pressione è meno brusco e più lento.

Per comprendere meglio l'impatto della miscelazione sulle diverse componenti di seguito si è analizzato il profilo, separando tra componenti in fase gas (P_{gas}) e in fase liquida (H_2 , CO_2 e CH_4), in modo da poter verificare i fenomeni separatamente, mettendo in luce peculiarità e differenze e/o comportamenti anomali:

H_2 : il profilo dell'idrogeno mostra che il passaggio da 800 rpm a 400 rpm, penalizzi molto il trasferimento di massa gas-liquido. Osservando il profilo ad 800 rpm (riquadro **a**) rispetto quello a 400 si nota uno "spanciamento" maggiore della curva dell'idrogeno, con un esaurimento in un tempo maggiore, segnale di come il trasferimento di massa gas-liquido riesca a compensare maggiormente l'uptake di idrogeno da parte dei microrganismi.

P_{gas} : la pressione nello spazio di testa segue un comportamento inverso rispetto a quanto descritto per il profilo dell'idrogeno. Ciò è coerente con quanto ci si aspetta dalla prova, poiché una bassa miscelazione comporta un abbassamento della $K_L a$, quindi un abbassamento del rateo di trasferimento di massa gas-liquido, provocando a sua volta una minore capacità di dissoluzione dei composti dalla fase gas alla fase liquida.

CO_2 : il comportamento della CO_2 conferma in linea di massima quanto osservato per l'idrogeno. Tuttavia la sua minore decrescita nel tempo è associabile alla sua maggiore solubilità e ad un tasso di rimozione stechiometrico definito dalla (2.5), pari a 1/4 rispetto a quello dell'idrogeno.

CH_4 : il profilo del metano mostra una crescita opposta rispetto al consumo di H_2 . In particolare si osserva come raggiunga la saturazione e mantenga costante tale valore già prima del termine della prova (nella figura **(c)**), mentre per le figure **a)** e **b)** si nota che, raggiunto il picco di saturazione, vi sia un comportamento in decrescita del metano; tale fatto potrebbe dar adito ad una possibile condizione di sovrasaturazione generata da una possibile piccola perdita nell'attacco pneumatico dello strumento visto che rappresentano gli unici casi in cui si sia registrato tale comportamento (una volta che il sistema entra in depressione richiama aria, la quale abbassa la pressione parziale del metano, quindi la sua concentrazione a saturazione, generando infine una degasazione dalla fase liquida a quella gassosa).

Il valore misurabile di concentrazione dell' H_2 termina prima del minimo valore misurabile di pressione, ed è interessante osservare che in corrispondenza di questa situazione non si ottiene alcuna variazione del rateo di riduzione di pressione, ad indicare che la concentrazione disciolta di H_2 è ancora sufficiente a dare la stessa cinetica del processo, che parrebbe quindi essere indipendente dalla concentrazione. Questo fatto è di interesse non tanto e solo per la K_{La} , ma anche per la cinetica. In tutte le prove la pressione cala quasi sempre in via rettilinea, ad indicare una cinetica di ordine 0, ma a K_s differenti (influenzate da quanto H_2 è disponibile). In **a)**, **b)**, **c)** si nota che il processo termina solo se si guarda la pressione ma comunque dopo che H_2 ha raggiunto il valore minimo misurabile, mentre in **d)**, **e)**, **f)** non si ferma mai nell'intervallo di tempo considerato.

Nella **Tabella 4.11** viene riportato il dataset delle prove e le relative SHMA misurate.

Tabella 4.11: Set di prove utilizzate nell'analisi dei gas disciolti e corrispondenti valori di SHMA calcolati

# prova	Volume [mL]	Pressione [bar]	Miscelazione [rpm]	SHMA [$\frac{NmLCH_4}{gSV \cdot d}$]
d	400	1,2	400	530
f	400	2	400	697
e	400	1,6	400	880
b	400	1,6	800	2896
c	400	1,2	800	3436
a	400	2	800	4303

Si nota come vi sia un chiaro trend per quanto riguarda l'aumento di miscelazione e un corrispondente incremento del valore di SHMA, mentre meno chiaro risulta l'impatto della pressione, dato che si registrano valori di SHMA, a pari miscelazione più elevati a 1,2 bar, rispetto a 1,6 bar o tra 1,6 e 2 bar. Tale fatto, insieme all'analisi dei boxplot e alla correlazione, conferma il minor ruolo della pressione nell'ambito dell'intervallo dei parametri studiato rispetto al volume ed alla miscelazione.

4.3.2.3 Regressione lineare multipla

Per comprendere se la risposta del sistema possa essere governata da una combinazione lineare dei parametri operativi nell'ambito degli intervalli studiati, è stato applicato un modello di regressione lineare multipla alle variabili

indipendenti ($X_1 = \text{volume}$, $X_2 = \text{pressione}$ e $X_3 = \text{miscelazione}$), allo scopo di stimare il valore di SHMA. Come spiegato nel paragrafo 3.1.7, si riportano i risultati della regressione, nonché i valori delle statistiche calcolate e la verifica delle ipotesi che stanno alla base dell'applicazione del modello, ovvero la normalità dei residui e la omoschedasticità.

Nella (4.1) si riporta l'equazione utilizzata per la regressione, così da permettere al lettore di associare ai parametri presentati nel paragrafo i relativi significati.

$$\hat{Y}_i = \beta_0 + \beta_1 \cdot X_1 + \beta_2 \cdot X_2 + \beta_3 \cdot X_3 + \epsilon_i \quad (4.1)$$

Come primo step si verifica che le variabili predittive sono indipendenti tra loro, dimostrando attraverso la matrice di correlazione lineare in **Figura 4.15**, come il coefficiente di correlazione lineare sia prossimo a 0, evidenziando che tali variabili non presentino problemi di multicollinearità per l'applicazione del modello di regressione lineare.

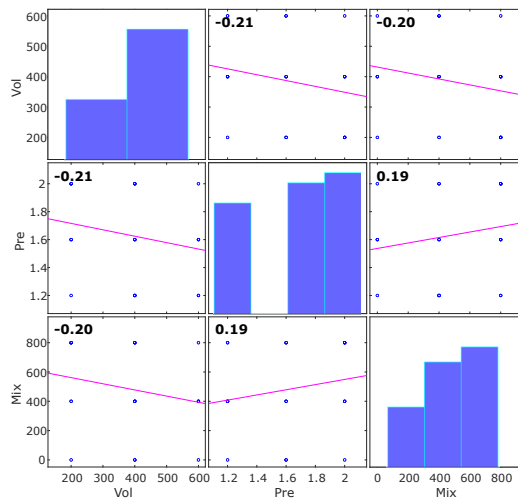


Figura 4.15: Matrice dei coefficienti di correlazione lineare tra le variabili predittive X_1 , X_2 e X_3 , (in grassetto si riportano i valori dei coefficienti $\rho_{i,j}$)

In **Tabella 4.12** si riportano le statistiche della regressione multipla lineare effettuata attraverso apposito comando presente nel software Microsoft Excel.

La regressione mostra un R_{adj}^2 pari a 0,71, tale parametro stima la proporzione di varianza della variabile risposta, spiegata dalla regressione attraverso il modello lineare. Anche se tale parametro diventi utilizzabile per effettuare stime affidabili quando si ottiene un valore superiore al 90%, è risultato in ogni

caso interessante osservare come il modello si sia comportato rispetto al set di parametri.

Tabella 4.12: Riepilogo statistiche della regressione

Parametro	Valore
R^2	0,73
R^2_{adj}	0,71
Errore std	898,35
Osservazioni	37

Per verificare statisticamente che il modello di regressione lineare fosse adeguato, si è effettuato l'F-test sull'intero modello, i cui risultati sono riportati in **Tabella 4.13**. Osservando la cella $\text{prob} > F$, la quale contiene il valore di significatività, essendo esso minore del livello di significatività imposto α pari a 0,05, si rigetta l'ipotesi nulla H_0 . Quindi si accetta che almeno un β_i sia diverso da 0 ammettendo perciò l'ipotesi di una relazione lineare tra la variabile dipendente e almeno una delle variabili esplicative.

Tabella 4.13: Riepilogo tabella Anova dell'F-test sull'intero modello di regressione

	g.d.l.	SQ	MQ	F(3,34)	$\text{prob} > F$
Regressione	3	74711316	24903772	30,86	$8E^{-10}$
Residuo	34	3	807029		
Totale	37	102150309			

Per valutare la significatività di ogni parametro, ovvero quanto ogni variabile indipendente migliori la stima della variabile dipendente, si è utilizzata la statistica fornita dal T-test, della quale si riportano i risultati in **Tabella 4.14**. Attraverso l'analisi della significatività di ogni β_i stimato, si osserva che, per ogni β_i , il p-value ($\text{prob} > |t|$) è minore di $\alpha = 0,05$ quindi è possibile rigettare l'ipotesi nulla H_0 , osservando che l'inserimento di ogni variabile predittiva X_i migliora statisticamente la stima della variabile indipendente per il modello.

Dalla **Tabella 4.14**, osservando a questo punto il p-value ($\text{prob} > |t|$), si può notare che il β_2 relativo alla pressione X_2 si avvicina molto di più degli altri al valore di significatività (0,05) e quindi di nullità della pendenza, coerentemente con quanto già osservato nelle sezioni precedenti.

Per poter analizzare l'impatto di ogni singola variabile rispetto alle altre, si deve effettuare una standardizzazione, dato che le variabili in gioco hanno

Tabella 4.14: Riepilogo delle statistiche del t-test sul modello di regressione

Parametro	valore	Errore std	t	prob > t
Intercetta (β_0)	165,39	947,41	0,17	0,86
β_1	-4,76	1,02	-4,65	$4,83E^{-05}$
β_2	1216,17	466,87	2,60	0,0135
β_3	2,94	0,49	5,99	$8,985E^{-07}$

unità di misura e scale diverse. I coefficienti beta standardizzati riportati in **Tabella 4.15** sono ottenuti attraverso una standardizzazione delle variabili X_i e della variabile Y del campione, sottraendo rispettive medie e dividendo per le deviazioni standard e ripetendo quindi la regressione con i valori standardizzati.

Tabella 4.15: Tabella dei coefficienti β_i standardizzati

	β_i std
X_1	-0,43
X_2	0,24
X_3	0,55

Osservando quindi i β_i standardizzati, si nota come il parametro operativo miscelazione (X_3) abbia un peso maggiore rispetto alle restanti variabili. In particolare si può notare come volume e miscelazione siano comparabili in termini di valore assoluto, mentre tra la pressione e la miscelazione (X_2 e X_3) vi sia un rapporto prossimo a 2.

Si conclude quindi che sussiste una forte relazione tra il valore di SHMA ed i parametri di prova volume e miscelazione (cosa che non avviene nei BMP). Tale fatto comporta che, a seconda di come viene svolta la prova, la SHMA cambi. Rimane quindi l'incognita di quale sia l'SHMA corretta. Una possibile ipotesi potrebbe considerare l'assunzione del valore di SHMA come rappresentativo e corretto, affinché garantisca la medesima K_L del sistema rispetto al quale la SHMA è misurata. Inoltre, se si volessero confrontare due campioni per valutare quali dei due abbia un'attività più elevata, le condizioni di prova non avrebbero molta importanza; invece nel momento in cui si volesse ottenere un valore che serva per dimensionare, occorre valutare la prova in date condizioni, poiché solo così essa potrebbe essere rappresentativa.

Nella **Figura 4.16** si riporta dal punto di vista grafico il confronto dei dati stimati rispetto ai dati misurati.

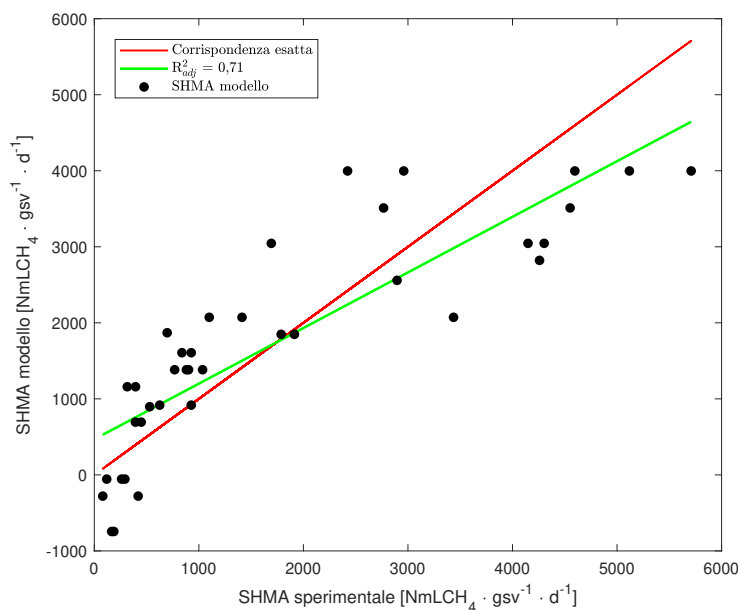


Figura 4.16: Grafico delle SHMA stimate (asse y) dal modello rispetto a quelle misurate sperimentalmente (asse x): in rosso la linea retta di perfetta corrispondenza e in verde la linea di tendenza stimata dal modello

Si osserva che i punti non si dispongono lungo la bisettrice, né risultano ben interpolabili con una retta. Invece si distinguono 3 zone nelle quali la SHMA del modello risulta maggiore o minore dell'SHMA sperimentale:

- una zona iniziale dove i punti si dispongono al di sotto della bisettrice, caratterizzata da bassi valori di SHMA, relativi a prove allestite ad elevato volume e bassa miscelazione;
- una zona centrale nel quale i valori si dispongono al di sopra della bisettrice, caratterizzati da valori intermedi di SHMA, relativi a prove allestite con valori medi di volume e miscelazione;
- una zona finale nel quale i valori si dispongono al di sotto della bisettrice, caratterizzati da alti valori di SHMA, relativi a prove allestite con basso volume ed elevata miscelazione;

Per la validazione del modello si sono analizzati i residui, in particolare sono state verificate le ipotesi alla base del modello di regressione lineare, ovvero:

- i residui standardizzati si dispongono con distribuzione normale:

$$Z \sim \mathcal{N}(0, 1);$$

- l'omoschedasticità dei residui sia verificata, ovvero che la varianza dei residui rimanga costante indipendentemente dal valore dei regressori.

La prima condizione è stata verificata, sia attraverso un metodo grafico **Figura 4.17**, sia attraverso il test statistico di Shapiro-Wilk.

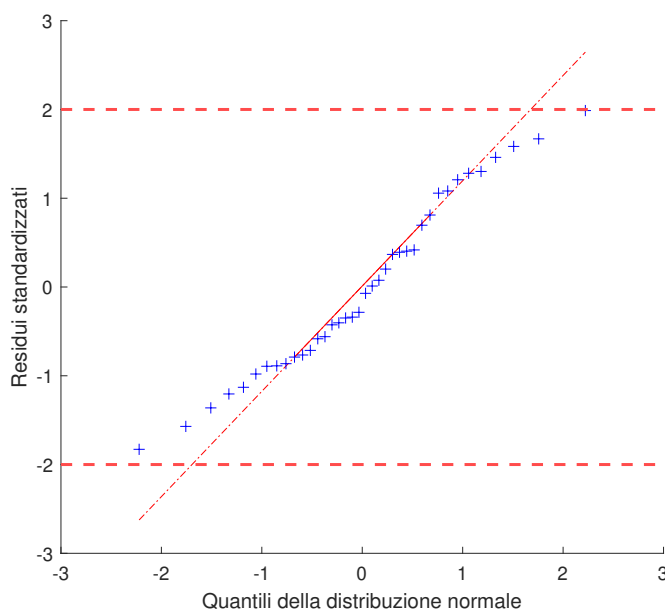


Figura 4.17: q-qplot per i residui standardizzati della stima del modello per verificare la normalità da un punto di vista grafico

La **Figura 4.17** mostra come i residui standardizzati si dispongano bene lungo una retta rappresentata dalla corrispondenza perfetta tra i quantili di una normale standard soprattutto nella regione intermedia, mentre sembrano presentare un andamento che si discosta dalla normalità verso le code della distribuzione. Il test di Shapiro-Wilk effettuato sui residui con livello di significatività $\alpha = 0,05$ ha dato come risultato un p-value di 0,3. Anche se tale valore diventa significativo per valori tendenzialmente maggiori di 1, essendo tale valore maggiore di α , si accetta l'ipotesi nulla H_0 , ammettendo che la popolazione sia distribuita secondo una normale.

La verifica dell'omoschedasticità dei residui è stata effettuata solamente per via grafica, riportandola in **Figura 4.18**. Tale verifica comporta la creazione di un grafico dei residui standardizzati rispetto alle Y stimate, dove la dimostrazione che la varianza rimanga costante, è assicurata dalla presenza di una nuvola di valori che si distribuisce equamente attorno all'ordinata di valore nullo, escludendo presenze di pattern e di trend riconoscibili tra i punti graficati.

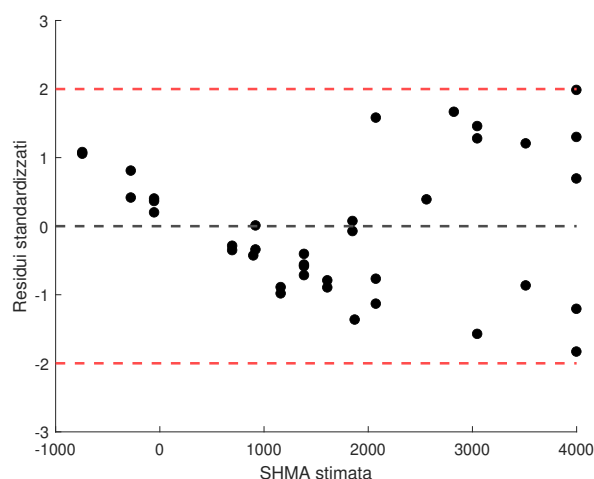


Figura 4.18: Grafico dell'SHMA stimata dal modello rispetto ai residui standardizzati per verifica grafica dell'omoschedasticità. Le linee rosse poste a +2 e -2 rappresentano i limiti nei quali ricade il 95% dei dati in una distribuzione normale, quindi un loro superamento comporta l'identificazione di outliers

Dalla **Figura 4.18** si osserva un trend nei valori dei residui stimati soprattutto per valori più bassi di SHMA, confermando quello che è già stato osservato in **Figura 4.16**, ovvero che il modello lineare non è adeguato per descrivere alcune combinazioni di parametri. In conclusione il modello lineare proposto, ha permesso di comprendere quale dei parametri operativi abbia avuto un peso maggiore nella misura del valore di SHMA; tuttavia sembra non risultare adeguato rispetto alla stima dei valori di SHMA relativi alle combinazioni di parametri più estreme. Di seguito si forniscono alcune possibili strategie che potrebbero essere implementate in future sperimentazioni, allo scopo di apportare un miglioramento del modello:

- necessità di effettuare una trasformazione logaritmica di alcune variabili indipendenti;
- necessità di introdurre dei termini quadratici nel modello;
- necessità di trasformare attraverso una parametrizzazione alcune delle combinazioni tra parametri operativi (e.g. $X_1 = \frac{P}{V}, \dots$), prima di effettuare la regressione.
- aumento della numerosità del campione, effettuando diverse prove in doppio/triplo e altre prove al di fuori del Box-Behnken.

4.3.3 Confronti

4.3.3.1 Prove corrispondenti tra apparati

In questa sezione viene presentato il confronto diretto tra le prove corrispondenti tra gli apparati, in base a quanto spiegato al paragrafo 3.1.3.1 del capitolo 3. Dato che le prove dell'Apparato 1 sono state svolte durante la prima fase di sperimentazione, si è deciso per coerenza di utilizzare le corrispondenti prove dell'Apparato 2, in relazione alla sola Fase I. In **Figura 4.19** si riportano i valori medi delle prove eseguite in parallelo tra i due apparati, rispetto alla combinazione del set di parametri utilizzato.

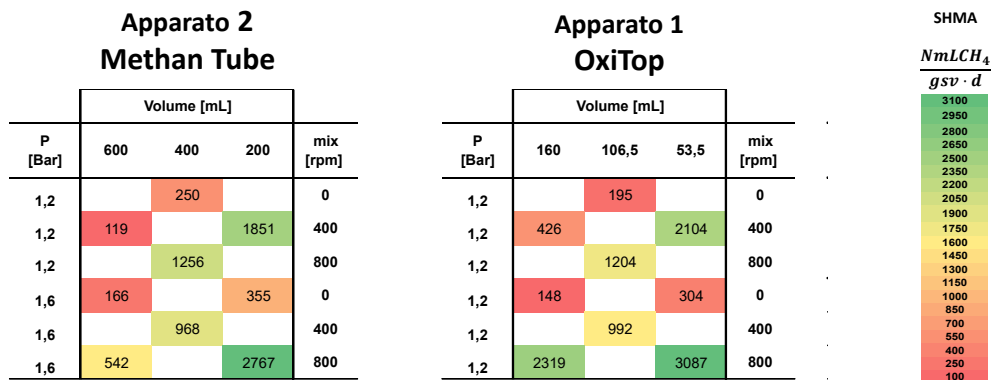


Figura 4.19: Confronto grafico attraverso la realizzazione di una heat map tra i valori medi di SHMA relativi alle prove corrispondenti fra i due apparati sperimentali

Per le successive elaborazioni si è inoltre escluso il comportamento rispetto alla pressione, dato che l'Apparato 1 ha operato ad un'unica pressione. Per questi motivi è stata valutata la combinazione dei valori di SHMA unicamente al variare del volume e della miscelazione.

Per comprendere da un punto di vista qualitativo se i due strumenti abbiano avuto una risposta simile al variare dei parametri, si è fatto utilizzo dei grafici boxplot. Analizzando i boxplot in **Figura 4.20**, si delinea un quadro in cui l'impatto di una miscelazione elevata risulta positivo per entrambi gli apparati. L'impatto della riduzione del volume di fango è negativo per entrambi gli apparati, a parte il caso centrale per l'Apparato OxiTop. Tale fatto si è pensato possa dipendere da un errore sperimentale, quindi dalla presenza di un outlier o dalla tipologia di miscelatore e dall'ancoretta magnetica utilizzata (a rocchetto nelle OxiTop e cilindrico nei Methan Tube): a pari aumento di volume l'Apparato 1 (OxiTop) sembra compensare la crescita grazie alla miscelazione, sfruttando

il rocchetto, il quale potrebbe apportare maggiore turbolenza rispetto a quello cilindrico utilizzato nell'Apparato 2 (Methan Tube).

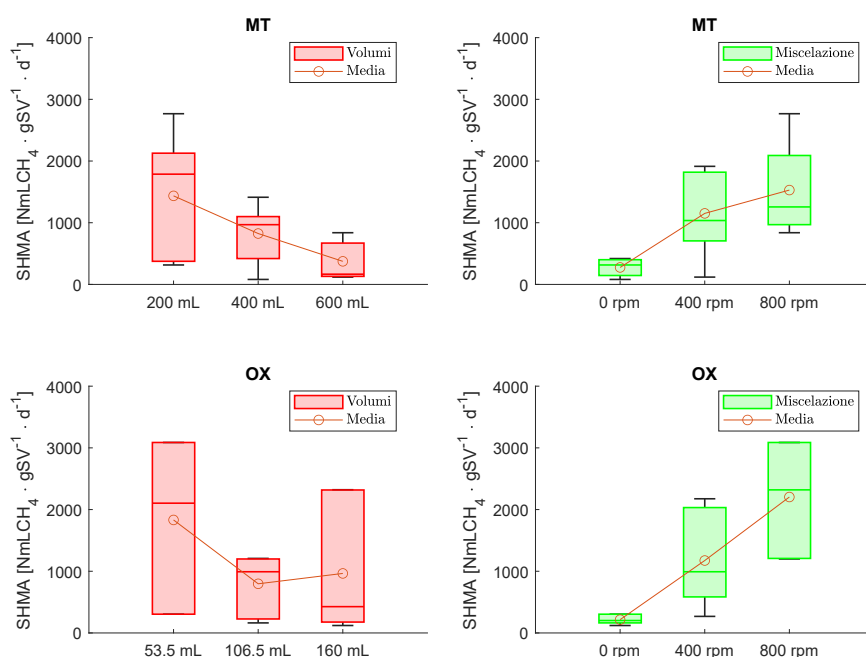


Figura 4.20: Boxplot delle prove corrispondenti tra l'Apparato 2 e l'Apparato 1 della fase I, raggruppate per il volume e la miscelazione (sigla MT = Methane Tube, OX = OxiTop)

Sono state effettuate delle analisi statistiche attraverso il software SPSS, atte a confrontare i risultati ottenuti dalle prove in parallelo. In particolare, come spiegato al paragrafo 3.1.7 del capitolo 3 è stato implementato il test U di Mann-Whitney, al fine di verificare se esistano differenze statisticamente significative tra i due apparati.

I risultati del test sono riportati nella **Tabella 4.16** e nella **Tabella 4.17**; come si può notare, avendo un livello di significatività (p-value) maggiore del livello di significatività imposto, si accetta l'ipotesi H_0 , ovvero che le popolazioni abbiano la stessa distribuzione di probabilità.

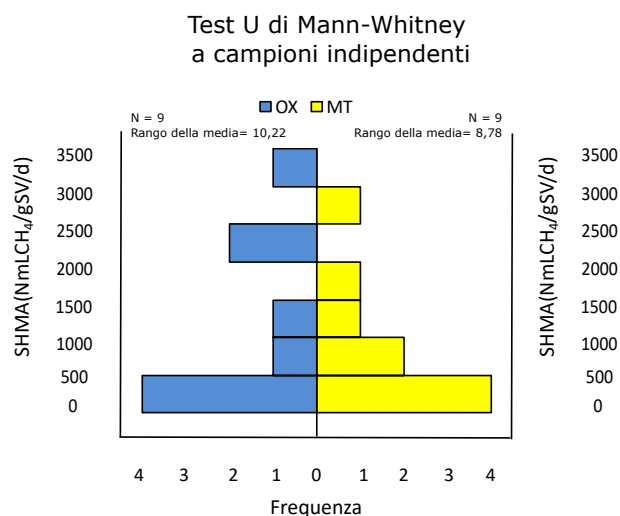
Tabella 4.16: Riepilogo statistiche del test U di Mann-Whitney

Parametro	Valore
N° totale di casi	18
U di Mann-Whitney	47,00
Errore standard	11,32
Statistica del test standardizzato	0,57

Tabella 4.17: Risposta del test all'ipotesi nulla di appartenenza alla stessa popolazione

Ipotesi nulla	Test	p-value	Decisione
La distribuzione è la stessa sulle categorie dei gruppi (MT e OX)	Test U di Mann-Whitney a campioni indipendenti	0,605	Mantenere ipotesi nulla

L'esito del test positivo permette quindi di affermare che l'utilizzo della metodica sviluppata dal Politecnico di Milano è applicabile anche per l'Apparato 2, avendo verificato che l'andamento dei valori di SHMA dei due sistemi segue una traccia molto simile e con la stessa distribuzione. La verifica grafica dell'ipotesi H_0 è fornita in **Figura 4.21**, dove si confrontano le distribuzioni dei due apparati. Si può notare come l'andamento sia molto simile, se pure con delle differenze più marcate, per valori più elevati di SHMA. Come spiegato in precedenza, tale comportamento anomalo potrebbe essere dovuto alla differenza tra la tipologia di ancorette utilizzate o alla presenza di outliers derivanti da errori nella conduzione/preparazione della prova.

**Figura 4.21:** Confronto tra le distribuzioni di probabilità dei due strumenti attraverso istogramma realizzato con il software SPSS

4.3.3.2 Confronto dell'attività batterica nell'inoculo e nel reattore di origine

Grazie alla raccolta dati relativa ai trend orari delle portate entranti ed uscenti del reattore di origine, è stato possibile effettuare una comparazione tra i valori di SHMA ottenuti dalle prove batch ed i valori di attività specifica del reattore ($SHMA_{REM2}$). In **Tabella 4.18** viene riportato il dataset delle prove utilizzato per effettuare tale confronto.

Tabella 4.18: Confronto temporale delle prove di SHMA batch relative alla fase II ($SHMA_{Lab}$) effettuate con l'Apparato 2, rispetto all'attività valutata nel reattore di origine ($SHMA_{REM2}$)

N.	Data	SV [g/L]	$SHMA_{REM2}$ [$\frac{NmLCH_4}{gSV \cdot d}$]	$SHMA_{Lab}$ [$\frac{NmLCH_4}{gSV \cdot d}$]	Condizioni operative prova batch
1	17/02/22	1,78	142	187	1,6 bar x 0 rpm x 600 mL
2	24/01/22	1,61	11	296	1,2 bar x 400 rpm x 600 mL
3	04/03/22	1,70	128	438	2 bar x 400 rpm x 600 mL
4	26/01/22	1,69	56	756	1,6 bar x 400 rpm x 400 mL
5	28/01/22	1,50	121	763	1,6 bar x 400 rpm x 400 mL
6	01/02/22	1,68	139	770	1,6 bar x 400 rpm x 400 mL
7	15/02/22	1,72	141	881	1,2 bar x 800 rpm x 400 mL
8	21/02/22	1,63	106	927	1.6 bar x 800 rpm x 600 mL
9	03/02/22	1,69	152	4110	2 bar x800 rpm x 400 mL
10	11/02/22	1,71	150	4273	2 bar x800 rpm x 400 mL
11	25/02/22	1,77	128	4551	1,6 bar x800 rpm x 200 mL
12	02/03/22	1,72	95	5710	2 bar x800 rpm x 200 mL

La visualizzazione grafica dei risultati è riportata in **Figura 4.22**.

L'analisi di tali valori deve essere fatta considerando che, a rigore scientifico, non è possibile effettuare un confronto diretto tra i due valori, per le diverse condizioni operative tra prova e reattore in termini di volume, pressione e miscelazione. Tuttavia, si osservano risultati interessanti: l'SHMA in batch è sempre superiore al valore del REM2, a dimostrazione che le condizioni operative nel reattore non consentano lo sviluppo di elevate cinetiche di processo. Inoltre, la differenza media tra i valori, stimata ad un valore di 572 [$NmLCH_4/gSV/d$] per le prove dalla N. 1 alla N. 8, diventa molto elevata (4530 [$NmLCH_4/gSV/d$]) quando si confrontano i valori ottenuti in batch alle migliori condizioni di trasferimento in termini di pressione, volume e miscelazione (prove dalla N. 9 alla N. 12). Tale analisi fornisce una chiara evidenza della difficoltà al trasferimen-

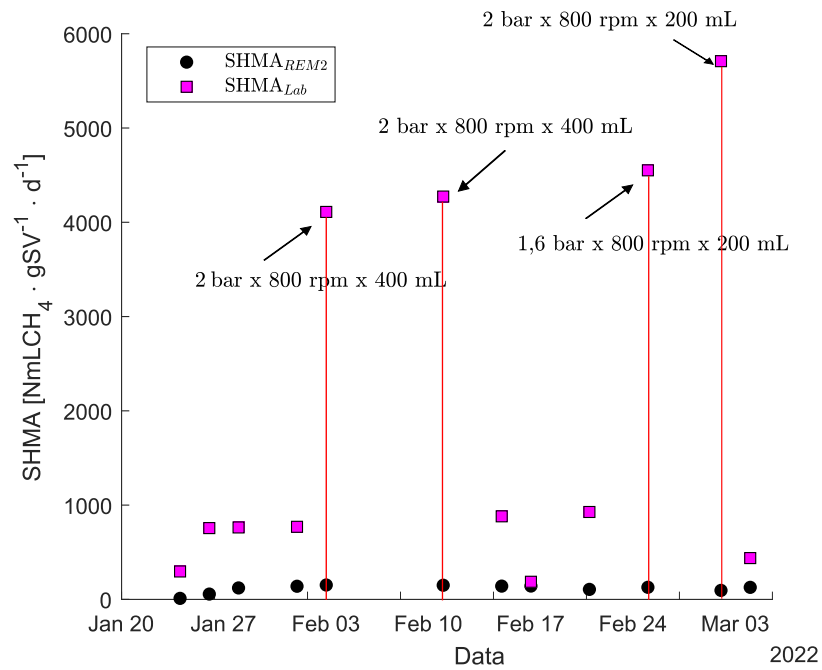


Figura 4.22: Rappresentazione grafica del trend di valori di SHMA calcolati dalle prove batch della fase II ed i valori di SHMA del reattore di origine

to di H_2 presente nel reattore REM2, aprendo quindi alla possibilità di futuri miglioramenti.

4.3.4 Modello ed identificazione parametrica

In questa sezione vengono riportati i risultati relativi all'implementazione del modello delle prove di SHMA realizzato e del metodo di identificazione parametrica LFT (spiegati nel paragrafo 3.2.2.4), entrambi utili alla stima dei parametri K_s e K_{La} . La modellazione è stata effettuata sulle prove di SHMA riportate in **Tabella 4.19**, eseguite nella Fase II della sperimentazione. Si riporta il confronto tra i profili dei gas disciolti e della pressione nello spazio di testa misurati sperimentalmente rispetto a quelli elaborati attraverso l'implementazione del modello post identificazione parametrica.

Dai profili mostrati nella **Figura 4.23** è possibile osservare che il modello presenta un buon fit dei dati sperimentali, in particolare per la P_{gas} e la CO_2 disciolta. Per quanto riguarda i valori di H_2 disciolto, la bontà del fit sembra dipendere molto dalle condizioni della prova; infatti si osserva che nei profili ad 800 rpm, si verifici un aumento del discostamento tra dati misurati e dati stimati, al diminuire della pressione imposta ad inizio prova. Infine, per il metano disciolto si vede che il modello riporti in tutti i casi simulati una sottostima del suo valore a saturazione; tale fatto, essendo isolato rispetto a tutti gli altri profili è imputabile probabilmente ad un errore di lettura da parte dello strumento nei confronti di tale composto. Perciò viene consigliato per future analisi di ripetere una calibrazione dello spettrometro nei confronti del CH_4 .

In **Tabella 4.19** si riportano i valori delle stime delle concentrazioni disciolte corredate degli indici TIC e MARE, calcolati per le variabili: pressione nello spazio di testa (P_{gas}), CO_2 disciolta (S_{co2}), H_2 disciolto (S_{h2}) e metano disciolto (S_{ch4}). Nella medesima tabella (**Tabella 4.19**) si riporta anche la stima della K_{La} e della K_s relativa all' H_2 effettuata con il set di parametri utilizzato.

Dalla tabella è possibile osservare che l'aumento della miscelazione (da 400 a 800 rpm) abbia comportato un aumento della K_{La} , come logico aspettarsi. I valori di K_{La} si mantengono in un intervallo compreso tra 200 e 300 [d^{-1}] circa in tutti i casi a 400 rpm, per salire di quasi un ordine di grandezza, passando ad 800 rpm (1325-1828 [d^{-1}]). L'effetto della variazione di pressione all'interno dei due gruppi precedenti è generalmente in linea con quanto atteso su base teorica (aumento K_{La} con l'aumento della pressione), ma non sempre in maniera coerente e comunque con andamenti non immediatamente chiari. Si nota che, per i valori di K_{La} ottenuti nei due casi di prove con repliche ($P = 1,6$ bar - Mix = 400 rpm e $P = 2$ bar - Mix = 800 rpm), le deviazioni standard sono dell'ordine del 10%.

Per quanto riguarda la costante di semisaturazione K_s dell'idrogeno relativa alla biomassa, la stima ha portato a dei valori compresi tra 1,62 e $4,54 \cdot 10^{-5}$ mol_{H₂}/L, coerenti con gli intervalli di letteratura. Secondo quanto riportato dalla **Tabella 2.11** presente nel capitolo 2, confrontando i valori di K_s dell'idrogeno stimati, si evidenziano molteplici valori che corrispondono all'ordine di grandezza più frequente presente in letteratura pari a 10^{-6} [mol/L], mentre il valore medio stimato è pari a $1,42 \cdot 10^{-5}$ [mo/L]. Va segnalato come l'indice TIC sia < di 0,3 per tutte le prove effettuate e per ogni componente analizzata; ovviamente si rilevano valori più bassi per la P_{gas} e per la CO₂. Tale fatto è coerente con quanto atteso, in quanto la sonda dei gas disciolti ha misurato in maniera più affidabile l'anidride carbonica rispetto all'idrogeno ed al metano.

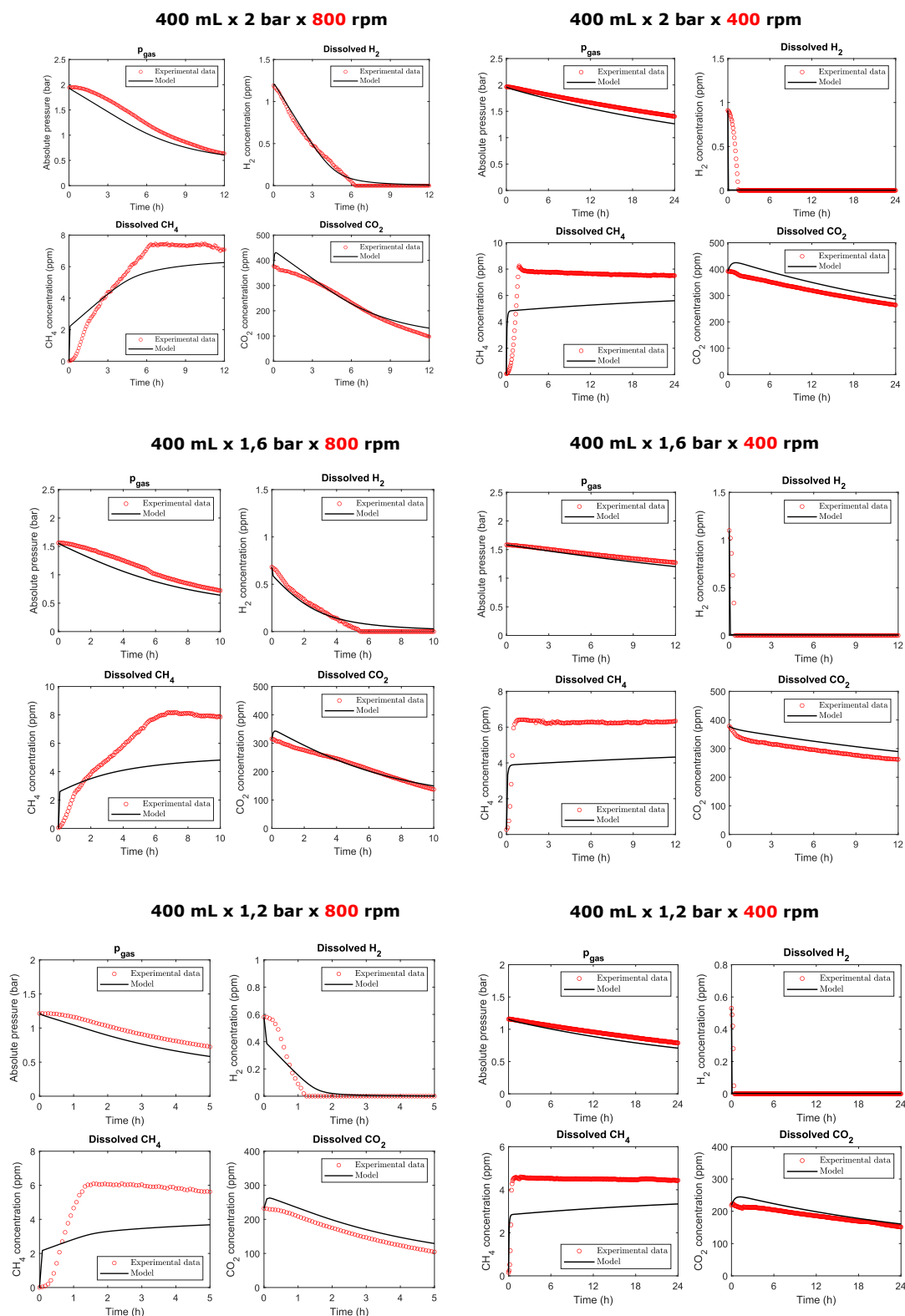


Figura 4.23: Confronto tra profili reali (misurati) rispetto a quelli stimati dal modello post-identificazione parametrica. Si riportano: pressione nello spazio di testa, concentrazione della CO_2 disciolta, dell'idrogeno disciolto e del metano disciolto.

Tabella 4.19: Riepilogo dei parametri stimati e degli indici statistici TIC e MARE del modello della prova di SHMA attraverso l'utilizzo del metodo LFT

Data	Vol [mL]	Pre [bar]	Mix [rpm]	K_{LaO_2} [d ⁻¹]	SHMA [$\frac{NmLCH_4}{gSV \cdot d}$]	K_{S,h_2} [mol/L]	TIC P_{gas}	MARE P_{gas}	TIC S_{h_2}	MARE S_{h_2}	TIC S_{ch_4}	MARE S_{ch_4}	TIC S_{co_2}	MARE S_{co_2}
17/02/22	400	2	400	199	697	8,73E ⁻⁰⁶	0,01	0,08	0,89	0,34	0,09	0,64	0,01	0,10
25/02/22	400	1,2	400	225	530	7,31E ⁻⁰⁶	0,01	0,08	0,63	0,17	0,08	0,31	0,01	0,08
27/01/22	400	1,6	400	253	770	1,29E ⁻⁰⁵	0,00	0,04	0,64	0,58	0,11	0,38	0,01	0,11
31/01/22	400	1,6	400	291	880	1,28E ⁻⁰⁵	0,01	0,08	0,88	0,49	0,09	1,16	0,01	0,11
21/02/22	400	1,6	800	1325	2896	4,54E ⁻⁰⁵	0,01	0,12	0,04	2,51	0,16	0,66	0,00	0,05
03/02/22	400	2	800	1580	4149	3,86E ⁻⁰⁶	0,01	0,07	0,04	0,43	0,02	0,45	0,02	0,21
09/02/22	400	2	800	1736	4303	2,12E ⁻⁰⁵	0,02	0,12	0,01	1,39	0,04	1,23	0,01	0,08
15/02/22	400	1,2	800	1828	3436	1,62E ⁻⁰⁶	0,02	0,14	0,13	1,20	0,18	1,54	0,02	0,16
Media														

5 | CONCLUSIONI E SVILUPPI FUTURI

All'interno della sperimentazione sono state condotte misure dell'attività specifica idrogenotrofa, su un fango ad alta attività - derivante da un reattore pilota di upgrading del biogas in configurazione ex-situ, operante in mesofilia -, al fine di studiare l'effetto sulle prove della variazione della combinazione dei parametri operativi pressione, volume e miscelazione. Le prove batch sono state alimentate con una miscela $H_2:CO_2 = 4:1$ e sono state condotte utilizzando due differenti apparati sperimentali (Apparato 1 e Apparato 2), operando in condizioni di mesofilia. In concomitanza allo svolgimento dei test sperimentali è stato realizzato un modello di simulazione della prova, e sono stati stimati i parametri K_L del sistema e K_s dell'idrogeno, utilizzando i dati di laboratorio dell'Apparato 2, adottando un metodo di trasformazione lineare frazionaria del modello (LFT).

Le principali conclusioni rispetto alle prove di SHMA e ciò che queste hanno mostrato rispetto alla cinetica del processo biologico sono:

- la presenza di un rilevante effetto dei parametri operativi;
- la chiara correlazione con i parametri operativi, quantitativamente più rilevante con il volume e la miscelazione, meno con la pressione;
- l'elevato impatto del cambio di miscelazione sulla K_L del sistema, dove un raddoppio della miscelazione, a pari condizioni di prova, ha portato a valori di un ordine di grandezza superiore;
- l'incremento di miscelazione ad 800 rpm non sembra aver indotto eccessivo stress alla biomassa, escludendo possibili problemi di lisi cellulare della stessa, in quanto non si è osservato un peggioramento della SHMA.
- l'evidente differenza tra prove di BMP rispetto alle prove batch di SHMA, dato che queste ultime vedono una forte dipendenza dalla disponibilità del substrato rispetto alle condizioni operative di prova;
- i set di prova allestiti hanno dimostrato la possibilità di sfruttare la metodica sviluppata dal Politecnico di Milano per l'Apparato 1 anche sull'Ap-

parato 2, grazie ai valori di significatività statistica riportati sulle prove di confronto;

- le difficoltà ad allestire condizioni operative applicabili prospetticamente su scala industriale - considerate le differenze esistenti con le attività di laboratorio - per ottenere valori comparabili e rappresentativi di SHMA.

L'utilizzo dell'Apparato 2 si è dimostrato utile per estendere la metodica di misura così sviluppata, applicando maggiori range di pressione e potendo così ampliare lo studio della risposta della biomassa all'aumento di tale parametro operativo.

La misura dei gas disciolti è stata un'innovazione per tale tipologia di prova sperimentale ed è stato anche un utile strumento che ha fornito maggiore comprensione dei fenomeni che avvengono all'interno della fase liquida, nonché ha permesso di confrontare i dati sperimentali misurati rispetto al modello creato.

La modellazione della prova di SHMA rappresenta un'evoluzione rispetto allo stato dell'arte. Il modello ha quindi mostrato un fit accettabile dei dati sperimentali, ($TIC < 0,3$ per ogni componente). Esso risulta tuttavia migliorabile, poiché è stato creato per essere una baseline per future sperimentazioni.

L'identificazione parametrica attraverso il metodo LFT ha portato alla stima della K_s della biomassa e della K_L del sistema. Nel dettaglio la stima della K_s ha conseguito dei valori simili ai valori reperiti in letteratura, con un valore medio calcolato pari a $1,42 \cdot 10^{-5} \text{ mol}_{H_2}/L$.

Risulta in ogni caso consigliabile l'estensione e la validazione dei risultati ottenuti attraverso:

- l'analisi di digestati alternativi caratterizzati da attività minori o maggiori, di cui si riesca a verificare l'effettivo raggiungimento di una condizione attività-limitata, ovvero per cui $S \gg K_s$;
- una migliore calibrazione dello spettrometro di massa, soprattutto per identificare basse concentrazioni di idrogeno, poiché non è stato sempre possibile rilevare valori di concentrazione prossimi alla K_s della biomassa (nell'ordine di $10^{-6} \text{ mol}_{H_2}/L$);
- la realizzazione di una funzione che possa tenere conto, nel modello, del tempo di lag delle prove;
- una misurazione in linea delle concentrazioni dei VFA, per analizzare e modellare possibili fenomeni competitivi legati all'omoacetogenesi;

- l'introduzione nel modello della stima della resa di crescita cellulare Y_{h_2} e della massima velocità di crescita della biomassa μ_{max} ;
- l'implementazione del modello, considerando il pH variabile.

La differente risposta osservata nelle prove effettuate prima e dopo la riattivazione del reattore di origine del fango ha comportato un peggioramento delle statistiche calcolate e della risposta all'applicazione dei modelli previsionali; tuttavia tale fatto ha dimostrato che la misura dell'attività specifica possiede la capacità di identificare la variazione delle condizioni all'interno del reattore, quindi di essere uno strumento utile nella fase gestionale del processo di upgrading. Inoltre, tale prova ha contribuito ad evidenziare problematiche relative al trasferimento di massa gas-liquido nel reattore di origine; infatti grazie al confronto tra i valori di SHMA misurati dal reattore ed i valori ottenuti dalle prove batch, è stato possibile evidenziare una chiara limitazione di tale trasferimento, in particolare per l'idrogeno, a conferma del fatto che tale processo rappresenta tutt'ora il vero collo di bottiglia nelle tecnologie di biometanazione.

Dato che, in generale, è stata verificata una chiara correlazione tra il maggiore trasferimento di H_2 e il valore misurato di SHMA, si può ipotizzare che in nessuna delle prove condotte, sia stato conseguito il raggiungimento della massima attività della biomassa considerata e quindi delle condizioni per cui $S \gg K_s$. Questo fatto ha delle ricadute importanti sul senso e sull'utilizzo di questa prova, a seconda che possa essere utilizzata per scopi scientifici o tecnico-pratici, in quanto a differenza dei test di BMP, è una prova che risente molto delle condizioni operative.

In conclusione, essendo la produzione di H_2 verde dipendente fortemente dall'elettrolisi dell'acqua, la quale è funzione della disponibilità di eccessi di energia rinnovabile, il processo di upgrading biologico è influenzato da continue interruzioni. Di conseguenza contare su un modello matematico semplice e sulla misura di SHMA può sicuramente consentire l'ottimizzazione delle fasi di gestione del processo, soprattutto quelle di start and stop.

Tuttavia, l'eventuale utilizzo delle prove di SHMA e le relative stime dei parametri cinetici appaiono oggi non completamente idonee ad eseguire un dimensionamento di un impianto di upgrading biologico su larga scala. Questo perché il metodo non dispone di una standardizzazione riconosciuta a livello internazionale nell'allestimento e nella conduzione della prova, inoltre il valore è fortemente dipendente dalle condizioni operative imposte, provocando quin-

di una disomogeneità nei valori di SHMA riscontrati in letteratura. Si auspica che attraverso nuovi risultati scientifici, si riesca a contribuire alla definizione di uno o più metodi maggiormente affidabili, efficienti e condivisi nell'ambito della comunità scientifica, che possano quindi diventare strumenti favorevolmente utilizzabili anche nelle fasi di progettazione di impianti di upgrading biologico.

APPENDICE

A Regressione multipla

Tabella A: Dataset utilizzato per la regressione multipla

N°	Volume [mL]	Pressione [bar]	Miscelazione [rpm]	SHMA [$\frac{NmLCH_4}{gSV \cdot d}$]
1	200	1,2	400	1914
2	200	1,2	400	1787
3	200	1,6	0	394
4	200	1,6	0	315
5	200	1,6	800	2767
5	200	2	800	2960
6	200	2	800	2423
7	200	2	800	5118
8	200	2	800	4597
9	600	1,2	400	119
10	600	1,6	0	166
11	600	2	400	625
12	600	1,6	800	838
13	400	1,2	0	419
14	400	1,2	0	81
15	400	2	0	448
16	400	2	0	393
17	400	1,2	800	1413
18	00	1,2	800	1099
19	400	2	800	1693
20	400	1,6	400	1036
21	400	1,6	400	901
22	600	1,2	400	261
23	600	1,2	400	293
24	400	1,6	400	768
25	400	1,6	400	881
26	400	2	800	4149
27	400	2	800	4303
28	200	2	400	4259
29	400	1,2	800	3436
30	400	2	400	697
31	600	1,6	0	187
32	400	1,6	800	2896
33	600	1,6	800	927
34	200	1,6	800	4551
35	400	1,2	400	530
36	200	2	800	5709
37	600	2	400	927

B Script MATLAB : LFT e modello

B.1 Main

```

1 %%LFT FORMULATION
2 %Total time = 3 days
3 %Parameters to be identified kLa_O2 and KS_h2.
4 %Starting from tree output variable:
5                                     %y_1 = p_gas
6                                     %y_2 = S_h2
7                                     %y_3 = S_ch4
8 data = readtable('Data.xlsx');
9 time = data(:, 1);
10 %Define time vector and input data (u)
11 u = zeros(length(time), 7);
12 %Define outputs (y)
13 y = data(:, 2:5);
14 %Import parameters
15 load P.mat;
16 %Import initial conditions
17 load x0.mat;
18 Lim = [0, 1;
19        0, 5000];
20 lftfun = SHMA_lft(P, Lim);
21 Mx = max(y);
22 mx = min(y);
23 for i = 1 : length(Mx)
24     alpha(i) = Mx(i) - mx(i);
25 end
26 lftfun.ISO.Nonlinear = alpha;
27
28 LFTsolverOptions = lftSet( 'Rel Tol', 1e-3,...
29                            'AbsTol', 1e-4,...
30                            'SolutionInterpMethod', 'spline',...
31                            'SolutionTimeSpan', time,...
32                            'SensAlgorithm', 'ode15s',...
33                            'OversamplingMethod', 'spline');
34 Input = struct('Type', 'interpolated', 'Samples', u, 'Time', time);
35
36 InitialConditions = struct('StateInitialConditions', x0);
37
38 LFToptions = lftOptSet( 'Display', 'iter',...
39                        'MaxIter', 120,...
40                        'TolFun', 1e-8);
41
42 lftfun.DeltaVal = diag([0 0 0 0]);
43
44 %Estimation
45 [DELTA_opt, fval, J, grad, H, CN, history] = lftOptDelta(lftfun, Input, InitialConditions, LFTsolverOptions, y, LFToptions);
46 norm2abs(lftfun, lftfun.DeltaVal, DELTA_opt);
47 H = H(:, :, end), CN = CN(end)

```

Figura A: Script MATLAB, utilizzato come primo step per ricercare i valori di K_L e K_s

B.2 Funzione LFT

```

1 function [lftfun] = SMM_lft(P, Lm)
2 %LFT function for a SMM test
3 %
4 %Firstly, the number of inputs (u), states (x), outputs(y) and omega
5 %variables (om) of the LFT model
6 u_count = 7;
7 x_count = 7;
8 y_count = 4;
9 om_count = 3;
10 %Limits definition for the unknown parameters
11 KS_h2_lim = Lm(1, :);
12 kLa_o2_lim = Lm(2, :);
13 %Delta matrix is now defined
14 DeltaSym = {'ParName', 'IndStartDiag', 'IndStopDiag', 'LowerBound',
'HigherBound', 'toIdentify', 'lb', 'ub'};
15 'KS_h2', 1, 1, 1, 1, KS_h2_lim(1) ,
KS_h2_lim(2) , 1, -1, 1, 1 ;
16 'kLa_o2', 2, 2, 4, kLa_o2_lim(1) ,
kLa_o2_lim(2) , 1, -1, 1 ;
17 };
18
19 del ta_count = 4;
20
21 if om_count == 1
22 om = sym('om1_1');
23 else
24 om = sym('om', om_count);
25 end
26
27 theta_sym = [om(1) * om(2)^2 / (om(2)^2 + om(3))];
28 theta_count = 1;
29
30 %Construction of the matrices of the LTI part
31 LTI = struct(...
32 'A', zeros(x_count, x_count),...
33 'B1', zeros(x_count, del ta_count),...
34 'B2', zeros(x_count, theta_count),...
35 'B3', zeros(x_count, u_count),...
36 'C1', zeros(del ta_count, x_count),...
37 'D1', zeros(del ta_count, del ta_count),...
38 'D2', zeros(del ta_count, theta_count),...
39 'D3', zeros(del ta_count, u_count),...
40 'C2', zeros(om_count, x_count),...
41 'D21', zeros(om_count, del ta_count),...
42 'D2', zeros(om_count, theta_count),...
43 'D23', zeros(om_count, u_count),...
44 'C3', zeros(y_count, x_count),...
45 'D31', zeros(y_count, del ta_count),...
46 'D32', zeros(y_count, theta_count),...
47 'D33', zeros(y_count, u_count));
48
49 LTI.A(1, 1) = - P(3);
50 LTI.A(4, 1) = P(3) * P(10);
51
52 LTI.B1(2, 2) = -1;
53 LTI.B1(3, 3) = -1;
54 LTI.B1(4, 4) = -1;
55 LTI.B1(5, 2) = P(13);
56 LTI.B1(6, 3) = P(13);
57 LTI.B1(7, 4) = P(13);
58
59 LTI.B2(1, 1) = P(1) * P(4);
60 LTI.B2(2, 1) = - P(1);
61 LTI.B2(3, 1) = (1 - P(4)) * P(1);
62 LTI.B2(4, 1) = - P(9) * P(1) * (1 - P(4)) - P(10) * P(4) * P(1);
63
64 LTI.C1(1, 2) = 1;
65 LTI.C1(2, 2) = P(5);
66 LTI.C1(2, 5) = - P(5) * P(6);
67 LTI.C1(3, 3) = P(7);
68 LTI.C1(3, 6) = - P(7) * P(8);
69 LTI.C1(4, 4) = P(11) * (1 - P(15));
70 LTI.C1(4, 7) = - P(11) * P(12);
71
72 LTI.C2(1, 1) = 1;
73 LTI.C2(2, 2) = 1;
74
75 LTI.D21(3, 1) = 1;
76
77 LTI.C3(1, 5) = P(16) / 16;
78 LTI.C3(1, 6) = P(16) / 64;
79 LTI.C3(1, 7) = P(16);
80 LTI.C3(2, 2) = 1;
81 LTI.C3(3, 3) = 1;
82 LTI.C3(4, 4) = (1 - P(15));
83 lftfun = struct(...
84 'LTI', LTI,...
85 'DeltaSym', {DeltaSym},...
86 'DeltaVal', zeros(del ta_count, del ta_count)...
87 );
88 %Save additional data for reference purpose
89 lftfun.theta_sym = theta_sym;
90 lftfun.u_count = u_count;
91 lftfun.x_count = x_count;
92 lftfun.y_count = y_count;
93 lftfun.om_count = om_count;
94 lftfun.theta_count = theta_count;
95 lftfun.del ta_count = del ta_count;
96 %Function to finalize the definition of LFT fun
97 lftfun = lft_finalize(lftfun);
98 end

```

Figura B: Script MATLAB della funzione LFT per la stima della K_{La} e K_s

B.3 Script modello LFT semplificato

```

1 %%Data from SHMA of 09 February 2022
2 %Load data
3 data = xlsread('Data.xlsx', 'Data');
4 time_data = data(:, 1);
5 pgas_data = data(:, 2);
6 Sh2_data = data(:, 3) * 2 * 1000 / 16;
7 Sch4_data = data(:, 4) * 16 * 1000 / 64;
8 Sco2_data = data(:, 5) * 44 * 1000;
9 %LFT identification results
10 kLa_O2 = 1735.7849;
11 KS_h2 = 0.00033886;
12 %Define operating conditions
13 SHMA = 5710;
14 V_tot = 3.76;
15 V_liq = 0.4;
16 V_gas = V_tot - V_liq;
17 pH_0 = 6.77;
18 R = 0.083145;
19 T_ref = 273.15 + 25;
20 T_op = 273.15 + 37;
21 X_SV_0 = 1.78;
22 SSV_SV = 0.7;
23 i_COD_SSV = 1.42;
24 K_W = 10 ^ (-14) * exp(55900 / (R * 100) * (1 / T_ref - 1 / T_op));
25 K_a_co2 = 10 ^ (-6.35) * exp(7646 / (R * 100) * (1 / T_ref - 1 / T_op));
26 K_a_IN = 10 ^ (-9.25) * exp(51965 / (R * 100) * (1 / T_ref - 1 / T_op));
27 KH_co2 = 0.035 * exp(-19410 / (R * 100) * (1 / T_ref - 1 / T_op));
28 KH_ch4 = 0.0014 * exp(-14240 / (R * 100) * (1 / T_ref - 1 / T_op));
29 KH_h2 = 7.8e-4 * exp(-4180 / (R * 100) * (1 / T_ref - 1 / T_op));
30 D_O2 = 3.3;
31 D_H2 = 6.31;
32 D_CH4 = 4.89;
33 D_CO2 = 2.47;
34 Y_X_h2 = 0.06;
35 km_h2 = SHMA * 64 * 1e-3 / 1.42 / 22.414;
36 k_dec_X_h2 = 0.02;
37 C_ch4 = 0.0156;
38 C_bac = 0.03125;
39 N_bac = 0.00625;
40 %Define Parameter for ODE function
41 P(1) = km_h2;
42 P(2) = KS_h2;
43 P(3) = k_dec_X_h2;
44 P(4) = Y_X_h2;
45 P(5) = sqrt(D_H2 / D_O2);
46 P(6) = KH_h2 * R * T_op;
47 P(7) = sqrt(D_CH4 / D_CO2);
48 P(8) = KH_ch4 * R * T_op;
49 P(9) = C_ch4;
50 P(10) = C_bac;
51 P(11) = sqrt(D_CO2 / D_O2);
52 P(12) = KH_co2 * R * T_op;
53 P(13) = V_liq / V_gas;
54 P(14) = kLa_O2;
55 P(15) = K_a_co2 / (K_a_co2 + 10^(pH_0));
56 P(16) = R * T_op;
57
58 save P.mat P;
59 %Initial conditions definition
60 p_gas_0 = pgas_data(1, 1);
61 x_h2_0 = 0.79;
62 x_co2_0 = 1 - x_h2_0;
63 H2_ppm = Sh2_data(1, 1);
64 CH4_ppm = Sch4_data(1, 1);
65 CO2_ppm = Sco2_data(1, 1);
66 x0 = zeros(7, 1);
67 x0(1) = X_SV_0 * SSV_SV * i_COD_SSV;
68 x0(2) = H2_ppm * 16 / 1000 / 2;
69 x0(3) = CH4_ppm * 64 / 1000 / 16;
70 x0(4) = CO2_ppm / (1 - P(15)) / 1000 / 44;
71 x0(5) = p_gas_0 * x_h2_0 * 16 / R / T_op;
72 x0(6) = 2.746e-16;
73 x0(7) = p_gas_0 * x_co2_0 / R / T_op;
74 save x0.mat x0;
75
76
77 %After LFT identification
78 x = sym('x', [7, 1]);
79 %x(1) = microorganismi idrogenotrofi
80 %x(2) = idrogeno di sciolto
81 %x(3) = metano di sciolto
82 %x(4) = carbonio inorganico
83 %x(5) = idrogeno gas
84 %x(6) = metano gas
85 %x(7) = co2 gas
86
87 X_DOT = @(t, x) [P(1) * P(4) * x(2) * x(1) / (x(2) + P(2))...
88 - P(3) * x(1);
89
90 - P(1) * x(2) * x(1) / (x(2) + P(2))...
91 - P(14) * P(5) * (x(2) - P(6) * x(5));
92
93 (1 - P(4)) * P(1) * x(2) * x(1) / (x(2) + P(2))...
94 - P(14) * P(7) * (x(3) - P(8) * x(6));
95
96 - (1 - P(4)) * P(9) * P(1) * x(2) * x(1) / (x(2) + P(2))...
97 - P(10) * P(4) * P(1) * x(2) * x(1) / (x(2) + P(2))...
98 + P(10) * P(3) * x(1)...
99 - P(14) * P(11) * (x(4) - x(4) * P(15) - P(12) * x(7));
100
101 P(13) * P(14) * P(5) * (x(2) - P(6) * x(5));
102
103 P(13) * P(14) * P(7) * (x(3) - P(8) * x(6));
104
105 P(13) * P(14) * P(11) * (x(4) - x(4) * P(15) - P(12) * x(7));
106
107 N = time_data(end) * 24 * 60 / 5 + 2;
108 time = linspace(0, time_data(end), N);
109
110 [t_ode15, u_ode15] = ode15s(X_DOT, time, x0);

```

Figura C: Script MATLAB relativo al modello di SHMA implementato.

BIBLIOGRAFIA

- [1] IPCC. *Sixth Assessment Report, Summary for Policymakers (SPM)*. 2021.
- [2] European Union. *2021 National Inventory Report (NIR)*. 2021.
- [3] Ministro dello Sviluppo Economico. *Decreto Biometano*. 2018.
- [4] Panagiotis G. Kougiass e I. Angelidaki. “Biogas and its opportunities—A review”. In: *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, vol. 12, no. 14 (2018). DOI: <https://doi.org/10.1007/s11783-018-1037-8>.
- [5] L. Bonomo. *Trattamenti delle acque reflue*. 2008.
- [6] Muñoz R. et al. “A review on the state-of-the-art of physical/chemical and biological technologies for biogas upgrading”. In: *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, vol. 14 (2015), pp. 727–759. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11157-015-9379-1>.
- [7] Angelidaki I. et al. “Biogas upgrading and utilization: Current status and perspectives”. In: *Biotechnology Advances*, vol. 36 (2018), pp. 452–466. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.01.011>.
- [8] Kummamuru B. et al. “WBA global bioenergy statistics 2017”. In: *World Bioenergy Association* (2016).
- [9] McCabe Bernadette K. e Schmidt Thomas. *Integrated biogas systems: local applications of anaerobic digestion towards integrated sustainable solutions*. Task 37. IEA Bioenergy, 2018.
- [10] Vasco-Correa J. et al. “Anaerobic digestion for bioenergy production: global status, environmental and techno-economic implications, and government policies”. In: *Bioresour. Technol.*, vol. 247 (2018), pp. 1015–1026. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.004>.
- [11] European biogas association (EBA). *2020 Statistical Report*. 2020.
- [12] IRENA. *Renewable capacity statistics 2017*. 2017.
- [13] Jochen Markard, Steffen Wirth e Bernhard Truffer. “Institutional dynamics and technology legitimacy – A framework and a case study on biogas technology”. In: *Research Policy*, vol. 45, n.1 (2016), pp. 330–344. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.respol.2015.10.009>.

- [14] IRENA e IREA. *Renewable power generation costs in 2017*. 2018.
- [15] Strauch S., Krassowski J. e Singhal A. “Biomethane Guide for Decision Makers–Policy guide on biogas injection into the natural gas grid”. In: *Fraunhofer UMSICHT* (2013).
- [16] Nicolae Scarlat, Jean-François Dallemand e Fernando Fahl. “Biogas: Developments and perspectives in Europe”. In: *Renewable Energy* vol. 129 (2018), pp. 457–472. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.03.006>.
- [17] Carmen Wouters et al. *Market state and trends in renewable and low-carbon gases in Europe - A Gas for Climate report*. 2020.
- [18] Ulysse Brémond et al. “A vision of European biogas sector development towards 2030: Trends and challenges”. In: *Journal of Cleaner Production* vol. 287 (2021), p. 125065. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.125065>.
- [19] Corbellini V., Insabato G. e Malpei F. *Biometano - Tecnologie di upgrade, norme e valutazioni economiche*. 2015.
- [20] Kapoor R., Ghosh P. e Kumar M. et al. “valuation of biogas upgrading technologies and future perspectives: a review.” In: *Environ Sci Pollut Res* vol. 26 (2019), pp. 11631–11661. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04767-1>.
- [21] Leslie Meier et al. “Removal of H₂S by a continuous microalgae-based photosynthetic biogas upgrading process”. In: *Process Safety and Environmental Protection* vol. 119 (2018), pp. 65–68. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psep.2018.07.014>.
- [22] Jewel Das, Harish Ravishankar e Piet N.L. Lens. “Biological biogas purification: Recent developments, challenges and future prospects”. In: *Journal of Environmental Management* vol. 304 (2022), p. 114198. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.114198>.
- [23] Archishman Bose et al. “How to optimise photosynthetic biogas upgrading: a perspective on system design and microalgae selection”. In: *Biotechnology Advances* vol. 37.8 (2019), p. 107444. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.107444>.

- [24] Abraham Gomez Vidales, Sasha Omanovic e Boris Tartakovsky. “Combined energy storage and methane bioelectrosynthesis from carbon dioxide in a microbial electrosynthesis system”. In: *Bioresource Technology Reports* vol. 8 (2019), p. 100302. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100302>.
- [25] Guanyin Zhen et al. “Understanding methane bioelectrosynthesis from carbon dioxide in a two-chamber microbial electrolysis cells (MECs) containing a carbon biocathode”. In: *Bioresource Technology* vol. 186 (2015), pp. 141–148. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.03.064>.
- [26] Bruce E Rittmann e Perry L McCarty. *Environmental biotechnology: principles and applications*. McGraw-Hill Education, 2001.
- [27] Ranbin Liu, Xiaodi Hao e Jing Wei. “Function of homoacetogenesis on the heterotrophic methane production with exogenous H₂/CO₂ involved”. In: *Chemical Engineering Journal* vol. 284 (2016), pp. 1196–1203. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.09.081>.
- [28] Giovanna Lovato et al. “In-situ biogas upgrading process: Modeling and simulations aspects”. In: *Bioresource Technology* vol. 245 (2017), pp. 332–341. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.181>.
- [29] Trisha L. Dupnock e Marc A. Deshusses. “Development and validation of a comprehensive model for biotrickling filters upgrading biogas”. In: *Chemical Engineering Journal* vol. 407 (2021), p. 126614. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.126614>.
- [30] Pauss Andre et al. “Liquid-to-Gas Mass Transfer in Anaerobic Processes: Inevitable Transfer Limitations of Methane and Hydrogen in the Biomethanation Process”. In: *Applied and environmental microbiology* vol. 56 (1990), pp. 1636–44. DOI: [10.1128/AEM.56.6.1636-1644.1990](https://doi.org/10.1128/AEM.56.6.1636-1644.1990).
- [31] Santus. A. “EX-SITU BIOLOGICAL BIOGAS UPGRADING: MODEL IMPLEMENTATION”. In: *Politecnico di Milano, Tesi di laurea magistrale* (2019).
- [32] Trionfini M. “UPGRADING BIOLOGICO DEL BIOGAS CON PROCESSO EX-SITU A SCALA PILOTA”. In: *Tesi di laurea magistrale - Politecnico di Milano* (2019).
- [33] McCARTY PERRY L. *Anaerobic waste treatment fundamentals*. 1964.

- [34] Bassani Ilaria et al. “Biogas Upgrading via Hydrogenotrophic Methanogenesis in Two-Stage Continuous Stirred Tank Reactors at Mesophilic and Thermophilic Conditions”. In: *Environmental Science & Technology* vol. 49.20 (2015), pp. 12585–12593. DOI: [10.1021/acs.est.5b03451](https://doi.org/10.1021/acs.est.5b03451).
- [35] Keith A. Strevett, Robert F. Vieth e Domenic Grasso. “Chemo-autotrophic biogas purification for methane enrichment: mechanism and kinetics”. In: *The Chemical Engineering Journal and the Biochemical Engineering Journal* vol. 58.1 (1995), pp. 71–79. DOI: [https://doi.org/10.1016/0923-0467\(95\)06095-2](https://doi.org/10.1016/0923-0467(95)06095-2).
- [36] Nanshi Dong et al. “Performance and microbial community of hydrogenotrophic methanogenesis under thermophilic and extreme-thermophilic conditions”. In: *Bioresource Technology* vol. 266 (2018), pp. 454–462. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.05.105>.
- [37] Luo G. e Angelidaki I. “Performance and microbial community of hydrogenotrophic methanogenesis under thermophilic and extreme-thermophilic conditions”. In: *Biotechnol. Bioeng.* vol. 109 (2012), pp. 2729–36. DOI: [10.1002/bit.24557](https://doi.org/10.1002/bit.24557).
- [38] Poletti A. “UUPGRADING BIOLOGICO EX-SITU DEL BIOGAS:PROVE E MODELLI PER L’AVVIAMENTO E LA GESTIONE DEL REATTORE”. In: *Tesi di laurea magistrale - Politecnico di Milano* (2020).
- [39] Ph. Duboc et al. “Measurements of sulfur, phosphorus and other ions in microbial biomass: influence on correct determination of elemental composition and degree of reduction”. In: *Journal of Biotechnology* vol. 43.2 (1995), pp. 145–158. DOI: [https://doi.org/10.1016/0168-1656\(95\)00135-0](https://doi.org/10.1016/0168-1656(95)00135-0).
- [40] M.S. Romero-Güiza et al. “The role of additives on anaerobic digestion: A review”. In: *Renewable and Sustainable Energy Reviews* vol. 58.C (2016), pp. 1486–1499. DOI: [10.1016/j.rser.2015.12.09](https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.12.09).
- [41] Metcalf & Eddy (inc.) et al. *Wastewater Engineering: Treatment and Resource Recovery*. 2007.
- [42] Sérgio F. Aquino e David C. Stuckey. “Bioavailability and Toxicity of Metal Nutrients during Anaerobic Digestion”. In: *Journal of Environmental Engineering* vol. 133.1 (2007), pp. 28–35. DOI: [10.1061/\(ASCE\)0733-9372\(2007\)133:1\(28\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)0733-9372(2007)133:1(28)).

- [43] Davis Rusmanis et al. “Biological hydrogen methanation systems – an overview of design and efficiency”. In: *Bioengineered* vol. 10.1 (2019). PMID: 31679461, pp. 604–634. DOI: [10.1080/21655979.2019.1684607](https://doi.org/10.1080/21655979.2019.1684607).
- [44] Spinelli L. “UPGRADING BIOLOGICO EX-SITU A SCALA PILOTA: ANALISI DELLE PRESTAZIONI”. In: *Tesi di laurea magistrale - Politecnico di Milano* (2021).
- [45] Panagiotis G. Kougiyas et al. “Ex-situ biogas upgrading and enhancement in different reactor systems”. In: *Bioresource Technology* vol. 225 (2017), pp. 429–437. ISSN: 0960-8524. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.11.124>.
- [46] Luo G. et al. “Simultaneous hydrogen utilization and in situ biogas upgrading in an anaerobic reactor.” In: *Biotechnol Bioeng.* vol. 109.(4) (2012), pp. 1088–94. DOI: [10.1002/bit.24360](https://doi.org/10.1002/bit.24360).
- [47] Luo G. e Angelidaki I. “Co-digestion of manure and whey for in situ biogas upgrading by the addition of H₂: process performance and microbial insights”. In: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* vol. 97 (2013), pp. 1373–1381. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4547-5>.
- [48] Laura Mia Agneessens et al. “In-situ biogas upgrading with pulse H₂ additions: The relevance of methanogen adaptation and inorganic carbon level”. In: *Bioresource Technology* vol. 233 (2017), pp. 256–263. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.016>.
- [49] Daniel Girma Mulat et al. “Exogenous addition of H₂ for an in situ biogas upgrading through biological reduction of carbon dioxide into methane”. In: *Waste Management* vol. 68 (2017), pp. 146–156. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.05.054>.
- [50] Luo G. e Angelidaki I. “Hollow fiber membrane based H₂ diffusion for efficient in situ biogas upgrading in an anaerobic reactor”. In: *Appl Microbiol Biotechnol.* vol. 97(8) (2013), pp. 3739–44. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.08.023>.
- [51] Gang Luo, Wen Wang e Irini Angelidaki. “A new degassing membrane coupled upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor to achieve in-situ biogas upgrading and recovery of dissolved CH₄ from the anaerobic effluent”. In: *Applied Energy* vol. 132 (2014), pp. 536–542. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2014.07.059>.

- [52] Ilaria Bassani, Panagiotis G. Kougias e Irini Angelidaki. “In-situ biogas upgrading in thermophilic granular UASB reactor: key factors affecting the hydrogen mass transfer rate”. In: *Bioresource Technology* vol. 221 (2016), pp. 485–491. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.09.083>.
- [53] Gang Luo e Irini Angelidaki. “Integrated biogas upgrading and hydrogen utilization in an anaerobic reactor containing enriched hydrogenotrophic methanogenic culture”. In: *Biotechnology and Bioengineering* vol. 109.11 (), pp. 2729–2736. DOI: <https://doi.org/10.1002/bit.24557>.
- [54] Wen Wang et al. “Performance and microbial community analysis of the anaerobic reactor with coke oven gas biomethanation and in situ biogas upgrading”. In: *Bioresource Technology* vol. 146 (2013), pp. 234–239. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.07.049>.
- [55] Corbellini V. “BIOLOGICAL H₂-MEDIATED IN-SITU BIOGAS UPGRADING”. In: *Tesi di Dottorato, Politecnico di Milano* (2019).
- [56] Bernhard Lecker et al. “Biological hydrogen methanation – A review”. In: *Bioresource Technology* vol. 245 (2017), pp. 1220–1228. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.176>.
- [57] A. Alitalo, M. Niskanen e E. Aura. “Biocatalytic methanation of hydrogen and carbon dioxide in a fixed bed bioreactor”. In: *Bioresource Technology* vol. 196 (2015), pp. 600–605. DOI: [10.1016/j.biortech.2015.08.021](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.021).
- [58] Ajay Thapa, Jun-Gyu Park e Hang-Bae Jun. “Enhanced ex-situ biomethanation of hydrogen and carbon dioxide in a trickling filter bed reactor”. In: *Biochemical Engineering Journal* vol. 179 (2022), p. 108311. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2021.108311>.
- [59] Rachbauer Lydia et al. “Biological biogas upgrading capacity of a hydrogenotrophic community in a trickle-bed reactor”. In: *Applied Energy* vol. 180 (2016), pp. 483–490. DOI: [10.1016/j.apenergy.2016.07.109](https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.07.109).
- [60] M. Burkhardt, T. Koschack e G. Busch. “Biocatalytic methanation of hydrogen and carbon dioxide in an anaerobic three-phase system”. In: *Bioresource Technology* vol. 178 (2015), pp. 330–333. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.08.023>.

- [61] Mads Bjørnkjær Jensen et al. “Venturi-type injection system as a potential H_2 mass transfer technology for full-scale in situ biomethanation”. In: *Applied Energy* vol. 222 (2018), pp. 840–846. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2018.04.034>.
- [62] Ilaria Bassani et al. “Optimization of hydrogen dispersion in thermophilic up-flow reactors for ex situ biogas upgrading”. In: *Bioresource Technology* vol. 234 (2017), pp. 310–319. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.055>.
- [63] I. Díaz et al. “A feasibility study on the bioconversion of CO_2 and H_2 to biomethane by gas sparging through polymeric membranes”. In: *Bioresource Technology* vol. 185 (2015), pp. 246–253. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.02.114>.
- [64] Natalia Alfaro et al. “Evaluation of process performance, energy consumption and microbiota characterization in a ceramic membrane bioreactor for ex-situ biomethanation of H_2 and CO_2 ”. In: *Bioresource Technology* vol. 258 (2018), pp. 142–150. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.02.087>.
- [65] Savvas Savvas et al. “Methanogenic capacity and robustness of hydrogenotrophic cultures based on closed nutrient recycling via microbial catabolism: Impact of temperature and microbial attachment”. In: *Bioresource Technology* vol. 257 (2018), pp. 164–171. ISSN: 0960-8524. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.02.109>.
- [66] Evangelina Ripoll, Iván López e Liliana Borzacconi. “Hydrogenotrophic activity: A tool to evaluate the kinetics of methanogens”. In: *Journal of Environmental Management* vol. 270 (2020), p. 110937. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110937>.
- [67] Shaojie Bi et al. “Metabolic performance of anaerobic digestion of chicken manure under wet, high solid, and dry conditions”. In: *Bioresource Technology* vol. 296 (2020), p. 122342. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122342>.
- [68] Jan Dolfing e Wim G.B.M. Bloeman. “Activity measurements as a tool to characterize the microbial composition of methanogenic environments”. In: *Journal of Microbiological Methods* vol. 4.1 (1985), pp. 1–12. DOI: [https://doi.org/10.1016/0167-7012\(85\)90002-8](https://doi.org/10.1016/0167-7012(85)90002-8).

- [69] van Loosdrecht Mark CM et al. *Experimental methods in wastewater treatment*. IWA publishing, 2016.
- [70] John D. Coates, Michael F. Coughlan e Emer Colleran. “Simple method for the measurement of the hydrogenotrophic methanogenic activity of anaerobic sludges”. In: *Journal of Microbiological Methods* vol. 26.3 (1996), pp. 237–246. DOI: [https://doi.org/10.1016/0167-7012\(96\)00915-3](https://doi.org/10.1016/0167-7012(96)00915-3).
- [71] Olga. Y. Ako et al. “Steady state characteristics of acclimated hydrogenotrophic methanogens on inorganic substrate in continuous chemostat reactors”. In: *Bioresource Technology* vol. 99.14 (2008), pp. 6305–6310. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.12.016>.
- [72] S. Rittmann, A. Seifert e C. Herwig. “Quantitative analysis of media dilution rate effects on *Methanothermobacter marburgensis* grown in continuous culture on H₂ and CO₂”. In: *Biomass and Bioenergy* vol. 36 (2012), pp. 293–301. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.10.038>.
- [73] Mengjiao Gao et al. “Biomethane recovery from source-diverted household blackwater: Impacts from feed sulfate”. In: *Process Safety and Environmental Protection* vol. 136 (2020), pp. 28–38. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psep.2020.01.010>.
- [74] Jyh-Yih Leu, Yen-Hui Lin e Fuh-Long Chang. “Conversion of CO₂ into CH₄ by methane-producing bacterium FJ10 under a pressurized condition”. In: *Chemical Engineering Research and Design* vol. 89.9 (2011), pp. 1879–1890. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2011.02.033>.
- [75] Christian Rosen e Ulf Jeppsson. “Aspects on ADM1 Implementation within the BSM2 Framework”. In: *Department of Industrial Electrical Engineering and Automation, Lund Institute of Technology* vol. 7224 (2005).
- [76] Robinson Joseph e Tiedje James. “Competition between sulfate-reducing and methanogenic bacteria for H₂ under resting and growing conditions”. In: *Archives of Microbiology* vol. 137 (1984), pp. 26–32. DOI: [10.1007/BF00425803](https://doi.org/10.1007/BF00425803).
- [77] S. G. Pavlostathis, T. L. Miller e M. J. Wolin. “Cellulose fermentation by continuous cultures of *Ruminococcus albus* and *Methanobrevibacter smithii*”. In: *Appl. Microbiol. Biotechnol* vol. ee (1990), pp. 109–116. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00170581>.

- [78] Peter Schönheit, Johanna Moll e Rudolf K Thauer. “Growth parameters (Ks, μ_{\max} , Ys) of Methanobacterium thermoautotrophicum”. In: *Archives of Microbiology* vol. 127 (2004), pp. 59–65.
- [79] M.B. Jensen, L.D.M. Ottosen e M.V.W. Kofoed. “H₂ gas-liquid mass transfer: A key element in biological Power-to-Gas methanation”. In: *Renewable and Sustainable Energy Reviews* vol. 147 (2021), p. 111209. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111209>.
- [80] Merchuk Jose C. “Further considerations on the enhancement factor for oxygen absorption into fermentation broth”. In: *Biotechnology and Bioengineering* vol 19 (1977), pp. 1885–1889. DOI: <https://doi.org/10.1002/bit.260191211>.
- [81] Hiden Analytical. URL: <https://www.hidenanalytical.com/>.
- [82] Batstone D.J. et al. “The IWA Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM1)”. In: *Water Science and Technology* vol. 45.10 (mag. 2002), pp. 65–73. DOI: [10.2166/wst.2002.0292](https://doi.org/10.2166/wst.2002.0292).
- [83] Bernd Jähne, Gerhard Heinz e Wolfgang Dietrich. “Measurement of the diffusion coefficients of sparingly soluble gases in water”. In: *Journal of Geophysical Research: Oceans* vol. 92.C10 (1987), pp. 10767–10776. DOI: <https://doi.org/10.1029/JC092iC10p10767>.
- [84] Wei Xing et al. “1 - Oxygen Solubility, Diffusion Coefficient, and Solution Viscosity”. In: *Rotating Electrode Methods and Oxygen Reduction Electrocatalysts*. A cura di Wei Xing, Geping Yin e JiuJun Zhang. Elsevier, 2014, pp. 1–31. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63278-4.00001-X>.
- [85] Alessandro Della Bona et al. “LFT modelling and identification of anaerobic digestion”. In: *Control Engineering Practice* vol. 36 (2015), pp. 1–11. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.conengprac.2014.11.008>.
- [86] Negri. A. “Modellizzazione e Controllo di un Reattore a Biogas”. In: *Politecnico di Milano, Tesi di laurea magistrale* (2018).
- [87] Kenneth Hsu et al. “An LFT approach to parameter estimation”. In: *Automatica* vol. 44.12 (2008), pp. 3087–3092. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.automatica.2008.04.026>.
- [88] Theil Henri. *Economic forecasts and policy, English, 2nd Rev. Amsterdam : North-Holland Pub. Co.* 1961.