



Ricerca di Sistema elettrico

Sviluppo di un processo per l'abbattimento dell' H_2S nel biogas mediante fotobioreattore a LED

E. De Luca, N. Corsaro, C. Felici, F. Fiocchetti, L. Lona, S. Rosa

SVILUPPO DI UN PROCESSO PER L'ABBATTIMENTO DELL'H₂S NEL BIOGAS MEDIANTE FOTOBIOREATTORE A LED

Elena De Luca, Claudio Felici, Floriana Fiocchetti, Natale Corsaro, Silvia Rosa (ENEA)
Luigia Lona (Università della Tuscia)

Settembre 2015

Report Ricerca di Sistema Elettrico

Accordo di Programma Ministero dello Sviluppo Economico – ENEA

Piano Annuale di Realizzazione 2014

Area: Produzione di Energia Elettrica e protezione dell'ambiente

Progetto: Sviluppo di sistemi per la produzione di energia elettrica da biomasse e l'upgrading dei biocombustibili

Obiettivo: Sviluppo di sistemi di upgrading di biocombustibili e riduzione dell'impatto ambientale

Responsabile del Progetto: Vito Pignatelli, ENEA

Si ringraziano i colleghi Giulia Monteleone, Stefano Galli, Paola Gislón e Salvatore Sau per il supporto tecnico e logistico.

Indice

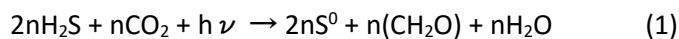
SOMMARIO.....	4
1 INTRODUZIONE	5
2 DESCRIZIONE DELLE ATTIVITÀ SVOLTE E RISULTATI.....	6
2.1 PROVE PRELIMINARI IN BATCH.....	6
2.2 PROVE IN CONTINUO DI FUNZIONAMENTO DI UN FBR.....	7
3 CONCLUSIONI.....	11
4 RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI	12

Sommario

L'obiettivo della ricerca è lo sviluppo e la verifica sperimentale del funzionamento di un fotobioreattore (FBR) per l'abbattimento dell'idrogeno solforato (H_2S) presente nel biogas proveniente da un impianto pilota di digestione anaerobica (DA). Le prove preliminari in batch hanno permesso di selezionare la lunghezza d'onda (770 nm) che consente il processo di abbattimento dell' H_2S operato dal batterio *Clorobium limicola* raggiungendo livelli di massima efficienza in rapporto alla irradianza fornita (770 nm). Le prove in continuo con un FBR alimentato dal biogas prodotto da un impianto pilota di digestione anaerobica del centro ricerche Casaccia hanno permesso di verificare con un primo esperimento che il sistema consente di raggiungere elevati livelli di abbattimento dell' H_2S (98%) in un periodo sperimentale di 370 ore. Il secondo esperimento, per la verifica della replicabilità del processo, ha dato risultati che ancora sono oggetto di interpretazione in quanto nella coltura batterica operante, oltre al *Clorobium limicola*, sono state individuate altre popolazioni batteriche il cui ruolo nel processo di trasformazione dei composti solforati dovrà essere ulteriormente indagato.

1 Introduzione

L'obiettivo della ricerca è lo sviluppo e la verifica sperimentale del funzionamento di un fotobioreattore (FBR) per l'abbattimento dell'idrogeno solforato (H_2S) presente nel biogas proveniente da un impianto pilota di digestione anaerobica (DA). Il fotobioreattore si basa sul processo di fotosintesi anossigenica (Equazione 1), operata dal batterio *Chlorobium limicola*, mediante il quale l' H_2S viene convertito in zolfo elementare (Aliboni et al. 2015; De Luca et al. 2014).



Sono state effettuate delle prove preliminari in batch per testare le condizioni di illuminazione corrispondenti alla migliore efficienza di processo esponendo le colture batteriche in un illuminatore multispettrale progettato sulla base dello spettro di assorbimento di *C. limicola* e dotato di LED monocromatici. Successivamente, sono state effettuate due prove nelle quali il fabbisogno di H_2S è stato assicurato tramite il biogas proveniente dall'impianto di DA presente nel CR ENEA Casaccia che tratta i reflui organici provenienti dalla mensa. A supporto della sperimentazione e delle analisi per lo studio delle cinetiche di abbattimento di H_2S è stato effettuato il monitoraggio della coltura batterica, operante in condizioni di non sterilità, mediante tecniche di biologia molecolare.

2 Descrizione delle attività svolte e risultati

2.1 Prove preliminari in batch

Sulla base dello spettro di assorbimento di *C. limicola*, è stato condotto un esperimento per testare l'effetto delle singole lunghezze d'onda, o di combinazioni di esse, sulla capacità di rimozione dell' H_2S da parte delle colture di *C. limicola* in differenti condizioni di crescita. Oltre alla determinazione dei composti dello zolfo, si è voluto monitorare anche l'incremento della batterioclorofilla *c* (*BChl c*) in risposta alla diversa esposizione alla luce. La *BChl c* è infatti il pigmento responsabile della cattura della luce la cui energia consente il processo fotosintetico ed ha un picco di assorbimento maggiore intorno ai 760 nm ed uno inferiore intorno ai 400 nm. *C. limicola* è dotato anche di carotenoidi, pigmenti accessori, che in particolari condizioni di illuminazione possono contribuire all'assorbimento della radiazione luminosa intorno a 400-450 nm.

L'esperimento è stato condotto utilizzando provette tipo Hungate (15 mL) che consentono di mantenere il sistema anaerobico. Tutte le condizioni sperimentali sono state testate in triplicato. L'efficienza del processo viene indicata dal rapporto tra il tasso di abbattimento dell' H_2S e l'irraggiamento ($mg\ h^{-1}\ L^{-1}$ per $W\ m^{-2}$). La figura 1 mostra i valori di efficienza ottenuti e l'incremento in *BChl c* registrato.

Con questo esperimento è stato provato che illuminando le colture batteriche con una specifica lunghezza d'onda si possono ottenere i migliori risultati di rimozione del solfuro. Infatti, come mostrato in fig. 1, illuminando con LED aventi picco di emissione a 770 nm si ottiene un abbattimento di circa $6,58\ mg\ h^{-1}\ L^{-1}$ per $W\ m^{-2}$ maggiore che nelle altre condizioni sperimentali in cui vengono testate singolarmente altre lunghezze d'onda e combinazioni tra loro con l'intento di riprodurre l'intero spettro di assorbimento di *C. limicola*. Inoltre, l'incremento della *BChl c* non produce un incremento di efficienza del sistema; i risultati ottenuti mostrano come il contenuto di *BChl c* aumenti nelle condizioni di illuminazione dove vengono associate lunghezze d'onda distanti dal principale picco di assorbimento della *BChl c*. Le luci del violetto (400 nm) hanno effetto nella rimozione del solfuro ma sono poco efficienti, mentre quelle del vicino infrarosso (900-1000 nm) non hanno alcun effetto sul processo di rimozione (dati non mostrati). E' stata testata anche l'illuminazione a 810 nm, mediante LED installati successivamente nell'illuminatore, per verificare l'efficacia di una stimolazione diretta della *BChl a* che assorbe maggiormente proprio a questa lunghezza d'onda. Tali prove non hanno mostrato un contributo significativo di questa lunghezza d'onda al processo fotosintetico (dati non mostrati). Pertanto, la lunghezza d'onda 770 nm è stata per l'esperimento in continuo con il FBR.

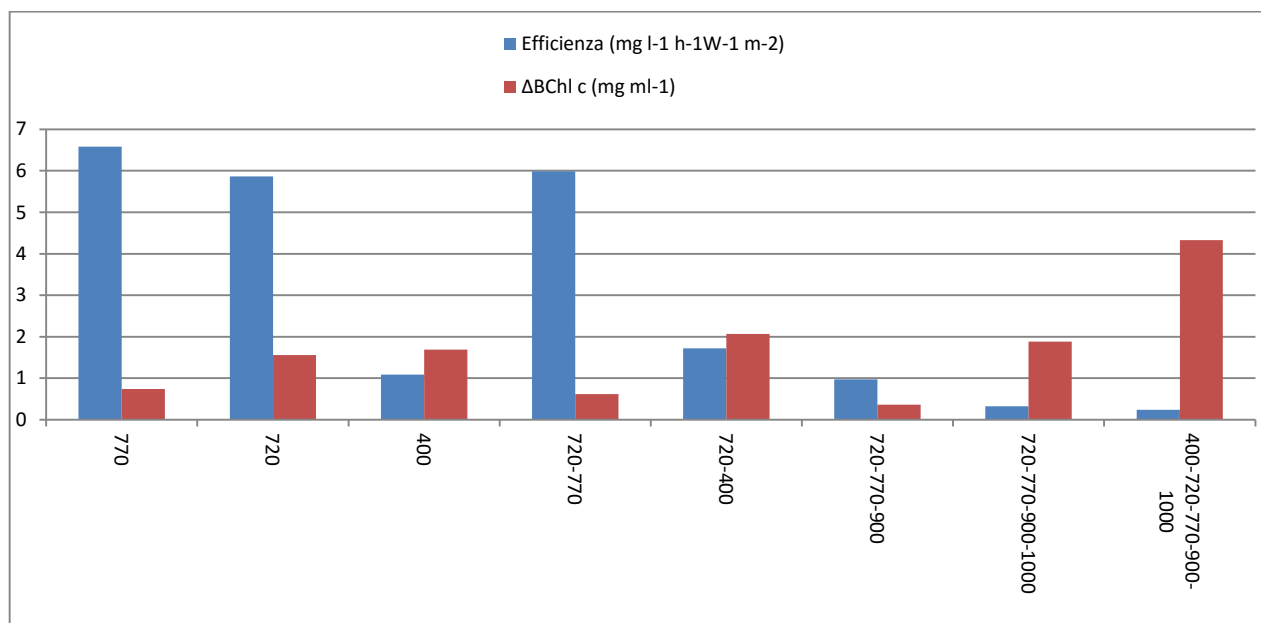


Figura 1. Efficienza di processo e contenuto di *BChl c* nelle diverse condizioni sperimentali di illuminazione (nm)

2.2 Prove in continuo di funzionamento di un FBR

Al fine di ottenere la rimozione completa dell' H_2S è stata studiata una nuova geometria di FBR con l'intento di massimizzare il rapporto tra la superficie e il volume della coltura esposta alla luce; si è inoltre provveduto all'inserimento di un sistema di decantazione e rimozione dello zolfo elementare. Il FBR è costituito da una spirale tubolare di Teflon®-PFA (Perfluoroalkoxy) (volume 700 mL, diametro 8 mm, lunghezza 14 m) avvolta su un supporto cilindrico trasparente e posta nell'illuminatore con i soli LED 770 nm accesi fornendo un'irradianza pari a $0,5 \text{ W m}^{-2}$. Il sistema di decantazione dello zolfo elementare è costituito da un corpo cilindrico in pyrex con fondo a imbuto con alla base una valvola di scarico del precipitato (volume 750 mL). La coltura batterica viene ricircolata nel FBR mediante pompa peristaltica con un HRT di 10-15 min (Fig. 2) e rientra nella spirale dopo aver attraversato la sezione di decantazione. E' stato eseguito un test preliminare della durata di 30 giorni, in condizioni di non sterilità, con biogas sintetico contenente 2000ppm di H_2S (40 mL min^{-1}) ed utilizzando una coltura pura di *C. limicola*; il test ha mostrato una elevata stabilità producendo come unico prodotto di reazione zolfo elementare (irradianza $0,5 \text{ W m}^{-2}$). Alla fine di tale test un'aliquota della coltura è stata utilizzata come inoculo del FBR per un esperimento volto a verificare la capacità di abbattimento dell' H_2S presente in un biogas reale.

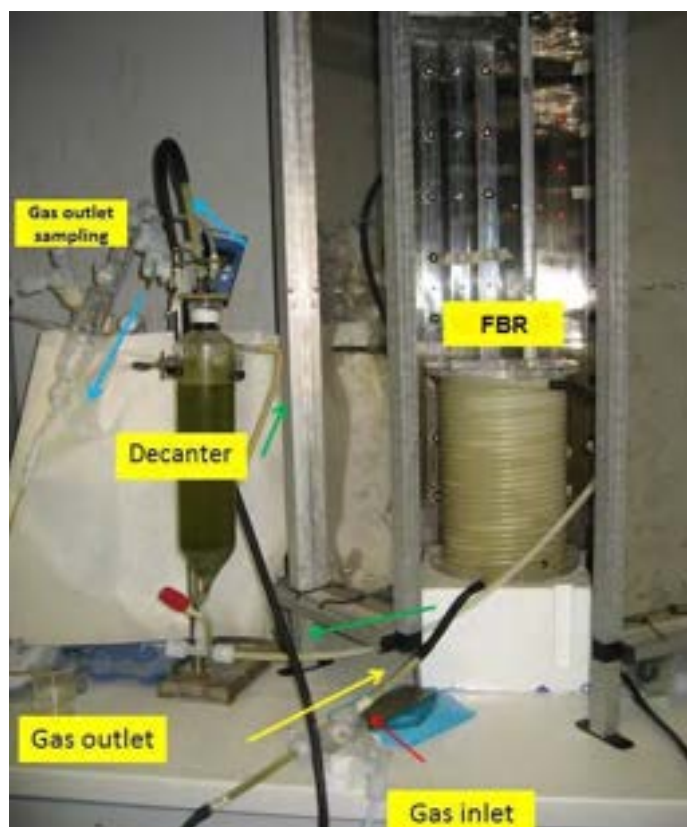


Figura 2. FBR e schema di funzionamento. Le frecce indicano: rosso ingresso del biogas, giallo flusso in entrata della coltura arricchita di gas, verde flusso in uscita della coltura e del gas purificato, azzurro flusso in uscita del gas purificato

Il biogas fornito al sistema proviene dall'impianto di DA anaerobica del centro ENEA-Casaccia ed è costituito da: CH_4 65-67%, CO_2 32-35%, O_2 0,1% e H_2S circa 400 ppm. E' stata effettuata una prima prova della durata di 15 giorni in cui sono state testate delle variazioni di flusso del biogas e di irradianza fornita (Fig. 3). Per tutta la durata dell'esperimento non è stato modificato il terreno di coltura.

Alimentando il FBR con flusso di biogas a 50 mL min^{-1} e portando l'irradianza a $0,38 \text{ W m}^{-2}$ (LED al 75%) si ottiene un abbattimento medio del 98% (2,3 ppm di H_2S in uscita dal FBR) con un'efficienza pari a $6,36 \text{ (mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}) \text{ (W m}^{-2})$. Il sistema risponde alle variazioni di flusso di biogas in entrata e di irradianza con un aumento della concentrazione di H_2S in uscita (70-98 ore e 289-358 ore) (Fig. 3). Nel secondo giorno di funzionamento,

è stata effettuata una “prova di buio” a LED spenti per 24 ore al termine della quale sono stati rilevati 100 ppm di H_2S in uscita dal FBR e 0,03 mM di solfuri disciolti nel terreno confermando che in assenza di luce l’abbattimento dell’ H_2S non avviene.

La sperimentazione si è fermata alle 370 ore in conseguenza di un guasto alla rete elettrica del CR Casaccia che ha portato alla morte della coltura batterica. Pertanto non si può evincere se la funzionalità osservata alle 370 ore, dove il flusso era stato ripristinato a 50 mL min⁻¹ ottenuto con un rispettivo abbattimento del 99%, sarebbe stata mantenuta dal sistema. Comunque, questa prima prova ha fornito importanti risposte circa alcuni parametri fondamentali di funzionamento utili a migliorare la configurazione operativa del processo. Nel corso dell’esperimento oltre alla formazione di zolfo, si è notato un rilevante incremento dei solfati da 330 a circa 950 mg L⁻¹. Tale dato potrebbe essere dovuto sia ad una condizione di stress di *C. limicola* che, in carenza di H_2S ed eccesso di luce, tende a ossidare lo zolfo elementare prodotto, sia all’azione di qualche altro batterio presente nel terreno di coltura anch’esso coinvolto nel metabolismo dello zolfo.

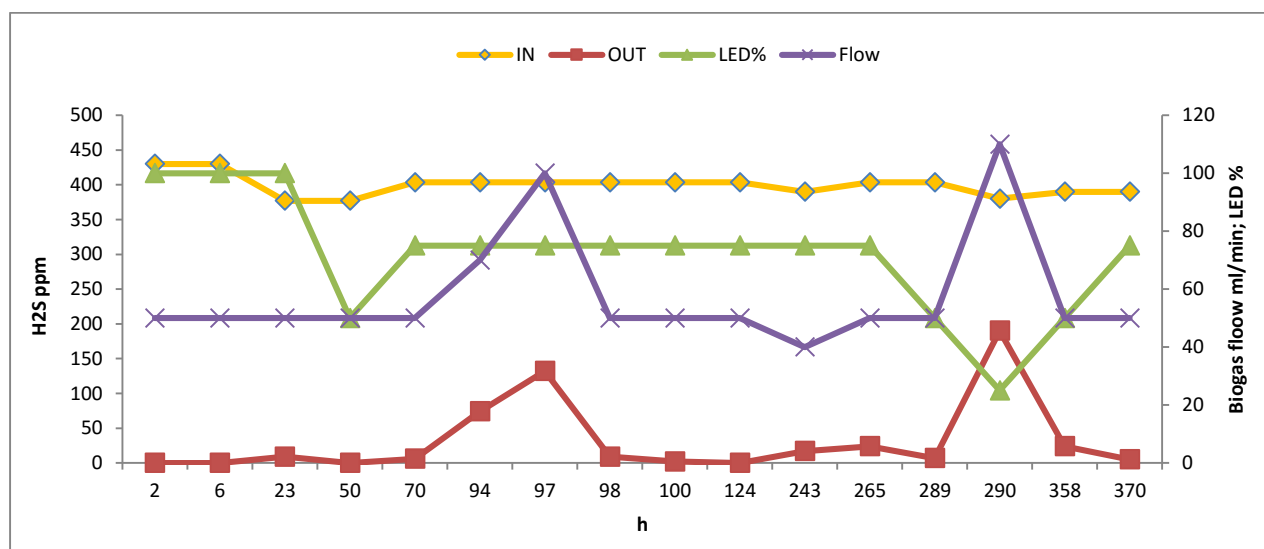


Figura 3. Dati relativi al FBR nel primo esperimento. Concentrazione dell’ H_2S (ppm) del biogas in entrata nel FBR (IN), concentrazione dell’ H_2S (ppm) del biogas in uscita nel FBR (OUT), % di utilizzo dei LED e flusso (mlmin⁻¹) di biogas trattato (Flow)

Le analisi molecolari per il monitoraggio della coltura batterica durante il periodo sperimentale sono state eseguite per valutarne la stabilità in condizioni di non sterilità. Il biogas in entrata nel sistema può infatti contenere cellule o spore che possono contaminare la coltura nonostante il terreno utilizzato sia “minimo” considerata l’autotrofia di *C. limicola*. E’ stata eseguita la DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) della porzione ipervariabile V1-V3 del gene 16SrDNA, amplificato mediante PCR (Polymerase Chain Reaction). La figura 4 mostra come la coltura utilizzata per questo esperimento non sia già in partenza una coltura pura. Infatti oltre alla presenza di *C. limicola* si osserva una ulteriore banda, identificata come *Epsilonproteobacteria*. In questa classe filogenetica sono presenti batteri chemiolitoautotrofi con un metabolismo caratterizzato dalla ossidazione dell’ H_2S a solfato. Tale presenza potrebbe giustificare l’aumento dei solfati riscontrati durante il periodo sperimentale. La terza banda che si evidenzia alla fine dell’esperimento è stata identificata ed è risultata appartenente alla famiglia delle *Xanthomonadaceae*. In tale famiglia sono raggruppati batteri aerobi solfato riduttori. La presenza di questa popolazione microbica è probabilmente riconducibile al biogas derivante dall’impianto di DA e la sua sopravvivenza è resa possibile dalla minima percentuale di O_2 in esso contenuta. Il ruolo di questi due batteri deve essere ulteriormente indagato attraverso l’isolamento che permetterà la loro identificazione a livello di specie.

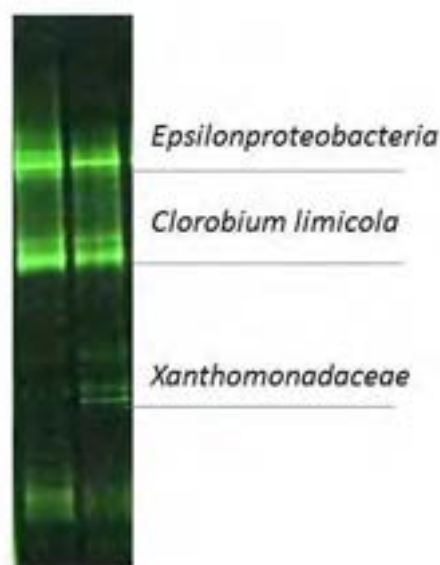


Figura 4. Profili DGGE del frammento ipervariabile V1-V3 del 16SrDNA amplificato mediante PCR. Da sinistra a destra: FBR start (0h), end (370h). Nel campione iniziale sono presenti due bande una relativa a *C. limicola* e l'altra relativa ad un uncultured appartenente a *Epsilonproteobacteria*. Nel campione finale, oltre alle bande iniziali, si osserva la presenza di una banda affiliata alle *Xanthomonadaceae*

Utilizzando lo stesso inoculo della prova precedente è stato effettuato un secondo esperimento per verificare la replicabilità del processo. Vengono riportati i dati raccolti nei primi 20 giorni (Fig. 5) perché anche in questo caso, per un problema legato alla rete di distribuzione dell'energia elettrica del CR Casaccia, l'esperimento è stato interrotto. In questa seconda prova si è voluto testare il sistema diminuendo l'irradianza fornita partendo con i LED accesi al 50% ($0,25 \text{ W m}^{-2}$) e aumentando il flusso di biogas trattato partendo da 80 mL min^{-1} . Osservando un abbattimento totale nelle prime ore (0-6 ore) si è portato il flusso del biogas a 130 mL min^{-1} e gradualmente ridotta l'illuminazione portandola da 0 alle 99 ore per 5 ore. In queste ore di buio il sistema continua a mostrare abbattimento dell' H_2S registrando valori tra 0 e 17 ppm nel biogas in uscita. Fino alle 104 ore il sistema ha lavorato con il biogas proveniente dall'impianto di DA, poi per motivi tecnici si è dovuto proseguire con biogas sintetico contenente 500 ppm di H_2S attaccando il sistema ad una bombola. Dalle 104 ore alle 175 ore è stata progressivamente aumentata l'irradianza fornita portando i LED prima al 15%, poi al 25% ed infine al 40% (rispettivamente $0,075$; $0,125$; $0,2 \text{ W m}^{-2}$) e si è portato il flusso a 130 mL min^{-1} . In questa fase sperimentale si è osservato abbattimento incompleto trovando ancora dell' H_2S in uscita dal sistema (2-29 ppm) indicando quindi uno scarso effetto delle luci sul processo e come se in questa fase sperimentale la presenza del microrganismo appartenente agli *Epsilonproteobacteria* fosse determinante nel processo. Pertanto, si è nuovamente testato il sistema in condizioni di buio fino alla fine dell'esperimento. In una prima fase si è osserva abbattimento totale (176-268 ore) per poi diminuire progressivamente. La concentrazione dei solfati nel brodo di coltura è incrementa partendo da 215 a 1257 ppm alle 298 ore, tempo sperimentale in cui si è osservata assenza di abbattimento (436 ppm in uscita). Questo momento indica la fine dell'esperimento fed batch, in cui il biogas è stato fornito al sistema senza rinnovare il terreno di coltura, pertanto si è deciso di fare un refeed di terreno fresco (400 mL) eliminando una parte di coltura esausta. Dopo tale refeed il sistema ha ricominciato ad operare e il processo di abbattimento riprende, seppure in maniera non costante, presentando delle oscillazioni nella concentrazione di H_2S in uscita.

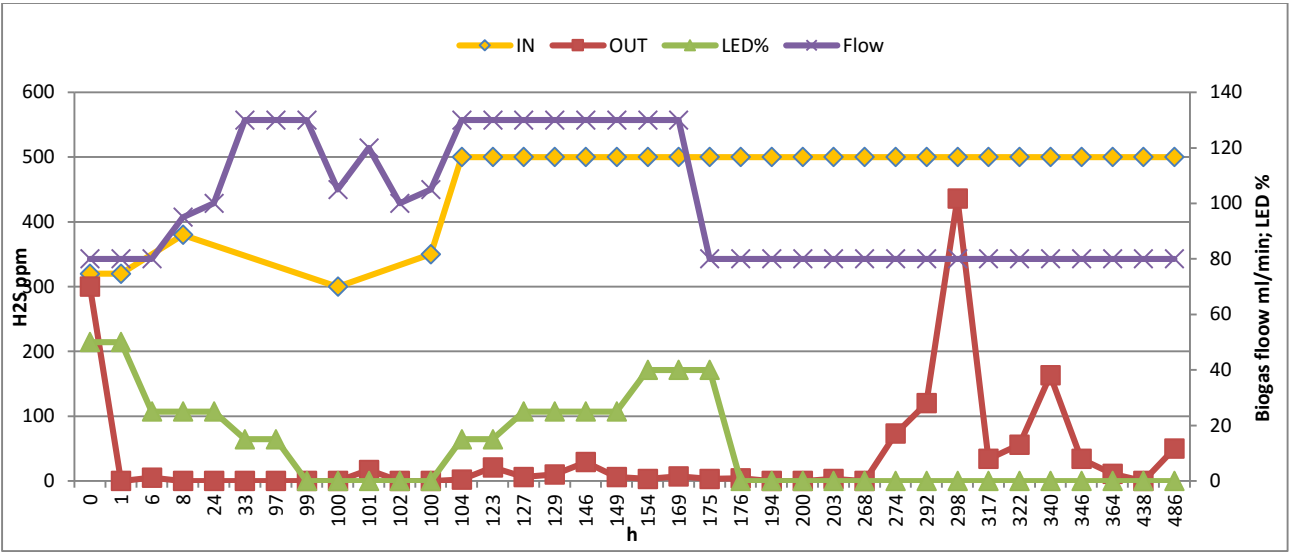


Figura 5. Dati relativi al FBR nel secondo esperimento. Concentrazione dell' H_2S (ppm) del biogas in entrata nel FBR (IN), concentrazione dell' H_2S (ppm) del biogas in uscita nel FBR (OUT), % di utilizzo dei LED e flusso($mlmin^{-1}$) di biogas trattato(Flow)

3 Conclusioni

Le modifiche attuate al FBR, il cambio di geometria e l'inserimento del sistema di decantazione, hanno consentito di aumentare l'efficienza di processo. Infatti, rispetto a quanto riportato nella precedente annualità dove si è testato un FBR di tipo CSTR (Continuous Stirred Reactor), è stato possibile aumentare il flusso di biogas da trattare e ridurre considerevolmente l'irradianza fornita con i LED.

Confrontando questi dati con quelli riportati in precedenza si è incrementato il flusso di biogas trattato da 20 a 50ml min⁻¹ e si è diminuita la quantità di luce fornita passando da 1 a 0,38W m⁻², si è incrementato il tempo sperimentale da 5 a 15 giorni mantenendo il terreno di coltura iniziale testando il FBR per un periodo più lungo senza perdere l'efficienza di abbattimento del solfuro. Il secondo esperimento, per la verifica della replicabilità del processo, ha dato risultati che ancora sono oggetto di interpretazione in quanto nella coltura batterica operante oltre *C. limicola* sono state individuate altre popolazioni batteriche il cui ruolo nel processo di trasformazione dei composti solforati dovrà essere ulteriormente indagato.

4 Riferimenti bibliografici

1. A. Aliboni, L. Lona, C. Felici, N. Corsaro, G. Izzo, E. De Luca. Analytical protocols for the determination of sulphur compounds characteristic of the metabolism of *Chlorobium limicola*. Anal Chem Res, 5 (2015), pp. 9-13.
2. E. De Luca, C. Felici, N. Corsaro, S. Rosa, A. Signorini, G. Izzo. Hydrogen sulphide removal from gas stream by green sulphur bacteria under LED illumination. 22nd European Biomass Conference and Exhibition, 23-26 June 2014, Hamburg, Germany. ISSN 2282-5819.