



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II



**Scuola Politecnica e delle Scienze di Base**  
**Dipartimento di Ingegneria Civile, Edile e Ambientale**

**Corso di Laurea Magistrale in ingegneria per l'ambiente e il territorio «Protezione e Risanamento dell'Ambiente»**

PRESENTAZIONE TESI DI LAUREA

# **«Batteri quorum quenching per il contenimento del biofouling nei reattori MBR»**

Relatore:

Ch.mo Prof. Ing. Massimiliano Fabbricino

Ch.mo Prof. Ing. Kwang-Ho Choo

Candidati:

Giuseppe Bruno

Luigi De Simone

Matr. M67/435

Matr. M67/438

# Obiettivi della tesi

- Verifica dell'effettivo ritardo del fouling in un impianto MBR attraverso la strategia del Quorum Quenching (QQ) tramite un confronto tra reattori con granuli vuoti e granuli QQ
- Monitoraggio principali parametri del fango e del permeato in un reattore MBR

# Articolazione della tesi

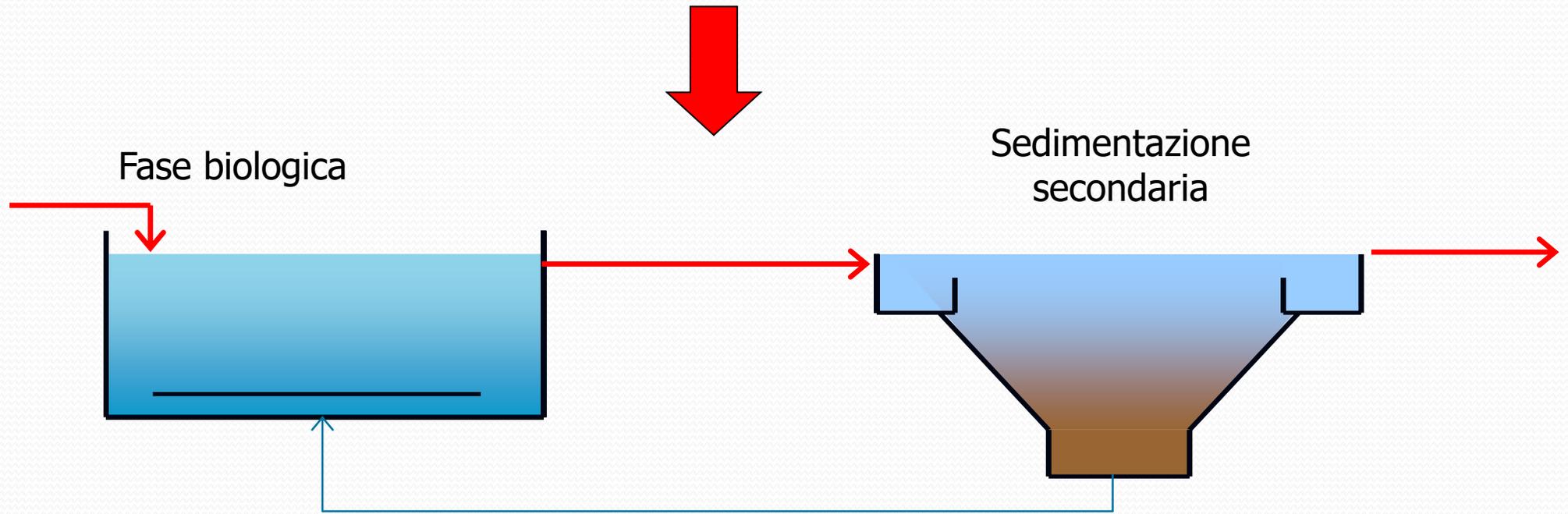
- MBR: Generalità e vantaggi/problematiche
- Fenomeno del Fouling
- Quorum Sensing
- Sistemi per contrastarlo: Pulizia fisica o chimica/QQ
- Procedura sperimentale (apparato sperimentale, analisi permeato/fango)
- Fasi del lavoro

Giuseppe Bruno

- Preparazione per fase QQ
- Risultati parametri permeato
- Risultati per ogni fase parametri fango
- Confronti globali
- TMP globale
- Obiettivi raggiunti
- Conclusioni e sviluppi futuri

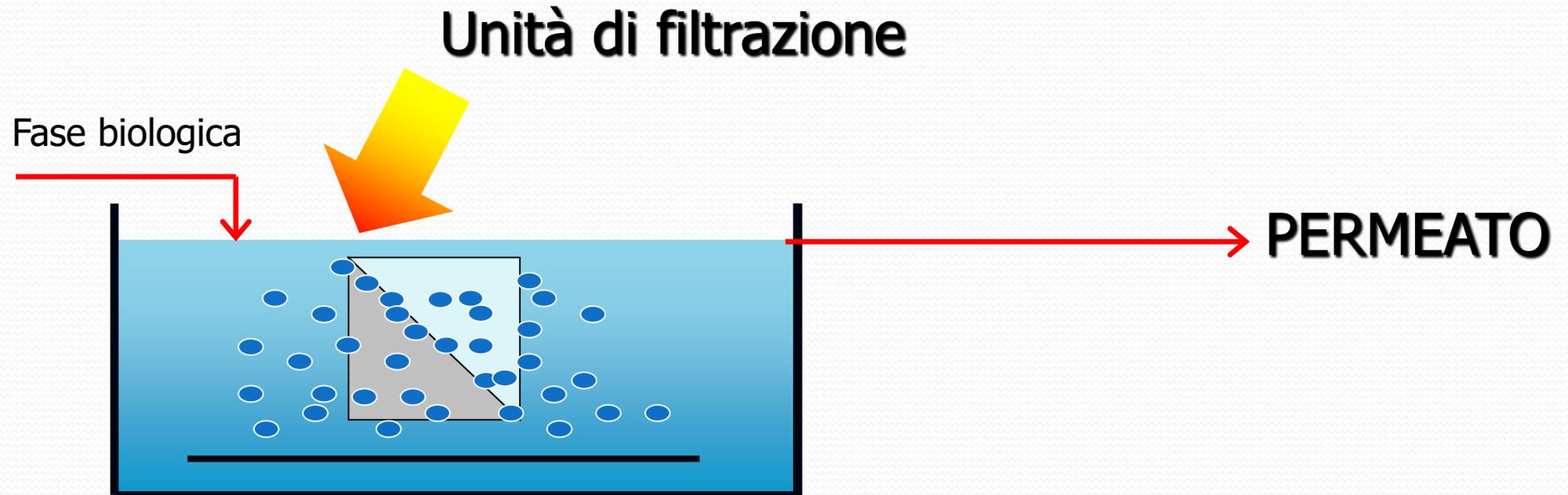
Luigi De Simone

## IMPIANTO TRADIZIONALE A FANGHI ATTIVI



La biomassa è separata dalla corrente idrica nella fase di sedimentazione, sfruttando l'azione della gravità, ed è in parte ricircolata nella fase biologica

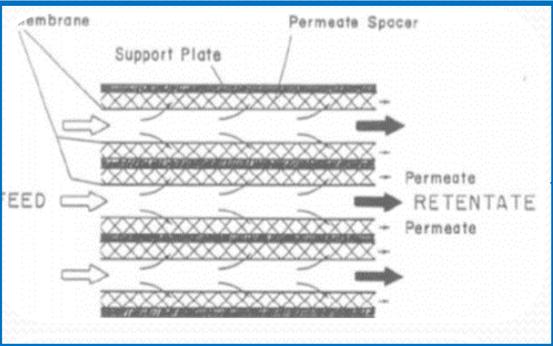
# Ciclo di trattamento degli MBR



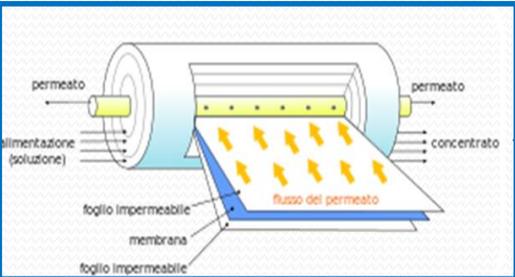
La miscela aerata subisce un'azione di filtrazione nelle unità biologiche, che consente di migliorare le caratteristiche dell'effluente e di assicurare una più elevata concentrazione della biomassa

# Tipologie membrane

# Configurazioni impiantistiche



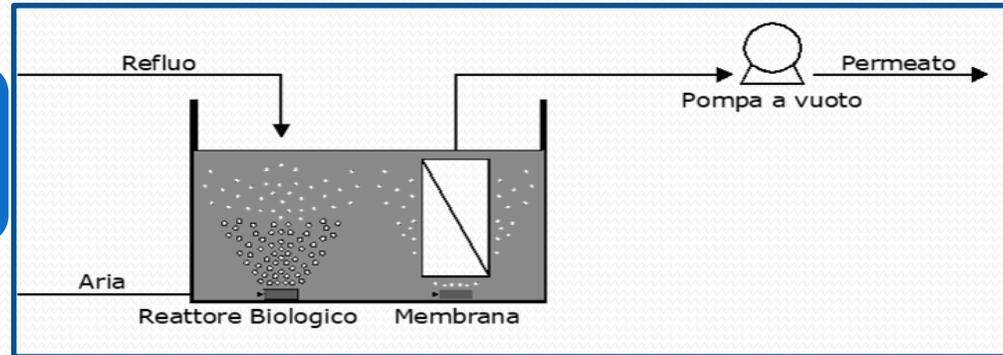
**Modulo a lastre**



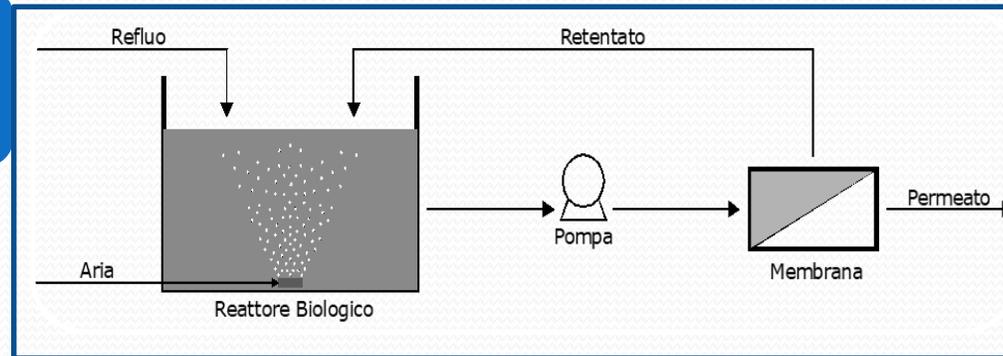
**Modulo a spirale**



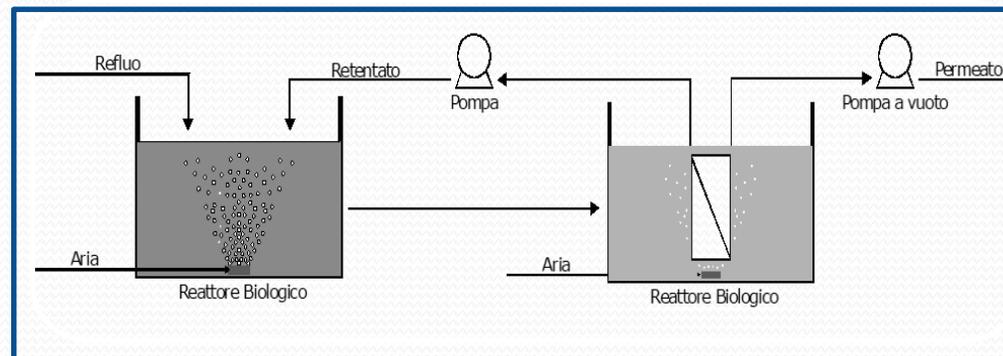
**Modulo a fibre cave**



**Configurazione submerged**



**Configurazione side stream**



**Configurazione mista**

# Vantaggi e svantaggi dei sistemi MBR

Rispetto al tradizionale processo di depurazione a fanghi attivi (CAS), i sistemi MBR presentano:

## Vantaggi:

- ❖ Riduzione della superficie e dei volumi;
- ❖ Migliore qualità dell'effluente finale;
- ❖ Minore produzione di fango.

## Svantaggi:

- ❖ Sporramento e intasamento (fouling) delle membrane;
- ❖ Costo d'investimento ed energetico rilevante.

# Fouling

Il fouling è lo **sporciamento** della superficie esterna o interna della membrana di cui sono responsabili i **depositi che sono adsorbiti o vengono accumulati** su di essa durante la filtrazione.

## Parametri di dipendenza

- Design
- Configurazioni impiantistiche MBR
- Concentrazione biomassa

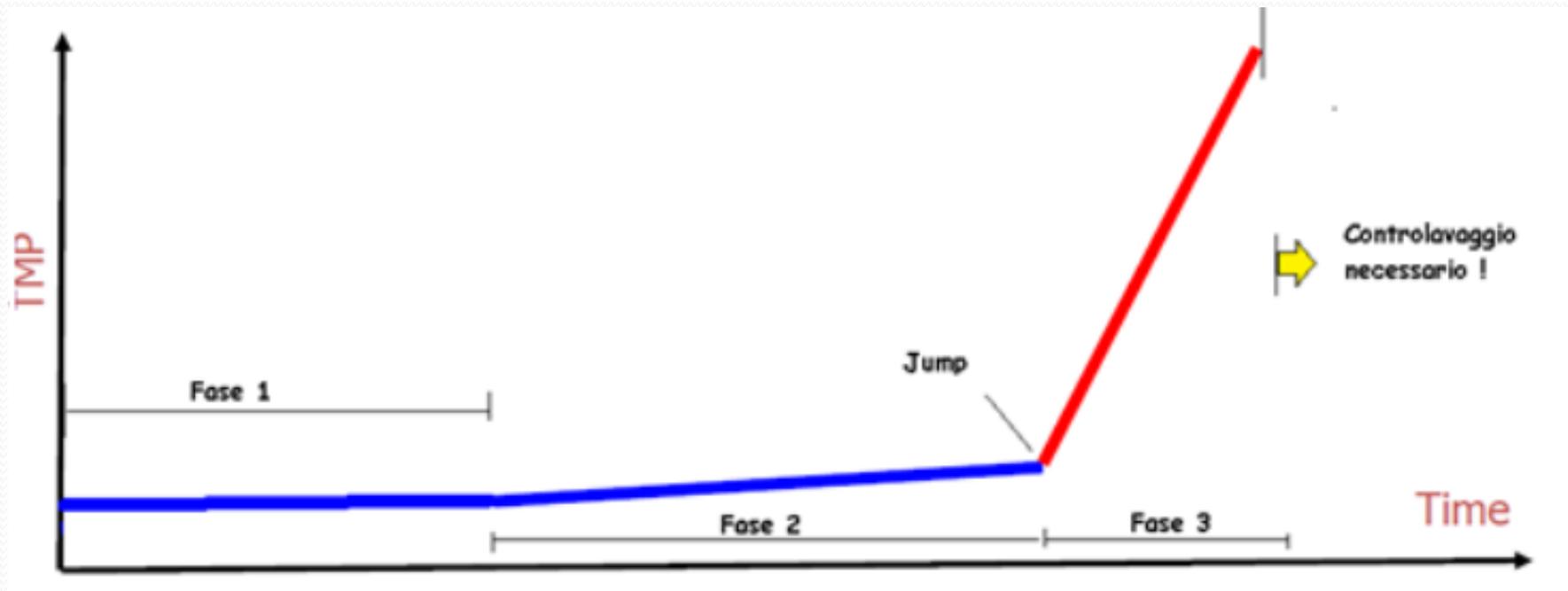


# Tipologie di fouling

- Fisicamente reversibile
- Chimicamente reversibile
- Irreversibile
- Irrecuperabile



# Andamento TMP all'insorgere del Fouling



Fouling di  
condizionamento

Fouling stazionario

TMP jump

# Quorum sensing (QS)

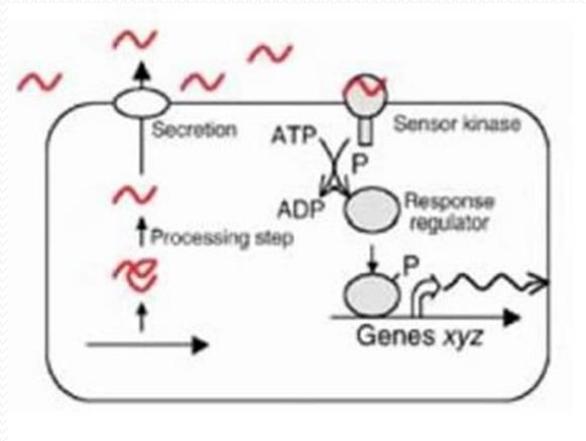
Comunicazione tra batteri attraverso l'uso di piccole molecole segnale, chiamate AutoInducers (AI)

3 tipi diversi di sistemi

Batteri Gram-negativi

Batteri Gram-positivi

Batteri Gram-positivi e Gram-negativi

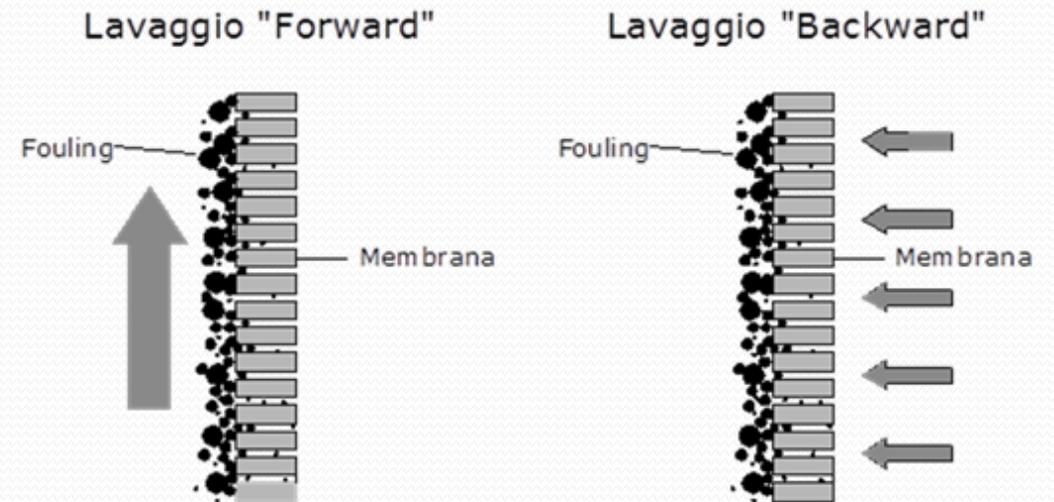


# Metodi per contrastarlo

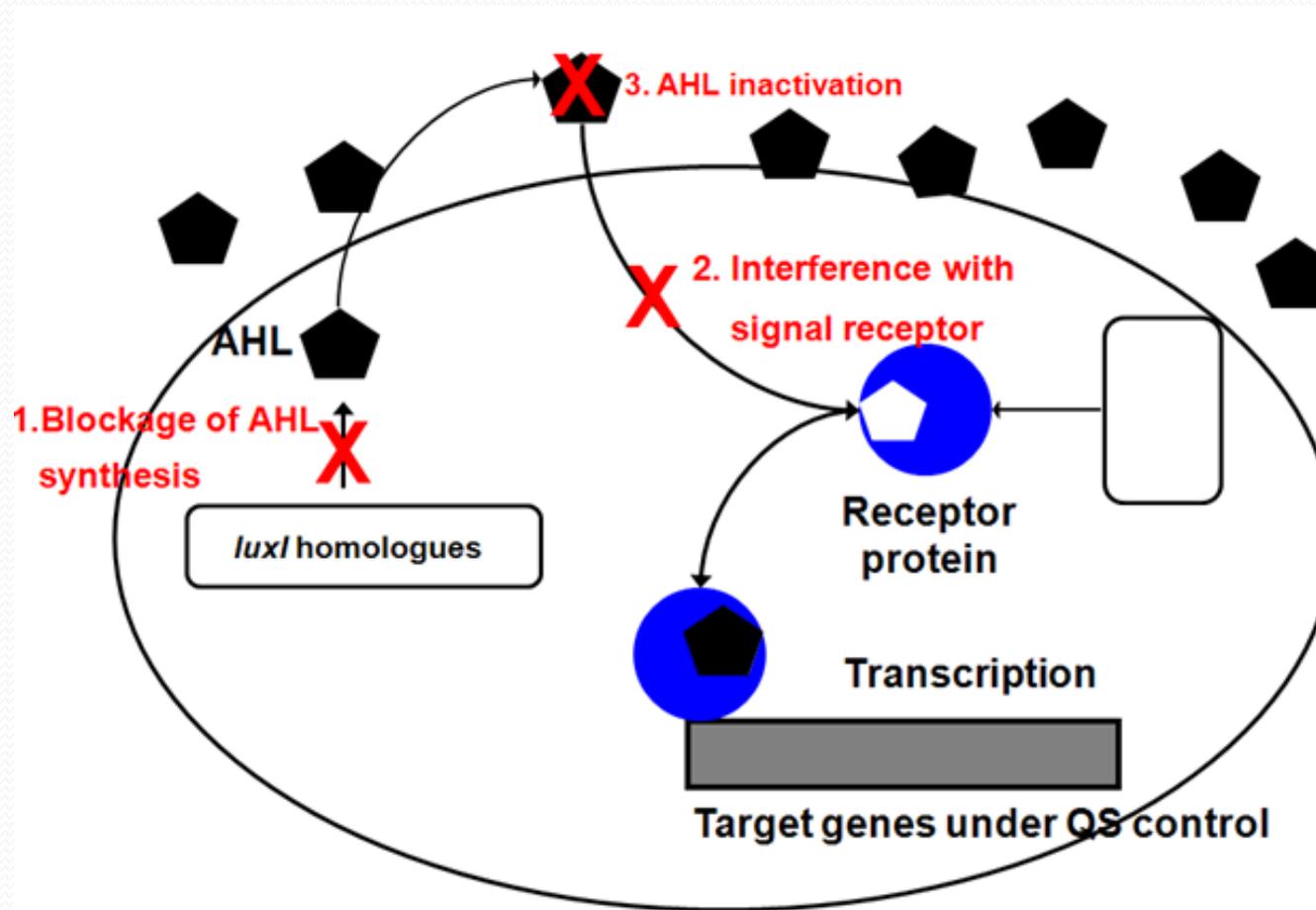
- Pulizia membrane
  - Pulizia fisica delle membrane (Backwashing and relaxation)
  - Pulizia chimica delle membrane (Acido citrico/ipoclorito di sodio)

- Quorum Quenching

Strategia anti quorum sensing per inibire le molecole segnale QS.



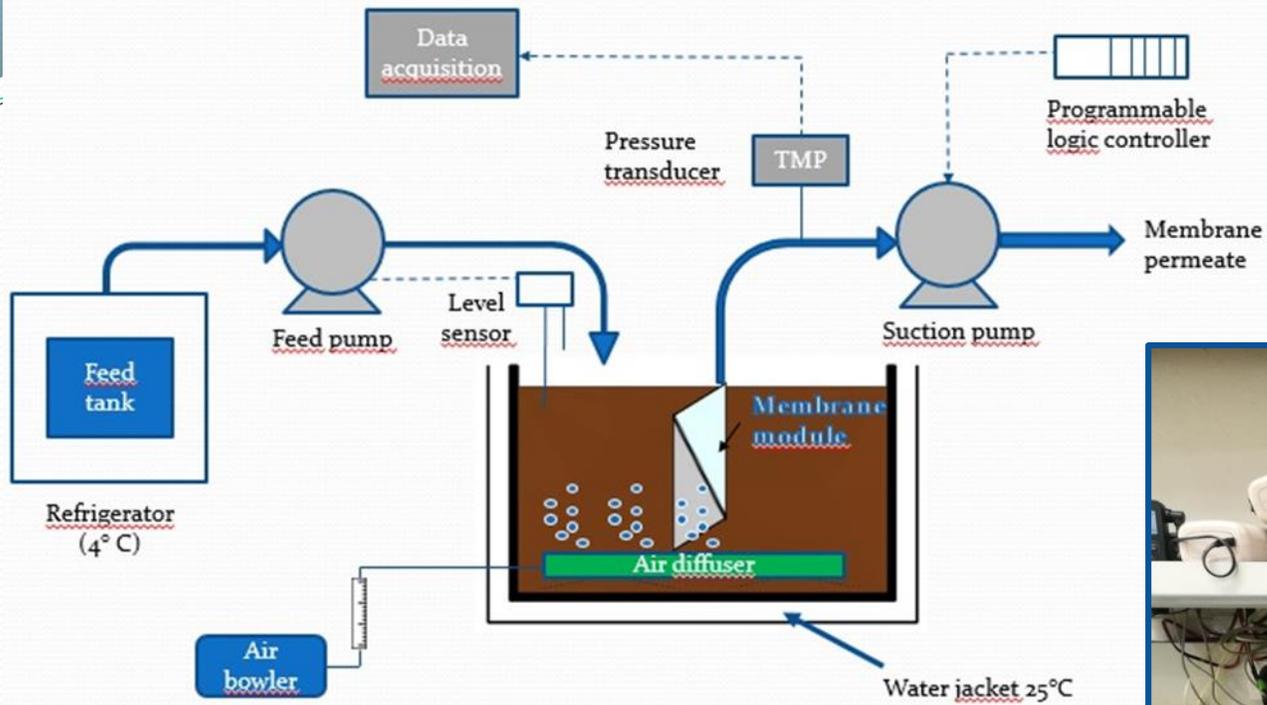
# Quorum quenching (QQ)



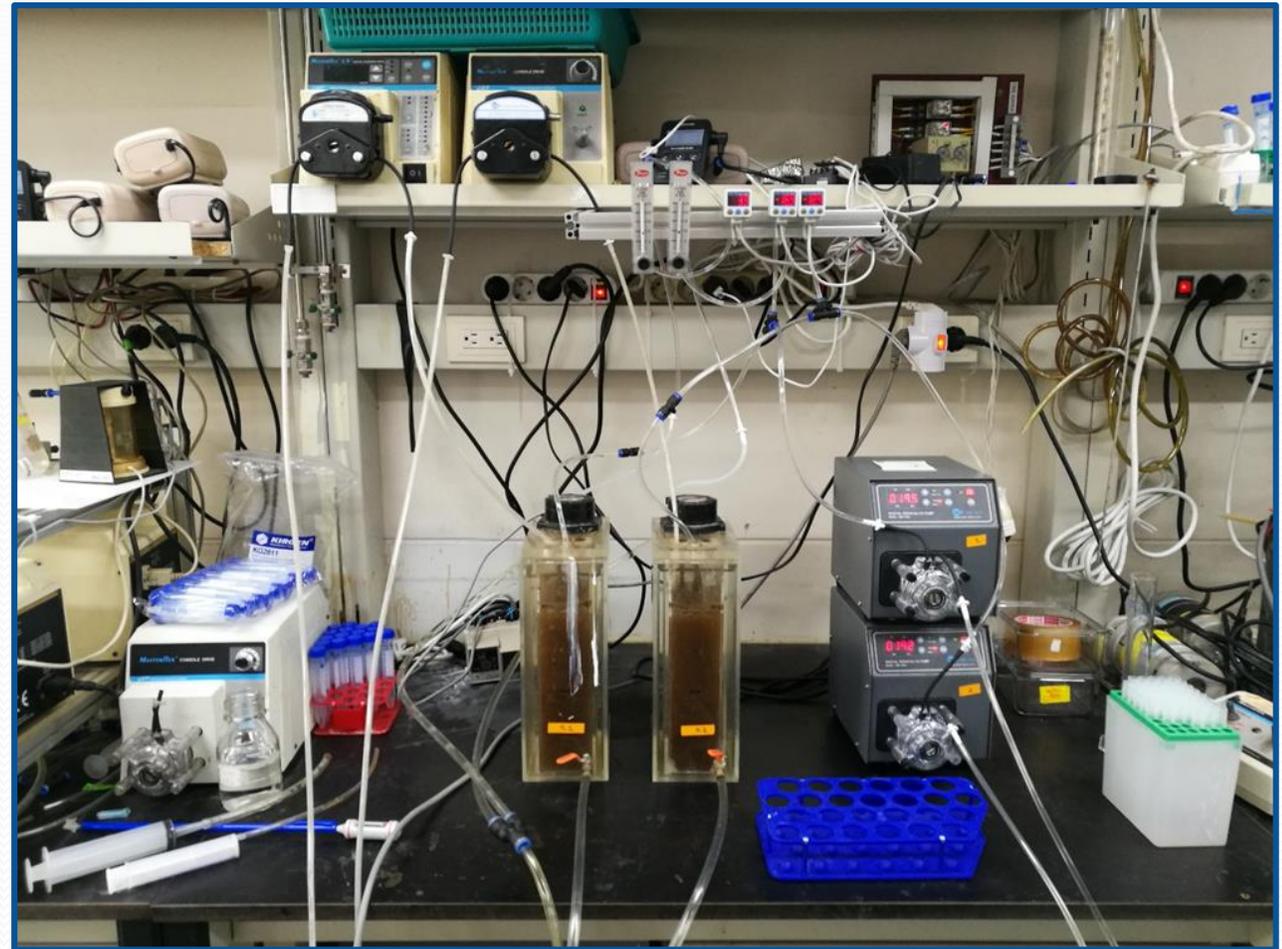
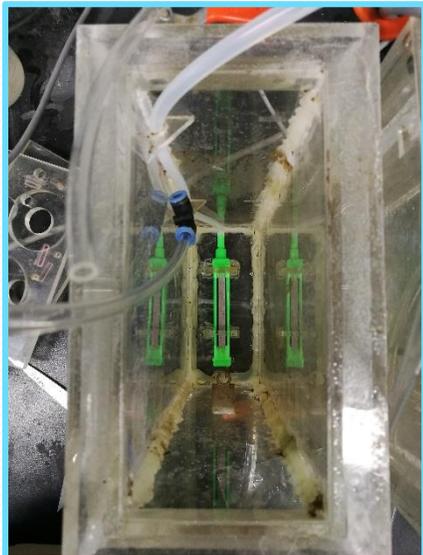
1. Blocco della sintesi degli AHL

2. Interferenza del segnale sul ricettore

3. Inibizione del segnale AHL



# Apparato sperimentale



# Metodi analitici: Fango

MLSS



DIMENSIONE FIOCCHI

Diffrazione laser



EPS/SMP

Proteine



Metodo Lowry

Carboidrati



Metodo Folin



Raccolta campioni di fango (20 ml) nel reattore e sulla membrana per l'analisi della comunità microbiologica

# Metodi analitici: permeato

TN



TOC Torch software/TN kit

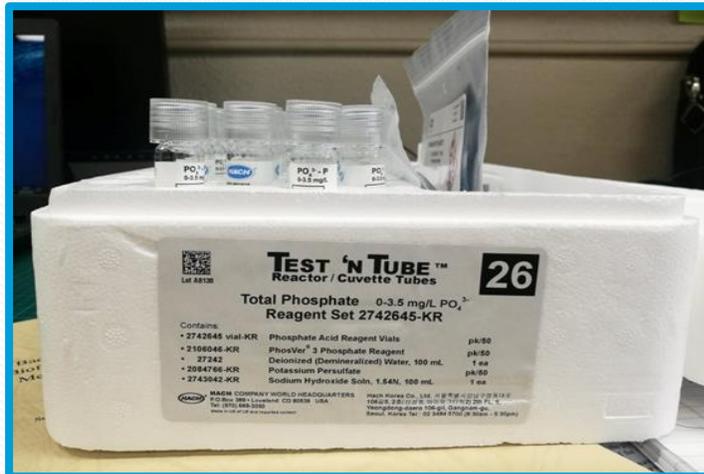
TOC

Analizzatore automatico dei campioni di carbonio totale SIEVERS 820



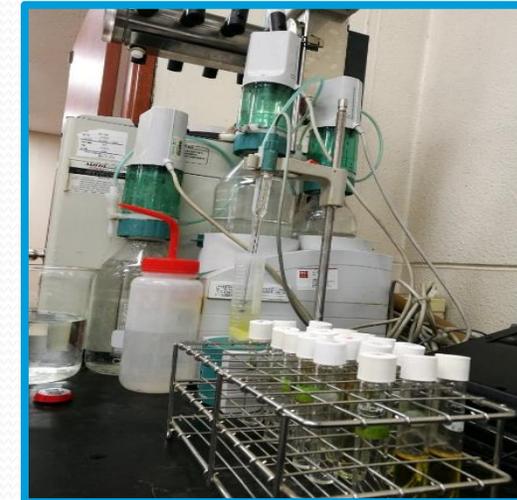
Data pro software

TP



Metodo della digestione dell'acido persolfato (TP kit)

COD



Metodo dicromato

# Fasi del lavoro

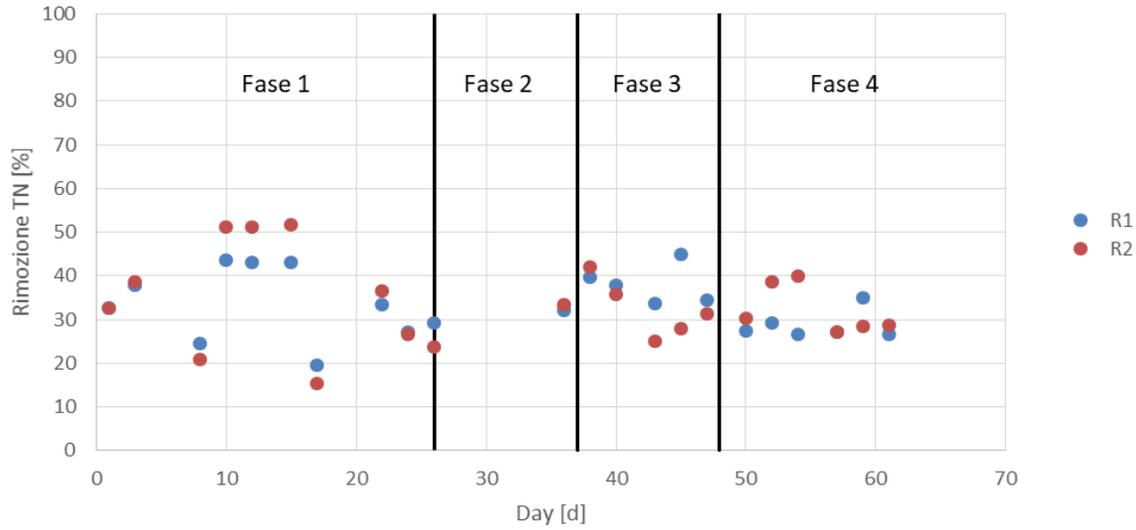
Fase operativa	Periodo della fase [g]	Reattore 1	Reattore 2
Fase 1	0-26	MBR convenzionale	MBR convenzionale
Fase 2	26-37	MBR convenzionale	MBR convenzionale
Fase 3	37-48	MBR convenzionale	MBR convenzionale
Fase 4	49-62	Granuli vuoti	Granuli QQ
Fase 5	62-in corso	Granuli vuoti	Granuli QQ

# Condizioni operative

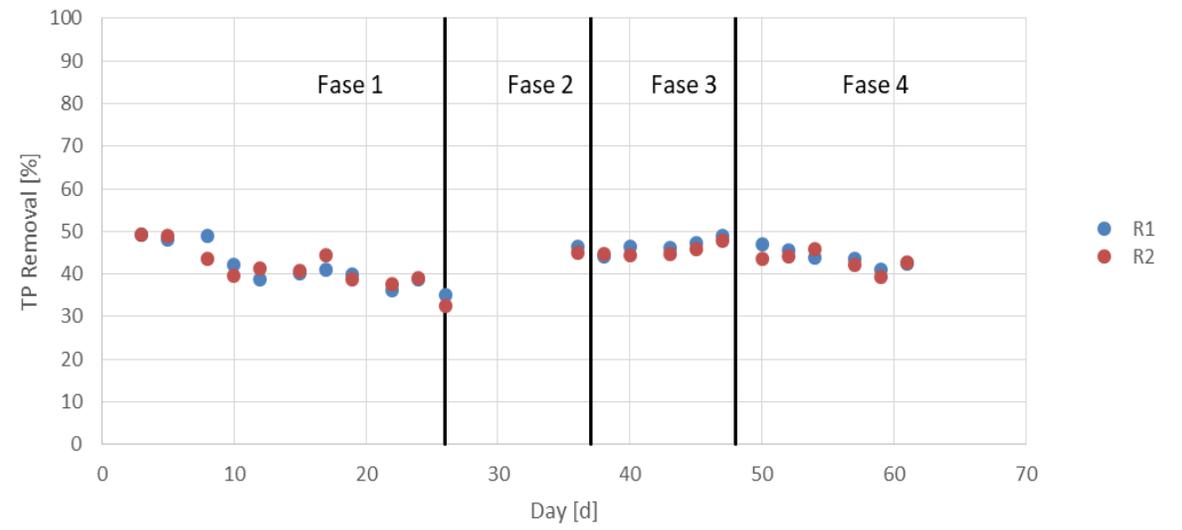
Volume	2	L
Flusso	30 (25 per FASE 5)	L/m <sup>2</sup> h
Superficie membrana	0,00942 (0.0113 per FASE 5)	m <sup>2</sup>
Filtrazione + rilassamento	19+1	min
HRT	7,43	h
SRT	50	g
Temperatura reattore	25	°C
Flusso d'aria	1	L/min
Temperatura del frigo per l'alimentazione	4	°C

# Confronto Globale parametri permeato

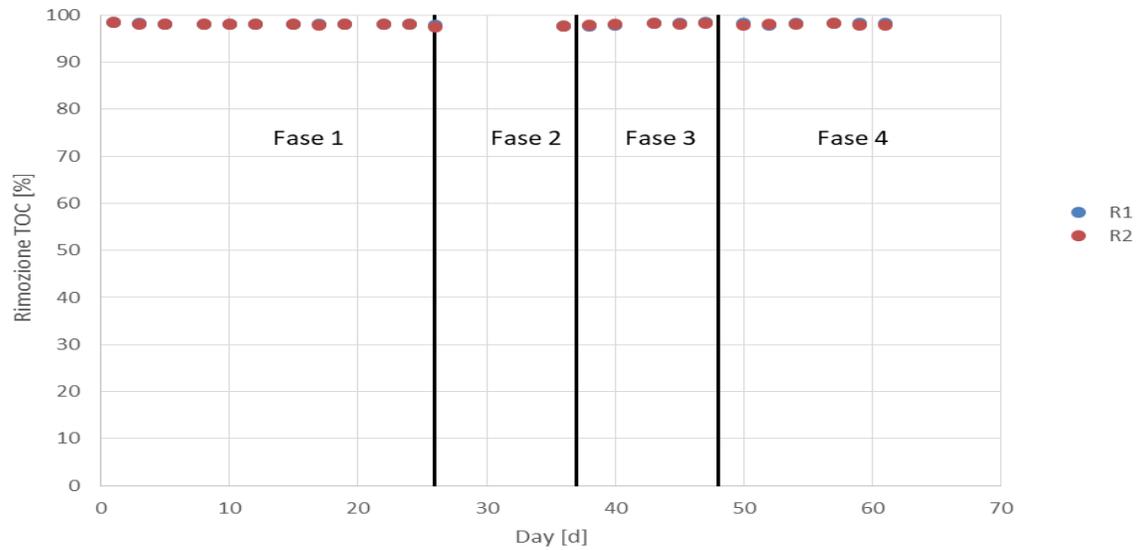
## Rimozione TN



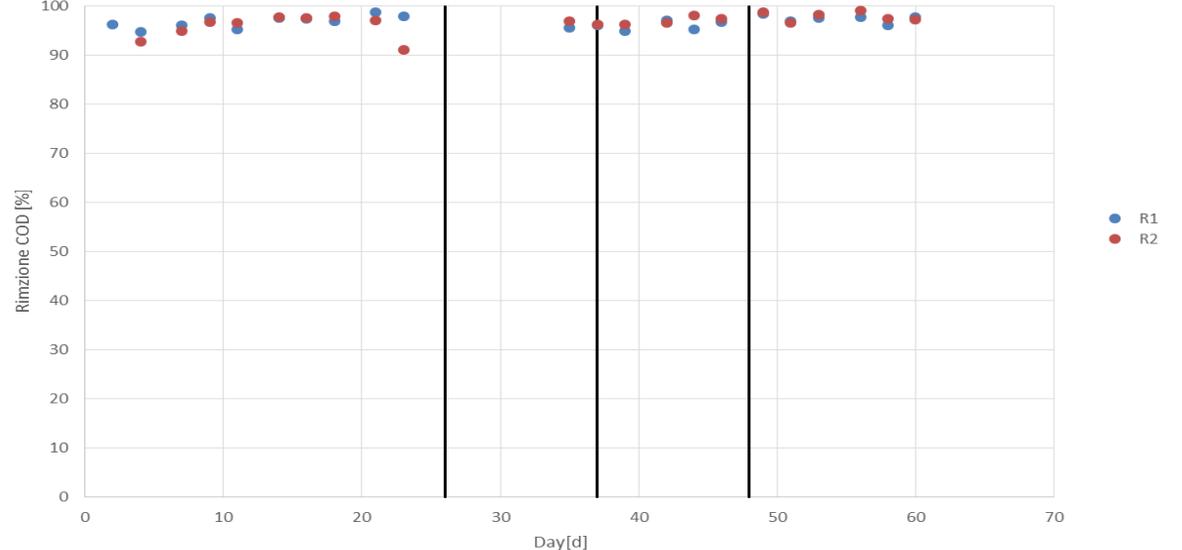
## TP Removal



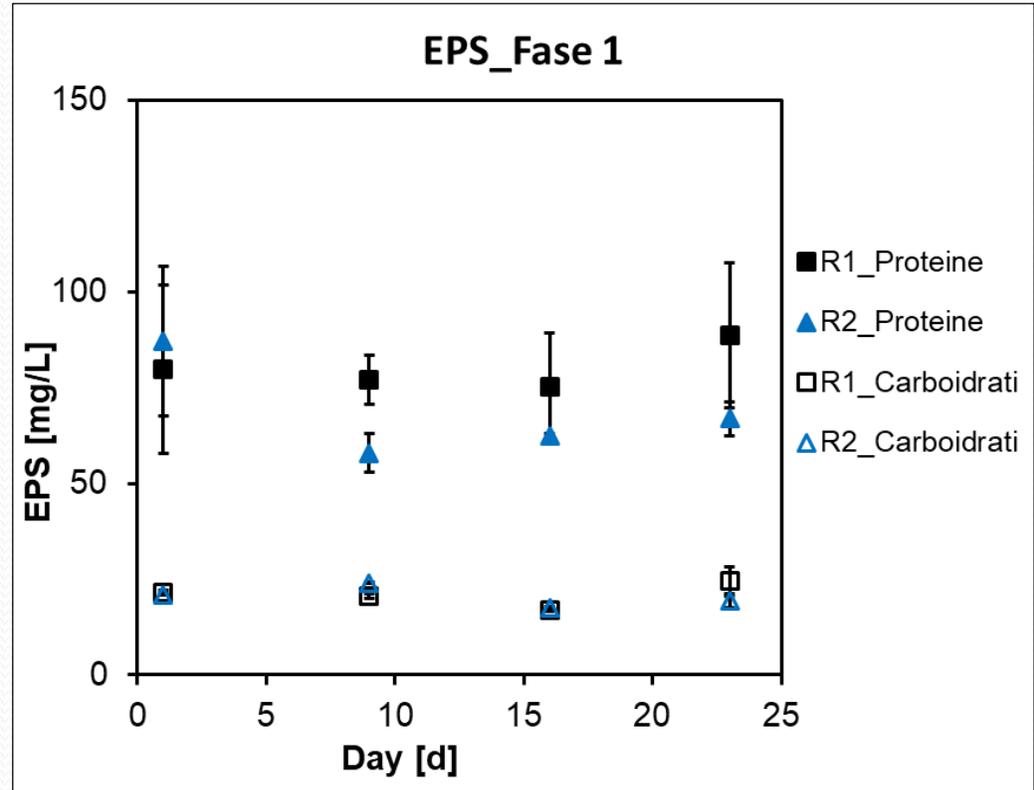
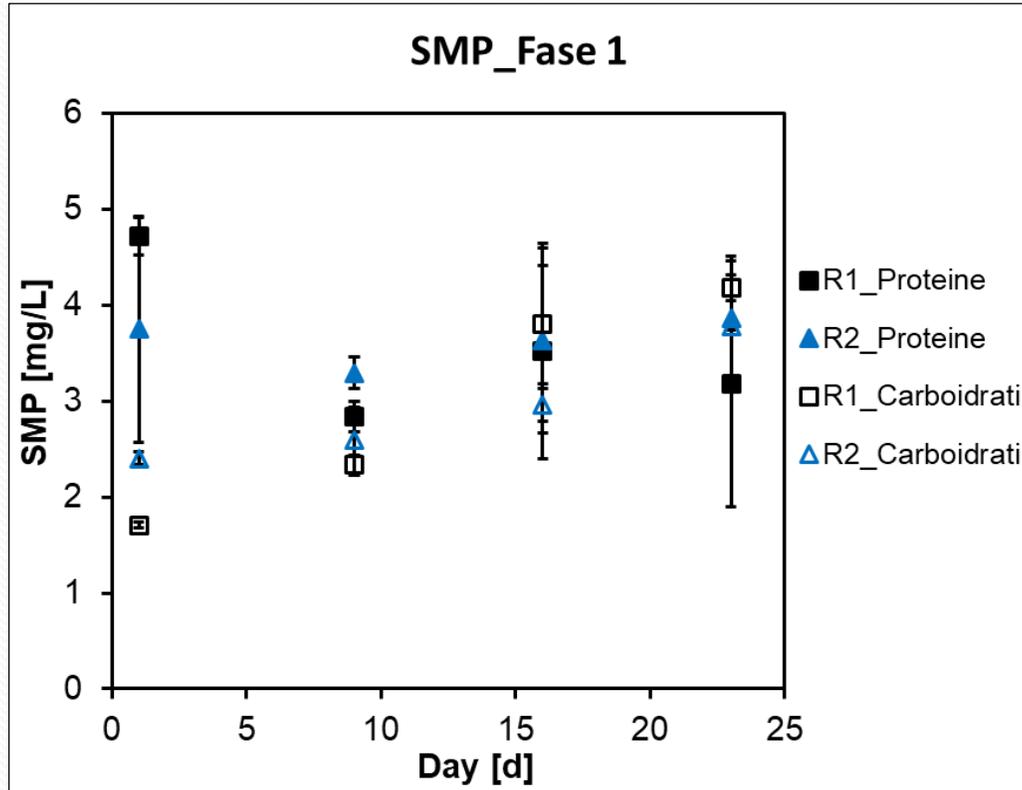
## Rimozione TOC



## Rimozione COD



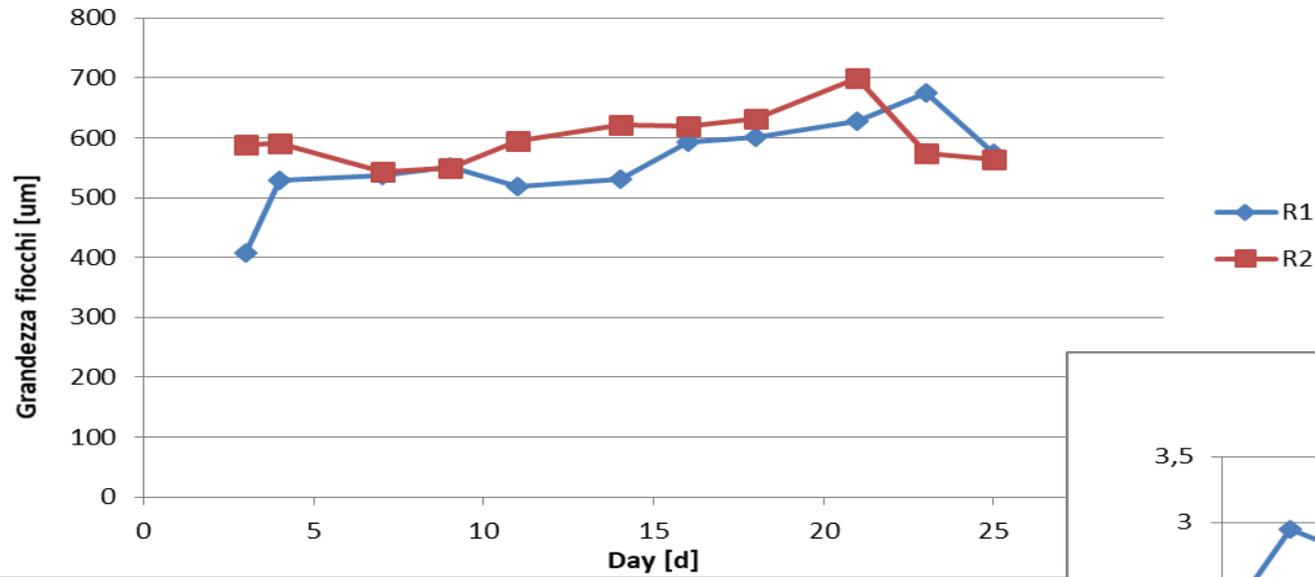
# Risultati Fase 1 parametri riferiti al fango (1)



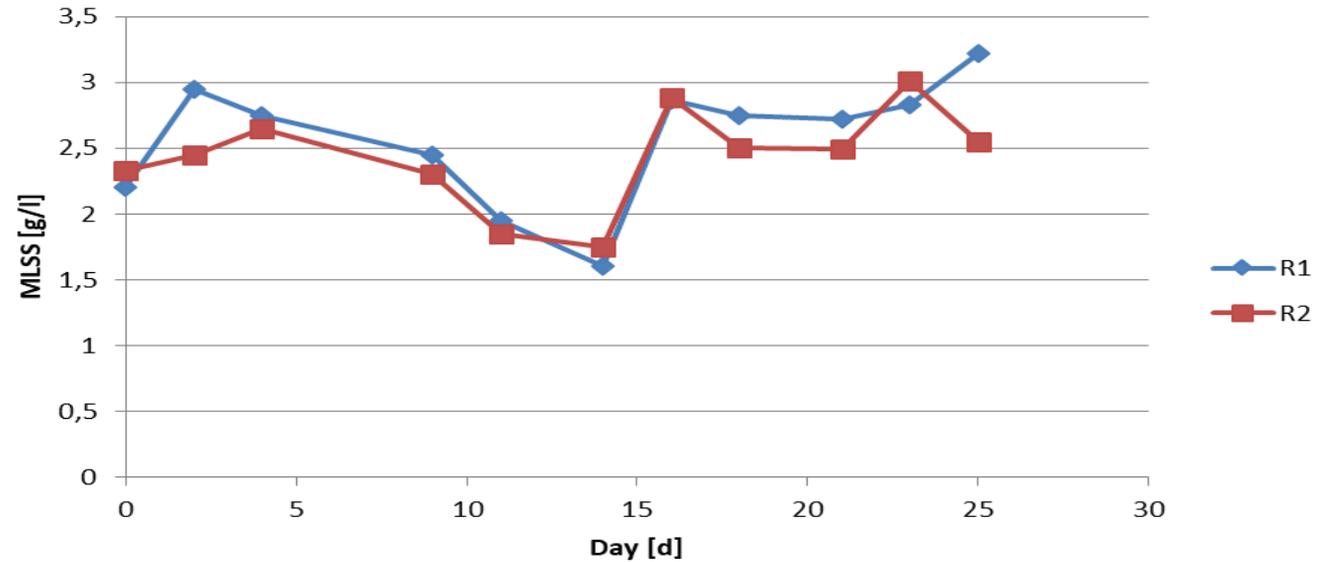
	SMP_Proteine [ppm]	SMP_Carboidrati [ppm]	EPS_Proteine [ppm]	EPS_Carboidrati [ppm]
R1	3,567	3,005	80,119	20,841
R2	3,636	2,933	68,571	20,385

# Risultati Fase 1 parametri riferiti al fango (2)

## Grandezza fiocchi\_Fase 1

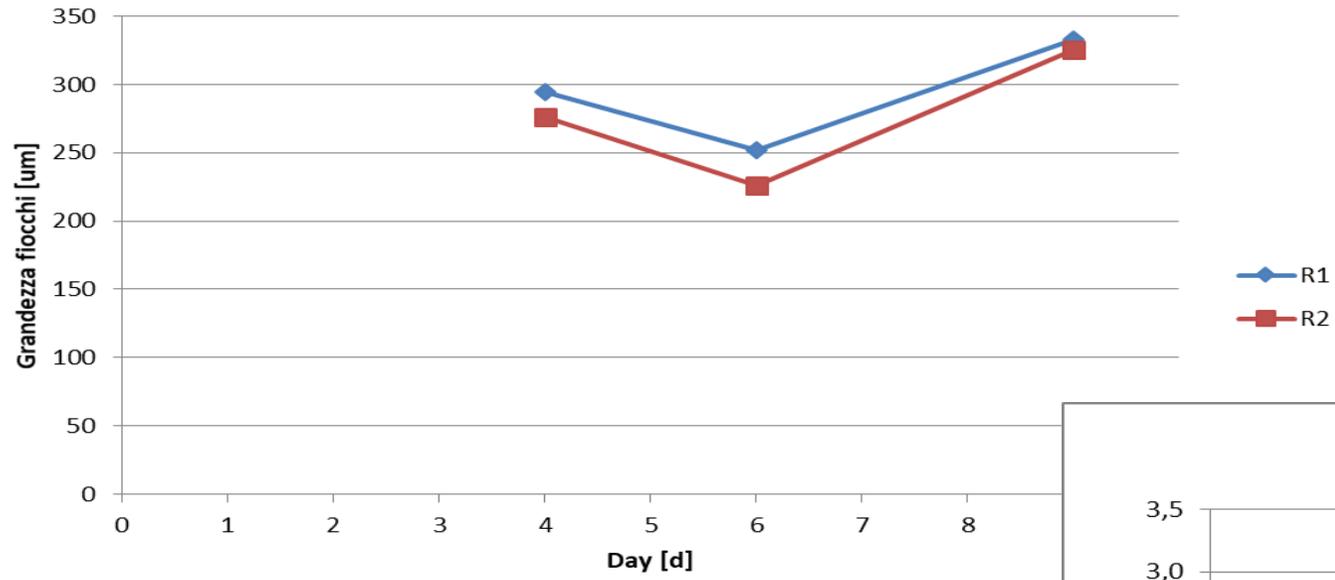


## MLSS\_Fase 1

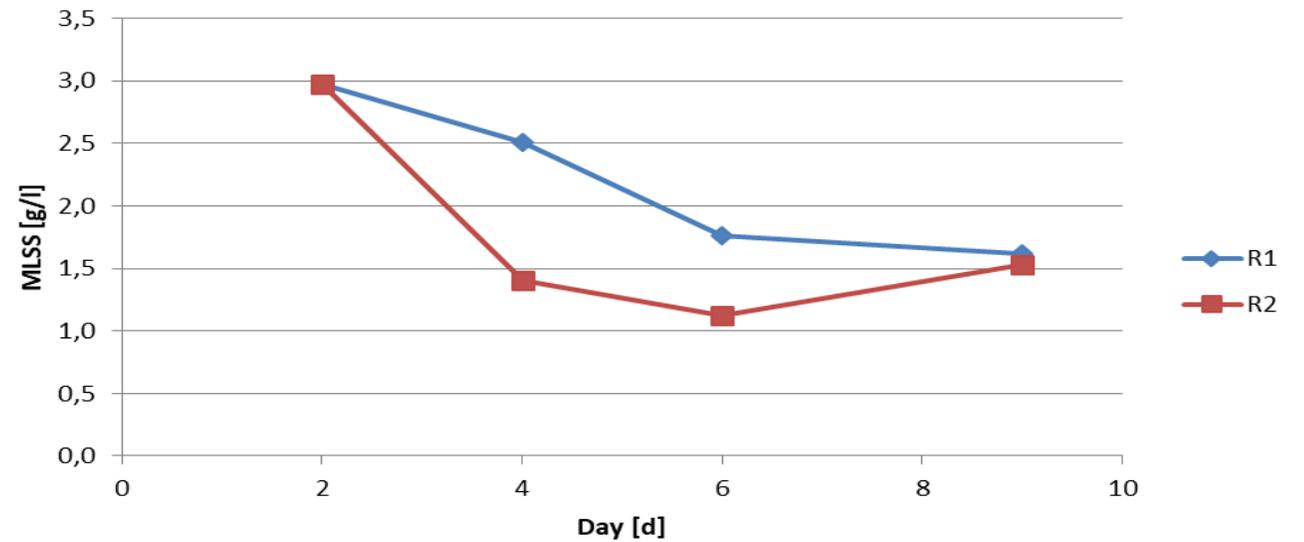


# Risultati Fase 2

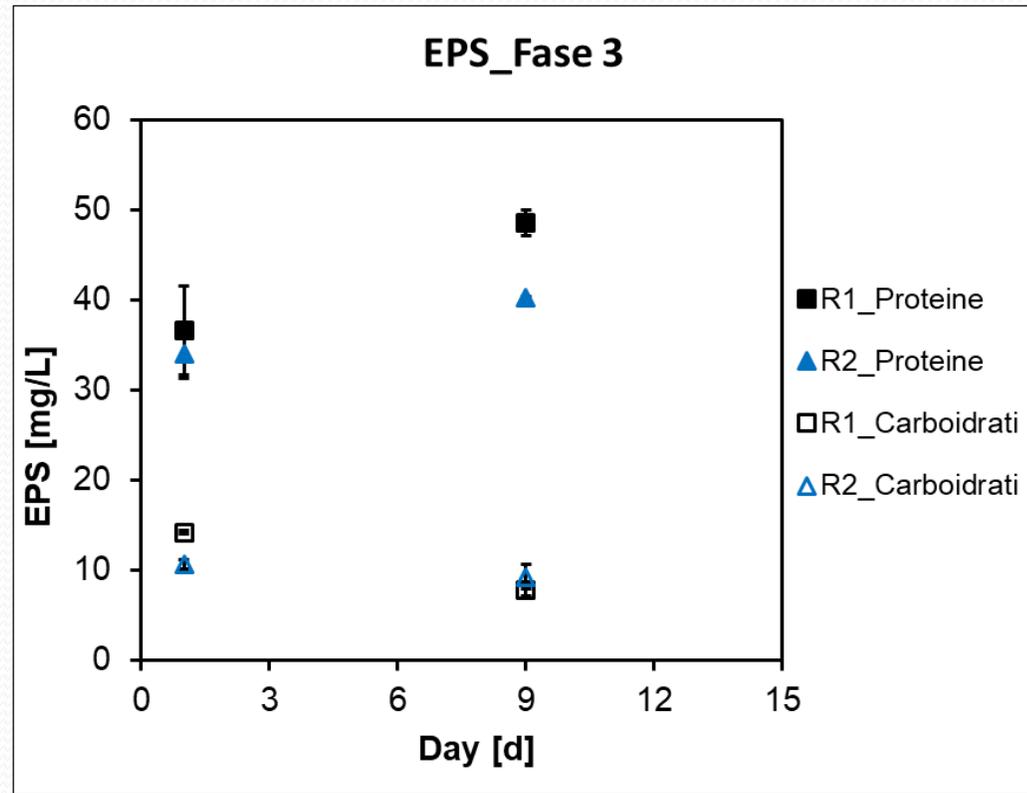
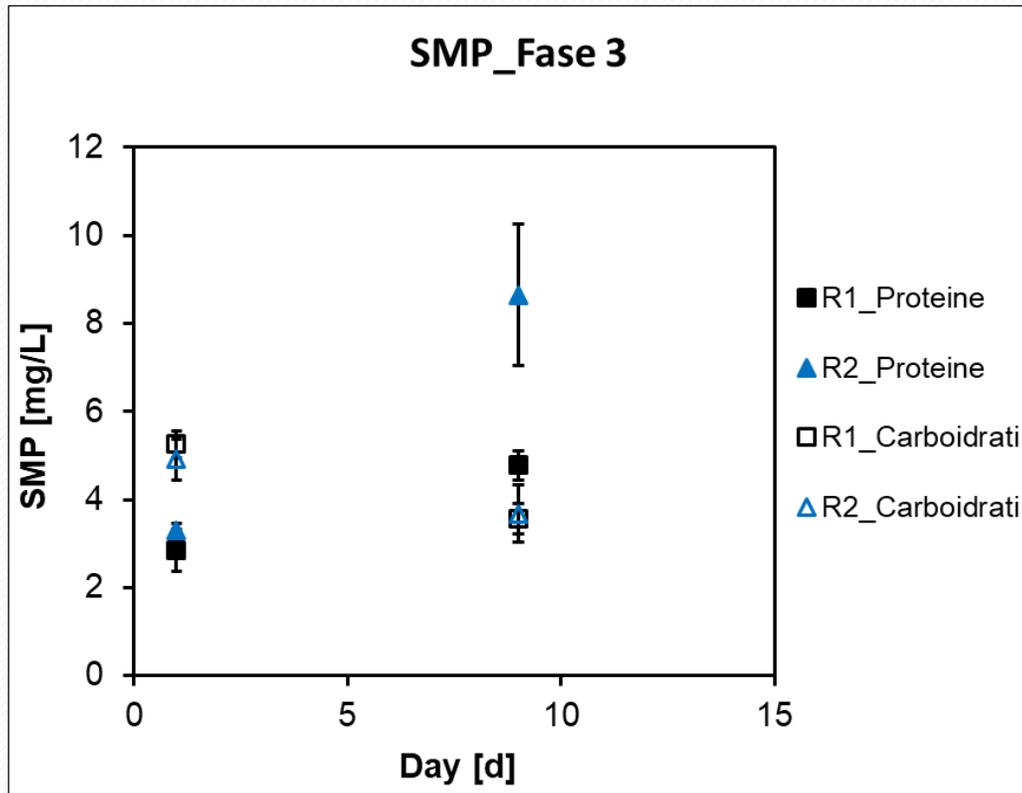
## Grandezza fiocchi\_Fase 2



## MLSS\_Fase 2



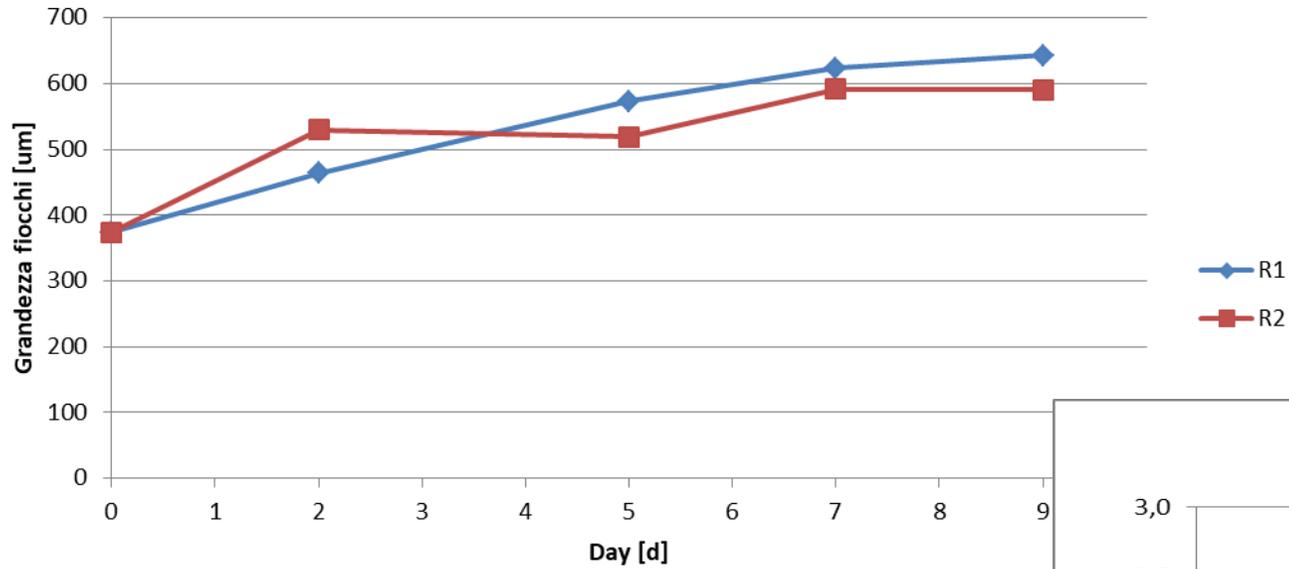
## Risultati Fase 3 parametri riferiti al fango (1)



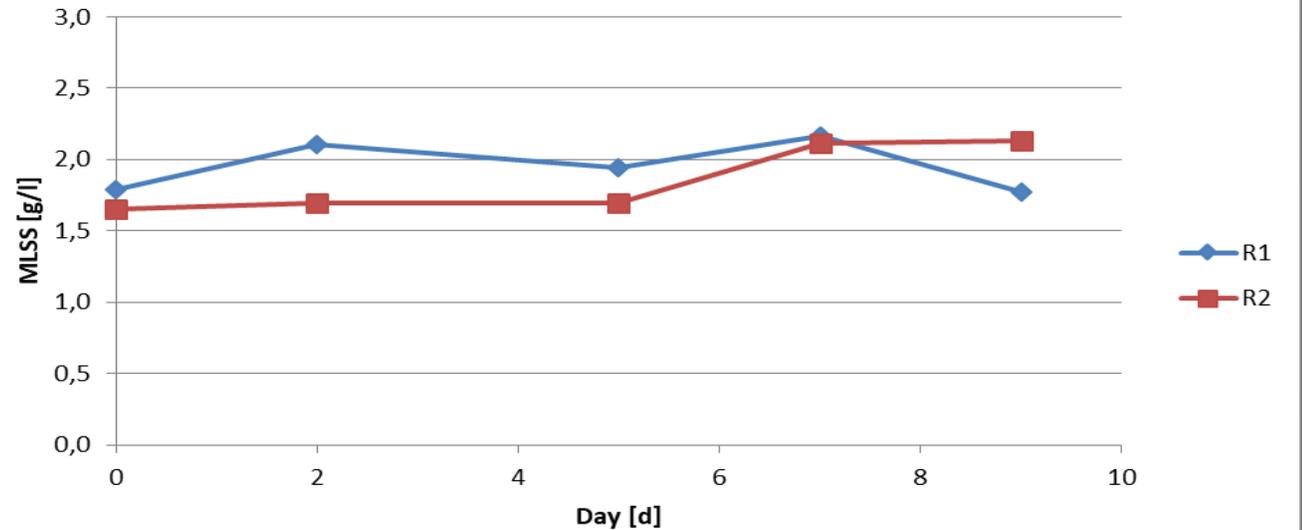
	SMP_Proteine [ppm]	SMP_Carboidrati [ppm]	EPS_Proteine [ppm]	EPS_Carboidrati [ppm]
R1	3,807	4,406	42,556	10,998
R2	5,966	4,291	37,069	9,952

## Risultati Fase 3 parametri riferiti al fango (2)

### Grandezza fiocchi\_Fase 3



### MLSS\_Fase 3



# Preparazione per fase 4

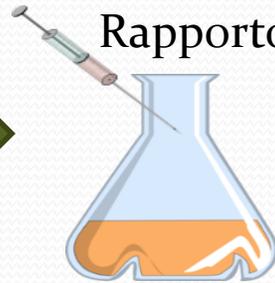
- Coltura batteri *Rhodococcus sp. BH<sub>4</sub>*
- Preparazione granuli QQ e granuli vuoti
- Saggi biologici sull'attività dei granuli

# Batteri BH4

Brodo LB + acqua  
distillata



Autoclavato a 121°C  
per 15 min e lasciato  
raffreddare



Inoculazione BH4  
Rapporto=1/100

Incubazione a 30°C per  
24 ore (150-200 rpm)

Brodo LB con  
BH4 inoculato



4 campioni di 30 ml  
ognuno centrifugati per  
20 min



BH4 pellet

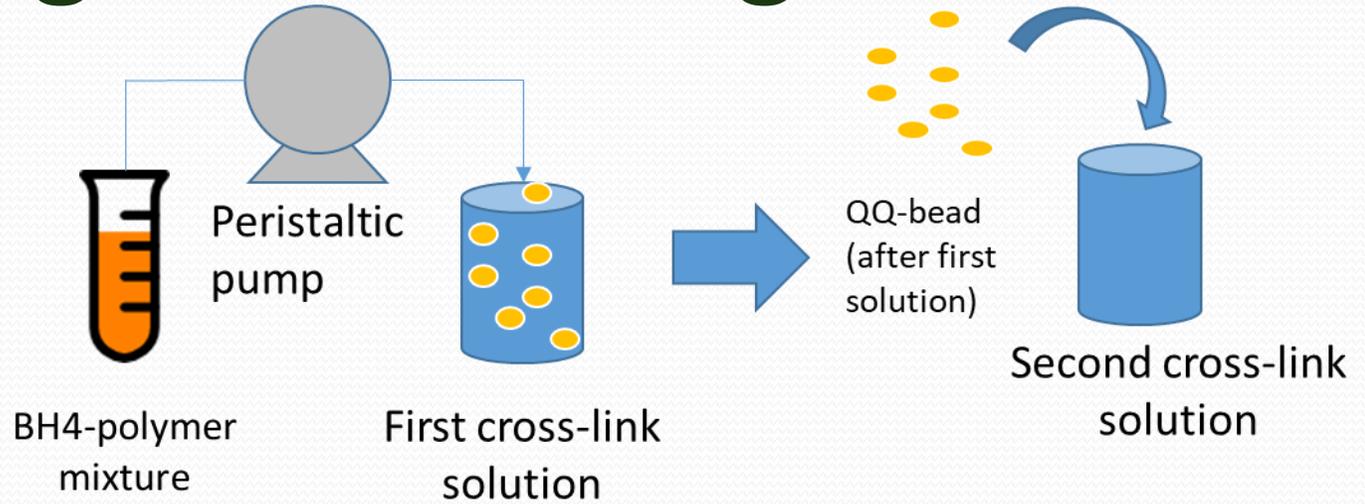


Risospensione BH4  
60 ml

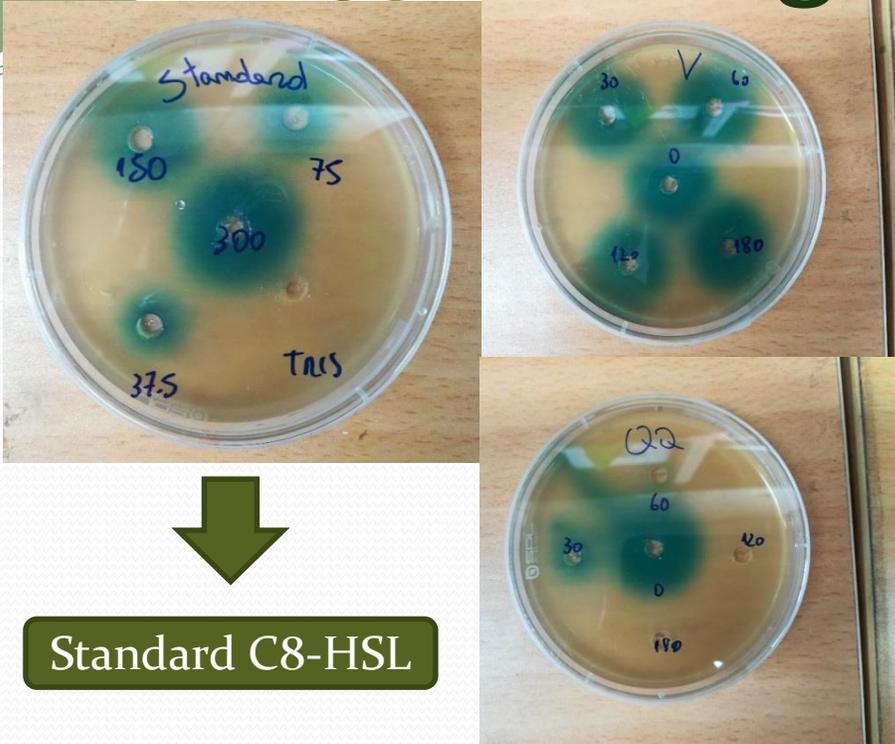


# Preparazione granuli QQ e granuli vuoti

Dripping method



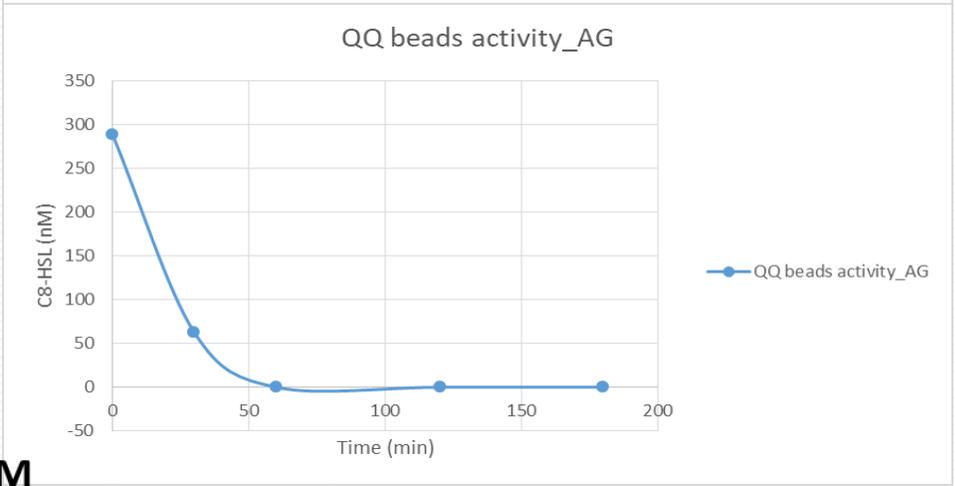
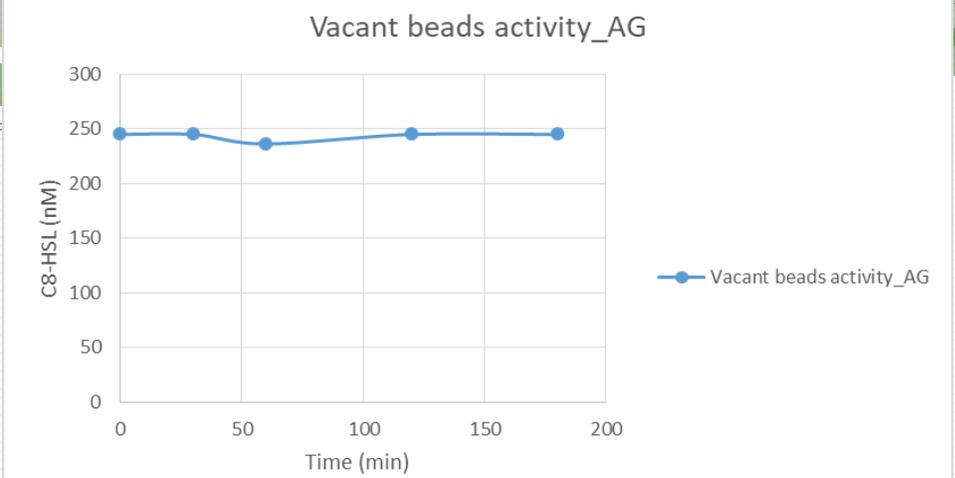
# Metodo agar



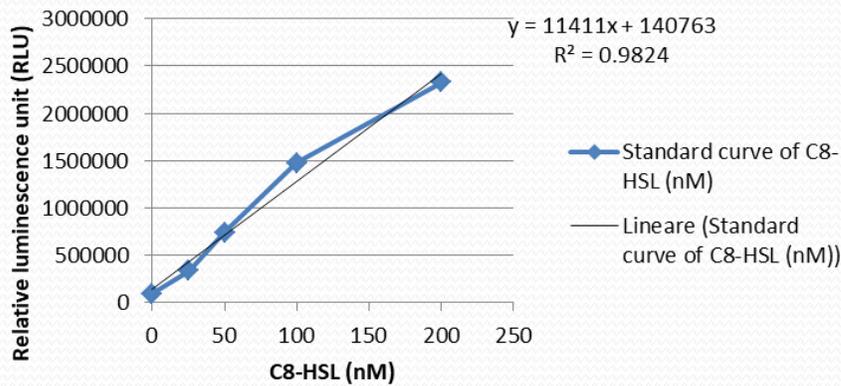
Campioni granuli vuoti

Campioni granuli QQ

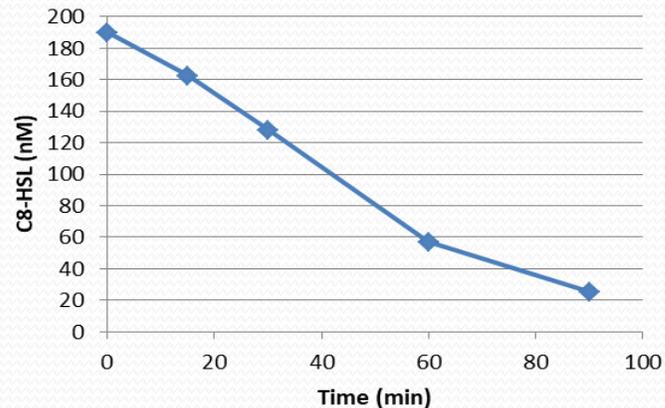
Standard C8-HSL



Standard curve of C8-HSL (nM)\_LUM

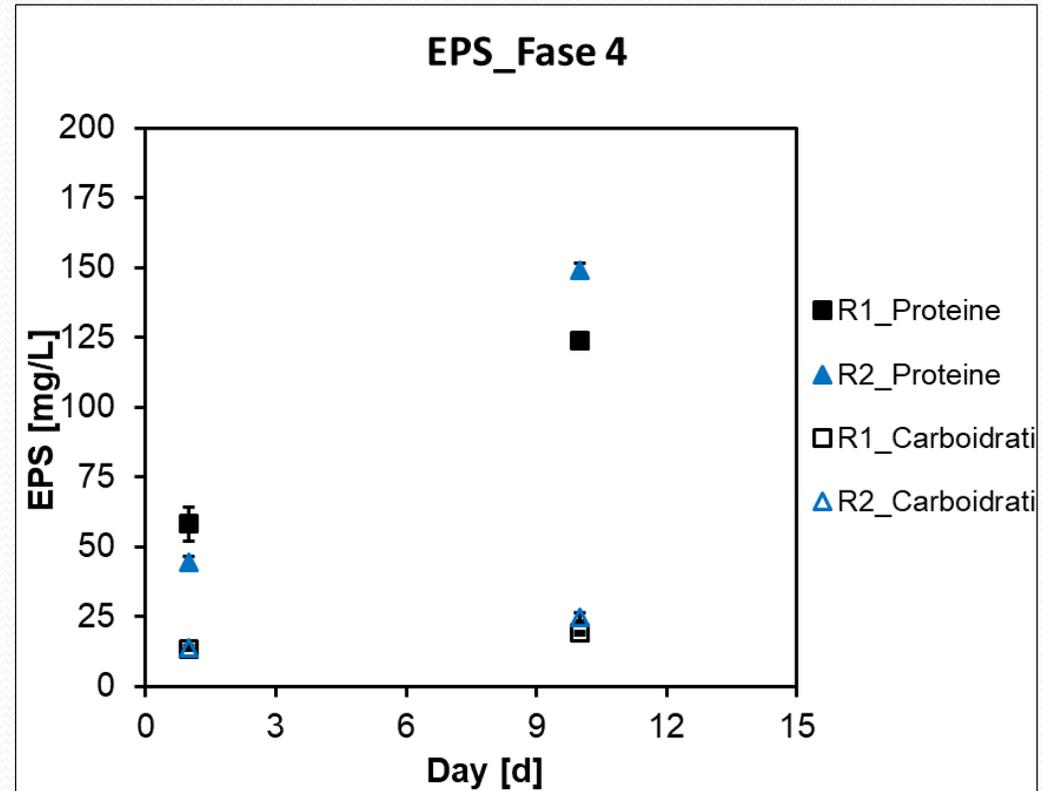
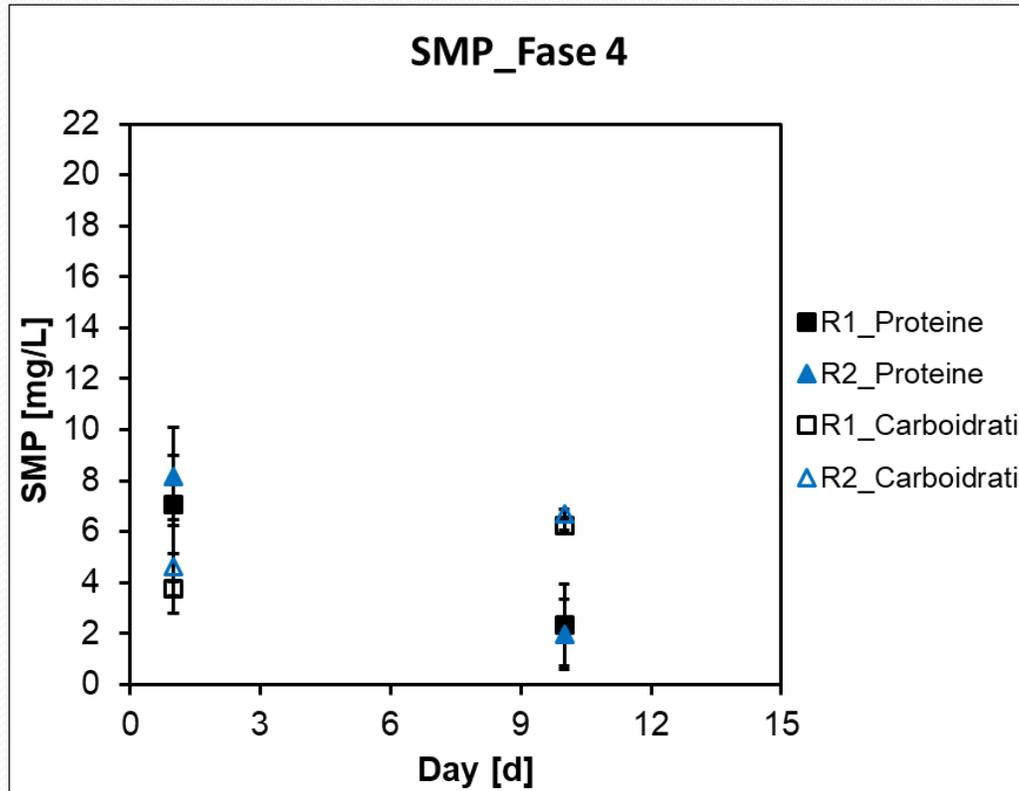


QQ beads activity\_LUM



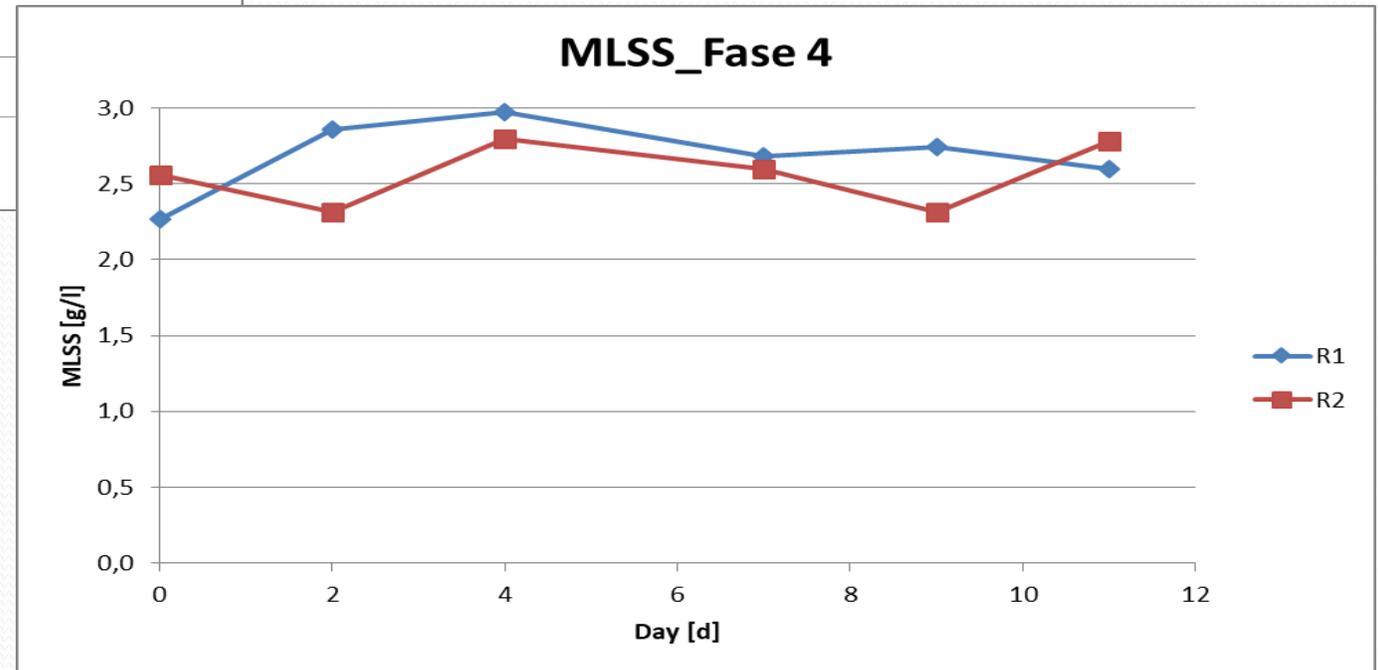
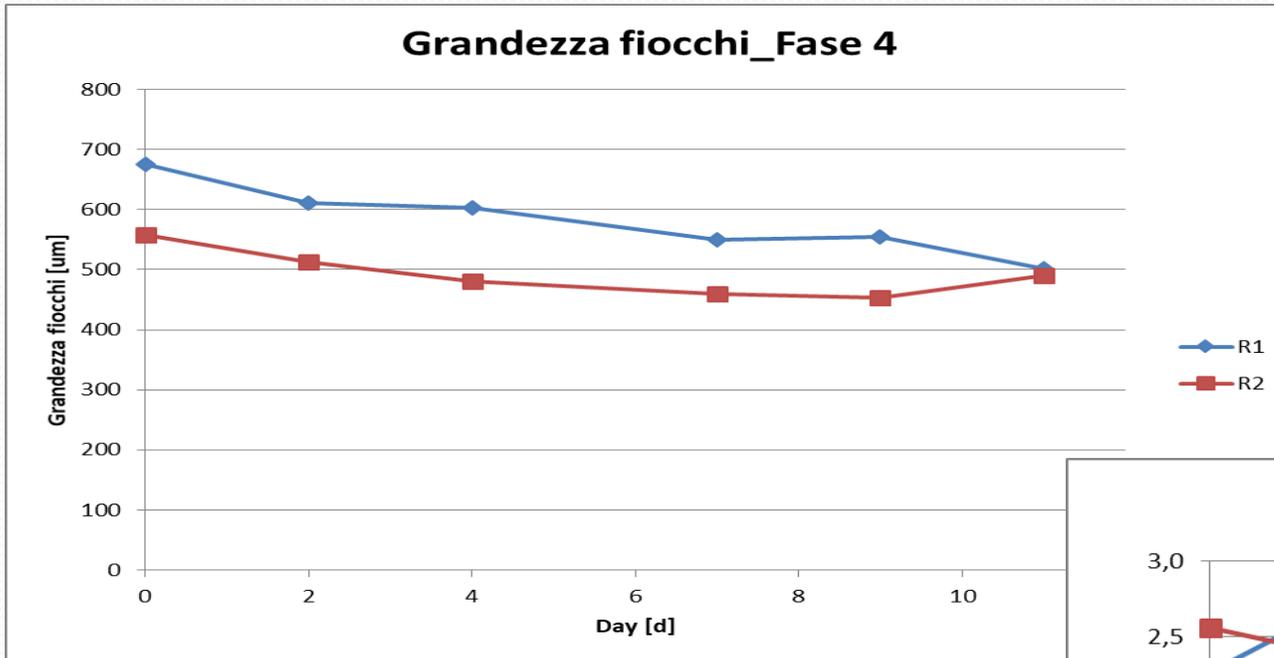
Metodo bioluminescenza

## Risultati Fase 4 parametri riferiti al fango (1)

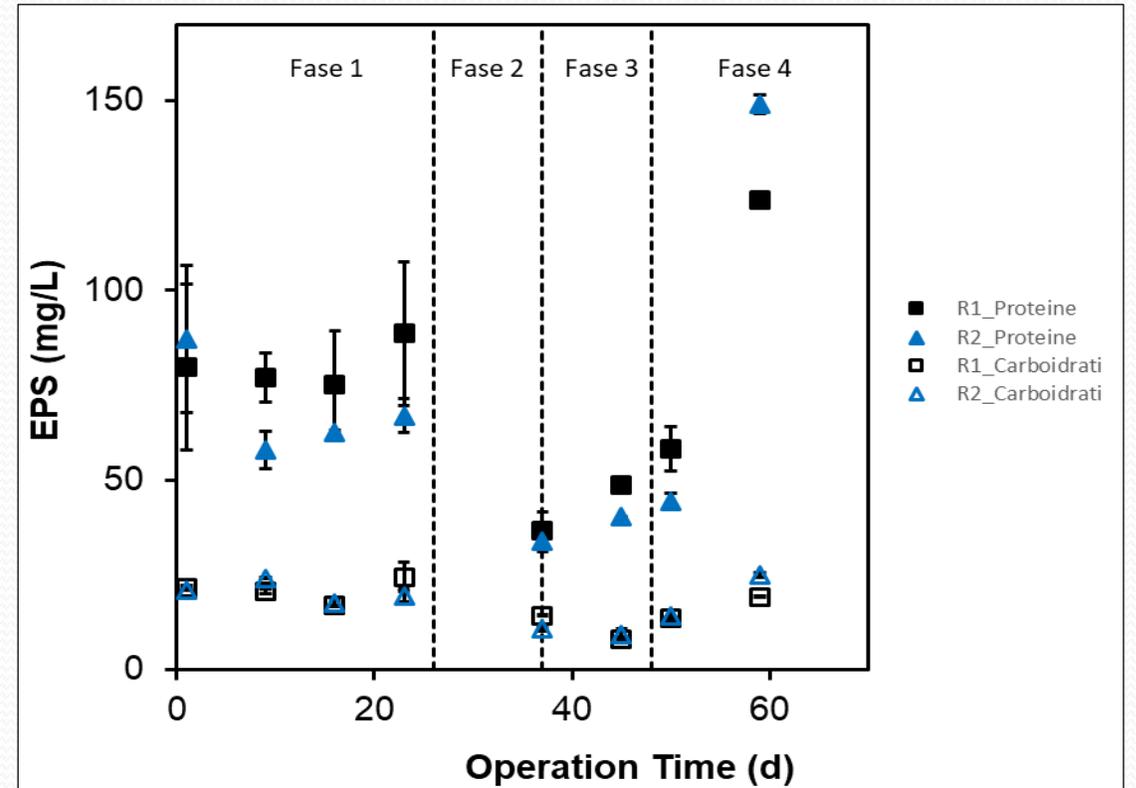
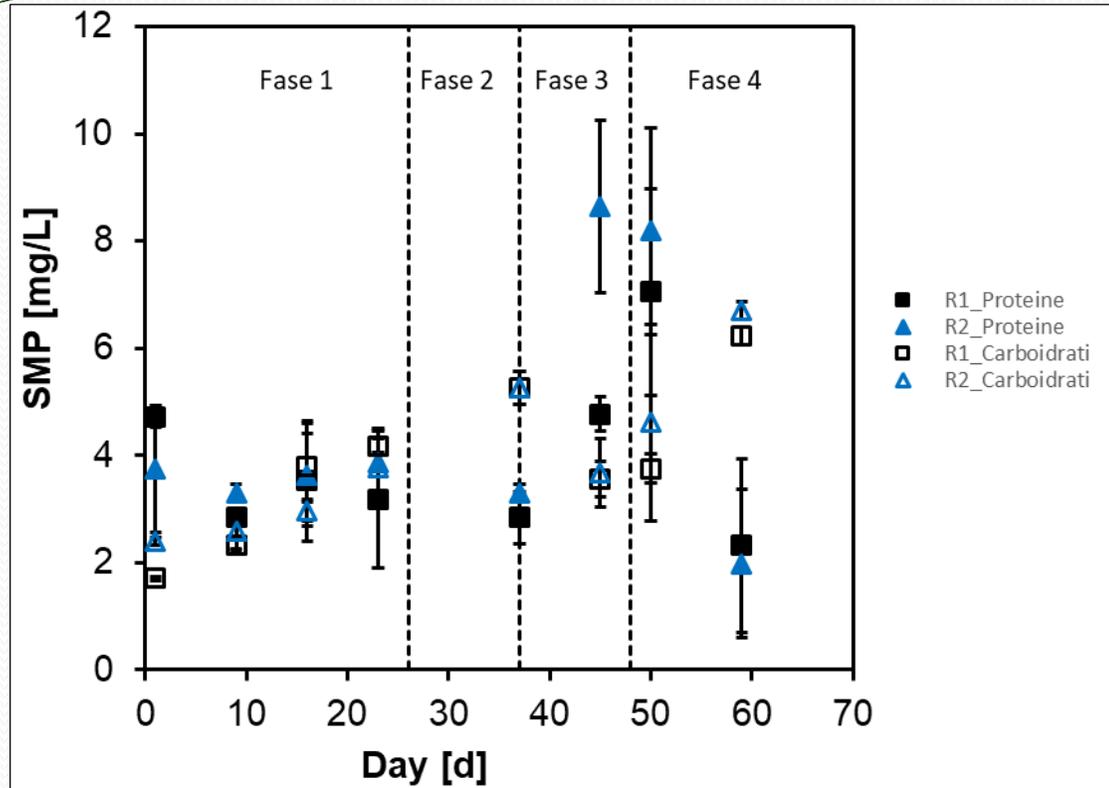


	SMP_Proteine [ppm]	SMP_Carboidrati [ppm]	EPS_Proteine [ppm]	EPS_Carboidrati [ppm]
R1	4,686	4,988	90,984	16,250
R2	5,080	5,661	96,659	19,447

## Risultati Fase 4 parametri riferiti al fango (2)



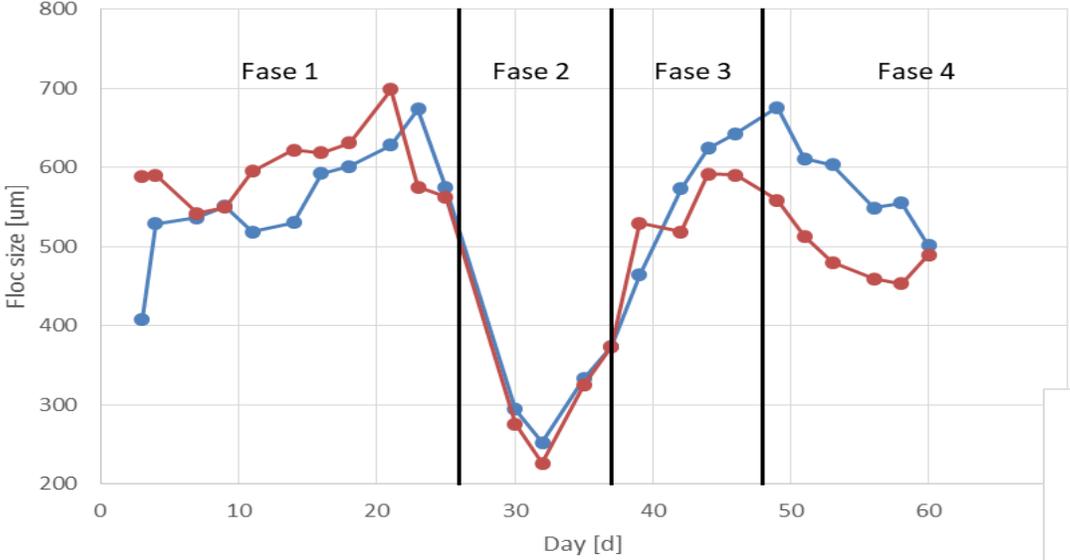
## Confronto Globale (2)



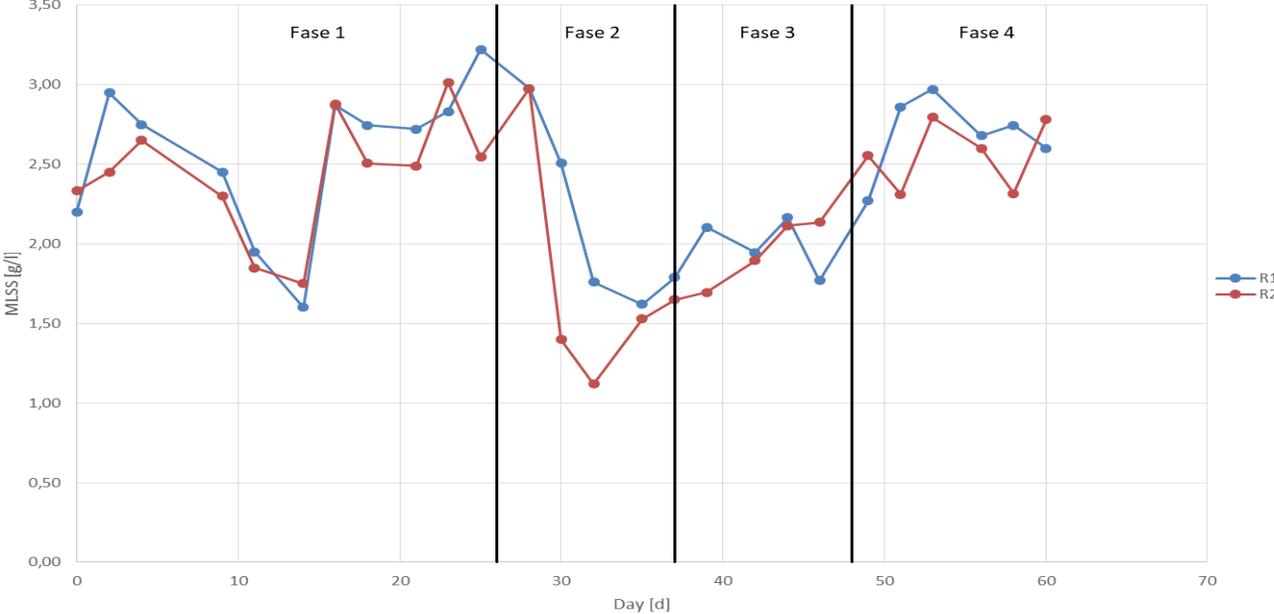
		SMP_Proteine [ppm]	SMP_Carboidrati [ppm]	EPS_Proteine [ppm]	EPS_Carboidrati [ppm]
FASE 1	R1	3,567	3,005	80,119	20,841
	R2	3,636	2,933	68,571	20,385
FASE 3	R1	3,807	4,406	42,556	10,998
	R2	5,966	4,291	37,069	9,952
FASE 4	R1	4,686	4,988	90,984	16,25
	R2	5,08	5,661	96,659	19,447

# Confronto Globale (3)

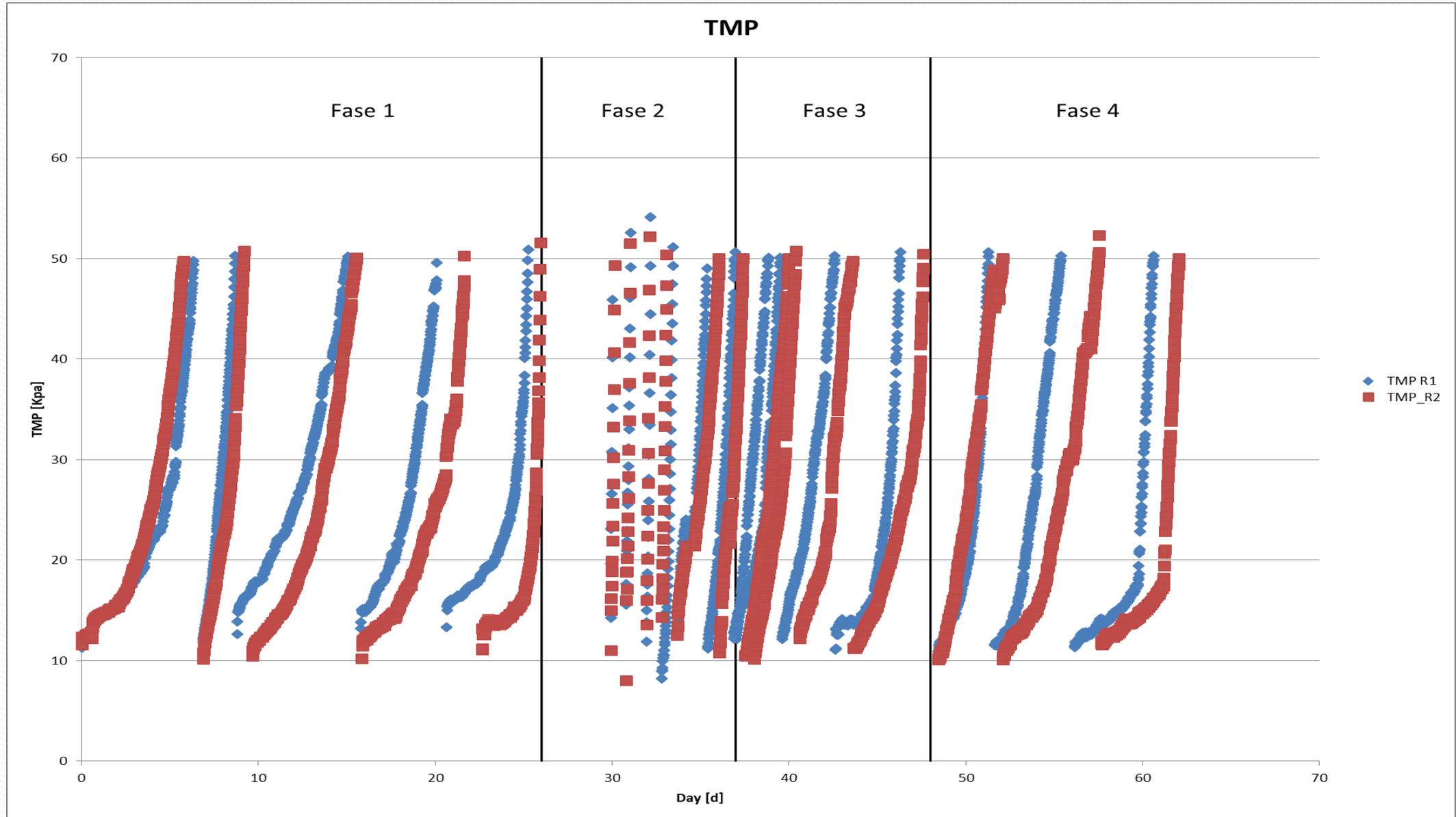
Grandezza fiocchi



MLSS

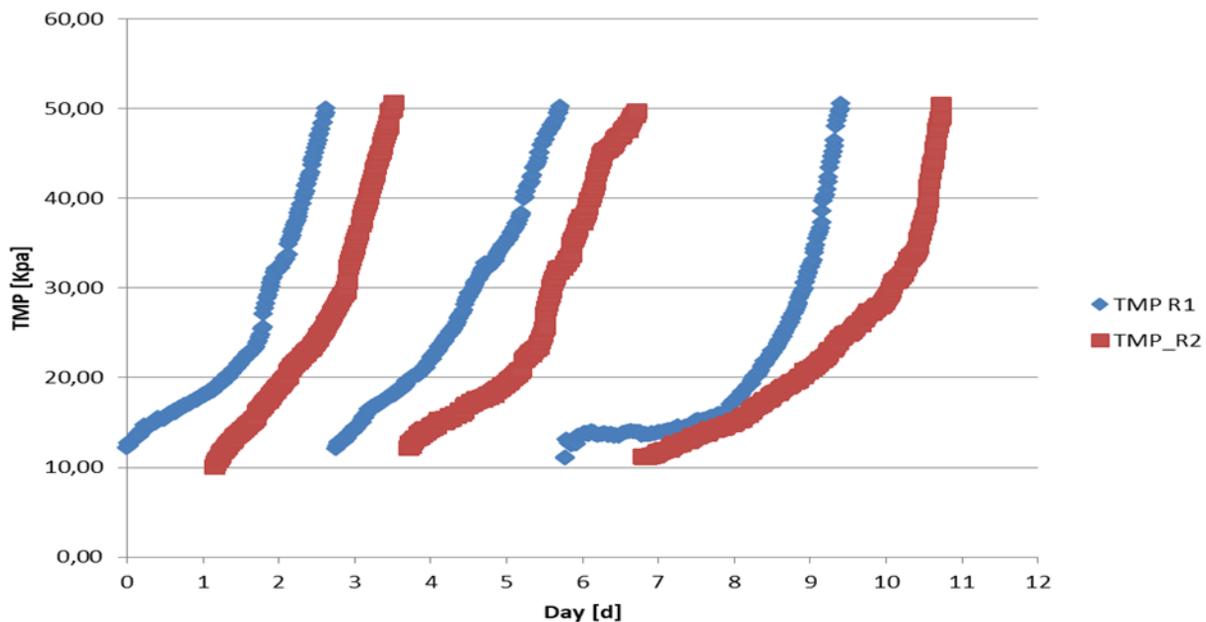


# TMP GLOBALE

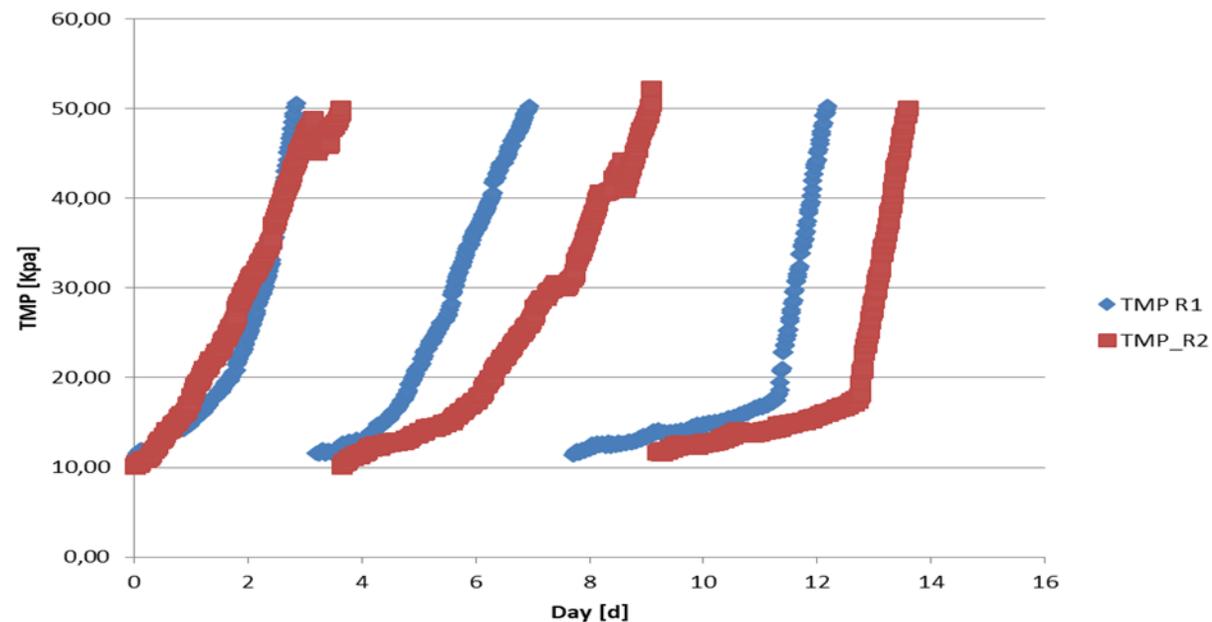


# Confronto TMP FASE 3-FASE 4

### TMP FASE 3



### TMP FASE 4



Media del tempo di durata  
della Membrana R1 [d]

3,0

Media del tempo di durata  
della Membrana R2 [d]

3,0

Aumento percentuale del tempo di  
durata della Membrana R1 fase 3-4

19,5

Aumento percentuale del tempo di  
durata della Membrana R2 fase 3-4

44,8

Media del tempo di durata  
della Membrana R1 [d]

3,7

Media del tempo di durata  
della Membrana R2 [d]

4,5

# Obiettivi raggiunti

- L'introduzione dei granuli QQ nel reattore 2 ha effettivamente incrementato la durata della membrana quasi del 50 % a cause della combinazione di un'azione di lavaggio fisico, dovuto al ricircolo dei granuli nel reattore, e dall'effetto, più preponderante, dell'inibizione delle molecole segnale da parte dei batteri QQ
- Il monitoraggio dei parametri analizzati evidenzia l'elevata efficienza della tecnologia MBR

# Conclusioni e Sviluppi Futuri

- Dal lavoro di tesi si evince come la tecnologia sia molto sensibile a variazioni anche minime di determinati parametri monitorati per il fango e tale dipendenza da un carattere di non prevedibilità all'applicazione;
- Il fouling rimane la problematica essenziale della tecnologia MBR per cui la ricerca è volta al sempre più maggior suo contenimento;
- Si può raggiungere una migliore circolazione dei granuli nei reattori andando a diffondere la stessa portata d'aria in maniera più omogenea sostituendo il diffusore centrale, usato in tutte le fasi del lavoro, con uno più flessibile che occupi tutto il fondo, in questo modo si eviterebbe pure la formazione di zone cieche in cui si possono accumulare i granuli; (FASE 5)
- Si può variare il flusso d'ingresso e la superficie delle membrane, mantenendo costante l'HRT, per valutare possibili miglioramenti; (FASE 5)
- Confrontare i risultati ottenuti con quelli di un sistema con SRT maggiore, pari a 75 o 100 d;
- Si può valutare l'introduzione dei granuli non in maniera libera nei reattori ma in supporti sferici opportunamente assemblati per ospitare al loro interno un dato numero di granuli in modo da evitare che essi occludano la membrana o si depositano in punti ciechi;
- Una attenta caratterizzazione dell'analisi della comunità microbiologica è in corso per comprendere appieno l'evoluzione di essa all'interno dei reattori lungo le varie fasi ed in corrispondenza degli eventi più significativi. In particolare per la fase 1 può essere molto significativo un confronto tra le specie microbiche adese sulla membrana e quelle presenti sospese nel reattore, per valutare possibili correlazioni con la tematica del fouling.

**GRAZIE PER L'ATTENZIONE!!!**

