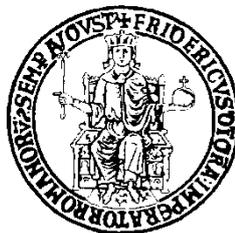


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II



FACOLTÀ DI INGEGNERIA

Dipartimento di Ingegneria Idraulica, Geotecnica ed Ambientale
Dipartimento di Matematica ed Applicazioni

**TESI DI LAUREA SPECIALISTICA IN INGEGNERIA PER L'AMBIENTE
E IL TERRITORIO**

**MODELLAZIONE MATEMATICA DELLO SVILUPPO DEL BIOFILM
NEI SISTEMI BIOLOGICI DI DEPURAZIONE DELLE ACQUE:
APPLICAZIONE AL CASO DELLA DEGRADAZIONE DEI SOLFATI**

Relatori

Ch.mo Prof. Berardino D'Acunto
Ch.mo Prof. Ing. Francesco Pirozzi

Correlatore

Ing. Luigi Frunzo

Candidata

Maria Rosaria Mattei
Matr. 324/237

Anno Accademico 2010 – 2011

ABSTRACT

Si definisce comunemente biofilm un aggregato di cellule microbiche associate ad una superficie ed incluse in una matrice polimerica extracellulare da esse prodotta. La formazione del biofilm è un processo complesso e dinamico costituito da vari step: adesione alla superficie; formazione di un monostrato di cellule e loro proliferazione (microcolonie); sviluppo di un biofilm maturo; distacco cellulare. La crescita e l'accumulo di biofilm all'interfaccia solido-liquido è un evento che una volta innescato procede in modo quasi logaritmico, fino al raggiungimento dell'equilibrio, seguendo una tipica curva di crescita di popolazione, la curva "k".

L'abilità dei batteri di aderire alle superfici per formare il biofilm rappresenta un importante vantaggio rispetto ai batteri che crescono in sospensione. Questi ultimi possono essere facilmente portati via dalla corrente, mentre i biofilm intrappolano i nutrienti necessari per la crescita della popolazione microbica e contribuiscono a prevenire il dilavamento delle cellule dalle superfici immerse in un fluido. La struttura fisica dei biofilm consente anche la presenza di distinte nicchie biologiche che facilitano la crescita e la sopravvivenza di microrganismi che altrimenti non potrebbero competere con successo in un sistema completamente omogeneo. Inoltre, l'attività microbica nei biofilm può modificare l'ambiente interno (e.g. pH, O₂, prodotti metabolici, concentrazione di disinfettanti), rendendo il biofilm più ospitale del bulk liquido.

Alcuni biofilm possono definirsi "buoni", in quanto adottati in servizi utili alla società umana o per il funzionamento degli ecosistemi naturali. Altri biofilm sono definiti "cattivi" poiché dannosi per la salute. Biofilm "buoni" sono sempre presenti nell'ambiente. Infatti, molti batteri si sviluppano nel sottosuolo sottoforma di biofilm, contribuendo alla rimozione dei contaminanti dal suolo e dalle acque profonde. I biofilm si sviluppano, inoltre, in maniera naturale sulle radici delle piante; essi sono indispensabili per il ciclo dei nutrienti nella biosfera. Essi sono stati ampiamente utilizzati nel campo del trattamento delle acque già a partire dal 19° secolo. Per quanto riguarda i biofilm "cattivi", causano la maggior parte dei problemi a livello dentale ed infezioni, oltre ad arrecare danni alle reti di distribuzione idrica. In effetti, lo sviluppo di biofilm nelle tubazioni delle reti idriche comporta un deterioramento delle qualità organolettiche delle acque. In generale, essi giocano un ruolo predominante in molti sistemi naturali ed ingegneristici. L'individuazione dei meccanismi che portano alla formazione dei biofilm, alla crescita e alla rimozione è la chiave per favorire la formazione dei biofilm buoni e per la riduzione dei biofilm cattivi.

La composizione microbica della pellicola biologica è determinata in particolar modo da tre processi che si verificano all'interno del biofilm: conversione microbica dei substrati; espansione volumetrica della biomassa, e trasporto dei substrati a mezzo di diffusione molecolare. La performance del biofilm, intesa come il flusso di substrato che si innesca tra il bulk liquido e la pellicola biologica, dipende fortemente dalla distribuzione spaziale dei microrganismi. Da qui nasce la necessità di elaborare un modello matematico in grado di valutare le interazioni e la composizione microbica, l'evoluzione temporale dello spessore del biofilm e le dinamiche dei substrati. La modellazione matematica dei biofilm è cruciale per ottenere una più precisa conoscenza di questo complesso sistema, essendo utilizzata non solo per verificare dati sperimentali, ma anche per effettuare delle predizioni di tipo qualitativo e quantitativo che potrebbero essere utilizzate come linee guida nella valutazione di nuove configurazioni impiantistiche.

Nel presente lavoro di tesi è stato sviluppato un modello matematico per *multispecies* e *multisubstrates biofilm*, indipendentemente da una specifica applicazione su campo o su scala di laboratorio. Esso consente di investigare i processi fondamentali che caratterizzano l'interazione microbica nei sistemi a biomassa adesa.

Il modello proposto presenta un'elevata flessibilità in quanto consente di trattare qualsiasi cinetica microbica, configurazione del reattore, meccanismi di distacco della biomassa. Esso può essere utilizzato per avere risposte a breve termine riguardo le performance del biofilm che si verificano a seguito di variazioni dei substrati all'interno del bulk liquido così come informazioni a lungo termine riguardo lo spessore del biofilm e la distribuzione spaziale della biomassa. Il modello matematico proposto è basato fondamentalmente sulla seconda legge di Fick per quanto riguarda i substrati e su una nuova equazione di bilancio di massa per quanto riguarda le specie microbiche adese al *substratum*. Entrambe le equazioni rivestono particolare rilevanza nell'ambito della modellazione dei *multispecies biofilm*, in quanto descrivono fondamentalmente i due processi che sono alla base dello sviluppo di una pellicola biologica: la diffusione dei substrati e la crescita della biomassa intesa come un flusso convettivo.

La crescita del biofilm è governata da complessi sistemi di equazioni differenziali a derivate parziali non lineari che sono state largamente integrate numericamente nei modelli finora sviluppati. Il modello preso in esame contiene due gruppi di equazioni parziali differenziali non lineari. Il primo sistema di n equazioni differenziali a derivate parziali iperboliche non lineari descrive la crescita delle specie microbiche nel biofilm. L'evoluzione della frontiera libera è essenzialmente dominata da questo sistema. Il secondo gruppo di m equazioni differenziali a derivate parziali paraboliche governa la diffusione dei substrati.

I due processi biologici sono reciprocamente influenzati e così anche i due sistemi. I numeri n ed m sono arbitrari e possono assumere differenti valori; essi rappresentano rispettivamente il numero delle specie microbiche ed il numero di substrati. Il sistema matematico è del tutto generico ed è basato essenzialmente su due assunzioni a priori: le proprietà del film cambiano solo nella direzione perpendicolare all'interfaccia di supporto (di solito denominata con z); la biomassa viene trattata come un continuo.

Le equazioni del modello sono state integrate numericamente grazie all'utilizzo del software di calcolo Matlab®, attraverso cui è stato implementato un codice di calcolo in grado di ottenere come output la distribuzione spaziale della biomassa e i profili di concentrazione dei substrati all'interno del biofilm.

Le procedure numeriche sono state testate e implementate nel caso di un *sulfate reducing biofilm* e sono stati presentati i risultati delle simulazioni effettuate al variare dei parametri che governano il processo.

Nello specifico sono state investigate le performance del biofilm in termini di dinamiche dei substrati e distribuzione della biomassa al variare del rapporto di alimentazione COD/SO_4^{2-} e del tempo di simulazione, come si evince dalle seguenti figure.

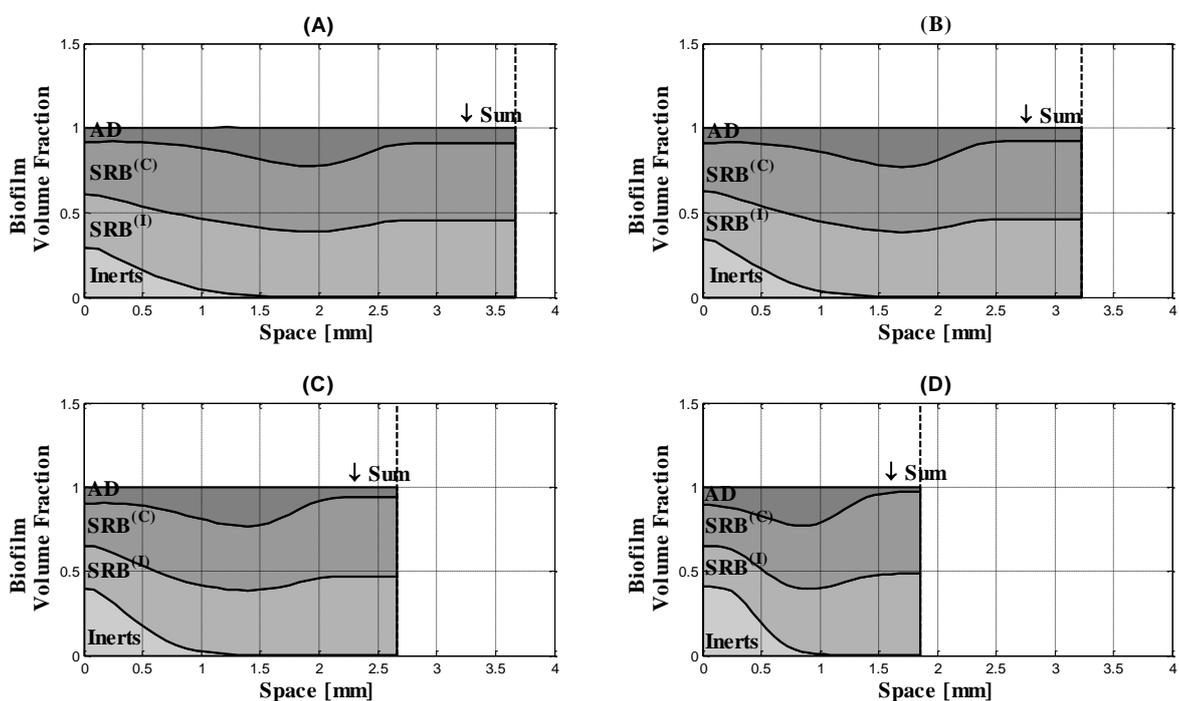


Figura I.1 Effetti del rapporto di alimentazione sulla frazione volumetrica delle specie batteriche nel biofilm. AD: acetate degraders, SRB^(C): complete SRB, SRB^(I): incomplete SRB, e inerti.

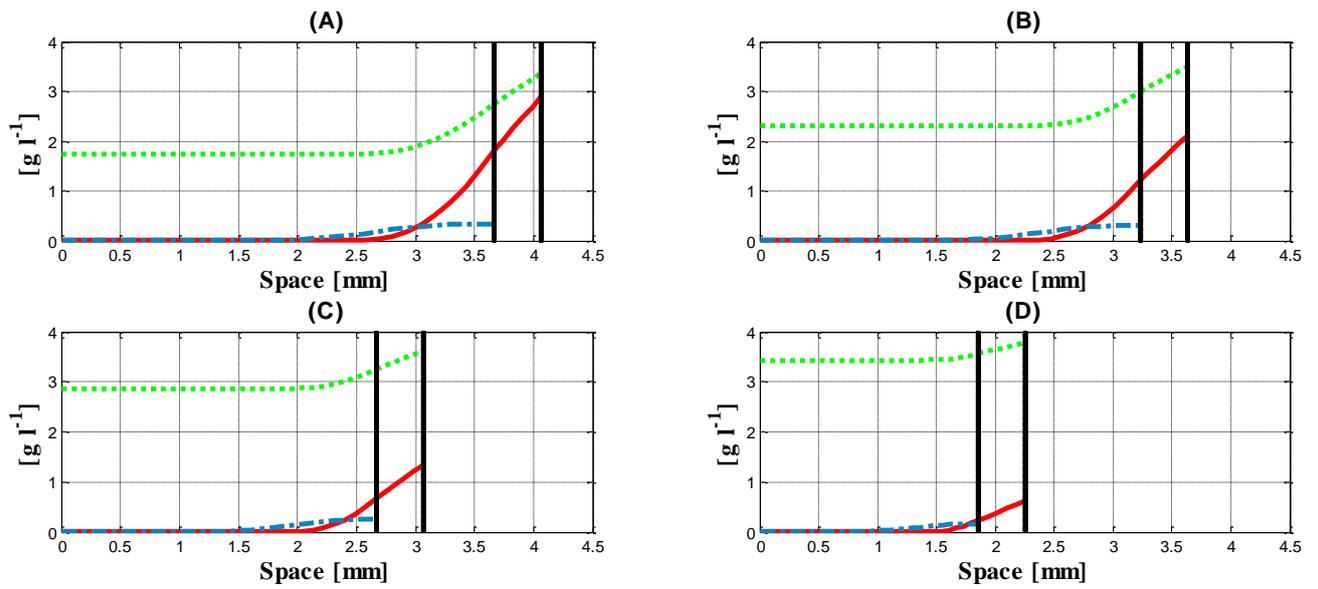


Figura I.2 Effetto del rapporto di alimentazione sui trend dei substrati nel biofilm. Verde: solfati; rosso: lattato; blu: acetato.

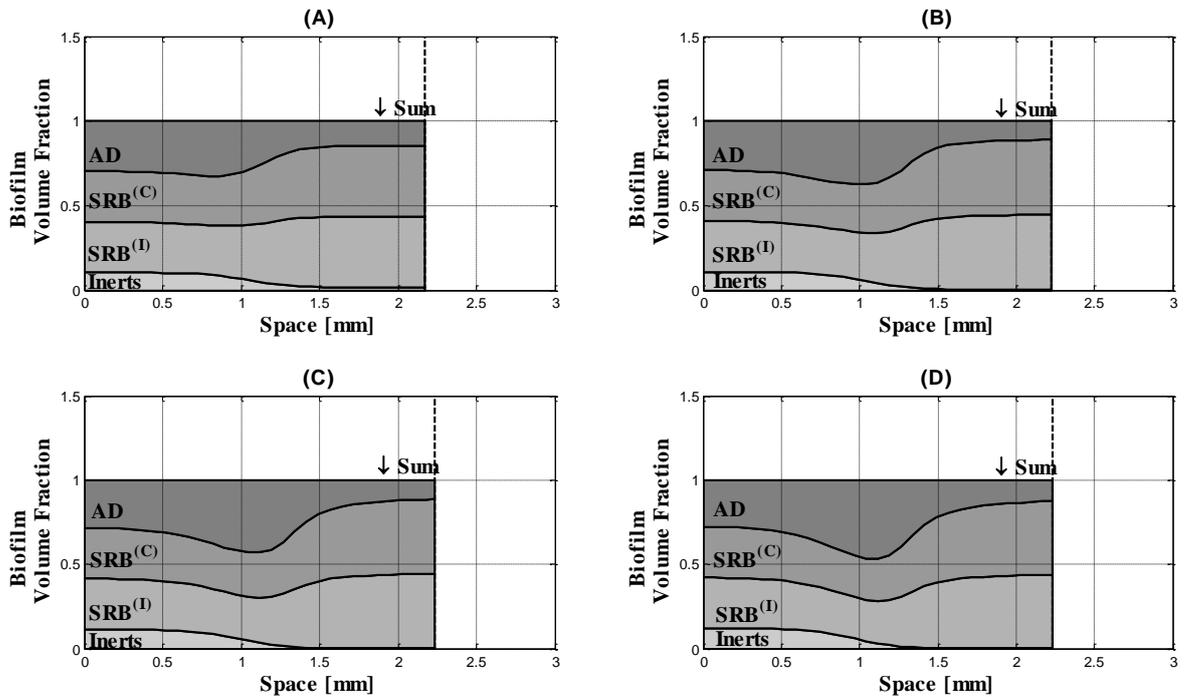


Figura I.3 Effetto del tempo di simulazione sulla frazione volumetrica delle specie batteriche nel biofilm. AD: acetate degraders, SRB^(C): complete SRB, SRB^(I): incomplete SRB, e inerti.

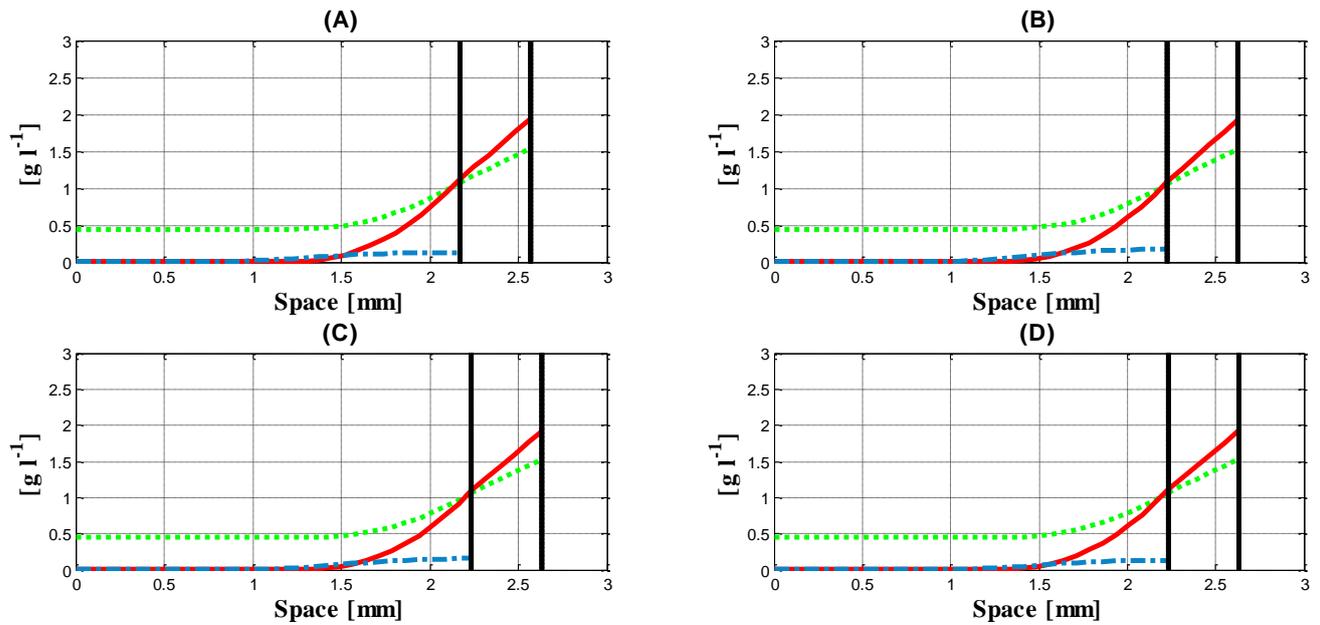


Figura I.4 Effetto del tempo di simulazione sui trend dei substrati nel biofilm. Verde:solfati; rosso: lattato; blu: acetato.

Dall'analisi dei risultati si evince che il trasporto diffusivo dei substrati può avere un significativo effetto quantitativo sul comportamento del biofilm, sia per quanto riguarda le velocità di rimozione dei substrati sia i profili spaziali della biomassa. Lo spessore del biofilm è fortemente influenzato dai fenomeni di attacco e distacco di cellule e materiale particellare alla superficie della pellicola. Attraverso il modello proposto è possibile descrivere e simulare eterogenee condizioni iniziali e l'evoluzione temporale della pellicola biologica. Tale modello, così come tutti quelli presenti in letteratura, considera uno spessore iniziale del biofilm non nullo, in quanto la modellazione non tiene conto della formazione dei primi *cluster* di cellule adese. In realtà tale processo potrebbe durare anche giorni o mesi, in quanto dipende da numerosi fattori quali caratteristiche fisiche e chimiche del *substratum*, concentrazione dei nutrienti, condizioni idrodinamiche e concentrazione delle cellule planktoniche nel bulk liquido. La derivazione di un modello per un *initial cell layer in multispecies biofilm* è particolarmente utile in quanto tale processo riveste particolare importanza nel campo del trattamento delle acque reflue, in particolar modo nella fase di start-up di reattori a biomassa fissa.

L'estensione del modello sviluppato nel caso monodimensionale a più dimensioni spaziali, potrebbe consentire la descrizione dell'eterogeneità di un biofilm *multispecies*. Un modello siffatto può generare strutture ecologiche e fisiche complesse, in quanto è in grado di analizzare l'attività dei biofilm e le interazioni su microscala. La principale differenza rispetto al modello monodimensionale riguarda la matrice solida del biofilm e le dinamiche della sua

composizione: essa può svilupparsi in più direzioni, consentendo la simulazione di biofilm eterogenei spazialmente.

In conclusione, è possibile constatare che attualmente la fisiologia e l'ecologia dei microrganismi che crescono in un biofilm è un campo di studio in forte crescita. Lo sviluppo di tecnologie avanzate nell'analisi molecolare e il rapido superamento dei limiti relativi al loro uso, consente un miglioramento nella conoscenza di tali microrganismi *in vivo* e del loro ruolo centrale nei processi biologici e geologici. I sistemi microbici sono particolarmente complessi per cui la modellazione potrebbe costituire un elemento essenziale per la loro completa conoscenza. Il modello proposto nel presente lavoro di tesi rappresenta uno strumento utile per analizzare i meccanismi fondamentali che si verificano all'interno del biofilm. Lo sviluppo della pellicola biologica determina la formazione di un problema a frontiera mobile e l'insorgere di numerosi problemi modellistici connessi alla variabilità temporale e spaziale di processi di natura chimica, fisica e biologica coinvolti. La modellazione può essere utilizzata per valutare nuove configurazioni di processo nell'ambito del trattamento delle acque a mezzo di sistemi a colture adese, senza il costo, tempo e rischio di un prototipo fisico del processo. Inoltre il modello può essere utilizzato per individuare le migliori condizioni operative al fine di conseguire una corretta gestione degli impianti.