

I GEORGOFILI

Quaderni
2014-II



BIOTECNOLOGIE MICROBICHE DEL FUTURO: IDROGENO E METANO DA RESIDUI DELL'INDUSTRIA ALIMENTARE

Firenze, 6 marzo 2014



EDIZIONI POLISTAMPA

Con il contributo di



ENTE CASSA DI RISPARMIO DI FIRENZE

Copyright © 2014
Accademia dei Georgofili
Firenze
<http://www.georgofili.it>

Proprietà letteraria riservata

Supplemento a «I Georgofili. Atti della Accademia dei Georgofili»
Anno 2014 - Serie VIII - Vol. 11 (190° dall'inizio)

Direttore responsabile: Paolo Nanni

Edizioni Polistampa
Via Livorno, 8/32 - 50142 Firenze
Tel. 055 737871 (15 linee)
info@polistampa.com - www.polistampa.com
Sede legale: Via Santa Maria, 27/r - 50125 Firenze

ISBN 978-88-596-1407-4

Servizi redazionali, grafica e impaginazione
SOCIETÀ EDITRICE FIORENTINA

INDICE

ROBERTO DE PHILIPPIS <i>Idrogeno e metano di origine biologica: microrganismi e processi biotecnologici per il recupero di energia dai residui vegetali</i>	7
GIANCARLO RANALLI, GIUSEPPE LUSTRATO, GABRIELE ALFANO, ANDREA CARLUCCI, DONATELLA SANTINELLI <i>Produzione di idrogeno e metano in impianto a due fasi operante su residui dell'agro-industria</i>	23
ALESSANDRA ADESSI, FEDERICO ROSSI <i>Produzione di idrogeno con batteri fotosintetici da effluente di impianto di biometanazione di residui dell'agroindustria</i>	55
STEFANO FEDI, MARTINA CAPPELLETTI <i>Produzione combinata di idrogeno e metano da scarti agro-zootecnici tramite processi biologici</i>	69

Idrogeno e metano di origine biologica: microrganismi e processi biotecnologici per il recupero di energia dai residui vegetali

INTRODUZIONE

Nel corso del 2011, la produzione e il consumo di energia primaria ha raggiunto nel nostro Pianeta una cifra pari a circa 13 GTep (miliardi di tonnellate di petrolio equivalente) (fig. 1). Più dell'80% di questa energia è stata ottenuta dalla combustione di fonti fossili di energia (carbone, petrolio e gas naturale; IEA, 2013). È stato stimato che entro il 2035 i consumi di energia cresceranno di circa il 30%, superando quindi le 17 GTep, mantenendo al contempo una netta dipendenza dalle fonti fossili che continueranno a rappresentare circa l'80% di quelle utilizzate per produrre energia. Il dibattito su quanti anni occorreranno prima di raggiungere l'esaurimento delle riserve di fonti fossili di energia è ampio e articolato, ma è indubbio che esse, per il fatto stesso di essere non rinnovabili, andranno incontro a esaurimento nel corso dei prossimi decenni.

Le proiezioni dei consumi di energia primaria derivata da fonti fossili per il prossimo decennio indicano un incremento dei consumi che avrà come conseguenza un aumento quasi proporzionale delle emissioni annue di anidride carbonica, che passerebbero dai circa 20 miliardi di tonnellate del 1990 ai circa 32 miliardi di tonnellate del 2020 (fig. 2; IEA, 2006). Le conseguenze di queste scelte di politica energetica sarebbero quindi da un lato la riduzione delle riserve di fonti energetiche non rinnovabili e dall'altro l'emissione in atmosfera di grandi quantità di gas a effetto serra, quali l'anidride carbonica, con il conseguente aumento della temperatura del pianeta.

* *Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agroalimentari e dell'Ambiente (DISPAA), Università di Firenze; Istituto di Chimica dei Composti Organometallici (ICCOM), CNR, Sesto Fiorentino (FI)*

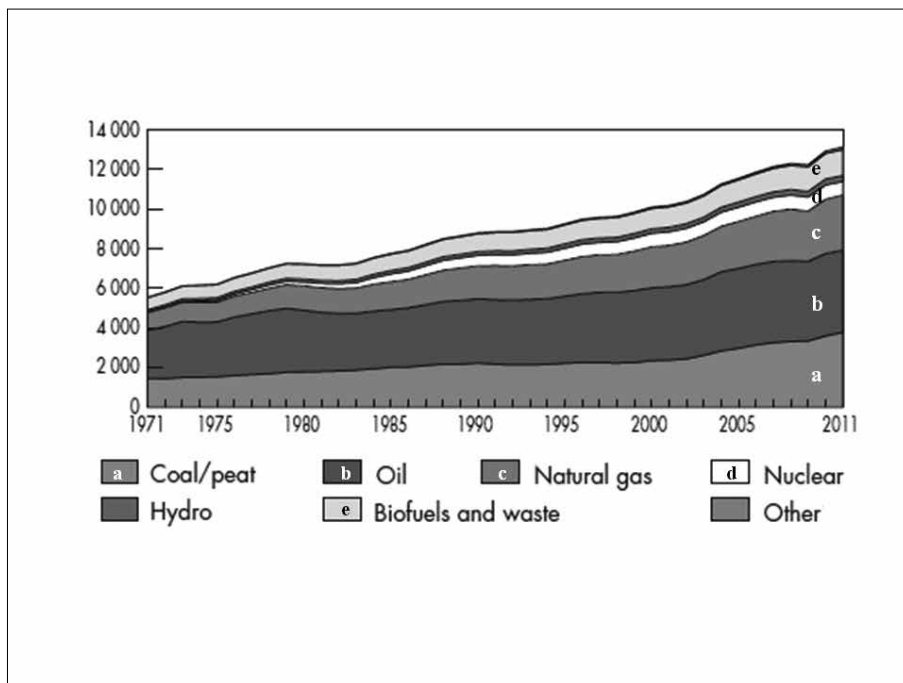


Fig. 1 *Consumi energetici (espressi in Mtoe = milioni di tonnellate di petrolio equivalente) e fonti di energia utilizzate nel corso del periodo 1971 - 2011. (a) Carboneltorba; (b) petrolio; (c) gas naturale; (d) nucleare; (e) biocarburanti e rifiuti (da IEA 2013)*

A queste problematiche di natura ambientale occorre aggiungere quelle di natura politica legate alla necessità, sempre più vincolante per la stabilità politico-economica delle singole Nazioni, di avere accesso a fonti energetiche sicure, la cui disponibilità a prezzi sostenibili dai diversi sistemi economici non sia legata né a fattori fisici (esaurimento delle fonti stesse, interruzioni nella produzione ecc.) né a fattori economici (variabilità dei prezzi, pressioni speculative ecc.) (Demirbas, 2009; Dunn, 2002; Yergin, 1991).

Una delle principali sfide per l'umanità nel prossimo futuro è legata alla risoluzione dei problemi della disponibilità di risorse di energia pulita e rinnovabile e la riduzione delle emissioni di gas serra nell'atmosfera. In conseguenza, è necessario individuare nuove fonti di energia non inquinanti e rinnovabili che siano al tempo stesso economicamente sostenibili.

Alla luce di queste considerazioni, lo sfruttamento di risorse energetiche rinnovabili, quali sono quelle derivabili dal sistema agroindustriale, può assumere una notevole importanza, sia dal punto di vista economico che dal punto di vista ambientale. Infatti, i vari processi che consentono di ottenere energia dalle

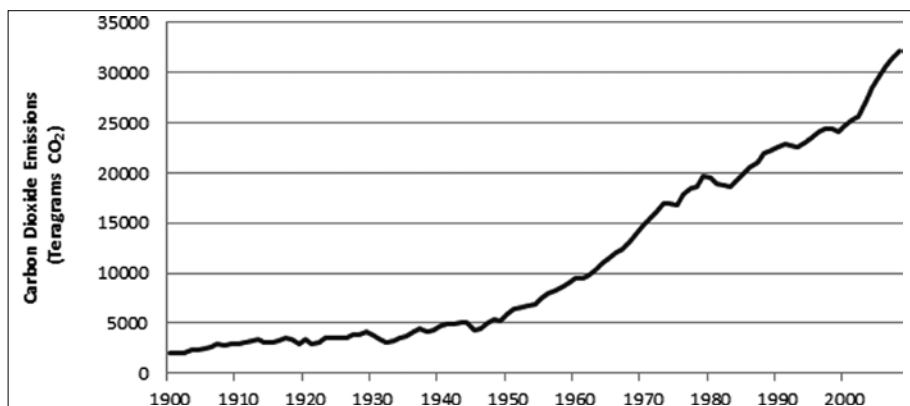


Fig. 2 Emissioni di CO₂ in atmosfera (espressi come Teragrammi di CO₂) nel corso del periodo 1900 - 2020 (da IEA 2006)

biomasse vegetali e dai residui del sistema agroindustriale permettono lo sfruttamento di fonti energetiche ampiamente disponibili e rinnovabili in processi che si possono considerare a bilancio zero per quanto riguarda la fissazione e l'emissione di anidride carbonica. In questa direzione si sono quindi orientate molte delle ricerche attualmente in corso sia a livello nazionale che internazionale, indirizzate a individuare e a sperimentare processi che portino al recupero efficiente dell'energia contenuta nei diversi tipi di residui vegetali derivanti dalle attività agroindustriali e forestali. Va inoltre sottolineato come l'utilizzo dei residui vegetali per produrre energia possa al tempo stesso ridurre il costo da sostenere per un loro smaltimento ambientalmente sostenibile.

Alcuni dei processi più efficienti per ottenere energia dai residui vegetali vedono la partecipazione di specifici gruppi di microrganismi, i quali, metabolizzando i substrati vegetali per produrre energia, potere riducente e i precursori metabolici loro necessari per sintetizzare nuovi costituenti cellulari, liberano come prodotti di scarto etanolo, metano o idrogeno, composti che possono essere utilizzati dall'uomo come combustibili alternativi a quelli di origine fossile. Occorre però sottolineare come al momento i processi di produzione di energia tramite l'impiego di microrganismi si trovino a un diverso grado di maturazione tecnologica: infatti, accanto a processi ormai maturi quali quelli che portano alla produzione di etanolo e di biogas (composto da metano e anidride carbonica), ve ne sono altri che si trovano in fase avanzata di studio, come quelli che portano alla produzione di idrogeno per via microbiologica. Il presente contributo farà in particolare riferimento alla produzione di biogas e di idrogeno per via microbiologica a partire da residui dell'agroindustria e dell'industria alimentare.

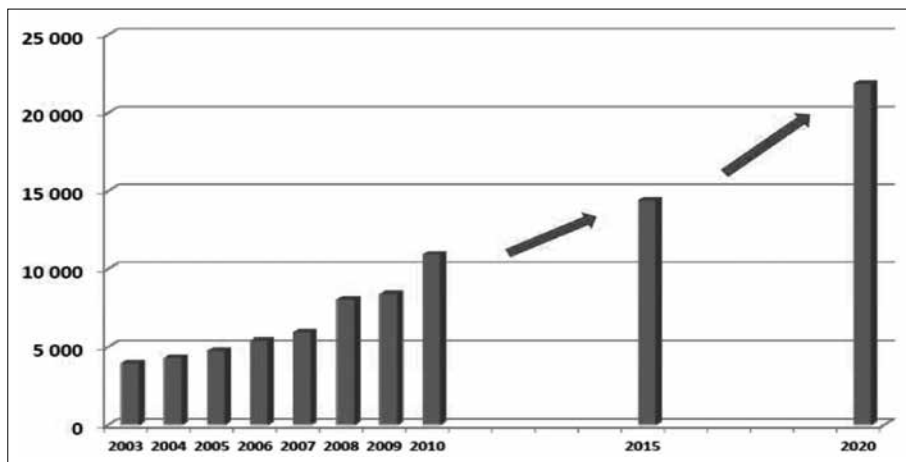


Fig. 3 *Produzione complessiva di biogas (espressa in Mtoe = milioni di tonnellate di petrolio equivalente) a partire dal 2003 e proiezione al 2020 (da European Biogas Association, 2013)*

PRODUZIONE DI BIOGAS E IDROGENO DA RESIDUI DEL SISTEMA AGROINDUSTRIALE

Il biogas, composto per il 50-80% di metano e per la parte restante di CO_2 , può essere ottenuto dalla digestione anaerobica di varie tipologie di residui dell'agroindustria. Nel corso dell'ultimo decennio, si è osservato un crescente interesse verso l'utilizzazione di questo tipo di fonte rinnovabile di energia per ragioni sia economiche che ambientali, tanto che nel 2013 27 Paesi dell'Unione Europea hanno fissato nelle loro politiche nazionali l'obiettivo del raggiungimento di una produzione complessiva di biogas superiore ai 20 milioni di tonnellate di petrolio equivalente entro il 2020, corrispondente a circa il doppio della quantità prodotta nel 2010 (fig. 3; European Biogas Association, 2013).

In Italia esistono molti impianti di digestione anaerobica per la produzione di biogas, sia presso aziende agricole che presso le piattaforme ecologiche di depurazione delle acque. Questi impianti funzionano da anni, trattando prevalentemente liquami zootecnici o fanghi di risulta della depurazione delle acque. Recentemente, sono in fase di sviluppo nuove proposte tecnologiche che riguardano in particolare la tipologia di materia prima da utilizzare per l'alimentazione degli impianti. Oltre alle biomasse utilizzate tradizionalmente, infatti, si sta iniziando a utilizzare biomassa vegetale sia tal quale che opportunamente mescolata con deiezioni zootecniche, fanghi di risulta della depurazione delle acque reflue o residui di industrie agroalimentari.

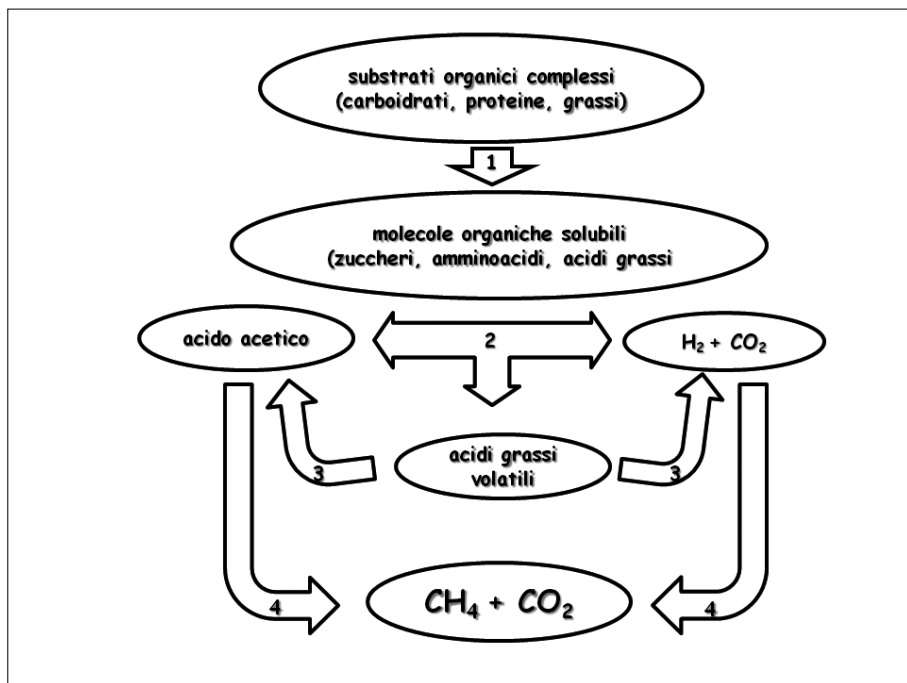
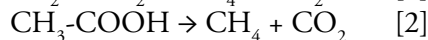


Fig. 4 Schema del processo di digestione anaerobica: (1) fase di idrolisi, (2) fase di fermentazione (acidogenesi), (3) fase di acetogenesi, (4) fase di metanogenesi

Nei digestori anaerobici, la produzione di biogas avviene come fase finale di un processo microbico complesso, articolato in più fasi, alle quali partecipano gruppi microbici diversi (fig. 4). La complessità del processo è dovuta all'incapacità dei microrganismi produttori di metano (metanogeni) di degradare molecole organiche complesse per produrre CH_4 e CO_2 ; infatti, una delle principali caratteristiche fisiologiche dei metanogeni, microrganismi procarioti appartenenti al Dominio degli Archea, è l'estrema specializzazione metabolica, che li rende capaci di utilizzare solo uno o due tipi di substrati, in genere composti organici a un solo atomo di carbonio. A causa di ciò, i metanogeni dipendono, nella maggior parte degli ambienti in cui vivono, dalla presenza di idonei substrati prodotti dalle attività metaboliche di altri microrganismi (Appels et al., 2008).

Per questo motivo, le prime fasi della digestione anaerobica (idrolisi delle molecole complesse, fermentazione acidogenica, fermentazione acetogenica) sono condotte da una microflora anaerobica diversa dai metanogeni, i quali invece intervengono soltanto nell'ultima fase (metanogenesi), nella quale pro-

ducono metano a partire dai substrati formatisi nelle fasi precedenti, secondo le due reazioni sotto riportate:



Nel caso della reazione (1), si può osservare come il metano si formi a partire dall'idrogeno. Questa reazione comporta un forte spreco energetico, in quanto la metà dell'idrogeno prodotto nel corso delle precedenti fasi della fermentazione viene convertito in metano, mentre l'altra metà viene trasformata in acqua. Sulla scorta di questa osservazione, il gruppo di ricerca coordinato dal prof. Giancarlo Ranalli, dell'Università degli Studi del Molise, ha avviato una serie di ricerche volte a valutare la fattibilità di un processo di digestione anaerobica nel quale venisse disaccoppiata la produzione di idrogeno dalla sintesi di metano. Il vantaggio di operare in tal senso è duplice: da un lato si può recuperare in tempi ridotti energia sotto forma di idrogeno, anziché di metano, mentre dall'altro si può ottenere una quantità di energia decisamente maggiore di quanta se ne otterrebbe se venisse recuperato il solo metano, considerando che il potere calorifico dell'idrogeno è circa due volte e mezzo quello del metano (119,9 MJ/Kg contro 50,0 MJ/Kg).

PRODUZIONE DI IDROGENO DA RESIDUI DEL SISTEMA AGROINDUSTRIALE

Il grande interesse recentemente sviluppatosi nei confronti dell'uso dell'idrogeno come vettore energetico trae origine sia dalla possibilità di utilizzare questo gas per produrre energia senza la contemporanea emissione di sostanze inquinanti nell'atmosfera che dalla possibilità di utilizzare, per la sua produzione, fonti rinnovabili di energia in alternativa ai combustibili fossili. In particolare, la produzione di idrogeno per via microbiologica, sfruttando cioè specifici processi metabolici di microrganismi di varia natura che portano alla produzione di idrogeno, è oggetto di studio da parte di molti gruppi di ricerca a livello internazionale. La messa a punto di sistemi biologici di produzione di idrogeno presenta, infatti, interessanti vantaggi rispetto alle tecniche termochimiche ed elettrochimiche attualmente in uso o allo studio e può contribuire efficacemente a stimolare e favorire il passaggio da un'economia basata quasi esclusivamente sull'uso di combustibili fossili a un'economia basata sull'idrogeno come vettore energetico, riducendo al tempo stesso le emissioni di gas serra secondo le direttive del

protocollo di Kyoto e delle successive deliberazioni. In aggiunta a questo aspetto, è importante sottolineare come la produzione biologica di idrogeno possa avvenire anche a partire da fonti di energia rinnovabili quali scarti di natura organica (rifiuti vegetali, sottoprodotti di industrie alimentari ecc.) in processi a basso impatto ambientale che operano a temperatura ambiente e pressione atmosferica.

La produzione d'idrogeno per via biologica può avvenire attraverso i seguenti processi: (i) per biofotolisi dell'acqua, tramite l'impiego di cianobatteri e microalghe, (ii) per fotodegradazione di composti organici a basso peso molecolare, tramite l'impiego di batteri fotosintetici anossigenici, (iii) per fermentazione di substrati organici, tramite l'impiego di batteri eterotrofi anaerobi, (iv) tramite sistemi misti, che utilizzano una prima fase di fermentazione, condotta da batteri eterotrofi anaerobi e una seconda fase con batteri fotosintetici anossigenici che utilizzano gli acidi prodotti nella fase precedente (Rupprecht et al., 2006; Redwood et al., 2009; Adessi et al., 2012).

Occorre sottolineare come la biofotolisi dell'acqua, pur essendo molto interessante dal punto di vista scientifico, appaia al momento molto lontana da una possibile applicazione a livello industriale, mentre gli altri tre processi appaiono più vicini a una reale utilizzazione tecnologica a patto che vengano risolti alcuni aspetti sia di natura biologica che impiantistica che ne limitano ancora le prestazioni.

Numerosi studi hanno messo in evidenza vantaggi e svantaggi dei vari processi (tab. 1, Hallenbeck, 2014), individuando in particolare la fermentazione operata con batteri chemoeterotrofi come il processo capace di produrre idrogeno con i tassi maggiori. La fotofermentazione condotta con i batteri fotosintetici anossigenici (in particolare con i batteri rossi non sulfurei - BRNS) è caratterizzata da un'alta resa teorica di conversione substrato-idrogeno e può essere effettuata, in virtù della loro grande versatilità metabolica, a partire da molti tipi di substrati organici, quali ad esempio acque reflue di origine industriale o residui di fermentazioni di prodotti vegetali. Recentemente, grande attenzione è stata rivolta all'uso di processi microbici integrati a due stadi, operanti in successione con batteri chemoeterotrofi e BRNS, con i quali è teoricamente possibile giungere alla conversione completa in idrogeno di composti organici fermentescibili contenuti in biomasse vegetali (scarti vegetali oppure residui di biomasse microalgali derivanti dall'estrazione di biodiesel), altrimenti non realizzabile a causa di vincoli di natura termodinamica (fig. 5).

METODO (MICROGANISMI COINVOLTI)	VANTAGGI	SVANTAGGI
Biofotolisi dell'acqua (microalghe, cianobatteri)	-Substrato abbondante: H ₂ O -Prodotti semplici: H ₂ , O ₂	-Basse efficienze di conversione luce/idrogeno -Enzimi produttori di H ₂ sensibili a O ₂ - fotobioreattori costosi
Fotofermentazione (batteri fotosintetici anossigenici; es. BRNS*)	-Completa conversione di residui contenenti acidi organici in H ₂ e CO ₂ -Trattamento di scarti di varia natura	- Basse efficienze di conversione luce/idrogeno - Enzimi produttori di H ₂ con alta richiesta di energia metabolica - fotobioreattori costosi
Fermentazione (batteri chemiotrofi anaerobi; es. <i>Thermotoga</i> spp, <i>Clostridium</i> spp.)	-Non occorre illuminazione -Possibilità di utilizzare molti tipi di prodotti di scarto -Tecnologia dei reattori semplice	-Incompleta ossidazione del substrato -Rilascio acidi organici -Basse rese in H ₂

* BRNS = batteri rossi non solfurei

Tab. 1 Confronto tra vantaggi e svantaggi delle diverse tecnologie di produzione microbica di idrogeno (Hallenbeck, 2014)

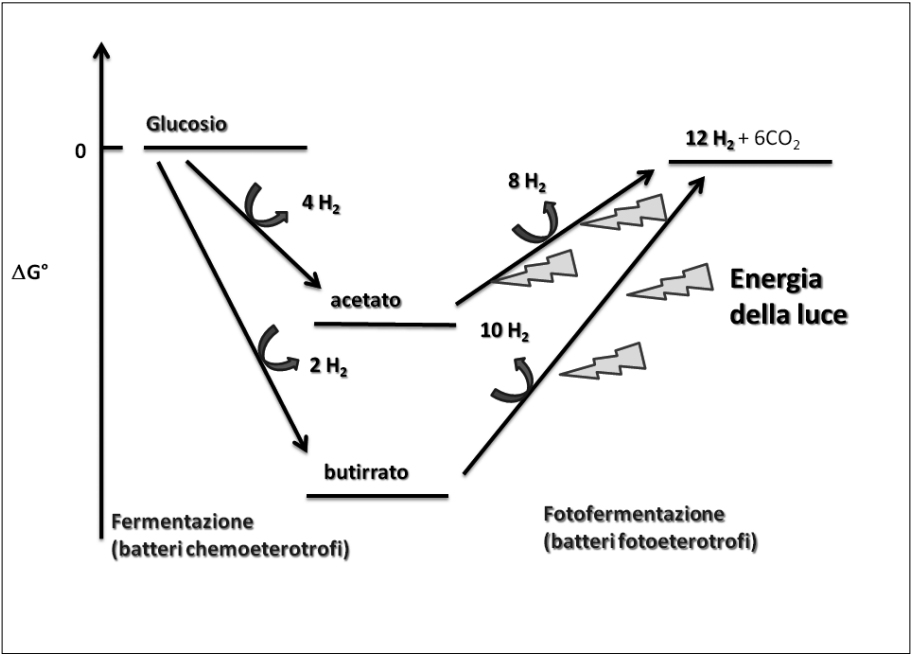


Fig. 5 Ossidazione completa del glucosio con la combinazione della fermentazione con batteri chemoeterotrofi e della fotofermentazione con batteri fotoeterotrofi. Le reazioni con variazione di Energia libera di Gibbs (ΔG°) negativa sono termodinamicamente favorevoli, le reazioni con ΔG° positiva sono termodinamicamente sfavorevoli e possibili soltanto con consumo di energia (nel caso specifico dei batteri fotoeterotrofi, l'energia è fornita dalla luce solare)

DUE PROGETTI DI RICERCA PER LO STUDIO DI PROCESSI MICROBICI
INDIRIZZATI AL RECUPERO DI ENERGIA DA RESIDUI DELL'AGROINDUSTRIA

Nel corso del 2007, il Ministero delle Politiche agricole, alimentari e forestali (MIPAAF) ha emesso un bando per il finanziamento di progetti di ricerca nel settore “bioenergetico” secondo modalità di finanziamento a sportello. Due dei progetti selezionati riguardavano studi volti allo sviluppo di processi biotecnologici per il recupero di energia da residui dell'agroindustria tramite processi microbici. I due progetti hanno completato le loro attività di ricerca a fine 2012 e i risultati ottenuti sono stati presentati nel corso di una Giornata di studio intitolata “Biotecnologie microbiche del futuro: idrogeno e metano da residui dell'industria alimentare” organizzata presso l'Accademia dei Georgofili il 6 marzo 2014. Le relazioni presentate nella Giornata di Studio del 6 marzo sono pubblicate in questo Quaderno dei Georgofili e questo contributo riporta quanto detto nella relazione introduttiva.

I due progetti erano intitolati:

- “Idrogeno e metano da residui dell'agroindustria” (IMERA), coordinato dall'Università di Firenze;
- “Produzione combinata di idrogeno e metano da scarti agro-zootecnici tramite processi biologici” (BIOHYDRO), coordinato dall'Università di Bologna.

Progetto IMERA

Il progetto IMERA si proponeva di studiare la combinazione e l'ottimizzazione di due processi di recupero di energia dai residui vegetali provenienti dall'agroindustria, sperimentando la possibilità di integrare il processo di produzione di metano tramite digestione anaerobica con quello di produzione di idrogeno a partire da fonti ampiamente disponibili e rinnovabili quali i residui vegetali della grande distribuzione organizzata (GDO) (fig. 6).

La finalità ultima del Progetto IMERA era quindi quella di definire, sia a livello dei processi microbici che a livello dei bilanci energetici ed economici, un processo integrato fortemente innovativo di produzione di metano e idrogeno a partire da residui vegetali dell'agroindustria. Gli obiettivi generali del Progetto IMERA erano i seguenti:

- definire i parametri di processo per ottenere idrogeno a partire dal percolato di cumuli di stazionamento di residui vegetali, utilizzando BRNS;



Fig. 6 Schema del progetto "Idrogeno e metano da residui dell'agroindustria" (IMERA), coordinato dall'Università di Firenze. Per i dettagli vedi il testo

- definire i parametri di processo per ottenere idrogeno e metano da un sistema innovativo a due fasi derivante dalla modificazione del sistema classico di biometanazione;
- definire i parametri di processo per ottenere idrogeno a partire dal digestato del sistema bifasico, utilizzando BRNS;
- identificare la comunità microbica operante nei processi di produzione di idrogeno e di biometanazione, al fine di valutare la possibilità di intervenire per ottimizzare le condizioni operative dei due processi;
- validare, in sistemi pilota, i risultati ottenuti in laboratorio per il processo di produzione di idrogeno con BRNS e per il processo bifasico di produzione di idrogeno e metano;
- definire un progetto per lo scaling-up dei processi studiati;
- definire i bilanci energetici ed economici dei processi studiati.

Al Progetto IMERA (Coordinatore di Progetto Prof. Roberto De Philippis, DISPAA) hanno partecipato i seguenti Partner:

- DISPAA, Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agroalimentari e dell'Ambiente, Università di Firenze. Titolo della ricerca: *Produzione di idrogeno da percolato dei residui dell'agroindustria e da digestato di impianto*

di biometanazione con batteri fotosintetici rossi non sulfurei. (Responsabile scientifico Prof. Roberto De Philippis);

- CIBIACI, Centro Interdipartimentale per le Biotecnologie Agrarie, Chimiche e Industriali, Università di Firenze. Titolo della ricerca: *Caratterizzazione molecolare delle comunità microbiche operanti nei processi di produzione di idrogeno e di biometanazione.* (Responsabile scientifico Dr Roberto Monnanni); Coordinatore amministrativo del Progetto
 - DIBT, Dipartimento di Bioscienze e territorio, Università del Molise. Titolo della ricerca: *Produzione di idrogeno e metano in impianto a due fasi operante su residui dell'agroindustria.* (Responsabile scientifico Prof. Giancarlo Ranalli)
- In aggiunta, hanno collaborato in qualità di Partner esterni:
- P&I srl - Servizi e Ingegneria per l'ambiente. Attività: *Valutazioni economiche e bilanci energetici dei processi studiati* (Responsabile Ing. Pietro Magnani)
 - Studio Italia srl- Rimini. Attività: *Indagine su caratteristiche e disponibilità dei residui vegetali dell'agroindustria; divulgazione dei risultati ottenuti* (Responsabile Dr. Donatella Santinelli)

Progetto BIOHYDRO

Il progetto BIO-HYDRO si proponeva di sviluppare un ciclo di smaltimento di scarti organici del settore agro-zootecnico consistente nella fermentazione a idrogeno di almeno una tipologia di scarto agro-zootecnico mediante l'utilizzo di batteri termofili del genere *Thermotoga*, e nella co-digestione a metano del residuo di tale processo con altri scarti agro-zootecnici e/o con la frazione organica dei rifiuti solidi urbani. Il progetto aveva quindi come primo obiettivo la messa a punto e l'ottimizzazione, su scala di laboratorio, di un impianto a due stadi di fermentazione a idrogeno, con purificazione tramite modulo a membrana dell'idrogeno prodotto, e successiva co-digestione dell'effluente con altri scarti organici. Sulla base dei dati sperimentali prodotti, e della messa a punto di un modello cinetico, fluidodinamico e della separazione dell'idrogeno tale da simulare il processo complessivo, è stato redatto il progetto preliminare di un impianto per l'attuazione del processo su scala pilota.

Il progetto includeva inoltre alcuni obiettivi scientifici e tecnologici di rilievo, il cui raggiungimento era indipendente dal conseguimento degli obiettivi generali sopra elencati e prevedeva il conseguimento di alcuni significativi avanzamenti rispetto allo stato dell'arte:

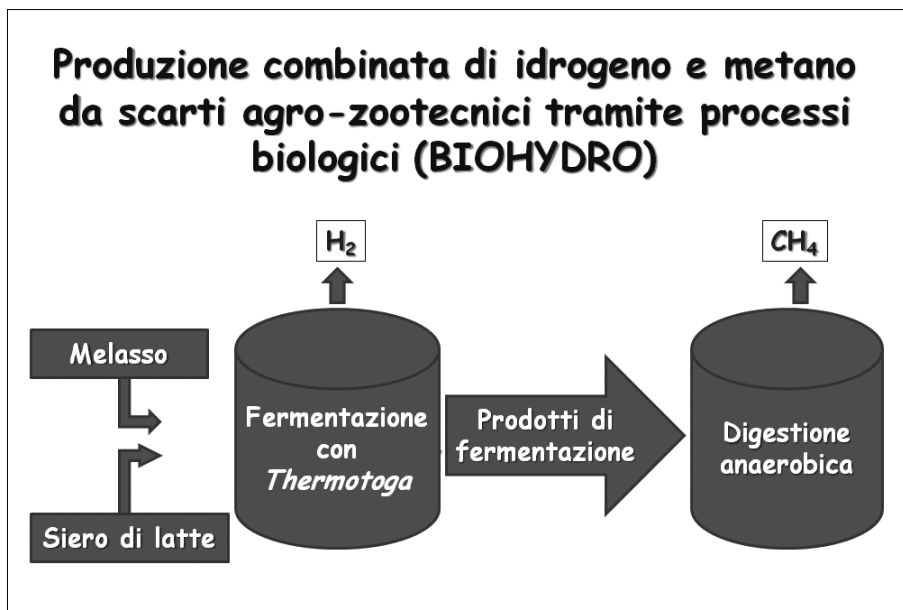


Fig. 7 Schema del progetto “Produzione combinata di idrogeno e metano da scarti agro-zootecnici tramite processi biologici” (BIOHYDRO), coordinato dall’Università di Bologna. Per i dettagli vedi il testo

- ampliamento delle conoscenze sulla fisiologia e il metabolismo di alcuni ceppi di *Thermotoga* in relazione alla produzione di idrogeno, e sulla loro capacità di produrre biofilms;
- ampliamento delle conoscenze sulle comunità microbiche presenti nei reattori a biofilm per la produzione di idrogeno;
- accoppiamento di modelli cinetici di produzione biologica di idrogeno e metano in bioreattori multifase alla modellazione CFD (computational fluid-dynamics) di tali bioreattori: la modellazione CFD è infatti in genere applicata a sistemi non reagenti, o a sistemi reagenti con cinetiche chimiche riferite a singole fasi;
- messa a punto di innovativi bioreattori a biomassa adesa (biofilm), quali il “*structured packing continuous stirred tank reactor*”, con la possibilità di significative ricadute su tutti i processi biotecnologici, sia nel settore produttivo che in quello ambientale;
- individuazione del materiale e delle condizioni operative ottimali per la purificazione con membrana del bio-idrogeno; l’abbinamento della bio-produzione di idrogeno con la sua separazione tramite membrana.
- individuazione delle condizioni operative e del mix di alimentazione ot-

timale per la co-digestione anaerobica della frazione organica ottenuta da raccolta indifferenziata di rifiuti solidi urbani (FORSU); la digestione anaerobica di tale frazione organica infatti risulta difficile a causa della presenza di composti tossici quali i metalli pesanti.

Al Progetto BIOHYDRO (Coordinatore di progetto Prof. Franco Magelli, DICMA) hanno partecipato i seguenti Partner:

- DICMA, Dipartimento di Ingegneria Chimica, Mineraria e delle Tecnologie Ambientali, Università degli Studi di Bologna. Titolo della ricerca: *Progettazione e sviluppo di moduli a membrana per la separazione dell'idrogeno dal biogas ottenuto da scarti agro-zootecnici*. (Responsabile scientifico Prof. Marco Giacinti Baschetti)
- DICASM, Dipartimento di Chimica Applicata e Scienza dei Materiali, Università degli Studi di Bologna. Titolo della ricerca: *Co-digestione anaerobica dell'effluente del processo di produzione di bio-idrogeno con residui agro-zootecnici e/o frazioni organiche di rifiuti solidi urbani*. (Responsabile scientifico Prof. Fabio Fava)
- BES, Dipartimento di Biologia Evoluzionistica e Sperimentale, Università degli Studi di Bologna. Titolo della ricerca: *Selezione di ceppi di Thermotoga per la produzione di idrogeno da scarti agro-zootecnici e caratterizzazione delle comunità microbiche presenti nei bioreattori*. (Responsabile scientifico Prof. Davide Zannoni).
- HERA SPA (Holding Energia Rifiuti Ambiente SPA). Titolo della ricerca: *Valutazione economica ed energetica del processo di bio-produzione di H_2/CH_4 , analisi qualitativa e quantitativa delle matrici organiche disponibili sul territorio, valutazioni sull'utilizzo del digestato come compost per l'agricoltura e dell'idrogeno quale combustibile per fuel-cells*. (Responsabile scientifico Dr Claudio Anzalone).

CONCLUSIONI

I risultati dei progetti IMERA e BIOHYDRO, presentati nel corso della Giornata di Studio e pubblicati in questo numero degli Atti dell'Accademia dei Georgofili, hanno messo in evidenza le ottime potenzialità dell'uso di sistemi combinati di produzione di idrogeno per il recupero di energia a partire dai residui della GDO o dai residui dell'industria agroalimentare. Al termine delle attività di ricerca è altresì emerso che sono necessarie ulteriori fasi di studio indirizzate all'ottimizzazione dei vari parametri e all'individuazione delle migliori modalità operative, prima che i due processi possano

essere considerati maturi per una loro realizzazione in impianto industriale. Per questo motivo, al termine della giornata di studio è stato auspicato che si rendano disponibili a breve ulteriori finanziamenti per approfondire la ricerca nella direzione della definizione delle condizioni ottimali di produzione.

Ulteriori sviluppi positivi potrebbero inoltre derivare dall'integrazione del processo studiato nel corso del progetto IMERA con quello studiato nel corso del progetto BIOHYDRO, aumentando così la versatilità in termini di substrati utilizzabili del processo di recupero di energia dai residui delle attività agroindustriali e svincolandolo dai cicli stagionali tipici delle attività agricole.

RINGRAZIAMENTI

I due progetti sopra richiamati sono stati ambedue finanziati dal Ministero delle Politiche agricole, alimentari e forestali (MIPAAF) nell'ambito del bando per il finanziamento di progetti di ricerca nel settore "bioenergetico".

RIASSUNTO

Dopo una breve descrizione degli attuali andamenti nella produzione e nel consumo di energia e delle ricadute ambientali dell'uso di combustibili fossili, vengono introdotti gli aspetti fondamentali dei processi microbici di produzione di biogas e di idrogeno. Viene quindi descritto lo stato di avanzamento delle ricerche sui diversi processi microbici che consentono di ottenere energia dalle biomasse vegetali e dai residui del sistema agroindustriale, permettendo così di sfruttare fonti energetiche ampiamente disponibili e rinnovabili in processi che si possono considerare a bilancio zero per quanto riguarda la fissazione e l'emissione di anidride carbonica. Vengono infine descritti due progetti di ricerca finanziati dal Ministero delle Politiche agricole, alimentari e forestali (MIPAAF) i quali avevano come obiettivo lo studio dei processi di digestione anaerobica combinati con i processi di produzione di idrogeno.

ABSTRACT

After a brief introduction on the current trends in the production and consumption of energy and a description of the environmental consequences of the use of fossil fuels, the fundamental issues of the microbial processes leading to the production of biogas and hydrogen are introduced. The state of the art of the researches on the different microbial processes capable to produce energy from vegetable biomass and from residues of the

agro-industrial system are presented, showing the interest of these processes operating with widely available and renewable energy sources in processes that can be considered at zero balance with regard to CO₂ fixation and release. Finally, two research projects funded by the Ministry of Agriculture, Food and Forestry (MIPAAF) and aimed at studying and optimizing the process of anaerobic digestion combined with hydrogen production are described.

BIBLIOGRAFIA

- ADESSI A., DE PHILIPPIS R., HALLENBECK P.C. (2012): *Combined systems for maximum substrate conversion*, in *Microbial technologies in advanced biofuels production*, a cura di P.C. Hallenbeck, Springer, Dordrecht, pp. 107-126.
- APPELS L., BAEYENS J., DEGRÈVE J., DEWIL R. (2008): *Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge*, "Progress in Energy and Combustion Science", 34, pp. 755-781.
- DEMIRBAS A. (2009): *Politics, economic and environmental impacts of biofuels: A review*, «Applied Energy», 86, pp. S108-117.
- DUNN S. (2002): *Hydrogen futures: toward a sustainable energy system*, «International Journal of Hydrogen Energy», 27, pp. 235-264.
- EUROPEAN BIOGAS ASSOCIATION (2013): *Proposal for a European Biomethane Roadmap*, in *Report of the Green Gas Grids Project*, 36 pp.
- HALLENBECK P.C. (2014): *Bioenergy from microorganisms: an overview*, in *Microbial bioenergy: hydrogen production*, a cura di D. Zannoni, R. De Philippis, Springer, Dordrecht, pp. 3-21.
- IEA - INTERNATIONAL ENERGY AGENCY (2006): *Key World Energy Statistics*, Soregraph, Levallois, 82 pp.
- IEA - INTERNATIONAL ENERGY AGENCY (2013): *Key World Energy Statistics*, Soregraph, Levallois, 80 pp.
- REDWOOD M.D., PATERSON-BEEDLE M., MACASKIE L.E. (2009): *Integrating dark and light bio-hydrogen production strategies: towards the hydrogen economy*, «Reviews in Environmental Science and Bio/technology», 8, pp. 149-185.
- RUPPRECHT J., HANKAMER B., MUSSGNUG J.H., ANANYEV G., DISMUKES C., KRUSE O. (2006): *Perspectives and advances of biological H₂ production in microorganisms*, «Applied Microbiology Biotechnology», 72, pp. 442-449.
- YERGIN D. (2011): *The prize: the epic quest for oil, money, and power*, Simon and Schuster, New York, 919 pp.

GIANCARLO RANALLI*, GIUSEPPE LUSTRATO*, GABRIELE ALFANO*,
ANDREA CARLUCCI**, DONATELLA SANTINELLI**

Produzione di idrogeno e metano in impianto a due fasi operante su residui dell'agro-industria***

PREMESSA

Il progetto IMERA, nella sua stesura iniziale, ha inteso affrontare, in modo responsabile e innovativo, la maggiore emergenza dei tempi attuali, quella energetica, la cui importanza viene sottolineata anche nel Piano Strategico Nazionale dello sviluppo rurale (PSN 2007-2013) e nel Piano Nazionale della Ricerca (PNR 2005-2007, che attribuivano alla questione energetica e all'innovazione un ruolo centrale nella ricerca dell'integrazione tra dimensione produttiva, ambientale e di programmazione degli interventi in agricoltura. Il piano energetico nazionale, oltre agli obiettivi di Kyoto, ha perseguito l'obiettivo di produrre energia rinnovabile, accessibile, pulita e a basso costo, in un quadro di sostenibilità ambientale su scala locale, considerando il risparmio energetico come una delle fonti primarie di approvvigionamento. Dal momento che si ritiene prioritario incrementare la quota di energia prodotta da fonti rinnovabili, assume grande rilevanza la ricerca indirizzata a garantire autonomia energetica sul fronte della produzione e su quello del consumo. In questo contesto si inserisce il progetto IMERA, che punta a valorizzare una tecnologia innovativa di produzione di energia da fonti rinnovabili, contribuendo così da una parte al contenimento delle emissioni gassose di CO₂ e dall'altra alla riduzione del consumo di combustibili fossili, in coerenza con

* Dipartimento di Bioscienze e Territorio, Università del Molise

** Studio Italia srl

*** Nel corso della Giornata di studio dal titolo "Biotecnologie microbiche del futuro: idrogeno e metano da residui dell'industria alimentare", svoltasi giovedì 6 marzo 2014, sono stati presentati i risultati del progetto finanziato dal MIPAAF, dal titolo "Produzione di idrogeno e metano in impianto a due fasi operante su residui dell'agro-industria" - IMERA.

il Protocollo di Kyoto che prescrive per il periodo 2008-2020 una riduzione delle emissioni annue di gas serra del 6,5% rispetto ai valori 1990.

Le linee di ricerca del progetto si sono integrate inoltre perfettamente negli indirizzi delle politiche agrarie europee di incentivare la produttività agricola salvaguardando allo stesso tempo l'ambiente e la biodiversità (Regolamento CE n. 1782/2003, Consiglio 29/09/2003). Tali indirizzi sono stati rilanciati dal Governo con i disegni di legge sull'energia (approvato dal CdM il 09/06/2006) e sulla competitività (approvato dal CdM il 22/09/2006), nonché con apposite disposizioni delle leggi finanziarie del 2007, del 2008 e successivi. Da quanto sopra esposto appare evidente che la ricerca proposta aveva come obiettivo di contribuire in senso più generale al raggiungimento di vantaggi anche in termini di promozione e di sviluppo dell'immagine del prodotto che si intende ottenere, non trascurando le nuove prospettive e gli attuali interessi manifestati dal Governo Nazionale, dai Paesi Comunitari e da tutti quei Paesi che hanno aderito al Protocollo di Kyoto relativamente all'incentivazione e alla promozione di progetti eco-sostenibili di produzione di energia.

I. STATO DELL'ARTE GENERALE SULL'ARGOMENTO DEL PROGETTO

Oltre l'80% dell'energia primaria prodotta e consumata ogni anno dagli oltre sei miliardi di esseri umani che vivono sul nostro pianeta è ottenuta utilizzando combustibili fossili (carbone, petrolio, gas naturale). Secondo le proiezioni dei consumi di energia primaria ottenuta da fonti di natura fossile, nei prossimi anni è atteso un incremento dei consumi superiore al 50% rispetto ai valori di inizio millennio, con un aumento quasi proporzionale delle emissioni annue di anidride carbonica, che è uno dei gas causa dell'effetto serra e del conseguente aumento della temperatura del pianeta. Alla luce di queste considerazioni, lo sfruttamento di risorse energetiche rinnovabili, quali sono quelle derivabili dal sistema agroindustriale, può assumere una notevole importanza, sia dal punto di vista economico che dal punto di vista ambientale. Infatti, i vari processi che consentono di ottenere energia dalle biomasse vegetali e dai residui del sistema agroindustriale permettono lo sfruttamento di fonti energetiche ampiamente disponibili e rinnovabili in processi che si possono considerare a bilancio zero per quanto riguarda la fissazione e l'emissione di anidride carbonica. Alcuni dei processi più efficienti per ottenere energia dai residui vegetali vedono coinvolti specifici gruppi di microrganismi, i quali, metabolizzando i substrati vegetali per produrre energia, potere riducente e i

precursori metabolici necessari a sintetizzare nuovi costituenti cellulari, liberano come prodotti di scarto metano o idrogeno, sostanze che possono essere utilizzate dall'uomo come combustibili alternativi a quelli di origine fossile. Il biogas ottenuto dalla digestione anaerobica di varie tipologie di residui dell'agroindustria è composto per il 50-80% di metano.

Nel corso dell'ultimo decennio si è osservato un crescente interesse verso questo tipo di fonte energetica rinnovabile, sia per ragioni economiche che per ragioni ambientali, tanto che l'Unione Europea ha stabilito l'obiettivo di raggiungere, entro il 2020, una produzione di biogas pari a 15 milioni di tonnellate di petrolio equivalente, corrispondente a circa il doppio della quantità ipotizzabile in base alla tendenza attuale. In Italia esistono molti impianti di digestione anaerobica per la produzione di biogas, sia presso aziende agricole sia presso le piattaforme ecologiche di depurazione delle acque. Recentemente, sono in fase di studio nuove proposte tecnologiche che riguardano soprattutto la tipologia della materia prima da utilizzare per alimentare gli impianti. Oltre alle biomasse tradizionali, infatti, si sta iniziando a utilizzare biomassa vegetale, sia tal quale che opportunamente mescolata con deiezioni zootecniche, fanghi di risulta o residui di industrie agroalimentari, per una sua proficua conversione in metano e idrogeno. Questa innovazione sta assumendo un'importanza crescente, al punto di aver portato a considerare, in altri Paesi dell'Europa e in particolare in Germania, le biomasse vegetali come principale materia prima da utilizzare nei digestori. Tale scelta è da attribuirsi al fatto che la Comunità Europea pone vincoli sempre più stringenti alle coltivazioni di piante di interesse alimentare, soprattutto ai Paesi più sviluppati della comunità che non sono competitivi nei confronti dei Paesi di nuovo accesso all'Unione. La stessa Politica Agricola Comune (PAC) induce gli agricoltori a cercare nuovi sbocchi per la coltivazione delle terre. Da qui la strada della produzione di biomasse per fare energia appare come uno sbocco qualificato sia sotto il profilo economico sia sotto quello ecologico.

I vantaggi di questo rilancio su basi nuove degli impianti di produzione di energia sotto forma di biogas arricchito di idrogeno, processo che si è inteso studiare e ottimizzare nell'ambito del Progetto IMERA, sono molteplici:

(a) per gli agricoltori, perché coltivare biomasse per fare energia sotto forma di metano attualmente è molto più vantaggioso che non per produrre alimenti;

(b) per gli allevatori delle aziende prive di terreni, che potrebbero in questo modo trovare modalità di trattamento più appropriate per le deiezioni zootecniche, che comunque andrebbero trattate a costi elevati e senza recuperi energetici;

(c) per l'ambiente, perché la materia prima energetica (le biomasse) sarebbe prodotta continuando a curare i terreni, evitandone quindi l'abbandono, e smaltendo residui zootecnici, effluenti di industrie agro-alimentari ed eventualmente fanghi di risulta della depurazione delle acque;

(d) i prodotti della trasformazione (biogas e idrogeno) possono contribuire a ridurre, anche se in misura parziale, i consumi di combustibili fossili.

Per quanto riguarda la produzione biologica di idrogeno a partire dalla fermentazione diretta di residui vegetali, il processo è in fase avanzata di ricerca sia per chiarire alcuni aspetti cruciali dei processi metabolici che portano alla sua produzione da parte dei microrganismi, sia per risolvere alcuni aspetti impiantistici che al momento ne condizionano la possibilità di sviluppo industriale. Occorre comunque sottolineare il grande interesse di questa linea di ricerca che, in prospettiva, può portare un significativo contributo al passaggio da un'economia basata sui combustibili fossili a una basata sull'idrogeno come vettore energetico. Inoltre, la produzione biologica di idrogeno avviene attraverso un processo a basso impatto ambientale che utilizza fonti di energia rinnovabili come rifiuti vegetali, sottoprodotti di industrie alimentari ecc., riducendo così anche la quantità di rifiuti da smaltire per altre vie.

1.1 *Digestione Anaerobica*

I processi di depurazione biologica sono mirati alla conversione della sostanza organica mediante meccanismi del tutto analoghi all'auto-depurazione naturale ma con tempi e spazi molto ridotti: infatti, la velocità di rimozione è molto più elevata per l'alta concentrazione di biomassa che si sviluppa negli impianti di trattamento, grazie al controllo della loro condizioni di crescita all'interno dei bioreattori. Rispetto ai processi di trattamento più diffusi di tipo aerobico (in presenza di ossigeno e pertanto più rapidi dal punto di vista metabolico dei microrganismi che la sostengono), il trattamento anaerobico ha dei vantaggi:

- Produce una minore quantità di fanghi per via delle basse cinetiche di crescita della biomassa microbica;
- Consente di recuperare energia rinnovabile sotto forma di biogas;
- Efficienze di abbattimento maggiori della carica patogena;
- Riduce l'emissione di odori (Ward et al., 2008).

Le basse cinetiche registrate in condizioni anaerobiche dipendono dal tipo di interazioni metaboliche che si instaurano tra le diverse classi di microrganismi. Come anticipato, le relazioni sintrofiche, al contrario dei trattamenti

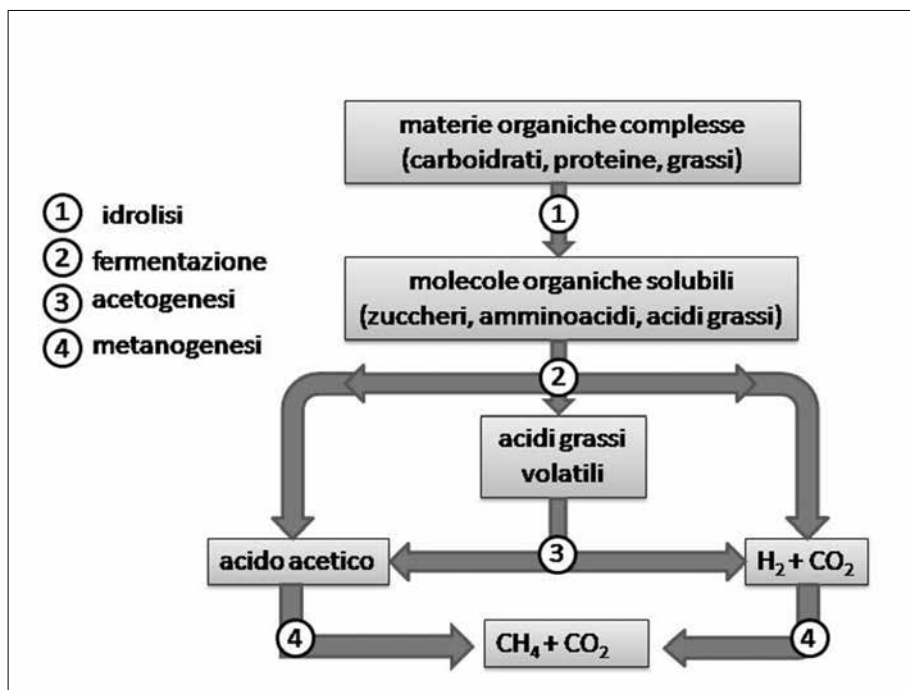


Fig. 1 Schema della digestione anaerobica

aerobici sono di tipo verticale, ossia il prodotto del metabolismo di una classe di microrganismi funge da substrato di partenza per un'ulteriore classe microbica sino alla completa riduzione di accettori elettronici tipici degli ecosistemi anaerobici (Pain e Hephherd, 1985).

La degradazione anaerobica di un substrato è il risultato di una complessa serie di reazioni biochimiche che trasformano la sostanza organica fino a metano e biossido di carbonio (fig. 1).

L'ecosistema anaerobico è particolarmente complesso, in quanto soltanto alcuni gruppi batterici specializzati sono in grado di effettuare determinati passaggi essenziali della biodegradazione. Il modello attualmente accettato della decomposizione anaerobica prevede diversi passaggi in cui la sostanza organica costituita da composti complessi, dapprima viene fermentata a CO_2 , H_2 e acidi grassi volatili (VFA). I VFA generati in questo passaggio vengono convertiti a opera di un'ulteriore popolazione di microrganismi, i cosiddetti OHPA (acetogeni produttori obbligati di idrogeno), in acido acetico, CO_2 e H_2 , i quali rappresentano i substrati diretti per la metanogenesi. Secondo questo modello l'acido acetico è il principale precursore di metano, che viene prodotto dalla decarbossilazione appunto dell'acido acetico per circa il 70%

(metanogenesi acetoclastica) e dalla riduzione diretta di CO_2 con H_2 per circa il 30% (metanogenesi idrogenofila). Il complesso delle reazioni di degradazione anaerobica rappresentano un classico esempio di disproporzione in quanto i substrati organici coinvolti contengono carbonio a diversi stati di ossidazione che viene trasformato in molecole mono carboniose ossidate e ridotte. I microrganismi anaerobici sono convenzionalmente raccolti in gruppi funzionali corrispondenti ai passaggi della catena trofica (Stronach et al., 1986):

- microrganismi idrolitici, che producono idrolasi capaci di solubilizzare il materiale particolato e di scindere le sostanze macromolecolari in monomeri e in oligomeri facilmente trasportabili all'interno delle cellule;
- microrganismi acidogeni, capaci di fermentare monomeri complessi ad acidi o alcoli;
- microrganismi acetogeni produttori obbligati di idrogeno (OHPA), capaci di convertire attraverso il processo di β -ossidazione gli acidi grassi volatili superiori in acido acetico, CO_2 e H_2 . Gli acidi grassi insaturi vengono dapprima saturati e poi ossidati;
- microrganismi metanigeni che possiamo distinguere in due gruppi: a) acetoclasti, che producono metano e anidride carbonica partendo dall'acetato; b) idrogenotrofi, che producono metano partendo da idrogeno e anidride carbonica.

Sono presenti anche altre due categorie di microrganismi:

- microrganismi omoacetogeni, capaci di produrre acido acetico o altri composti a più lunga catena da CO_2 e H_2 ;
- solfobatteri, capaci di ridurre lo ione solfato; in condizioni di solfato non limitante, essi, in virtù della loro versatilità metabolica (tollerano un potenziale redox maggiore rispetto ai metanigeni), possono competere con successo con i metanigeni per gli stessi substrati (idrogeno, metanolo, acido acetico).

Anche se soltanto il 30% del metano è prodotto tramite metanogenesi idrogenofila, l'idrogeno svolge un importante ruolo regolatore in quanto la sua concentrazione influenza i principali percorsi metabolici:

- nell'acidogenesi il flusso del carbonio si indirizza verso la formazione di acido acetico se la concentrazione di H_2 si mantiene sufficientemente bassa, altrimenti si indirizza verso la formazione di acido propionico, di acido butirrico e di acidi grassi superiori;
- la produzione di acidi organici volatili da parte degli omoacetogeni è possibile soltanto se la concentrazione di H_2 si mantiene relativamente elevata;
- molti microrganismi metanigeni acetoclasti possono essere inibiti da concentrazioni relativamente elevate di H_2 .

Tra microrganismi produttori e consumatori di idrogeno si instaura quindi un forte rapporto interspecifico e i due gruppi crescono a stretto contatto fisico. In realtà i batteri fermentatori possono crescere anche in assenza di rimozione di H_2 , poiché possono dare luogo a prodotti meno ossidati dell'acido acetico, ossia acido butirrico, propionico e lattico. In associazione con gli idrogenofili, essi però hanno una velocità di crescita maggiore, con un maggiore vantaggio energetico. Un altro tipo di interazione positiva si instaura tra fermentatori anaerobi facoltativi e metanigeni. Gli anaerobi facoltativi rimuovono rapidamente le eventuali tracce di O_2 presenti nel sistema, abbassando così il potenziale redox e rendendo l'ambiente favorevole alla vita dei metanigeni. I microrganismi fermentativi producono composti necessari ai metanigeni, i quali, a loro volta, oltre a favorire la rimozione dei prodotti della fermentazione, possono produrre alcuni amminoacidi utili alla crescita dei microrganismi. Particolarmente interessanti appaiono le interazioni fra metanigeni e solfobatteri, per le quali, in presenza di SO_4^{2-} , si ha inibizione della metanogenesi negli ecosistemi naturali. Diversi fattori ambientali influenzano la digestione anaerobica, essenzialmente favorendo o inibendo parametri come la velocità di crescita specifica, la velocità di decadimento, la produzione di gas e il tasso di utilizzo del substrato.

La produzione di biogas è il dato più significativo del processo; esso dipende, essenzialmente, dal tempo di permanenza (HRT) nel digestore e dalla temperatura di esercizio. È evidente che tempi lunghi di residenza dei substrati favoriscono il processo di metanogenesi, ma tale condizione può essere antieconomica su scala industriale sia perché riduce il tasso d'utilizzo degli impianti stessi e sia perché necessita di grossi volumi di reazione con conseguenti spese di installazione maggiori. Per quanto riguarda la temperatura di processo, la digestione anaerobica può avvenire in condizioni termiche psicrofile, mesofile e termofile. La psicrofilia ($10-20^\circ C$) è raramente adottata su scala industriale, mentre la mesofilia e la termofilia sono molto più diffuse. I due regimi termici hanno i loro optimum rispettivamente a 37° e $55^\circ C$.

La struttura della comunità microbica nelle due condizioni termiche è differente. In generale il regime termico mesofilo dispone di una maggiore variabilità microbica di conseguenza lo rende maggiormente tollerante rispetto alla termofilia all'insorgere di squilibri operativi. Tale aspetto assieme al minor consumo energetico ne fa della mesofilia l'opzione più diffusa. Tuttavia il regime termofilo comporta diversi vantaggi:

- velocità di crescita della biomassa microbica e costanti di idrolisi maggiori rispetto alla mesofilia. Ne consegue la possibilità di operare con tempi di

residenza ridotti (minor volumi dei reattori) e a carichi più alti (Parawira et al., 2007);

- maggiore solubilizzazione dei substrati che comporta un minor consumo energetico da parte dei sistemi di mescolamento;
- maggiori efficienze di rimozione del COD e della carica batterica;
- maggiori rese in termini di biogas prodotto.

D'altra parte, come già accennato, la ridotta variabilità della popolazione batterica rende più critico il controllo del processo in caso di insorgenza di squilibri operativi. I costi di mantenimento della condizione termica termofila, dipendono largamente dall'efficienza di trasferimento di calore negli impianti. Considerando casi di studio Danesi è stato stimato che l'energia richiesta per la termofilia (55°C) ammonta al 10% della produzione totale, con un dispendio in energetico pari al 1-2% in più rispetto alla mesofilia (Angelidaki et al., 2003).

Le diverse fasi della digestione anaerobica sono caratterizzate da modelli cinetici di reazione differenti.

Le fasi di idrolisi e acidogenesi sono dominate da cinetiche di primo ordine, per cui generalmente all'aumentare del carico organico corrisponde un maggior accumulo dei prodotti di fermentazione, tra cui i VFA e ammoniaca. Al contrario, la fase di metanogenesi è caratterizzata da cinetiche più lente e di inibizione da substrato. L'accumulo di VFA è una delle conseguenze che si verifica in caso di sbilanciamento della catena trofica. Tra le ragioni di tale accumulo troviamo quelle legate a sovraccarichi, variazione della temperatura di esercizio, tempi di residenza ridotti, squilibri nell'apporto di nutrienti e/o assenza nei substrati da trattare di cofattori enzimatici essenziali per il processo di metanizzazione (Banks et al., 2012; Climenhaga e Banks, 2008; Neiva Correia et al., 2008). In assenza di un'adeguata capacità tamponante, l'accumulo di VFA può portare a un'ulteriore riduzione della performance del processo di biogassificazione in quanto i metanigeni operano al meglio a pH neutro (6.8 e 7.6) e vengono quindi rallentati dall'aumento di acidità (Mosey e Fernandes, 1989). La corretta gestione del processo in condizioni di stazionarietà porta a un'armonizzazione delle velocità di reazione e l'abbassamento del pH non si verifica a causa della formazione di sostanze tamponanti, quali ad esempio l'ammoniaca, generatesi dalla degradazione di sostanze proteiche, e l'anidride carbonica, che in pratica accompagna tutte le fasi del processo. Tuttavia l'eccesso di ammoniaca (>2000 g/L), problema particolarmente sentito negli impianti che trattano effluenti di allevamento, può inibire le rese in termini di biogas (Angelidaki e Ahring, 1994). Il processo di digestione anaerobica può essere svolto in un unico reattore (one stage) o in più reattori, generalmente due, disposti in serie (multi stage).

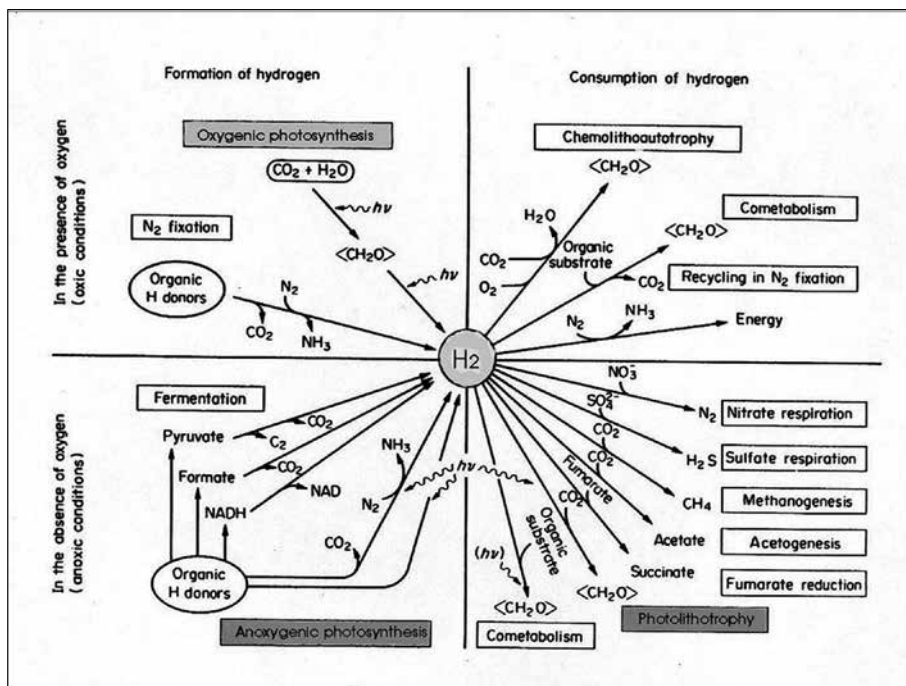
	METANOGENESI	IDROGENOGENESI
Condizioni necessarie	Anaerobiosi	Anaerobiosi
Substrato carbonioso	Limitati : Acido acetico, CO ₂ , altri composti ad un solo atomo di carbonio	Vari: cellulosa, saccaridi, composti aromatici, proteine ed amminoacidi.
Metabolismo energetico principale	Riduzione di composti organici	Ossidazione di composti organici ridotti
Enzima chiave	Idrogenasi	Idrogenasi
Tempo di ritenzione	5-10 giorni (termofili) 10-20 giorni (mesofili)	Inferiore a 4 giorni
Intervallo di pH	Stretto: 6,7-7,4	Ampio: 5,5-8,5
Specie rappresentative	<i>Methanosarcina methanica</i> <i>Methanobacter sp.</i> <i>Methanococcus sp.</i>	<i>Clostridium butyricum</i> <i>Clostridium pasteurianum</i> <i>Citrobacter intermedius</i> <i>Magashaera elsdenii</i> <i>Enterobacter aerogenes</i> <i>Enterobacter cloacae</i>

Tab. 1 *Principali caratteristiche della metanogenesi e dell'idrogenogenesi*

L'idea di separare le fasi di processo deriva dal fatto che i microrganismi idroli-
tici/fermentativi e quelli acetogeni/metanigeni non condividono le stesse con-
dizioni ambientali di crescita (Liu et al., 2006). Per tanto è possibile ottimizzare
le condizioni di crescita in due reattori separatamente consentendo quindi una
maggiore stabilità del processo soprattutto quando ci troviamo di fronte sub-
strati a elevata biodegradabilità, come ad esempio la FORSU (Bouallagui et al.,
2005; Mata-Alvarez, 2000). Di conseguenza un sistema multi stage consente di
gestire meglio le fluttuazioni sia dal punto di vista qualitativo che quantitativo
del carico organico e l'eventuale presenza di sostanze inibenti.

Diversi autori hanno dimostrato che la configurazione a doppia fase con-
sente delle rese specifiche in termini di metano prodotto dal 6 al 21% più alte
rispetto ai sistemi a singola fase con delle rimozione di solidi volatili maggiori
del 9% (Nielsen et al., 2004; Liu et al., 2006). Tuttavia i sistemi multi stage
hanno spese di investimento e di gestione maggiori rispetto ai sistemi tradi-
zionali. In tabella 1 sono riportate le principali caratteristiche della metano-
genesi e dell'idrogenogenesi.

L'idrogeno e il metano sono notoriamente due combustibili "puliti", la
cui combustione genera solo vapor d'acqua o anidride carbonica. Le attuali
tecnologie di produzione di questi gas tuttavia sono in larga parte dipendenti
dall'uso di fonti fossili, motivo per cui appare necessario lo sviluppo di pro-
cessi tecnologici per la produzione di idrogeno e metano da fonti rinnovabili.
In particolare, la possibilità di ottenere idrogeno a partire da scarti vegetali, o
più in generale da scarti agro-industriali, oggi ampiamente disponibili, rende
i processi microbiologici dipendenti da batteri molto interessanti. Quanto
detto, appare assai rilevante se si considera che l'idrogeno svolge un ruolo



Schema 1 Centralità dell'idrogeno nelle reazioni vitali del pianeta

centrale nei numerosissimi processi sia catabolici che anabolici sul pianeta, in condizioni di aerobiosi e in anaerobiosi. L'idrogeno ricopre il ruolo di molecola chiave energetica (in termini di elettroni e potenziale riduttivo) e rappresenta il nodo cruciale tra processi metabolici di sintesi e di consumo tra organismi vitali differenti.

Nello schema 1 si può notare la "centralità" dell'idrogeno nelle reazioni vitali sul pianeta.

Da un punto di vista operativo, la sperimentazione effettuata in sinergia tra i partners del progetto IMERA, ha previsto 4 linee:

1. valutazione delle differenti possibilità di riutilizzo e smaltimento delle biomasse alla luce della legislazione vigente e delle tecniche disponibili;
2. scelta delle matrici organiche disponibili (solide e liquide) e loro caratterizzazione; adozione di pre-trattamenti meccanici;
3. definizione e messa a punto di impianto pilota sperimentale a due fasi (R1 e R2), di laboratorio, per operazioni in continuo con piccoli volumi;
4. allestimento di impianto pilota semi-industriale a due fasi (R1 e R2), alimentato da biomasse predefinite.

Le attività relative alla linea 1, hanno previsto il recupero di informazioni e dati statistici e fonti bibliografiche, consultazione siti web, contatti tra associazioni di categoria, ecc. Il risultato di tale attività ha portato alla raccolta di un importante e significativo materiale informativo, talvolta ridondante, in altri casi lacunoso o di difficile impiego diretto ai fini di una equilibrata comparazione dei dati stessi (fonti a livello comunale, provinciale, regionale e nazionale, con datazioni non sempre recenti). I dati raccolti grazie all'attività condotta anche da Studio Italia srl – IMERA Project 2010, subcontraente del Progetto, sono stati oggetto di un'approfondita analisi valutazione critica degli stessi, sulla base di altri parametri (competizione con altre destinazioni d'uso, compostaggio, energia = pellet, costi stoccaggio, trasporto, analisi territoriale, cambiamenti degli indirizzi colturali tradizionali, Legislazione CE e Nazionali, Regionali, presenza di Distretti energetici, ecc.). La valutazione di differenti possibilità di impiego, recupero e valorizzazione di reflui e residui agroindustriali, sia alla luce della legislazione vigente, sia delle reali disponibilità di biomasse idonee a un loro impiego in campo energetico (bioidrogeno e biometano), hanno consentito la realizzazione di Tabelle di sintesi qui riportate.

2. SCELTA DELLE MATRICI ORGANICHE DISPONIBILI, CARATTERISTICHE E PRE-TRATTAMENTI MECCANICI

2.1 *Identificazione delle matrici grezze ai fini energetici*

I substrati tipici della digestione anaerobica sono:

– Fanghi di supero degli impianti di depurazione, la frazione organica dei rifiuti solidi urbani (FORSU), i reflui zootecnici, gli scarti dell'agroindustria, e colture dedicate a elevato contenuto di umidità. Lo studio effettuato nel primo anno di attività ha consentito l'acquisizione di dati aggiornati sul comparto delle biomasse fermentescibili, distinti per aree territoriali, per regioni, comparti produttivi e commerciali, dimensionamento e posizionamento sul mercato, natura e origine delle biomasse di scarto (es. ristorazione collettiva, centri grande distribuzione, ortomercati, aziende agroindustriali dei comparti agroalimentari, ecc.). È stata condotta anche la valutazione delle principali caratteristiche merceologiche delle biomasse medesime potenzialmente impiegate, della loro natura, entità, disponibilità, stabilità nello stoccaggio e del rischio di avvio fermentazioni spontanee. Infine è stata valutata la trasportabilità e la stagionalità delle matrici organiche. È seguita pertanto una analisi dei dati e la rappresentazione con campi cromatici le differenti possibilità

BIOMASSE 1	Totale (t x 1000)	Contenuto in solidi totali (%)			Velocità fermentazione				Utilizzo			Alta omogeneità dei materiali	
		Liquidi (<2)	Semi-Liquidi (2-10)	Solidi (>10)	Gassosi	Elevata	Media	Bassa	Scarsa	T.Q.	Pre-trattamento		Stagionalità
Tipologia e origine													
RIFIUTI E RESIDUI AGRO-ALIMENTARI													
Molitura													
Lolla, pula				●					●		●	●	●
Fieno, paglia, stocchi, coltetti				●					●			●	●
Oleifici													
---	450												
Polpa-buccia												●	●
Nocciolino		●				●				●		●	●
Acqua di vegetazione				●				●				●	●
Samsa vergine				●					●			●	●
Samsa esausta				●					●			●	●
Cantine (tab. 6)													
Vinacce	925			●			●					●	●
Raspi	205			●			●					●	●
Solidi e fecce	308			●				●				●	●
Fanghi (tal quale)			●	●			●			●		●	●
Reflui vendemmia	6000	●				●				●		●	●
Reflui travaso	2800	●				●				●		●	●
Macellerie e peschiere													
Scarti di macellazione				●				●			●		●
Scarti ittici													
Industria conserviera													
Pomodoro				●		●					●	●	●
Barbabietola				●		●					●	●	●
Altri scarti agroindustriali				●		●					●	●	●
Caseifici													
Siero			●			●							●
RIFIUTI ORGANICI DA ATTIVITÀ ZOOTECNICHE													
Allevamenti bovini			●	●			●				●	●	●
Allevamenti suini			●	●			●				●	●	●
Allevamenti avicunicoli				●				●			●	●	●
Carcasse				●				●			●	●	●
RIFIUTI URBANI DI ORIGINE VEGETALE													
Mercatali				●				●			●		●
Grande Distribuzione				●				●			●		●
Sfalcio verde urbano				●				●			●		●
RIFIUTI ORGANICI DA ATTIVITÀ UMANE													
RSU differenziata				●							●		●
Fanghi depurazione				●									●
RESIDUI LAVORAZIONE DELLA FIBRE VEGETALI E DELLA CELLULOSA													
Black-liquor (fanghi)				●									●
Residui canapa e cotone				●					●				●

Tab. 2 *Tipologia e origine dei rifiuti e residui agro-industriali*

di recupero e riutilizzo di reflui agroindustriali in linea con gli obiettivi del progetto stesso.

La classificazione delle principali tipologie di scarti agro-industriali (bio-

BIOMASSE 2	Indirizzo energetico					Resa 1 (m³biogas/t)		Resa 2	Resa 3	
	Temovvalorizzaz. ne	pellet, cippato, tronchetti	Olio, biodiesel	Compost, ammendanti	Biogas	Bassa (<0.3)	Media (0.3-0.5)			
Tipologia e origine						Alta (>0.5)	Sost. organica (%)	(m³/tso)	(m³/kg)	Biogas (%)
RIFIUTI E RESIDUI AGRO-ALIMENTARI										
Molitura										
Lolla, pula,	●									
Fieno, paglia, stocchi, colletti	●									
Oleifici										
Polpa-buccia	●			●	●					
Nocciolino	●	●								
Acqua di vegetazione				●						
Sansa vergine	●			●	●					
Sansa esausta	●			●	●					
Cantine										
Vinacce										
Raspi	●									
Solidi e fecce										
Fanghi (tal quale)										
Reflui vendemmia										
Macellerie e pescherie										
Scarti di macellazione			●	●	●		●			
Scarti ittici			●	●	●		●			
Industria conserviera										
Pomodoro				●	●					
Barbabietola				●	●		●			
Altri scarti agroindustriali				●	●					
Caseifici										
Siero							●			
RIFIUTI ORGANICI DA ATTIVITÀ ZOOTECNICHE										
Deiezioni allevamenti bovini				●	●		●			
Deiezioni allevamenti suini				●	●		●			
Deiezioni avicunicoli				●	●		●			
Carcasse			●		●		●			
RIFIUTI URBANI DI ORIGINE VEGETALE										
Mercatali				●	●					
Grande Distribuzione				●	●					
Sfalcio verde urbano	●			●						
RIFIUTI ORGANICI DA ATTIVITÀ UMANE										
RSU differenziata	●			●	●					
Fanghi depurazione				●						
RESIDUI LAVORAZIONE DELLE FIBRE VEGETALI E DELLA CELLULOSA										
Black-liquor (fanghi)										

Tab. 3 Tipologia e origine dei rifiuti e residui agro-industriali

masse) in Italia da destinarsi a produzione di idrogeno e metano sono riportate nelle tabelle 2-5.

Inoltre, è stata effettuata la comparazione con altri scenari e destini alternativi attuali e futuri degli scarti e delle biomasse potenzialmente dispo-

BIOMASSE 3	Indirizzo energetico				Resa 1 (m ³ biogas/t)			Resa 2		Resa 3	
	Termovalorizzaz. ne	pellet, cippato, tronchetti	Olio, compost, biodiesel	Biogas	Bassa (<0.3)	Media (0.3-0.5)	Alta (>0.5)	Sost. organica (%)	(m ³ /tso)	(m ³ /kg)	Biogas (%)
CEREALI											
Frumento	●			●							
Orzo	●			●							
Sorgo	●			●							
Mais	●			●							
Triticale	●			●							
Miscanto	●										
Altri cereali	●										
LEGUMINOSE											
Soia											
Altre leguminose											
FIBRE E MATERIALE LIGNO-CELLULOSICO											
Residui taglio bosco	●	●									
Potature	●	●									
Coltivazioni short rotation	●	●									
Residui lavorazione legno	●	●									
Residui canapa e cotone	●										
Altri materiali di risulta	●										
ALTRE COLTURE											
Girasole			●								
Cardo			●								
Ricino			●								
Colza			●								
Altre colture											

Tab. 4 Tipologia e origine di biomasse da colture a uso no food

nibili e utilizzabili. La valutazione accurata supportata da dati statistici più recenti, se disponibili, ha consentito di porre una particolare attenzione e interesse verso residui del comparto agro-industriale riconducibili in larga parte alla grande distribuzione alimentare; più in particolare gli scarti vegetali dei comparti della grande distribuzione organizzata (GDO) comprendenti frutta e verdure di ipermercati, supermercati, mense collettive, mercati. Tali biomasse appaiono essere interessanti per il loro valore energetico intrinseco, essendo ricche in carboidrati fermentescibili, esenti da plastiche, vetri e metalli e relativamente omogenee merceologicamente in virtù di una sempre maggiore offerta di prodotti in periodi di più ampia stagionalità, spiccatamente concentrati in aree limitate già in origine, non sempre al momento destinate e gestite razionalmente nel rispetto dell'ambiente (es. destinate in discarica) e/o dal punto di vista del recupero energetico (es. per ottenimento di sostanze umificate dopo processo di compostaggio). Pe-

BIOMASSE 4 - (Rese di biogas da biomasse di varia provenienza)					
Tipologia del substrato per la produzione di biogas	S.T. (%)	S.V. (%)	Resa biogas (m³/t tal quale)	Resa biogas (m³/t S.V.)	Tenore CH₄ (Volume %)
LIQUAME BOVINO	8-11	75-82	20-30	200-500	60
LIQUAME SUINO	+ 7	75-85	20-35	300-700	60-70
LETAME BOVINO	+ 25	68-76	40-50	210-300	60
LETAME SUINO	20-25	75-80	55-65	270-450	60
DEIEZIONI AVICOLE SOLIDE	+ 32	63-80	70-90	250-400	60
SILOMAIS	20-35	85-95	170-200	450-700	50-55
ACQUA DI VEGETAZIONE	3,7	70-75	50-56	1500-2000	50-60
FRAZIONE ORGANICA RSU	40-75	50-70	80-120	150-600	58-65
SCARTI DI RISTORAZIONE	9-37	80-98	50-480	200-500	45-61
SCARTI ORTOFRUTTICOLI	5-20	80-90	45-110	400-600	60-65
GRASSO DI SEPARAZIONE	2-70	75-93	11-450	+ 700	60-72
CONTENUTO STOMACALE SUINI	12-15	75-86	20-60	200-400	58-62
GRASSO DI FLOTTAZIONE	5-24	80-95	35-280	900-1200	60-72
CONTENUTO RUMINALE	11-19	80-90	20-60	200-400	58-62
RESIDUI COLTURALI				350-400	
SCARTI AGROINDUSTRIALI				400-800	
FANGHI DI DEPURAZIONE				250-300	
COLTURE ENERGETICHE				550-750	

 Tab. 5 *Rese di biogas da biomasse di varia provenienza*

raltro, da indagini specifiche condotte direttamente presso alcuni reparti e comparti della GDO, è emerso un dato economico assai interessante: in termini di costi medi, i residui verdi della GDO possono mediamente rappresentare il 3-5% del fatturato giornaliero della medesima struttura distributiva (Comunicazioni personali, Auchan, Pescara, 2010). Tale dato inoltre può essere utilizzato come stima indiretta del volume di scarti verdi quotidiani prodotti dalla GDO in Italia, e quindi, dopo accurata verifica e conferma, poter essere una base di partenza per una valutazione sul dimensionamento dei futuri impianti in scala semi-reale e industriale operanti con i principi innovativi della biotecnologia microbica a cui si ispira il presente progetto IMERA. Pertanto, l'analisi e le molteplici considerazioni solo in sintesi qui sopra richiamate, ha condotto all'identificazione dei residui verdi dell'agroindustria della GDO quale substrati energetici di partenza per produrre BioH₂ e BioCH₄, in impianti pilota funzionanti.

COMPONENTI	VALORI MEDI
pH	6,2-6,9
Solidi totali (g/l)	20-26
Solidi volatili (g/l)	14-23
COD totale (mg/l)	11.000-18.000
Carboidrati (mg/l)	400-900
N totale (NTK) (mg/l)	100-300
Fosforo (mg/l)	20-90

Tab. 6 *Principali caratteristiche degli scarti verdi grezzi della Grande Distribuzione Organizzata (GDO)*

2.1.1 Pretrattamenti delle biomasse grezze

L'avvio iniziale di proficui contatti con i responsabili della gestione dei reparti della GDO e successive illustrazioni sulle finalità generali e gli obiettivi specifici del progetto IMERA, hanno consentito la stesura di una calendarizzazione del recupero bi-tri settimanale degli scarti e dei residui verdi (frutta e verdure in larga parte). Una volta avuta a disposizione gli scarti, le prove preliminari hanno valutato dapprima una grossolana catalogazione in peso delle frazioni vegetali (frutta, verdure); poi, un'osservazione diretta che poteva mostrare una elevata o bassa la diversità vegetale (es. se gli scarti verdi risultano rappresentati sempre da un numero $> 0 < 5$ specie di frutta differenti, seppur stagionali, oppure di verdure, ecc.).

Indispensabile è risultata l'adozione di un trattamento meccanico di biotriturazione preliminare degli scarti verdi, al fine di ridurre la massa iniziale largamente eterogenea sia per dimensioni che per natura, a una matrice più omogenea, definibile come una pasta fango-melmosa, in larga parte frullata ma con frammenti ancora distinguibili e di dimensioni non trascurabili. L'indagine di mercato nel settore dei biotrituratori a scala domestica e/o semi professionali ha permesso di porre l'attenzione su 3 modelli funzionanti uno a motore:

- potenzialità ridotte, a motore elettrico monofase (A);
- potenzialità medie, a motore elettrico monofase o trifase (B);
- potenzialità medie, a motore a scoppio (C).

I test di triturazione effettuati hanno messo in evidenza vantaggi e limiti dei modelli confrontati (A e B), con annotazioni sulle caratteristiche tecniche, trasportabilità, capacità operativa di sminuzzamento e trascinamento, rischio di intasamento, rumore, modalità di funzionamento, di facilità di imbocco per l'alimentazione, facilità di recupero dei residui triturati, ecc.

Pompaggio. L'elevata eterogeneità dei materiali verdi grezzi di parten-

za, dotati talvolta di un alto contenuto di fibre grezze e/o di materiali ligno-cellulosici (es., i noccioli dei frutti, altro) impone un'ulteriore sistema di triturazione-omogeneizzazione e di affinamento ottenibile con il ricorso a un'adeguata pompa per piccole-medie portate quindi con funzione anche di movimentazione della massa "triturata" ottenuta, con o senza eventuale diluizioni con liquidi (es. acqua, altri reflui agroalimentari disponibili e compatibili) e di caricamento nei bioreattori di fermentazione. In relazione alle diverse tipologie di funzionamento (in batch, in semi-continuo o in continuo) idonei dispositivi a tempo (timer elettrici o a batteria) possono garantire il regolare funzionamento a intervalli prefissati.

Diluizioni. L'impiego di residui verdi triturati ha imposto la valutazione di un opportuno grado di diluizione per ottenere un substrato fluido e per lo più omogeneo caratterizzato da un tenore di circa il 10 % in solidi totali, mediante una diluizioni della massa fresca triturata pari a 50:50 (v/v) con acqua; l'influente così ottenuto è utilizzato per l'alimentazione dei bioreattori mono e bi-fasici a confronto.

3. PROVE FERMENTATIVE SU DIFFERENTI SUBSTRATI ORGANICI PER L'INDIVIDUAZIONE DI STARTER MICROBICI

In questa fase e in via preliminare, sono state allestite e avviate numerose prove fermentative di laboratorio, in microscala, su diversi substrati organici di scarti e reflui dei settori agroindustriali e agroalimentari al fine di individuare colture microbiche (batteriche) più efficienti per la produzione di bio-H₂.

3.1 *Materie prime grezze e loro miscele*

In via preliminare, sono stati saggiati mais, melasso e siero di latte, e loro opportune miscele. Mais in granella sottoposta a cottura a vapore. Tale matrice grezza è stata sottoposta a una fase di pretrattamento mediante triturazione meccanica a 1500 giri per 10 min. La pasta ottenuta è stata utilizzata in diluizione al 50% in peso con H₂O distillata. Il melasso proveniente dallo zuccherificio di Termoli, conservato in fusto a temperatura ambiente, è stato utilizzato in diluizione al 50 % con H₂O distillata. Il siero di latte, proveniente dal Parco Scientifico e Tecnologico del Molise, è stato prelevato a termine

dell'ultrafiltrazione da vasche di stazionamento e utilizzato in diluizione al 50% in peso con H₂O distillata.

3.1.1 Tipo di Inoculo

Il ruolo della tipologia di inoculo microbico sull'efficienza fermentativa dei substrati identificati è stato indagato mediante saggi con 3 tipologie di starters:

a) Coltura mista da fango biologico anaerobico di depurazione dell'impianto di acque reflue civili e industriali CONIV spa di Vasto-Montenero di Bisaccia (CB);

b) *E. coli* 17/05L, precedentemente isolato da latte e presente nella ceppo-teca del DiBT – UniMolise;

c) Miscela di *E. coli* 17/05L + coltura mista (50:50).

Dall'insieme dei risultati ottenuti mediante analisi gas-cromatografica dello spazio di testa delle numerose prove di fermentazione per la produzione di bioH₂, allestiti in laboratorio è emerso che:

- indipendentemente dalla tipologia di substrato organico, qualitativamente i componenti principali sono risultati essere nel biogas H₂, CO₂, mentre nel substrato fermentato acido acetico;
- l'impiego di differenti colture microbiche impiegate come inoculi, in presenza vari residui organici, ha mostrato capacità produttiva variabili e una produzione di H₂ più alta registrata a 20°C e con inoculo di cellule vitali di *E. coli* ceppo 17/05;
- tra le matrici vegetali saggiate, la miscela di mais, siero di latte e melasso (45:45:10) e di mais e siero di latte (70:30);
- da immagini al microscopio ottico ed elettronico a scansione è stata inoltre osservata una abbondante e diffusa colonizzazione di cellule di *E. coli*, ceppo 17/05L sulle superfici dei residui grezzi in fermentazione, confermata da dati quali-quantitativi ottenuti mediante conte microbiche colturali.

4. FASE SPERIMENTALE IMPIANTO PILOTA, IN LABORATORIO, ALIMENTATO DA BIOMASSE PREDEFINITE

Le attività hanno riguardato lo studio, la progettazione e la realizzazione di un di un prototipo di impianto pilota per la produzione di bioH₂ e bioCH₄ a 2 fasi distinte. Pertanto si è prevista la definizione e l'allestimento di pro-

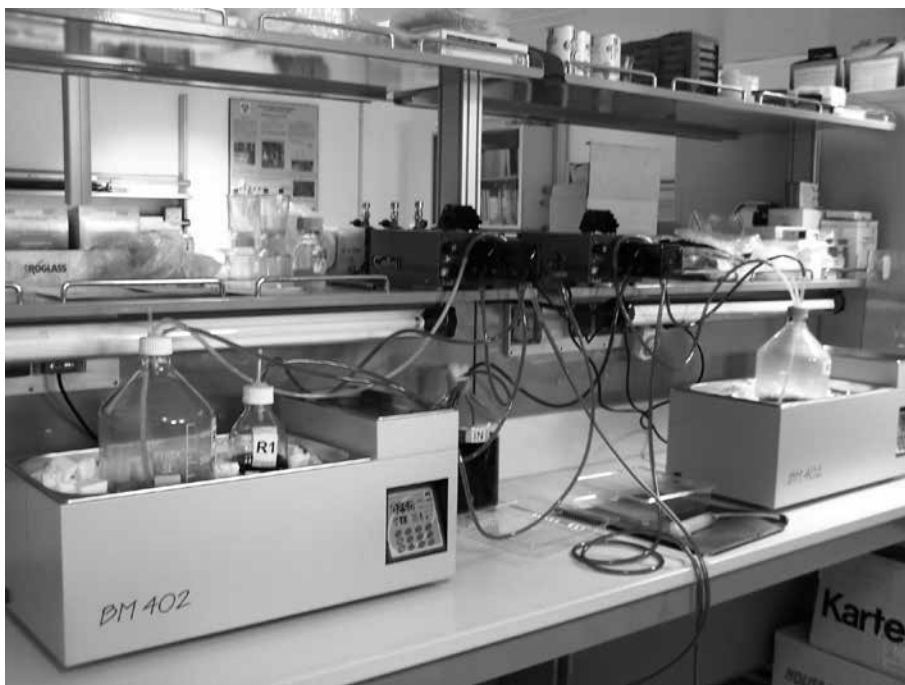


Foto 1 Impianto pilota di laboratorio di digestione anaerobica a 2-stadi (R1 e R2) e monostadio (R2+) con sistema di termoregolazione a bagnomaria

totipo di impianto pilota a due fasi (reattori R1 e R2, a biomassa microbica dispersa), in scala di laboratorio, alimentato con reflui e residui dell'agro-industria, in modalità semi-continua per la produzione al buio di BioH_2 e BioCH_4 .

A - Dal punto di vista impiantistico, l'innovazione ha previsto la realizzazione di un impianto costituito da due Reattori R1 e R2: il primo destinato alla fase fermentativa, con recupero di idrogeno, il secondo destinato alla fase di produzione di metano. L'idrogeno formatosi nel reattore R1 è stato recuperato man mano che si produceva, mentre nel reattore R2 la biogenesi di metano avveniva a spese dell'acetato resosi disponibile come residuo di fermentazione dal primo reattore.

Un'ulteriore innovazione di processo è stata quella di ottenere un incremento delle rese di produzione di bioidrogeno da biomasse rinnovabili attraverso un processo, che pur sottoposto a variazioni di parametri impiantistici e quindi potenziali stress esterni sul consorzio microbico definito (mesofilo, termofilo), è stato capace di risposte stabili e positive.

B - Come sistema controllo, è stato realizzato un impianto pilota da laboratorio di digestione anaerobica mono-stadio, di pari capacità volumetrica. In tale condizione, le fasi di Bio- H_2 e di Bio- CH_4 sono intrinsecamente associate e la comunità microbica risulta pertanto operare in forma ristretta, sia di competizione che di sinergismo.

Pertanto, l'innovazione di processo messa a punto ha previsto la separazione in 2 Fasi, con modifica di dimensionamento (riduzione dei rapporti volumetrici) tra i due bio-reattori R1:R2 con valori di circa 1:5 per la fase Bio- H_2 e Bio CH_4 , rispettivamente.

L'impianto pilota a due fasi, in scala di laboratorio, alimentato in semi-continuo per la produzione di Bio- H_2 e Bio- CH_4 è costituito da due bio-reattore R1 e R2, in vetro pyrex, dotati di tappo a vite e chiusura di gas, della capacità di 1,0 e 5,0 litri rispettivamente. I bio-reattori, distinti tra loro ma connessi idraulicamente mediante tubi in gomma trasparente, sono collegati opportunamente nelle sedi di una pompa peristaltica elettrica a tre vie (Cclai, Milano, mod 402S) per piccole portate. Nella sommità dei bioreattori (nei tappi, in PVC) sono state predisposte più condotte a tenuta sia di gas che di liquidi da utilizzare per l'introduzione/uscita dei substrati IN/OUT da fermentare e/o già fermentati, così come per la raccolta delle miscele di biogas sviluppate dai reattore (Bio CH_4 e Bio H_2). Il sistema di alimentazione dei bio-reattori può essere di tipo discontinuo o semicontinuo garantito dagli intervalli predisposti su specifico timer che agisce sul funzionamento (velocità e durata) del circuito chiuso e dalla pompa per piccole portate.

L'impianto pilota di controllo, monofase (reattore R2*, a biomassa microbica dispersa), in scala di laboratorio, alimentato in semi-continuo per la produzione di Bio H_2 e Bio CH_4 è una forma semplificata del prototipo sperimentale precedente ed è costituito da un singolo bio-reattore come R2*, in vetro pyrex, dotato di tappo a vite e chiusura a tenuta di gas, della capacità totale di 5.0 litri.

4.1 Acquisizione dati analitici e prestazionali dell'impianto pilota, in laboratorio, alimentato da biomasse

Gli andamenti delle produzioni di bio-idrogeno in impianto a 2-Stadi – nel reattore R1 alimentato con substrato di melasso di barbabietola diluito, hanno mostrato differenze marcate tra i test a confronto, mostrando nel tempo produzioni trascurabili (<5%) nelle condizioni di assenza di agenti tampone; ciò è da porre in correlazione con i valori bassi di pH, critici e limitanti la fase idrolitica e acetogenica (pH < 4.5).

Inoltre, il ricorso ad agenti tampone o il parziale ricircolo dell'effluente finale del reattore R2, rispettivamente appaiono incidere positivamente sulla produzione di bio-idrogeno. Pertanto, nella prospettiva di incrementare le rese in H_2 non si potrà ignorare una o l'altra soluzione ben sapendo che la soluzione basata su un parziale tempestivo ricircolo dell'effluente finale dal bio-reattore R2 fin dall'avvio del processo appare essere una soluzione capace di indurre stabilità al sistema. Gli andamenti delle produzioni di bio-metano in impianto a 2-Stadi nel reattore R2 alimentato con substrato di melasso di barbabietola diluito, hanno mostrato una maggior stabilità nel tempo, se correlate all'andamento della formazione di $BioH_2$ nel reattore R1. Tuttavia, nell'arco di tempo della sperimentazione (30 gg), nella produzione di metano si sono registrate differenze marcate tra i test a confronto, mostrando nel tempo produzioni via via inferiori in condizioni operative impiantistiche di assenza di agenti tampone; ciò è da porre in correlazione con i valori bassi di pH, critici e limitanti la fase metanogenica ($pH < 5.5$).

Infatti, il ricorso ad agenti tampone o il tempestivo (dall'avvio del processo, al $T=0$) e parziale (1/4 in volume) ricircolo dell'effluente digerito dal reattore R2 in ingresso al reattore R1 appaiono tradursi favorevolmente sulla maggior stabilità e incremento nella produzione di bio-metano. Questo sistema rappresenterebbe una riduzione significativa del consumo di agenti tampone, anche se comporterebbe una complessità addizionale di gestione nella quota di ricircolo. Infine gli andamenti delle co-produzioni di bio-idrogeno e bio-metano in impianto Monostadio (reattore R2+) alimentato con substrato di melasso di barbabietola diluito, hanno mostrato una minor stabilità nel tempo, con minori produzioni totali, soprattutto se correlate all'andamento dello sviluppo di $bio-H_2$ e di $bio-CH_4$, ottenuti in reattori distinti R1 e R2 (processo bi-stadio), rispettivamente. Pertanto, nella prospettiva di incrementare le rese in CH_4 nel test Controllo (monostadio) non si potrà ignorare una soluzione capace di offrire alcalinità esogena anche ricorrendo all'apporto di reflui e/o substrati grezzi più o meno concentrati capaci di tamponare e offrire maggior stabilità al sistema.

4.1.1 Punti di forza e criticità emersi nell'arco delle sperimentazioni condotte nei sistemi e processi adottati in scala di laboratorio (bi-stadio vs mono-stadio)

- 1) L'uso di substrati velocemente metabolizzabili (melasso) induce una rapida formazione di acidi volatili e alcoli con rischio di accumulo nel mezzo e conseguente repentino abbassamento di pH.

- 2) Il ricorso ad agenti tampone appare essere una soluzione quasi obbligata; infatti i risultati ottenuti, in analogia anche a quanto riportato in bibliografia, suggeriscono di utilizzare questa tecnica. D'altra parte, gli elevati costi correlati all'uso di tamponi inducono a percorrere vie alternative, di minor costo, ugualmente funzionali agli obiettivi fissati. Pertanto l'opportunità di introdurre ad esempio, una fase dedicata di ricircolo parziale "bottom-top" tra i due reattori nel processo bi-stadio potrebbe essere una strada percorribile con risultati positivi. A regime, infatti, l'effluente finale potrebbe contribuire a fungere da agente tampone quando addizionato nell'influente grezzo nella prima fase di fermentazione.
- 3) Quando si utilizzano substrati ricchi in carboidrati velocemente fermentescibili, in sistemi e processi bi-stadio distinti, è opportuno porre adeguata attenzione all'individuazione del più favorevole e ottimale tempo di residenza (HRT), quale giusto rapporto di permanenza degli influenti tra i 2 reattori dedicati in via preferenziale alla produzione separata di idrogeno e metano. Questo aspetto delicato dell'ottimizzazione deve essere oggetto di idonee verifiche e test stress in impianto pilota in scala semi industriale in quanto in scala di laboratorio i volumi adottati hanno mostrato risposte non univoche.
- 4) Dal punto di vista impiantistico, il sistema sperimentale basato sul processo fermentativo a 2-stadi separati appare di maggior complessità nella gestione in scala semi-pilota di laboratorio rispetto al sistema tradizionale mono-stadio (controllo).

Infatti, punti critici appaiono essere un numero totale doppio di aperture (IN/OUT) nei 2 reattori, sia per tenuta idraulica che per tenuta dei gas (e non ultimo per l'anaerobiosi interna).

Un aspetto non trascurabile inoltre appare essere correlato al diretto collegamento, via pompa a tenuta, tra il reattore R1 (idrolisi e acetogenesi) con il reattore R2 (metanogenesi): in fase di scarico di parte dell'effluente digerito, nel rispetto dei parametri fissati di ritenzione (HRT), il sistema tende a mostrare instabilità con fenomeni più o meno evidenti di depressione (a seguito dello scarico parziale dal R2, ad esempio) e richiamo di gas dal sistema in circolazione.

Una soluzione al problema potrebbe essere rappresentata da uno stadio aperto intermedio (pozzetto di carico/scarico tra i due reattori R1 e R2) anche se ciò può indurre una perdita di massa /acqua e gas oltre che una riduzione delle condizioni di anaerobiosi. Peraltro, ciò consentirebbe un più facile controllo del pH a valori ottimali, con eventuali correzioni attraverso aggiunte esterne di agenti tampone.



Foto 2 Impianto pilota a due fasi (reattori R1+R2, a biomassa microbica dispersa), in scala semi-industriale, alimentato in semi-continuo per la produzione di Bio-H₂ e Bio-CH₄

5. MESSA A PUNTO DI UN IMPIANTO PILOTA IN SCALA SEMI-INDUSTRIALE BIFASE PER LA PRODUZIONE DI BIO-H₂ E BIO-CH₄

In linea con la proposta iniziale e alla luce delle indicazioni emerse dalle sperimentazioni nelle precedenti fasi in scala di laboratorio, è stato progettato e realizzato un processo microbiologico fermentativo (dark fermentation) avanzato per la produzione di Bio-idrogeno da Biomasse (agroindustriali) rinnovabili basato su un processo bifasico alimentato, in continuo, in scala semi-industriale.

L'impianto è costituito da due bio-reattori R1 e R2, in PVC, della capacità di 300 litri (forma cilindrica) per Bio-H₂ e di 1000 litri (forma di parallelepipedo) per Bio-CH₄. Ciascun serbatoio è dotato di apertura superiore con tappo a vite sul coperchio. I bio-reattori, distinti tra loro, sono stati collegati idraulicamente mediante tubi in gomma PET, e tramite aperture di pompe elettriche (BE-50) per piccole portate. Nella sommità dei bio-reattori (nei tappi, in PVC) sono stati predisposti rubinetti per la fuoriuscita dei gas collegati per mezzo di tubi di minor diametro direttamente ai gas-meter separati (G1, G2) posti in prossimità. Le miscele di biogas sono stoccate momentaneamente in gasometro a sacco telato per le analisi qualitative dei gas in GC. Allo stesso modo, sia il substrato crudo da GDO da sottoporre a fermentazio-

ne, che gli effluenti dai bio-reattori già fermentati adottano ingressi e uscite IN/OUT dotati di rubinetti a tenuta, posti in basso e in posizioni idonee lungo il profilo verticale dei serbatoi. Campioni di effluenti digestati sono prelevati e stoccati in serbatoi finali in attesa di essere impiegati e/o analizzati. Le tipologie di fermentazione sono di tipo anaerobico, con biomassa dispersa, senza agitazione, in condizioni di temperatura non controllata (in serra non riscaldata).

Il sistema di alimentazione dei bio-reattori può essere di tipo discontinuo o semicontinuo garantito dagli intervalli predisposti su specifico timer che agisce sul funzionamento (velocità e durata) del circuito chiuso e dalla pompa per piccole portate; così, il substrato crudo della GDO, dopo 2 pre-trattamenti meccanici di triturazione (a) grossolana, (b) fine, viene pompato dal tank di diluizione-miscelazione iniziale, nel bio-reattore R1, quindi dopo un definito (HRT1) viene trasferito in anaerobiosi nel reattore R2; da quest'ultimo, infine, dopo un intervallo di tempo definito (HRT2) viene definitivamente allontanato e stoccato in idoneo serbatoio in PVC. Qui di seguito si riportano i risultati ottenuti in impianto semi-industriale alimentato con residui della grande distribuzione (GDO) diluiti. Si confrontano le performance dell'impianto pilota sperimentale messo a punto a due stadi (R1 + R2) con l'impianto monostadio di tipo tradizionale (R2+), entrambi basati sul processo fermentativo di digestione anaerobica finalizzati alla produzione di biogas (Bio- H_2 e Bio- CH_4).

5.1 *Risultati delle sperimentazioni con residui verdi in scala semi-industriale: bi-stadio vs mono-stadio*

Sistema BI-STADIO

Evoluzione produzione di H_2 e biogas. In impianto di digestione anaerobica bi-fase, nel reattore R1 in generale la produzione specifica di idrogeno (pari a 10-130 litri H_2 /kg TVS (Total Volatile Solids), valore medio 56 litri H_2 /kg TVS) appare significativa ed elevata all'avvio del processo, come conseguenza di opportuni e robusti inoculi di microflora presente in campioni di fango anaerobico proveniente da digestore in scala reale alimentato da reflui civili. In questa fase, la rimozione di carboidrati risulta elevata. Successivamente nel tempo la produzione tende a decrescere in relazione con un abbassamento marcato del pH verso valori più acidi. La concentrazione di H_2 nel biogas passa dal 10-20% in volume iniziale (prime settimane) a valori costantemente inferiori al 5% dopo 70 giorni di funzionamento; l'adozione di HRT brevi di

3gg, nel bio-reattore R1 dell'impianto bi-fase (H_2) abbinato a un rapporto di ricircolo adeguato da $R2 > R1$, appaiono essere capaci di riportare l'andamento della produzione specifica di bio- H_2 su valori stabili e pari a quelli della fase di avvio. Questo risultato è la conseguenza del ruolo benefico della quota di ricircolo tra l'effluente digerito del reattore R2 nel tamponare l'eccesso di acidità dovuta alla matrice altamente fermentescibile nel reattore R1.

Evoluzione produzione di CH_4 e biogas. In impianto di digestione anaerobica bi-fase, nel reattore R2, in generale, la produzione specifica di metano (pari a 250-350 litri CH_4 /kg TVS, media 292) appare significativa, con punte di 450 litri CH_4 /kg TVS dopo 15-18 gg dall'avvio del processo, come conseguenza di adattamento e selezione di una comunità stabile di microflora metanogenica sia verso i metaboliti intermedi (AGV) che relativamente ai parametri impiantistici (HRT). Anche la concentrazione di CH_4 nel biogas risulta stabile nel tempo, con valori compresi tra il 50-70 % in volume (media 59%).

Sistema MONO-STADIO CONVENZIONALE

Evoluzione produzione di H_2 e biogas. In impianto di digestione anaerobica mono-fase convenzionale, nell'unico reattore R2+, la produzione specifica di idrogeno è in genere trascurabile. Tale produzione è il risultato di interazioni microbiche complesse che non evolvono in modo significativo a favore di una prevalente biomassa capace di produrre bio- H_2 . Infatti è il risultato di interazione tra gruppi microbici eterogenei quali idrolitici, acidogenici, acetogenici e metanogeni-idrogenotrofi e acetotrofi.

Il biogas ricco in idrogeno è presente solo all'avvio del processo ed è il risultato dell'attività metabolica di opportuni e robusti inoculi di microflora presente in campioni di fango anaerobico da impianti trattamento reflui civili.

Evoluzione produzione di CH_4 e biogas. In impianto di digestione anaerobica mono-fase convenzionale, nell'unico reattore R2+, in generale, la produzione specifica di metano mostra valori pari a 100-130 litri CH_4 /kg TVS, con media 110 solo nelle prime settimane dall'avvio del processo. Tale fenomeno può essere messo in relazione all'iniziale adattamento e selezione di una comunità apparentemente stabile della microflora metanogenica verso i metaboliti intermedi (AGV) inizialmente liberati.

Tuttavia, a tempi successivi, allorquando si sono adottati contemporaneamente parametri impiantistici meno favorevoli (brevi HRT), formazioni e

accumulo di AGV, abbassamento repentino dei valori di pH del mixer liquor, si sono registrate brusche riduzioni nella concentrazione di CH_4 nel biogas (valori <30 %) con conseguente significativa riduzione della produzione specifica di bio- CH_4 , fino a raggiungere valori del tutto trascurabili.

5.1.1 Punti di forza e criticità emersi nell'arco delle sperimentazioni condotte nei sistemi e processi adottati con GDO in scala pilota semi-industriale (bi-stadio vs mono-stadio)

pH. I substrati e gli scarti verdi della GDO risultano velocemente metabolizzabili e capaci di indurre una rapida formazione di acidi volatili e alcoli, con il conseguente rischio di accumulo nel mezzo e repentino abbassamento di pH. Peraltro, a pH 7,0 non si è rilevato un significativo incremento nella produzione di H_2 , da correlare a un effetto sull'adattamento della comunità microbica alla neutralità;

Evoluzione dei carboidrati. I valori delle rese di degradazione nei diversi test sperimentali testimoniano elevate biodegradabilità con valori molto simili, pertanto l'influenza del pH sul grado di abbattimento dei carboidrati appare trascurabile;

Ricircolo. Il ricorso ad agenti tampone appare essere una soluzione non rigorosamente obbligata (in contrasto con i dati in laboratorio, ottenuti però su altre matrici quali il melasso). Conferme di questa considerazione emergono anche dalla bibliografia. L'uso di agenti tampone appare però assolutamente necessario quando il pH scende a valori inferiori a 5.0; in questi casi, gli elevati costi correlati al ricorso all'uso di agenti tampone inducono a percorrere vie alternative, di minor costo ma ugualmente funzionali agli obiettivi fissati.

Pertanto l'introduzione di una fase di ricircolo parziale "bottom-top" tra i due reattori nel processo bi-stadio potrebbe essere un'opzione percorribile con risultati positivi. A regime, infatti, l'effluente finale potrebbe agire da agente tampone quando addizionato nell'influente grezzo nella prima fase di fermentazione.

HRT. Quando si utilizzano substrati ricchi in carboidrati velocemente fermentescibili in sistemi e processi bi-stadio distinti, è opportuno porre adeguata attenzione all'individuazione del tempo di residenza (HRT) più favorevole e ottimale, quale giusto rapporto di permanenza degli influenti tra i 2 reattori dedicati in via preferenziale alla produzione separata di idrogeno e

metano. Questo aspetto delicato dell'ottimizzazione è stato oggetto di idonee verifiche e stress test in impianto pilota in scala semi-industriale.

Stabilità. Dal punto di vista impiantistico, il sistema sperimentale basato sul processo fermentativo a 2 stadi separati appare di maggior complessità nella gestione in scala pilota semi-industriale rispetto al sistema tradizionale monostadio (controllo); tale aspetto peraltro era già emerso nelle prove preliminari in scala di laboratorio. Infatti, punti critici appaiono essere un numero totale doppio di aperture (IN/OUT) nei 2 reattori, sia per tenuta idraulica che per tenuta dei gas e per l'anaerobiosi interna. Un aspetto non trascurabile inoltre appare essere correlato al diretto collegamento, via pompa a tenuta, tra il reattore R1 (idrolisi e acetogenesi) e il reattore R2 (metanogenesi): in fase di scarico di parte dell'effluente digerito, nel rispetto dei tempi fissati di ritenzione (HRT), il sistema tende a mostrare lieve instabilità con fenomeni più o meno evidenti di depressione (a seguito dello scarico parziale dal R2, ad esempio) e richiamo di gas dal sistema in circolazione. Una pratica per minimizzare quanto sopra potrebbe essere l'effettuare un numero di operazioni di scarico/carico di minor entità volumetriche, pur evitando fenomeni di wash-out di quote di influenti non ancora fermentati. Un'altra soluzione potrebbe essere rappresentata dall'introduzione di uno stadio intermedio (pozzetto di compensazione di carico/scarico tra i due reattori R1 e R2), anche se ciò potrebbe indurre come conseguenza una perdita di massa /acqua e gas, oltre che attenuare le condizioni di stretta anaerobiosi. D'altra parte, ciò consentirebbe un più facile controllo del pH, con eventuali correzioni di aggiunte esterne di agenti tampone.

Andamento degli AGV. Il monitoraggio degli AGV (Acidi Grassi Volatili) rappresenta un aspetto fondamentale per il controllo dell'intero processo di digestione anaerobica. Le concentrazioni di acido acetico e butirrico sono tra loro confrontabili e con andamenti temporali simili, per pH intorno a 6,0-6,5 (fermentazione di tipo butirrico) ai quali è associata una maggior produzione di bio-H₂.

5.1.2 Confronto tra digestione anaerobica convenzionale a singolo stadio (monostadio) e processo a doppio stadio, alimentato con residui crudi della GDO

Nelle migliori condizioni sperimentali, il processo semi-continuo a doppio stadio ha consentito di ottenere una produzione specifica di idrogeno di 56

litri H_2 /kg TVS, e una produzione specifica di metano di 292 litri CH_4 /kg TVS. Questi valori corrispondono a un contenuto energetico del biogas pari a circa 10.600 kJ/kg TVS, significativi se confrontati con le basse performance dell'analogo processo ma condotto in impianto convenzionale monostadio, sempre alimentato con residui della GDO.

Qualora si desiderasse procedere a un confronto con dati della letteratura scientifica e con altre matrici organiche, per una stima di massima dei vantaggi del processo a 2 stadi funzionante con GDO, i valori sopra riportati devono essere correlati con le rese di produzione di processi monostadio convenzionali alimentati con fanghi e FORSU; in questi casi sono riportati valori compresi tra 230 (Bolzonella et al., 2003) e 336 (Davidsson et al., 2007) litri CH_4 /kg TVS.

Le valutazioni appena esposte, pertanto danno indicazioni di grande interesse sulla reale possibilità di valorizzazione energetica dei residui dell'agro-industria per l'ottenimento di Bio- H_2 e Bio- CH_4 in impianti a doppio stadio. Infine, si dovrebbe tener conto di una valutazione più ampia che consideri le modalità di valorizzazione energetica del biogas ottenuto, i costi associati, il bilancio ambientale complessivo, le opportunità normative di incentivazione.

6. CONCLUSIONI

L'idrogeno è un combustibile pulito, la cui combustione genera solo vapore d'acqua; risulta pertanto evidente l'importanza di sviluppare un'economia basata su questo vettore energetico per ridurre le emissioni di gas serra e l'utilizzo di combustibili fossili. Le attuali tecnologie di produzione di idrogeno però non sono indipendenti dall'uso di fonti fossili, motivo per il quale lo sviluppo di processi tecnologici per la produzione di idrogeno da fonti rinnovabili per via microbiologica appare particolarmente promettente. In particolare, la possibilità di ottenere idrogeno a partire da scarti vegetali ampiamente disponibili e rinnovabili rende i processi microbiologici particolarmente interessanti, una volta superati i limiti biologici e tecnologici che ancora ne impediscono lo sfruttamento economicamente sostenibile.

A tal proposito, i risultati ottenuti nel corso del progetto IMERA consentono di trarre una serie di conclusioni circa l'applicabilità del processo investigato e l'importanza di numerosi fattori ai fini dell'ottimizzazione delle rese del processo di fermentazione. Dagli studi condotti nei tre anni del progetto IMERA è apparso evidente come il processo sia ancora oggi a uno stadio sperimentale e richieda quindi ulteriori approfondimenti ai fini del miglioramento delle rese di produzione del biogas.

Il presente studio ha evidenziato la fondamentale importanza, ai fini di una buona resa di produzione biologica di idrogeno, dell'uso di inoculi costituiti da microrganismi noti per avere buone rese invece di utilizzare quelli spontaneamente presenti nei residui vegetali.

Per quanto riguarda le caratteristiche dei substrati di origine vegetale da utilizzare per il processo, è apparsa evidente la buona resa di conversione, nonché l'ampia disponibilità costante nel tempo, degli scarti verdi della grande distribuzione, ricchi in carboidrati fermentescibili particolarmente adatti per i processi fermentativi.

È stato inoltre osservato che la produzione di idrogeno è influenzata da un gran numero di parametri di processo. Nel caso della digestione anaerobica con separazione delle fasi, si è osservato che la stabilità del processo dipende dal carico organico applicabile, dalla temperatura, dal pH, dalla modalità e dall'intensità di miscelazione, dai tempi di residenza idraulica. Inoltre, è emersa l'opportunità di controllare il rilascio di metaboliti nel mezzo, che variano al variare dei parametri operativi, la pressione parziale di idrogeno e il potenziale redox. Infatti, va sottolineato come questi parametri diano informazioni sui percorsi metabolici prevalenti, la regolazione dei quali rappresenta il fattore chiave ai fini della massimizzazione delle rese di produzione. Mediante la digestione di rifiuti agro-industriali è stato possibile ottenere buone rese di produzione di idrogeno. Per quanto riguarda la produzione di metano, le rese energetiche ottenute negli esperimenti di digestione anaerobica condotti nel corso del presente studio sono risultate sempre confrontabili con quelle documentate in altri studi disponibili nella letteratura scientifica, dimostrando la validità del sistema sperimentale e il buon controllo dei parametri operativi effettuato.

RINGRAZIAMENTI

Il progetto IMERA è stato finanziato dal Ministero delle Politiche agricole, alimentari e forestali (MIPAAF) nell'ambito del bando per il finanziamento di progetti di ricerca nel settore "*Bioenergetico*".

RIASSUNTO

L'utilizzo indiscriminato di fonti non rinnovabili e perciò esauribili, pone sia il problema di garantire la sicurezza dell'approvvigionamento di energia che quello di arginare l'impatto ambientale che tale uso comporta. L'idrogeno costituisce una delle possibili alternative ai combustibili fossili in quanto è una fonte energetica pulita e può essere pro-

dotto da fonti rinnovabili. Alla luce di queste considerazioni, lo sfruttamento di risorse energetiche rinnovabili, quali sono quelle derivabili dal sistema agroindustriale, può assumere una notevole importanza, sia dal punto di vista economico che dal punto di vista ambientale. La produzione di idrogeno e metano a partire da substrati vegetali da parte di microrganismi rappresenta una attraente e ambiziosa possibilità. Lo sviluppo di un'economia fondata sull'idrogeno richiede quindi l'implementazione di metodi di produzione economicamente e tecnicamente competitivi. L'interesse di questo rilancio su basi nuove di queste tipologie avanzate impiantistiche ha trovato un interessante riscontro nell'ambito del progetto IMERA (Idrogeno e Metano da residui dell'agroindustria) finanziato dal MIPAAF. Nel corso del progetto è stato realizzato un impianto avanzato per la produzione di bio-idrogeno e bio-metano alimentato in continuo da residui dell'agroindustria, in scala pilota, basato su un processo microbico fermentativo a due fasi separate. Sono stati selezionati substrati fermentescibili idonei tra quelli più diffusamente presenti nel territorio nazionale e caratterizzati da un modesto valore commerciale (residui verdi della Grande Distribuzione Organizzata). La separazione e la co-produzione di biogas in due fasi distinte con riduzione dei rapporti volumetrici di 1:5 per la fase di Bio- H_2 e Bio- CH_4 rispettivamente, si è tradotta in minor costi di investimento e rese energetiche più elevate. I risultati ottenuti mostrano le grandi potenzialità del processo bifasico per la valorizzazione dei residui vegetali. La strategia più opportuna potrà essere la realizzazione di impianti il più vicino possibile a territori a vocazione agro-industriale garantendone in modo più efficiente la produzione di Bio-Idrogeno e Bio-metano.

ABSTRACT

Hydrogen and methane co-production from food waste was examined using a two-stage process of anaerobic digestion. The two-stage process with recycle consisted of two reactor parts named as the first-stage hydrogenic reactor (R1) and the second-stage methanogenic reactor (R2). A two phase process suggested in this study effectively separate H_2 -producing bacteria from methanogenic archaea by optimization of design parameters such as pH, hydraulic retention time (HRT) pre-treatments of solid food waste and type of microbial inocula. The results showed the technical feasibility of the production process with advantages in terms of stability (pH control) of the volumes generated and the quality of the biogas produced compared to conventional patterns of anaerobic digestion.

BIBLIOGRAFIA

- ANGELIDAKI I., ELLERGANRD. (2003): *Codigestion of manure and organic wastes in centralized biogas plants*, «Applied Biochemistry and Biotechnology», 109, pp. 95-105.
- ANGELIDAKY I., AHARING B.K. (1994): *Anaerobic thermophilic digestion of manure at different ammonia loads: effect of temperature digestion*, «Water Research», 28, pp. 727-731.
- BANKS C.J., ZHANG Y., JIANG Y., HEAVEN S. (2012): *Trace element requirements for stable food waste digestion at elevated ammonia concentrations*, «Bioresource and Technology», 104, pp. 127-135.
- BOLZONELLA D., BATTISTONI P., MATA-ALVAREZ J. CECCHI F. (2003): *Anaerobic digestion*

- of organic solid wastes: process behaviour in transient conditions*, «Water Science and Technology», 48, pp. 1-8.
- BOUALLAGUI, H., TOUHAMI, Y., BEN CHEIKH R., HAMDI, M. (2005): *Bioreactor performance in anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes*, «Process Biochemistry», 40, pp. 989-995.
- CLIMENHAGA M.A., BANKS C.J. (2008): *Uncoupling of liquid and solid retention times in anaerobic digestion of catering wastes*, «Water Science and Technology», 58, pp. 1581-1587.
- DAVIDSSON A., GRUVBERGE C., CHRISTENSEN T.H., HANSEN T.L., JANSEN J.C. (2007): *Methane yield in source-sorted organic fraction of municipal solid waste*, «Waste Management», 27, pp. 406-414.
- LIU D., ZENG R.J., ANGELIDAKI I. (2006): *Hydrogen and methane production from household solid waste in the two stage fermentation process*, «Water Research», 40, pp. 2230-2236.
- MATA-ALVAREZ J., MACÉ S., LLABRÉS P. (2000): *Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives*, «Bioresource Technology», 74, pp. 3-16.
- MOSEY F. E., FERNANDES X. A. (1989): *Patterns of Hydrogen in Biogas from the Anaerobic Digestion of Milk-Sugars*, «Water Science & Technology», 21, pp. 187-196.
- NEIVA CORREIA C., VAZ F., TORRES A. (2008): *Anaerobic digestion of biodegradable waste-operational and stability parameters for stability control*, in Proceedings of the 5th IWA International Symposium on Anaerobic Digestion of Solid Wastes and Energy Crops, Hammamet pp. 157-159.
- NIELSEN H.B., MLADENOVSKA Z., WESTERMANN P., AHRING B.K. (2004): *Comparison of two-stage thermophilic (68°C/55°C) anaerobic digestion with one-stage thermophilic (55°C) digestion of cattle manure*, «Biotechnology and Bioengineering», 86, pp. 291-300.
- PAIN B.F., HEPHERD, R. Q. (1985): *Anaerobic digestion of livestock wastes*, in *Anaerobic Digestion of Farm Waste*, «NIRD Technical Bulletins», pp. 9-14.
- PARAWIRA W., MURTO M., READ J. S., MATTIASSON B. (2007): *A Study of Two-Stage Anaerobic Digestion of Solid Potato Waste using Reactors under Mesophilic and Thermophilic Conditions*, «Environmental Technology», 28, pp. 1205-16.
- STRONACH S.M., RUDD T., LESTER J.N. (1986): *Economic considerations*, in *Anaerobic Digestion Processes in Industrial Wastewater Treatment*, a cura di Springer-Verlag, Berlin, pp. 161-174.
- WARD A.J., HOBBS P.J., HOLLIMAN P.J., JONES J.L. (2008): *Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources*, «Bioresource and Technology», 99, pp. 7928-7940.

Produzione di idrogeno con batteri fotosintetici da effluente di impianto di biometanazione di residui dell'agroindustria

I. ENERGIA E SOSTENIBILITÀ

È noto che oltre l'80% dell'energia primaria prodotta e consumata ogni anno dagli oltre sei miliardi di esseri umani che vivono sul nostro pianeta è ottenuta utilizzando combustibili fossili (carbone, petrolio, gas naturale). Secondo le proiezioni dei consumi di energia primaria ottenuta da fonti di natura fossile, nei prossimi anni è atteso un incremento dei consumi superiore al 50% rispetto ai valori di inizio millennio, con un aumento quasi proporzionale delle emissioni annue di anidride carbonica, che passerebbero dai circa 20 miliardi di tonnellate del 1990 ai circa 40 miliardi di tonnellate del 2030 (IEA, 2006). Le conseguenze di queste scelte di politica energetica sarebbero la riduzione delle riserve di fonti energetiche non rinnovabili, quali sono i combustibili fossili, e l'emissione nell'atmosfera di grandi quantità di gas inquinanti, tra i quali l'anidride carbonica, che è uno dei gas causa dell'effetto serra e del conseguente aumento della temperatura del pianeta.

La situazione italiana continua a essere caratterizzata dal ricorso a un *mix* differenziato di fonti che ci pone in una particolare situazione di dipendenza e quindi di vulnerabilità. In tale quadro diventa strategico porre in essere lo sviluppo di soluzioni che coniughino il concetto di fabbisogno energetico a quello di sostenibilità nel significato più ampio del termine. Nel 2009 la produzione di elettricità da fonti rinnovabili nel nostro paese è stata di poco inferiore a 79 TWh, corrispondente a circa il 20% dell'energia elettrica totale richiesta, con il contributo idroelettrico pari da a quasi il 16% e il resto deri-

* Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agroalimentari e dell'Ambiente (DISPAA), Università di Firenze

vante dalla sommatoria di tutte le altre fonti classificabili come rinnovabili: geotermico, eolico e biomassa compresa la valorizzazione energetica dei rifiuti urbani e agricoli. Ancora trascurabile in valore assoluto il contributo del fotovoltaico che rappresenta appena lo 0.2%.

Settore di primario interesse è costituito dallo sfruttamento delle biomasse, per le quali il *Position Paper* del Governo italiano del 2007 stabilisce in 14,50 TWh il potenziale italiano al 2020 per l'elettricità prodotta da biomasse, gas di discarica e depurazione biologica, rispetto a una produzione al 2005 di 6,16 TWh.

In un'ottica di sviluppo sostenibile, è ormai chiaro che lo sfruttamento delle risorse naturali deve necessariamente rivolgersi al riuso di materiali di scarto e al miglior sfruttamento delle biomasse. Da questi materiali, la tecnologia è oggi in grado di ricavare le cosiddette materie prime seconde costituite da scarti di lavorazione delle materie prime oppure da materiali derivati dal recupero e dal riciclaggio dei rifiuti. Queste possono essere ulteriormente elaborate, e in conclusione essere disponibili, seppure in parte, per fini energetici tramite lo sviluppo di biocombustibili (come ad esempio l'idrogeno o il metano). Inoltre, lo studio della riduzione dei gas serra quali la CO_2 può essere diretto alla sua valorizzazione a derivati ad alto contenuto energetico a basso costo e ampiamente disponibili. Questo lavoro è inserito all'interno di un progetto che affronta in modo sinergico le tematiche di valorizzazione delle biomasse e scarti vegetali per produzione di bioidrogeno integrandosi alla produzione di biometano.

Infatti, alcuni dei processi più efficienti per ottenere energia dai residui vegetali vedono coinvolti specifici gruppi di microrganismi, i quali, metabolizzando i substrati vegetali per produrre energia, potere riducente e i precursori metabolici necessari a sintetizzare nuovi costituenti cellulari, liberano come prodotti di scarto metano o idrogeno, sostanze che possono essere utilizzate dall'uomo come combustibili alternativi a quelli di origine fossile. Ad esempio, il biogas ottenuto dalla digestione anaerobica di varie tipologie di residui dell'agroindustria è composto per il 50-80% di metano. Nel corso dell'ultimo decennio si è osservato un crescente interesse verso questo tipo di fonte energetica rinnovabile, sia per ragioni economiche che per ragioni ambientali, tanto che l'Unione Europea ha stabilito l'obiettivo di raggiungere, entro il 2010, una produzione di biogas pari a 15 milioni di tonnellate di petrolio equivalente, corrispondente a circa il doppio della quantità ipotizzabile in base alla tendenza attuale.

Parallelamente, in seguito alla crescente attenzione allo sviluppo sostenibile e minimizzazione degli sprechi, la ricerca sulla produzione di idro-

geno per via biologica si è intensificata negli ultimi anni. La produzione di energia pulita e la possibilità di utilizzare materiali di scarto rende la produzione biologica di H_2 un promettente approccio per affrontare l'aumento della richiesta energetica sostituendo i combustibili fossili (Holladay et al., 2009) con un combustibile il cui utilizzo non preveda emissioni di CO_2 .

2. PRODUZIONE BIOLOGICA DI IDROGENO – FOTOFERMENTAZIONE

I processi microbiologici per la produzione di idrogeno sono: la biofotolisi dell'acqua, condotta da microalghe e cianobatteri; la fermentazione al buio, condotta da batteri chemoeterotrofi fermentativi (sia mesofili che termofili); la fotofermentazione condotta da batteri rossi fotosintetici; infine i sistemi integrati che operano in due fasi: nella prima si utilizzano batteri chemoeterotrofi fermentativi, che producono idrogeno e acidi organici a partire da substrati poveri derivabili da materiali organici di scarto; nella seconda gli acidi organici risultanti dalla fermentazione della prima fase sono utilizzati dai batteri fotosintetici per un'ulteriore produzione di H_2 (Das e Verziroglu, 2000). Questo tipo di processo può essere condotto anche tramite la fermentazione di residui alimentari o di scarti delle industrie agricole, riducendo così da una parte i costi di smaltimento dei rifiuti, dall'altra i costi per la produzione biologica di H_2 (Kapdan e Kargi, 2006).

I batteri rossi non solfurei (BRNS) sono spesso indicati in letteratura come i più promettenti per la produzione fotobiologica di H_2 , data la loro alta resa teorica di conversione del substrato in idrogeno, la capacità di utilizzare un ampio spettro della radiazione luminosa e la loro grande versatilità metabolica che permette loro di utilizzare per la produzione di idrogeno substrati organici di varia origine e natura (Basak e Das, 2007). L'enzima responsabile della produzione di H_2 è la nitrogenasi, che riduce i protoni a idrogeno molecolare come sottoprodotto della fissazione dell'azoto; in assenza di azoto molecolare, questo enzima produce solamente idrogeno. La reazione, altamente dispendiosa dal punto di vista energetico, è inibita per *feedback*-negativo dalla presenza di ammonio (Larimer et al., 2003).

Approfondire l'influenza dell'azoto sulla produzione di idrogeno ha un importante risvolto applicativo: quando l'idrogeno viene prodotto in processi a due fasi, la composizione dell'effluente dalla prima fermentazione, che molto frequentemente contiene ammonio in quantità tali da inibire l'attività della nitrogenasi, ha effetti sulla crescita e sulla produzione di idrogeno dei

batteri fotosintetici. È perciò importante determinare le concentrazioni limite di ammonio ed eventualmente eliminare o ridurre la sensibilità della nitrogenasi a questo ione. Qualora infatti si avesse uno *shift* del metabolismo verso la crescita e non più verso la produzione di idrogeno, gli acidi organici presenti nel mezzo di coltura verrebbero interamente utilizzati per la sintesi di nuovi costituenti cellulari, annullando la conversione del substrato carbonioso in idrogeno.

Il motivo dell'utilizzo di fermentati derivanti dall'attività di batteri chemoeterotrofi per la produzione di idrogeno con i BRNS, come detto, è la riduzione dei costi di una parte del processo (Das, 2009): infatti il processo al momento risulta costoso sia da un punto di vista energetico (energia luminosa richiesta) che dei materiali impiegati (substrati e fotobioreattori).

Recentemente, è stata infatti dimostrata la fattibilità di un processo a due stadi, il primo dei quali consisteva nella fermentazione spontanea di residui vegetali provenienti dal mercato ortofrutticolo di Firenze, condotta dalla microflora autoctona presente sui residui stessi, con produzione di un fermentato ricco in acido lattico e acetico. Nel secondo stadio, gli acidi prodotti nella precedente fase venivano utilizzati da batteri foto-sintetici rossi non sulfurei per produrre idrogeno. Infine, è stata dimostrata sperimentalmente la possibilità di utilizzare direttamente l'idrogeno prodotto per questa via per alimentare una cella a combustibile di nuova concezione, ottenendo energia elettrica. Gli ottimi risultati ottenuti, pubblicati sul *Journal of Biotechnology* (De Philippis et al., 2007) suggeriscono di proseguire e approfondire le ricerche al fine di giungere a ottimizzare le varie fasi del processo.

3. UTILIZZO DI MATERIALI DI SCARTO COME SUBSTRATO PER LA FOTOFERMENTAZIONE – PROBLEMI

L'utilizzo di materiali di scarto si rivela estremamente vantaggioso per il suo impatto sia ambientale che energetico.

Tuttavia, da un punto di vista applicativo l'utilizzo di scarti comporta una serie di problemi derivanti proprio dalla natura complessa e mista degli stessi. Infatti non necessariamente un materiale di scarto di un determinato processo produttivo possiede tutte le caratteristiche che consentano una appropriata crescita microbica. In particolare per quanto riguarda la crescita di microrganismi fotosintetici, quali i BRNS, la questione dell'appropriatezza del substrato si fa ancora più complessa.

Generalmente, riguardo all'utilizzo di scarti come substrato, tra le proble-

matiche più frequenti c'è la possibile mancanza di nutrienti essenziali. Ci si riferisce in questo caso non solo alle fonti di nutrimento macroscopiche come fonti di carbonio, azoto (che merita una trattazione a parte per i BRNS), potassio, fosforo, zolfo, ecc., ma anche e soprattutto le fonti di microelementi metallici che risultano indispensabili per alcuni processi cellulari. Ad esempio, per i BRNS è sicuramente indispensabile la presenza di ferro per poter formare i centri ferro-zolfo attivi nell'enzima nitrogenasi, responsabile della formazione dell'idrogeno; altro microelemento indispensabile è il magnesio, atomo centrale della batterioclorofilla (come anche della clorofilla) senza il quale non viene svolta fotosintesi. Fortunatamente gli scarti utilizzati in questo studio erano scarti provenienti dall'agro-industria, quindi già piuttosto ricchi di nutrienti sia macro che micro.

Altro aspetto problematico può essere la presenza di composti tossici, ovvero che a determinate concentrazioni provocano morte cellulare, o di composti inibenti la crescita cellulare o lo svolgimento di alcune vie metaboliche di interesse. Ad esempio, per quanto riguarda il processo di produzione di idrogeno con BRNS, un composto "insospettabilmente" indesiderato è proprio l'azoto in forma ammoniacale. L'ammonio, infatti, non è assolutamente tossico, anzi la sua presenza favorisce la crescita cellulare, ma questa molecola è il principale inibitore dell'enzima nitrogenasi. Pertanto in presenza di ammonio la crescita cellulare sarà ottimale, ma non avremo produzione di idrogeno, data la mancata attività dell'enzima che lo produce. Quindi nel caso della produzione di idrogeno per fotofermentazione, la concentrazione di ammonio deve essere controllata. Concentrazioni troppo elevate di questa molecola, soprattutto in caso di concentrazione di composti carboniosi troppo bassa, possono rendere inutilizzabile lo scarto.

Inoltre, un aspetto ulteriore legato all'utilizzo di organismi fotosintetici e che può rendere l'utilizzo di scarti infattibile o problematico è il colore del substrato. Una delle questioni più rilevanti nella produzione di idrogeno con batteri fotosintetici, e in generale con l'utilizzo di microrganismi fotosintetici, è proprio la distribuzione della luce all'interno dei fotobioreattori (Adessi e De Philippis, 2013); in presenza di substrati il cui colore non permetta una corretta distribuzione della luce o una sufficiente irradiazione delle cellule, è necessario abbattere il colore o aumentare l'intensità della radiazione incidente.

Per la seconda soluzione, nel caso si utilizzi illuminazione artificiale, si avrebbe un aumento dei costi sia economici che energetici del processo. Per la prima delle soluzioni, ovvero l'abbattimento del colore, la pratica più utilizzata è la diluizione del substrato con acqua.

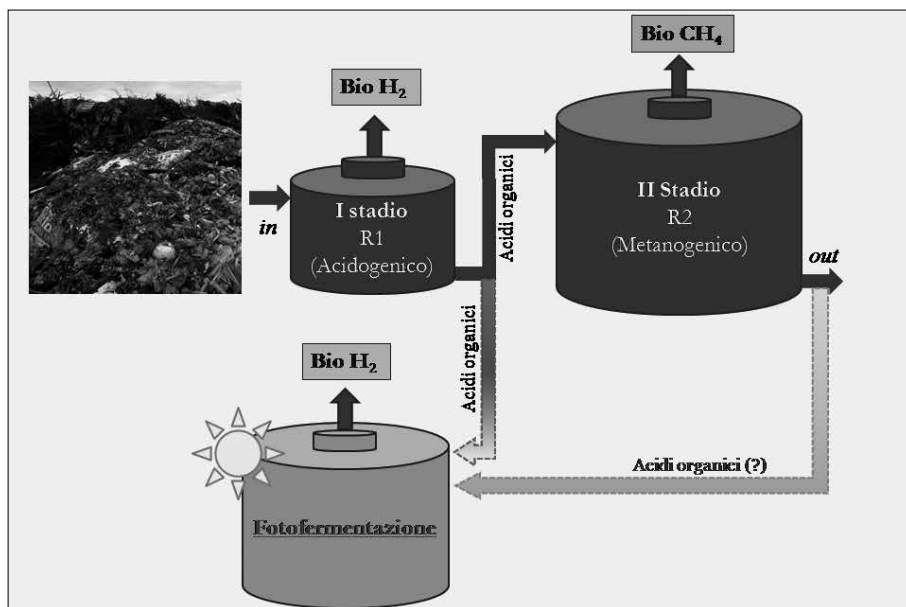


Fig. 1 *Rappresentazione schematica del progetto sperimentale*

Diluire uno scarto quindi diventa non solo una soluzione per abbattere il colore, ma risulta anche utile nel caso in cui la concentrazione di ammonio sia troppo elevata (e la concentrazione di fonti di carbonio sia sufficientemente elevata per permetterlo). Sfortunatamente da un punto di vista di sostenibilità ambientale diluire gli scarti ha un impatto negativo non solo perché si aumenta il volume di quello che deve essere smaltito come scarto, ma anche per la scarsa disponibilità di acqua dolce (che è necessario utilizzare per la diluizione, a meno che non si utilizzino microrganismi alofili o alotolleranti).

È perciò preferibile minimizzare il numero di trattamenti da effettuare sullo scarto, di modo che il suo utilizzo sia il più agevole e col minor impatto possibile sull'ambiente.

4. PRODUZIONE DI IDROGENO DA EFFLUENTI DI IMPIANTO DI BIOMETANAZIONE

4.1 *Schema sperimentale*

La sperimentazione è stata progettata come schematizzato in figura 1. Scopo dell'attività era quello di valutare la possibilità di inserire la fotofermentazione

a valle della fase acidogenica (I stadio, R1) e/o della fase metanogenica (II stadio, R2) per la produzione a più fasi di biocombustibili quali, appunto, il bioidrogeno e il biometano. Il I e il II stadio sono stati condotti presso il DiBT dell'Università degli Studi del Molise dal gruppo di ricerca guidato dal prof. G. Ranalli. L'attività del nostro gruppo di ricerca è stata svolta a partire dai suddetti effluenti.

Durante il I stadio i residui della GDO venivano (in seguito a opportuna triturazione e sospensione in acqua) fermentati da una comunità di batteri chemioeterotrofi, in grado di degradare gli zuccheri ad acidi organici e idrogeno. L'effluente di questa prima fase veniva poi utilizzato o direttamente per la fotofermentazione (a opera di batteri rossi), o per alimentare il reattore R2 nel quale avveniva metanogenesi a opera di una comunità di batteri metanogeni. L'effluente di questo II stadio veniva poi saggiato (nel caso contenesse ancora acidi organici) per la produzione di idrogeno tramite fotofermentazione.

All'interno di questa sperimentazione si è voluto valutare se fosse possibile inserire la fotofermentazione come alternativa alla metanogenesi o a valle del sistema per un eventuale recupero del potere riducente in "avanzo" contenuto in acidi organici che non fossero stati convertiti in metano.

4.2 Scelta del substrato iniziale

Una valutazione accurata supportata da dati statistici ha consentito di porre una particolare attenzione e interesse verso residui del comparto agro-industriale riconducibile in larga parte alla grande distribuzione alimentare; più in particolare gli scarti vegetali dei comparti della grande distribuzione organizzata (GDO) comprendenti frutta e verdure di ipermercati, supermercati, mense collettive, mercatali.

Tali biomasse, appaiono essere interessanti per il loro valore energetico intrinseco (ricchi in carboidrati fermentescibili), esenti da plastiche, vetri e metalli; relativamente omogenei merceologicamente in virtù di una sempre più ampia offerta di prodotti in periodi di più ampia stagionalità, spiccatamente concentrati in aree limitate già in origine, non sempre attualmente destinate e gestite razionalmente nel rispetto dell'ambiente (es. destinate in discarica) e/o dal punto di vista del recupero energetico (es. per ottenimento di sostanze umificate-compostate dopo processo di compostaggio). Peraltro, da indagini specifiche condotte direttamente presso alcuni reparti e comparti della GDO è emerso un dato economico assai interessante: in termini di costi giornalieri medi, i residui verdi della GDO possono mediamente rappresentare il 3-5%

	EFFLUENTE R1	EFFLUENTE R2
Lattico (g/L)	19.46	0
Acetico (g/L)	8.34	1.4
Ammonio (mg/L)	270	920

Tab. 1 *Composizione dei prodotti di fermentazione e metanogenesi*

del fatturato giornaliero della medesima struttura distributiva (Comunicazioni personali, Auchan, Pescara, 2010). Tale dato inoltre può essere utilizzato come stima indiretta del volume di scarti verdi quotidiani prodotti dalla GDO in Italia, e quindi, dopo accurata verifica, poter essere una base di partenza per una valutazione sul dimensionamento dei futuri impianti in scala semi-reale e industriale operanti con i principi innovativi della biotecnologia microbica a cui si ispira il presente progetto. Pertanto, l'analisi e le molteplici considerazioni qui sopra richiamate ha condotto all'identificazione in definitiva di matrici agroindustriali quali residui verdi dell'agroindustria della GDO quale substrati energetici di partenza per produrre BioH_2 e BioCH_4 .

4.3 Risultati

Sono innanzitutto stati analizzati i prodotti di fermentazione e metanogenesi, frutto della sperimentazione condotta dal gruppo di ricerca del Prof. Ranalli presso l'Università del Molise.

Sono state effettuate analisi chimiche tramite cromatografia liquida per la determinazione della composizione in zuccheri e acidi organici, mentre la concentrazione dello ione ammonio è stata determinata tramite metodo colorimetrico. I risultati delle analisi sono riportati in tabella 1.

Dalle analisi effettuate appare evidente come al termine della prima fase si abbiano acidi organici in alte concentrazioni, mentre al termine della seconda gli acidi organici siano praticamente assenti e sia molto elevata la concentrazione di azoto.

Data la concentrazione di acidi estremamente ridotta e la concentrazione di ammonio molto elevata, l'effluente R2 non è stato usato come substrato per la fotofermentazione. Questo sta a indicare che un processo di metanogenesi efficiente sia in grado di recuperare tutta l'energia contenuta nel substrato e convertirla in metano; non ci sono pertanto "avanzi" di potere riducente.

Per quanto riguarda l'effluente della fase R1, invece, seppure la concentrazione di ammonio sia notevolmente più elevata del limite che consente produzione di idrogeno (45 mg/L, Adessi et al. 2012), tale substrato può es-

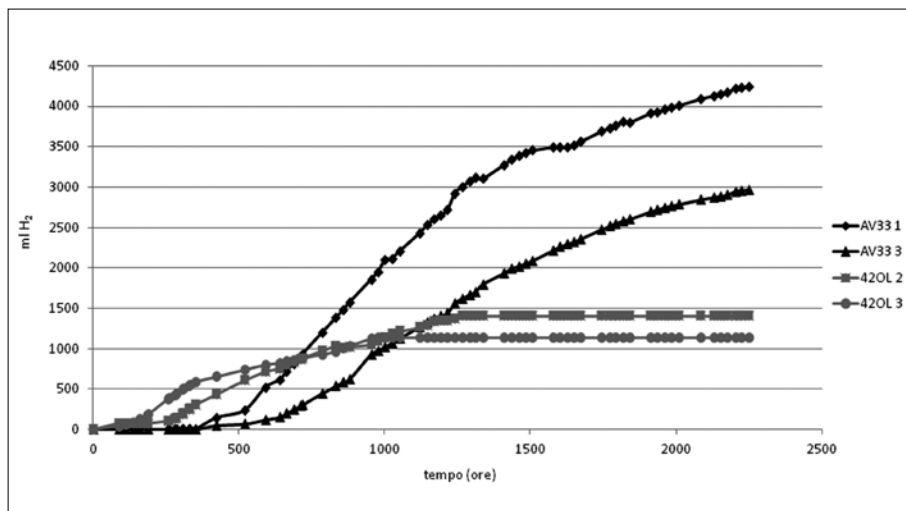


Fig. 2 ml di H_2 accumulati nel tempo dai ceppi *R. palustris* AV33 e 42OL in crescita su substrato derivante da fermentazione di residui della GDO

sere diluito al fine di abbattere la concentrazione di ammonio presente mantenendo una sufficiente concentrazione di acidi organici, presenti in quantità estremamente abbondante.

In particolare, l'effluente derivante dal reattore R1 è stato utilizzato previa diluizione con aggiunta di 2 parti di acqua. Si è scelto di diluire 3 volte, per avere una concentrazione di ammonio minore (90 mg/L), in modo che potesse essere consumato rapidamente per la crescita e quindi scendere sotto il limite per la produzione di idrogeno. Questa scelta è stata effettuata anche per limitare l'aumento di costi e di volume dello scarto, legati alla diluizione (come trattato nel paragrafo 3).

In questa prova sono inoltre stati valutati diversi possibili parametri che hanno solitamente effetti positivi sulla produzione di idrogeno: l'aggiunta di microelementi e di vitamine che sono presenti nei mezzi sintetici di coltura dei BRNS; l'allontanamento dell'ossigeno dall'atmosfera del fotobioreattore; l'incremento di intensità della radiazione luminosa. Queste prove sono state effettuate con due ceppi di *Rhodopseudomonas palustris* AV33 e 42OL.

In figura 2 sono riportati i risultati di produzione di idrogeno dei due ceppi: il ceppo 42OL è quello che ha mostrato una maggiore facilità di adattamento iniziale alle condizioni di coltura, ma dando una resa di produzione di idrogeno totale piuttosto bassa (tab. 2). Il ceppo AV33 ha mostrato una maggiore variabilità nella risposta, ma comunque una maggiore capacità di produrre idrogeno sul substrato in esame, nonostante un più lungo periodo

	AV33	42OL
Volume di H ₂ prodotto per litro di coltura (L L ⁻¹)	14.42 ± 3.60	5.09 ± 0.75
Tasso medio (mL L ⁻¹ h ⁻¹)	7.35 ± 2.75	5.35 ± 0.31
Efficienza Fotosintetica (%)	1.33 ± 0.50	0.97 ± 0.06

Tab. 2 *Risultati di produzione di idrogeno dei ceppi R. palustris AV33 e 42OL in crescita su substrato derivante da fermentazione di residui della GDO*

di adattamento. Inoltre bisogna sottolineare che alla 500° ora è stata aumentata l'intensità luminosa da 200 a 300 W m⁻². Questo aumento di intensità non ha avuto effetto sulla produzione del ceppo 42OL, ma ha invece avuto un effetto nettamente positivo sulla produzione da parte del ceppo AV33, la cui velocità di accumulo dell'idrogeno è aumentata di circa 5 volte.

I risultati ottenuti con il ceppo di *R. palustris* AV33 appaiono promettenti, in quanto la produzione totale di gas per litro di coltura ha raggiunto i 14.42 litri. Considerando che a T e P ambiente la densità del H₂ è 0,082gr/L e il PCI è pari a 120kJ/gr sono stati ottenuti, da un punto di vista energetico, 142 kJ per litro di coltura.

5. CONCLUSIONI

L'idrogeno è un combustibile pulito, la cui combustione genera solo vapor d'acqua; risulta pertanto evidente l'importanza di sviluppare un'economia basata su questo vettore energetico per ridurre le emissioni di gas serra e l'utilizzo di combustibili fossili. Le attuali tecnologie di produzione di idrogeno però non sono indipendenti dall'uso di fonti fossili, motivo per il quale lo sviluppo di processi tecnologici per la produzione di idrogeno da fonti rinnovabili per via microbiologica appare particolarmente promettente. In particolare, la possibilità di ottenere idrogeno a partire da scarti vegetali ampiamente disponibili e rinnovabili rende i processi microbiologici particolarmente interessanti, una volta superati i limiti biologici e tecnologici che ancora ne impediscono lo sfruttamento economicamente sostenibile.

A tal proposito, i risultati ottenuti nel corso della sperimentazione qui presentata consentono di trarre una serie di conclusioni circa l'applicabilità del processo investigato e l'importanza di numerosi fattori ai fini dell'ottimizzazione delle rese del processo di fermentazione. Dagli studi condotti è apparso evidente come il processo sia ancora oggi a uno stadio sperimentale e richieda quindi ulteriori approfondimenti ai fini del miglioramento delle rese di produzione del biogas. Tuttavia, l'utilizzo del fermentato derivante

dal I stadio acidogenico per la produzione di idrogeno con batteri rossi non sulfurei (BRNS) ha determinato una elevata resa di conversione energetica del substrato.

Il presente studio ha inoltre evidenziato la fondamentale importanza delle caratteristiche dei substrati di origine vegetale da utilizzare per il processo; è apparsa evidente la buona resa di conversione in acidi organici (nella prima fase di fermentazione), nonché l'ampia disponibilità costante nel tempo degli scarti verdi della grande distribuzione, ricchi in carboidrati fermentescibili particolarmente adatti per i processi fermentativi.

È stato inoltre osservato che la produzione di idrogeno con BRNS è influenzata da un gran numero di parametri di processo. In particolare, è emersa l'importanza della luce come fattore determinante per ottenere una buona resa di produzione. Nel caso si utilizzi luce artificiale, il guadagno energetico diventa nullo (o addirittura negativo), nonostante l'energia prodotta sotto forma di idrogeno. Una prospettiva applicativa più interessante risiede infatti nell'utilizzo della radiazione solare, che non costituisce un dispendio energetico.

Tuttavia, nei sistemi che operano con luce solare si riscontrano svantaggi a causa della sua variabilità, dovuta sia al ciclo luce/buio naturale che alle variazioni di intensità nel corso del giorno, e all'intensità troppo alta raggiunta in alcune fasi del giorno che potrebbe provocare un foto-danneggiamento delle cellule (Adessi, 2013).

Nel caso della sperimentazione qui presentata, di per contro, è stato dimostrato come un aumento della intensità della radiazione costituisca un vantaggio, risultato che permette di vedere una possibile soluzione ad almeno uno dei problemi derivanti dall'utilizzo della luce solare.

D'altronde, l'unica possibilità di proporre la produzione biologica di idrogeno con BRNS come processo industriale economicamente ed energeticamente sostenibile è strettamente legata non solo all'utilizzo di scarti come substrato ma anche alla capacità di utilizzare l'energia solare in maniera efficiente.

RINGRAZIAMENTI

I risultati riportati in questo lavoro sono frutto dell'attività di ricerca svolta all'interno del progetto triennale IMERA, finanziato dal MIPAAF, e condotta all'interno delle strutture del Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agroalimentari e dell'Ambiente (DISPAA) dell'Università di Firenze.

Si ringraziano per la loro collaborazione il Prof. Roberto De Philippis, il Dott. Giovanni Colica e la Dott.ssa Dayana Muzziotti, afferenti al DISPAA; il Prof. Giancarlo Ranalli, il Dott. Giuseppe Lustrato, il Dott. Gabriele Alfano e la Dott.ssa Claudia Belli afferenti al DiBT – Università del Molise; la Dott.ssa Donatella Santinelli e il Dott. Andrea Carlucci di Studio Italia srl.

RIASSUNTO

L'idrogeno è un combustibile pulito, la cui combustione genera solo vapor d'acqua. La possibilità di ottenere idrogeno a partire da scarti vegetali ampiamente disponibili e rinnovabili rende i processi microbiologici particolarmente interessanti.

Scopo dell'attività di ricerca era quello di valutare la possibilità di inserire la fotofermentazione a valle delle fasi acidogenica e/o metanogenica per la produzione a più fasi di biocombustibili quali, appunto, il bioidrogeno e il biometano. L'intero processo è stato condotto a partire da residui selezionati della grande distribuzione organizzata.

Lo studio ha evidenziato la fondamentale importanza delle caratteristiche dei substrati di origine vegetale da utilizzare per il processo; è stata ottenuta una elevata resa di conversione energetica del substrato tramite fotofermentazione per la produzione di idrogeno utilizzando il fermentato derivante dal I stadio acidogenico.

È inoltre emersa l'importanza della luce come fattore determinante per ottenere una buona resa di produzione. D'altronde, l'unica possibilità di proporre la produzione biologica di idrogeno con BRNS come processo industriale economicamente ed energeticamente sostenibile è strettamente legata non solo all'utilizzo di scarti come substrato ma anche alla capacità di utilizzare l'energia solare in maniera efficiente.

ABSTRACT

Hydrogen is a clean fuel. Its combustion produces just water and energy. The opportunity of obtaining renewable energy from vegetable residues largely available makes microbiological processes an interesting perspective.

Aim of this research activity was to evaluate the possibility of inserting the photofermentative hydrogen producing process after or in between the acidogenic and/or methanogenic stages. The whole process was conducted starting from selected vegetable residues deriving from department stores.

The study showed how the characteristics of the vegetable substrate chosen had an influence on the whole process; a high conversion yield of the substrate to energy was obtained when producing hydrogen by photofermentation using the effluent of the acidogenic stage as a substrate.

Furthermore, light intensity showed to be very important for obtaining better production rates. Indeed, the only possible applicative solutions for proposing photobiological hydrogen production as an economically and energetically sustainable process are the use of both wastes as substrates and sunlight as the light source.

BIBLIOGRAFIA

- ADESSI A. (2013): *Hydrogen production using purple non-sulfur bacteria (PNSB) cultivated under natural or artificial light conditions with synthetic or fermentation derived substrates*, Firenze University Press, Firenze, Premio FUP. Tesi di Dottorato, 36.
- ADESSI A., MCKINLAY J.B., HARWOOD C.S., DE PHILIPPIS R. (2012): *A Rhodospseudomonas palustris nifA* mutant produces H_2 from NH_4^+ -containing vegetable wastes*, «International Journal of Hydrogen Energy», 37, pp. 15893-15900.
- ADESSI A., DE PHILIPPIS R. (2013): *Photobioreactor design and illumination systems for H_2 production with anoxygenic photosynthetic bacteria: A review*, «International Journal of Hydrogen Energy», 39, pp. 3127-3141.
- BASAK N., DAS D. (2007): *The prospect of purple non-sulfur (PNS) bacteria for hydrogen production: the present state of the art*, «World Journal of Microbiology and Biotechnology», 23, pp. 31-41.
- DAS D., VERZIROGLU T.N. (2000): *Hydrogen production by biological processes: a survey of literature*, «International Journal of Hydrogen Energy», 26, pp. 13-28.
- DAS D. (2009): *Advances in biohydrogen production processes: An approach towards commercialization*, «International Journal of Hydrogen Energy», 34, pp. 7349-7357.
- DE PHILIPPIS R., BIANCHI L., COLICA G., BIANCHINI C., PERUZZINI M., VIZZA F. (2007): *From vegetable residues to hydrogen and electric power: feasibility of a two step process operating with purple non sulfur bacteria*, «Journal of Biotechnology», 131S, pp. S122-S126.
- HOLLADAY J.D., HU J., KING D.L., WANG Y. (2009): *An overview of hydrogen production technologies*, «Catalysis today», 139, pp. 244-260.
- KAPDAN I.K., KARGI F. (2006): *Bio-hydrogen production from waste material*, «Enzyme and Microbial Technology», 38, pp. 569-582.
- LARIMER F.W., CHAIN P., HAUSER L., LAMERDIN J., Malfatti S., DO L., LAND M.L., PELLETIER D.A., BEATTY J.T., LANG A.S., TABITA F.R., GIBSON J.L., HANSON T.E., BOBST C., TORRES Y TORRES J.L., PERES C., HARRISON F.H., GIBSON J., HARWOOD C.S. (2003): *Complete genome sequence of the metabolically versatile photosynthetic bacterium Rhodospseudomonas palustris*, «Nature Biotechnology», 22, pp. 55-61.

Produzione combinata di idrogeno e metano da scarti agro-zootecnici tramite processi biologici

La produzione di idrogeno per via biologica è un settore di ricerca con elevate potenzialità che ha conosciuto un forte sviluppo negli ultimi anni. Si può svolgere per via fotosintetica, o tramite fermentazione “al buio” (dark fermentation) di numerosi composti organici. La dark fermentation è caratterizzata da elevate produttività, e dalla possibilità di utilizzare quali substrati varie matrici organiche di scarto (Wang e Wan, 2009). È ben noto infatti che i processi fermentativi di mono- e disaccaridi, cellulosa e amido generano quantità significative di bio-idrogeno (Rogers e Gottschalk, 1993) e diverse colture e consorzi di batteri anaerobi mesofili sono state testate con prove in batch o fed-batch utilizzando reattori a cellule disperse, ottenendo rese di produzione comprese fra 1 e 2 moli di H_2 per mole di substrato fermentato (Yokoi et al., 2001; Yokoi et al., 2002; Logan et al., 2002); impiegando consorzi e co-culture di batteri mesofili in reattori a biomassa dispersa operanti in continuo con carboidrati complessi, inoltre, sono state ottenute rese anche maggiori, corrispondenti a 1,2-2,6 moli di H_2 per mole di substrato (Harper e Pohland, 1986; Ren et al., 1997; Lay 2000; Hussy et al., 2003).

Nonostante l'enorme quantità di dati che riguardano la produzione di H_2 da batteri mesofili, le informazioni sulla generazione di H_2 da parte di microorganismi termofili sono scarse (Van Ooteghem et al., 2002; van Niel et al., 2003; Kadar et al., 2003). I microorganismi termofili, infatti, hanno idrogenasi con elevata stabilità termica (Chou et al., 2008) e sono in possesso di un'ampia gamma di enzimi capaci di degradare i glicani (Nelson et al., 1999). Questi enzimi offrono la possibilità ai microorganismi termofili di ottimizzare l'utilizzo delle biomasse ricche di polimeri complessi. In particolare diverse specie

* *Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, Università di Bologna*

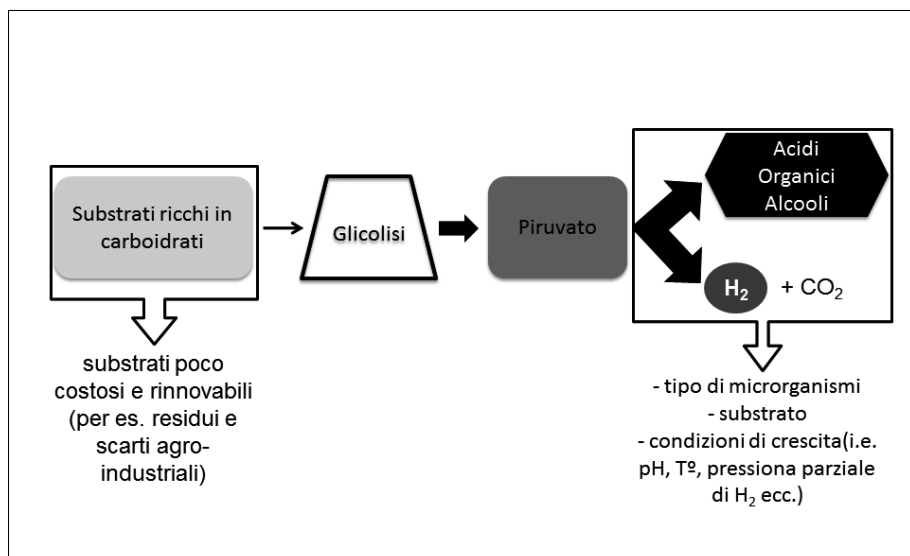


Fig. 1 Schema della produzione di bio- H_2 mediante dark fermentation

di microrganismi ipertermofili microaerofili appartenenti alle famiglie delle *Thermococcales* e *Thermotogales* possono fornire prestazioni superiori agli anaerobi stretti. Inoltre, a favore del possibile impiego dei microrganismi termofili vi è il fatto che la produzione di bioidrogeno nei microrganismi mesofili può essere ridotta o addirittura bloccata a causa della presenza e competizione dei batteri metanogeni che impiegano l'idrogeno prodotto per la produzione di metano (Wang and Wan, 2009), mentre l'incremento di temperatura aumenta la pressione selettiva e riduce lo sviluppo dei metanogeni.

Tra i microrganismi ipertermofili in grado di produrre idrogeno il genere *Thermotoga* ricopre un ruolo rilevante. I batteri appartenenti al genere *Thermotoga* hanno la capacità di utilizzare un'ampia gamma di carboidrati sia semplici che complessi. Alcune specie appartenenti al genere possono metabolizzare carbossi-metilcellulosa, amido, xilano, pectine così come mono- e di-saccaridi semplici come glucosio, xilosio, lattosio e mannosio, producendo, sia in condizioni anaerobiche che microaerofili, H_2 scarsamente contaminato da CO_2 e H_2S (Van Ooteghem et al., 2002). L'utilizzo di microrganismi termofili può inoltre permettere di ottenere un processo produttivo più tollerante verso l'ossigeno, meno sensibile all'inibizione da H_2 , maggiormente protetto verso le contaminazioni da virus e da batteri e caratterizzato da maggiori rese in H_2 (dovuta alla sua ridotta solubilità nel mezzo di reazione a 70-80°C) e da una maggiore purezza dell' H_2 generato (Van Ooteghem et al., 2002, 2005).

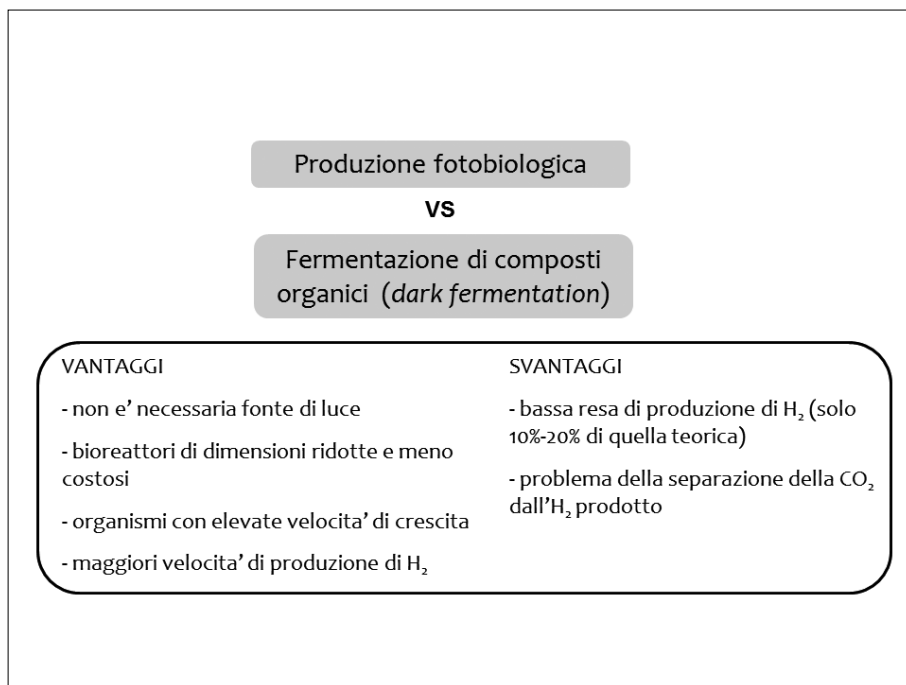


Fig. 2 Confronto tra il processo di produzione di idrogeno fotobiologica e la “dark fermentation”

Le rese e produttività in H₂ ottenute con i processi fermentativi e microaerofili precedentemente descritti sono tuttavia, a oggi, troppo basse per giustificare il loro trasferimento e applicazione su larga scala. Una delle principali cause di ciò è da ricercare nella mancata ottimizzazione della tipologia dei bioreattori e delle loro condizioni operative (Wang e Wan, 2009, Chen et al., 2008). Ahn et al. (2005) hanno evidenziato come la maggior parte degli studi relativi a processi continui siano stati condotti con sistemi a biomassa dispersa mentre la produttività di detti processi potrebbe essere aumentata significativamente impiegando bioreattori a biomassa adesa. Infatti, è stato riportato che l'attività metabolica di alcuni consorzi batterici, così come la loro concentrazione cellulare all'interno del bioreattore, sono maggiori quando impiegati in questi reattori piuttosto che in reattori convenzionali a biomassa libera (Harper e Pohland, 1986; Yu et al., 2003). Inoltre, la presenza di alcuni supporti di immobilizzazione ha avuto un effetto positivo sia sulla biodisponibilità dei substrati di fermentazione che sui potenziali inibitori microbici presenti nella matrice di fermentazione contribuendo a migliorare le prestazioni dei bioreattori a biofilm (Lee et al., 2003; Bertin et al., 2004; Ahn et al., 2005). Infine, l'impiego di questa tipologia di bioreattore riduce l'incidenza

di problematiche di processo, quali tempi di “start-up” lunghi e il rischio di “washout” (Zhang et al., 2008), che frequentemente inficiano l’operatività e la produttività di fermentatori convenzionali a biomassa dispersa operanti in continuo con reflui e scarti dell’industria agro-alimentare (Harper and Pohland, 1986; Yu et al., 2003; Bertin et al., 2004). Lo studio fluidodinamico dei reattori di fermentazione per produzione di idrogeno, che è stato fino a oggi non sufficientemente approfondito, può dare un significativo contributo all’ottimizzazione degli aspetti sopra accennati.

La produttività in H_2 di questi reattori può essere ulteriormente potenziata se, oltre al miglioramento fluidodinamico, si inserisce un modulo a membrana in grado rimuovere il biogas prodotto (Teplyakov et al., 2002; Jeong et al., 2007) lungo la linea di riciclo del reattore. Questo inserimento consente di abbassare la pressione parziale di H_2 nel gas fermentato, evitando l’inibizione dell’attività dei batteri che lo producono e il suo eventuale consumo da parte di batteri idrogenotrofi. (Logan et al., 2002; Hussy et al., 2003). È stato evidenziato ad esempio che l’utilizzo di semplici membrane a base silconiche può portare a incrementi del 15% della resa in H_2 (Liang et al., 2002). Inoltre, la purificazione del biogas in uscita dal reattore, ottenuta con l’utilizzo di membrane selettive, permette di ridurre i post trattamenti di purificazione a valle del reattore; il tutto con limitati costi di investimento dato che, grazie alle blande condizioni operative (pressione atmosferica e temperature medio-basse) la separazione del bioidrogeno tramite membrana consente di usare membrane polimeriche a basso costo, tra cui quelle costituite da poli(vinilcloruro), poli(eter-chetoni), poli imidi, che presentano una alta permeabilità a H_2 (Bélafi-Bakó et al., 2006) e anche una buona selettività ad esempio rispetto all’azoto. Dal punto di vista della separazione a membrana la purificazione di idrogeno è stata studiata a lungo (Ockwig et al., 2007), e sono state considerate diverse tipologie di membrane e materiali in funzione del flusso e della selettività ad altri gas tra cui CO_2 , azoto e metano. La maggior parte dei materiali polimerici sono più permeabili ai composti di dimensioni molecolari minori, quindi all’idrogeno piuttosto che agli altri gas, sicché la maggior parte delle ricerche è stata focalizzata allo studio di membrane idrogeno selettive e di crosslinking (Tin et al., 2003). Tuttavia, per alcuni materiali in cui la solubilità di CO_2 è rilevante, la permeabilità di CO_2 può superare quella di gas con molecole più piccole o con polarità minore (membrane a selettività invertita). Negli ultimi anni alcuni gruppi hanno sintetizzato e studiato materiali polimerici con queste caratteristiche, ottenendo il composto di interesse (H_2 , CH_4) nella corrente di retentato, e quindi a una pressione maggiore, con tutti i vantaggi economici che ciò comporta per la successiva

distribuzione del prodotto. Tra i materiali più promettenti a tale scopo vi è il polietilenglicole diacrilato (PEGda) che può essere funzionalizzato in vari modi, regolandone le proprietà (Patel et al., 2004; Lin e Freeman, 2005).

Il processo di produzione di idrogeno per via biologica potrebbe essere reso ancora più appetibile, in termini economici, se i reflui del primo reattore fossero inviati, con la frazione organica di rifiuti solidi urbani, a un reattore di co-digestione anaerobica (DA) per la produzione di un biogas ricco in metano. Il processo di DA, pur essendo ampiamente studiato e utilizzato nella pratica, richiede di essere ottimizzato caso per caso per quanto concerne sia i parametri di esercizio (pH, temperatura, tempi di residenza), sia la configurazione del processo. Scarse sono invece le informazioni disponibili sulla possibilità di utilizzare la DA nel post-trattamento di effluenti derivanti da altri processi biologici a loro volta alimentati con rifiuti di natura agro-alimentare. D'altra parte, notevole interesse applicativo sembrano avere i processi in cui matrici organiche di natura diversa vengono co-digerite nello stesso sistema (Hartmann e Ahring, 2005); questo comporta infatti diversi vantaggi, tra cui i principali sono: a) la possibilità di convogliare in un unico reattore le diverse matrici da trattare; b) la possibilità di alimentare al sistema substrati complementari, evitando così di doverne aggiungere; c) la possibilità di aggiungere popolazioni microbiche provenienti da diversi ambienti, in grado spesso di interagire sinergicamente e di equilibrarsi a seconda della composizione della matrice da digerire; d) in caso di produzioni stagionali, la possibilità di alimentare comunque il reattore mantenendolo in funzione nell'arco dell'intero anno solare, evitando di ripetere periodicamente lunghe procedure di start-up tipiche dei processi anaerobici. Per quanto concerne la DA della frazione organica di rifiuti solidi urbani, questa dipende strettamente dalla composizione della matrice (Bolzonella et al., 2006): in generale, il processo a carico di una frazione separata alla fonte (frazione organica putrescibile, FOP) è assai più efficiente, in termini di produttività in metano, rispetto ad analogo processo alimentato con una frazione ottenuta per separazione meccanica da raccolta non differenziata (FORSU) (Hartmann e Ahring, 2005). La presenza in quest'ultima frazione di inquinanti tossici per le popolazioni microbiche, tipicamente, xenobiotici e/o metalli pesanti (Hartmann e Ahring, 2005), è tra le cause principali per il diverso comportamento del FOP dal FORSU. Appare quindi di notevole interesse scientifico e applicativo la conduzione di ricerche dedicate allo sviluppo di processi di co-digestione di effluenti ottenuti dal trattamento di rifiuti agro-industriali con FOP e/o FORSU, nota quest'ultima per la tipica scarsa digeribilità.

Il processo integrato presentato potrebbe rendere il processo di bioproduzione di idrogeno appetibile anche dal punto di vista economico. Sulla base

dei risultati ottenuti negli impianti a scala di laboratorio, sembra infatti che i costi della bioproduzione di idrogeno possano risultare confrontabili con gli attuali costi di produzione di combustibili fossili.

RISULTATI OTTENUTI NELL'AMBITO DEL PROGETTO BIOHYDRO

I risultati della ricerca effettuata dalle diverse unità operative dell'Università di Bologna nell'ambito del progetto Bio-Hydro sono illustrati qui di seguito in modo da riassumerli rispetto ai diversi obiettivi previsti dal progetto medesimo:

- a) Bioproduzione di idrogeno: selezione delle matrici di scarto da testare, del ceppo batterico, del terreno ottimale di crescita e del carrier ottimale per lo sviluppo del processo a biomassa adesa.
- b) Bioproduzione di idrogeno: studio fluidodinamico per lo sviluppo in bioreattore del processo a biomassa sospesa e adesa; sviluppo e modellazione cinetica del processo in bioreattore a biomassa sospesa e adesa.
- c) Bioproduzione di idrogeno: sviluppo e modellazione di un processo a membrana per l'arricchimento in idrogeno del biogas prodotto; accoppiamento del modulo a membrana con il bioreattore sviluppato nella fase b).
- d) Bioproduzione di metano: fermentazione dell'effluente dello stadio di bioproduzione di idrogeno, in co-digestione con altri scarti organici; studio cinetico del processo di biometanazione.
- e) Bioproduzione di idrogeno e metano (processo a due fasi): conduzione del processo in modalità batch e continua; valutazione delle rese energetiche ottenute; progetto preliminare di un impianto pilota.
- f) Valutazione dell'utilizzabilità in fuel-cell dell'idrogeno purificato e della possibilità di alimentare il digestato prodotto dal processo a due stadi a impianti di compostaggio.

a) Bioproduzione di idrogeno: selezione delle matrici di scarto da testare, del ceppo batterico, del terreno ottimale di crescita e del carrier ottimale per lo sviluppo del processo a biomassa adesa

Lo screening iniziale condotto fra le matrici di scarto adatte alla bioproduzione di idrogeno e metano e presenti nel territorio della Regione Emilia-Romagna ha portato a identificare il siero di latte e il melasso quali scarti organici per alimentare al primo stadio del processo oggetto del progetto Bio-Hydro.

È stata inoltre identificata la frazione organica dei rifiuti solidi urbani (FOR-SU) quale matrice da alimentare al secondo stadio (stadio di biometanazione) in co-digestione con l'effluente del 1° stadio.

L'attività di ricerca svolta si è incentrata sui seguenti aspetti, preliminari allo sviluppo del processo di bioproduzione di idrogeno da melasso o siero di latte: i) l'acquisizione di microrganismi iper-termofili del genere *Thermotoga*, ii) l'individuazione del ceppo più produttivo in H_2 tra quelli testati, iii) la selezione della miglior matrice agro-zootecnica di scarto e iv) la determinazione dell'eventuale sviluppo di consorzi microbici produttori di H_2 nei diversi bioreattori condotti nell'ambito del progetto.

La prima parte del lavoro si è basata sulla caratterizzazione e sull'ottimizzazione della produzione di bio-idrogeno da parte di quattro ceppi del genere batterico di *Thermotoga* (*T. neapolitana*, *T. maritima*, *T. naphthophila* e *T. petrophila*) cresciuti in colture batch da 119 mL utilizzando come principali fonti di carbonio melasso e siero di latte. È stato definito l'Hepes 100 mM come miglior sistema tampone da introdurre nel mezzo di crescita per limitare la variazione del pH e ottenere buone velocità di produzione di idrogeno con *Thermotoga*. In seguito, sono state determinate le rese di produzione di idrogeno da parte dei 4 ceppi di *Thermotoga* cresciuti su terreni contenenti glucosio, melasso o siero di latte. Ogni ceppo di *Thermotoga* ha dimostrato la capacità di produrre idrogeno convertendo ognuno dei substrati testati con valori di resa ottenuti vicini al massimo teorico di 4 moli di H_2 per mole di glucosio consumata ($2.95 \text{ molH}_2/\text{molmonosaccaride consumato}$ nel caso del melasso e $2.50 \text{ molH}_2/\text{molmonosaccaride consumato}$ nel caso del siero di latte).

È stato poi definito il terreno minimo che permettesse un'efficiente produzione di idrogeno a costi più contenuti. A tal fine, sono stati omessi i principali componenti del mezzo colturale in presenza di melasso o di siero di latte in modo da individuare terreni semplificati, e quindi economici, che consentissero comunque di ottenere alte produttività di idrogeno e alte rese di conversione dei substrati. I risultati hanno mostrato come la composizione del mezzo di crescita in presenza di uno dei due scarti agro-industriali, soprattutto melasso, possa ridursi a quella di un mezzo minerale costituito quasi esclusivamente da sali.

In una seconda fase del progetto, sono stati utilizzati quattro supporti porosi normalmente utilizzati nel campo della biofiltrazione di acquari per studiare la produzione di idrogeno in esperimenti con biomassa adesa. Questi sono stati confrontati in termini di formazione di biomassa adesa e di produzione di idrogeno utilizzando inizialmente *T. neapolitana* come microorganismo modello. Il

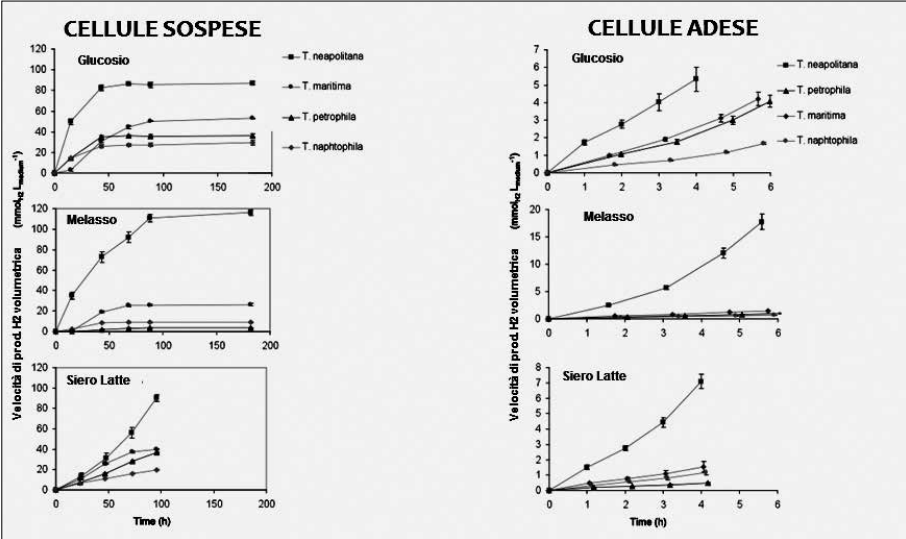


Fig. 3 Produzione di idrogeno con i diversi ceppi di *Thermotoga* impiegati nel progetto utilizzando glucosio, melasso e siero di latte come substrato di crescita

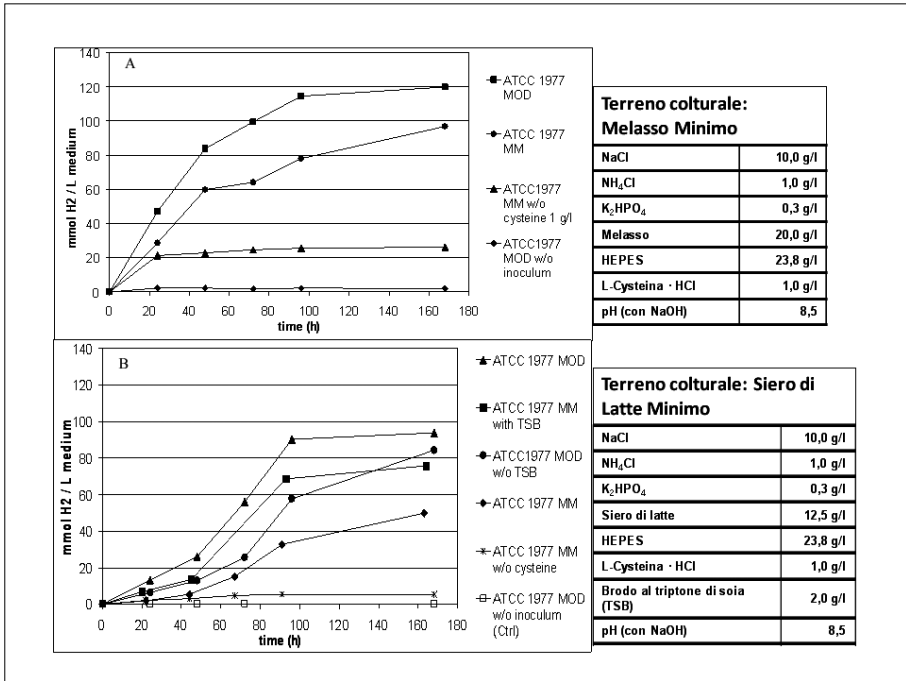


Fig. 4 Produzione di idrogeno con *T. neapolitana* impiegando il terreno semplificato con melasso (A) e siero di latte (B)

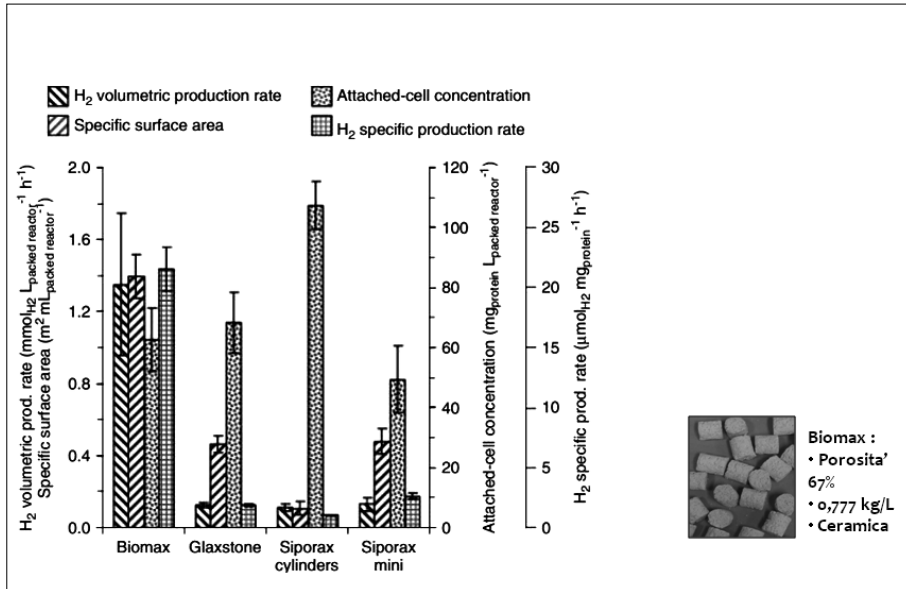


Fig. 5 Produzione di idrogeno per la selezione del miglior supporto per l'adesione di biomassa (biofilm) di *Thermotoga*

supporto Biomax è risultato essere il migliore tra i supporti studiati. A seguito della valutazione della produzione di bioidrogeno da parte dei quattro ceppi di *Thermotoga* cresciuti sottoforma di biofilm adeso su Biomax, *T. neapolitana* ha dato i migliori risultati. *T. neapolitana* è stato quindi scelto come ceppo batterico su cui approfondire lo studio del processo di bio-produzione di H_2 negli esperimenti di scale-up del processo fermentativo. La purezza delle colture di *Thermotoga* è stata verificata mediante l'analisi del 16S rDNA ed è stata dimostrata l'assenza di contaminazione da parte di altre specie batteriche nelle colture batch sotto analisi.

b) *Bioproduzione di idrogeno: studio fluidodinamico per lo sviluppo in bioreattore del processo a biomassa sospesa e adesa; sviluppo e modellazione cinetica del processo in bioreattore a biomassa sospesa e adesa*

L'attività di ricerca condotta dal gruppo "Fluidodinamica Applicata e Miscelazione" ha riguardato le attività di caratterizzazione e di modellazione fluidodinamica dei bioreattori sviluppati per la produzione di idrogeno. Obiettivi dell'attività erano la realizzazione di prototipi, la caratterizzazione e modellazione fluidodinamica dei bioreattori.

Nella prima parte dell'attività sono stati allestite e studiate due tipologie di reattore. Per la tipologia definita come "Bioreattore a biomassa adesa su supporti mantenuti in sospensione tramite agitazione meccanica", sono state considerate due diverse configurazioni geometriche di reattore provvisto di agitazione meccanica: una corrispondente alla cosiddetta geometria standard e l'altra invece non convenzionale, costituita da un reattore snello agitato con due giranti.

Per la tipologia "structured packing continuous stirred tank reactor (SPCSTR)", è stato progettato e realizzato un reattore con caratteristiche spiccatamente innovative. Il comportamento fluidodinamico del reattore è stato caratterizzato attraverso una combinazione di tecniche sperimentali: la tecnica PIV per la misura del campo di velocità, tecniche di analisi di immagini digitali per determinare la forma del vortice centrale responsabile della ricircolazione del gas e per la determinazione della distribuzione dimensionale delle bolle di gas. Inoltre, è stata misurata la portata di gas ricircolato tramite un tubo di Pitot e la potenza consumata dall'agitazione al variare delle condizioni operative tramite l'impiego di un torsionometro. Complessivamente i dati raccolti mostrano che la configurazione SPCSTR è particolarmente funzionale, in quanto è in grado di indurre il moto della fase gassosa esterno al reattore, ove può essere inserito il modulo a membrana per l'arricchimento dell'idrogeno. Operando sulla velocità di rotazione dell'albero risulta anche possibile variare la portata di gas ricircolante, la configurazione appare quindi molto flessibile essendo in grado anche di permettere l'ottimizzazione delle condizioni operative del modulo integrato reattore/membrana.

I risultati ottenuti dall'attività di modellazione, che è stata effettuata con metodi di Fluidodinamica Numerica (CFD), hanno fornito complessivamente un buon accordo con i dati sperimentali e pertanto le strategie di simulazione CFD identificate nell'ambito del progetto possono essere utilizzate sia per l'ottimizzazione fluidodinamica del processo in termini di configurazione geometrica e di condizioni operative, sia per la successiva progettazione dell'impianto pilota.

Sulla base di questi dati sono stati progettati e realizzati e messi in opera due bioreattori per la bioproduzione di idrogeno: un reattore a colonna impaccata, e un reattore agitato della tipologia "structured packing continuous stirred tank reactor" (SPCSTR). Tali reattori sono quindi stati inoculati con *T. nepaolitana* e alimentati con glucosio, ai fini di una valutazione preliminare della loro utilizzabilità. Le prove sperimentali di bioproduzione di H₂ condotte nella colonna impaccata con carrier di tipo Biomax, alimentate con glucosio, hanno rapidamente indicato che tale soluzione impiantistica non è idonea per la bioproduzione di H₂ a partire da matrici zuccherine: infatti la rapida crescita di *T. nepaolitana* ha portato all'intasamento delle porosità interstiziali in alcune sezioni del reattore;

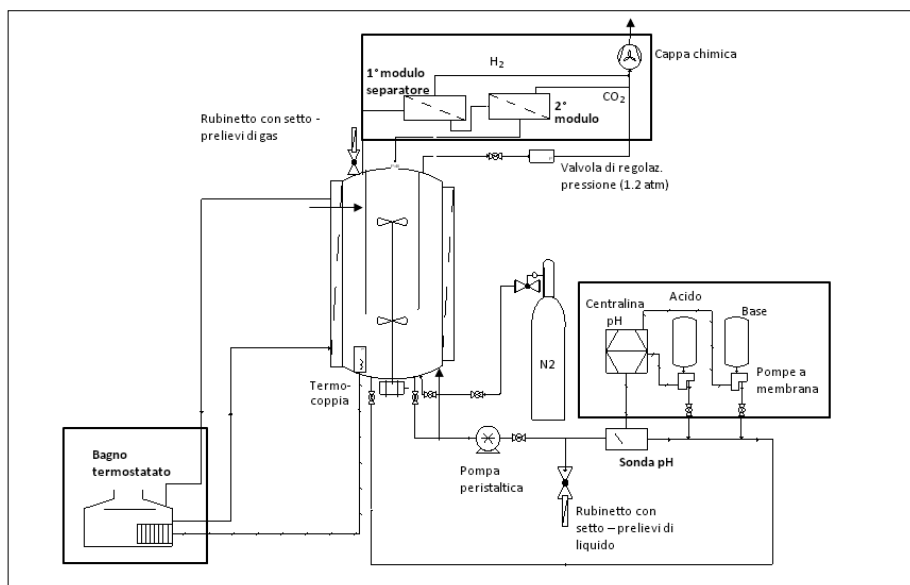


Fig. 6 Schema dell'impianto per la bioproduzione di idrogeno con reattore tipo SPCSTR

inoltre, la struttura dell'impaccamento con il carrier selezionato (Biomax) tende a intrappolare le bolle di biogas prodotte dal processo, ostacolando la raccolta del biogas stesso nella sezione superiore della colonna. Per tale motivo, la maggior parte dell'attività relativa alla bioproduzione di H_2 in reattore è stata condotta con il reattore SPCSTR, avente un volume totale di 19 L.

Le prove sperimentali di bioproduzione di H_2 condotte nel reattore SPCSTR sono state di 3 tipologie: a) test batch con singolo substrato (glucosio, melasso o siero di latte), sia con biomassa sospesa (in assenza di carrier per il biofilm) che mista adesa/sospesa (con carrier per il biofilm); b) test batch con co-alimentazione di melasso e siero di latte, con biomassa sospesa; c) test in continuo con siero di latte, con biomassa adesa. Se da una parte, nei test in batch, sia siero di latte che melasso hanno consentito di ottenere interessanti prestazioni in termini di resa idrogeno/substrato e di produttività in idrogeno, le migliori prestazioni sono state ottenute con una co-alimentazione delle due matrici di scarto (produttività = $1.6 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, resa = $14 \text{ mmol H}_2 \text{ g zuccher}^{-1}$). In generale, le prestazioni ottenute in presenza dei carrier per il biofilm (biomassa mista adesa/sospesa) sono risultate significativamente superiori a quelle ottenute con sola biomassa sospesa.

Per le prove in continuo è stato scelto il siero di latte quale unico substrato, in considerazione della notevole disponibilità di tale matrice in Emilia Roma-

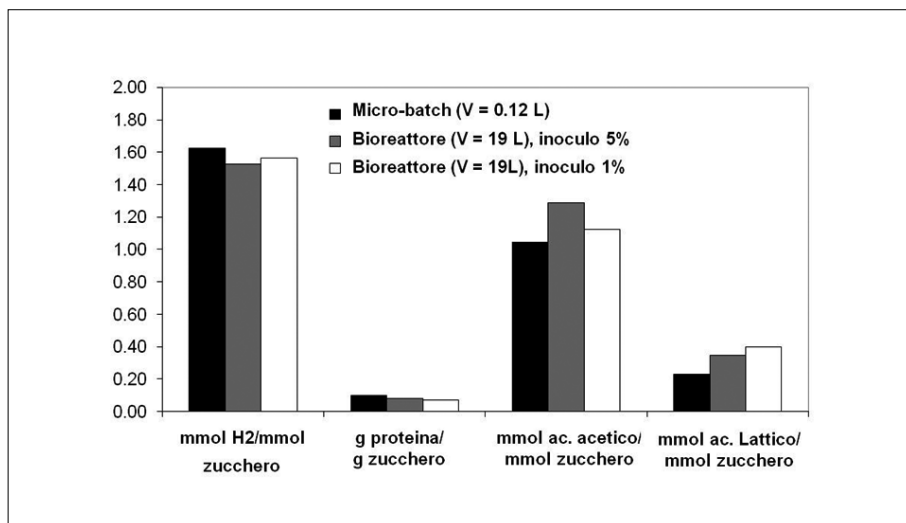


Fig. 7 Prove batch con biomassa sospesa: confronto delle rese ottenute nei micro-batch (0.12 L) e nel bioreattore SPCSTR (19 L)

gna, a fronte di una scarsa produzione di melasso. Le prove in continuo sono state condotte solamente in presenza di carrier per il biofilm (biomassa mista adesa/sospesa).

Gli esperimenti in continuo sono stati caratterizzati da diversi tempi di permanenza e quindi da diverse velocità di diluizione D , definita come il reciproco del tempo di permanenza del fluido nel reattore. La produttività massima in H₂ misurata nel test in continuo, pari a $5.6 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, è circa 3 volte superiore rispetto a quella massima ottenuta durante le prove in configurazione batch con biomassa immobilizzata ($1.75 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$). Inoltre essa è superiore anche rispetto alla produttività ottenuta con glucosio in condizioni di biomassa sospesa ($1.3 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$). La composizione del biogas prodotto è risultata pari al 70% di H₂ e al 30% di CO₂, indipendente dalle condizioni operative. Pur essendo presenti alcuni punti caratterizzati da prestazioni inferiori a quelle che si possono interpolare dall'insieme delle prove, i dati raccolti hanno permesso di individuare un intervallo di velocità di diluizione pari a 1-1.2 d⁻¹ nel quale la produzione di biogas è massima, e con essa, di conseguenza, anche la produttività in idrogeno essendo il volume di fermentazione costante.

È stato anche condotto uno studio cinetico relativo alla bioproduzione di idrogeno da glucosio, melasso e siero di latte, a opera di *T. neapolitana*. Per ogni substrato, lo studio è stato condotto, allestendo batterie di bioreattori batch, in condizioni di biomassa sia sospesa che adesa, e i risultati sono stati

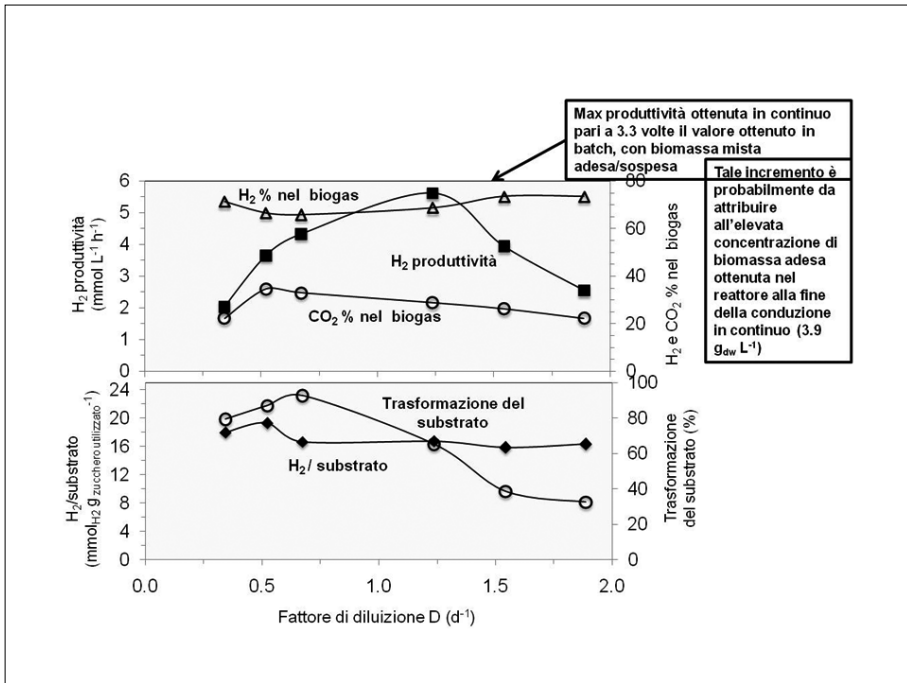


Fig. 8 Produzione di idrogeno con *T. neapolitana* in continuo con biomassa mista adesa/sospesa utilizzando siero di latte

interpretati in maniera soddisfacente tramite il modello cinetico con inibizione competitiva di Andrews. I principali risultati sono: a) non è stato osservato alcun fenomeno di inibizione da idrogeno sulla bioproduzione dell'idrogeno stesso; b) non è stato osservato alcun fenomeno di inibizione da ossigeno (fino a 0.21 mg/L) sulla bioproduzione dell'idrogeno; c) per tutti i substrati, è stata osservata una significativa inibizione da substrato; d) per glucosio e melasso, le velocità specifiche ottenute con biomassa adesa sono significativamente superiori a quelle ottenute con biomassa sospesa, mentre per siero di latte le due condizioni di biomassa hanno dato luogo a prestazioni simili.

c) *Bioproduzione di idrogeno: sviluppo e modellazione di un processo a membrana per l'arricchimento in idrogeno del biogas prodotto; accoppiamento del modulo a membrana con il bioreattore selezionato*

Sono stati individuati e selezionati una serie di materiali polimerici atti alla separazione di idrogeno e CO₂. Sono stati considerati in particolare il Teflon

AF2400, la Matrimid 5218, il Nafion 117 e l'Aquivion. Sono state quindi svolte prove di permeazione. Sulla base dei valori di permeabilità e selettività ottenuti da analisi sperimentali, sono state eseguite modellazioni matematiche per determinare lo spessore e l'area ottimale di queste membrane nei confronti delle loro prestazioni. Il lavoro sperimentale è stato svolto considerando la permeazione sia di gas puri, che di gas umidi, che di miscele.

Tutti i materiali sono stati testati con gas puri per la permeazione di CO_2 , N_2 ed elio (invece dell'idrogeno, per motivi legati alla sicurezza) mentre solo gli ionomeri perfluorosulfonati (Nafion e Aquivion) e la Matrimid sono stati analizzati in test di permeazione con gas umidificati. Infine solo la Matrimid è stata testata con miscele in vista di un suo utilizzo sull'impianto pilota. Dalle modellazioni svolte sulla base dei dati sperimentali è infatti emerso che la Matrimid 5218 è un materiale che permette di ottenere una buona separazione dell'idrogeno in ingresso; all'aumentare della superficie della membrana infatti si possono raggiungere frazioni molari prossime all'80% per questo gas. Anche per quanto concerne il Nafion N117 o l'Aquivion la corrente di permeato risulta essere piuttosto ricca di idrogeno, ma tali materiali risultano molto sensibili all'umidità che provoca una variazione drammatica delle loro caratteristiche invertendo addirittura la selettività e facendoli passare da idrogeno selettivi a CO_2 selettivi. In ogni caso in base alle prove sperimentali e alle simulazioni effettuate appare chiaro che per entrambi i polimeri, per poter ottenere flussi compatibili con le necessità del processo e gradi di purezza atti all'utilizzo del gas prodotto in fuel cell, bisognerebbe operare modificando le condizioni operative operando su umidità o temperatura, e considerando configurazioni di impianto complesse comprendenti più moduli di separazione disposti in serie.

Sulla base di queste considerazioni e di fronte alla impossibilità di implementare tale tipo di configurazioni nell'ambito del progetto si è scelto di procedere alla costruzione di un modulo a membrana singolo da accoppiare al bioreattore di produzione dell'idrogeno per eseguire almeno dei test per la verifica di fattibilità del sistema accoppiato. In particolare si è proceduto alla produzione e messa in opera di un modulo di separazione con un area di membrana pari a 0.01 m^2 su cui è stata montata una membrana in Matrimid dello spessore di 37 micrometri che è stata testata direttamente sul bioreattore pilota. I test eseguiti hanno permesso di evidenziare una separazione dell'idrogeno da parte del modulo a membrana che operava in modo prossimo a quanto ipotizzato sulla base dei dati sperimentali su gas puri, umidi e in miscela. In particolare sull'impianto pilota si è riscontrata una diminuzione della permeabilità della membrana, probabilmente legata a una insufficiente

disidratazione del gas in uscita dal bio-reattore, nonché alla presenza di zone di ristagno all'interno del modulo, probabilmente a causa dei bassi flussi di gas trattato. È stata inoltre osservata una modesta riduzione di selettività, anche se all'interno dell'incertezza sperimentale questo parametro può essere considerato in linea con le previsioni iniziali. In conclusione, anche in condizioni di reale utilizzo la membrana considerata si è dimostrata in grado di separare H_2/CO_2 confermando la fattibilità di un processo di questo tipo per la purificazione del bioidrogeno.

d) Bioproduzione di metano: fermentazione dell'effluente dello stadio di bioproduzione di idrogeno, in co-digestione con altri scarti organici; studio cinetico del processo di biometanazione

Sono state portate a termine prove sperimentali preliminari allestite durante il primo anno di ricerca, dedicate a valutare la produzione di metano via co-digestione delle matrici "tal quali" (quindi non fermentate per la produzione di bioidrogeno) oggetto del progetto, ovvero melasso, siero di latte ed eluato da stabilizzazione biologica della frazione organica di rifiuti solidi urbani. Sono stati quindi allestiti e condotti esperimenti di co-digestione anaerobica dell'effluente del processo di produzione di bioidrogeno da siero di latte con eluato, in condizioni batch in micro-reattori (microcosmi) anaerobici. I risultati hanno dimostrato un leggero aumento del potenziale di biometanazione all'aumentare della concentrazione di effluente del processo per la produzione di bioidrogeno.

Sono stati poi allestiti e messi in opera processi biotecnologici anaerobici mesofili (35°C) per la co-digestione anaerobica dell'effluente del processo di produzione di bioidrogeno. I reattori consistevano in colonne di vetro del volume di circa 2,5 L, alimentate dal basso. In particolare, è stato disegnato, allestito e messo in opera un processo innovativo in cui la miscelazione è stata ottenuta mediante ricircolo del biogas prodotto, senza uso di compressore. Quest'ultimo è stato in seguito confrontato con un analogo processo convenzionale, in cui un reattore avente la stessa configurazione era però miscelato mediante ricircolo della fase liquida, per mezzo di pompa peristaltica. Il processo innovativo e il relativo "processo controllo" di cui sopra sono stati condotti, in una prima fase, alimentando i reattori in continuo con una miscela di siero di latte e eluato ottenuto da una frazione organica di rifiuti solidi urbani (40/60% v/v, rispettivamente). Il processo innovativo ha offerto performances leggermente inferiori a quelle del processo convenzionale, il cui

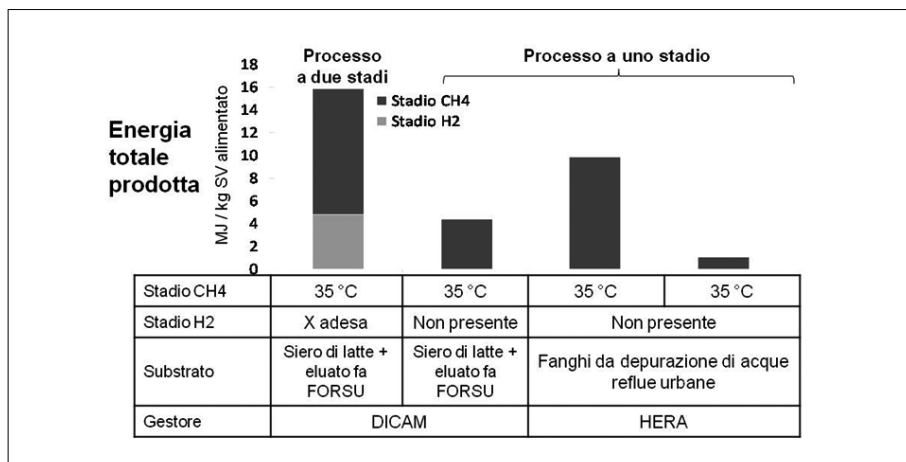


Fig. 9 Studio del processo combinato idrogeno + metano test in continuo con effluente della bioproduzione di idrogeno da siero di latte

costo energetico era però superiore per l'uso della pompa di ricircolo. Quindi, sono stati messi a confronto identici processi di co-digestione anaerobica di tipo convenzionale, alimentati con una matrice sperimentale contenente eluato/siero di latte (processo 1) o eluato/siero di latte fermentato (processo 2), per permettere valutazioni sulla fattibilità di un processo a due stadi per la valorizzazione di siero di latte mediante produzione di bioidrogeno e biometano. Le performances dei due processi sono state paragonabili: velocità di produzione di metano = $0.14 \text{ NLCH}_4/\text{Lreattore/d}$; % di metano nel biogas = 52-53%; resa metano/COD = $200 \text{ NLCH}_4/\text{kgCOD}$ alimentato. Questa evidenza è incoraggiante nella prospettiva di allestire il menzionato processo a due stadi.

Ai fini di condurre una caratterizzazione cinetica del processo di bioproduzione di metano dall'effluente della bioproduzione di idrogeno da siero di latte, in co-digestione con l'eluato da frazione organica di RSU, è stato infine allestito e condotto in batch un gruppo di microcosmi a diversa concentrazione iniziale di substrato di fermentazione espresso come COD (0.6-12 g/L). Lo studio cinetico è stato finalizzato a costruire i grafici delle velocità di produzione di metano e conversione di COD in funzione della concentrazione di substrato disponibile (COD). Per le prove sperimentali è stato utilizzato il metodo delle velocità iniziali. Le differenti concentrazioni iniziali di COD sono state ottenute diluendo con acqua in proporzioni diverse la miscela di co-alimentazione selezionata nelle precedenti sperimentazioni (40% di digestato e 60% di eluato). Le velocità specifiche di produzione di metano

sono state interpolate in modo soddisfacente con un modello cinetico di tipo Michaelis-Menten, e i valori di best-fit dei parametri cinetici ($q_{\max, \text{CH}_4} = 24 \text{ NLCH}_4 / \text{kgbiomassa} / \text{d}$; $K_S, \text{CH}_4 = 2.5 \text{ g/L}$) sono risultati in linea con i valori tipici per la biometanazione di scarti agro-zootecnici.

e) Bioproduzione di idrogeno e metano (processo a due fasi): conduzione del processo in modalità batch e continua; valutazione delle rese energetiche ottenute; progetto preliminare di un impianto pilota

In una prima serie di test, il processo a due step (bioproduzione di idrogeno nel 1° step e di metano nel 2°) è stato studiato in condizioni batch, alimentando il 1° step con siero di latte e il 2° step esclusivamente con l'effluente del 1° step, non essendo ancora disponibili i dati sulla miscela ottimale di co-digestione di siero di latte fermentato ed eluato. Il 1° step è stato studiato sia con biomassa sospesa che con biomassa adesa, e il 2° step è stato studiato sia a 35 che a 55°C. L'energia totale ottenuta effettuando il 1° step (bioproduzione di idrogeno) con biomassa sospesa è risultata significativamente superiore a quella ottenuta effettuando il 1° step con biomassa adesa (15060 contro 8470 kJ/kgSV; dati riferiti alle prove con 2° step condotto a 35°C). I risultati di tali prove sono stati confrontati con quelli di un secondo esperimento condotto in microcosmi batch, nel quale il siero di latte è stato sottoposto direttamente a biometanazione (processo a 1 solo stadio, di digestione anaerobica tradizionale). L'energia prodotta in tale esperimento è risultata pari a 9570 kJ/kgSV a 35°C, e 1590 kJ/kgSV a 55°C. Sulla base di tali risultati, nel proseguimento delle attività lo step di biometanazione è stato sempre operato a 35°C (condizioni mesofile). Complessivamente, la resa energetica totale del processo a 2 stadi – con 2° step condotto a 35°C – è risultata superiore di circa il 60% a quella del processo a 1 stadio nel caso di 1° stadio condotto a biomassa adesa; nel caso, invece, di 1° stadio condotto a biomassa sospesa, le due rese energetiche sono risultate paragonabili.

Nell'ultima parte dell'attività di ricerca, il processo a due step (bioproduzione di idrogeno nel 1° step e di metano nel 2°) è stato studiato in condizioni continue, alimentando il 1° step (bioreattore SPCSTR da 19 L, accoppiato con il modulo a membrana di purificazione dell'idrogeno) con siero di latte e il 2° step (bioreattore da 2.5 L) con l'effluente del 1° step, in co-digestione con eluato (in rapporto di volume 40/60, sulla base dei test precedentemente effettuati in microcosmi). Per ognuno dei due step del processo, sono state adottate le condizioni operative risultate ottimali durante le precedenti fasi

in cui i due processi erano stati studiati separatamente. In particolare, per lo stadio di bioproduzione di idrogeno le condizioni operative sono state le seguenti: $T = 77^{\circ}\text{C}$, biomassa adesa sul carrier ceramico "Biomax", substrato = siero di latte (10 g/L), tempo di permanenza = 0.81 d; per lo stadio di biometanazione: co-digestione di effluente del 1° stadio (40%) con eluato da FORSU (60%); $T = 35^{\circ}\text{C}$; biomassa sospesa; tempo di permanenza = 12.8 d. Tale prova ha dato i seguenti risultati: produttività in idrogeno = $5.5 \text{ mol/m}^3/\text{h}$; percentuale di idrogeno del gas purificato attraverso il modulo a membrana = 81%; resa $\text{H}_2/\text{SV} = 375 \text{ NL/kg}$; produttività in metano = $0.50 \text{ mol/m}^3/\text{h}$; resa $\text{CH}_4/\text{SV} = 279 \text{ NL/kg}$. Sulla base di tali dati, la resa energetica complessiva del processo (pari a 15885 kJ/kgSV) risulta leggermente superiore rispetto a quella ottenuta nel processo a due stadi, studiato in batch, senza co-digestione nel 2° stadio (pari a 15060 kJ/kgSV). La resa energetica totale del processo in continuo a 2 stadi – con 2° step condotto a 35°C – è risultata più che tripla sia rispetto a quella del processo continuo a 1 stadio alimentato con siero di latte (pari a 4370 kJ/kgSV), sia rispetto a quella media rilevata nei digestori di HERA S.p.A. alimentati con fanghi di depurazione (pari a 4420 kJ/kgSV , con oscillazioni fra 1070 e 9840 kJ/kgSV). Questo importante risultato, in accordo con quanto ottenuto nei test condotti in batch, rappresenta una conferma dell'elevata potenzialità del processo di produzione di idrogeno e metano da siero di latte in due stadi, in condizioni rispettivamente termofile (77°C) e mesofile (35°C).

f) Valutazione dell'utilizzabilità in fuel-cell dell'idrogeno purificato e della possibilità di alimentare il digestato prodotto dal processo a due stadi a impianti di compostaggio

È stata infine valutata la possibilità di utilizzare l'idrogeno ottenuto a valle dei moduli di separazione a membrana previsti nel processo di bioproduzione dell'idrogeno nelle celle a combustibile gestite da Hera. Dalle analisi effettuate è emerso che il modulo a membrana impiegato nelle prove sperimentali non consente il conseguimento di un grado di purezza in idrogeno corrispondente alle specifiche delle fuel-cell di tipo PEM. Infatti, mentre la purezza conseguita sperimentalmente è risultata di poco superiore all'80%, le fuel-cell di tipo PEM richiedono una purezza in idrogeno del 99.95%. Al contrario, l'impianto di purificazione del biogas inserito nell'impianto pilota progettato consente di raggiungere il grado di purezza richiesto dalle specifiche delle fuel-cell di tipo PEM.

È stato anche valutato se il digestato in uscita dal processo a 2 stadi oggetto del progetto Bio-Hydro fosse utilizzabile, tramite opportuni pretrattamenti, per un impiego finale come compost agricolo. In base alle analisi effettuate sul digestato in oggetto, nella sua composizione non è stata rilevata alcuna sostanza tossica che potrebbe potenzialmente ostacolare il suo uso in un processo di compostaggio. Da un punto di vista legislativo, in base alle normative nazionali e regionali risulta che se il rifiuto in ingresso al processo di digestione è costituito interamente da materiale assimilabile a effluenti di allevamento e/o vegetali, allora il digestato può essere utilizzato a fini agronomici. Diversamente, se questo è miscelato con materiali proveniente da FORSU, la normativa ne vieta l'utilizzo in campo agronomico. Il digestato prodotto dal processo a 2 stadi oggetto del progetto Bio-Hydro potrebbe quindi essere utilizzato in un processo di compostaggio qualora si sostituisse la FORSU, quale matrice di co-digestione per il secondo stadio del processo, con un'altra matrice di origine agro-zootecnica.

RINGRAZIAMENTI

Le ricerche sopra riportate sono state oggetto di finanziamento interamente da parte del Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali (MI-PAAF) nell'ambito del progetto BIO-HYDRO (Produzione combinata di idrogeno e metano da scarti agro-zootecnici tramite processi biologici) all'interno della tematica scarti agro-zootecnici, bio-produzione di idrogeno, digestione anaerobica.

RIASSUNTO

Il progetto BIO-HYDRO aveva come obiettivo primario lo sviluppo di un ciclo di smaltimento di scarti organici del settore agro-zootecnico consistente nella fermentazione a idrogeno di almeno una tipologia di scarto agro-zootecnico, e nella co-digestione a metano del residuo di tale processo con altri scarti agro-zootecnici e/o con la frazione organica dei rifiuti solidi urbani. Il progetto si proponeva quindi in primo luogo di mettere a punto e ottimizzare, su scala di laboratorio, un impianto a due stadi di fermentazione a idrogeno con l'impiego di batteri termofili del genere *Thermotoga*, con purificazione tramite modulo a membrana dell'idrogeno prodotto, e successiva co-digestione dell'effluente con altri scarti organici. Sulla base dei dati sperimentali prodotti, e della messa a punto di un modello cinetico, fluidodinamico e della separazione dell'idrogeno tale da simulare il processo complessivo, è stato poi sviluppato il progetto preliminare di un bioreattore a biomassa adesa per l'attuazione del processo su scala pilota.

BIBLIOGRAFIA

- AHN Y., PARK E.J., OH Y.K., PARK S., WEBSTER G., WEIGHTMAN A.J. (2005): *Biofilm microbial community of a thermophilic trickling biofilter used for continuous biohydrogen production*, «FEMS Microbiol Lett», 249, pp. 31-38.
- BÉLAFI-BAKÓ K., BÚCSÚ D., PIENKA Z., BÁLINT B., HERBEL Z., KOVÁCS K.L., WESSLING M. (2006): *Integration of biohydrogen fermentation and gas separation processes to recover and enrich hydrogen*, «Int J Hydrogen Energy», 31, 11, pp. 1490-1495.
- BERTIN L., BERSELLI S., FAVA F., PETRANGELI-PAPINI M., MARCHETTI L. (2004): *Anaerobic digestion of olive mill wastewaters in biofilm reactors packed with granular activated carbon and "Manville" silica beads*, «Water Res.», 38, pp. 3167-7318.
- BOLZONELLA D., PAVAN P., MACE S., CECCHI F. (2006): *Dry anaerobic digestion of differently sorted organic municipal solid waste: a full-scale experience*, «Water Sci Technol», 53, pp. 23-32.
- CHEN C.-C., CHEN H.-P., WU J.-H., LIN C.-Y. (2008): *Fermentative hydrogen production at high sulfate concentration*, «J Hydrogen Energy», 33, pp. 1573-1578.
- CHOU C.J., JENNEY F.E. Jr, ADAMS M.W., KELLY R.M. (2008): *Hydrogenesis in hyperthermophilic microorganisms: implications for biofuels*, «Metab Eng.», 10, pp. 394-404.
- HARPER S.R., POHLAND F.G. (1986): *Recent developments in hydrogen management during anaerobic biological wastewater treatment*, «Biotechnol Bioeng», 28, pp. 585-602.
- HARTMANN H., AHRING B.K. (2005): *Anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste: Influence of co-digestion with manure*, «Water Research», 39, pp. 1543-1552.
- HUSSY I., HAWKES F.R., DINSDALE R., HAWKES D.L. (2003): *Continuous fermentative hydrogen production from a wheat starch co-product by mixed microflora*, «Biotechnol Bioeng», 84, pp. 619-626.
- HUSSY I., HAWKES F.R., DINSDALE R., HAWKES D.L. (2003): *Continuous fermentative hydrogen production from a wheat starch co-product by mixed microflora*, «Biotechnol Bioeng.», 84, pp. 619-626.
- JEONG T.-Y., CHA G.-C., YOO I.-K., KIM D.-J. (2007): *Hydrogen production from waste activated sludge by using separation membrane acid fermentation reactor and photosynthetic reactor*, «J Hydrogen Energy», 32, pp. 525-530.
- KÁDÁR Z., DE VRIJE T., BUDDE M.A., SZENGYEL Z., RÉCZEY K., CLAASSEN P.A. (2003): *Hydrogen production from paper sludge hydrolysate*, «Appl Biochem Biotechnol.», 105-108, pp. 557-566.
- LAY J.J. (2000): *Modeling and optimization of anaerobic digested sludge converting starch to hydrogen*, «Biotechnol Bioeng», May 68, pp. 269-278.
- LEE K.S., LO Y.S., LO Y.C., LIN P.J., CHANG J.S. (2003): *H₂ production with anaerobic sludge using activated-carbon supported packed-bed bioreactors*, «Biotechnol Lett», 25, pp. 133-138.
- LIANG T.-M., CHENG S.-S., WU K.-L. (2002): *Behavioral study on hydrogen fermentation reactor installed with silicone rubber membrane*, «Int J Hydrogen Energy» 27, pp. 1157-1165.
- LIN H., FREEMAN B.D. (2006): *Gas Permeation and Diffusion in Crosslinked Poly(ethylene glycol Diacrylate)*, «Macromolecules», 39, pp. 3568-3580.
- LOGAN B.E., OH S.E., KIM I.S., VAN GINKEL S. (2002): *Biological hydrogen production measured in batch anaerobic respirometers*, «Environ Sci Technol», 36, pp. 2530-2535.
- Erratum in: «Environ Sci Technol», 2003 Mar 38, 1055.

- NELSON K.E., CLAYTON R.A., GILL S.R., GWINN M.L., DODSON R.J., HAFT D.H., HICKEY E.K., PETERSON J.D., NELSON W.C., KETCHUM K.A., McDONALD L., UTTERBACK T.R., MALEK J.A., LINHER K.D., GARRETT M.M., STEWART A.M., COTTON M.D., PRATT M.S., PHILLIPS C.A., RICHARDSON D., HEIDELBERG J., SUTTON G.G., FLEISCHMANN R.D., EISEN J.A., WHITE O., SALZBERG S.L., SMITH H.O., VENTER J.C., FRASER C.M. (1999): *Evidence for lateral gene transfer between Archaea and bacteria from genome sequence of Thermotoga maritima*, «Nature», 399 (6734), pp. 323-329.
- OCKWIG N.W., NENOFF T.M. (2007): *Membranes for hydrogen separation*, «Chem Rev», 107, pp. 4078-4110.
- PATEL N.P., ZIELINSKI J.M., SAMSETH J., SPONTAK R.J. (2004): *Effects of pressure and nanoparticle functionality on CO₂-selective nanocomposites derived from crosslinked poly(ethylene glycol)*, «Macromolecular Chemistry and Physics», 205, pp. 2409-2419.
- REN N., WANG B., HUANG J.C. (1997): *Ethanol-type fermentation from carbohydrate in high rate acidogenic reactor*, «Biotechnol Bioeng», 54, pp. 428-433.
- TEPLYAKOV V.V., GASSANOVA L.G., SOSTINA E.G., SLEPOVA E.V., MODIGELL M., NETRUSOV A.I. (2002): *Lab scale bioreactor integration with active membrane system for hydrogen production: experience and prospects*, «Int J Hydrogen Energy», 27, pp. 1149-1155.
- TIN P.S., CHUNG T.S., LIU Y., WANG R., LIU S.L., PRAMOD K.P. (2003): *Effects of cross-linking modification on gas separation performance of 'Matrimid membranes'*, «J Membrane Sci», 225, pp. 77-90.
- VAN NIEL E.W., CLAASSEN P.A., STAMS A.J. (2003): *Substrate and product inhibition of hydrogen production by the extreme thermophile, Caldicellulosiruptor saccharolyticus*, «Biotechnol Bioeng», 81, pp. 255-262.
- VAN OOTEGHEM S.A., BEER S.K., YUE P.C. (2002): *Hydrogen production by the thermophilic bacterium Thermotoga neapolitana*, «Appl Biochem Biotechnol», 98-100, pp. 177-189.
- VAN OOTEGHEM S.A., BEER S.K., YUE P.C. (2002): *Hydrogen production by the thermophilic bacterium Thermotoga neapolitana*, «Appl Biochem Biotechnol.», 98-100, pp. 177-189.
- WANG J., WAN W. (2009): *Factors influencing fermentative hydrogen production: A review*, «Int J Hydrogen Energy», 34, pp. 799-811.
- YOKOI H., MAKI R., HIROSE J., HAYASHI S. (2002): *Microbial production of hydrogen from starch-manufacturing wastes*, «Bio-mass & Bioenergy», 22, pp. 389-395.
- YOKOI H., SAITSU A., UCHIDA H., HIROSE J., HAYASHI S., TAKASAKI Y. (2001): *Microbial hydrogen production from sweet potato starch residue*, «J Biosci Bioeng», 91, pp. 58-63.
- YU H.Q., ZHENG X.J., HU Z.H., GU G.W. (2003): *High-rate anaerobic hydrolysis and acidogenesis of sewage sludge in a modified upflow reactor*, «Water Sci Technol», 48, pp. 69-75.
- ZHANG Z.-P., SHOW K.-Y., TAY J.-H., LIANG D.T., LEE D.-J. (2008): *Biohydrogen production with anaerobic fluidized bed reactors. A comparison of biofilm-based and granule-based systems*, «J Hydrogen Energy», 33, pp. 1559-1564.

Finito di stampare in Firenze
presso la tipografia editrice Polistampa
nel luglio 2014