

I GEORGOFILI

Quaderni
2005-VI



DAL SETTORE PRIMARIO L'ENERGIA DEL FUTURO?
PRODUZIONE DI IDROGENO DA BIOMASSE

Firenze, 24 febbraio 2005

SOCIETÀ EDITRICE FIORENTINA

Copyright © 2007
Accademia dei Georgofili
Firenze
<http://www.georgofili.it>

Proprietà letteraria riservata

Supplemento a «I Georgofili. Atti dell'Accademia dei Georgofili»
Anno 2006 - Serie VIII - Vol. 3 (182° dall'inizio)

Responsabile redazionale: dott. Paolo Nanni

Servizi redazionali, grafica e impaginazione
SOCIETÀ EDITRICE FIORENTINA
Via G. Benivieni 1 - Firenze
Tel. 055 5532924
Fax: 055 5532085
info@sefeditrice.it
www.sefeditrice.it

INDICE

LUIGI BODRIA <i>Energia e agricoltura</i>	7
CLAUDIA SORLINI <i>L'idrogeno dalla fermentazione di biomasse</i>	29
MASSIMO VINCENZINI, ROBERTO DE PHILIPPIS <i>Idrogeno dalla fotosintesi microbica</i>	45
ROBERTO DE PHILIPPIS, MASSIMO VINCENZINI, MAURIZIO PERUZZINI <i>Il progetto Firenze Hydrolab per la ricerca sulla produzione, l'immagazzinamento e l'utilizzazione dell'idrogeno come vettore energetico</i>	65

LUIGI BODRIA*

Energia e agricoltura

I. PREMESSA

La relazione fra agricoltura ed energia ha origini molto lontane, essendo stato il settore primario l'unica fonte di energia che ha accompagnato lo sviluppo dell'uomo dalle sue origini sino alla rivoluzione industriale che, 200 anni fa, ha così profondamente inciso mutando le condizioni di vita nei paesi industrializzati.

Grande impulso, pertanto, ebbero gli studi sul possibile contributo dell'agricoltura allorché, all'indomani della guerra delle Yom Kippur nel '73, esplose drammaticamente la grande crisi energetica che pose per la prima volta i paesi industrializzati di fronte a un improvviso aumento del costo del petrolio e a un concreto rischio di riduzione della disponibilità.

All'esaurirsi, però, della spinta emozionale del primo "shock" petrolifero, grazie anche all'evoluzione delle tecniche di ricerca che hanno portato all'individuazione di nuovi importanti giacimenti, l'interesse verso le fonti d'energia non convenzionali scemò progressivamente, insieme al ritorno alla normalità del costo del greggio.

Oggi, tuttavia, sono intervenuti alcuni fatti nuovi che hanno sostanzialmente modificato gli aspetti del problema, portando nuovamente l'agricoltura al centro delle strategie per la definizione del futuro assetto energetico mondiale.

Un primo elemento deriva dal fatto che il problema energetico non riguarda più esclusivamente l'incertezza sui futuri approvvigionamenti che, grazie

* *Istituto di Ingegneria Agraria, Università degli Studi di Milano*

alle scoperte di nuovi giacimenti sono attualmente garantiti per qualche decennio, ma ha assunto una nuova e non meno importante valenza ambientale per l'impatto che i residui della combustione dei combustibili fossili comportano sull'ecosistema. Ben noti sono i recenti accordi di Kyoto che, a fronte del crescente accumulo di CO_2 nell'atmosfera derivante dall'impiego dei combustibili fossili, hanno definito una serie di azioni correttive nell'ambito delle quali l'Italia si è impegnata, entro il 2010, a ridurre le proprie emissioni di gas serra del 6,5% rispetto ai valori del 1990 e a ricavare il 25% del proprio fabbisogno energetico da fonti rinnovabili.

Nei paesi altamente industrializzati, poi, è progressivamente venuta meno la funzione primaria dell'agricoltura quale produttrice di alimenti, sì da indurre l'Unione Europea a finanziare, con la pratica del "set-aside", la messa fuori produzione delle terre per ridurre le eccedenze.

Infine, l'idrogeno, caratterizzato da un elevato potere calorifico e dalla totale assenza di elementi inquinanti associati alla sua utilizzazione energetica che ha come prodotto finale solamente acqua, si sta progressivamente affermando come una delle più interessanti e accreditate opzioni negli scenari energetici futuri quale vettore energetico "pulito".

In tale contesto, pertanto, si è registrato un rinnovato interesse nei confronti delle biomasse, sia come fonte di energia rinnovabile a ridotto impatto ambientale, sia quale prodotto di partenza per la produzione d'idrogeno, come sarà meglio evidenziato nelle relazioni che seguiranno.

2. USO ENERGETICO DELLE BIOMASSE

Il termine biomassa indica qualunque sostanza organica derivante, direttamente o indirettamente, dal processo di fotosintesi clorofilliana con cui le piante assorbono dall'ambiente circostante, per azione dell'energia solare, anidride carbonica e acqua per produrre il materiale organico utile al loro sviluppo.

Si tratta, quindi, di una grande quantità di prodotti che vanno dagli scarti di lavorazione di diversi processi industriali (legno, agroalimentare) e di allevamenti zootecnici, a colture specifiche a fini energetici (alghe, oleaginose, canna da zucchero, colture legnose, ecc.), caratterizzati da grande disponibilità, facilità di utilizzazione, ridotto impatto ambientale. È, pertanto, opinione ampiamente condivisa che le biomasse costituiscano la più concreta e promettente forma di energia rinnovabile attualmente disponibile (fig. 1).

A oggi, le biomasse soddisfano il 15% circa degli usi energetici primari nel mondo, con un contributo di 55 milioni di TJ/anno (1.300 Mtep/anno).

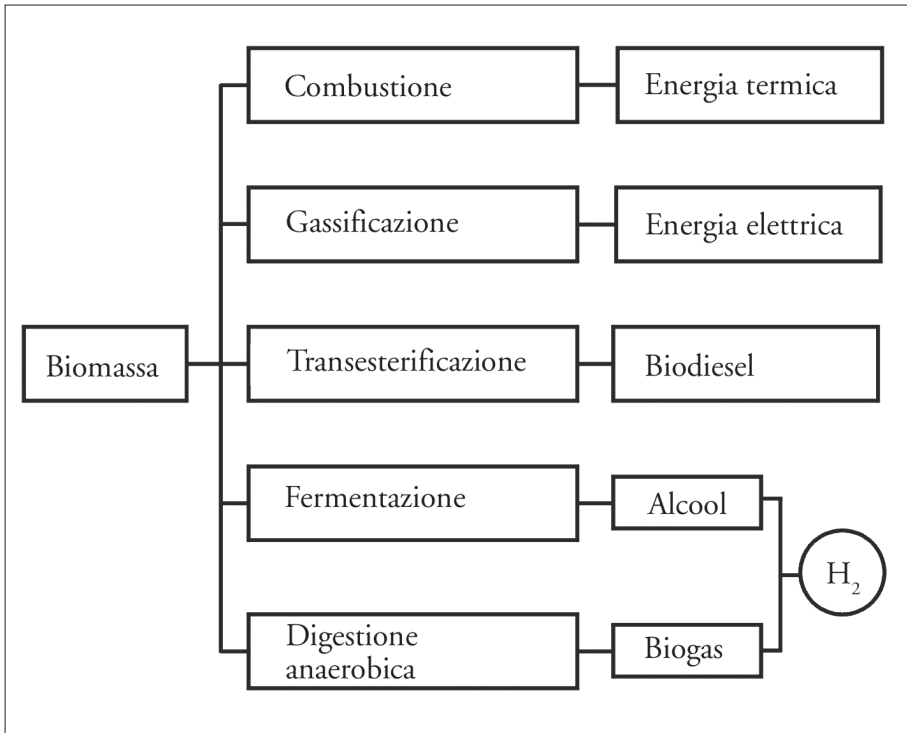


Fig. 1 *Processi per la produzione d'energia da biomasse*

L'utilizzo di tale fonte mostra, però, un forte grado di disomogeneità fra i vari paesi. In particolare, i paesi in via di sviluppo ricavano da esse mediamente il 38% della propria energia, con 48 milioni di TJ/anno (1.150 Mtep/anno), ma in molti di essi tale risorsa soddisfa fino al 90% del fabbisogno energetico totale, mediante la combustione di legno, paglia e rifiuti animali.

Nei paesi industrializzati, invece, le biomasse contribuiscono appena per il 3% agli usi energetici primari con 7 milioni di TJ/anno (167 Mtep/anno). In particolare, gli USA ricavano il 3,2% della propria energia dalle biomasse, equivalente a 3,2 milioni di TJ/anno (76 Mtep/anno); l'Europa, complessivamente, il 3,5%, corrispondenti a circa 40 Mtep/anno, con punte del 18% in Finlandia, 17% in Svezia, 13% in Austria; l'Italia, con il 2% circa del proprio fabbisogno coperto dalle biomasse, è al di sotto della media europea.

L'impiego delle biomasse in Europa soddisfa, dunque, una quota piuttosto marginale dei consumi di energia primaria, ma il reale potenziale energetico di tale fonte non è ancora pienamente sfruttato.

All'avanguardia, nello sfruttamento delle biomasse come fonte energetica,

sono i paesi del centro-nord Europa, che hanno installato grossi impianti di cogenerazione e teleriscaldamento alimentati a biomasse. La Francia, che ha una superficie agricola tra le più vaste nell'Unione Europa, punta molto anche sulla produzione di biodiesel ed etanolo, per il cui impiego come combustibile ha adottato una politica di completa defiscalizzazione.

La Gran Bretagna invece, ha sviluppato una produzione trascurabile di biocombustibili, ritenuti allo stato attuale antieconomici, e si è dedicata in particolare allo sviluppo di un vasto ed efficiente sistema di recupero del biogas dalle discariche, per usi sia termici che elettrici. La Svezia e l'Austria, che contano su una lunga tradizione d'utilizzo della legna da ardere, hanno continuato a incrementare tale impiego sia per riscaldamento che per teleriscaldamento, dando grande impulso alle piantagioni di bosco ceduo (salice, pioppo).

3. PROCESSI DI CONVERSIONE

I processi di conversione in energia delle biomasse possono essere ricondotti a due grandi categorie: *processi termochimici* e *processi biochimici*.

I *processi termochimici*, basati sull'azione del calore generato dalle reazioni chimiche necessarie a trasformare la materia in energia, riguardano i prodotti legnosi e cellulosici con rapporto C/N superiore a 30 e con contenuto d'umidità non superiore al 30%.

La via più semplice è la *combustione* diretta che riguarda sia legno cippato, sia pellets ottenuti da residui legnosi pressati in cilindretti di 6-8 mm di diametro con un p.c.i. dell'ordine di 17.000-19.000 kJ/kg. Tali prodotti vengono utilizzati sia in impianti di riscaldamento per uso domestico, sia sotto forma di cippato, in centrali di cogenerazione con potenze elettriche dell'ordine di 10 MW.

Processi più complessi fanno riferimento alla pirolisi, nella quale si realizza la decomposizione termochimica dei materiali organici, con temperature comprese fra 400 e 600 °C e in forte carenza di ossigeno. I prodotti della pirolisi sono gassosi, liquidi e solidi in proporzioni che dipendono dai metodi di pirolisi e dai parametri di reazione.

Particolarmente attive sono le ricerche sulla *gassificazione* della biomassa (e/o del carbone) per l'ottenimento di una miscela di ossido di carbonio, metano, idrogeno e anidride carbonica. Il processo consiste nell'ossidazione incompleta della sostanza – ottenuta per reazione a elevata temperatura (900-1000 °C) con aria, ossigeno e vapore – e porta alla produzione di una miscela di ossido di carbonio, metano, idrogeno e anidride carbonica (syngas o gas

di gasogeno).

Le tecnologie di gassificazione sono ritenute molto promettenti in quanto: possono essere applicate a una grande varietà di prodotti (inclusi gli RSU), sono flessibili e di basso impatto ambientale; il gas prodotto si presta a diverse tecniche di utilizzazione per la produzione di energia elettrica. La tecnica più semplice è l'alimentazione di tradizionali motori a combustione interna in centrali di piccola taglia, ma può essere anche utilizzato in centrali a gas a ciclo combinato con potenze di diverse decine di megawatt.

Recenti e di grande interesse, poi, sono gli studi per l'alimentazione delle future centrali elettriche a cella a combustibile, di cui si farà più ampio riferimento nel seguito, nelle quali una miscela di gas composta di idrogeno e carbonio costituisce l'alimentazione ottimale.

Un'altra tipologia di biomasse di grande interesse sono le colture oleaginose, quali colza, soia, girasole, ecc., da cui si ricava, a mezzo della transesterificazione dell'olio vegetale ottenuto dalla spremitura dei semi, un combustibile, il *biodiesel*, con caratteristiche del tutto simili al gasolio (fig. 2).

Il biodiesel può essere usato sia puro, sia in miscelato con il gasolio tradizionale; nel secondo caso sino a percentuali del 30% il motore non richiede alcuna modifica, mentre miscele con percentuali superiori richiedono pochi

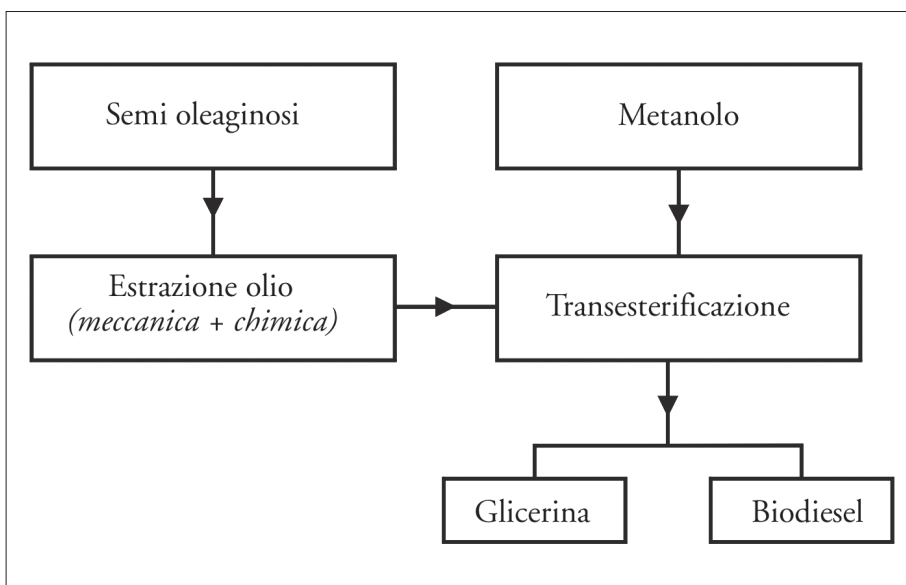


Fig. 2 Schema di produzione del biodiesel

semplici adattamenti.

Numerose sperimentazioni condotte hanno dimostrato come la miscela così ottenuta consenta di ridurre le emissioni inquinanti in percentuale variabile dal 30 allo 85%, in funzione della quantità di biodiesel utilizzato. In particolare, grazie alla migliore combustione derivante dall'apporto dell'ossigeno presente nelle molecole dei componenti del biodiesel, si ha una notevole riduzione degli idrocarburi incombusti, dell'ossido di carbonio e del particolato; oltre a ciò, poiché il biodiesel non contiene zolfo, le relative emissioni sono ridotte in percentuale pari a quella di miscelazione e la fumosità si riduce sino al 85-90% rispetto all'impiego del biodiesel puro (fig. 3).

L'altra grande famiglia di processi di conversione energetica delle biomasse è costituita dalle *trasformazioni biochimiche*, che permettono di ricavare energia per reazione chimica dovuta al contributo di enzimi e microrganismi che agiscono, in particolari condizioni, nelle biomasse con rapporto C/N inferiore a 30 e umidità relativa superiore al 30%.

Già ampiamente sviluppata è la *fermentazione alcolica*, che opera la trasformazione dei glucidi contenuti nelle produzioni vegetali in *alcool etilico* (bioetanolo) che può essere utilizzato come additivo della benzina nei norma-

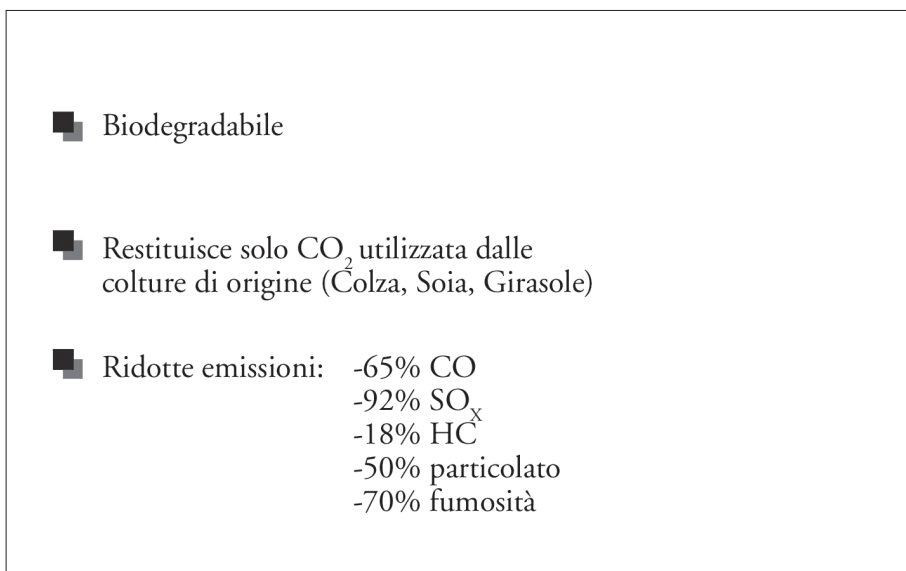


Fig. 3 *Caratteristiche ambientali del biodiesel*

li motori a combustione interna (fig. 4).

Le materie prime per la produzione di etanolo possono essere sia residui di lavorazione, sia colture specifiche. Circa queste ultime, le più sperimentate e diffuse sono le colture zuccherine, quali la canna da zucchero, la bietola, il sorgo zuccherino e le colture amidacee come il frumento, il mais, la patata.

Anche prodotti lignocellulosici ricchi di cellulosa come paglia, stocchi di mais, scarti legnosi, possono essere impiegati, tramite un processo di idrolisi, come materie prime per la produzione di etanolo.

Altro processo biochimico di grande diffusione è la *digestione anaerobica* che consiste nella demolizione, a opera di specifici microrganismi, delle sostanze organiche complesse (lipidi, protidi, glucidi) contenute nei prodotti vegetali e nei sottoprodotti di origine animale.

Si tratta di un processo biologico complesso che avviene in assenza di ossigeno, a temperatura di 35 (mesofilo) o 55 (termofilo) °C, e che porta alla formazione di *biogas* costituito principalmente da metano e da anidride carbonica.

La percentuale di metano (e, quindi, il relativo valore energetico) dipende dal tipo di sostanza organica digerita e dalle condizioni di processo, con valori

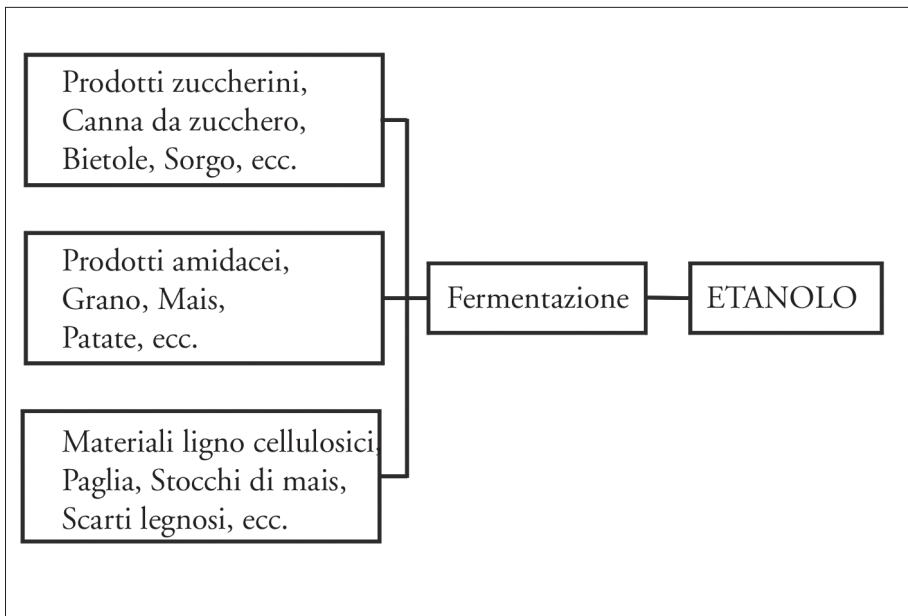


Fig. 4 La fermentazione alcolica consente di produrre etanolo da diversi tipi di biomasse

che possono variare dal 50 all'80%.

Il processo è caratterizzato dall'azione di diversi gruppi di microrganismi in grado di trasformare la sostanza organica in composti intermedi, quali acido acetico, anidride carbonica e idrogeno, che i microrganismi metanogeni utilizzano per la produzione di metano.

Il biogas può essere impiegato direttamente per combustione, oppure, dopo un trattamento di desolforazione, alimentare motori a combustione interna per la produzione di energia meccanica e/o elettrica.

Al termine del processo, l'effluente risulta essere ancora un ottimo fertilizzante in quanto la fermentazione conserva integri i principali elementi nutritivi (azoto, potassio, fosforo) e favorisce la mineralizzazione dell'azoto organico.

4. BILANCIO ENERGETICO E ASPETTI AMBIENTALI

L'uso delle biomasse a fini energetici presenta in generale bilanci energetici ampiamente positivi ed è sempre associato a importanti benefici di carattere ambientale.

Nel caso di biodiesel ottenuto da colture oleaginose, con produzioni che offrono rese medie di oltre 3 t/ha, è possibile ottenere 1,2-1,4 t/ha di olio, con un potere calorifico inferiore dell'ordine di 35.000 kJ/kg (fig. 5).

Numerosi studi hanno analizzato il bilancio energetico complessivo del ciclo di produzione dei biodiesel, evidenziando come l'energia richiesta per la coltivazione, l'estrazione e la raffinazione sia ampiamente compensata dall'energia ricavata dal biodiesel, che risulta dell'ordine di 1,4-1,6 volte superiore a quella spesa.

Il bilancio energetico diventa, poi, ancora più favorevole se si considera anche il valore energetico del sottoprodotto ottenuto dalla spremitura del seme per l'estrazione dell'olio. Esso è costituito, infatti, da un "panello proteico" ad alto contenuto energetico utilizzabile come alimento per il bestiame, il cui contenuto energetico è pari al 70% circa di quello dell'olio prodotto.

Circa la produzione di bioetanolo, è possibile ottenere una resa 3-4 t/ha di etanolo con un potere calorifico inferiore di 27.000 kJ/kg, oltre a residui di lavorazione costituiti da sostanze azotate e minerali di elevato valore fertilizzante (fig. 6).

Anche in questo caso il bilancio energetico complessivo risulta ampiamente positivo, con una quantità di energia utile pari a 1,5 volte l'energia spesa, cui va aggiunto il valore energetico dei sottoprodotti.

In termini ambientali, sia il biodiesel, sia il bioetanolo sono caratterizzati

■	Produzione biodiesel:	1,2-1,5 t/ha
■	P.c.i.:	35.000 kJ/kg
■	Energia prodotta:	8,6 tep/ha
■	Energia utile:	30 ÷ 35 %

Fig. 5 *Bilancio energetico della produzione di biodiesel*

da un bilancio complessivo dell'anidride carbonica nullo. Entrambi, infatti, al momento della loro combustione immettono nell'atmosfera una quantità di CO₂ esattamente identica a quella che le colture di origine hanno utilizzato durante il loro ciclo di crescita e, pertanto, non contribuiscono ad aumentare

■	Produzione etanolo:	Mais	3 t/ha
		Barbabietola	4 t/ha
		Canna	7 t/ha
■	P.c.i.:		27.000 kJ/kg
■	Energia prodotta:		19 ÷ 45 tep/ha
■	Energia utile:		34%

Fig. 6 *Bilancio energetico della produzione di etanolo*

l'“effetto serra”.

Di particolare interesse, poi, appare il bilancio energetico della produzione di biogas. Tale tecnica, infatti, originariamente nata come mezzo di recupero energetico delle deiezioni animali, con rendimenti dell'ordine di $0,10 \text{ m}^3/\text{giorno.capo}$ suino adulto e di $0,75 \text{ m}^3/\text{giorno.capo}$ nel caso di vacche da latte, ha ormai trovato una certa diffusione in Europa, dove sono stimati pari a oltre 2000 gli impianti di digestione anaerobica di reflui zootecnici.

A essi vanno aggiunti, poi, numerosi impianti per il recupero del biogas prodotto nelle discariche interraste di rifiuti solidi urbani, particolarmente sviluppati in Gran Bretagna, e per la digestione anaerobica della frazione organica degli RSU che ha avuto un grande sviluppo negli ultimi anni, raggiungendo una capacità di 1,1 milioni di tonnellate/anno.

Complessivamente, si può stimare una produzione totale di biogas nei paesi della UE di oltre 2,7 milioni di tep.

I rendimenti dalla fermentazione dei reflui zootecnici, benché interessanti, non sono, tuttavia, tali da rendere questa tecnica di assoluto interesse energetico al di fuori delle problematiche di gestione delle deiezioni degli allevamenti. Se si considera, poi e come precedentemente accennato, che i paesi della UE sono eccedenti in termini di produzione agricola e si trovano, conseguentemente, nella necessità di ridurre le superfici produttive, la digestione anaerobica assume una nuova prospettiva di grandissimo interesse in termini energetici.

Le rese in biogas delle deiezioni animali sono, infatti, condizionate dal fatto che il substrato è costituito da materiale impoverito in termini energetici dalla precedente trasformazione zootecnica. Pertanto, tenuto conto delle limitazioni imposte dall'UE alle produzioni alimentari, l'utilizzazione diretta degli alimenti zootecnici nel processo di digestione anaerobica costituisce un'opzione di grande interesse. Pianta quali il mais e il sorgo, caratterizzate da un processo di fotosintesi particolarmente efficiente di tipo C4, possono essere trinciati e insilati sì da fornire una alimentazione continua dell'impianto nell'arco dell'anno.

Alcune prime esperienze di questo tipo, già in atto in Germania, hanno evidenziato rese dell'ordine di 250 m^3 di biogas per tonnellata di silomais che, a parità di condizioni, risulta superiore di oltre quattro volte rispetto al gas prodotto dalla digestione anaerobica delle sole deiezioni bovine.

Nell'ipotesi di una produzione media di trinciato di 60 t/ha e considerando un p.c.i. del biogas di 21.700 kJ/m^3 , la resa energetica lorda risulta, pertanto, molto elevata, pari a $7,8 \text{ tep/ha}$. In termini economici, considerando che con i moderni impianti di cogenerazione 1 m^3 di biogas fornisce circa 2 kWh di energia elettrica, la produzione di energia per ettaro risulta dell'ordi-

ne di 30.000 kWh (fig. 7).

Tale valore, considerando le incentivazioni finanziarie che premiano la produzione di energia da fonti rinnovabili (certificati verdi) e che offrono un prezzo di vendita del kilowattora dell'ordine di 0.11 €, porta a una PLV di 3.300 €/ha che risulta circa doppia rispetto a quella ottenibile, agli attuali valori di mercato, dalla granella di mais. Il beneficio economico è, poi, ulteriormente incrementato dal valore dell'energia termica recuperata dagli impianti di cogenerazione, dell'ordine di 50.000 kWh termici, che può essere utilizzata in azienda o venduta ai fini del teleriscaldamento.

Un impianto di questo tipo è operativo in Germania in una azienda di 210 ha, dove tre digestori alimentano un gruppo di generatori elettrici della potenza nominale di 800 kW, con una produzione media giornaliera di 13.000 kWh. I digestori sono alimentati con insilato di mais e d'erba, oltre che con residui di macellazione e RSU organici da raccolta differenziata.

5. IDROGENO E BIOMASSE

L'idrogeno è senza dubbio l'elemento chimico più semplice e diffuso in natura. Nella sua forma atomica, è costituito da un solo protone intorno a cui si

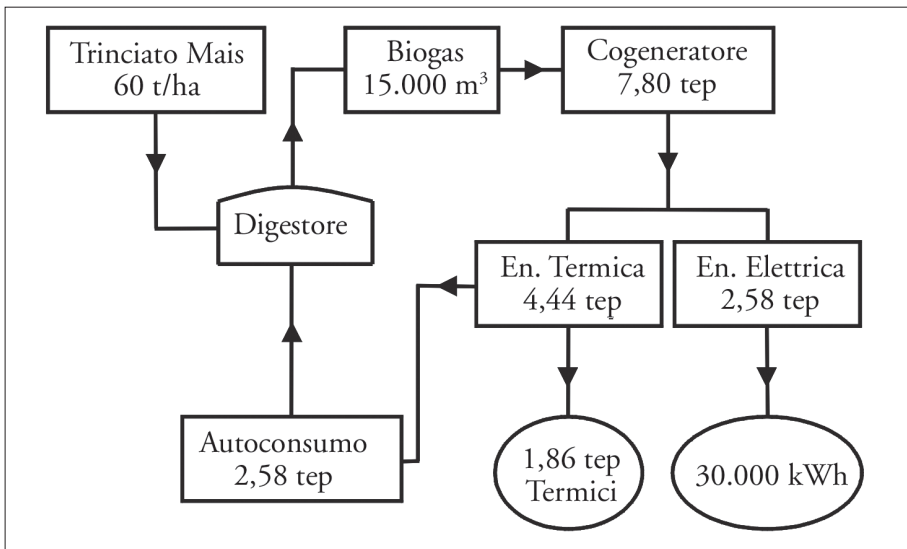


Fig. 7 Bilancio energetico della produzione di biogas da trinciato di mais

nuove un solo elettrone.

Normalmente, a temperatura ambiente, l'idrogeno si trova in forma gassosa, mentre per portarlo in forma liquida, occorre raffreddarlo fino a una temperatura di -253°C . Essendo molto leggero (ha una densità inferiore agli altri idrocarburi) sia in forma gassosa, sia in forma liquida tende a dissolversi molto rapidamente in aria.

Anche se l'idrogeno non costituisce propriamente una fonte d'energia in quanto deve essere estratto dall'acqua (elettrolisi), oppure ottenuto da combustibili fossili, in entrambi i casi con un certo dispendio d'energia, numerosi sono i fattori che lo pongono al centro dell'attenzione mondiale come futuro mezzo di utilizzazione "pulita" dell'energia.

L'idrogeno, infatti, oltre ad avere una fondamentale valenza ambientale in quanto totalmente privo di residui all'atto della sua combustione, rappresenta un eccellente accumulatore di energia che può consentire, da un lato, il recupero degli inevitabili "surplus" associati alla produzione convenzionale di energia elettrica e, dall'altro, lo sfruttamento ottimale delle fonti di energia rinnovabili che, in gran parte, sono per loro natura fortemente discontinue.

Oltre a ciò, gli studi più avanzati stanno attentamente valutando la messa a punto di processi per la produzione diretta di idrogeno da biomasse per via biochimica e termica.

La via più semplice per la produzione dell'idrogeno è rappresentata dall'elettrolisi dell'acqua che risulta, però, scarsamente diffusa (circa il 4% della produzione mondiale) causa l'elevato costo energetico che essa comporta, dell'ordine di 4-5 kW per Nm^3 di idrogeno.

Tuttavia, in un più generale contesto di razionalizzazione della produzione e dell'uso dell'energia, la barriera dell'elevato impiego d'energia elettrica per la produzione per via elettrolitica dell'idrogeno può essere superata. Va ricordato, infatti, che le grandi centrali termoelettriche a vapore non possono essere mai arrestate; entro certi limiti si può parzializzare il loro carico, ma ciò comporta forti riduzioni di rendimento. Per tale motivo, nei momenti di minore richiesta elettrica e durante la notte, le turbine continuano a funzionare a pieno carico e l'energia prodotta che eccede la richiesta della rete viene dissipata tramite opportune resistenze, al fine di non sovraccaricare le linee.

È, quindi, disponibile un'importante quota d'energia elettrica non impiegata che potrebbe essere utilizzata per la produzione d'idrogeno a un costo estremamente contenuto.

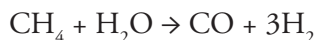
Un'altra interessante possibilità è offerta dalle centrali di produzione di energia elettrica alimentate da fonti rinnovabili (fotovoltaiche o eoliche), la

cui produzione non è modulabile in quanto rigidamente correlata alle condizioni ambientali, che possono, anch'esse, fornire energia elettrica a basso costo nei momenti di minore richiesta.

Al momento, comunque, la produzione mondiale d'idrogeno, pari a 500 miliardi di Nm³, è ottenuta per il 60% dal processo chimico di *reforming* degli idrocarburi leggeri, principalmente metano, per il 30% dal *cracking* d'idrocarburi più pesanti e per il 6% dalla gassificazione del carbone.

In particolare, lo "steam reforming" è un procedimento ampiamente sviluppato che riguarda la produzione del 48% dell'idrogeno mondiale. Il processo avviene per reazione di metano e vapore in presenza di catalizzatori, a una temperatura di circa 800 °C e a una pressione di 2,5 MPa (fig. 8).

La prima fase consiste nella decomposizione del metano in idrogeno e monossido di carbonio, secondo la reazione:



cui segue una seconda fase, chiamata "shift reaction", dove il monossido di carbonio e l'acqua si trasformano in biossido di carbonio e idrogeno:

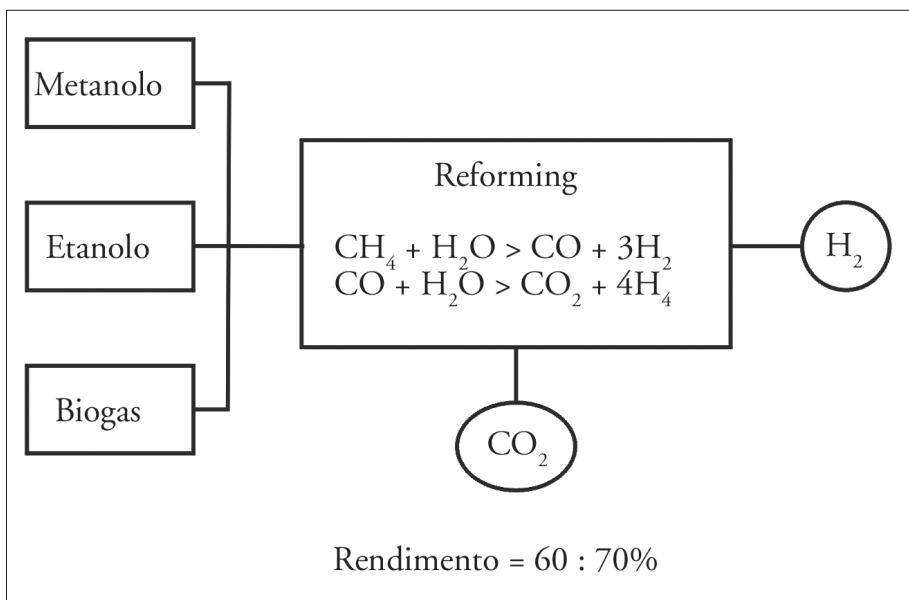
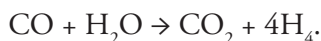


Fig. 8 Processo di "steam reforming" per la produzione d'idrogeno

Benché il contenuto energetico dell'idrogeno prodotto risulti maggiore di quello del metano utilizzato, l'elevata quantità di energia richiesta dal processo riduce il rendimento complessivo al 50-70%.

Come si vede, quindi, il metano ottenibile dalla fermentazione anaerobica delle biomassa costituisce, già allo stato attuale della tecnologia, una fonte primaria di produzione dell'idrogeno di grande interesse.

La ricerca, tuttavia, è attivamente impegnata per definire anche metodi alternativi per la produzione diretta dell'idrogeno da prodotti vegetali basati sulla *distillazione secca* e su *tecnologie biochimiche*.

La *distillazione secca* (gassificazione e pirolisi) è un processo che per mezzo della decomposizione termica spezza la molecola complessiva delle sostanze organiche in elementi semplici da cui si ottengono differenti gas, fra cui l'idrogeno. In particolare, combinando la pirolisi con un processo di steam reforming, si ottengono vapori che possono essere convertiti in idrogeno e monossido e biossido di carbonio.

Il metodo prevede una decomposizione termica ad alta temperatura (400-450 °C) in atmosfera inerte, che porta alla formazione di un "bio-olio" costituito, allo 85%, da sostanze organiche ossigenate e, al 15%, da acqua. Il bio-olio viene, poi, sottoposto al processo di steam reforming per la produzione di idrogeno.

Poiché, inoltre, il bio-olio può essere facilmente trasportato, tale procedimento offre anche il vantaggio di consentire l'impiego di piccoli impianti di pirolisi nel luogo stesso di produzione della biomassa, trasportando successivamente l'olio così prodotto in un impianto centralizzato di *reforming*, con evidenti benefici in termini di economie di scala.

Per quanto riguarda, invece, le *tecnologie biochimiche*, esse si basano sulla conversione enzimatica di glucosio, carboidrati, amidi e altri zuccheri, che possono essere trasformati in idrogeno tramite l'azione di due enzimi: il *Thermoplasma Acidophilum* e il *Pyrococcus Furiosus*. Le quantità di idrogeno ottenibili per tale via è di una mole per ogni mole di zucchero, ma recenti studi hanno evidenziato la possibilità di aumentare tale resa a 12 moli di idrogeno per mole di zucchero.

Alcuni ricercatori americani hanno anche sviluppato un processo di scissione del glucosio per mezzo di un catalizzatore al platino, operante a una temperatura di 200 °C, in grado di separare l'idrogeno con una efficienza del 50% e con una ridotta produzione di ossido di carbonio.

Infine, ricercatori inglesi hanno messo a punto un sistema, basato sull'azione del vapore in presenza di particolari catalizzatori, per ottenere idrogeno da olio di girasole che produce un gas in grado di alimentare direttamente

una cella a combustibile.

5. CELLE A COMBUSTIBILE

Le celle a combustibile sono caratterizzate da un funzionamento simile a quello delle batterie, essendo formate da due elettrodi, un catodo e un anodo, e da un elettrolito che consente la migrazione degli ioni. A differenza di queste, però, la parte attiva viene continuamente rinnovata dall'alimentazione del combustibile, consentendo di produrre la corrente elettrica con continuità. Esse sono costituite da due elettrodi porosi, affacciati su un elettrolito, dove giungono un combustibile (tipicamente idrogeno), che lambisce l'anodo, e un ossidante (aria o ossigeno), che giunge al catodo (figg. 9 e 10). Per effetto di un catalizzatore, gli atomi d'idrogeno si scindono in un protone H^+ e un elettrone e^- :



che seguono percorsi diversi.

Gli elettroni creano una corrente elettrica che arriva al catodo attraverso

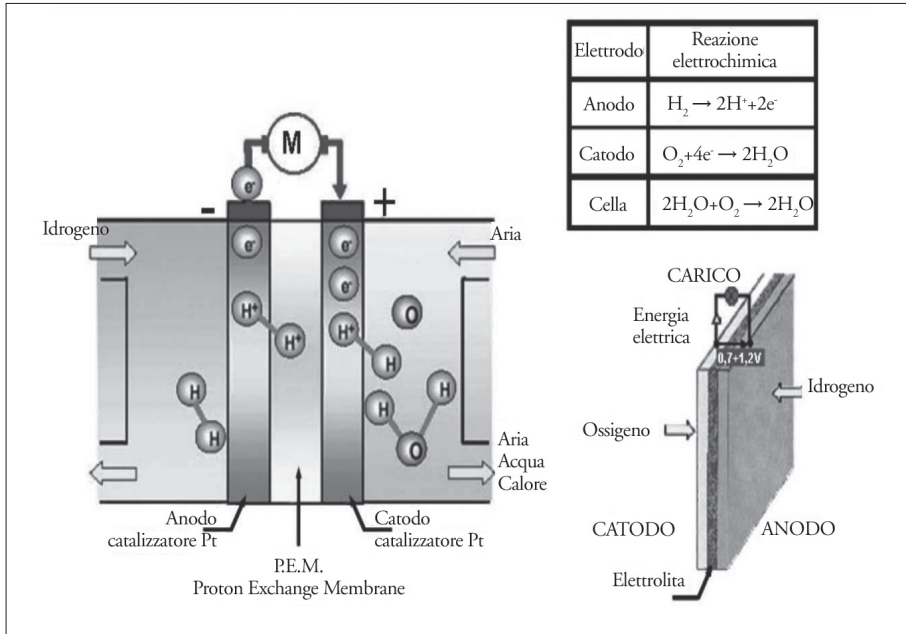


Fig. 9 Schema di cella a combustibile

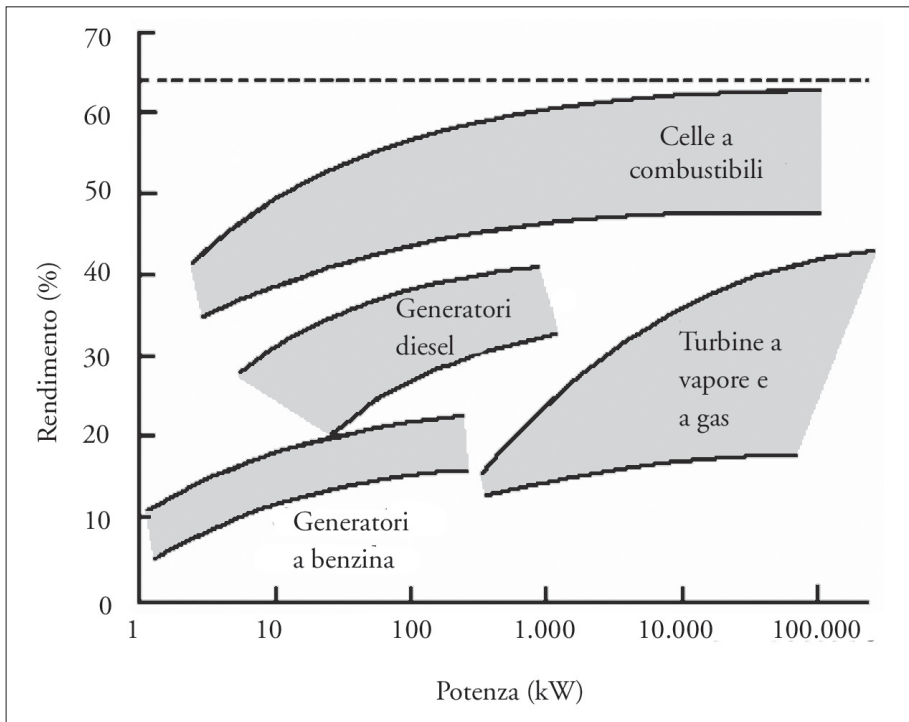
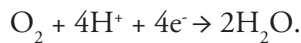


Fig. 10 Le celle a combustibile hanno un rendimento nettamente superiore rispetto agli altri sistemi di produzione dell'energia elettrica

un circuito esterno di utilizzazione, mentre i protoni H^+ passano attraverso l'elettrolito e giungono anch'essi al catodo dove reagiscono con l'ossigeno dell'ossidante per formare acqua:



Le singole celle, caratterizzate da tensioni dell'ordine di 0,7-1,2 Volt, sono poste in serie formando il cosiddetto "stack", sino a raggiungere il valore di tensione desiderato.

Quattro sono le tipologie di celle attualmente in più avanzato stadio di sviluppo e sulle quali è maggiormente concentrata l'attenzione della ricerca (tab. 1):

- celle a membrana di scambio protonico, PEM - Proton Exchange Membrane;
- celle ad acido fosforico, PAFC – Phosphoric Acid Fuel Cell;
- celle a carbonati fusi, MCFC – Molten Carbonate Fuel Cell;

	PEM MEMBRANA A SCAMBIO PROTONICO	PAFC ACIDO FOSFORICO	MCFC A CARBONATI FUSI (LITIO/POTASSIO)	SOFC OSSIDI SOLIDI (ZIRCONIO/ ITTRIO)
TEMPERATURA	80-120°C	180-210°C	600-700°C	800-1,000°C
COMBUSTIBILE	Idrogeno	Gas naturale, Idrogeno, Alcoli	Tutti i derivati del petrolio	Gas naturale, Gas sintetici
RENDIMENTO: *ELETTRICO *COGENERAZIONE	30-40%	40% 60-80%	43-50%	45-70% 90-95%
APPLICAZIONI	Trasporto Punto fisso	Punto Fisso	Punto Fisso	Punto Fisso
CARATTERISTICHE	Per autotrazione e generatori di emergenza nella gamma 1-250kW. Idrogeno ad alta purezza. Alta densità energetica	Disponibi- li a livello commerciale in taglia 100-200 kW . Tollerano idrogeno non puro. Bassa densità energetica	Prossime alla commercializza- zione. Utilizzano com- bustibili diversi anche "refor- ming". Taglie medio grandi	In fase sperimentale per impianti fissi. Semplici di basso costo per kW, utilizzano combustibili diversi senza "reforming"

Tab. 1 *Principali tipologie di celle a combustibile*

– *celle a ossidi solidi, SOFC – Solid Oxide Fuel Cell.*

Le celle *PEM* sono dotate di una sottile membrana polimerica ricoperta da entrambi i lati da particelle metalliche (in origine platino, ma ora anche materiali meno costosi) che permette il passaggio degli ioni dell'idrogeno. Operano a basse temperature di funzionamento (80-200 °C) e possono essere realizzate in taglie da 1 a 250 kW, con un rendimento del 30-40 %. Sono caratterizzate da un'elevata intensità di potenza e da un funzionamento particolarmente elastico che consente di modulare la potenza erogata e, pertanto, risultano le più adatte a impieghi di autotrazione elettrica.

Richiedono come combustibile idrogeno a elevato grado di purezza poiché la presenza, anche in piccole quantità, di monossido di carbonio danneggia irrimediabilmente il catalizzatore.

Le celle *PAFC* sono anch'esse caratterizzate da temperature di funzionamento relativamente basse (180-200 °C). Utilizzano come elettrolito una soluzione di acido fosforico imbevuta in una matrice di carburo di silicio posta fra due elettrodi di silicio.

Rispetto alle *PEM* presentano una minore intensità energetica, ma offrono il vantaggio di non richiedere una elevata purezza dell'idrogeno in quanto possono tollerare sino allo 1,5% di CO nel combustibile di alimen-

tazione.

Sono in generale applicate in impianti fissi, con taglie di 100-200 kW, con un rendimento elettrico dell'ordine del 40% e un rendimento complessivo, in impianti di cogenerazione, dell'80%.

Le celle *MCFC* usano elettrodi a base di nichel e come elettrolito una miscela di litio, sodio e/o potassio. Richiedono una temperatura media di esercizio di 600-700 °C al fine di garantire una sufficiente conduttività dell'elettrolito e, grazie a essa, non richiedono necessariamente idrogeno, ma possono anche utilizzare come combustibile direttamente gas naturale o derivato dal carbone poiché l'elevata temperatura di funzionamento favorisce la scissione degli atomi di idrogeno. Un ulteriore vantaggio dell'alta temperatura di funzionamento è di non richiedere metalli nobili per la realizzazione degli elettrodi.

La potenza unitaria può andare da 100 a 500 kW e presentano un rendimento molto elevato che può giungere sino al 50%.

Le celle *SOFC* richiedono anch'esse temperature d'esercizio molto elevate (800-1000 °C) che consentono di realizzare il *reforming* del gas combustibile all'interno della cella stessa. Sono considerate le celle più sofisticate, in quanto semplici, molto affidabili e tolleranti alle impurità.

L'elettrolito è formato da ossido di zirconio allo stato solido stabilizzato con ossido di ittrio; il catodo è costituito da manganato di lantanio, opportunamente trattato, mentre l'anodo è a base di nichel e ossido di zirconio.

Come combustibile possono essere usati, oltre all'idrogeno, metano, etanolo, metanolo e gas naturale. L'elevata temperatura di funzionamento non richiede l'impiego di catalizzatori e di un sistema di raffreddamento, che avviene per *reforming* interno e per effetto dell'aria ossidante che alimenta la cella.

Presentano un'alta densità d'energia e un ottimo rendimento, che può giungere al 70%, per quanto riguarda l'energia elettrica, e al 90-95 % in cogenerazione; per contro, le elevate temperature di funzionamento non rendono convenienti unità di piccola potenza.

6. CONCLUSIONI

L'effetto serra, con i drammatici mutamenti climatici e ambientali a esso connessi, unitamente alla crescente domanda mondiale d'energia, derivante anche dal rapido sviluppo di paesi emergenti che si stanno rapidamente avviando verso lo sviluppo industriale, impongono una profonda revisione del

sistema di produzione e impiego dell'energie.

A tale fine, lo sviluppo dell'idrogeno quale vettore energetico in grado di fornire un sistema "pulito" di utilizzazione finale dell'energia è da più parti indicato come una delle vie più promettenti.

La rapida analisi svolta ha evidenziato come le biomasse costituiscano una fonte potenziale di grande interesse per processi innovativi di produzione dell'idrogeno che possono affiancare le tecnologie tradizionali, ormai ampiamente mature e utilizzate, basate sui combustibili fossili.

Le alternative possibili sono numerose, da quelle più vicine alle tecniche attuali, quali la gassificazione e la pirolisi con successivo *reforming*, alle più innovative e sperimentali, che fanno riferimento alla produzione di etanolo con *reforming* dello stesso e alle tecniche biologiche basate su fermentazione e fotosintesi.

In particolare il biogas da fermentazione anaerobica, ricordando che il metano costituisce attualmente la fonte più semplice e diffusa di produzione industriale dell'idrogeno, sembra offrire rese specifiche di grande interesse. Utilizzando come alimentazione del digestore colture di alto rendimento fotosintetico, di tipo C4, è possibile ottenere rese energetiche, in termini di biogas prodotto, dell'ordine delle 8 tep/ha.

Si tratta certamente di tecnologie e processi ampiamente sperimentali che richiedono ancora un notevole impegno di ricerca, sviluppo e dimostrazione per diventare operative ed economicamente proponibili.

Appare, tuttavia, evidente come l'agricoltura possa modificare e ampliare la propria funzione "primaria", divenendo produttrice non solo di alimenti, ma anche di energia che, al pari di questi, costituisce oggi un imprescindibile fattore di sviluppo dell'uomo.

BIBLIOGRAFIA

- AA.VV. (1999): *CIGR Handbook of agricultural engineering, Volume 5: Energy and biomass engineering*, «American Society of Agricultural Engineers» pp. xxi-330.
- AA.VV. (2003): Atti del Convegno "Idrogeno, il nostro futuro", Milano Energia, 25-28 novembre.
- AA.VV. (2003): *Dossier Idrogeno e Fuel Cell*, «Nuova Energia», 1, 3/4.
- ANTOLIN G., TINAUT F.V., BRICENO Y., CASTANO V., PEREZ C., RAMIREZ A.I. (2002): *Optimisation of biodiesel production by sunflower oil transesterification*, «Bioresource Technology», 83, 2, pp. 111-114.
- BERNETTI I. (1998): *The market of wood energy biomass: a supply model*, «Rivista di Economia Agraria», 53, 3, pp. 363-393.
- BROKELAND R. (2000): *Comparison of process chains for the supply of bio-fuels*, «Agrartechnische Forschung», 6, 1, pp. 8-19.
- BRUIJM F. DE (2005): *The current status of fuel cell technology for mobile and stationary*

- applications*, «Green Chemistry», 7, 3, pp. 132-150.
- CANAKCI M., GERPEN J.H. VAN (2001): *Biodiesel production from oils and fats with high free fatty acids*, «Transactions of the ASAE», 44, 6, pp. 1429-1436.
- CANAKCI M., GERPEN J.H. VAN (2003): *Comparison of engine performance and emissions for petroleum diesel fuel, yellow grease biodiesel, and soybean oil biodiesel*, «Transactions of the ASAE», 46, 4, pp. 937-944.
- CARRARETTO C., MACOR A., MIRANDOLA A., STOPPATO A., TONON S. (2004): *Biodiesel as alternative fuel: experimental analysis and energetic evaluations*, «Energy», 29, 12, pp. 2195-2211.
- CLAASSEN P.A.M., LIER J.B. VAN, CONTRERAS A.M.L., NIEL E.W.J. VAN, SIJTSMA L., STAMS A.J.M., VRIES S.S. DE, WEUSTHUIS R.A. (1999): *Utilization of biomass for the supply of energy carriers*, «Applied Microbiology and Biotechnology», 52, 6, pp. 741-755.
- DATAR R.P., SHENKMAN R.M., CATENI B.G., HUHNKE R.L., LEWIS R.S. (2004): *Fermentation of biomass-generated producer gas to ethanol*, «Biotechnology and Bioengineering», 86, 5, pp. 587-594.
- DEMIRBAS A. (2002): *Biodiesel from vegetable oils via transesterification in supercritical methanol*, «Energy Conversion and Management», 43, 17, pp. 2349-2356.
- DMYTRYSHYN S.L., DALAI A.K., CHAUDHARI S.T., MISHRA H.K., REANEY M.J. (2004): *Synthesis and characterization of vegetable oil derived esters: evaluation for their diesel additive properties*, «Bioresource Technology», 92, 1, pp. 55-64.
- GADUS J., BOZIK M. (2003): *Assessment of efficiency of electric power production in a fuel cell with biogas as fuel*, «Acta Technologica Agriculturae», 6, 2, pp. 46-50.
- HALL D.O. (1997): *Biomass energy in industrialised countries – a view of the future*, «Forest Ecology and Management», 91, 1, pp. 17-45.
- HALL D.O., SCRASE J.I., ROSILIO-CALLE F. (1997): *Biomass energy: the global context now and in the future*, «Aspects of Applied Biology», 49, pp. 1-10.
- HAMELINCK C.N., FAAIJ A.P.C., UIL H. DEN, BOERRINGER H. (2004): *Production of FT transportation fuels from biomass; technical options, process analysis and optimisation, and development potential*, «Energy», 29, 11, pp. 1743-1771.
- HANAOKA T., YOSHIDA T., FUJIMOTO S., KAMEI K., HARADA M., SUZUKI Y., HATANO H., YOKOYAMA S., MINOWA T. (2005): *Hydrogen production from woody biomass by steam gasification using a CO₂ sorbent*, «Biomass and Bioenergy», 28, 1, pp. 63-68.
- HANAOKA T., INOUE S., UNO S., OGI T., MINOWA T. (2005): *Effect of woody biomass components on air-steam gasification*, «Biomass and Bioenergy», 28, 1, pp. 69-76.
- HOFFMANN P. (2002): *L'era dell'idrogeno – Energia per un pianeta più pulito*, Franco Muzio Editore, Roma, pp. 351.
- KALLIVROUSSIS L., NATSIS A., PAPADAKIS G. (2002): *The energy balance of sunflower production for biodiesel in Greece*, «Biosystems Engineering», 81, 3, pp. 347-354.
- KAUSHIK N., DEBABRATA D. (2003): *Hydrogen from biomass*, «Current Science», 85, 3, pp. 265-271.
- KNOTHE G. (2001): *Analytical methods used in the production and fuel quality assessment of biodiesel*, «Transactions of the ASAE», 44, 2, pp. 193-200.
- KOVACS K.L., KOVACS A.T., MAROTI G., BAGI Z., CSANADI G., PEREI K., BALINT B., BALOGH J., FULOP A., MESZAROS L.S., TOTH A., DAVID R., LATINOVICS D., VARGA A., RAKHELY G. (2004): *Improvement of biohydrogen production and intensification of biogas*, «Reviews in Environmental Science and Bio/Technology», 3, 4, pp. 321-330.
- KRAHL J., MUNACK A., SCHRODER O., BUNGER J., BAHADIR M. (2002): *Environmental and health impacts due to biodiesel exhaust gas*, «Fresenius Environmental Bulletin», 11,

- 11b, pp. 823-828.
- KRAHL J., MUNACK A., STEIN H., SCRODER O., HASSANEEN A. (2005): *Fuel economy and environment characteristics of biodiesel and low sulfur fuels in diesel engines*, «Landbau-forschung Volkenrode», 55, 2, pp. 99-106.
- LANG X., DALAI A.K., BAKHSHI N.N., REANEY M.J., HERTZ P.B. (2001): *Preparation and characterizaion of bio-diesels from various bio-oils*, «Bioresource Technology», 80, 1, pp. 53-62.
- LV P.M., XIONG Z.H., CHANG J., WU C.Z., CHEN Y., ZHU J.X. (2004): *An experimental study on biomass air-steam gasification in a fluidized bed*, «Bioresource Technology», 95, 1, pp. 95-101.
- MONYEM A., GERPEN J.H. VAN, CANAKCI M. (2001): *The effect of timing and oxidation on emissions from biodiesel-fueled engines*, «Transactions of the ASAE», 44, 1, pp. 35-42.
- MUNACK A., KRAHL J., CAPAN E., HERBST L., KAUFMANN A., SCHRODER O., STEIN H., BUNGER J. (2005): *New diesel fuels: emissions and optimisation potentials*, «Agrartechnische Forschung», 11, 1/3, pp. 43-48.
- MUNOZ M., MORENO F., MOREA J. (2004): *Emission of an automobile diesel engine fuelled with sunflower methyl ester*, «Transactions of the ASAE», 47, 1, pp. 5-11.
- OBERNBERGER I., THEK G. (2004): *Physical characterisation and chemical composition of densified biomass fuels with regard to their combustion behaviour*, «Biomass and Bioenergy», 27, 6, pp. 653-669.
- PETERSON C.L., COOK J.L., THOMPSON J.C., TABERSKI J.S. (2002): *Continuous flow bio-diesel production*, «Applied Engineering in Agriculture», 18, 1, pp. 5-11.
- POWELSON D.S., RICHE A.B., SHIELD I. (2005): *Biofuels and other approaches for decreasing fossil fuel emissions from agriculture*, «Annals of Applied Biology», 146, 2, pp. 193-201.
- REITH J.H., WIJFFELS R.H., BARTEN H. (2003): *Bio-methane and bio-hydrogen: status and perspectives of biological methane and hydrogen production*, «Dutch Biological Hydrogen Foundation» pp. 165.
- ROMER S., ROMER A., *L' idrogeno*, «<http://www.ncpublicpower.com/coal.jpg>».
- RONCHERI M. (2002): *Celle a combustibile: stato di sviluppo e prospettive della tecnologia*, «Enea».
- SCHOLZ V., SCHMERSAHL R. (2005): *Biogas in PEN fuel cells*, «Agrartechnische Forschung», 11, 1/3, pp. 1-10.
- SCHUMACHER L.G., CLARK N.N., LYONS D.W., MARSHALL W. (2001): *Diesel engine exhaust emissions evaluation of biodiesel blends using a Cummins L10E engine*, «Transactions of the ASAE», 44, 6, pp. 1461-1464.
- SCHUMACHER L.G., MARSHALL W., KRAHL J., WETHERELL W.B., GRABOWSKI M.S. (2001): *Biodiesel emissions data from Series 60 DDC engines*, «Transactions of the ASAE», 44, 6, pp. 1465-1468.
- SCHUMACHER L.G., PETERSON C.L., GERPEN J. VAN (2005): *Engine oil analysis of biodiesel-fueled engines*, «Applied Engineering in Agriculture», 21, 2, pp. 153-158.
- SCHUMACHER L.G., SOYLU S., GERPEN J. VAN, WETHERELL W. (2005): *Fueling direct injected diesel engines with 2% biodiesel blend*, «Applied Engineering in Agriculture», 21, 2, pp. 149-152.
- SETH D. (2002): *Idrogeno verso la sostenibilità dei consumi energetici*, Edizioni Ambiente, Milano, pp. 118.
- STREZOV V., MOGHADERI B. LUCAS J.A. (2004): *Computational calorimetric investigation of the reactions during thermal conversion of wood biomass*, «Biomass and Bioenergy», 27, 5, pp. 459-465.

- STRUICK P.C., VENTURI G. (2000): *An integrated approach in evaluation of production of energy from biomass*, «Medit - Prospettive e proposte mediterranee - Rivista di economia, agricoltura e ambiente», 11, 4, pp. 35-38.
- STUCKI S., *La produzione di idrogeno*, «<http://www.ncpublicpower.com/coal.jpg>».
- TURRIO-BALDASSARI L., BATTISTELLI C.L., CONTI L., CREBELL R., NERARDIS B. DE, IAMICELI A.L., GAMBINO M., IANNAONE S. (2004): *Emission comparison of urban bus engine fuelled with diesel oil and "biodiesel" blend*, «Science of the Total Environment», 327, 1/3, pp. 147-162.
- WAHLUNG B., YAN J.Y., WESTERMARK M. (2004): *Increasing biomass utilisation in energy systems: a comparative study of CO₂ reduction and cost for different bioenergy processing options*, «Biomass and Bioenergy», 26, 6, pp. 531-544.
- WICHERT B., WITTRUP L., ROBEL R. (1994): *Biogas, compost and fuel cells*, «BioCycle», 35, 8, pp. 34-36.
- WOODFORD J.R. (2000): *The application of electrical energy in agriculture*, «Journal of the Royal Agricultural Society of England», 161, pp. 142-154.
- YING H., JIANG J.C., DAI W.D., LIU S.C., GAO Y.W. (2004): *Study on industrial technology of gasification of biomass with fluidised-bed*, «Chemistry and Industry of Forest Products», 24, 2, pp. 1-5.
- YUAN W., HANSEN A.C., ZHANG Q. (2003): *Predicting the physical properties of biodiesel for combustion modeling*, «Transactions of the ASAE», 46, 6, pp. 1478-1493.
- ZOU L., ATKINSON S. (2003): *Characterising vehicle emissions from the burning of biodiesel made from vegetable oil*, «Environmental Technology», 24, 10, pp. 1253-1260.

L'idrogeno dalla fermentazione di biomasse

L'80% dell'energia utilizzata sul pianeta proviene da combustibili fossili. Questa dipendenza dalle fonti energetiche fossili per una quota così elevata è preoccupante per una serie di motivi. Anzitutto perché si tratta di fonti non rinnovabili in tempi ragionevoli; in secondo luogo perché la combustione di tali materiali comporta la liberazione nell'atmosfera di inquinanti gassosi e particolati, quali l'anidride solforosa (SO_2), gli ossidi di azoto (NO_x), l'anidride carbonica (CO_2) e le polveri. Per far fronte a questo inquinamento crescente, negli ultimi decenni nei paesi sviluppati sono state varate diverse normative finalizzate al controllo delle emissioni, che tuttavia continuano a preoccupare soprattutto per la grande quantità di anidride carbonica che viene introdotta nell'aria. Questo gas concorre in misura significativa a creare l'effetto serra, la cui manifestazione più grave è l'innalzamento della temperatura del pianeta. La riduzione della superficie e del volume dei ghiacciai perenni di alta montagna, insieme con lo scioglimento di quelli dei due poli Artico e Antartico, è la conseguenza più diretta e vistosa già ampiamente documentata. Il conseguente innalzamento del livello delle acque di mari e oceani rappresenta una grave minaccia per le zone costiere di tutto il pianeta.

Il cambiamento climatico è diventato uno dei temi ambientali più importanti che la comunità internazionale ha posto sul tappeto, tanto che l'ONU ha istituito la Convenzione sul Cambiamento Climatico, nell'intento di impegnare i Paesi aderenti a mettere in atto misure per contrastare il fenomeno.

In questo contesto l'idrogeno (H_2) appare sempre più come una fonte energetica di grande interesse; infatti, in quanto "gas pulito", la sua combustione non produce polveri o altri gas e tanto meno anidride carbonica, ma

* *Dipartimento di Scienze e Tecnologie Alimentari e Microbiologiche, Università degli Studi di Milano*

solo acqua, una componente naturale della biosfera nella quale si disperde senza arrecare né inquinamento né altri danni.

Per il momento l'energia prodotta con l'uso dell'idrogeno è ancora molto scarsa, essendo pari a circa il 3% sul totale ed è destinata a usi industriali. Si prevede tuttavia per il futuro un incremento consistente.

Attualmente l'idrogeno può essere ottenuto attraverso diversi metodi da tre fonti: (1) dai combustibili fossili, (2) dalle biomasse, (3) dall'acqua. Il 90% è ricavato dal gas naturale e da frazioni leggere del petrolio ad alte temperature (*steam reforming*). La gassificazione del carbone e l'elettroforesi dell'acqua attualmente sono molto meno utilizzati.

Tutti questi metodi, siano essi termochimici o elettrochimici, comportano sempre consumo di combustibile fossile come fonte di energia per la realizzazione del processo e spesso anche come materia prima e sono per lo più inquinanti. Senza contare che il costo di realizzazione è decisamente elevato.

Per questo motivo si guarda con grande interesse alla produzione di idrogeno per via biologica da biomasse di scarto, con particolare riferimento a quelle agricole e agro-industriali.

L'idrogeno viene prodotto in natura spontaneamente da batteri fotosintetici (cianobatteri) e da batteri eterotrofi fermentanti. Le scarse quantità rilevate in natura sono da mettere in relazione al fatto che mano a mano che l'idrogeno viene prodotto dai diversi gruppi di batteri fermentanti, viene immediatamente utilizzato dalle popolazioni microbiche che vivono in simbiosi con batteri idrogeno-produttori e che, grazie all'elevato contenuto energetico di questo gas, lo utilizzano come fonte energetica del proprio metabolismo. E ciò avviene nel suolo, nei sedimenti dei mari, dei laghi, e degli stagni, nel rumine, in cui la produzione di metano avviene in larga parte per riduzione della CO_2 operata dall' H_2 . La sintrofia microbica nel rumine è talmente stretta che la presenza di H_2 nell'espriato viene considerata indice di dismicrobismo dell'apparato digerente.

La via biologica alla produzione di idrogeno non comporta consumo energetico, se non in misura minima; inoltre prevede, come materia prima, l'uso di una fonte energetica rinnovabile (quali sono appunto rifiuti e sottoprodotti di scarto delle biomasse provenienti dall'agricoltura e dall'industria agro-alimentare) e consente la trasformazione dei rifiuti in risorse, contribuendo fortemente al contenimento dell'inquinamento ambientale. La produzione di idrogeno può avvenire sia mediante fermentazione di sostanza organica al buio sia mediante fotosintesi.

In questa relazione verrà considerata solo la via fermentativa al buio; si rimanda alla relazione del prof. Vincenzini per l'illustrazione della via fotosintetica.

LA PRODUZIONE DI IDROGENO PER VIA FERMENTATIVA AL BUIO

La produzione di idrogeno per via fermentativa al buio in passato ha riscosso scarso interesse rispetto alla via fotosintetica. Oggi però questa via ha acquistato molto più interesse; viene infatti considerata una strategia molto promettente e ha portato a una intensificazione della ricerca e della sperimentazione in questo campo. La produzione per via fermentativa presenta, tra l'altro, il vantaggio di sviluppare idrogeno in quantità relativamente elevate e di fornire una produzione costante nel tempo, indipendentemente dal ciclo giorno/notte in quanto non richiede luce.

I batteri fermentanti idrogeno-produttori sono diffusi in natura. Finora sono state identificate 48 specie coltivabili in laboratorio, ma rappresentano solo una minima parte di quelli realmente esistenti, se ci si basa sui dati riportati da indagini biomolecolari che mostrano una larga diffusione degli enzimi chiave della produzione di idrogeno, le idrogenasi.

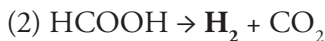
Le principali vie metaboliche che portano alla produzione di idrogeno nei batteri sono rappresentate dalle fermentazioni acido mista, 2,3-butilenglicolica e butirrica.

La fermentazione acido mista

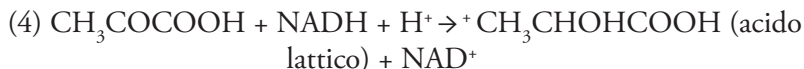
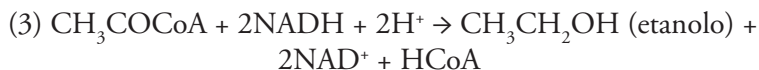
Viene attuata da batteri appartenenti alle *Enterobacteriaceae* che trasformano il glucosio in una serie di composti finali quali gli acidi formico, acetico, lattico, succinico e l'alcol etilico. Durante la glicolisi si produce piridinnucleotide ridotto ($\text{NADH} + \text{H}^+$). La riossidazione di questo trasportatore di idrogeno può comportare la liberazione di H_2 gassoso (1):



L'idrogeno si può produrre anche da formiato, purché il ceppo batterico possieda l'enzima per la sua scissione, cioè la formico idrogenoliasi (2):



Etanolo, lattato e succinato sono prodotti non graditi nella fermentazione mirata al recupero di idrogeno, in quanto si formano in seguito alla riduzione di acidi a spese del $\text{NADH} + \text{H}^+$ (3) (4):



Per quanto riguarda l'acido succinico, anch'esso viene prodotto con ossidazione di $\text{NADH} + \text{H}^+$, ma solo in presenza di anidride carbonica (5):



Alla luce delle reazioni sopra illustrate, è chiaro che per ottimizzare la produzione di idrogeno gassoso libero, è indispensabile mettere in atto dei meccanismi che impediscano lo *shift* della fermentazione verso prodotti finali ridotti come etanolo, lattato, e succinato. Per impedire la produzione di acido succinico basta strappare il gas mano a mano che si forma, eliminando così dallo spazio di testa del bioreattore anche l'anidride carbonica. Per quanto riguarda l'etanolo si dovrebbe sottrarre alla miscela di reazione l'acido acetico.

La fermentazione butirrica

Analogamente a quanto avviene nella fermentazione acido mista, anche nella fermentazione butirrica durante la glicolisi si produce $\text{NADH} + \text{H}^+$ da cui si può liberare, in seguito a reazione catalizzata da appositi enzimi, idrogeno gassoso.

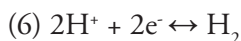
Durante la fermentazione l'acido piruvico viene convertito in idrogeno, anidride carbonica e acido acetico.

Il prodotto finale più importante di questa reazione è l'acido butirrico che viene sintetizzato a partire da due molecole di acido acetico. Tale reazione comporta il consumo di 2 moli di $\text{NADH} + \text{H}^+$. Pertanto per aumentare la resa in idrogeno sarà utile nel bioreattore impedire la sintesi dell'acido butirrico, per esempio sottraendo l'acido acetico alla miscela di reazione.

Recentemente l'interesse per i batteri appartenenti al genere *Clostridium* quali produttori di idrogeno è fortemente aumentato, in quanto garantiscono rese più elevate (fino a 3,3 moli H_2 /mole glucosio) dei batteri appartenenti alle *Enterobacteriaceae*.

Le idrogenasi

Chiavi di volta del processo di produzione di idrogeno molecolare sono particolari enzimi, le idrogenasi che catalizzano la reazione (6):



Ai fini della resa energetica è evidente che l'interesse è focalizzato sulla reazione che sposta l'equilibrio verso destra, cioè verso la produzione e non verso l'“uptake”, cioè il consumo di idrogeno. In questo secondo caso gli elettroni ceduti dall'idrogeno vengono utilizzati nel metabolismo cellulare direttamente o indirettamente (attraverso i chinoni) per ridurre NAD(P).

La capacità di liberare idrogeno molecolare è nota da più di 30 anni a seguito dell'isolamento della Fe-idrogenasi da *Clostridium pasteurianum*. In genere questo enzima svolge l'attività di rimozione dell'eccesso di riducenti equivalenti durante le fermentazioni che avvengono a opera di batteri anaerobi obbligati, a differenza delle idrogenasi periplasmatiche, che svolgono normalmente attività di ossidazione dell'idrogeno.

Dal punto di vista della struttura chimica, le principali idrogenasi si raggruppano in tre *cluster*:

I *cluster*: [NiFe]-idrogenasi sono le più diffuse e comprendono diversi sottogruppi:

- 1° sottogruppo, associate alla membrana con funzione respiratoria (uptake);
- 2° sottogruppo appartenenti ai cianobatteri (uptake);
- 3° sottogruppo citoplasmatiche eteromultimeriche reversibili;
- 4° sottogruppo associate alla membrana, liberano idrogeno.

II *cluster*: [Fe]-idrogenasi comprendono:

- 1° sottogruppo in parte monomeriche che interagiscono con ferredoxine, flavodoxine o citocromi a basso potenziale redox; altre dimeriche e periplasmatiche; determinanti genici *hydA* e *hydB*;
- 2° sottogruppo prevalentemente oligomeriche NAD(P) dipendenti, codificate da *hnd*.

III *cluster*: nitrogenasi, enzimi costituiti da due componenti proteiche (ferro e ferro-molibdeno-cobalto proteine) che utilizzano magnesio e ATP e che ricevono gli elettroni da ferredoxina ridotta o da flavodoxina. In assenza di altri substrati la nitrogenasi riduce i protoni a idrogeno. Tuttavia, a causa sia della bassa resa sia dell'alto consumo energetico (sotto forma di ATP) della catalisi la nitrogenasi non può essere considerata una efficiente via metabolica per la produzione di idrogeno.

RESE DI IDROGENO DI DIVERSI SISTEMI BIOLOGICI IN «BATCH»

Molte delle ricerche condotte in laboratorio sulla produzione di idrogeno si basano sulla selezione di popolazioni microbiche con elevate capacità di conversione della sostanza organica e elevate rese energetiche. Oltre che ai batteri mesofili, recentemente l'attenzione è stata rivolta anche ai batteri termofili, per i risultati promettenti ottenuti. In particolare esperimenti condotti in *batch* con *Thermotoga elfii*, *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* hanno mostrato rese elevate di idrogeno.

Per avere un'idea della produttività in diversi sistemi biologici, si riportano nella tabella alcuni importanti dati desunti dalla letteratura che sono stati riferiti in tutti i casi al litro x ora, al fine di poter effettuare un confronto tra i diversi sistemi di produzione di idrogeno.

Come si può osservare dalla tabella i sistemi di produzione biologica di idrogeno che dipendono dalla luce (fotolisi diretta, fotolisi indiretta e fotofermentazione) hanno tutti una resa di sintesi di idrogeno al di sotto di 1 mmole H_2 /(l x h). Le rese di produzione di idrogeno in termofilia risultano tra loro molto simili, indipendentemente dai microrganismi in gioco. Molto buone le rese dei due consorzi microbici in condizioni di mesofilia.

Nel tentativo di rendere più edotti gli operatori che intendono cimentarsi con queste biotecnologie, vengono riportati nella tabella 2 vantaggi e svantaggi dell'utilizzo dei vari agenti microbici idrogeno-produttori.

SISTEMA BIOLOGICO	PRODUTTIVITÀ DI IDROGENO MMOLI H_2 (L X H)
Fotolisi diretta	0.07
Fotolisi indiretta	0.355
Fotofermentazione	0.16
CO-ossidazione da <i>R. gelatinosus</i>	96,0
Fermentazione al buio	
Ceppo puro in mesofilia (<i>Clostridium</i>)	21,0
Consortio microbico in mesofilia	64.5
Altro consorzio microbico in mesofilia	121
Consortio microbico in termofilia	8,2
Ceppo puro in termofilia estrema (<i>Caldicellulosiruptor saccharolyticus</i>)	8,4

Tab. 1 Confronto tra le rese di diversi sistemi biologici (Levin et al., 2004)

CIANOBATTERI	
<i>Vantaggi</i>	<i>Svantaggi</i>
Producono H_2 da acqua Producono H_2 anche per mezzo della nitrogenasi, l'enzima che fissa l' N_2 atmosferico	Necessitano di luce Devono essere inibite le idrogenasi che consumano H_2 L' H_2 prodotto è in miscela con la CO_2 Necessitano di luce e di O_2 che inibisce la nitrogenasi.
ALTRI BATTERI FOTOSINTETICI	
Utilizzano un ampio range di lunghezze d'onda Possono utilizzare materiale di scarto	
BATTERI FERMENTANTI	
Producono H_2 in continuazione senza luce Utilizzano una vasta gamma di prodotti di scarto Producono acidi di interesse applicativo Hanno un metabolismo anaerobico e pertanto i bioreattori non devono essere alimentati con O_2	L' H_2 prodotto è in miscela con la CO_2

Tab. 2 *Vantaggi e svantaggi dell'utilizzo di vari agenti microbici idrogeno-produttori (Levin et al., 2004)*

LA PRODUZIONE DI IDROGENO NEGLI IMPIANTI

Nella figura 1 viene schematicamente illustrato il processo: la sostanza organica, che è il substrato su cui operano i microrganismi, può essere costituita da biomasse provenienti dall'attività agricola (residui della potatura, deiezioni zootecniche, scarti dell'ortomercato, ecc.), da vegetali appositamente coltivati per produrre energia), da prodotti dell'industria agro-alimentare (zuccherifici, pastifici, industrie lattiero-casearie, conserviere, ecc.), da rifiuti organici domestici, ma anche da fanghi di risulta della depurazione delle acque. Oltre ai rifiuti solidi, possono essere trattati anche effluenti ricchi di sostanze organiche (acque di cantine di vinificazione, effluenti di industrie lattiero-casearie, effluenti di industrie conserviere, ecc.). Nel caso in cui i materiali organici da trasformare per via biologica siano composti e chimicamente complessi in genere viene fatto un pretrattamento in modo da rompere le molecole più grosse e complesse. Il pretrattamento invece non è richiesto nel caso di reflui o scarti "puliti" e relativamente semplici quali il siero di latte delle industrie lattiero-casearie, la melassa, ecc. Dopo il pretrattamento (se necessario) (A) i materiali vengono trasferiti in un bioreattore (B) che viene inoculato con batteri opportunamente selezionati (C) sulla base dell'efficienza di conversione in idrogeno delle specifiche sostanze organiche presenti. Il biogas prodotto

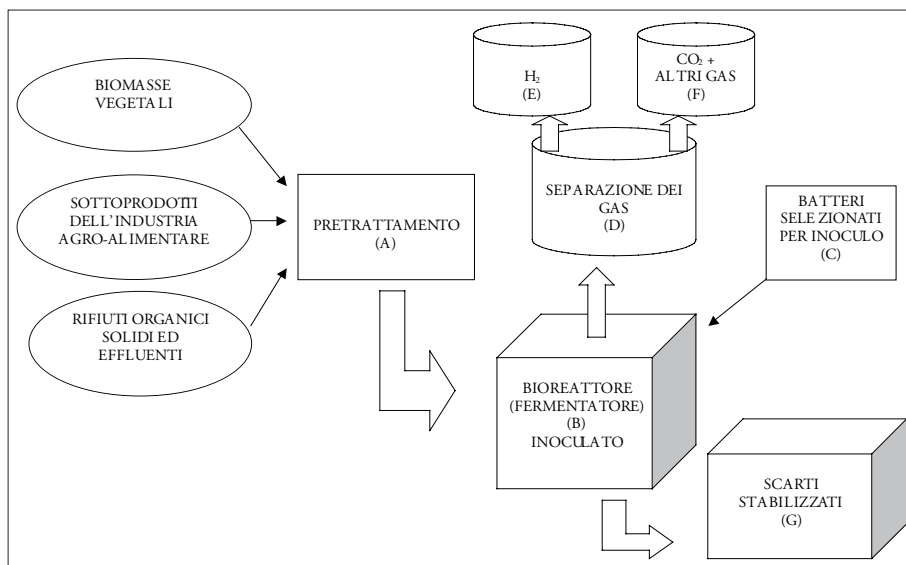


Fig. 1 *Produzione di idrogeno mediante fermentazione al biuoio. Schema di impianto*

(D) contiene, oltre all'idrogeno, anche altri gas quali l'anidride carbonica e, in percentuale estremamente bassa anche azoto, idrogeno solforato, ammoniaca, ecc., gas che vengono separati (F) durante il processo di purificazione dell'idrogeno (E) e che vengono opportunamente trattati con l'obiettivo in particolare di impedire che l'anidride carbonica si diffonda nell'atmosfera.

Gli scarti solidi o gli effluenti liquidi stabilizzati, dopo la produzione di idrogeno, vengono scaricati in appositi contenitori (G) da cui verranno asportati con destinazioni diverse a seconda delle caratteristiche. Se rispondono ai requisiti di legge potranno essere utilizzati direttamente, o dopo opportuno trattamento, sul suolo come fertilizzanti, ammendanti o (se solidi) per interventi di recupero di aree dissestate.

La tipologia del fermentatore può variare, ma lo schema delle strutture tecnologiche dell'intero processo resta sostanzialmente invariato.

I FATTORI CHE INFLUENZANO LA RESA IN IDROGENO

Le colture microbiche

Fra i fattori che influenzano la resa in idrogeno un ruolo fondamentale viene giocato dalle caratteristiche dei microrganismi selezionati e inoculati nel biore-

attore. È infatti molto importante che siano in grado di fermentare velocemente i substrati da trasformare e che siano dotati di intensa attività idrogenasica con liberazione di idrogeno molecolare. Vanno pertanto selezionati accuratamente. Va considerato anche il fatto che in impianti su scala reale, alimentati con sottoprodotti o rifiuti di diversa natura chimica, non si può lavorare con colture pure; al contrario è necessario selezionare un consorzio che contenga le popolazioni microbiche capaci di rompere le macromolecole, di depolimerizzare i polimeri e di fermentare i monomeri e le altre molecole a basso P.M. Quindi i batteri idrogeno-produttori dovranno essere adatti a “convivere” con altri batteri che a monte operano quelle trasformazioni atte a produrre i substrati su cui essi possono agire. In genere nelle fermentazioni che avvengono naturalmente nelle biomasse di scarto tra le popolazioni microbiche fermentanti prevale quella dei clostridi. Quando si opera in bioreattori alimentati con materiale di scarto già ricco di batteri, vi si aggiungono, come inoculo, spore di clostridi selezionati per ridurre il tempo di *start up* e aumentare la produttività, o, in alternativa, altri batteri idrogeno-produttori. I batteri più frequentemente usati, previa selezione, sono *Clostridium*, *Enterobacter*, *Escherichia coli*, *Citrobacter*.

Ovviamente il tipo di fermentazione che sarà attuato dipenderà dalle popolazioni fermentanti che operano nel bioreattore.

Natura chimica del substrato

Un altro fattore è la natura del substrato. È importante che si tratti di materiali ridotti, ricchi cioè di elettroni che possano essere ceduti nel processo di fermentazione per aumentare la resa in idrogeno. Inoltre il rapporto tra i nutrienti nel substrato deve essere ben bilanciato. Fra questi vengono utilizzati in genere nelle sperimentazioni glucosio, altri esosi e polimeri in forma di amido e di cellulosa. I carboidrati rappresentano il miglior substrato di fermentazione per *Clostridium*, *Enterobacter* e *Bacillus*. La concentrazione di glucosio deve comunque essere bilanciata e non eccessiva.

Inoltre nel substrato deve essere presente una concentrazione sufficiente di ferro per consentire ai batteri la sintesi delle idrogenasi.

pH

Il pH va tenuto sotto controllo; in genere si lavora con pH debolmente acido, il cui valore tuttavia varia da caso a caso, in un *range* compreso tra 5 e 6,8.

Valori di pH troppo elevati sono sfavorevoli all'attività dei batteri fermentanti; ma anche valori troppo bassi possono essere inibenti. Infatti spesso questi batteri sono inibiti dalle condizioni di acidità che essi stessi determinano con la produzione di acidi.

Tensione parziale di idrogeno

Per quanto riguarda la tensione parziale di idrogeno (pH_2), è noto che in presenza di tensioni elevate si formano più facilmente composti ridotti (quali etanolo, butanolo, lattato, ecc.) che devono essere rigorosamente evitati. Come già si è detto è di grande importanza rimuovere il biogas man mano che si forma in modo da tenere bassa la tensione parziale di idrogeno. Inoltre, nel caso delle fermentazioni operate dalle *Enterobacteriaceae*, la rimozione della anidride carbonica impedisce la sintesi di succinato, reazione che comporta consumo di potere riducente e quindi riduzione della resa finale di idrogeno. Infine la rimozione degli acidi grassi volatili liberi è molto utile per evitare che questi acidi, reagendo con i piridinnucleotidi ridotti, sottraggano idrogeno, abbassando la produttività energetica del sistema.

Temperatura

La temperatura deve essere adeguata alle caratteristiche fisiologiche dei microrganismi e varia a seconda se si operi con batteri mesofili o termofili.

Monossido di carbonio e anidride carbonica

Il monossido di carbonio è un gas che si forma durante i processi degradativi in carenza o assenza di ossigeno; esso svolge un'attività inibente nei confronti delle Fe-idrogenasi.

L'anidride carbonica, come si è detto, è uno dei reagenti indispensabili della sintesi di succinato che avviene attraverso l'ossidazione dei $NADH + H^+$, quindi sottraendo idrogeno.

Entrambi i gas vanno rimossi man mano che si formano, sottraendoli alle reazioni nelle quali potrebbero essere coinvolti con risultati negativi.

Per esempio *Clostridium pasteurianum* è un tipico produttore di H_2 e di acidi grassi volatili, ma il suo metabolismo può essere indirizzato verso la pro-

duzione di composti ridotti a causa della presenza di monossido di carbonio, oltre che di concentrazioni limitanti di ferro.

Concentrazione di acidi

La rimozione degli acidi grassi volatili liberi è molto utile per evitare che questi acidi, reagendo con i piridinnucleotidi ridotti, sottraggano idrogeno abbassando la produttività energetica del sistema. Infatti in caso di fermentazioni che producano come prodotto finale (oltre ovviamente a biogas) solo acetato (e non prodotti derivanti dalla sua riduzione), la resa massima teorica è di 4 moli di idrogeno per mole di zucchero esoso fermentato. Al contrario nella fermentazione butirrica, se tutto l'acetato venisse convertito in acido butirrico, la resa in idrogeno si dimezzerebbe a 2 moli per mole di glucosio fermentato.

I BIOREATTORI

Le sperimentazioni fatte finora hanno consentito di rilevare la validità degli impianti a letti fissi, in caso di effluenti liquidi. Si tratta di bioreattori riempiti con materiale inerte (cippato di legno, sabbia con particelle di appropriate dimensioni, spugne poliuretatiche con porosità opportunamente scelte, ecc.) sulla superficie del quale, nella fase di avviamento, aderiscono le cellule microbiche, comprese quelle selezionate e inoculate per aumentare la produttività del sistema. I letti fissi presentano il vantaggio di immobilizzare una gran quantità di biomassa microbica conferendo un buon livello di stabilità al processo. Comunque anche i bioreattori a miscelazione totale e gli UASB forniscono buone prestazioni. Fra i reflui sono particolarmente adatti gli scarichi di zuccherificio, di industria agro-alimentare, di industria conserviera, ecc.

Le rese di produzione di idrogeno variano fortemente in funzione dei parametri ambientali e di processo. Si va da 64,5 moli H_2 (l x h), in un bioreattore con un tempo di ritenzione idraulica di 197 ore, alimentato con amido solubile e inoculato con culture miste selezionate, a 121 mmoli di H_2 (l x h), in un bioreattore con un tempo di ritenzione idraulica massimo di 5 ore, alimentato con saccarosio.

Se si deve invece trattare materiale solido, gli impianti più idonei sono simili a quelli per il compostaggio, ma devono essere in condizioni di anaerobiosi, cioè chiusi in modo da escludere il contatto con l'aria: tra i materiali

solidi più sperimentati si annoverano quelli cellulosici e quelli amilacei di diversa provenienza.

LE PROSPETTIVE PER IL FUTURO

Manipolazione genetica dei batteri fermentati

La manipolazione genetica di batteri fermentanti, opportunamente selezionati per le alte rese in idrogeno, potrebbe essere una via per un ulteriore miglioramento della produttività degli impianti.

Le manipolazioni ipotizzabili riguardano due diversi aspetti dell'attività metabolica di questi batteri. In un caso l'obiettivo è di implementare le capacità del batterio di idrolizzare le macromolecole del substrato su cui cresce, e che costituiscono buona parte dei prodotti di scarto agrari e agro-industriali. Infatti molti batteri fermentanti idrogeno-produttori non sono capaci di idrolizzare le macromolecole quali chitina, cellulosa, emicellulose, lignina ecc. In questo caso le tecniche dell'ingegneria genetica consentono di inserire con successo nel DNA di questi batteri geni che codificano per enzimi che rompono i legami delle macromolecole.

Nell'altro caso l'obiettivo è di aumentare la capacità di produrre idrogeno, attraverso un'*overexpression* dei geni delle idrogenasi.

A questo proposito interessante è il caso della manipolazione di *Clostridium paraputrificum*.

Questo batterio è stato clonato con: il gene della chitinasi (per potenziare la capacità di depolimerizzazione della chitina), il gene *hyd* della idrogenasi per aumentare la resa in H_2 .

I due interventi di clonazione sono stati condotti separatamente. La trasformazione è avvenuta per elettroporazione utilizzando il vettore plasmidico pJIR751.

Il batterio modificato ha dimostrato un'attività chitinolitica superiore a quella del ceppo selvatico e quindi accelerava il processo di depolimerizzazione.

La clonazione del gene *hyd* consentiva di aumentare, quasi di raddoppiare (1,8 volte) la produzione di idrogeno; infatti nel corso della fermentazione la produzione di acido lattico crollava a vantaggio di quella di acido acetico.

Quando tuttavia si tentò di inserire varie copie di geni *hyd* all'interno del DNA del batterio precedentemente modificato con il gene della chitinasi, il ceppo perdeva la capacità di idrolizzare la chitina.

Tra le due strategie di trasformazione, la più interessante dal punto di vista applicativo è certamente rappresentata dalla *overexpression* delle idrogenasi. Infatti si deve ipotizzare che il trasferimento su scala reale della tecnologia, preveda che si utilizzi materiale di scarto già molto ricco di microrganismi, fra i quali è presumibile che sia presente la capacità di depolimerizzare le macromolecole che si trovano nei materiali da fermentare e di produrre i monomeri fermentabili dai batteri idrogeno-produttori. Eventualmente si potrebbe prevedere l'inoculo di batteri con le capacità idrolitiche desiderate. L'inoculo di batteri geneticamente modificati per aumentare la resa in idrogeno può diventare invece un fattore strategico. Elemento indispensabile è che tale coltura microbica sia in grado di vivere e crescere velocemente in presenza di una miriade di altre specie che sono naturalmente presenti nei materiali e che non sia messa fuori competizione da queste.

Va comunque ricordato che batteri geneticamente modificati possono essere utilizzati in ambienti confinati, come i bioreattori, mentre il loro rilascio nell'ambiente deve sottostare alle normative vigenti europee e nazionali.

GLI INTERVENTI SUGLI IMPIANTI DI BIOGAS ESISTENTI

La strategia della produzione biologica di idrogeno è sicuramente di grande interesse per le prospettive che apre e per i molteplici vantaggi che può apportare.

La selezione accurata di batteri idrolitici, che accelerino fortemente il processo, e la manipolazione genetica di batteri fermentanti per ottenere una *overexpression* dei geni delle idrogenasi che liberano idrogeno sono due strategie del futuro su cui c'è molta aspettativa.

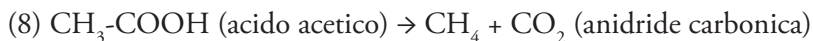
Già da subito, tuttavia, ci si può impegnare lavorando sugli impianti di biogas esistenti.

È noto che esistono moltissimi impianti di digestione anaerobica per la produzione di metano sia presso aziende agricole sia presso le piattaforme ecologiche di depurazione delle acque. Nel primo caso gli impianti trattano liquami zootecnici, nel secondo caso trattano i fanghi di risulta della depurazione delle acque. In entrambi i casi l'effluente che si ottiene è un prodotto ricco di sali minerali e in parte anche di sostanza organica (la quota che non è stata convertita a metano), che può essere utilizzato per lo spandimento su suoli agricoli, come fertilizzante o ammendante. Il gas che viene prodotto è una miscela dove il metano è il componente maggioritario, con quantità rilevanti di anidride carbonica e piccole quantità di altri gas ridotti (azoto, ammoniaca, idrogeno solforato, ecc.).

In questi impianti è noto che il metano viene prodotto attraverso due vie, una della reazione tra idrogeno e anidride carbonica:



E l'altra dell'acido acetico:



Nel primo caso (7), si può osservare che il metano si forma dall'idrogeno, con un forte spreco energetico. Infatti il 50% dell'idrogeno prodotto durante la fermentazione viene convertito in metano, mentre l'altro 50% viene trasformato in acqua. Sulla scorta di questa osservazione, sarebbe opportuno intervenire sul processo di digestione anaerobica disaccoppiando la produzione di idrogeno dalla sintesi di metano, attraverso l'immediata estrazione dall'impianto dell'idrogeno man mano che si produce, senza aspettare che venga convertito in metano attraverso la reazione (7). Si continuerebbe a recuperare solo il metano prodotto dalla conversione dell'acido acetico. Il vantaggio sarebbe duplice: (a) di recuperare energia, in buona parte sotto forma di idrogeno (gas più "pulito") anziché di metano; (b) di recuperare una quantità di energia decisamente maggiore di quanto se ne otterrebbe se venisse recuperato solo metano.

Diversi studi hanno dimostrato che questa via può essere praticata. Il vantaggio di questa strategia sta nel fatto che potrebbe essere applicata sui numerosi impianti esistenti, apportando delle modifiche tecnologiche.

Il futuro delle biotecnologie applicate alla produzione biologica di idrogeno potrebbe essere così molto più vicino.

BIBLIOGRAFIA

- CHANG J-S., LEE K-S., LIN P-J. (2002): *Biohydrogen production with fixed bed reactors*, «Int. J. Hydrogen Energy», 27, pp. 1167-1174.
- DAS D., VEZIRO LU T.N. (2001): *Hydrogen production by biological processes: a survey of literature*, «International Journal of Hydrogen Energy», 26, pp. 13-28.
- ELAM C.C., GREGOIRE PADRÒ C.E., SANDROCK G., LUZZI A., LINDBLAD P., FJERMESTEAD HAGEN E. (2003): *Realizing the hydrogen future; the International Energy Agency's efforts to advance hydrogen energy technologies*, «International Journal of Hydrogen Energy», 28, pp. 601-607.
- FRANCHI E., TOSI C., SCOLLA G., DELLA PENNA G., RODRIGUEZ F., PEDRONI P.M. (2005): *Metabolically engineered Rhodobater sphaeroides RV strains for improved biohy-*

- drogen photoproduction combined with disposal of food wastes*, Marine Biotechnology – Published on line 17 jan. 2005. <http://www.springerlink.com/media/.w>
- HALLENBECK P., BENEMANN J.R. (2002): *Biological hydrogen production; fundamentals and limiting processes*, «Hydrogen Energy», 27, pp. 1185-1193.
- KUBO S., MORIMOTO K., TAGUCU H., KIKUTA T., KIMURA T., SAKKA K., OHMIYA K. (2003): *Application of microbial genes for utilization of biomass*, Bulletin of the Faculty of Bioresources, Mic University, Tsu, Japan, 30, pp. 115-121.
- LAY J.J., LEE K-S., LIN P-J. (2000): *Modelling and optimization of anaerobic digestion sludge converting starch to hydrogen*, «Biotechnol. Bioeng.», 68, pp. 269-278.
- LEVIN D. B., PITT L., LOVE M. (2004): *Biohydrogen production: perspets and limitations to practical application*, «Hydrogen Energy», 29, pp. 173-185.
- MASUKAWA H., MOCHIMARU M., SAKURAI H. (2002): *Disruption of the uptake hydrogenase gene, but not of the bidirectional hydrogenase gene, leads to enhanced photobiological hydrogen production by the nitrogen-fixing cyanobacterium Anabaena sp. PCC 7120*, «Appl. Microbiol. Biotechnol.», 58, pp. 918-624.
- MERTENS R., LIESE A. (2004): *Biotechnological applications of hydrogenases*, «Current Opinion in Biotechnology», 15, pp. 343-348.
- Metabolically engineered Rhodobacter sphaeroides RV strains for improved biohydrogen photoproduction combined disposal of food wastes*, Marine Biotechnology (published on line).
- MISHRA J., KHURANA S., KUMAR N., GHOSH A.K., DAS D. (2004): *Molecular cloning, characterization and overexpression of a novel [Fe]- hydrogenase from a high rate of hydrogen producing Enterobacter cloacae IIT-BT 08*, «Biochemical and Biophysical Research Communications», 324, pp. 679-685.
- OHMIYA K., SAKKA K., KIMURA T., MORIMOTO K. (2003): *Application of microbial genes to recalcitrant biomass and environmental conservation*, «Journal of Bioscience and Bio-engineering», 95 (6), pp. 549-561.
- PENFOLD D.W., MACASKIE L.E. (2004): *Production of H₂ from sucrose by Escherichia coli strains carrying the pUR400 plasmid, which encodes invertase activity*, «Biotechnol. Letters», 26 (24), pp. 1879-1883.
- VAN NIEL E.W.J., BUDDE M.A.W., DE HAAS G.G., VAN DER WAL F.J., CLAASSEN P.A.M. (2002): *Distinctive properties of high hydrogen producing extreme thermophiles, Caldicellulosiruptor saccharolyticus and Thermotoga elfii*, «Int. J. Hydrogen Energy», 27, pp. 1391-1398.
- VIGNAIS P., MEYERE J. (2002): *Hydrogenase gene nomenclature*, Cost Action 841 (on line).

Idrogeno dalla fotosintesi microbica

INTRODUZIONE

Il modello di sviluppo attuato negli ultimi decenni ha garantito, almeno in Occidente, un incremento della prosperità ma, per la sua forte dipendenza dai combustibili fossili quali fonte primaria di energia, ha anche prodotto conseguenze allarmanti sul clima, legate alle crescenti emissioni di CO₂, e sull'ambiente in generale. Partendo da queste osservazioni, nella consapevolezza che le scorte di combustibili fossili (petrolio, gas naturale e carbone) sono destinate a esaurirsi nel medio periodo, la ricerca e la sperimentazione su fonti energetiche alternative e rinnovabili, così come lo sviluppo di tecnologie energetiche a basso impatto ambientale, sono progressivamente diventate di importanza primaria, specialmente nei Paesi economicamente più evoluti.

Negli ultimi anni, il vettore energetico ottimale, perché ottenibile da fonti rinnovabili e perché ritenuto capace di soddisfare in modo pulito ogni esigenza energetica, è stato individuato nell'idrogeno. Questo gas, ritenuto anche l'unica seria alternativa al petrolio e al metano come combustibile per autotrazione, è, dunque, il vettore energetico chiamato oggi a svolgere il ruolo del combustibile del futuro, determinando le premesse e le attese per il compimento di una *Hydrogen Economy*.

Diversi sono i processi attraverso i quali può essere prodotto idrogeno, e, tra questi, la conversione catalitica di idrocarburi è, allo stato attuale, quello più efficiente, sufficientemente economico e quello nettamente più importante per quantità di idrogeno prodotta (Das e Veziroglu, 2001), ma ha l'in-

* Dipartimento di Biotecnologie Agrarie, Università degli Studi di Firenze

conveniente di liberare anche anidride carbonica, lo stesso gas sprigionato dall'uso dei combustibili fossili e responsabile dell'effetto serra, e di utilizzare fonti non rinnovabili, quali ad esempio petrolio e gas naturale.

Tra i processi alternativi che riscuotono una speciale attenzione, figurano anche quelli a natura prettamente biologica, realizzati da vari gruppi di microrganismi, e ai quali si fa spesso riferimento generico quando, per il prodotto finale, viene usato il termine "bio-idrogeno". In effetti, nel metabolismo microbico, l'idrogeno gassoso è molto frequente, sia come prodotto del catabolismo che come substrato per la crescita. Negli ambienti naturali privi di ossigeno, ad esempio, l'idrogeno gassoso ha una presenza costante, svolgendo un ruolo centrale per la stabilità della comunità microbica di questi particolari ecosistemi: una ampia varietà di batteri anaerobi, infatti, è in grado di convertire molecole organiche in H_2 , CO_2 , acidi e alcoli a basso peso molecolare, tutti composti che altre specie batteriche presenti nella comunità utilizzano rilasciando a loro volta altri metaboliti, come il metano. In questo modo, i microrganismi consumatori di H_2 evitano che l'idrogeno si accumuli a livelli tali da inibire gli stessi produttori, contribuendo così in modo determinante alla stabilità dell'ecosistema.

La possibilità di ottenere H_2 per via fermentativa, attraverso la conversione di risorse rinnovabili, ha promosso una intensa attività di ricerca e numerose sono oggi le specie batteriche, capaci di fermentare una ampia gamma di substrati naturali semplici o complessi, proposte per uno sfruttamento biotecnologico a fini energetici delle loro peculiarità metaboliche (Fumiaki et al., 1993; Hawkes et al., 2002; Heyndrickx et al., 1991; Kumar e Das, 2000; Nandi e Sengupta, 1998; Rachman et al., 1997).

I sistemi biologici capaci di produrre H_2 non si limitano, però, ai soli processi fermentativi: anche diversi gruppi di microrganismi fotosintetici (microalghe, cianobatteri e batteri fotosintetici anossigenici) sono in grado di sviluppare idrogeno gassoso, utilizzando acqua o semplici composti organici come substrato e la radiazione luminosa come fonte di energia. Il fenomeno è noto da molto tempo: da quando Gaffron e Rubin (1942) dimostrarono la produzione foto-dipendente di H_2 da parte delle microalghe verdi, e Gest e Kamen (1949) dimostrarono la produzione foto-eterotrofa di H_2 da batteri fotosintetici rossi non sulfurei. Fin dalle prime segnalazioni, la possibilità di ottenere idrogeno gassoso, materia prima di importanza fondamentale per molti processi industriali, da fonti rinnovabili e largamente disponibili (luce solare e acqua o composti organici inquinanti o a basso costo) ha attirato l'attenzione di molti ricercatori, incoraggiati nella loro attività anche dalle varie crisi petrolifere che si sono succedute

negli ultimi tre decenni. Conseguentemente, numerose sono le rassegne che periodicamente hanno trattato l'argomento della produzione foto-dipendente di bio-idrogeno, con un impressionante incremento della loro frequenza in questi primi anni 2000 (Das e Veziroglu, 2001; Akkerman et al. 2002; Hallenbeck e Benemann, 2002; Pinto et al. 2002; Melis, 2002; Levin, 2004).

Nella presente nota, dopo una breve descrizione degli aspetti fondamentali della produzione fotobiologica di idrogeno e dello stato di avanzamento delle ricerche sui diversi meccanismi produttivi, verranno illustrate alcune considerazioni di carattere comparativo tra i diversi sistemi biologici e le principali strategie di sviluppo per una prossima applicazione su larga scala del processo fotobiologico di produzione di idrogeno gassoso.

I SISTEMI BIOLOGICI

La formazione foto-dipendente di bio-idrogeno richiede la presenza, nei microrganismi H_2 -produttori, di enzimi capaci di catalizzare la semplicissima reazione chimica tra 2 protoni e 2 elettroni ($2H^+ + 2e^- = H_2$). Al momento, gli enzimi risultati capaci di catalizzare la precedente reazione nei microrganismi fotosintetici appartengono a tre tipologie di metallo-proteine: idrogenasi classica o reversibile, idrogenasi unidirezionale legata a membrana e nitrogenasi. Per ogni tipologia, molte sono attualmente le forme note, distinte in base al contenuto metallico (Ni, Fe per le idrogenasi; Mo, V, Fe per le nitrogenasi), a volte presenti simultaneamente in varie combinazioni nella stessa cellula.

Alla classe delle idrogenasi classiche appartengono gli enzimi capaci di catalizzare in modo reversibile la reazione di ossido-riduzione dell'idrogeno. L'attività principale dell'enzima sembra sia nella direzione della ossidazione dell'idrogeno (H_2 -uptake), tanto che nella direzione opposta (formazione di H_2) la velocità del ciclo catalitico è stata stimata cinque-sei volte più bassa (Hallenbeck e Benemann, 2002).

Le idrogenasi unidirezionali catalizzano prevalentemente la riduzione di accettori di elettroni ad alto potenziale, come la coppia NAD/NADH, e quindi, lavorando quasi esclusivamente nella direzione della ossidazione di H_2 , non ne producono quantità significative.

Le nitrogenasi sono costituite da un sistema proteico a due componenti che, utilizzando Mg-ATP ed elettroni a basso potenziale, normalmente presiede al processo di azotofissazione; in assenza di azoto, l'enzima è anche capa-

GRUPPO MICROBICO	SPECIE
Microalghe verdi	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> , <i>C. moewusii</i> , <i>Scenedesmus obliquus</i>
Cianobatteri (unicellulari)	<i>Aphanothece</i> sp., <i>Cyanothece</i> sp., <i>Gloeobacter</i> sp., <i>Gloeotheca</i> sp., <i>Microcystis</i> sp., <i>Synechococcus</i> sp., <i>Synechocystis</i> sp.,
(filamentosi)	<i>Oscillatoria brevis</i> , <i>O. limnetica</i> , <i>O. limosa</i> , <i>O. sp.</i> , <i>Plectonema boryanum</i> , <i>Phormidium valderianum</i>
(eterocistati)	<i>Anabaena azollae</i> , <i>A. cylindrica</i> , <i>A. flos-aquae</i> , <i>A. variabilis</i> , <i>A. sp.</i> , <i>Anabaenopsis circularis</i> , <i>Mastigocladus laminosus</i> , <i>Nostoc commune</i> , <i>N. muscorum</i> , <i>N. spongiforme</i> , <i>Calothrix scopulorum</i>
Batteri fotosintetici rossi non sulfurei	<i>Rhodobacter capsulatus</i> , <i>Rb. marinus</i> , <i>Rb. sphaeroides</i> , <i>Rhodospseudomonas palustris</i> , <i>Rhodospirillum rubrum</i>

Tab. 1 *Principali specie di microrganismi fotosintetici studiate per la produzione di idrogeno*

ce di ridurre una varietà di altri substrati, incluso il protone. L'elevato fabbisogno energetico (almeno 4 ATP/H₂) è alla base della bassa velocità del ciclo catalitico rispetto a quella della idrogenasi classica funzionante nella stessa direzione, 6,4 s⁻¹ contro 98 s⁻¹ (Hallenbeck e Benemann, 2002).

Tutte e tre le tipologie di enzimi manifestano una estrema sensibilità all'ossigeno, in taluni casi richiedendo, per una piena funzionalità, pressioni parziali di O₂ inferiori allo 0,1%. Pertanto, la formazione di idrogeno da parte dei sistemi biologici è compatibile solo con un ambiente anaerobico.

I microrganismi fotosintetici maggiormente studiati per la loro riconosciuta capacità di produrre H₂ appartengono ai gruppi delle microalghe verdi, dei cianobatteri e dei batteri rossi non sulfurei (tab. 1).

Le microalghe verdi sono un gruppo di microrganismi eucariotici appartenenti alla classe nutrizionale dei microrganismi fotoautotrofi: attuano la fotosintesi ossigenica e utilizzano CO₂ come principale fonte di carbonio per la crescita. I pigmenti fotosintetici, prevalentemente rappresentati da clorofille (*a* e *b*), assorbono le radiazioni luminose a lunghezza d'onda comprese tra 400 e 700 nm (PAR, radiazione fotosinteticamente attiva, pari al 43% della radiazione solare totale). Relativamente al metabolismo dell'H₂, le microalghe verdi possiedono esclusivamente idrogenasi.

I cianobatteri sono un gruppo di microrganismi fotoautotrofi procariotici caratterizzati da una ampia diversità eco-fisiologica, biochimica e morfologica. Alcuni generi a struttura filamentosa differenziano tre tipologie di cellule: le vegetative, dove vengono realizzate le classiche reazioni fotosintetiche, gli acineti, forme cellulari quiescenti, e le eterocisti, dove normalmente avviene la reazione di azotofissazione. Quest'ultimo tipo di cellula, privo di fotosiste-

ma II e quindi incapace di svolgere O_2 fotosintetico, costituisce un ambiente naturalmente anaerobico, in grado di difendere l'enzima nitrogenasi dalla inattivazione da O_2 . I pigmenti fotosintetici, prevalentemente rappresentati da clorofilla *a*, carotenoidi (β -carotene e vari tipi di xantofille) e ficobiliproteine (ficocianina e ficoeritrina), assorbono le radiazioni luminose a lunghezza d'onda comprese tra 400 e 700 nm, come le microalghe verdi, ma la presenza aggiuntiva dei pigmenti ficobilinici consente lo specifico assorbimento della luce nella regione compresa tra 550 e 650 nm. A seconda della specie, i cianobatteri possono essere dotati di tutti gli enzimi coinvolti nel metabolismo dell' H_2 : nitrogenasi ed entrambe le tipologie di idrogenasi.

I batteri rossi non sulfurei costituiscono un gruppo morfologicamente eterogeneo di microrganismi procariotici che attuano la fotosintesi anossigenica e che appartengono alla classe nutrizionale dei microrganismi fotoeterotrofi. In questi organismi, l'apparato fotosintetico, costituito da un solo fotosistema e, quindi, più semplice di quello dei microrganismi a fotosintesi ossigenica, è incapace di scindere l'acqua ma provvede alla generazione di ATP utilizzando semplici substrati organici come donatori di elettroni. I pigmenti fotosintetici, prevalentemente rappresentati da batterioclorofille (*a* e *b*) e carotenoidi (licopene e suoi derivati), assorbono le radiazioni luminose a lunghezza d'onda compresa tra 400 e 950 nm (PAR pari al 65,8% della radiazione solare totale). Tutti i batteri inclusi nel gruppo sono dotati di nitrogenasi e producono H_2 quando si trovano in presenza di substrati organici metabolizzabili in condizioni di deficienza di azoto alla luce. In tutte le specie del gruppo sono anche presenti entrambe le tipologie di idrogenasi.

In tutti i gruppi microbici presi in considerazione la reazione di formazione di idrogeno consente alla cellula di dissipare potere riducente (via idrogenasi) o potere riducente ed energia (via nitrogenasi) quando questi elementi sono in eccesso rispetto al fabbisogno biosintetico. In effetti, la massima attività di produzione di idrogeno viene conseguita in condizioni di bassa o nulla attività di biosintesi di componenti cellulari.

I PROCESSI FOTOBIOLOGICI

Il processo biologico di produzione foto-dipendente di idrogeno può trovare attuazione in modi diversi, fondamentalmente dipendenti dalle caratteristiche metaboliche e/o dal corredo enzimatico dei microrganismi utilizzati. Nella pratica, i processi sono riferibili a due distinte tipologie: processi che

sfruttano la fotosintesi ossigenica delle microalghe e dei cianobatteri (eterocistati e non-eterocistati) e processi che sfruttano la fotosintesi anossigenica dei batteri rossi non solfurei. Di seguito, verrà brevemente descritto lo stato dell'arte per ognuno dei gruppi microbici citati.

H₂ da microrganismi a fotosintesi ossigenica

Il meccanismo della fotosintesi ossigenica prevede che l'energia luminosa venga assorbita da due fotosistemi operanti in serie: il fotosistema II (PSII), che libera O₂ dall'acqua, e il fotosistema I (PS I), che genera il potere riducente necessario per la riduzione di CO₂. Inoltre, al flusso foto-dipendente di elettroni è associato un flusso di protoni con generazione di un gradiente elettrochimico trans-membrana che si traduce in produzione di ATP per azione dell'enzima ATP sintetasi. Per ottenere H₂ da microrganismi dotati di tale metabolismo energetico è necessario attuare condizioni particolari, dettate dalla esigenza di soddisfare la operatività dell'enzima o degli enzimi coinvolti e, quindi, variabili con la tipologia del sistema biologico utilizzato. Le ricerche in questo settore fanno spesso riferimento a due distinti approcci: nel primo, definito "biofotolisi diretta", si persegue l'obiettivo di ottenere la produzione fotobiologica di H₂ da microrganismi che simultaneamente producono O₂; nel secondo, definito "biofotolisi indiretta", la produzione di H₂ viene a essere temporalmente o spazialmente separata dalla produzione di O₂ e, quindi, il processo prevede due stadi distinti.

Storicamente, lo sviluppo del processo è iniziato con studi di biofotolisi diretta dell'acqua utilizzando *Chlamydomonas reinhardtii*, una specie di microalga verde dotata di idrogenasi reversibile della classe delle Fe-idrogenasi. In questo caso, il potere riducente generato dalla luce con l'ausilio dei due fotosistemi deve indirizzarsi verso la riduzione di protoni anziché verso la riduzione della CO₂ (fig. 1), l'enzima idrogenasi deve essere attivo e l'ossigeno liberato dalla reazione fotosintetica non deve raggiungere livelli inibitori. La fase di produzione di H₂ viene generalmente fatta precedere da un periodo di incubazione al buio in condizioni di anaerobiosi, della durata di poche ore al massimo, durante il quale l'enzima idrogenasi viene sintetizzato e attivato (la funzionalità dell'enzima è in genere evidenziata da una debole attività di produzione di H₂ al buio). L'esposizione alla luce di cellule precedentemente adattate alle condizioni di anaerobiosi-buio determina un rapido aumento della attività di produzione di H₂, che normalmente persiste (ma con flussi di elettroni mai prossimi a quelli tipici della riduzione della CO₂) fino al mo-

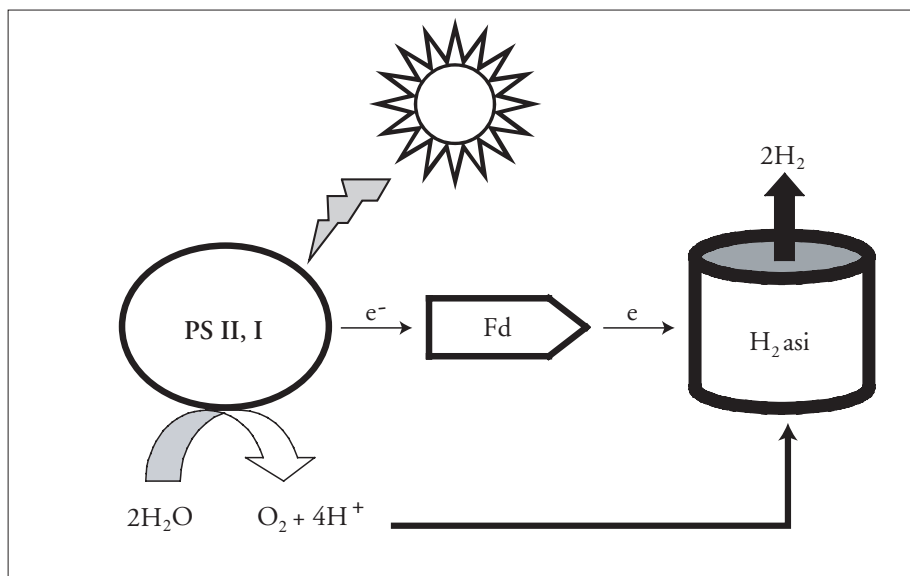


Fig. 1 *Rappresentazione schematica del meccanismo di produzione di idrogeno da microalghe verdi. Abbreviazioni: PS II = fotosistema II, PS I = fotosistema I; e^- = elettroni; Fd = ferredossina; H_2asi = idrogenasi*

mento in cui prende consistenza la normale attività fotosintetica di evoluzione di O_2 e di fissazione di CO_2 . Nel complesso, il processo risulta articolato in una serie di cicli di breve durata, ciascuno consistente in una alternanza di una fase anaerobica al buio (o di induzione) e di una fase H_2 -produttiva alla luce. La natura transitoria della reazione, chiara fin dai primi studi, ha stimolato ricerche volte alla individuazione di strategie alternative al procedimento sopra descritto e/o di possibili soluzioni al problema. A tal fine, diverse sono le procedure finora sperimentate: dall'uso di basse intensità luminose (McBride et al., 1977; McTavish et al., 1995) all'uso di specifici inibitori della funzionalità del PSII, come il DCMU (Florin et al., 2001), dal ricorso a O_2 -assorbenti (Rosenkranz et al., 1984) alla insufflazione delle colture con gas inerte (Greenbaum, 1982; Greenbaum et al., 1983), dalla selezione di ceppi con elevata attività respiratoria (Melis et al., 2000) alla individuazione o costruzione di mutanti O_2 -tolleranti (Ghirardi et al., 2000). Recentemente, con la dimostrazione che una privazione di composti solforati è in grado di indurre specificamente un reversibile declino della attività del PSII in *C. reinhardtii*, è stato compiuto un significativo progresso, almeno in termini di attività H_2 -produttiva e sua persistenza. Con l'inibizione S-dipendente del

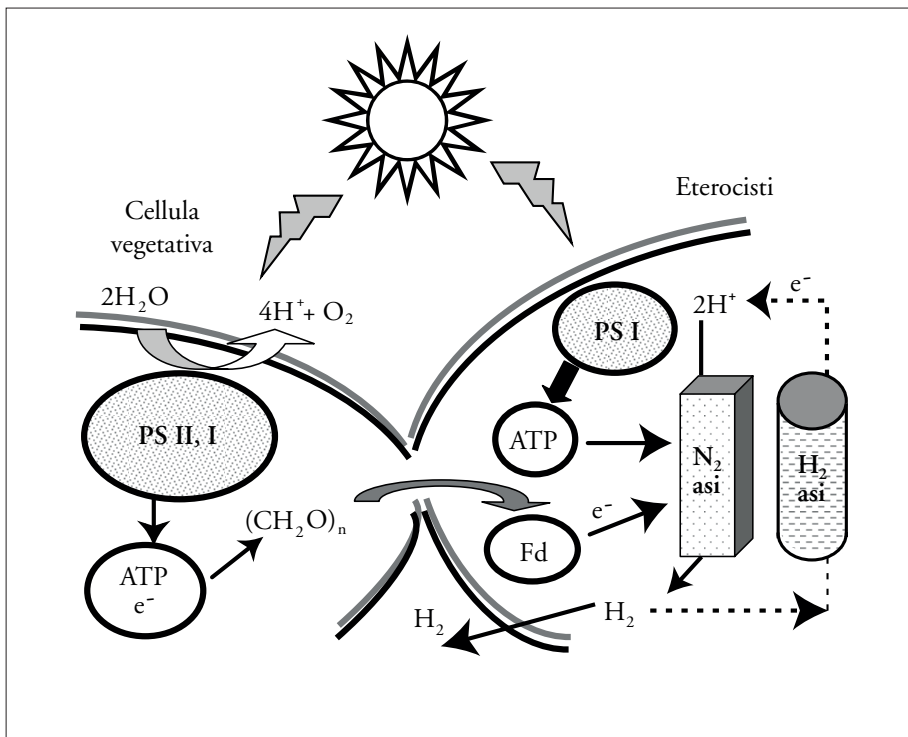


Fig. 2 Rappresentazione schematica del meccanismo di produzione di idrogeno da cianobatteri eterocistati. Abbreviazioni: PS II = fotosistema II, PS I = fotosistema I; e^- = elettroni; Fd = ferredossina; N_2 asi = nitrogenasi; H_2 asi = idrogenasi

PSII, l'attività di evoluzione di O_2 scende a valori inferiori a quelli della attività respiratoria del microrganismo e, in pratica, si instaura una condizione di anaerobiosi alla luce, favorevole alla attività idrogenasica di produzione di H_2 . In tal modo, sono stati ottenuti tassi di produzione oraria di circa 2 ml H_2 /l di coltura, stabili per 96h (Ghirardi et al., 2000, Melis et al., 2002).

Migliori risultati erano attesi, sempre in un processo di biofotolisi diretta, con l'uso di cianobatteri filamentosi eterocistati (fig. 2). In questo caso, la produzione di H_2 avviene prevalentemente a opera dell'enzima nitrogenasi che, essendo confinato nelle eterocisti (cellule prive di PSII), risulta spazialmente separato dal sistema produttore di O_2 (cellule vegetative con entrambi i fotosistemi). Tuttavia, l'attività nitrogenasica di produzione di H_2 soffre della presenza della idrogenasi classica e della sua attività di H_2 -uptake. In effetti, in questi sistemi biologici, l'idrogeno prodotto è generalmente molto inferiore

alle attese calcolate sulla base della attività nitrogenasica in termini di capacità di azoto-fissazione. Malgrado tale apparentemente inevitabile limitazione, le ricerche effettuate sulla produzione di H_2 da cianobatteri filamentosi eterocistati risultano assai numerose, avendo riguardato una ampia varietà di specie e ceppi nelle più diverse condizioni colturali. Tra i migliori risultati conseguiti, in termini di attività H_2 -produttiva, figura quello ottenuto con un ceppo di *Anabaena variabilis* che, in assenza di azoto molecolare ha manifestato una produzione oraria massima di H_2 superiore a 8 ml per litro di coltura (Sveshnikov et al., 1997). Deve, però, essere sottolineato che le condizioni di prolungata carenza di azoto inducono un forte deterioramento della struttura del filamento cianobatterico, che, in corrispondenza delle eterocisti, subisce una progressiva frammentazione con perdita di capacità H_2 -produttiva.

Relativamente alla biofotolisi indiretta dell'acqua, realizzata, cioè, in due stadi per mantenere separate tra di loro la fase di produzione di H_2 da quella di evoluzione di O_2 , va ricordato che il processo è nato dalla osservazione che il catabolismo di substrati endogeni (glicogeno o simili) è in grado di soddisfare la richiesta di potere riducente da parte dei sistemi enzimatici preposti alla riduzione dei protoni. Conseguentemente, la strategia maggiormente adottata è quella di procedere con un primo stadio in cui la microalga o il cianobatterio viene fatto crescere in condizioni di fotoautotrofia con accumulo di prodotti endogeni di riserva, seguito da un secondo stadio alla luce, in cui i microrganismi, nel rispetto delle esigenze metaboliche di ciascuno, vengono posti nella condizione di produrre H_2 , anche con il contributo degli elettroni provenienti dal catabolismo endogeno. Il processo biofotolitico indiretto, portato così a conclusione, può avere carattere ciclico, riportando la biomassa microbica alle condizioni del primo stadio non appena sia manifesto un qualsiasi cenno di cedimento della attività di produzione di H_2 . L'adozione della strategia a due stadi ha determinato un sensibile miglioramento del processo biofotolitico, ma prevalentemente in termini di stabilità nel tempo delle prestazioni dei vari sistemi biologici impiegati (fino a diverse settimane) piuttosto che in termini di attività massima di produzione di H_2 (Markov et al., 1995).

H_2 da microrganismi a fotosintesi anossigenica

Il meccanismo della fotosintesi anossigenica attuato dai batteri rossi non sulfurei prevede che l'energia luminosa venga assorbita dall'unico fotosistema

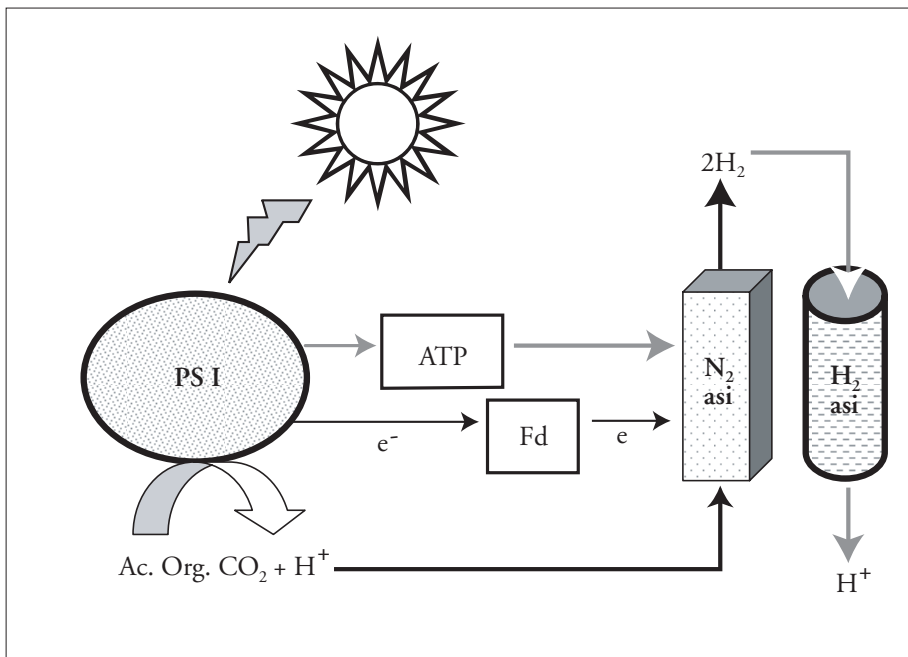
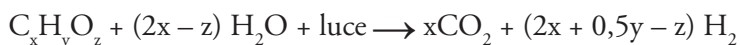


Fig. 3 *Rappresentazione schematica del meccanismo di produzione di idrogeno da batteri rossi non-solfurei. Abbreviazioni: PS I = fotosistema I; e^- = elettroni; Fd = ferredossina; N_2 asi = nitrogenasi; H_2 asi = idrogenasi; Ac. Org. = acidi organici a basso peso molecolare*

presente, concettualmente paragonabile al fotosistema I dei microrganismi a fotosintesi ossigenica, con generazione di ATP, destinato a essere impiegato, oltre che nelle reazioni di biosintesi, per indirizzare il flusso di elettroni alla riduzione della ferredossina (fig. 3). Nella impossibilità di utilizzare H_2O , i batteri rossi non sulfurei utilizzano, come donatori di elettroni, sostanze organiche a basso peso molecolare, specialmente acidi organici. In condizioni di luce e carenza di azoto, la nitrogenasi, utilizzando ATP e il potere riducente della ferredossina ridotta, riduce i protoni a H_2 , contribuendo in tal modo a realizzare la completa foto-decomposizione dei substrati organici a H_2 e CO_2 , secondo la seguente equazione generale:



In questi microrganismi, la reazione foto-dipendente, spesso definita anche “foto-fermentazione”, può procedere senza il problema della inibizione dell’enzima da O_2 , ma la costante presenza di idrogenasi classica con attivi-

SISTEMA	CONC. AGAR (%)	SPESSORE AGAR (mm)	ATTIVITÀ MEDIA ($\mu\text{cm}^{-2}\text{h}^{-1}$)
Strato su supporto compatto (vetro)	3,0	3,5	6-10
Pannello	4,0	4,0	20
Pannello + rete sostegno	0,8	3,0	45-50
Perline	2,0	1-2	70-80

Tab. 2 Attività di produzione di H_2 da *Rhodopseudomonas palustris* immobilizzato in agar

tà di H_2 -uptake riduce fortemente i rendimenti di conversione del substrato organico in H_2 . In ogni caso, le ricerche nel settore, come già rammentato per gli altri gruppi microbici, sono state molto intense e hanno prodotto, nell'arco di 5 decenni, una poderosa quantità di lavori scientifici, riguardanti diverse specie batteriche operanti su una ampia varietà di substrati organici, inclusi quelli presenti in alcune acque reflue, nelle più svariate condizioni colturali, incluse quelle naturali con luce solare. Tra i migliori risultati finora conseguiti, figurano quelli ottenuti con un ceppo di *Rhodobacter sphaeroides* che, in condizioni di illuminazione artificiale, ha prodotto H_2 a un tasso orario di circa 100 ml per litro di coltura (Tsygankov et al., 1998), mentre, tra i risultati delle poche sperimentazioni condotte all'aperto, suscita particolare attenzione il dato di oltre 230 ml H_2 prodotti per ora e per litro di coltura dal ceppo *Rhodobacter sphaeroides* RV (Nakada et al., 1995), nell'ambito del programma svolto con vari tipi di fotobioreattore, a partire dai primi anni Novanta del secolo scorso, presso il RITE (*Research Institute of Innovative Technology for the Earth*), in Giappone.

Sul processo di produzione di H_2 da batteri fotosintetici anossigenici rossi non-solfurei, presso l'attuale sezione di Microbiologia del Dipartimento di Biotecnologie Agrarie, a partire dalla fine degli anni Settanta, è stata svolta una intensa attività di ricerca impiegando cellule batteriche immobilizzate in una matrice intrappolante (Vincenzini et al., 1981, 1982a, 1982b, 1986). La scelta di operare con cellule immobilizzate, anziché con cellule libere, fu dettata dall'evidenza che tali sistemi, posti generalmente in condizioni di non-crescita cellulare, realizzavano tassi di produzione sensibilmente più elevati di quelli conseguiti dai sistemi a cellule libere.

L'intrappolamento cellulare in agar si è rivelato come il sistema di immobilizzazione più valido per la trasparenza, non tossicità e resistenza meccanica della matrice intrappolante in mezzi contenenti ogni tipo di substrato, sia organico che inorganico. Nel corso delle ricerche, la procedura di immobilizzazione ha subito continui aggiustamenti affinché risultasse ottimizzata

la diffusione del substrato all'interno del gel e fosse garantita la piena vitalità e funzionalità delle cellule batteriche immobilizzate. La procedura messa a punto consiste nell'intrappolare in perline di agar (1-2 mm di diametro) solo una piccola quantità di cellule microbiche per consentirne poi la crescita direttamente nel gel. In tal modo, l'inoculo iniziale può moltiplicarsi nella matrice intrappolante occupando preferenzialmente gli spazi ove migliori risultano la diffusione dei substrati e l'intensità della radiazione luminosa incidente. La fase di moltiplicazione cellulare viene protratta fino all'ottenimento di un denso strato di cellule in prossimità della superficie delle perline. Il sistema biologico così preparato, privato della fonte di azoto per la crescita, ha mostrato una attività di fotoevoluzione di H_2 elevata e verosimilmente non soggetta a limiti diffusionali (tab. 2).

La stabilità nel tempo della reazione fotobiologica in condizioni di alternanza luce-buio (premessa indispensabile allo sviluppo del processo in condizioni naturali di illuminazione) è stata conseguita grazie a uno studio di base svolto in laboratorio in fotobioreattori di piccole dimensioni (100 cm² di superficie). Il processo così messo a punto è stato verificato in laboratorio dove, in condizioni di alternanza luce-buio (16:8 ore) e di temperatura costante su valori ottimali (32 °C), l'attività biologica di fotoproduzione di H_2 con acido malico come substrato si è mantenuta stabile per cento giorni con valori medi di 50ml/cm²h. Va sottolineato che, al momento dell'interruzione dell'esperimento, il tasso di produzione di H_2 non aveva dato alcun segno di cedimento (Vincenzini et al., 1986). Il processo di produzione di H_2 da cellule immobilizzate di batteri fotosintetici anaerobi è stato pertanto considerato maturo per una verifica su scala pilota in condizioni naturali di illuminazione. Il prototipo di impianto, costituito da un fotobioreattore in policarbonato contenente otto moduli per l'alloggiamento delle cellule batteriche intrappolate in perline di agar e avente una superficie di 1,1 m², è stato sperimentato all'aperto, nel periodo estivo, imponendo un regime luminoso con fotoperiodo giornaliero di otto ore (luce:buio=8:16 ore). In tale fotobioreattore, mantenuto in attività per trenta giorni consecutivi con la stessa biomassa cellulare, la produzione giornaliera di H_2 si è mantenuta elevata (circa 7 litri/m²) per soli due-tre giorni per poi stabilizzarsi per circa quindici giorni su produzioni più basse di circa il 50% e quindi decrescere con regolarità fino ad arrivare, al 30° giorno, al 10% del valore massimo (Tassinato et al., 1990). In pratica, rispetto alle prestazioni conseguite in laboratorio, il sistema biologico intrappolato ha lavorato con attività e durata sensibilmente inferiori alle attese. La causa della instabilità del processo di fotoevoluzione di idrogeno all'aperto è stata individuata nella elevata intensità della radiazione solare incidente sulla

superficie dei moduli del fotobioreattore. Sulla scorta di questa esperienza, è stato sviluppato un fotobioreattore a flusso verticale, orientabile rispetto alla radiazione solare in modo da poterne variare il valore della intensità incidente, ed è stata messa a punto una tecnica di immobilizzazione a cilindri cavi di matrice intrappolante, al fine di evitare fenomeni di impaccamento. L'intero sistema è stato oggetto di un brevetto di invenzione (Vincenzini et al., 1989).

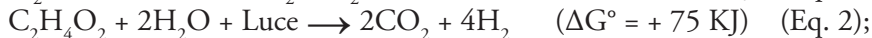
Con un prototipo del nuovo fotobioreattore (circa 500 cm² di superficie), pur avendo condotto solo una sperimentazione in laboratorio in condizioni di luce artificiale, sono stati ottenuti valori di produzione giornaliera di H₂ pari a circa undici litri per m², mediamente superiori del 100% rispetto ai migliori risultati conseguiti precedentemente con cellule della stessa specie batterica nelle stesse condizioni di luce e temperatura ma intrappolate in perline di agar.

CONFRONTI E PROSPETTIVE

Ai fini di una applicazione pratica della reazione fotobiologica di produzione di H₂, ognuno dei tre gruppi di microrganismi fotosintetici (microalghe verdi, cianobatteri e batteri rossi non sulfurei) presenta dei limiti, anche apparentemente difficili da superare, ma è anche vero che ognuno presenta dei vantaggi, anche consistenti sotto alcuni aspetti, sugli altri gruppi. Volendo tracciare un quadro comparativo, i principali punti relativi di forza o di debolezza dei diversi processi o sistemi biologici possono essere sinteticamente così ricordati:

- 1) la produzione di H₂ via idrogenasi (microalghe verdi e cianobatteri) appare attraente perché non richiede ATP, contrariamente alla produzione via nitrogenasi (cianobatteri eterocistati e batteri rossi non sulfurei);
- 2) la produzione di H₂ da microrganismi fotoautotrofi (microalghe verdi e cianobatteri) appare attraente perché realizza la biofotolisi dell'acqua, con produzione di O₂ anziché CO₂ (gas serra), come, invece, avviene nel processo mediato da microrganismi fotoeterotrofi (batteri rossi non sulfurei);
- 3) la produzione di H₂ via idrogenasi soffre della limitazione imposta dalla sensibilità dell'enzima all'ossigeno, contrariamente a quanto avviene con l'enzima nitrogenasi, naturalmente protetto dalle eterocisti cianobatteriche o dalla anaerobiosi dei batteri rossi non sulfurei;
- 4) la produzione di H₂ via nitrogenasi soffre della contemporanea presenza di idrogenasi con attività *H₂-uptake*;
- 5) la produzione di H₂ per biofotolisi dell'acqua richiede una somministrazione di energia pari a 237 KJ per mole di H₂ svolto (equazione 1), mentre

attraverso la completa fotodecomposizione di un semplice acido organico quale l'acido acetico ne richiede una quantità molto inferiore, circa 19 KJ per mole di H_2 svolto (equazione 2)



- 6) la produzione di H_2 da microrganismi fotoeterotrofi appare attraente perché può realizzare la completa fotodecomposizione delle sostanze organiche disciolte in acque reflue, conseguendo un duplice risultato: conversione energetica della luce e disinquinamento;
- 7) i batteri rossi non sulfurei, in esperimenti di laboratorio, conseguono valori di attività di produzione di H_2 regolarmente superiori di almeno un ordine di grandezza rispetto a quelli conseguiti dagli altri gruppi di microrganismi fotosintetici.

Apparentemente, la complessità sopra sintetizzata di vantaggi e limiti incrociati tra i diversi processi fotobiologici potrebbe essere considerata la causa principale della mancata individuazione del gruppo microbico o processo decisamente e oggettivamente più vantaggioso, sul quale possibilmente impegnare la maggiore quantità di risorse scientifiche, tecnologiche e finanziarie. In realtà, il fatto che, malgrado l'imponente massa di ricerche e di pubblicazioni scientifiche, nessun processo di produzione fotobiologica di H_2 abbia finora superato la fase di ricerca sembra indicare che i processi fotobiologici, in quanto tali, abbiano un limite che ne sconsiglia l'applicazione su grande scala, all'aperto e, quindi, in condizioni naturali di illuminazione. L'enorme quantità di dati disponibili nella letteratura scientifica dimostra inequivocabilmente che tale limite esiste, è comune a tutti i microrganismi fotosintetici e ai processi da loro mediati, ed è costituito dalla bassa efficienza con cui i diversi sistemi biologici convertono l'energia luminosa in energia sotto forma di H_2 . In effetti, le maggiori efficienze di conversione dell'energia luminosa in idrogeno sono conseguite in colture di laboratorio a bassa intensità di luce; all'aumentare della intensità luminosa, l'efficienza diminuisce sensibilmente e progressivamente, fino a produrre danni irreparabili al sistema biologico. Il principale limite della produzione di H_2 per conversione fotobiologica dell'energia solare, quindi, sembra essere costituito dalla bassa efficienza con cui gli apparati fotosintetici dei vari gruppi microbici, e i "pigmenti antenna" in particolare, operano in condizioni di alta intensità luminosa, quali quelle proprie della radiazione solare. All'aperto, vari autori oggi sono concordi nella stima che l'efficienza di conversione dell'energia solare in energia dell'idrogeno prodotto possa verosimilmente essere dello 0,04-0,2% nel caso dei

PARAMETRI	KJ/m ² d	litri eq. H ₂ /m ² d (1)
EF teorica massima = 10% dell'energia totale	2000	175
Produzione di H ₂ con EF=0,04%	8	0,7
Produzione di H ₂ con EF=0,5%	100	8,8
Coltura massiva in anni Cinquanta (EF = 0,2 %)	40	3,5
Produttività coltura massiva = 20g (p.s.)/m ² d (2)	450	39,5
Produttività coltura massiva = 50g (p.s.)/m ² d (2)	1125	98,7
(1) Calcolati utilizzando un valore calorico superiore dell'idrogeno pari a 11,4 KJ/litro. (2) Calcolato assumendo per la biomassa microbica un valore energetico di 22,5 KJ/g (p.s.).		

Tab. 3 *Efficienza fotosintetica (EF) di conversione dell'energia solare in H₂ o litri equivalenti di H₂ conseguita da microrganismi fotosintetici all'aperto, nell'ipotesi di una radiazione solare di 20 MJ/(m² die), valori tipici alle latitudini climaticamente più favorevoli*

microrganismi a fotosintesi ossigenica e leggermente più alta (0,3-0,5%) nel caso dei batteri rossi non sulfurei, ma, in quest'ultimo caso, non viene generalmente tenuto conto dell'energia del substrato organico metabolizzato. Questi valori, tutti ben al di sotto dell'1%, sono sensibilmente inferiori ai valori di efficienza fotosintetica conseguiti dagli stessi gruppi microbici in colture massive all'aperto, in processi, quindi, di conversione dell'energia solare in energia accumulata sotto forma di biomassa. In effetti, la coltura massiva di microrganismi fotosintetici, potendo contare su almeno cinque decenni di sperimentazione e continuo sviluppo dei sistemi di coltura all'aperto, attualmente raggiunge, in impianti pilota di dimensione significativa, efficienze fotosintetiche con punte dell'ordine del 4%, corrispondenti a produttività giornaliere di oltre 50 g cellule (peso secco) per m². Al riguardo, è utile ricordare che, agli inizi degli anni Cinquanta, la coltura massiva all'aperto di microrganismi fotoautotrofi conseguiva efficienze di appena lo 0,2%! Il processo di produzione fotobiologica di H₂, quindi, può verosimilmente essere accreditato di un ampio margine di miglioramento delle prestazioni.

Per avere una idea di quanto oggi i processi fotosintetici di produzione di idrogeno o biomassa siano lontani tra di loro e dal loro limite teorico, la tabella 3 riporta alcune stime.

Nello sviluppo del processo di produzione fotobiologica di H₂, un primo obiettivo da raggiungere nel medio periodo potrebbe, quindi, essere quello di colmare l'attuale divario esistente tra le efficienze fotosintetiche con cui uno stesso microrganismo produce alternativamente biomassa o idrogeno. Il percorso da compiere appare obbligato, dovendo necessariamente prevedere,

accanto alla comprensione delle motivazioni fisiologiche e biochimiche che determinano l'esistenza dell'attuale divario, una transizione dalla fase di ricerca in laboratorio alla fase di ricerca e sperimentazione all'aperto, in condizioni naturali di illuminazione. In questa seconda fase, l'attività sperimentale potrà far tesoro del bagaglio di conoscenze e innovazioni conseguite nel settore della coltura massiva dei microrganismi fotosintetici, sia per quanto attiene la fisiologia della crescita microbica alle alte intensità luminose e sia per quanto attiene la tecnologia dei sistemi colturali. D'altra parte, in questo ambito, il tema dell'efficienza fotosintetica dei microrganismi fotosintetici è oggi molto dibattuto e diverse sono le strategie di ricerca proposte per superare il limite che essa impone allo sfruttamento biotecnologico della fotosintesi microbica. Senza entrare nei dettagli, che andrebbero oltre lo scopo della presente nota e meriterebbero ben altri approfondimenti, e senza voler porre in secondo piano altre ricerche, che pure consentono continui progressi nella messa a punto dei vari processi, le ricerche tendenti a migliorare la penetrazione della luce nei fotobioreattori meritano, secondo la nostra opinione, una particolare attenzione. Queste ricerche stanno percorrendo due approcci distinti: l'ingegneria genetica e lo sviluppo tecnologico dei fotobioreattori. La prima mira a ottenere ceppi con ridotta quantità di pigmenti antenna e quindi capaci di catturare una minore quantità di radiazione luminosa a favore delle cellule negli strati inferiori della coltura (Kondo et al., 2002; Polle et al., 2001), il secondo tende a realizzare fotobioreattori nei quali poter "diluire" l'intensità luminosa incidente e/o poter attuare una tale agitazione delle colture da determinare una brevissima (dell'ordine dai micro- ai milli-secondi) esposizione ciclica delle cellule alla alta intensità luminosa (Akkerman et al., 2002).

In ogni caso, il futuro dell'idrogeno dalla fotosintesi microbica, se mai vi sarà un futuro di questo tipo, vedrà colture microbiche all'interno di dispositivi colturali chiusi, di vetro o di altro materiale trasparente. In proposito, vengono in mente le parole pronunciate da uno scienziato italiano, Giacomo Ciamician (Trieste, 1857-Bologna, 1922), in occasione di una relazione scientifica presentata all'International Congress of Applied Chemistry a New York nel 1912:

«Colture industriali senza fumi, foreste di tubi di vetro estese su piani e strutture di vetro sorgeranno ovunque. All'interno avranno luogo processi fotochimici, strappati dal segreto delle piante e saranno guidati dall'industria umana che saprà come fare perché diano più abbondanti frutti della natura. E se in un lontano futuro le risorse carbonifere saranno completamente esaurite, la civiltà non sarà impedita perché la vita e la civilizzazione continueranno fino a che splenderà il sole. Se la nostra nera e nervosa civiltà, basata sul car-

bone, sarà seguita da una più tranquilla civiltà, basata sull'energia solare, ciò non sarà dannoso per il progresso e per la felicità dell'uomo».

Parole forse profetiche, sicuramente di incoraggiamento e di buon auspicio per la ricerca scientifica nel settore della conversione fotobiologica dell'energia solare in idrogeno.

RINGRAZIAMENTI

Le ricerche attualmente condotte presso il Dipartimento di Biotecnologie Agrarie sono oggetto di finanziamento nell'ambito del Progetto Firenze Hydrolab, progetto *motu proprio* dell'Ente Cassa di Risparmio di Firenze, e del Progetto "Metodologie innovative per la produzione di idrogeno da processi biologici", facente capo al Programma strategico "Nuovi sistemi di produzione e gestione dell'energia" del Fondo Integrativo Speciale per la Ricerca (FISR) del MIUR.

RIASSUNTO

Dopo una breve descrizione degli aspetti fondamentali della produzione fotobiologica di idrogeno, mediata da microrganismi dotati di metabolismo fotosintetico ossigenico o anossigenico, e dello stato di avanzamento delle ricerche sui diversi meccanismi produttivi, vengono proposte alcune considerazioni di carattere comparativo tra i diversi sistemi biologici e presentate le principali strategie di sviluppo per una prossima applicazione su larga scala del processo fotobiologico.

ABSTRACT

After a brief presentation of both the fundamentals and the state of the art of the photobiological production of hydrogen gas, carried out by microorganisms provided with oxygenic or anoxygenic photosynthesis, a comparative analysis of the H₂-producing biological systems is given and the main strategies to arrive to an exploitation of the photobiological process on large scale are reported.

BIBLIOGRAFIA

- AKKERMAN I., JANSSEN M., ROCHA J., WIJFFELS R.H. (2002): *Photobiological hydrogen production: photochemical efficiency and bioreactor design*, «Int. J. Hydrogen Energy», 27, pp. 1195-1208.
- DAS D., VEZIROGLU T.N. (2001): *Hydrogen production by biological process: a survey of literature*, «Int. J. Hydrogen Energy», 26, pp. 13-28.

- FLORIN L., TSOKOGLU A., HAPPE T. (2001): *A novel type of [Fe]-hydrogenase in the green alga Scenedesmus obliquus is linked to the photosynthetical electron transport chain*, «J. Biol. Chem.», 276, pp. 6125-6132.
- FUMIAKI T., CHANG J.D., MIZUKAMI N., TATSUO S.T., KATSUSHIGE H. (1993): *Isolation of a hydrogen-producing bacterium Clostridium beijerinckii strain AM21B from termites*, «Can. J. Microbiol.», 39, pp. 726-730.
- GAFFRON H., RUBIN J. (1942): *Fermentative and photochemical production of hydrogen by algae*, «J. Gen. Physiol.», 26, pp. 219-240.
- GEST H., KAMEN M.D. (1949): *Photoproduction of molecular hydrogen by Rhodospirillum rubrum*, «Science», 109, pp. 558-559.
- GHIRARDI M.L., ZHANG L., LEE J.W., FLYNN T., SEIBERT M., GREENBAUM E., MELIS A. (2000): *Microalgae: a green source of renewable H₂*, «Trends Biotechnol.», 18, pp. 506-511.
- GREENBAUM E., GUILLARD R.R.L., SUNDA W.G. (1983): *Hydrogen and oxygen photoproduction by marine algae*, «Photochem. Photobiol.», 37, pp. 649-655.
- GREENBAUM E. (1982): *Photosynthetic hydrogen and oxygen production: kinetic studies*, «Science», 196, pp. 879-880.
- HALLENBECK P., BENEMANN J.R. (2002): *Biological hydrogen production: fundamentals and limiting processes*, «Int. J. Hydrogen Energy», 27, pp. 1185-1194.
- HAWKES F.R., DINSDALE R., HAWKES D.L., HUSSY I. (2002): *Sustainable fermentative bihydrogen: challenges for process optimisation*, «Int. J. Hydrogen Energy», 27, pp. 1339-1347.
- HEYNDRIX M., VOS P.D., LEY J.D. (1991): *Fermentative characteristics of Clostridium pastorianus LMG 3285 grown on glucose and mannitol*, «J. Appl. Bacteriol.», 70, pp. 52-58.
- KONDO T., ARAKAWA M., WAKAYAMA T., MIYAKE J. (2002): *Hydrogen production by combining two types of photosynthetic bacteria with different characteristics*, «Int. J. Hydrogen Energy», 27, pp. 1303-1308.
- KUMAR N., DAS D. (2000): *Enhancement of hydrogen production by Enterobacter cloacae IIT-BT08*, «Process Biochem.», 35, pp. 589-593.
- LEVIN D.B., PITT L., LOVE M. (2004): *Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application*, «Int. J. Hydrogen Energy», 29, pp. 173-185.
- MARKOV S.A., BAZIN M.J., HALL D.O. (1995): *The potential of using cyanobacteria in photobioreactors for hydrogen production*, «Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.», 52, pp. 59-86.
- MCBRIDE A.C., LIEN S., TOGASAKI R.K., SAN PIETRO A. (1997): *Mutational analysis of Chlamydomonas reinhardtii: application to biological solar energy conversion*, in *Biological solar energy conversion*, (Mitsui A et al., Ed) pp. 77-86.
- MCTAVISH H., SAYAVEDRA-SOTO L.A., ARP D.A. (1995): *Substitution of Azotobacter vinelandii hydrogenase small-subunit cysteines by serines can create insensitivity to inhibition by O₂ and preferentially damages H₂ oxidation over H₂ evolution*, «J. Bacteriol.», 177, pp. 3960-3964.
- MELIS A., ZHANG L., FORESTIER M., GHIRARDI M.L., SEIBERT M. (2000): *Substained photobiological hydrogen gas production upon reversible inactivation of oxygen evolution in the green alga Chlamydomonas reinhardtii*, «Plant Physiol.», 122, pp. 127-136.
- MELIS T. (2002): *Green alga hydrogen production: process, challenges, and prospects*, «Int. J. Hydrogen Energy», 27, pp. 1217-1228.
- NAKADA E., ASADA Y., ARAI T., MIYAKE J. (1995): *Light penetration into cell suspensions of photosynthetic bacteria and relation to hydrogen production*, «J. Ferment. Bioeng.», 80,

- pp. 53-59.
- NANDI R., SENGUPTA S. (1998): *Microbial production of hydrogen: an overview*, «Crit. Rev. Microbiol.», 24, pp. 61-84.
- PINTO F.A.L., TROSHINA O., LINDBLAD P. (2002): *A brief look at three decades of research on cyanobacterial hydrogen evolution*, «Int. J. Hydrogen Energy», 27, pp. 1209-1215.
- POLLE J., KANAKAGIRI S., BENEMANN J.R., MELIS A. (2001): *Maximizing photosynthetic efficiencies and hydrogen production in microalgal cultures*, in *Biohydrogen II* (Miake J., Matsunaga T., San Pietro A., Eds.; Pergamon, Elsevier), pp. 111-130.
- RACHMAN M.A., FURUTANI Y., NAKASHIMADA Y., KAKIZONO T., NISHIO N. (1997): *Enhanced hydrogen production in altered mixed acid fermentation of glucose by Enterobacter aerogenes*, «J. Ferment. Bioeng.», 83, pp. 358-363.
- ROSENKRANZ A., KRASMA A.J. (1984): *Stimulation of hydrogen photoproduction in algae by removal of oxygen by reagents that combine reversibly with oxygen*, «Biotech. Bioeng.», 26, pp. 1334-1342.
- SVESHNIKOV D.A., SVESHNIKOV N.V., RAO K.K., HALL D.O. (1997): *Hydrogen metabolism of Anabaena variabilis in continuous cultures and under nutritional stress*, «FEBS lett.», 147, pp. 297-301.
- TASSINATO G., CAPOLINO E., SILI C., VINCENZINI M. (1990): *Outdoor hydrogen photoevolution by immobilized cells of Rhodospseudomonas palustris*, in *Nitrogen Fixation* (M. Polsinelli, R. Materassi e M. Vincenzini, Eds., Kluwer Academic Publishers), pp. 591-592.
- TSYGANKOV A.A., FEDOROV A.S., LAURINAVICHENE T.V., GOGOTOV I.N., RAO K.K., HALL D.O. (1998): *Actual and potential rates of hydrogen photoproduction by continuous culture of the purple non-sulphur bacteria Rhodobacter capsulatus*, «Appl. Microbiol. Biotechnol.», 49, pp. 102-107.
- VINCENZINI M., BALLONI W., MANNELLI D., FLORENZANO G. (1981): *A bioreactor for continuous treatment of waste waters with immobilized cells of photosynthetic bacteria*, «Experientia», 37, pp. 710-711.
- VINCENZINI M., MATERASSI R., TREDICI M.R., FLORENZANO G. (1982): *Hydrogen production by immobilized cells – II. H₂-photoevolution and waste-water treatment by agar-entrapped cells of Rhodospseudomonas palustris and Rhodospirillum molischianum*, «Int. J. Hydrogen Energy», 7, pp. 725-728.
- VINCENZINI M., MATERASSI R., TREDICI M.R., FLORENZANO G. (1982): *Hydrogen production by immobilized cells – I. Light dependent dissimilation of organic substances by Rhodospseudomonas palustris*, «Int. J. Hydrogen Energy», 7, pp. 231-236.
- VINCENZINI M., MATERASSI R., SILI C., FLORENZANO G. (1986): *Hydrogen production by immobilized cells – III. Prolonged and stable H₂ photoevolution by Rhodospseudomonas palustris in light-dark cycles*, «Int. J. Hydrogen Energy», 11, pp. 623-626.
- VINCENZINI M., TASSINATO G., MATERASSI R.: *Bioreattore a flusso verticale per cellule immobilizzate di microrganismi fotosintetici*, Brevetto No. 9368 A/89.

ROBERTO DE PHILIPPIS*, MASSIMO VINCENZINI*,
MAURIZIO PERUZZINI**

Il progetto Firenze Hydrolab per la ricerca sulla produzione, l'immagazzinamento e l'utilizzazione dell'idrogeno come vettore energetico

INTRODUZIONE

L'idea di costituire un laboratorio virtuale che riunisse in una unica struttura integrata le attività di ricerca sull'idrogeno che venivano condotte in strutture di ricerca pubbliche situate nel territorio fiorentino è nata alla fine del 2003, in seguito all'iniziativa dell'Istituto di Chimica dei Composti Organometallici (ICCOM) del CNR di Firenze. La proposta trae origine dalla constatazione che a Firenze, prevalentemente nel nuovo Polo Scientifico di Sesto Fiorentino, ma anche presso altre sedi dell'Ateneo fiorentino, erano presenti un cospicuo numero di gruppi di ricerca, appartenenti sia all'Università che al CNR, con competenze di altissimo livello nei vari settori legati allo studio della possibile utilizzazione dell'idrogeno come vettore energetico. È nata quindi la proposta di organizzare, attorno a un Progetto chiamato Firenze Hydrolab, una collaborazione strutturale permanente tra i diversi gruppi di ricerca, appartenenti a tre Dipartimenti dell'Università, due Istituti del CNR e un laboratorio europeo con sede a Firenze (tab. 1), per condurre ricerche integrate sull'intera filiera dell'idrogeno, a partire dalla produzione del gas fino alla sua utilizzazione per produrre energia. Il Progetto è stato presentato all'Ente Cassa di Risparmio di Firenze, che lo ha ritenuto di grande interesse scientifico e lo ha inserito tra i suoi progetti pluriennali denominati *motu proprio*, finanziandolo sia nel 2004 che nel 2005. A tale contributo si aggiunge un significativo cofinanziamento apportato dai vari soggetti promotori del laboratorio con fondi derivanti sia da finanziamenti *ad hoc*, provenienti da enti pubblici e

* Dipartimento di Biotecnologie Agrarie, Università degli Studi di Firenze

** Istituto di Chimica dei Composti Organometallici – CNR

SOGGETTO PARTECIPANTE	RESPONSABILE SCIENTIFICO	INDIRIZZO PAGINA WEB
Dipartimento di Biotecnologie Agrarie	Prof. Roberto De Philippis	http://www.polosci.unifi.it/diba/
Dipartimento di Energetica "Sergio Stecco"	Prof. Ennio A. Carnevale	http://www.de.unifi.it/
Dipartimento di Chimica	Prof. Fabrizio Mani	http://www.unifi.it/dipchimica/
Istituto di Chimica dei Composti Organometallici (ICCOM-CNR)	Dr. Maurizio Peruzzini e Dr. Claudio Bianchini	http://www.iccom.cnr.it
Istituto dei Sistemi Complessi (ISC-CNR)	Dr. Marco Zoppi	http://www.ifac.cnr.it/
Laboratorio Europeo di Spettroscopia non lineare (LENS)	Prof. Vincenzo Schettino e Prof. Roberto Bini	http://www.lens.unifi.it/

Tab. 1 *Soggetti partecipanti al "Progetto Firenze Hydrolab - Programma di ricerca avanzata per la produzione, immagazzinamento e utilizzazione dell'idrogeno come vettore energetico", Responsabile Dr. Maurizio Peruzzini, ICCOM-CNR (per informazioni si veda: <http://www.iccom.cnr.it/hydrolab>)*

soggetti privati, che dalle dotazioni istituzionali dei vari istituti e laboratori partecipanti al consorzio. Informazioni dettagliate sul progetto si possono reperire in Internet accedendo alla pagina web dedicata: <http://www.iccom.cnr.it/hydrolab>.

OBIETTIVI DEL PROGETTO FIRENZE HYDROLAB E STRUTTURE PARTECIPANTI

L'attività di ricerca condotta nell'ambito del Progetto Firenze Hydrolab (fig. 1) ha come obiettivo principale l'avanzamento della conoscenza, sia di tipo fondamentale che applicata, sui principali aspetti della filiera dell'idrogeno. In particolare il progetto è mirato a studiare la produzione efficiente ed economicamente competitiva di idrogeno a elevata purezza attraverso varie vie: (a) *reforming* di idrocarburi, (b) reazioni ad alta pressione, indotte da radiazioni laser su idrocarburi e acqua, (c) via fotobiologica. Vengono inoltre studiate le problematiche relative all'immagazzinamento dell'idrogeno in idruri metallici e in materiali nanostrutturati di nuova concezione al fine di ottenere "contenitori microscopici" efficienti e facilmente trasportabili, e infine vengono sperimentate celle a combustibile esenti da platino per l'utilizzazione del gas come vettore energetico.

Facendo proprie le premesse alla preparazione del progetto e le linee guida dell'Ente Cassa di Risparmio di Firenze nell'attività di supporto alla ricerca scientifica in ambito fiorentino e regionale, il Progetto Firenze Hydrolab si è strutturato in forma di una rete di ricerca localizzata all'interno del Polo Scien-

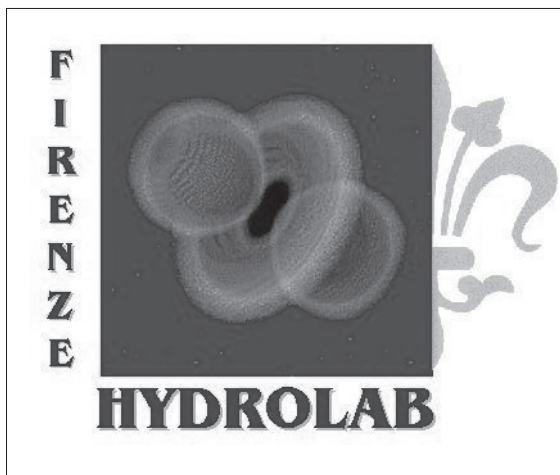


Fig. 1 *Logo del Progetto Firenze Hydrolab*

tifico e Tecnologico di Sesto Fiorentino (tab. 1) alla quale hanno contribuito due Istituti del Consiglio Nazionale delle Ricerche (l'Istituto di Chimica dei Composti Organometallici – ICCOM e l'Istituto dei Sistemi Complessi – ISC), un laboratorio di eccellenza della Comunità Europea (il Laboratorio Europeo di Spettroscopia non lineare – LENS) tre Dipartimenti dell'Ateneo Fiorentino (il Dipartimento di Biotecnologie Agrarie, il Dipartimento di Chimica e il Dipartimento di Energetica “Sergio Stecco”). Nell'insieme, l'aggregazione di queste unità di ricerca nel Laboratorio Firenze Hydrolab ha assicurato la realizzazione di una massa critica di ricercatori con competenze d'eccellenza in settori di ricerca avanzata nell'ambito della produzione, immagazzinamento e utilizzazione dell'idrogeno come vettore energetico che non hanno uguali in ambito fiorentino.

LE LINEE DI RICERCA DEL PROGETTO FIRENZE HYDROLAB

Nell'ambito del Progetto Firenze Hydrolab vengono sviluppate le seguenti linee di ricerca:

Produzione di idrogeno per via chimica: produzione da reazioni ad alta pressione su fasi condensate di idrocarburi olefinici e acqua

Ricerca condotta presso il LENS, Laboratorio Europeo per la Spettroscopia non lineare, Università di Firenze.

Responsabili scientifici: Prof. Vincenzo Schettino e Prof. Roberto Bini.

Il progetto prevede lo studio di reazioni chimiche che, in condizioni di

pressione e temperatura elevate, producano idrogeno molecolare mediante l'impiego di celle a incudine di diamante. In particolare, verranno studiate reazioni tra sistemi molecolari semplici, quali idrocarburi saturi e insaturi a basso peso molecolare, e l'acqua, dal momento che questa molecola sembra essere in grado di agire, una volta attivata fotochimicamente e in condizioni di pressione elevata, da iniziatore radicalico della reazione di formazione di idrogeno. Date le piccole dimensioni del campione (100-200 μm di diametro) è stata riscontrata, nel corso del primo periodo di sperimentazione, la difficoltà della rivelazione *in situ* dell'idrogeno eventualmente formatosi durante la reazione. Per risolvere questo problema era stata in un primo tempo prevista la messa a punto di un sistema di rivelazione dell'idrogeno mediante spettroscopia Raman, essendo questa tecnica in grado di dare informazioni sulla natura dei singoli prodotti di reazione anche nel caso di campioni eterogenei e di piccole dimensioni. Nel tempo intercorso tra la preparazione del Progetto Firenze Hydrolab e il suo effettivo finanziamento è stata però progettata una nuovissima metodologia di focalizzazione del fascio laser e di raccolta del segnale Raman che appare essere specifica e ottimizzata per lo studio dei campioni micrometrici contenuti nella cella a incudine di diamante ed è stata quindi prevista l'utilizzazione di questa tecnica nel prosieguo della ricerca.

Produzione di idrogeno per via chimica: reforming di gas naturale per la produzione di idrogeno in alta resa

Ricerca condotta presso il Dipartimento di Energetica "Sergio Stecco", Università di Firenze.

Responsabile scientifico: Prof. Ennio Carnevale.

Il progetto prevede la realizzazione di un piccolo impianto a ossidazione catalitica parziale (CPO *reformer*) per la produzione di *syngas* ricco di idrogeno da *reforming* di gas naturale. Attualmente l'idrogeno per l'industria chimica è prodotto utilizzando il processo di *steam reforming* (trasformazione con vapore) che si effettua, a partire da gas metano o da frazioni leggere di petrolio, con vapore d'acqua in presenza di un catalizzatore (generalmente a base di nichel o rutenio) ad alta temperatura, intorno agli 800 °C. Il gas risultante contiene anche monossido di carbonio che, reagendo con il vapore, si trasforma in biossido di carbonio formando ulteriore idrogeno. Lo *steam reforming* del metano è un processo ben sviluppato e altamente commercializzato e attraverso il quale si produce circa il 50% dell'idrogeno attualmente prodotto a livello mondiale. Tale metodo può essere applicato anche ad altri idrocarburi, come l'etano e la nafta. Non possono essere utilizzati idrocarburi più pesanti perché essi potrebbero contenere impurità, capaci di avvelenare i

catalizzatori, la cui rimozione aumenterebbe i costi di produzione.

Il contributo del Dipartimento di Energetica al Progetto Firenze Hydrolab consisterà nella acquisizione e installazione di un piccolo impianto a ossidazione catalitica parziale (CPO) per la produzione di *syngas* ricco di idrogeno mediante *reforming* di gas naturale, da collocare presso l'impianto di smaltimento dei rifiuti urbani di Case Passerini (FI) della Quadrifoglio SpA. La ricerca che verrà svolta con il CPO *reformer* sarà orientata alla valutazione dell'integrazione dei processi di ossidazione parziale in impianti di conversione energetica allo scopo di incrementare l'efficienza termodinamica della conversione stessa, con particolare attenzione alle problematiche relative all'emissione in atmosfera di anidride carbonica. Verranno inoltre valutate le prestazioni del *reformer* in base all'utilizzo di diversi tipi di catalizzatori. In questa fase sarà possibile anche valutare le tecniche e le metodologie necessarie per l'impiego nella combustione di catalizzatori non industrializzati che si renderanno disponibili in seguito all'attività di ricerca del gruppo di ricercatori dell'ICCOM-CNR che partecipano al Progetto Firenze Hydrolab. Uno degli obiettivi principali di tale studio riguarda la possibilità di abbassare, tramite l'impiego di catalizzatori innovativi, la temperatura del processo in modo tale da raggiungere migliori efficienze energetiche del processo di conversione.

Verrà inoltre valutata la possibilità di utilizzare una metodologia di combustione omogenea per la produzione di *syngas* in assenza di catalizzatori e verranno investigate le potenzialità di processi innovativi come quello denominato *Sorption Enhanced Reforming* (SER), attualmente oggetto di ricerca in numerosi laboratori internazionali.

Verrà infine presa in esame la possibilità di impiegare la tecnologia POX (*reforming* a ossidazione parziale), anche con combustibili di derivazione organica o biocombustibili. Questi in combinazione con celle a combustibile potranno essere utilizzati come *on board reformer* per la propulsione di autoveicoli.

Realizzazione e sperimentazione di un sistema avanzato per il sequestro del biossido di carbonio

Ricerca condotta presso il Dipartimento di Chimica, Università di Firenze.

Responsabile scientifico: Prof. Fabrizio Mani.

Nell'ambito del progetto di ricerca si intende sperimentare, in scala di laboratorio, le reazioni di cattura e trasformazione di CO_2 , analizzando in particolare le condizioni chimiche (scelta dei reagenti adatti), termodinamiche (temperatura, pressione, concentrazione dei reagenti, flussi dei gas) e cinetiche (ottimizzazione dello scambio liquido-gas) delle reazioni. L'obiettivo è

quello di intrappolare e trasformare l'anidride carbonica, contenuta in miscela gassosa con l'idrogeno prodotto nei processi sperimentati dagli altri gruppi di ricerca del Progetto Firenze Hydrolab, in sostanze utilizzabili direttamente come fertilizzanti o come intermedi nell'industria farmaceutica e delle materie plastiche e quindi con un valore commerciale.

La fase iniziale del programma prevede la progettazione e l'installazione dell'impianto per la cattura di CO_2 con ammoniaca allo scopo di ottenere carbammato e idrogenocarbonato di ammonio. Nelle fasi successive del progetto verranno sperimentate nuove reazioni con adatte ammine e catalizzatori metallici per inglobare CO_2 in substrati organici più complessi, quali esterilichilici dell'acido carbammico N-alchil sostituito, precursori di numerose sintesi industriali per la produzione di prodotti farmaceutici, fungicidi, pesticidi e materiali sintetici (poliuretani). In tutte queste reazioni, la CO_2 sostituisce come materiale di partenza il fosgene, COCl_2 , sostanza particolarmente nociva. Inoltre, in funzione dei risultati ottenuti, si cercherà di ottimizzare l'impianto sia in termini di completo ricircolo e riutilizzo dei reagenti in eccesso, che in termini di automazione dei vari stadi del processo.

Produzione di idrogeno per via biologica: produzione per via fermentativa e per via fotobiologica

Ricerca condotta presso il Dipartimento di Biotecnologie Agrarie, Università di Firenze.

Responsabile scientifico: Prof. Roberto De Philippis.

La produzione di idrogeno mediante processi di natura biologica presenta alcuni interessanti vantaggi rispetto alle tecniche termochimiche ed elettrochimiche attualmente in uso o allo studio: la produzione biologica di idrogeno, infatti, avviene utilizzando fonti di energia rinnovabili in un processo a basso impatto ambientale operante a temperatura e pressione ambiente. Tra i microrganismi impiegati nella produzione biologica di idrogeno, i batteri fotosintetici rossi non sulfurei sono comunemente indicati in letteratura come i più promettenti a causa delle loro peculiarità metaboliche (Vincenzini e De Philippis, in questa pubblicazione).

La produzione di idrogeno da parte dei batteri fotosintetici rossi non sulfurei è prevalentemente dovuta all'attività della nitrogenasi, la quale, in una reazione fortemente dipendente dalla fotosintesi per il rifornimento di ATP e NADH_2 , riduce i protoni a idrogeno molecolare. In questo processo, un parziale apporto aggiuntivo alla quantità di idrogeno prodotta può venire dall'attività dell'idrogenasi reversibile, anche se il suo contributo è generalmente poco significativo o addirittura assente; d'altra parte, ci può

essere un forte contributo negativo della idrogenasi *uptake*, un enzima che, ossidando l'idrogeno molecolare, consente al batterio il recupero di potere riducente.

L'attività di ricerca che verrà condotta nell'ambito del Progetto Firenze Hydrolab sarà indirizzata alla selezione, tra i batteri fotosintetici rossi non solfurei già presenti nella collezione specializzata del Dipartimento di Biotecnologie Agrarie o isolati da ambienti naturali durante il periodo di svolgimento della ricerca, dei ceppi dotati della migliore capacità di produrre idrogeno in sistemi a cellule non immobilizzate, a partire da acidi organici a catena corta, quali acido malico, acetico, ecc. Verranno inoltre studiate le condizioni ottimali di coltura (densità cellulare in funzione dell'intensità luminosa, pH, temperatura, tipo e regime di nutrizione azotata, ecc.) per la produzione di idrogeno con substrati organici di varia natura e origine. In una fase successiva, verrà sperimentata la possibilità di utilizzare per la produzione fotobiologica di idrogeno reflui di alcune attività produttive. Verrà inoltre valutata la possibilità di ottenere, oltre all'idrogeno, biomasse microbiche ad alto contenuto di poliidroossoalcanoati e/o di pigmenti fotosintetici, composti ad alto interesse applicativo come materiali plastici biodegradabili e come pigmenti di origine naturale.

In aggiunta alle ricerche previste nell'ambito del progetto Firenze Hydrolab, l'unità di ricerca del Dipartimento di Biotecnologie Agrarie ha anche avviato attività di ulteriore approfondimento della tematica, sia per aspetti legati alla biologia molecolare dei microrganismi fotosintetici produttori di idrogeno che per quanto riguarda la possibilità di realizzare processi che associno la fotoproduzione di idrogeno alla depurazione di acque reflue industriali o alla biodegradazione di residui vegetali. Il primo aspetto, che costituisce una delle attività portanti di un progetto recentemente approvato nell'ambito del programma strategico "Nuovi sistemi di produzione e gestione dell'energia" del FISR (Fondo Integrativo Speciale per la Ricerca) del MIUR, verrà investigato sperimentando la possibilità di modificare geneticamente i batteri fotoeterotrofi al fine di ottimizzare l'attività degli enzimi coinvolti nella produzione di idrogeno e di inattivare quelli che penalizzano l'efficienza di conversione del substrato organico in idrogeno. Sarà inoltre valutata la possibilità di ottenere mutanti dotati di migliori caratteristiche di resistenza ai fattori di stress (quali ad esempio la temperatura o l'alta intensità luminosa) tipici dei sistemi di fotoproduzione di idrogeno che operano all'aperto, in condizioni di illuminazione naturale. Inoltre, verranno analizzati i profili di espressione differenziale dei batteri in funzione delle diverse condizioni di coltura sperimentate in impianto pilota, in modo da identificare le vie metaboliche e i

relativi meccanismi di controllo coinvolti direttamente o indirettamente nella produzione di idrogeno. Verranno infine identificati e preparati idonei vettori di espressione per l'introduzione e il controllo dell'attività di geni implicati nella produzione dell'idrogeno o in caratteristiche colturali rilevanti per la durata del processo di fotoproduzione del gas.

Per quanto riguarda il secondo aspetto, riguardante la possibilità di utilizzare scarti di varia natura e origine per la fotoproduzione di idrogeno, il gruppo di ricerca del Dipartimento di Biotecnologie Agrarie ha presentato, congiuntamente alla società Quadrifoglio SpA, che gestisce la raccolta e lo smaltimento dei rifiuti urbani di Firenze, un progetto per verificare la fattibilità di un sistema per la produzione di idrogeno operante attraverso due processi microbici combinati, fermentazione al buio condotta da microrganismi chemioeterotrofi e successiva fotodegradazione condotta da microrganismi fotoeterotrofi, che utilizzino come substrati iniziali scarti di natura vegetale provenienti dall'impianto di selezione e compostaggio di Case Passerini gestito dalla Quadrifoglio SpA.

Immagazzinamento di idrogeno in idruri metallici

Ricerca condotta presso l'Istituto di Chimica dei Composti Organometallici, ICCOM, CNR, Firenze.

Responsabile scientifico: Dr. Maurizio Peruzzini.

L'unità di ricerca ICCOM si è dedicata, negli ultimi 15 anni, allo studio dei composti idrurici dei metalli di transizione maturando importanti competenze in questo settore al limite tra la chimica inorganica, la chimica organometallica e la catalisi omogenea ed eterogenea. Tale ampio background di competenze scientifiche in settori che spaziano dalla sintesi chimica di idruri metallici, classici e non classici, alla caratterizzazione degli stessi mediante tecniche spettroscopiche e diffrattometriche, allo studio della loro reattività in ambito stechiometrico e catalitico, ha consentito di riorientare l'interesse della ricerca verso l'impiego di idruri metallici come materiali per l'immagazzinamento di idrogeno.

Nel corso del 2004 il gruppo ICCOM-CNR ha affrontato diversi problemi connessi in particolare con i seguenti obiettivi scientifici: (a) studio delle condizioni chimiche e chimico-fisiche che regolano i meccanismi di assorbimento e rilascio di idrogeno da centri metallici in composti idrurici; (b) studio del legame chimico in idruri complessi di cobalto e rodio; (c) studio delle proprietà di fotolabilità di idruri metallici di rutenio.

Per quanto riguarda il primo obiettivo, è stata studiata la reazione di idrogenazione reversibile che ha luogo in un complesso nucleare di rodio capace di sommare due molecole di idrogeno a pressione atmosferica e di rilasciarle

sia in soluzione, se esposto a un'atmosfera di azoto o argon, che allo stato solido, se pressurizzato con H_2 gassoso a pressioni superiori a 40 bar. La reazione di assorbimento reversibile di idrogeno è stata seguita a bassa temperatura mediante spettroscopia NMR di protone e fosforo e, in collaborazione con l'Università di Torino (Prof. R. Gobetto), con NMR adoperando sistemi arricchiti in paraidrogeno. Il meccanismo di assorbimento dell'idrogeno è stato modellato con metodi di calcolo *ab initio* (metodo DFT o della densità funzionale) che hanno permesso di proporre un meccanismo di attivazione dell'idrogeno di tipo eterolitico in cui cioè l'idrogeno si "addiziona" attraverso due *step* indipendenti sul legame eteropolare Rh-S.

Per quanto riguarda il secondo obiettivo, è stata studiata la natura del legame metallo-idruro nei composti diidruirici gemelli di cobalto e rodio stabilizzati da leganti polifosfinici del tipo $[(PP_3)MH_2]Y$ ($PP_3 = P(CH_2CH_2PPh_2)_3$; M = Co, Rh; Y = anione mononegativo). In tali complessi la natura classica o non-classica del legante H_2 coordinato al metallo sembra dipendere strettamente dal metallo, dalle condizioni di temperatura e pressione e, allo stato solido, dai requisiti sterici del controione. L'analisi quantomeccanica delle strutture di due sali del complesso di cobalto (collaborazione con l'Università di Barcellona, Prof. A. Lledos) ha permesso di mettere in evidenza l'esistenza di più minimi di energia separati da barriere modeste che corrispondono al prodotto non classico (formalmente un complesso di idrogeno molecolare di cobalto monovalente) da quello classico riconducibile a un complesso di cobalto trivalente in cui la molecola di idrogeno si è addizionata ossidativamente al metallo.

Per quanto riguarda il terzo obiettivo, sono stati sintetizzati, in collaborazione col team guidato dalla Dott.ssa L. Marvelli (Università di Ferrara), complessi diidruirici di rutenio contenenti la fosfina tripodale $MeC(CH_2PPh_2)_3$ (*triphos*). Tali complessi hanno proprietà uniche per quel che riguarda la fotolabilità della molecola di idrogeno che può essere fotoestrusa semplicemente per esposizione di una soluzione della molecola alla luce solare. L'analisi attinometrica condotta presso la Plataforma Solar de Almeria (Almeria, Spagna) ha evidenziato che la fotoemissione di idrogeno ha luogo con una soglia energetica nel violetto che dipende dalla natura elettronica del legante ancillare L.

Immagazzinamento di idrogeno in materiali nanostrutturati e in idruri metallici

Ricerca condotta presso l'Istituto Sistemi Complessi, ISC, CNR, Firenze.

Responsabile scientifico: Dr. Marco Zoppi.

Le attività in corso presso i laboratori dell'ISC-CNR di Firenze riguardano lo studio e la caratterizzazione microscopica di materiali atti a un efficiente

immagazzinamento dell'idrogeno, al fine di realizzare un serbatoio di idrogeno a elevata capacità e in grado di operare a bassa pressione e a temperature prossime a quella ambiente. In particolare, le ricerche sono rivolte allo studio di nanotubi di carbonio e di idruri metallici.

Per quanto riguarda i nanotubi di carbonio, la ricerca è orientata a individuare dove si posiziona la molecola di idrogeno relativamente al reticolo atomico dei nanotubi stessi. Allo scopo di ottenere informazioni a questo proposito sono stati effettuati esperimenti di diffrazione neutronica, presso il Rutherford Appleton Laboratory (UK), su deuterio adsorbito su nanotubi di carbonio e esperimenti di spettroscopia neutronica, presso l'ILL (Institut Laue Langevin, Grenoble, F) su H_2 anch'esso adsorbito su un substrato di nanotubi di carbonio. Dal profilo di diffrazione è possibile ottenere informazioni sul modello strutturale microscopico del deuterio adsorbito, mentre dallo spettro intra-molecolare dell'idrogeno, e dalla misura accurata della posizione del picco rotazionale, è possibile ottenere informazioni sul campo elettrico locale e conseguentemente sulla localizzazione dei siti preferenziali di assorbimento. L'elaborazione di queste misure è particolarmente complessa e richiederà un impegno sostanziale nei prossimi mesi. Lo stesso tipo di informazione potrebbe essere ottenuto, in via di principio, utilizzando le tecniche di spettroscopia Raman disponibili presso i laboratori fiorentini dell'ISC, e a questo scopo è stata progettata e costruita una cella ottica, a tenuta di vuoto, in grado di contenere i nanotubi e che permette il dosaggio dell'idrogeno.

Gli idruri metallici rappresentano una valida alternativa ai sistemi attualmente disponibili per l'immagazzinamento dell'idrogeno e sembrano presentare, al momento, caratteristiche addirittura migliori dei materiali nanoporosi per quanto concerne la capacità di assorbimento in termini del rapporto, in peso, tra l'idrogeno e il substrato. Allo scopo di approfondire la conoscenza della natura del legame metallo-idruro, è stato intrapreso un programma di misure di spettroscopia neutronica su idruri metallici binari con l'intento di mettere a punto le migliori tecniche di analisi atte a far luce sulle problematiche di interesse.

Infine, presso l'ISC-CNR vengono anche svolte ricerche per caratterizzare i materiali per la catalisi utilizzabili nelle celle a combustibile alimentate a idrogeno. Al momento sono state effettuate alcune prove preliminari di diffrazione a basso angolo di neutroni termici presso il Laboratoire Leon Brillouin (LLB) del CEA (Paris, F) su un campione di catalizzatore fornito da ICCOM-CNR. Lo scopo di tali misure è quello di determinare le dimensioni (dell'ordine o inferiori al nanometro) delle nanoparticelle metalliche che costituiscono il catalizzatore.

Le celle a combustibile: la conversione dell'energia chimica dell'idrogeno in energia elettrica

Ricerca condotta presso l'Istituto di Chimica dei Composti Organometallici, ICCOM, CNR, Firenze.

Responsabile scientifico: Dr. Claudio Bianchini.

Nel corso del primo anno di vita del progetto Hydrolab, l'attività dell'ICCOM in questo settore si è concentrata sullo sviluppo di celle a combustibile di nuova generazione e, in particolare, di elettrocatalizzatori privi di platino (contenenti ferro, cobalto e nichel) per celle alimentate a idrogeno (PEMFC, *Polymer Electrolyte Membrane Fuel Cells*) o etanolo diretto (DAFC, *Direct Alcohol Fuel Cells*). Questo tipo di celle risulta particolarmente conveniente sia da un punto di vista economico, vista la scarsa abbondanza naturale e il costo del platino, che ambientale per la loro capacità di utilizzare fonti rinnovabili di energia.

Sono state messe a punto tecniche di policondensazione per l'ottenimento di una famiglia di polimeri templanti, che sono stati successivamente fatti reagire con sali di ferro, cobalto e nichel o con solo sali di nichel, trattati con Vulkan XC-72R e sottoposti a termolisi/riduzione ad alta temperatura, per fornire i catalizzatori anodico e catodico, rispettivamente. L'anodo e il catodo per la cella combustibile sono stati quindi ottenuti per miscelazione dei catalizzatori con PTFE e stratificazione ad alta pressione su *carbon paper*. Il polimero templante e gli elettrocatalizzatori anodici e catodici sono stati quindi approfonditamente studiati, caratterizzandoli con un gran numero di tecniche analitiche complesse, in modo tale da poterne descrivere l'efficienza, le prestazioni e il tempo di vita. Tutti i catalizzatori sono stati inoltre saggiati dopo esposizione al monossido di carbonio (CO) per valutarne il tempo di vita e la suscettibilità a possibili inquinanti gassosi. Infine, gli elettrodi, preparati impiegando gli elettrocatalizzatori prodotti dall'ICCOM, sono stati assemblati in celle monoplanari funzionanti a scambio anionico (utilizzando una opportuna membrana commerciale) e saggiati, in questa prima fase, impiegando come combustibile etanolo (soluzione al 3% in acqua). Gli elettrodi verranno saggiati, nel corso del presente anno di indagini, utilizzando come combustibile idrogeno gassoso.

RELAZIONI TRA PROGETTO FIRENZE HYDROLAB
E ALTRI GRUPPI E PROGETTI DI RICERCA

La costituzione del Laboratorio Firenze Hydrolab ha consentito non solo il potenziamento dei rapporti scientifici tra gli istituti fiorentini partecipanti

al progetto, ma anche lo sviluppo e il consolidamento di nuove relazioni scientifiche con altri istituti italiani e stranieri, attivi nella ricerca avanzata sull'idrogeno. La partecipazione, al momento su base bilaterale, di partner del laboratorio integrato a progetti nazionali a finanziamento del MIUR (FISR [Fondo Integrativo Speciale per la Ricerca], FIRB [Fondo Integrativo per la Ricerca di base], PRIN [Progetti di Ricerca di Interesse Nazionale]) e internazionali (Progetti RTN dell'Unione Europea, Progetti STREP, IP e NOE dell'Unione Europea) e il consolidamento di nuove relazioni con soggetti privati (ACTA SpA, TECHNOFIL srl, BIODIVERSITY srl, Firenze Tecnologia) e pubblici (Quadrifoglio SpA) rappresenta senz'altro un ulteriore successo del progetto e lascia prevedere un elevato effetto di induzione dell'attività di ricerca sul territorio. Nell'ambito di queste collaborazioni, la costituzione del Laboratorio Firenze Hydrolab ha assunto un valore insostituibile poiché ha permesso di instaurare contatti tra soggetti fortemente motivati a compiere ricerca in ambiti del settore idrogeno richiedenti competenze diversificate. Tale rete di collaborazioni, in buona parte in corso di sviluppo, rappresenta un chiaro indicatore dello stato di salute e del buon funzionamento del programma comune di ricerca che ha tratto origine dall'elargizione del contributo dell'Ente Cassa di Risparmio di Firenze. Al momento si stanno ponendo le basi per lo sviluppo di progetti di ricerca che vedano impegnati su attività comuni ricercatori di ICCOM-CNR e Dipartimento di Energetica (studio di catalizzatori di *reforming* a basso contenuto di platino), di ICCOM-CNR, Dipartimento di Energetica e Dipartimento di Chimica (studio di sistemi capaci di sequestrare e riciclare il biossido di carbonio prodotto da *reforming* di idrocarburi), di ICCOM-CNR e ISC-CNR (spettroscopia Raman ad alta pressione su idruri metallici e caratterizzazione di elettrocatalizzatori per *fuel cells* esenti da platino), di ICCOM-CNR, Dipartimento di Chimica e Dipartimento di Biotecnologie Agrarie (analisi e purificazione dell'idrogeno prodotto per via fotobiologica).

ATTIVITÀ DIVULGATIVE DEL PROGETTO FIRENZE HYDROLAB

Oltre all'attività scientifica e di trasferimento tecnologico, che rappresentano i punti nodali dell'attività di ricerca del laboratorio, Firenze Hydrolab ha cercato di accreditare la propria immagine in ambito locale come, al momento, l'unica entità integrata dell'area fiorentina operante nell'ambito delle ricerche relativamente ai diversi aspetti legati all'idrogeno come possibile vettore energetico per il futuro. I soggetti partecipanti al Progetto Firenze Hydrolab

hanno dedicato quindi notevole attenzione all'attività di divulgazione delle ricerche che si svolgono nell'ambito del Progetto stesso, rivolgendosi sia al pubblico di specialisti dei vari settori di studio sia all'opinione pubblica non specialista. I vari componenti del Progetto Firenze Hydrolab, infatti, hanno partecipato, riferendo i risultati ottenuti nelle loro ricerche, nell'ambito di congressi internazionali e nazionali aventi per oggetto i vari aspetti della chimica, fisica, biotecnologia e relative applicazioni dell'idrogeno. Il Progetto Firenze Hydrolab è stato inoltre presentato nell'ambito della giornata di studio "Dal settore primario l'energia del futuro? Produzione di idrogeno da biomasse agricole" tenutasi presso l'Accademia dei Georgofili il 24 febbraio 2005 e in occasione della manifestazione "Urban European Mobility" organizzata dall'Assessorato all'Ambiente del Comune di Firenze nel Salone dei Dugento in Palazzo Vecchio (7 aprile 2005). Di grande rilevanza è stata anche la partecipazione del laboratorio, programmata anche grazie al contributo deliberato dall'Ente Cassa di Risparmio di Firenze, ai lavori scientifici del XII ISHHC (*International Symposium on Relations between Homogeneous and Heterogeneous Catalysis*) che si è svolto a Firenze nel luglio 2005. Nell'ambito di questo congresso, Firenze Hydrolab ha organizzato una sessione tematica sui problemi dell'idrogeno e delle nuove fonti energetiche. L'interfaccia di altissima qualificazione scientifica offerta dall'inserimento del workshop sull'idrogeno nell'ambito del XII ISHHC ha dato un'ulteriore legittimazione internazionale di elevato valore scientifico all'iniziativa.

Per quanto riguarda l'attività rivolta a un pubblico non specializzato, merita di essere menzionata l'organizzazione, all'interno della XIV e della XV Settimana della cultura scientifica in Toscana, di due giornate dedicate alla presentazione dell'attività del laboratorio, la partecipazione a dibattiti divulgativi e le interviste concesse da responsabili di linee di ricerca del laboratorio a emittenti televisive e radiofoniche locali e a giornalisti e pubblicate su quotidiani a diffusione nazionale.

L'attività divulgativa è considerata molto importante per farsi conoscere e per sensibilizzare l'opinione pubblica, il mondo imprenditoriale e la guida politica, a ogni livello, sulla necessità di investire in ricerca e, in particolare, di investire in settori strategici quali quello coperto dalle competenze afferenti a Firenze Hydrolab. È intenzione dei partecipanti al laboratorio investire tempo e risorse in questa operazione di immagine, partecipando a manifestazioni in ambito soprattutto locale perché è sul territorio fiorentino e toscano che Firenze Hydrolab potrà e dovrà trovare il proprio sviluppo. Importanti passi in questa direzione sono stati i contatti più che positivi avuti con gli amministratori e i tecnici di Quadrifoglio che ospiterà nel proprio impianto di Case

Passerini la costituenda stazione di *reforming* per la produzione di *syngas* arricchito in idrogeno e il grande successo che ha avuto, durante la manifestazione *Firenze World Vision* alla Fortezza da Basso, la presentazione dei prototipi di celle a combustibile che ICCOM-CNR sta sviluppando in collaborazione con un partner industriale (ACTA SpA).

ATTIVITÀ DI ALTA FORMAZIONE NELL'AMBITO DEL PROGETTO FIRENZE HYDROLAB

I soggetti partecipanti al Progetto Firenze Hydrolab ritengono di grande importanza l'attività di alta formazione in un settore strategico e potenzialmente in grado di creare nuova occupazione in un'area a impetuoso sviluppo e ad alta tecnologia. Per propria missione e tradizione l'Università, ma anche il CNR e il LENS, sono attivi nel formare personale ad alta qualificazione e quindi i partner del Progetto Firenze Hydrolab ritengono di fondamentale importanza la realizzazione di un piano di reclutamento di giovani chimici, biologi, biotecnologi, fisici e ingegneri che vengano, a livello dottorale e postdottorale, formati e specializzati in questa disciplina. Il finanziamento, nel corso del 2005, di un primo gruppo di assegni di ricerca da parte dell'Ente Cassa di Risparmio di Firenze ha consentito di reclutare un primo gruppo di giovani ricercatori da avviare alla ricerca nell'ambito del Progetto Firenze Hydrolab, consentendone lo sviluppo e il definitivo decollo.

RINGRAZIAMENTI

Il Progetto Firenze Hydrolab è un progetto *motu proprio* sostenuto con fondi dell'Ente Cassa di Risparmio di Firenze.

RIASSUNTO

Il progetto coordinato Firenze Hydrolab stabilisce una collaborazione strutturale permanente tra sei gruppi di ricerca, tutti con sede in Firenze, appartenenti a tre Dipartimenti dell'Ateneo Fiorentino (il Dipartimento di Biotecnologie Agrarie, il Dipartimento di Chimica e il Dipartimento di Energetica "Sergio Stecco"), due Istituti del Consiglio Nazionale delle Ricerche (l'Istituto di Chimica dei Composti Organometallici – ICCOM e l'Istituto dei Sistemi Complessi – ISC) e un laboratorio di eccellenza della Comunità Europea (il Laboratorio Europeo di Spettroscopia non lineare – LENS), per condurre ri-

cerche integrate sull'intera filiera dell'idrogeno, a partire dalla produzione del gas fino alla sua utilizzazione per produrre energia. Il Progetto, nato a fine 2003, è stato presentato all'Ente Cassa di Risparmio di Firenze, che lo ha ritenuto di grande interesse scientifico e lo ha inserito tra i suoi progetti pluriennali denominati *motu proprio*, finanziandolo sia nel 2004 che nel 2005. A tale contributo si aggiunge un significativo cofinanziamento apportato dai vari soggetti promotori del laboratorio con fondi derivanti sia da finanziamenti *ad hoc*, provenienti da enti pubblici e soggetti privati, che dalle dotazioni istituzionali dei vari istituti e laboratori. Nell'ambito di tale progetto, i gruppi di ricerca partecipanti sviluppano ricerche sui seguenti argomenti: (1) produzione efficiente ed economicamente competitiva di idrogeno a elevata purezza attraverso varie vie: (a) *reforming* di idrocarburi, (b) reazioni ad alta pressione, indotte da radiazioni laser su idrocarburi e acqua, (c) via fotobiologica; (2) sequestro chimico di CO₂ coprodotta con l'idrogeno; (3) immagazzinamento di idrogeno in idruri metallici e in materiali nanostrutturati di nuova concezione; (4) sperimentazione di celle a combustibile esenti da platino per l'utilizzazione di idrogeno come vettore energetico.

ABSTRACT

The Project *Firenze Hydrolab* established a structural cooperation among six research groups, based in Florence and belonging to three Departments of the University of Florence (Department of Agricultural Biotechnology, Department of Chemistry and Department of Energetics "Sergio Stecco"), two Institutes of the Italian National Research Council (Institute of Chemistry of Organometallic Compounds, ICCOM, and Institute of Complex Systems, ISC) and to the European Laboratory for Non-linear Spectroscopy (LENS), for researches on the production, the storage and the utilization of hydrogen as energy carrier. The Project received a considerable financial support by the *Ente Cassa di Risparmio di Firenze*, that included this Project into those defined *motu proprio* and financed on a pluriennial basis. The Project is also significantly co-financed by the participating scientific Institutions with funds coming from other public and private scientific programs and from their own institutional funds. In the framework of the Project *Firenze Hydrolab*, the participating research groups carry out researches on the following topics: (1) production of hydrogen by means of (i) reforming of hydrocarbons, (ii) high pressure reactions induced by laser radiations on water and low molecular weight hydrocarbons, (iii) photobiological processes; (2) chemical sequestration of the CO₂ produced with hydrogen; (3) hydrogen storage on metal hydrides and on new nanostructured materials; (4) platinum-free fuel cells for the utilization of hydrogen as energy carrier.

Finito di stampare
nel mese di ottobre 2006
dalla Tipografia ABC
Sesto Fiorentino - Firenze