

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

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

PREMESSA

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

* Dipartimento di Bioscienze e Territorio, Università del Molise

** Studio Italia srl

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

1.1 *Digestione Anaerobica*

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

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

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

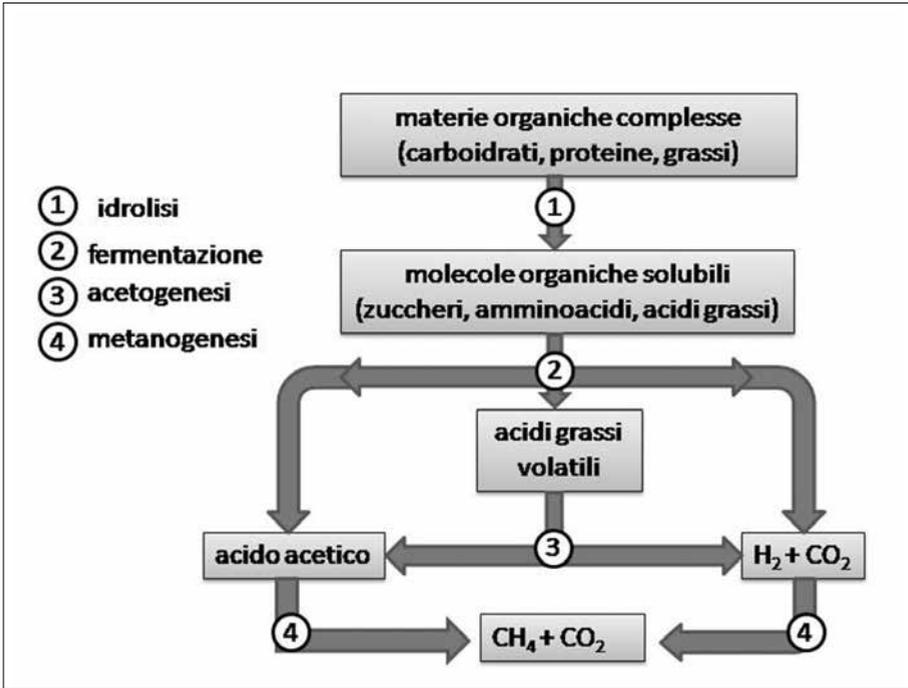


Fig. 1 Schema della digestione anaerobica

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

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

L'ecosistema anaerobico è particolarmente complesso, in quanto soltanto alcuni gruppi batterici specializzati sono in grado di effettuare determinati passaggi essenziali della biodegradazione. Il modello attualmente accettato della decomposizione anaerobica prevede diversi passaggi in cui la sostanza organica costituita da composti complessi, dapprima viene fermentata a CO₂, H₂ e acidi grassi volatili (VFA). I VFA generatesi in questo passaggio vengono convertiti a opera di un'ulteriore popolazione di microrganismi, i cosiddetti OHPA (acetogeni produttori obbligati di idrogeno), in acido acetico, CO₂ e H₂, i quali rappresentano i substrati diretti per la metanogenesi. Secondo questo modello l'acido acetico è il principale precursore di metano, che viene prodotto dalla decarbossilazione appunto dell'acido acetico per circa il 70%

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

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

Sono presenti anche altre due categorie di microrganismi:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

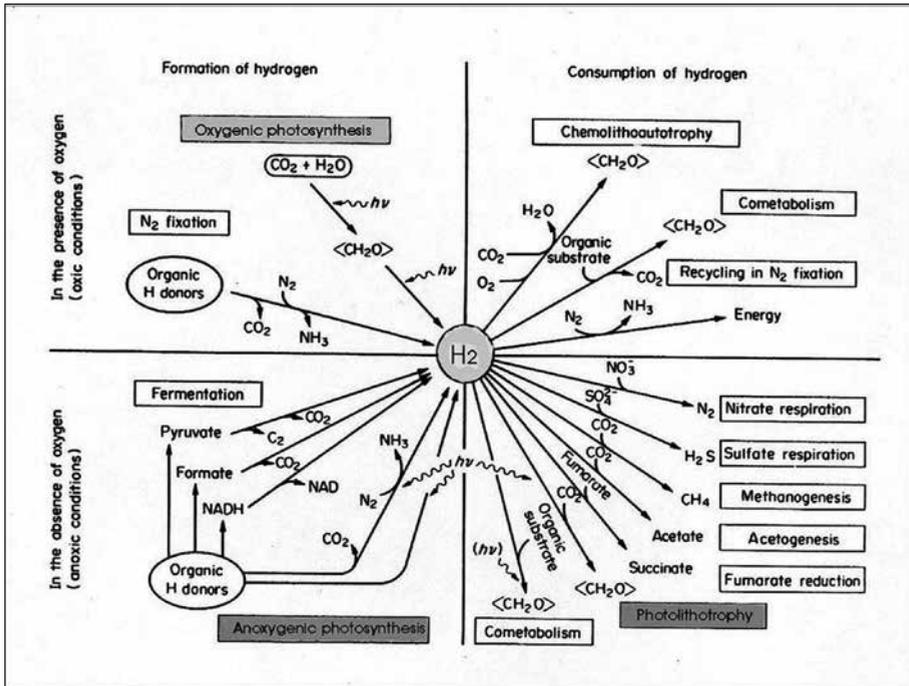
	METANOGENESI	IDROGENOGENESI
Condizioni necessarie	Anaerobiosi	Anaerobiosi
Substrato carbonioso	Limitati : Acido acetico, CO ₂ , altri composti ad un solo atomo di carbonio	Vari: cellulosa, saccaridi, composti aromatici, proteine ed amminoacidi.
Metabolismo energetico principale	Riduzione di composti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

Tab. 1 Principali caratteristiche della metanogenesi e dell'idrogenogenesi

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

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

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



Schema 1 Centralità dell'idrogeno nelle reazioni vitali del pianeta

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

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

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

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

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

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

2.1 *Identificazione delle matrici grezze ai fini energetici*

I substrati tipici della digestione anaerobica sono:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2.1.1 Pretrattamenti delle biomasse grezze

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

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

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

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

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

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

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

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

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

3.1 *Materie prime grezze e loro miscele*

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

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

3.1.1 Tipo di Inoculo

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

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

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

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

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

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

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

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

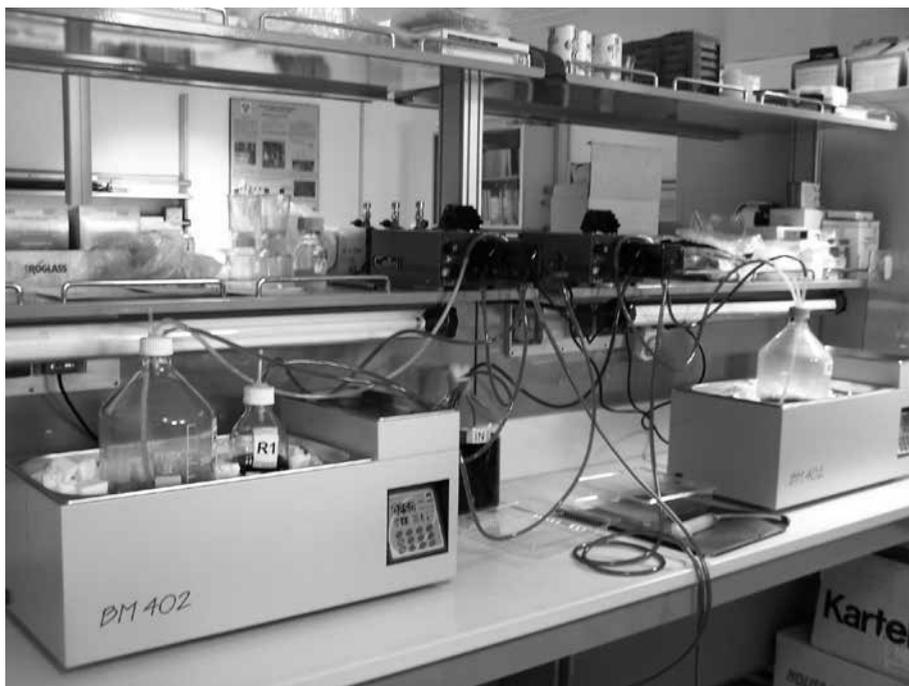


Foto 1 *Impianto pilota di laboratorio di digestione anaerobica a 2-stadi (R1 e R2) e monostadio (R2+) con sistema di termoregolazione a bagnomaria*

totipo di impianto pilota a due fasi (reattori R1 e R2, a biomassa microbica dispersa), in scala di laboratorio, alimentato con reflui e residui dell'agro-industria, in modalità semi-continua per la produzione al buio di BioH₂ e BioCH₄.

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

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

B - Come sistema controllo, è stato realizzato un impianto pilota da laboratorio di digestione anaerobica mono-stadio, di pari capacità volumetrica. In tale condizione, le fasi di Bio-H₂ e di Bio-CH₄ sono intrinsecamente associate e la comunità microbica risulta pertanto operare in forma ristretta, sia di competizione che di sinergismo.

Pertanto, l'innovazione di processo messa a punto ha previsto la separazione in 2 Fasi, con modifica di dimensionamento (riduzione dei rapporti volumetrici) tra i due bio-reattori R1:R2 con valori di circa 1:5 per la fase Bio-H₂ e BioCH₄, rispettivamente.

L'impianto pilota a due fasi, in scala di laboratorio, alimentato in semi-continuo per la produzione di Bio-H₂ e Bio-CH₄ è costituito da due bio-reattore R1 e R2, in vetro pyrex, dotati di tappo a vite e chiusura di gas, della capacità di 1,0 e 5,0 litri rispettivamente. I bio-reattori, distinti tra loro ma connessi idraulicamente mediante tubi in gomma trasparente, sono collegati opportunamente nelle sedi di una pompa peristaltica elettrica a tre vie (Cellai, Milano, mod 402S) per piccole portate. Nella sommità dei bioreattori (nei tappi, in PVC) sono state predisposte più condotte a tenuta sia di gas che di liquidi da utilizzare per l'introduzione/uscita dei substrati IN/OUT da fermentare e/o già fermentati, così come per la raccolta delle miscele di biogas sviluppate dai reattore (BioCH₄ e BioH₂). Il sistema di alimentazione dei bio-reattori può essere di tipo discontinuo o semicontinuo garantito dagli intervalli predisposti su specifico timer che agisce sul funzionamento (velocità e durata) del circuito chiuso e dalla pompa per piccole portate.

L'impianto pilota di controllo, monofase (reattore R2*, a biomassa microbica dispersa), in scala di laboratorio, alimentato in semi-continuo per la produzione di BioH₂ e BioCH₄ è una forma semplificata del prototipo sperimentale precedente ed è costituito da un singolo bio-reattore come R2*, in vetro pyrex, dotato di tappo a vite e chiusura a tenuta di gas, della capacità totale di 5.0 litri.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

Sistema BI-STADIO

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

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

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

Sistema MONO-STADIO CONVENZIONALE

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

6. CONCLUSIONI

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

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

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

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

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

RINGRAZIAMENTI

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

RIASSUNTO

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

dotto da fonti rinnovabili. Alla luce di queste considerazioni, lo sfruttamento di risorse energetiche rinnovabili, quali sono quelle derivabili dal sistema agroindustriale, può assumere una notevole importanza, sia dal punto di vista economico che dal punto di vista ambientale. La produzione di idrogeno e metano a partire da substrati vegetali da parte di microrganismi rappresenta una attraente e ambiziosa possibilità. Lo sviluppo di un'economia fondata sull'idrogeno richiede quindi l'implementazione di metodi di produzione economicamente e tecnicamente competitivi. L'interesse di questo rilancio su basi nuove di queste tipologie avanzate impiantistiche ha trovato un interessante riscontro nell'ambito del progetto IMERA (Idrogeno e Metano da residui dell'agroindustria) finanziato dal MIPAAF. Nel corso del progetto è stato realizzato un impianto avanzato per la produzione di bio-idrogeno e bio-metano alimentato in continuo da residui dell'agroindustria, in scala pilota, basato su un processo microbico fermentativo a due fasi separate. Sono stati selezionati substrati fermentescibili idonei tra quelli più diffusamente presenti nel territorio nazionale e caratterizzati da un modesto valore commerciale (residui verdi della Grande Distribuzione Organizzata). La separazione e la co-produzione di biogas in due fasi distinte con riduzione dei rapporti volumetrici di 1:5 per la fase di Bio-H₂ e Bio-CH₄ rispettivamente, si è tradotta in minor costi di investimento e rese energetiche più elevate. I risultati ottenuti mostrano le grandi potenzialità del processo bifasico per la valorizzazione dei residui vegetali. La strategia più opportuna potrà essere la realizzazione di impianti il più vicino possibile a territori a vocazione agro-industriale garantendone in modo più efficiente la produzione di Bio-Idrogeno e Bio-metano.

ABSTRACT

Hydrogen and methane co-production from food waste was examined using a two-stage process of anaerobic digestion. The two-stage process with recycle consisted of two reactor parts named as the first-stage hydrogenic reactor (R1) and the second-stage methanogenic reactor (R2). A two phase process suggested in this study effectively separate H₂-producing bacteria from methanogenic archaea by optimization of design parameters such as pH, hydraulic retention time (HRT) pre-treatments of solid food waste and type of microbial inocula. The results showed the technical feasibility of the production process with advantages in terms of stability (pH control) of the volumes generated and the quality of the biogas produced compared to conventional patterns of anaerobic digestion.

BIBLIOGRAFIA

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

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

