

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

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

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

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

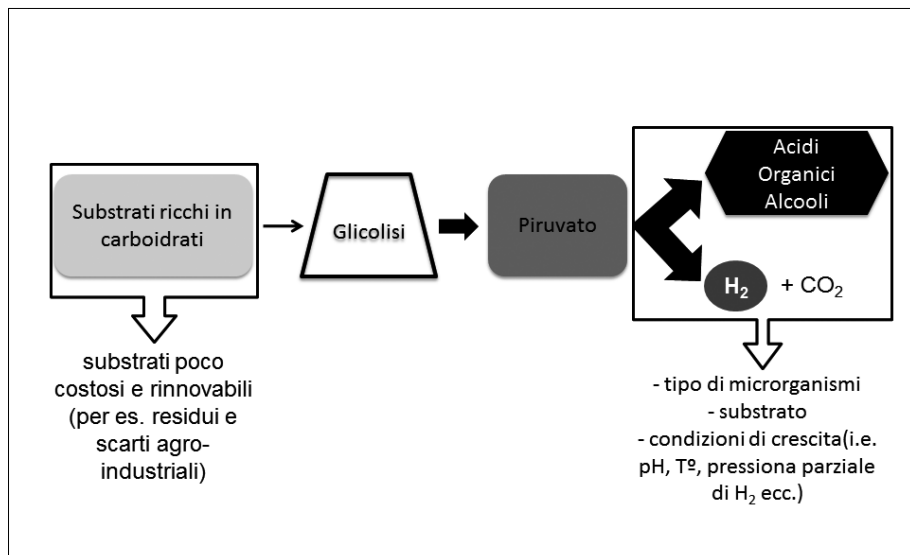


Fig. 1 Schema della produzione di bio- H_2 mediante dark fermentation

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

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

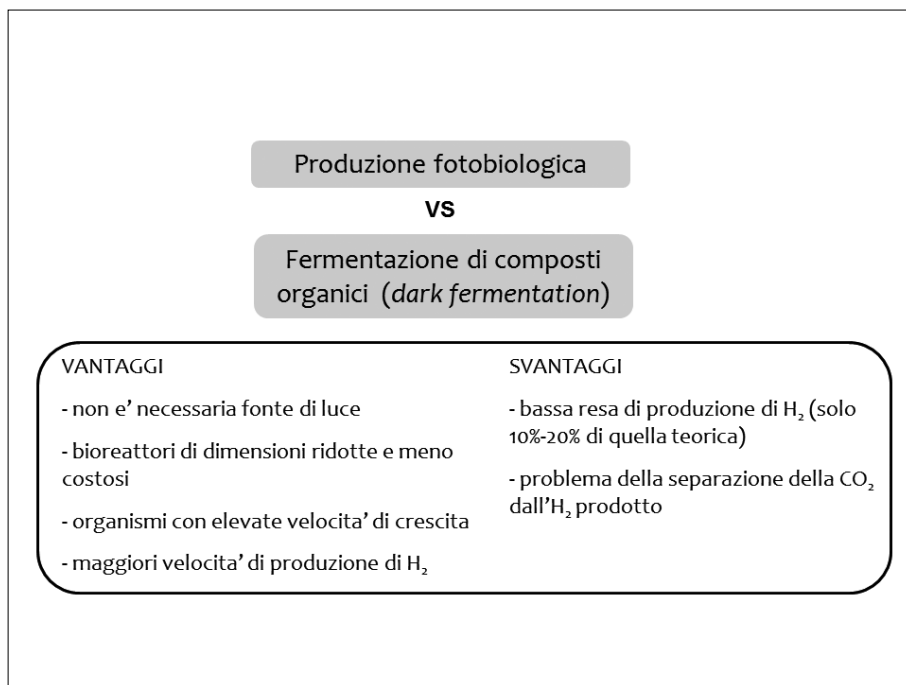


Fig. 2 Confronto tra il processo di produzione di idrogeno fotobiologica e la "dark fermentation"

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

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

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

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

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

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

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

RISULTATI OTTENUTI NELL'AMBITO DEL PROGETTO BIOHYDRO

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

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

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

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

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

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

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

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

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

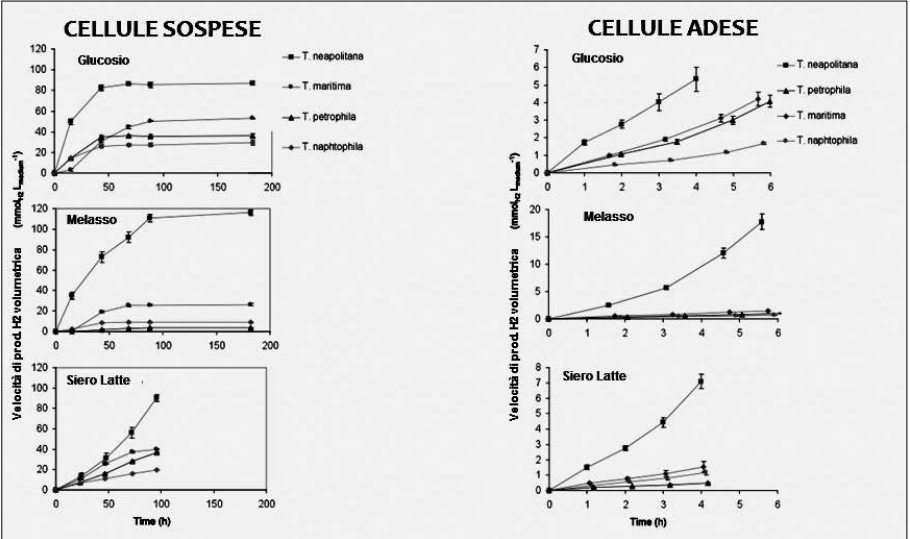


Fig. 3 Produzione di idrogeno con i diversi ceppi di *Thermotoga* impiegati nel progetto utilizzando glucosio, melasso e siero di latte come substrato di crescita

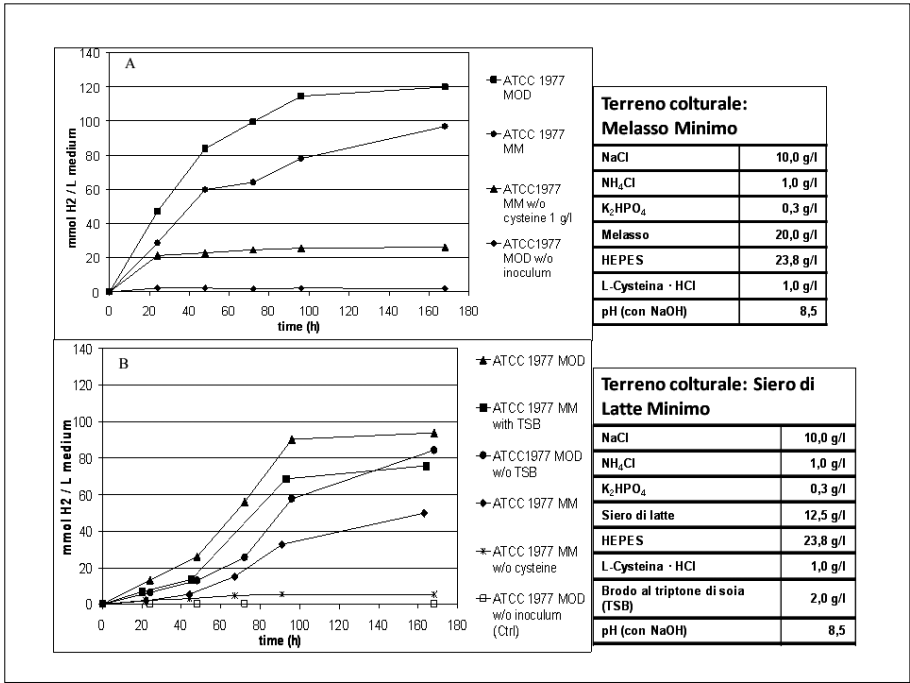


Fig. 4 Produzione di idrogeno con *T. neapolitana* impiegando il terreno semplificato con melasso (A) e siero di latte (B)

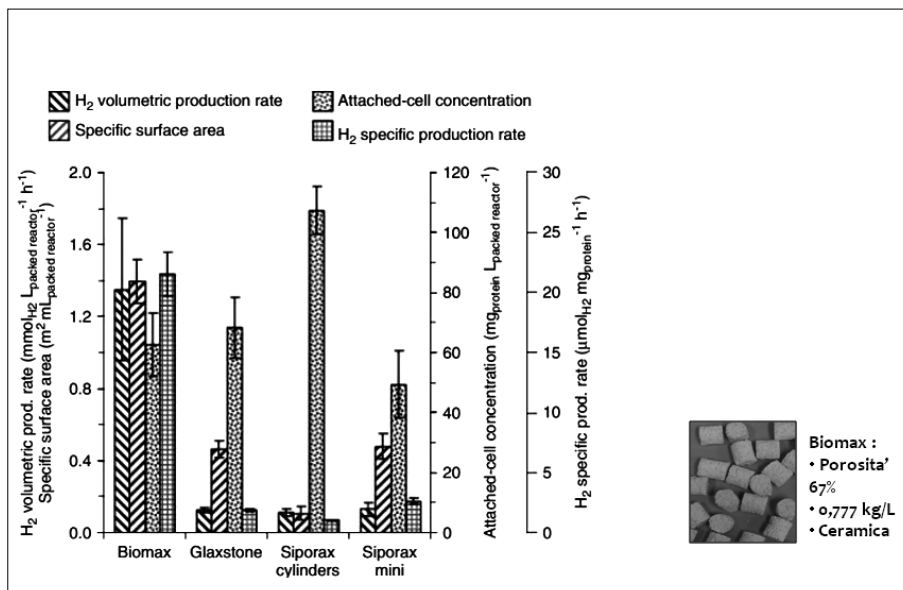


Fig. 5 Produzione di idrogeno per la selezione del miglior supporto per l'adesione di biomassa (biofilm) di *Thermotoga*

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

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

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

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

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

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

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

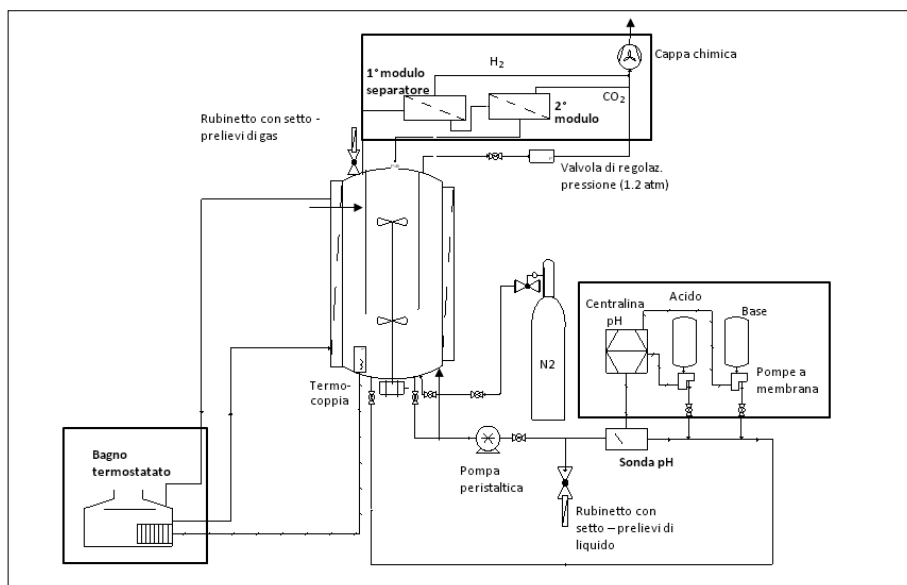


Fig. 6 Schema dell'impianto per la bioproduzione di idrogeno con reattore tipo SPCSTR

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

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

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

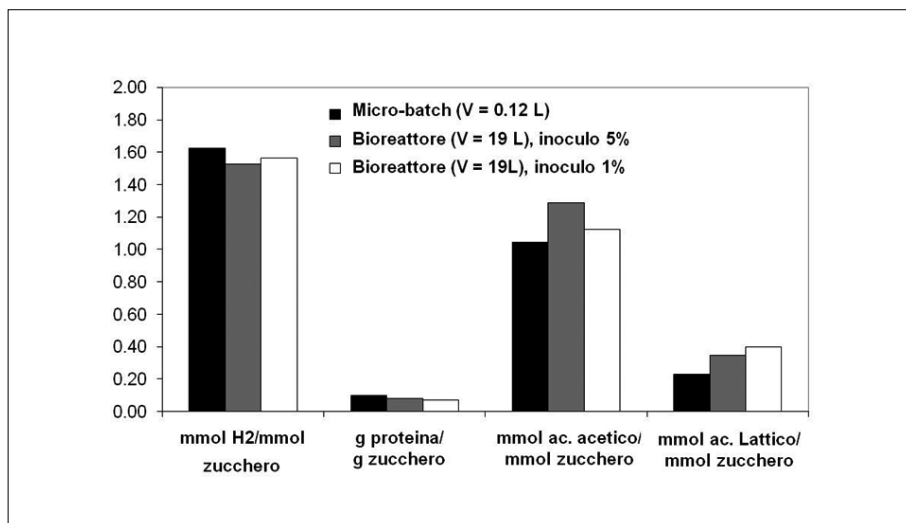


Fig. 7 Prove batch con biomassa sospesa: confronto delle rese ottenute nei micro-batch (0.12 L) e nel bioreattore SPCSTR (19 L)

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

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

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

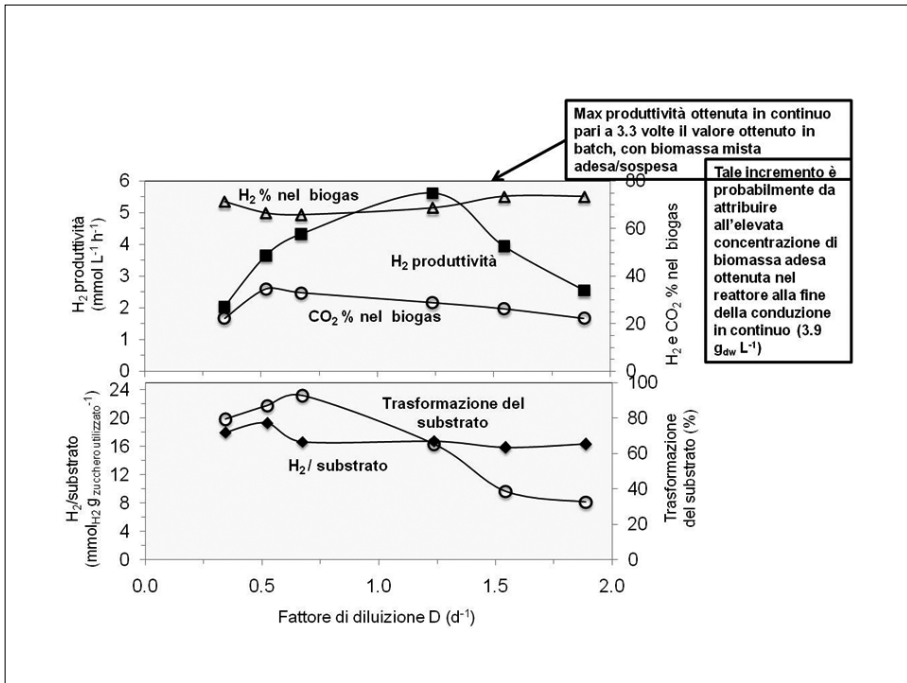


Fig. 8 Produzione di idrogeno con *T. neapolitana* in continuo con biomassa mista adesa/sospesa utilizzando siero di latte

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

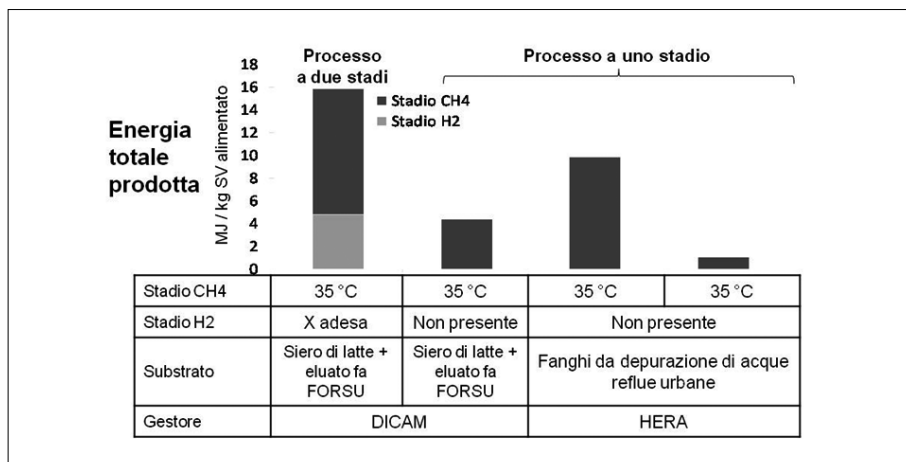


Fig. 9 Studio del processo combinato idrogeno + metano test in continuo con effluente della bioproduzione di idrogeno da siero di latte

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

RINGRAZIAMENTI

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

RIASSUNTO

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

BIBLIOGRAFIA

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

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

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