



# Produzione di H<sub>2</sub> da fermentazione anaerobica di biomasse

(prima parte)

■ A. MACRÌ, P. ZITELLA, ENVIRONMENT PARK S.P.A.  
 ■ T. TOMMASI, B. RUGGERI, DIPARTIMENTO SCIENZA DEI MATERIALI & INGEGNERIA CHIMICA  
 POLITECNICO DI TORINO  
 @ bernardo.ruggeri@polito.it

La produzione di idrogeno da fonti rinnovabili presenta notevoli interessi in ambito economico ed ambientale. Nel campo industriale, la possibilità di produrre energia termica ed elettrica da biomassa risulta molto interessante, specie nel caso in cui si sfruttino scarti di industrie, quali ad esempio quelli dell'industria agroalimentare.

Il processo di fermentazione anaerobica di biomassa in assenza di luce ad opera di popolazioni batteriche miste promette di costituire una valida opportunità in questo senso. Tuttavia è necessario limitare i consumi energetici ed ottimizzare alcuni dei parametri operativi affinché tale tecnologia possa diventare competitiva.

Il prototipo sperimentale di Environment Park S.p.A. per la produzione di idrogeno mediante fermentazione anaerobica di biomasse è stato progettato con l'obiettivo di ottenere bio-H<sub>2</sub> con un processo autosufficiente dal punto di vista energetico. Ciò risulterebbe molto interessante anche in vista di future applicazioni in campo industriale, laddove fossero disponibili scarti fermentescibili.

Il presente elaborato presenta dapprima le tipologie e la disponibilità delle biomasse oltre ai criteri di scelta adottati; in seguito viene descritto il processo di fermentazione anaerobica con particolare riguardo ai parametri chiave; infine viene delineata l'attività di progettazione di un impianto pilota a due stadi per la produzione e la purificazione di bio-H<sub>2</sub> e biogas.

## Le biomasse

### Definizione, tipologie e disponibilità sul territorio

Il termine biomassa riunisce una gran quantità di materiali di natura organica, prevalentemente vegetali, con esclusione delle materie plastiche e fossili. Sono biomasse tutti i prodotti derivanti dalle coltivazioni agricole e dalla forestazione, i residui delle lavorazioni agricole ed agroalimentari, le alghe, così come i prodotti organici derivanti dall'attività biologica degli animali e dell'uomo, come ad esempio i rifiuti urbani. La biomassa costituisce una sorta di accumulo rinnovabile di energia, che è possibile recuperare e trasformare in energia termica, elettrica o in biocombustibili.

La biomassa è per sua natura una risorsa distribuita sul territorio. Il problema della penetrazione delle biomasse all'interno del mercato dell'energia dipende, da una parte, da un'adeguata valorizzazione della componente energetica e, dall'altra, da una necessaria pianificazione territoriale che tenga conto degli aspetti macroeconomici, quali le risorse potenziali, i costi economici delle colture ed il mercato economico dei combustibili alternativi alla biomass

sa, e "macroecologici", quali il degrado ambientale e le caratteristiche geologiche e pedoclimatiche della zona in esame.

Un aspetto rilevante consiste nella frammentazione fondiaria che limita le capacità delle singole aziende agricole di programmare interventi per nuove coltivazioni e di dotarsi di macchine necessarie alle lavorazioni ed alla raccolta dei residui. In questo contesto è di fondamentale importanza la realizzazione di forme associative tra proprietari, ma anche di un contoterzismo che possa contenere i costi relativi ai macchinari.

Non bisogna inoltre dimenticare che, se la produzione di energia è continua durante l'arco dell'anno, non lo è altrettanto la disponibilità di biomassa. In Italia, sommando i contributi delle diverse fonti (coltivazioni energetiche, biomasse di origine forestale e residui agricoli, forestali ed agroindustriali), la produzione di materia prima di origine biologica dovrebbe aggirarsi attorno a 23 Mtep/anno [1]. L'effettiva disponibilità e possibilità di raccolta ed approvvigionamento è naturalmente inferiore: alcune biomasse trovano già altri utilizzi e per molte altre la raccolta, il confezionamento ed il trasporto risultano difficili ed onerosi. La percentuale di effettiva disponibilità varia dal 30% al 70% a seconda del tipo di biomassa e dalla sua localizzazione. Come ordine di grandezza, si può affermare che almeno il 50% del totale stimato può essere utilizzato per usi energetici. Un recente studio [2] considera un coefficiente di accoppiamento tra biomassa utilizzata ed idrogeno prodotto pari a  $65,8 \text{ kg}_{\text{idrogeno}} / \text{t}_{\text{biomassa}}$ .

Fonte di biomassa	Disponibilità di Biomassa [10 <sup>3</sup> t/y]	Idrogeno potenziale [t/y]
Origine forestale	1.800	118.440
Residui agroindustriali	7.230	475.734
Coltivazioni energetiche	10.000	658.000
Totale	19.030	1.252.174

**Tabella 1** – Produzione potenziale di H<sub>2</sub> da biomassa.

In **Tabella 1** si propone una stima della produzione potenziale di idrogeno in Italia.

### Criteri di scelta delle biomasse

Al fine della definizione dei criteri, il processo fermentativo è stato considerato dal punto di vista della sua percorribilità tecnica complessiva, ossia il bioreattore e le operazioni a cui sottoporre le biomasse a monte, al fine di assicurarne da un lato la migliore fer-

mentabilità e dall'altro ipotizzare una linea di trattamenti il meno sensibile possibile alle variazioni dell'alimentazione. In questa prima fase non sono stati trascurati gli aspetti logistici ed economici legati all'approvvigionamento delle materie prime, che evidentemente troveranno una definitiva definizione solo dopo avere ben strutturato il processo complessivo.

La necessità di conciliare le esigenze tecnologiche con quelle logistico/economiche per l'approvvigionamento della materia prima ha fatto emergere criteri di scelta molto differenti, non tutti soddisfacenti contemporaneamente da una o più tipologie di biomassa. Di conseguenza, si è resa necessaria l'elaborazione di un criterio di confronto relativo tra le varie esigenze, allo scopo di ricavare uno strumento utile a trovare il miglior compromesso tra le varie necessità. Trattandosi di un processo fortemente innovativo, sul quale non è ancora disponibile una casistica estesa in letteratura, non è possibile sviluppare un confronto tra le tipologie di biomassa fermentabili su base quantitativa, essendo poco noti e non del tutto validati i valori di produttività per ciascun tipo di biomassa.

Di conseguenza si è scelto di sviluppare il modello di scelta della biomassa secondo una logica semi-quantitativa, assegnando un valore alle esigenze espresse in modo da dividerle su 3 livelli gerarchici. La scelta di questo tipo di approccio è stata soprattutto motivata dalla volontà di costruire uno strumento flessibile ed aggiornabile in itinere lungo tutta la durata della ricerca in base al know-how che man mano verrà accumulato; in **Tabella 2**, alcune proprietà e caratteristiche delle biomasse sono quindi state suddivise in: "Priorità" (Livello 1), "Pregi" (Livello 2) e "Vantaggi accessori" (Livello 3).

## La fermentazione anaerobica

Il processo di fermentazione anaerobica consiste in una sequenza di reazioni biochimiche ad opera di diversi microrganismi che trasformano, in assenza di ossigeno, un substrato organico in molecole gassose semplici, quali l'idrogeno, il metano e l'anidride carbonica ed energia utilizzata dai microrganismi (batteri) per mantenere le proprie attività metaboliche, riprodursi e sintetizzare tali molecole gassose.

Primo obiettivo dell'attività svolta è stato quello di approfondire la sequenza cinetica di trasformazione della biomassa in bio-H<sub>2</sub>, con particolare riferimento alle analogie ed alle differenze tra questo processo ed il processo fermentativo tradizionale per la produzione

di bio-CH<sub>4</sub>. Scopo di questo tipo di analisi è stato quello di identificare il ruolo dell'idrolisi in relazione alle altre fasi reattive, nell'ottica di velocizzare la cinetica del processo complessivo.

Il secondo obiettivo che ci si è posti consiste nell'identificare i parametri chiave del processo fermentativo. Terzo obiettivo è stato quello di identificare i possibili pretrattamenti della biomassa, necessari per velocizzare la cinetica del processo complessivo e garantire la produzione di un gas contenente una frazione più elevata di idrogeno, al fine di semplificare le operazioni di depurazione dell'H<sub>2</sub> e quindi ottimizzare i costi.

### La sequenza cinetica

All'aumentare del tempo di ritenzione delle sostanze organiche solide all'interno del bioreattore, si osserva una maggior produzione di metano, mentre la formazione di idrogeno viene ridotta. Questa osservazione sperimentale suggerisce la possibilità che il metano venga prodotto consumando idrogeno, e che quindi le reazioni di formazione di H<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub> siano in serie.

L'analisi bibliografica della letteratura in merito al processo di digestione ad opera di batteri conferma che la fermentazione orientata alla produzione di H<sub>2</sub> è riconducibile ad un'attuazione incompleta del processo fermentativo classico (**Figura 1**), bloccato prima della fase metanigena.

Il biogas che viene prodotto dal processo fermentativo anaerobico è infatti il risultato di una sequenza di trasformazioni: in una prima fase, l'idrolisi, avviene la rottura delle macromolecole nei monomeri costituenti. Questi vengono trasformati in acidi a basso peso molecolare (acidogenesi), che poi vengono convertiti in acido acetico (acetogenesi) ed in un piccolo quantitativo di H<sub>2</sub>. Questi prodotti vengono utilizzati nell'ultimo step (metanogenesi) per la produzione di CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>. La fase metanigena è quindi a tutti gli effetti una fase che consuma il quantitativo di idrogeno che è stato prodotto durante le fasi precedenti, e che diversifica la produzione di bio-H<sub>2</sub> da quella di bio-CH<sub>4</sub> [3].

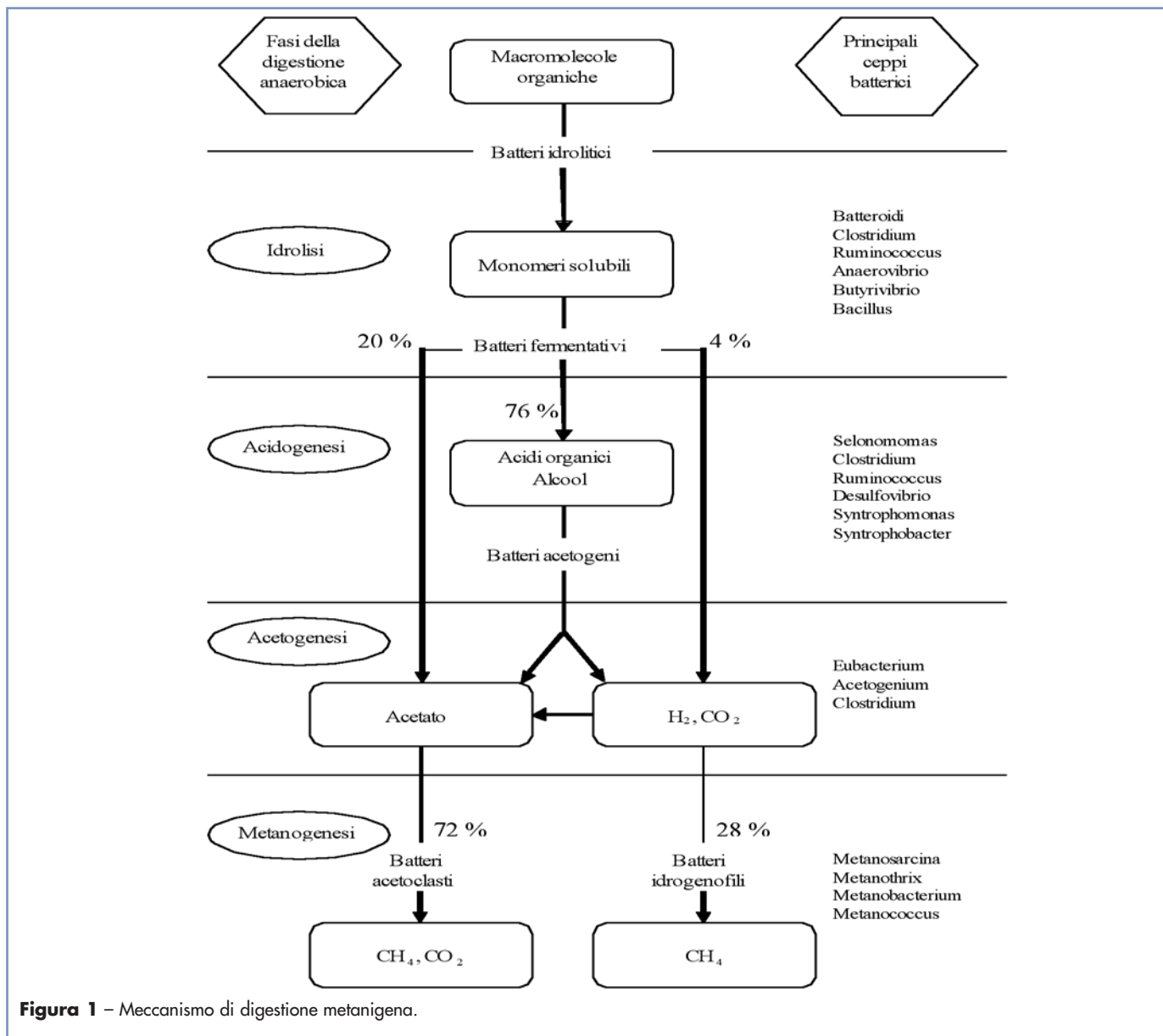
### Flusso di elettroni in anaerobiosi

I microrganismi eterotrofi traggono energia da un substrato, trasformandolo attraverso una serie di reazioni metaboliche che prendono il nome di catabolismo.

Esistono diversi tipi di cammini metabolici e tra classe e classe di

Criteri di scelta	L.1	L.2	L.3
<b>Tecnologici</b>			
Alta frazione di materia fermentescibile		x	
Omogeneità merceologica		x	
Assenza di inibitori delle specie microbiche fermentatrici	x		
Facilità all'idrolisi della frazione polimerica		x	
Facilità di gestione e movimentazione			x
Possibilità di condurre la fermentazione con popolazioni microbiche miste	x		
Possibilità di condurre la fermentazione in mesofilia	x		
Rendimento della fermentazione		x	
Qualità dei prodotti ottenuti dai pretrattamenti		x	
<b>Logistico/Economici</b>			
Disponibilità localizzata di quantità compatibili con generazione di potenza di media taglia	x		
Presenza (attuale o potenziale) di un certo numero di aree ad alta disponibilità	x		
Disponibilità su un periodo esteso dell'anno	x		
Assenza di utilizzi alternativi economicamente competitivi del suolo		x	
Assenza di utilizzi alternativi economicamente competitivi del prodotto		x	
Provenienza da scarti di un'altra attività produttiva		x	
Utilità dei residui finali della fermentazione	x		

**Tabella 2** – Criteri di scelta delle biomasse.



microorganismi c'è una certa variabilità riguardo a quali di questi percorsi siano percorribili. A determinare la capacità di un microrganismo a compiere un processo metabolico è il suo patrimonio genetico, nel quale sono contenute le informazioni per la sintesi degli enzimi che catalizzano ciascuna reazione metabolica. In generale il catabolismo è caratterizzato da una sequenza di reazioni di ossidazione del substrato, che mettono di volta in volta in gioco differenti quantitativi di potere riducente.

I processi metabolici possono essere visti come la successione di due step: nel primo si realizza la degradazione del substrato accumulando l'energia a disposizione in carrier elettronici, nel secondo si realizza la riossidazione dei carrier utilizzando il potere riducente che trasportavano per la sintesi di molecole energetiche (ATP principalmente). Nel primo step, indifferentemente aerobico o anaerobico, il potere riducente viene immagazzinato attraverso reazioni di riduzione:



Durante questo primo step vengono essenzialmente ridotti NADH, NADPH e FADH, mentre la produzione diretta di ATP è piuttosto modesta.

Il secondo step utilizza l'energia dei cofattori ridotti per sintetizzare ATP, che verranno impiegati come fonte di energia per tutte le reazioni non spontanee (anabolismo); contemporaneamente si realizza la riossidazione dei carrier, che così vengono riciclati ritornando alla prima fase.

È essenzialmente in questa seconda fase che si situa una delle differenze più evidenti tra metabolismo aerobico ed anaerobico. In condizioni aerobiche, infatti, la riossidazione dei carrier è realizzata attraverso una sequenza di reazioni redox, detta catena respiratoria. La catena di trasporto prevede che il potere riducente associato alla riossidazione dei carrier percorra una catena di trasportatori elettronici a potenziale via via decrescente. L'energia

associata alla differenza di potenziali redox tra i trasportatori viene sfruttata per la sintesi di ATP.

La catena di trasporto degli elettroni termina solitamente con l'O<sub>2</sub>, e di conseguenza è incompatibile con le condizioni anaerobiche. In anaerobiosi, la non attuabilità della catena di trasporto degli elettroni fa nascere il problema della riossidazione dei carrier, step necessario per consentirne il riutilizzo e quindi il proseguimento dell'attività metabolica. In natura i microrganismi ovviano a questo problema attraverso il processo di fermentazione, che prevede l'utilizzo della stessa molecola che ha fornito elettroni nel primo step come accettrice di elettroni nel secondo.

La riossidazione dei carrier può avvenire attraverso reazioni di diverso tipo, che conducono alla sintesi di metaboliti di diversa natura (acidi, alcoli, ...). Anche la quantità di NADH che viene riossidato non è costante, in quanto dipende dal prodotto sintetizzato: a metaboliti maggiormente ridotti corrisponderà una maggior quantità di NADH riossidato.

È evidente come in questo modo vengano prodotti metaboliti più complessi e di conseguenza si sfrutti in modo molto meno efficiente il contenuto energetico del substrato. A controllare il metabolismo anaerobico, quindi, è il flusso di elettroni tra substrato e prodotti che avviene attraverso i cofattori. Se si verifica un accumulo a livello dei cofattori il ciclo metabolico non è in grado di proseguire, perché vengono a mancare i carrier allo stato ossidato.

### Bilancio di NADH

L'accumulo di NADH rappresenta un accumulo di potere riducente (e dunque di energia) all'interno del sistema e può essere utilizzato per qualunque reazione di riduzione che la biofase sia in grado di catalizzare. Da questa considerazione nasce l'idea di poter utilizzare questo accumulo di energia per realizzare la riduzione dell'idrogeno attraverso la reazione:



La reazione è catalizzata dall'idrogenasi reversibile e realizza contemporaneamente la sintesi del prodotto utile e la riossidazione dell'accumulo di NADH.

Trattandosi di un equilibrio, il procedere della reazione è controllato dalla concentrazione di reagenti e prodotti: risulta sfavorito dalla pressione parziale di H<sub>2</sub> e favorito dalla disponibilità di potere riducente, sotto forma di NADH. Per ottenere una buona produzione occorre quindi allontanare tempestivamente l'idrogeno prodotto ed assicurare una buona disponibilità di NADH.

Dato che il NADH, come spiegato, viene riossidato nella reazione che determina il prodotto finale della fermentazione, l'accumulo di NADH dipende essenzialmente dal tipo di reazione che ha luogo, e quindi dal prodotto finale della fermentazione. È possibile scrivere un bilancio molare di NADH in questi termini:

$$\text{NADH}_{\text{accumulato}} = \text{NADH}_{\text{prodotto}} - \text{NADH}_{\text{consumato}} \quad (6)$$

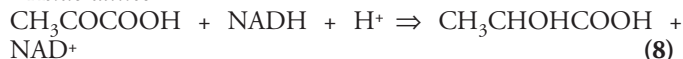
dove NADH<sub>prodotto</sub> dipende dal substrato di partenza, che per semplicità può essere considerato glucosio, mentre NADH<sub>consumato</sub> dipende dalle reazioni di sintesi del prodotto finale della fermentazione. Scrivendo le diverse equazioni di fermentazione con il NADH coinvolto si ha:

#### Glicolisi

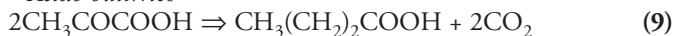


#### Reazioni di fermentazione dal piruvato:

##### • Acido lattico



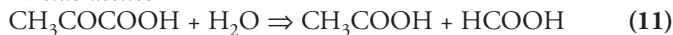
##### • Acido butirrico



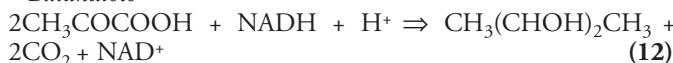
##### • Acido fumarico



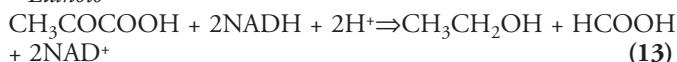
##### • Acido acetico



##### • Butandiolo



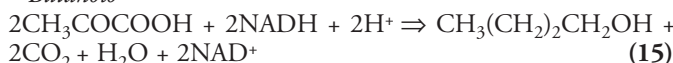
##### • Etanolo



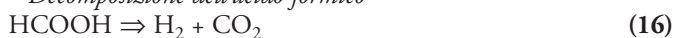
##### • Acetone



##### • Butanolo



##### • Decomposizione dell'acido formico



In base alle stechiometrie descritte da queste reazioni è possibile calcolare, per ogni metabolita prodotto, un rapporto di riduzione, ovvero la quantità molare di NADH ridotto per unità di piruvato consumato, come riportato in **Tabella 3**.

Metabolita	Rapporto di riduzione (molNAD <sup>+</sup> /molpiruvato)
Acido lattico	1
Acido butirrico	0
Acido fumarico	1
Acido acetico	0
Butandiolo	1/2
Etanolo	2
Acetone	-2
Butanolo	1

**Tabella 3** – Rapporto di riduzione in funzione del metabolita prodotto durante la fermentazione anaerobica.

Tenendo conto che la glicolisi riduce due moli di NADH e sintetizza due moli di piruvato, è possibile calcolare la quantità di NADH che rimane al termine della fermentazione a seconda del metabolita prodotto. Questo corrisponde a poter scrivere il bilancio di NADH nella forma:

$$\text{NADH}_{\text{accumulato}} = \text{NADH}_{\text{prodotto}} - \text{NADH}_{\text{consumato}} = 2 (\text{butirrico}) + 2 (\text{acetico}) + 1 (\text{butandiolo}) - 2 (\text{etanolo}) + 4 (\text{acetone}) \quad (17)$$

dove tutti gli addendi sono espressi in termini di quantità molari o concentrazioni molari per mole di glucosio consumata.

Dal bilancio scritto si evidenzia come la fermentazione acetica e butirrica assicurino, insieme alla produzione di acetone, il maggior accumulo di NADH, corrispondente alla maggior produttività di H<sub>2</sub>. Inoltre occorre ricordare che esiste anche un altro meccanismo di sintesi dell'idrogeno, che passa attraverso la decomposizione dell'acido formico. L'acido formico, in base alle reazioni metaboliche che sono state scritte, è un sottoprodotto della fermentazione acetica e di quella alcolica. Per questo motivo la fermentazione acetica appare la più promettente per la sintesi di H<sub>2</sub>, in quanto si tratta di un metabolismo diffuso e stabile, che assicura una pro-



duttività potenziale di 4 moli di  $H_2$  per mole di glucosio. Per assicurare una buona produzione di idrogeno, quindi, occorre orientare la fermentazione verso la sintesi di acido acetico ed acido butirrico. Molti microrganismi posseggono i complessi enzimatici per effettuare più di una tipologia di fermentazione; a discriminare quale venga compiuta sono i parametri ambientali del brodo di fermentazione, e principalmente il pH.

L'acidità del medium di fermentazione, infatti, ha influenza non solo sulle condizioni di vitalità della biomassa, quali le velocità di crescita e di fermentazione, ma anche sul tipo di prodotto. Variazioni anche discretamente contenute di pH possono causare quello che viene definito uno "shift metabolico", ed il microrganismo può passare da un cammino fermentativo ad un altro.

Questo effetto è spiegabile considerando il principio di funzionamento del tipo serratura/chave che permette il funzionamento degli enzimi: a causare l'azione catalitica è proprio la "forma" spaziale della macromolecola, ed in particolare del sito attivo. La struttura spaziale degli enzimi dipende dalla sequenza lineare di amminoacidi che li costituiscono (struttura primaria) e da una serie di ripiegamenti che sono effetto delle interazioni elettrostatiche tra le parti della catena (struttura secondaria); la forma che l'enzima viene ad assumere corrisponde alla configurazione di minima energia, che dipende anche dall'ambiente circostante (struttura terziaria). La variazione del pH significa la variazione della concentrazione di ioni  $H^+$  nel brodo e, dato che si tratta di particelle cariche, in ultima analisi anche la variazione delle condizioni elettrostatiche. Di conseguenza variare il pH significa anche perturbare il bilancio energetico nel termine elettrostatico, e quindi possono verificarsi delle modificazioni anche nella conformazione dell'enzima, che così può ridurre (o addirittura perdere) la sua azione catalitica. Dato che tutte le reazioni metaboliche sono enzimatiche, esse risentono fortemente dell'attività degli enzimi e dato che i cammini si diversificano in parallelo viene a prevalere il fenomeno più rapido, ovvero quello determinato dagli enzimi con la maggior attività (e quindi velocità).

Al variare del pH le attività degli enzimi variano e di conseguenza un cammino metabolico può divenire favorito e sostituire quello iniziale. Considerando che spesso si verifica la contemporaneità tra due cammini e che i prodotti, essendo acidi, influenzano la composizione del brodo, la complessità del problema cresce considerevolmente, tanto che non è possibile affrontarlo in modo teorico e generale.

## Scelta del tipo di processo

Il processo di fermentazione anaerobica può avvenire in una vasta gamma di condizioni operative ed è quindi necessario operare delle scelte.

### Luminosità

Per evitare le problematiche legate alla ciclicità del giorno e della notte, si è deciso di operare al buio. In tal modo è possibile abbattere i costi derivanti dalla necessità di illuminare tramite energia elettrica il volume di reazione [4].

### Tipologia di popolazione batterica

Studi preliminari hanno evidenziato come i batteri del genere *Clostridium* (*Clostridium butyricum*, *C. beijerinckii*, *C. botulinum*, *C. putrificum* e *C. sporogene*) siano in grado di produrre un gas ricco in idrogeno. La produzione di idrogeno attraverso la fermentazione di substrati zuccherini ad opera di una popolazione selezionata di *Clostridium* è stata testata con buoni risultati. L'utilizzo di una popolazione selezionata, però, esclude il risvolto più

interessante di questo tipo di tecnologie, ovvero la possibilità di produrre energia a partire da rifiuti e substrati di scarto. Non è infatti pensabile che il sistema preveda la sterilizzazione di tutta la portata in ingresso per evitare la contaminazione nel digestore. Tale operazione inciderebbe sul bilancio energetico globale in modo talmente pesante da rendere sconsigliato il processo. La scelta di utilizzare popolazioni non selezionate e di operare in condizioni di non sterilità è inoltre supportata dal fatto che le produttività di idrogeno con popolazioni miste sono paragonabili a quelle ottenibili con popolazioni selezionate [5].

### Temperatura

Un altro parametro chiave per la fermentazione è la temperatura. L'attività dei batteri anaerobi è strettamente legata alla temperatura che deve essere compresa tra  $-5$  e  $70$  °C. Tuttavia, per fini pratici, la temperatura minima del processo non deve scendere al di sotto degli  $8 - 10$  °C.

I batteri, qualunque sia la loro natura, sono divisi in tre categorie:

- Psicrofili (operanti con temperature inferiori ad i  $20$  °C);
- Mesofili (temperatura compresa tra  $20$  e  $40$  °C con optimum a  $35 - 37$  °C);
- Termofili (operanti con temperature superiori ai  $40$  °C, con optimum a  $50 - 55$  °C).

In realtà gli impianti psicrofili non danno grossi risultati, se non con lunghi periodi di trattamento e ciò ne preclude l'uso nella quasi totalità dei casi. Al contrario buona efficienza in tempi ridotti di trattamento hanno evidenziato i processi mesofili ed ancor di più quelli termofili [6], che però possono presentare in alcuni casi problemi di autosufficienza energetica. Data la scarsa differenza di produttività tra impianti mesofili e termofili, specie se confrontata con i costi relativi al mantenimento del sistema ad elevate temperature, si è optato per un processo in regime mesofilo, che permette di ottenere un buon rendimento in idrogeno con minori costi energetici.

### Tempo di permanenza

Per evitare l'instaurarsi di batteri metanigeni all'interno del digestore, è possibile operare sul tempo di permanenza della sostanza organica, che deve essere mantenuto basso (circa 6h). Studi biocinetici, infatti, hanno evidenziato come la velocità specifica di crescita sia a vantaggio degli hydrogenobacteria rispetto ai metanigeni [7]:

$$\begin{aligned} \mu_{\max, H_2} &= 0,215 \text{ h}^{-1} \\ \mu_{\max, CH_4} &= 0,055 \text{ h}^{-1} \end{aligned}$$

La buona velocità di crescita dei batteri idrogenogeni (di circa 4 volte superiore a quella dei metanigeni) ha due conseguenze fondamentali sul processo: la velocità di produzione ed il tempo di permanenza. Dal punto di vista della produttività, dato che l'idrogeno ed il metano sono i metaboliti di diverse popolazioni che crescono a velocità differente, potenzialmente è possibile ottenere una produzione molto più rapida di  $H_2$  che di  $CH_4$ . La differenza così marcata tra le  $\mu$  può inoltre essere sfruttata attraverso la gestione del tempo di permanenza per inibire il processo più lento. La metanogenesi, infatti, ha un tempo caratteristico molto superiore rispetto alla produzione di  $H_2$ ; la scelta di un tempo di permanenza del substrato simile al tempo caratteristico della reazione più rapida (che è la formazione di  $H_2$ ) fa sì che i metanigeni in media non siano a contatto con il substrato per il tempo a loro necessario per trasformarlo, e di conseguenza che la loro attività venga fortemente inibita. Per comprendere tale effetto, che è poi quello di maggior interesse per il raggiungi-

mento dell'obiettivo di inibire la metanogenesi, è utile strutturare il problema in termini di tempi di rilassamento.

Un sistema di questo tipo è trattabile come un generico sistema aperto, che scambia materia con l'esterno ed al suo interno la trasforma. A governare la fenomenologia nel digestore è il confronto di due parametri temporali: un tempo fluidodinamico, che corrisponde al tempo di permanenza del substrato nel digestore, ed un tempo biochimico, che corrisponde al tempo impiegato dalla biofase a trasformare il substrato. Si consideri un generico bioreattore continuo.

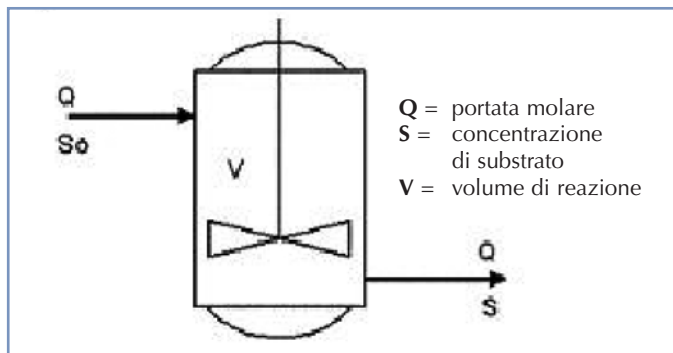


Figura 2 - Schema di un bioreattore CSTR.

Scrivendo il bilancio al bioreattore:

$$V \frac{dS}{dt} = Q \cdot (S - S_0) - V \frac{\delta S}{\delta t} \quad (18)$$

In condizioni stazionarie, annullando il termine di accumulo:

$$\frac{\delta S}{\delta t} = \frac{Q}{V} (S_0 - S) \quad (19)$$

Ipotizzando per semplicità una cinetica del primo ordine, il termine differenziale si può scrivere come:

$$\frac{\delta S}{\delta t} = k \cdot S \quad (20)$$

Sostituendo nell'equazione di bilancio ed esplicitando rispetto alla concentrazione di substrato:

$$S_{ss} = S_0 \frac{Q/V}{Q/V - k} \quad (21)$$

Al denominatore compare la differenza tra due termini, che hanno le dimensioni dell'inverso di un tempo. Il primo (Q/V) è l'inverso del tempo di permanenza  $\tau_f$ , mentre il secondo (k) è l'inverso del tempo di rilassamento del fenomeno reattivo  $\tau_p$ . Si definisce tempo di rilassamento il tempo che, dopo la perturbazione di uno stato stazionario, intercorre prima che il sistema raggiunga per il 63% il nuovo stazionario, come deriva dalla risposta dinamica di un sistema del primo ordine ad una sollecitazione:

$$S = S_0 \cdot e^{-k \cdot t} \quad (22)$$

Di conseguenza si rende evidente come il fenomeno che accade nel sistema sia governato dal confronto tra i due tempi. Possono verificarsi due casi limite:

- $\tau_f \gg \tau_p \Rightarrow$  Il substrato passa nel bioreattore un tempo molto superiore a quello che serve per completare la reazione. Di conseguenza il funzionamento del bioreattore è affine a quello di un sistema discontinuo.
- $\tau_f \ll \tau_p \Rightarrow$  Il substrato rimane nel bioreattore per un perio-

do di tempo molto minore a quello che serve alla biofase per trasformarlo, di conseguenza il substrato viene consumato in piccola parte. Il sistema ha quindi un comportamento affine a quello che avrebbe un reattore privo della massa catalitica, dato che questa non riesce ad esplicare la sua funzione.

Il ragionamento è stato condotto sotto l'approssimazione che la cinetica di reazione fosse del primo ordine, ma la validità delle conclusioni è di tipo generale. Per una qualsiasi cinetica, infatti, è possibile definire un tempo di rilassamento; semplicemente sarà diverso il modo con il quale questo tempo è calcolabile.

Un ragionamento di questo tipo può essere utilizzato per realizzare l'inibizione della fase metanigena nei bioreattori a popolazione non selezionata. Dato che le velocità specifiche dei batteri idrogenogeni sono più alte di quelle dei metanigeni il tempo di rilassamento di questi primi sarà minore rispetto a quello dei secondi. Di conseguenza il sistema sarà caratterizzato da un tempo fluidodinamico  $\tau_f$  e da due possibili tempi di reazione  $\tau_p$ .

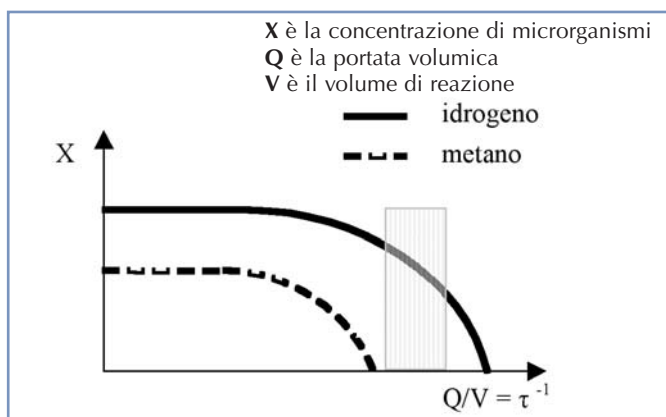


Figura 3 - Condizioni di wash out delle popolazioni metanigene.

Alla luce di quanto detto, quindi, risulta come sia possibile lavorare privilegiando la sintesi più veloce, scegliendo un tempo di permanenza dell'ordine del tempo di rilassamento più basso. In questo modo si realizzeranno, entro certi limiti, entrambe le situazioni limite descritte: i batteri idrogenogeni, infatti, si troveranno nella condizione di poter consumare il substrato, mentre i metanigeni si troveranno, come nel secondo caso, a non avere a disposizione il substrato (idrogeno) per un tempo sufficiente a consumarlo (in Figura 3 sono evidenziate le condizioni di lavoro corrispondenti al wash out delle popolazioni metanigene).

### Condizioni di pH

Un altro modo per evitare il proliferare di batteri metanigeni consiste nell'operare in ambiente acido. I batteri metanigeni trovano le condizioni ottimali per pH intorno a 7 [8]. A pH inferiori (5,5 - 6) si ottiene la massima produzione di idrogeno. In tali condizioni, infatti, la metanogenesi è inibita. Per valori di pH inferiori a 5,5 e colture batteriche miste avviene una transizione che porta alla produzione di alcool al posto dell'acido, con conseguente diminuzione della produttività in idrogeno. La produzione di bio-H<sub>2</sub> è completamente inibita per pH inferiori a 4 [9].

### Inibizione da prodotto

La reazione per la formazione di idrogeno, che sfrutta l'accumulo di energia presente sotto forma di NADH, rappresenta un equilibrio di tipo chimico. Per evitare l'inibizione da prodotto è necessario allontanare l'idrogeno dal volume di reazione man-



mano che questo si forma. Il gorgogliamento o l'immissione nel bioreattore della corrente gassosa uscente dallo stadio di purificazione dell'idrogeno, povera in  $H_2$ , avrà la funzione di diminuire la pressione parziale di idrogeno e quindi favorire la produzione di bio- $H_2$ .

È utile precisare che al diminuire della temperatura l'influenza della concentrazione di idrogeno presente diminuisce. La sintesi in continuo di idrogeno richiede  $p(H_2) < 50$  kPa a  $60$  °C,  $p(H_2) < 20$  kPa a  $70$  °C e  $p(H_2) < 2$  kPa a  $98$  °C [10].

#### Umidità della biomassa

La regolazione del contenuto di umidità della biomassa viene effettuato per diluizione del liquame con acqua di processo. Tale operazione permette di fornire al digestore la giusta quantità di carica organica, e quindi di nutrienti per i microrganismi; si ottimizza così l'attività della popolazione batterica presente. La diminuzione del carico organico in ingresso al reattore si traduce in un aumento della produzione di idrogeno in quanto viene ridotta l'inibizione da prodotto. Infatti, la saturazione in idrogeno della fase liquida viene ridotta e conseguentemente l'equilibrio chimico descritto dall' Eq. 5 si sposta verso la formazione di  $H_2$  [11].

#### Possibilità di immobilizzazione della bifase

Al fine di aumentare la produttività dell'impianto, è possibile ricorrere all'immobilizzazione dei microrganismi idrogenogeni all'interno di apposite matrici. Studi precedenti condotti su popolazioni batteriche selezionate hanno dimostrato la possibilità di raggiungere un aumento di produttività in idrogeno fino al 40% rispetto al caso di biomassa libera, a parità di volume di reazione [12].

L'immobilizzazione della biofase non può però prescindere dalla selezione delle popolazioni batteriche. In tal caso è probabile che sia anche richiesta la sterilizzazione della corrente in entrata al reattore, al fine di preservare la biofase immobilizzata, che comporterebbe un notevole aggravio dei costi.

Sarebbe inoltre interessante indagare sugli effetti che produce l'utilizzo di un reattore a biomassa adesa, ovvero l'effetto dell'introduzione di opportuni supporti all'interno del bioreattore sui quali i batteri possono aderire e proliferare, aumentando così la produttività in idrogeno per unità di volume. In questo caso non sarebbe infatti necessaria la selezione delle popolazioni microbiche, tanto meno la sterilizzazione della biomassa all'ingresso del reattore.

#### Scelta dei pretrattamenti della biomassa

Diverse lavorazioni industriali, soprattutto nel settore agro-alimentare, ed attività agricole, in particolar modo l'allevamento, danno luogo a scarichi liquidi contenenti elevate concentrazioni di composti organici molto inquinanti e che quindi devono essere opportunamente trattati per la salvaguardia dell'ambiente.

Gli obiettivi principali dei processi di trattamento sono la riduzione delle forme inquinanti definibili in termini di sostanza organica, di solidi sospesi, di sostanze minerali fitotrofiche (ad esempio azoto e fosforo) o tossiche (metalli pesanti), nonché di virus e microrganismi patogeni eventualmente presenti (reflui provenienti da allevamenti e da fognature).

Si è pertanto deciso di operare con biomasse costituite da reflui delle industrie, miscelati a liquami d'allevamento ed eventualmente residui vegetali, che presentino sostanze organiche fermentescibili, nei quali non siano presenti sostanze inibenti l'attività

microbica. I settori che possono soddisfare tali esigenze sono:

- industria casearia: reflui provenienti dal lavaggio di serbatoi o di reattori per la produzione o lo stoccaggio di latte, yogurt e latticini vari;
- altre industrie alimentari;
- liquami zootecnici;
- frazione organica degli RSU;
- residui di coltivazioni: scarti delle lavorazioni dei cereali;
- colture energetiche ad hoc.

La biomassa utilizzata sarà pertanto costituita da un liquido denso con solidi organici in sospensione. L'attività di ricerca prevede l'utilizzo di più tipologie di biomasse, anche miste, in modo tale da poter valutare le produttività dell'impianto al variare dei liquami trattati.

I pretrattamenti applicabili alla biomassa sono volti a favorire i processi di idrolisi e possono essere di natura soltanto meccanica (come ad esempio lo sminuzzamento finalizzato all'aumento della superficie di contatto), di tipo chimico (ossidativi e/o alcalini), di tipo enzimatico o di tipo termico. Anche la combinazione di diversi trattamenti potrebbe risultare ottimale ai fini dell'aumento del rendimento in produzione di idrogeno.

La scelta dei pretrattamenti è stata eseguita in maniera tale da minimizzare l'aggiunta di chemicals e da evitare ulteriori consumi energetici, in modo da favorire il bilancio economico finale.

Alcuni batteri idrogenogeni (*Clostridium butyricum*, *C. beijerinckii*, *C. botulinum*, *C. putrificum* and *C. sporogene*) hanno mostrato la capacità di sporificare, a differenza dei metanigeni. Le spore consentono alla popolazione di *Clostridium* di sopravvivere fino a  $120$  °C circa, mentre i batteri non sporigeni possono essere eliminati con un trattamento termico a  $70-90$  °C per  $15$  minuti [13]. Operando in batch, la selezione con trattamenti termici di questo tipo ha dimostrato di assicurare una produttività fino a cinque volte superiore rispetto a quella ottenibile in un digestore analogo con biofase non selezionata. Operando in continuo non è pensabile sottoporre tutto il refluo al trattamento termico e di conseguenza, dopo il trattamento iniziale, la composizione della biofase tende a riequilibrarsi e l'effetto inibente a venir meno. Per assicurare uno standard medio di produzione nel tempo si possono prevedere dei trattamenti termici sulla biofase nel digestore da ripetere quando la produttività di  $H_2$  scende sotto un valore di soglia. La determinazione del valore di soglia deve discendere da un'ottimizzazione che tenga conto del bilancio energetico e della lag-phase che ogni trattamento causa.

Al fine di aumentare la produttività in idrogeno, il digestore sarà preceduto da una pompa trituratrice in grado di assicurare dimensioni ridotte dei solidi sospesi. Tale trattamento meccanico permette infatti di velocizzare le reazioni di idrolisi con un conseguente incremento della produzione di  $H_2$  a parità di tempo di permanenza nel digestore.

Per quanto riguarda i pretrattamenti chimici è prevista la possibilità di regolazione del pH della biomassa prima che questa venga immessa nel bioreattore. L'effettiva utilità di tale operazione verrà valutata in fase sperimentale. I pretrattamenti adottati appaiono come decisamente preferibili rispetto al trattamento termico che rappresenterebbe una grossa spesa energetica con un peso non indifferente sul bilancio energetico (e di conseguenza economico) del processo. Inoltre non bisogna trascurare che dopo il trattamento termico la produzione non potrebbe essere ripresa in modo immediato, ma occorrerebbe attendere che le spore dei batteri acetogeni germinino e che la biofase si ricostituisca.

La temperatura di lavoro del digestore per la produzione di idrogeno potrà essere regolata ai valori consigliati per le popolazioni



microbiche mesofile (35 - 37 °C) utilizzando la camicia, nella quale può essere inviata acqua calda. Al fine di minimizzare i costi di tale trattamento si prevede, ove possibile, di utilizzare i cascami termici prodotti dal sistema, quale ad esempio il circuito di raffreddamento dei compressori della sezione di purificazione dei gas prodotti. Verrà inoltre valutata la produttività del sistema in assenza di preriscaldamento della biomassa al fine di stabilirne l'effettiva utilità. Inoltre, solo nel caso in cui si verificassero problemi nella fase di purificazione dell'idrogeno per un'eventuale produzione di H<sub>2</sub>S, si indagherà sull'effetto che potrà produrre il dosaggio di CaCl<sub>2</sub> al fine di far precipitare i solfati presenti nella biomassa ed impedire la formazione e le operazioni di separazione di tale gas.

Popolazione batterica	Fonte di carbonio	Produttività specifica di H <sub>2</sub>	Produttività volumetrica di H <sub>2</sub>	Yield prodotto/substrato	% H <sub>2</sub> nel gas
Mista	Frazione organica dei rifiuti solidi	16,8 mL/g VSS h	117 mL/g TVS h	150 mL/g	66
Thermoanaerobacterium	Scarti alimentari (6 gVS/L)	12 mL/g VSS h		1,8 mol/ mol esoso	55
Mista	Acque reflue lavorazione delle patate (21gCOD/L)			2,8 L/L	60
Mista	Acque reflue lavorazione delle mele (9 gCOD/L)			0,9 L/L	60
E.aerogenes	Molasse (2% saccarosio)	36 mmol /L coltura h	138 mL/L h	1,5 mol/ mol saccarosio	60
Mista	Acque reflue lavorazione del vino di riso (36gCOD/L)	389 mL/g VSS h	159 mL/L h	2,14 mol/ mol esoso	53 - 61

**Tabella 4** - Produttività di idrogeno da fermentazione anaerobica in assenza di luce per diverse tipologie di biomasse di scarto [14].

#### Produttività in idrogeno

Non essendo reperibili dati attendibili sulla presunta produttività in idrogeno per impianti analoghi al caso di studio, si può ricorrere a dati di letteratura, allo scopo di approssimare la produttività in idrogeno dell'impianto.

In **Tabella 4** sono riportati dati sperimentali sulla produttività di impianti operanti con colture miste o selezionate, su diverse tipologie di substrati.

Il lavoro sperimentale che si intende realizzare consiste nell'ottimizzazione del processo di digestione anaerobica per implementare la produzione di idrogeno a partire da diverse biomasse. Si vogliono pertanto individuare i parametri operativi ottimali per ogni tipologia di biomassa adottata.

#### Valorizzazione degli scarti

La fermentazione anaerobica di biomassa permette di sfruttare reflui industriali che altrimenti andrebbero smaltiti. In tal caso, il processo permette di valorizzare tali scarti e di ottenere un gas ad elevato potenziale energetico quale l'idrogeno.

Il refluo in uscita dal bioreattore per la produzione di bio-H<sub>2</sub> presenta caratteristiche idonee ad un ulteriore utilizzo per la produzione di biogas. Come già accennato, infatti, le sostanze presenti in tale refluo rappresentano i nutrienti per i batteri metanigeni, che possono sfruttarle in un successivo stadio per produrre biogas. In questo modo si ottiene una corrente gassosa che rappresenta una seconda fonte di energia.

È previsto un reintegro di fonti di carbonio, attraverso l'immissione di biomassa all'interno del digestore per la produzione di biogas. Il reintegro è necessario in quanto parte delle fonti di carbonio vengono allontanate nel bioreattore per la produzione di idrogeno principalmente sotto forma di CO<sub>2</sub>. Viene così favorito l'ultimo step della sequenza cinetica che porta alla formazione di metano.

Tale pratica ha come obiettivo il raggiungimento dell'autosostentamento energetico del processo: il biogas prodotto può essere considerato come fonte di energia elettrica e termica utile per il funzionamento delle utilities dell'impianto [15, 16].

#### BIBLIOGRAFIA

- [1] ITABIA Italian Biomass Association, Le Biomasse per l'Energia e per l'Ambiente - Rapporto 2003.
- [2] National Renewable Energy Laboratory, Minnesota Biomass - Hydrogen and Electricity Generation Potential, 2005.
- [3] A. Quaglia, Determinazione delle linee guida per la produzione di idrogeno per via biologica, Tesi di Laurea, Politecnico di Torino, 2004.
- [4] M. Camilli and P. M. Pedroni, Comparison of the performance of three different reactors for BioHydrogen production via dark anaerobic fermentations, *Proceedings International Hydrogen Energy Congress and Exhibition IHEC*, 2005.
- [5] M. Göttel, L. Gautier, T. Dhainaut, C. Posten and G. Schaub, Fermentative Hydrogen Production from Waste and Wastewater, a Litterature Survey, *Proceedings International Hydrogen Energy Congress and Exhibition IHEC*, 2005.
- [6] I. Valdez-Vazquez, E. Rios-Leal, F. Esparza-Garcia, F. Cecchi and H. M. Poggi-Varaldo, Semi-continuous solid substrate anaerobic reactors for H<sub>2</sub> production from organic waste: Mesophilic versus thermophilic regime, *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 30, pp. 1383-1391, 2004.
- [7] S. Sung, D. A. Bazylinski L. Raskin and R. Danz, Biohydrogen Production from Renewable Organic Wastes, *Hydrogen, Fuel Cells, and Infrastructure Technologies, FY 2003 Progress Report*.
- [8] S. Van Ginkel, S. Sung and J. J. Lay, Biohydrogen Production as a Function of pH and Substrate Concentration, *Environ. Sci. Technol.*, vol. 35, pp. 4726-4730, 2001.
- [9] S.-E. Oh, S. Van Ginkel and B. E. Logan, The relative Effectiveness of pH and Heat Treatment for Enhancing Biohydrogen Gas Production, *Environ. Sci. Technol.*, vol. 37, pp. 5186-5190, 2003.
- [10] D. B. Levin, L. Pitt and M. Love, Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application, *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 29, pp. 173-185, 2004.
- [11] S. Van Ginkel and B. Logan, Increased biological hydrogen production with reduced organic loading, *Water Research*, vol. 39, pp. 3819-3826, 2005.
- [12] N. Kumar, N. Roy, J. Mishra, L. Mukherjee and D. Das, A Case Studies on the Hydrogen Production Using Immobilized Enterobacter cloacae IIT-BT 08, *Science, Technology and Education of Microscopy: an Overview*, pp. 352-362.
- [13] S. Van Ginkel and B. Logan, Increased biological hydrogen production with reduced organic loading, *Water Research*, vol. 39, pp. 3819-3826, 2005.
- [14] I. K. Kapdan and F. Kargi, Bio-hydrogen production from waste material, *Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 38, pp. 569-582, 2006.
- [15] S. Sung, Biohydrogen Production from Renewable Organic Wastes, 2004.
- [16] N. Nishio, Y. Nakashimada, Y. Mitani and T. Hiraga, Hydrogen-Methane Two-Stage Fermentation (Hy-Met Process) for Anaerobic Waste Treatment. ■