



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TRIESTE

XXVI CICLO DEL DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE E TECNOLOGIE CHIMICHE E FARMACEUTICHE

BIOVALORIZZAZIONE DI SUBSTRATI ORGANICI MEDIANTE PROCESSI ANAEROBICI

Settore scientifico-disciplinare: ING-IND/25

DOTTORANDO / A

ADRIANA SPELA RUBESA FERNANDEZ

COORDINATORE

PROF. MAURO STENER

SUPERVISORE DI TESI

PROF. IGINIO COLUSSI

ANNO ACCADEMICO 2012 / 2013

PREFAZIONE

Con il presente lavoro di tesi si è voluta esaminare la fattibilità del processo di digestione anaerobica di diversi substrati organici quali: reflui di birreria, fanghi esausti di impianti di trattamento di acque reflue, colture energetiche, scarti agro-industriali solidi e scarti organici urbani.

Questo studio è stato motivato dal grande interesse scientifico ed industriale per l'applicazione della digestione anaerobica, allo scopo di perseguire fini quali: lo smaltimento controllato degli scarti organici e la produzione di energia rinnovabile.

Scopo finale del lavoro è stata la valutazione della produzione di metano effettiva e lo sviluppo di un modello matematico semplice, in grado di descrivere accuratamente il processo.

La tesi è stata sviluppata presso il laboratorio di Impianti Chimici del Dipartimento di Ingegneria ed Architettura dell'Università degli studi di Trieste, con sperimentazione caratterizzata dall'impiego di reattori batch su scala di laboratorio, per la valutazione della resa di biometano.

I dati ottenuti dalla sperimentazione sono, quindi, stati analizzati e correlati con un modello sviluppato appositamente per la caratterizzazione della cinetica delle reazioni fra i microrganismi coinvolti nella digestione anaerobica ed il substrato d'interesse.

Questo lavoro di tesi è stato organizzato secondo il seguente schema: un primo capitolo sui concetti generali del processo di digestione anaerobica, un capitolo di descrizione dei materiali e dei metodi utilizzati nella sperimentazione, un capitolo sulla sperimentazione stessa, un capitolo dedicato allo sviluppo di un modello matematico e le conclusioni finali.

Il primo capitolo si concentra sul processo di digestione anaerobica, ove vengono identificate e definite le fasi del processo, la microbiologia e la stechiometria; inoltre, vengono identificati i fattori d'inibizione del processo e le possibili applicazioni industriali.

Il secondo capitolo è dedicato ai materiali e i metodi utilizzati nello sviluppo del lavoro sperimentale e nell'analisi dei dati.

Il terzo capitolo è costituito da più parti, nelle quali vengono fornite le informazioni di dettaglio dei risultati delle prove sperimentali, eseguite utilizzando diversi substrati e diverse tipologie di processo come: digestione monostadio di reflui di birreria, digestione monostadio di fanghi di supero di un impianto di trattamento delle acque reflue, digestione monostadio della frazione organica dei rifiuti solidi urbani (FORSU), digestione a due stadi e monostadio di colture energetiche (insilato di mais) e scarti agro-industriali (tritume di mela, scarti di lavorazione del radicchio rosso di Treviso). Ogni prova sperimentale viene prima introdotta e successivamente discussa nel dettaglio, fino a trarne delle conclusioni.

Il quarto capitolo introduce il modello matematico e ne discute il confronto con i risultati sperimentali.

Infine vengono tratte le conclusioni relative a questo lavoro di tesi.

Capitolo 1 – Concetti generali sulla digestione anaerobica

La digestione anaerobica è un processo biologico in cui il materiale organico subisce una serie di trasformazioni biochimiche operate da microrganismi specializzati. Queste trasformazioni, permettono ai microrganismi di accumulare l'energia necessaria al mantenimento dell'omeostasi cellulare. In natura la digestione anaerobica costituisce un importante passaggio nel ciclo del carbonio. In questo ciclo (Figura 1), il carbonio atmosferico sotto forma di CO_2 , viene catturato dalla biomassa vegetale ed utilizzato, tramite il processo di fotosintesi, per la generazione di molecole più complesse. Queste vengono normalmente demolite da organismi aerobici che ritrasformano il carbonio presente in CO_2 , rilasciata in atmosfera. Se i sistemi da demolire si trovano in ambienti prevalentemente anaerobici (ad es. la parte bassa del tratto intestinale umano, il rumine del bestiame, paludi, risaie...), allora sono microrganismi di tipo anaerobico a degradare il materiale organico liberando CO_2 e CH_4 (in rapporto di circa 1:1).[1]

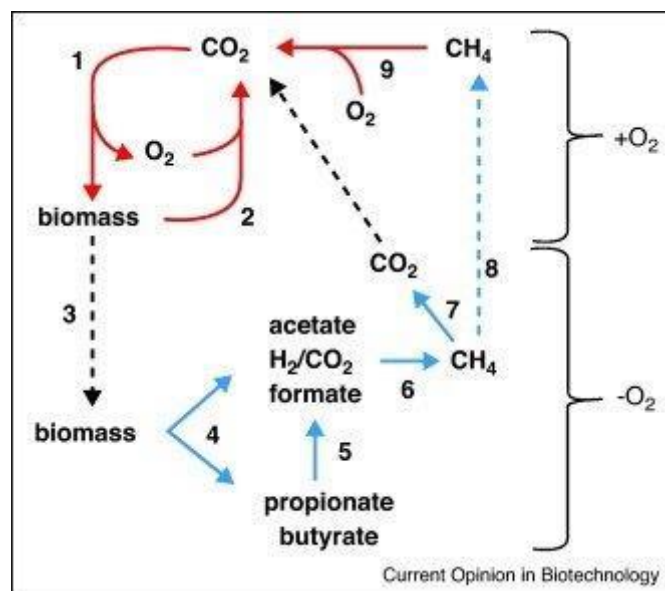


Figura 1: Rappresentazione schematica del ciclo del carbonio, le frecce rosse indicano i processi aerobici mentre le frecce azzurre indicano i processi anaerobici. I numeri indicano i vari stadi del ciclo: 1- fotosintesi, 2-digestione aerobica, 3-6 digestione anaerobica, 7-ossidazione anaerobica del metano, 8-9 ossidazione aerobica del metano (Ferry 2011)

Il processo di digestione anaerobica, che abbiamo visto attuarsi in natura, può essere sfruttato a livello industriale per la produzione di biogas (biometano) con il trattamento e demolizione sia di rifiuti organici di vario genere quali, ad esempio, fanghi di supero, reflui ad alto carico organico, substrati solidi quali scarti dell'industria agroalimentare sia di colture energetiche appositamente coltivate.[2]

I principali vantaggi di questo processo risiedono nel basso rendimento di sintesi batterica (cioè minime quantità di fanghi prodotti), nel basso fabbisogno di nutrienti, nel ridotto volume richiesto al reattore (rispetto al processo aerobico) e, chiaramente, nella possibilità di recuperare energia, nella forma di metano. [3; 4]

1.1 Descrizione del processo

La demolizione di un substrato tramite digestione anaerobica procede attraverso 4 fasi fondamentali:

- Idrolisi
- Acidogenesi
- Acetogenesi
- Metanogenesi

Idrolisi

Costituisce la prima parte del processo di digestione. Durante l'idrolisi il materiale particolato e le molecole molto complesse vengono trasformati in composti solubili (mediante enzimi proteolitici, lipolitici etc.), che possono essere ulteriormente idrolizzati a monomeri semplici. La velocità d'idrolisi influenza

Acidogenesi

Chiamata anche fermentazione, comporta la degradazione dei monomeri liberati dall'idrolisi (amminoacidi, zuccheri, acidi grassi) in acidi grassi volatili quali propionato e butirato.

Acetogenesi

Gli acidi grassi volatili liberati durante l'acidogenesi vengono ulteriormente fermentati fino ad ottenere acido acetico, anidride carbonica ed idrogeno.

Spesso i processi di acidogenesi e acetogenesi vengono considerati quale unico step: infatti, in un processo a regime, gli acidi grassi volatili intermedi non si accumulano perché vengono utilizzati immediatamente dai microrganismi acetogeni per la produzione di acido acetico.

L'acetogenesi obbedisce ad una termodinamica di equilibrio per cui è necessario allontanare immediatamente i prodotti ottenuti (acetato, CO₂ e H₂) per ottenere una buona resa: ciò obbliga i microrganismi acetogeni a vivere in simbiosi con i metanogeni, della fase successiva, che consumano l'acetato, l'anidride carbonica e l'idrogeno, riducendoli a concentrazioni tali da favorire l'ulteriore fermentazione del substrato iniziale. In questo ambito il controllo nel reattore del valore (minimo) della pressione parziale dell'idrogeno garantisce la corretta conduzione del processo.

Il controllo ottimale di questa fase è fondamentale per l'intero processo di digestione anaerobica: infatti, nel caso in cui si avesse una riduzione dell'attività dei microrganismi metanogeni, la fermentazione del propionato e del butirato rallenterebbe, portando ad un progressivo accumulo di questi acidi volatili, che si tradurrebbe in un abbassamento del pH del sistema che, a sua volta, diminuirebbe ulteriormente l'attività metanogena.

Metanogenesi

L'ultima parte del processo di digestione anaerobica viene svolta, come già detto, da un gruppo di microrganismi chiamati metanogeni. Questi sono comunemente divisi in base alla via metabolica utilizzata per la produzione di metano, che può essere:

idrogenotrofica: in cui l'idrogeno viene utilizzato come donatore di elettroni e la CO_2 come accettore di elettroni, nella reazione di sintesi del metano.

acetoclastica: in cui il legame centrale dell'acetato viene chelato liberando il gruppo carbonilico che viene ossidato a CO_2 , mentre il gruppo metilico viene ridotto per formare CH_4 .

Le trasformazioni acetoclastiche sono responsabili della produzione di circa i due terzi del metano totale prodotto durante la digestione anaerobica. [1;3]

1.2 Microbiologia

La biochimica della digestione anaerobica coinvolge l'attività sinergica di almeno 3 diverse popolazioni di microrganismi appartenenti ai dominî dei *Batteri* e degli *Archea*:

I microrganismi responsabili dei primi 3 stadi di questo processo (idrolisi, acidogenesi ed acetogenesi) sono del tipo anaerobico facoltativo ed anaerobico obbligato, ed appartengono al dominio dei *Batteri*. Nei digestori anaerobici sono stati isolati microrganismi appartenenti alle specie *Clostridium*, *Peptococcus anaerobus*, *Bifidobacterium*, *Desulphovibrio*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*, *Staphylococcus* ed *Escherichia coli*.

I metanogeni del 4° stadio vengono classificati sotto il dominio degli *Archea* e sono del tipo anaerobio strettamente obbligato. I generi principali di microrganismi identificati in reattori mesofili (cioè operanti a temperature fra 25 e 40°C) comprendono i bacilli (*Methanobacterium*, *Methanobacillus*) e i cocchi (*Methanococcus*, *Methanothrix* e *Methanosarcina*).

I cocchi *Methanosarcina* e i *Methanothrix* sono gli unici che utilizzano la via metabolica acetoclastica. Gli altri metanogeni sono principalmente idrogenotrofi. I *Methanosarcina* sono, inoltre, i microrganismi osservati più comunemente nei digestori anaerobici.

La digestione anaerobica viene quindi perpetuata da un consorzio di microrganismi, che crea un ecosistema simbiotico, tale da favorire la degradazione del materiale organico e la produzione di metano. [3]

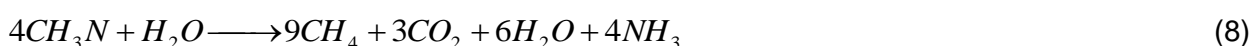
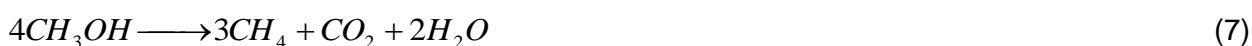
1.3 Stechiometria del processo

Come descritto in precedenza, durante la fermentazione dei substrati organici (stadi 1 e 2) vengono prodotti acidi grassi volatili come l'acetato, il propionato ed il butirrato.

Il propionato ed il butirrato subiscono un'ulteriore processo di fermentazione ad opera dei microrganismi acetogeni (stadio 3), secondo le reazioni 1 e 2:



I metanogeni (stadio 4) utilizzano un numero limitato di substrati per le reazioni di metanogenesi, come illustrato di seguito:



A causa del numero di trasformazioni coinvolte nella digestione anaerobica, lo sviluppo di un bilancio di massa globale che comprenda tutte le trasformazioni, è molto difficoltoso e poco maneggevole da un punto di vista pratico. Per questo i bilanci di massa della digestione anaerobica vengono calcolati mediante l'utilizzo del chemical oxygen demand (COD).

Il COD è la quantità di ossigeno necessaria per portare a termine l'ossidazione completa di un composto organico, ed è quindi un valore riferibile al carico organico del sistema. Il COD di substrati complessi, come quelli utilizzati nella digestione anaerobica, può essere misurato mediante reazioni di ossidazione con agenti ossidanti forti (ad es: dicromato di potassio) ed analisi del residuo non reagito.

Nella digestione anaerobica, la variazione del carico organico, e quindi del COD, è funzione diretta della quantità di biogas (biometano) prodotta.

Il COD riferito al metano si può ricavare dall'equazione di ossidazione totale del metano:



Dalla reazione 9 risulta che il valore di COD corrispondente a una mole di metano è pari a 2 moli di ossigeno, ossia 64 g O₂/mol CH₄. Considerando che, il volume di una mole di metano in condizioni standard è pari a 22,414 L, si può determinare la produzione specifica di metano dalla trasformazione di un grammo di COD secondo il semplice calcolo:

$$22,414 \text{ L CH}_4 / 64 \text{ g COD} = 0,351 \text{ L CH}_4 / \text{g COD}$$

Il volume massimo di metano che può essere prodotto, in condizioni standard, da un grammo di COD è quindi pari a 0,351 L. [3]

1.4 Fattori d'inibizione

Dato che la digestione anaerobica è un processo in cui avvengono numerose trasformazioni contemporaneamente, esiste una gran quantità di composti organici ed inorganici che possono influire negativamente sull'equilibrio delle reazioni coinvolte. I più comuni sono ammoniaca, solfiti, diversi tipi di cationi, metalli pesanti e composti organici.

1.4.1 Ammoniaca

L'ammoniaca viene liberata durante il metabolismo delle proteine e dell'urea, questo la rende un composto molto comune all'interno dei digestori anaerobici [5]. Tra i microrganismi coinvolti nella digestione anaerobica, i metanogeni sono quelli che presentano la maggiore sensibilità nei confronti di questo composto [6]. Questa sensibilità viene influenzata da numerosi fattori quali: concentrazione, pH, temperatura, presenza di cationi ed acclimatamento.

In condizioni di digestione normali, concentrazioni di ammoniaca fino a 200 mg/L vengono considerate ideali per il buon funzionamento di un digestore anaerobico, essendo l'azoto un nutriente importante e necessario per il mantenimento dell'omeostasi cellulare.[7]

In letteratura sono presenti numerose segnalazioni di inibizione da ammoniaca, in cui la produzione di metano viene inibita del 50 % per concentrazioni di azoto ammoniacale comprese tra 1,7 e 14 g/L. [6-21]

Il pH è un fattore importante quando si considera la tossicità da ammoniaca. L'ammoniaca risulta tossica nella sua forma non ionizzata (ammoniaca libera) la cui concentrazione, nei digestori anaerobici, aumenta nel caso di un aumento di pH.

L'ammoniaca libera è tossica perché in grado di permeare attraverso le membrane cellulari dei microrganismi, in cui il pH intracellulare è, spesso, più basso di quello esterno. Per questo motivo, l'ammoniaca permeata all'interno della cellula tende ad assumere la sua forma ionica, producendo un disturbo all'equilibrio ionico cellulare con possibile morte della stessa cellula.

La temperatura, aumentando le cinetiche di degradazione del materiale organico, comporta un naturale incremento nella produzione (e quindi nella concentrazione) di ammoniaca, rendendo il sistema più instabile e più suscettibile all'instaurarsi di effetti inibitori.

Altri fattori che possono influenzare la tossicità da ammoniaca sono, come anticipato, la presenza di cationi e l'acclimatamento.

Ioni come il sodio, il calcio ed il magnesio sono stati associati ad una riduzione dell'inibizione ammoniacale. [10; 17]

Per acclimatamento si intende l'adattamento della popolazione metanogenica all'ammoniaca, a seguito di un aumento graduale della sua concentrazione. Questo fenomeno è

stato osservato per la prima volta da Melbinger e Donellon nel 1971[22]: studi successivi hanno dimostrato che le popolazioni metanogeniche possono acclimatarsi anche a diverse altre sostanze inibitorie [23]. L'acclimatamento può avvenire a seguito di un adattamento metabolico nella specie dei metanogeni predominanti, oppure con il sopravvento di un'altra specie di metanogeni più resistente. [12]

1.4.2 Solfiti

I solfati sono dei composti comunemente presenti nelle acque reflue. Nei digestori anaerobici i solfati vengono ridotti a solfiti dai batteri solfato riduttori (SRB). Sono stati determinati due gradi di inibizione indotta dagli SRB:

Inibizione primaria: gli SRB competono con i microrganismi metanogeni o gli acetogeni per gli stessi substrati (acetato, H₂, propionato e butirato), riducendo così la produzione di metano.

Inibizione secondaria: dovuta alla tossicità dei solfiti prodotti dagli SRB, sulle varie popolazioni di microrganismi, inclusi gli SRB stessi.

1.4.3 Cationi (Na, K, Mg, Ca e Al)

Fenomeni di tossicità a seguito della presenza di sali inorganici sono ben noti in ambito biologico. La causa più comune di tossicità salina è la disidratazione cellulare a causa di concentrazioni troppo alte.

Questi cationi sono comuni nei reflui, e possono anche essere liberati durante lo stesso processo di digestione. A concentrazioni basse sono dei micronutrienti importanti per la crescita batterica. Quantità eccessive possono però rallentare la stessa crescita, o addirittura provocare l'inibizione totale dell'attività cellulare. [24]

1.4.3 Metalli pesanti

I metalli pesanti possono essere presenti nelle acque reflue, anche in concentrazioni significative. [25]

A differenza di altri composti, i metalli pesanti non sono biodegradabili, e tendono ad accumularsi nel tempo fino a raggiungere concentrazioni tossiche. [26]. La tossicità dei metalli pesanti viene attribuita a un degrado della funzionalità e della struttura enzimatica, mediante la formazione di legami con il tiolo o altri gruppi funzionali presenti nelle proteine, oppure rimpiazzando i metalli già presenti e necessari per l'attività enzimatica naturale.

Molti metalli pesanti, sono parte essenziale dell'attività enzimatica coinvolta nel processo di digestione: analisi di ceppi di metanogeni hanno una composizione di metalli pesanti all'interno della cellula di tipo $Fe \gg Zn \geq Ni > Co = Mo > Cu$. [27]

L'instaurarsi o meno di fenomeni di inibizione dipende da fattori quali la concentrazione totale dei metalli pesanti, la forma chimica dei metalli, il pH ed il potenziale redox. [28-30]

1.4.3 Composti organici

Esistono molti composti organici che possono indurre inibizione nei passaggi coinvolti nel processo anaerobico. Composti organici poco solubili in acqua o che adsorbono sulle superfici dei solidi presenti nei fanghi anaerobici, possono accumularsi raggiungendo concentrazioni elevate. L'accumulo di inquinanti apolari nelle membrane cellulari batteriche, induce le membrane a gonfiarsi, destabilizzando il gradiente ionico fino a causare la lisi cellulare. [31;32]

I composti organici associati a fenomeni inibitori includono:

- Benzeni (alchil-benzeni, benzeni alogenati, nitro-benzeni);
- Fenoli (alchil-fenoli, fenoli alogenati, nitrofenoli);
- Alcani
- Composti alifatici alogenati
- Alcoli e alcoli alogenati
- Eteri
- Chetoni
- Acrilati
- Acidi carbossilici
- Ammine
- Nitrili
- Ammidi
- Piridina e i suoi derivati
- Alcuni acidi grassi a catena lunga
- Tensioattivi e detergenti.

Le concentrazioni a cui si manifestano effetti tossici variano a seconda del tipo di composto che viene preso in considerazione. I parametri che influenzano la tossicità sono, come sempre, la concentrazione del composto, la concentrazione dei microorganismi (biomassa), il tempo di esposizione al composto tossico, l'età del fango, la modalità di alimentazione, l'acclimatamento e la temperatura [33]

A concentrazioni basse, la maggior parte di questi composti può essere biodegradata, prevenendone così la tossicità: concentrazioni più alte solitamente causano un'inibizione significativa dell'attività di metanogenesi. [34; 35]

I reattori in cui la biomassa è più concentrata presentano una migliore stabilità nel caso di esposizioni acute a composti tossici. [36] A parità di concentrazione, fanghi la cui biomassa è molto più giovane rispondono meglio e sono più resistenti. [33]

L'acclimatamento della biomassa ai composti tossici è forse il parametro più importante nella determinazione degli effetti inibitori. Sono stati suggeriti 4 meccanismi d'acclimatamento interconnessi tra loro:

- Selezione a crescita favorita di microorganismi in grado di degradare i composti tossici;

- Induzione all'espressione e sintesi di enzimi che degradano i composti tossici;
- Mutazioni genetiche che aumentano la resistenza ai composti tossici;
- Aumentata selettività per i substrati preferenziali.

L'acclimatemento dei microrganismi aumenta sia la tolleranza ad esposizioni acute, sia la velocità di degradazione dei composti tossici.

1.5 Applicazione del processo

L'interesse nei confronti della digestione anaerobica può essere spiegata prendendo in considerazione i vantaggi e gli svantaggi del processo, rispetto i trattamenti aerobici, riportati in tabella 1.

Tabella 1: *confronto dei vantaggi e svantaggi della digestione anaerobica*

Vantaggi	Svantaggi
Minore richiesta d'energia	Tempi d'avvio più lunghi
Minore produzione di fanghi biologici di supero	Possibile Richiesta di alcalinità
Minore richiesta di nutrienti	Necessità di un'ulteriore stadio di trattamento aerobico per il raggiungimento di adeguate caratteristiche dell'effluente
Produzione di metano (quindi produzione d'energia)	Impossibilità di rimozione biologica del fosforo e dell'azoto
Reattori di volume minore	Maggiore sensibilità ad effetti negativi sulle cinetiche di reazione da oscillazioni di temperatura
Eliminazione dell'inquinamento atmosferico da gas esausti	Maggiore sensibilità alla presenza di sostanze tossiche
Rapida risposta all'aggiunta di substrato dopo lunghi periodi senza alimentazione	Potenziale generazione di odori e gas corrosivi

In generale, i processi anaerobici vengono preferiti agli aerobici per la digestione di substrati ad alto carico organico.

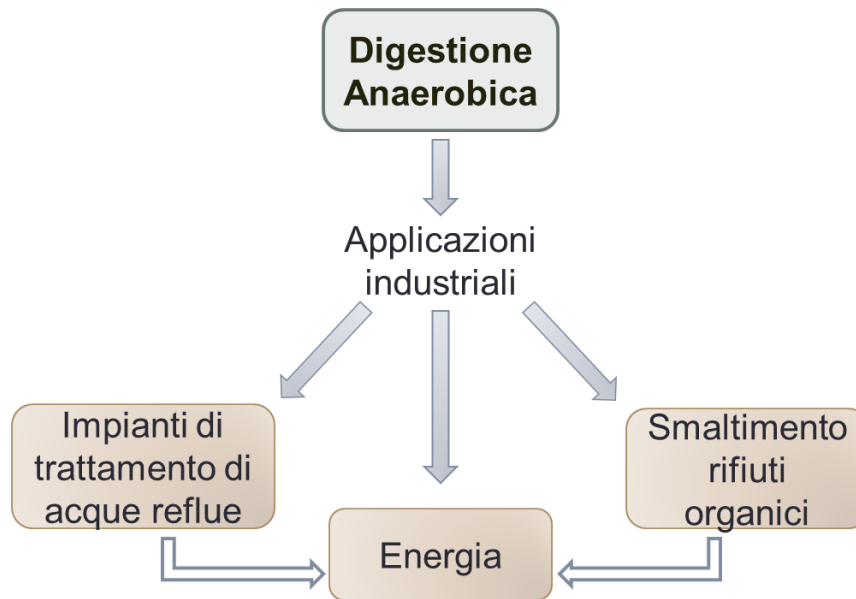


Figura 2: Applicazioni industriali del processo di digestione anaerobica, la produzione di energia è comune a tutti i sistemi che usano la digestione anaerobica.

Le applicazioni industriali (illustrate in Figura 2) della digestione anaerobica possono essere classificate in funzione del fine principale che si vuole raggiungere:

- Stabilizzazione dei fanghi di supero degli impianti di trattamento delle acque reflue.
Lo smaltimento dei fanghi di supero è un'importante problema gestionale negli impianti di trattamento delle acque reflue. La digestione anaerobica è caratterizzata da rese di sviluppo batterico molto minori rispetto ai processi aerobici, per cui l'alimentazione di un digestore anaerobico con i fanghi di supero riduce efficacemente la quantità finale di fanghi di supero prodotti.
- Smaltimento di rifiuti organici.
Lo smaltimento di rifiuti organici Agro-industriali ed Urbani è ormai un'applicazione frequente della digestione anaerobica. In questo modo si riesce a diminuire fortemente l'inquinamento organico, riducendo l'impatto ambientale per la produzione di gas serra, catturando il metano utilizzato a scopi energetici.
- Produzione di Energia.
Infine, la digestione anaerobica può essere utilizzata al fine esclusivo di produrre energia, tramite alimentazione con colture energetiche dedicate.

2 – Materiali e metodi

2.1. – Descrizione dell'impianto

Nelle figure 3 e 4 si riportano una fotografia ed uno schema di funzionamento dell'impianto utilizzato.

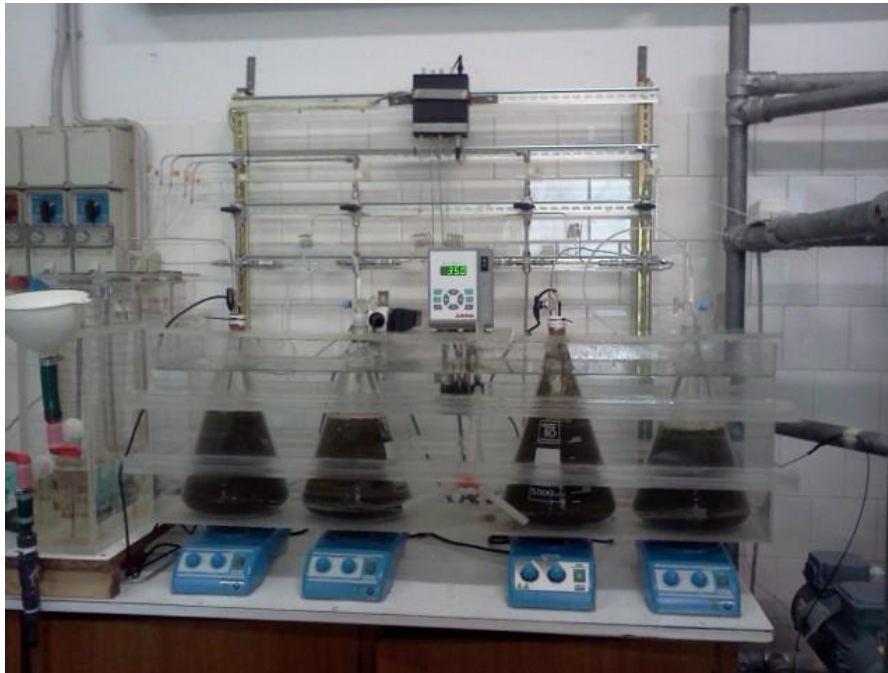


Figura 3: Foto dell'impianto utilizzato per gli esperimenti

L'impianto di bio-valorizzazione è costituito da quattro reattori batch (collegati singolarmente a quattro gasometri attraverso una linea indipendente, vedi figura 2) da 5 litri, in vetro, immersi in un bagno termostatico ad acqua, mantenuto a 38.0 °C e realizzato con una vasca in plexiglass. Sotto la vasca, in corrispondenza dei reattori, vengono posizionati 4 agitatori magnetici.

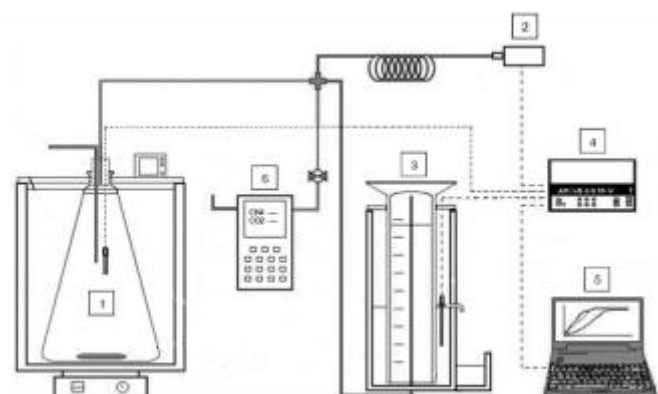


Figura 4: Schema di funzionamento di ogni singolo reattore (1. Reattore, 2. Trasduttore di Pressione, 3. Gasometro, 4. Data-logger, 5. Calcolatore, 6. Analizzatore)

La testa di due dei quattro reattori viene chiusa tramite tappo in vetro, mentre gli altri due reattori vengono chiusi con un tappo di gomma forato per permettere l'inserimento di sonde per la misurazione del pH. Ogni tappo viene provvisto di un rubinetto che permette di isolare il singolo reattore dal resto dell'impianto evitando, in questo modo, l'ingresso di aria nel relativo gasometro - mantenuto in depressione - durante la fase di alimentazione.

Un primo condotto in teflon (per i tappi di vetro) o in acciaio (per i tappi di gomma) collega il singolo reattore (beuta) a una valvola a tre vie a cui giunge l'eventuale biogas prodotto: questo, posto in contatto con un trasduttore di pressione, tramite collegamenti in acciaio viene quindi inviato al gasometro e all'analizzatore. Al momento dell'analisi, la valvola posta a monte dell'analizzatore di gas viene aperta: il biogas presente nel gasometro viene così aspirato, analizzato e rilasciato a valle dell'analizzatore.

Il singolo gasometro è costituito da un cilindro graduato in vetro della capacità di 2l, capovolto in una seconda vasca in plexiglass provvista di un foro ad una altezza definita: ciò permette di mantenere costante il battente nel bagno attraverso la costanza del livello del liquido presente (quello in eccesso viene infatti spinto dal biogas prodotto e scaricato dall'apposito foro). Questo è costituito da una soluzione satura di NaCl (densità pari a 1085 g/l) avente la duplice funzione di indicare il volume di biogas che si accumula nel gasometro, e di minimizzare (se non eliminare) l'effetto di dissoluzione della CO₂ (altamente solubile in acqua) presente nello stesso biogas.

La pressione del biogas presente nel gasometro viene misurata attraverso un trasduttore di pressione differenziale che la converte in un segnale elettrico trasmesso in continuo ad un data-logger: questo registra, inoltre, e con cadenza temporale di 2-4 minuti, anche due segnali di temperatura (da termocoppie immerse nella vasca contenente la soluzione salina di NaCl e nel bagno termostatico) e di pH (trasmessi da 2 pH-metri immersi nei reattori di acidogenesi).

Il data-logger è a sua volta collegato ad un calcolatore il quale, provvisto di apposito software, permette di visualizzare e salvare i dati relativi alle prove.

2.2. - Analisi del Biogas

Analizzatore di gas GA2000plus

Lo strumento di analisi è un analizzatore di biogas portatile che ne restituisce la composizione volumetrica. Esso dispone di un particolare sensore ad infrarosso per la rilevazione del CH₄ e della CO₂, mentre gli altri gas cui è sensibile, O₂, H₂S, H₂, sono rilevabili da una cella elettrochimica. Dispone, inoltre, di una "trappola" per l'acqua al fine di salvaguardare l'accuratezza del dato registrato.

Mentre dal display dell'analizzatore si leggono le composizioni volumetriche di CH₄, CO₂, O₂, per i gas quali idrogeno solforato e idrogeno, la lettura massima dello strumento è pari a 1000 ppm, corrispondente allo 0,1% del gas totale. In figura 5 si riporta lo strumento in dotazione in laboratorio.



Figura 5: Foto dell'analizzatore di biogas in dotazione in laboratorio

2.3 - Analisi chimico fisiche

Le analisi chimiche e fisiche sono state eseguite in accordo con i metodi approvati APHA [37], nella caratterizzazione preliminare di substrati e biomassa e nelle analisi, riportate di seguito, eseguite al termine di ogni stadio di digestione.

- COD (Chemical Oxygen Demand): determina la quantità equivalente di ossigeno richiesta per ossidare, tramite via chimica, le sostanze organiche presenti. Il suo valore è espresso in milligrammi di ossigeno per litro (mgO_2/L) e la prova viene effettuata con uno spettrofotometro per il COD solubile e mediante una titolazione inversa, in ambiente acido utilizzando come agente ossidante il bicromato di potassio, per il COD totale. Il valore di concentrazione di COD permette di valutare la quantità di acqua da aggiungere in ogni reattore all'inizio di ogni singola sperimentazione;
- TS (total solids): è il residuo secco ottenuto a seguito dell'evaporazione di un volume noto di campione di acqua ($T = 105 \pm 5^\circ\text{C}$). È espresso in mg/L o mg/g di campione;
- TSS (total suspended solids): è una porzione dei solidi totali rappresentante i solidi trattenuti da un filtro caratterizzato da porosità specifica: viene determinata dopo essiccamento a 105°C . Si impiegano filtri di carta senza ceneri e il valore viene espresso in mg/L o mg/g di campione;
- TVS (total volatile solids): solidi che volatilizzano a seguito del riscaldamento del campione di refluo, preventivamente essiccato, alla temperatura di 550°C . Si esprimono in mg/L o mg/g di campione;

- VSS (volatile suspended solids): solidi che volatilizzano a seguito della combustione dei TSS alla temperatura di 550°C. Sono espressi in mg/L o mg/g di campione.

2.4 Analisi Gas Cromatografica

Le analisi gas cromatografiche sono state eseguite unicamente durante gli esperimenti di biovalorizzazione e codigestione del radicchio rosso di Treviso.

Per le analisi del filtrato e l'identificazione di eventuali acidi grassi presenti in esso, è stato utilizzato un gas Cromatografo PerkinElmer AutosystemXL con detector FID, a cui è stata installata una colonna HP-PLOT/U lunga 30 metri e con diametro di 0,52 mm.

In colonna veniva iniettata una soluzione limpida, priva di solidi, ottenuta per filtrazione di campioni di fango su filtri in acetato di cellulosa con porosità 0,45 µm. Le concentrazioni dei componenti separati sono state quindi determinate mediante analisi dell'altezza dei picchi nel gascromatogramma.

La calibrazione dell'apparecchiatura è stata effettuata utilizzando più standard a concentrazione nota (acido acetico, etanolo) con prove ripetute a volumi diversi. Dalle prove si è determinato un valore ideale del volume di analisi (100-200 µL) e l'altezza del picco corrispondente allo standard utilizzato.

2.5 Analisi dei dati sperimentali: calcolo della resa in metano (SMY) e della produzione di biogas (SGP)

La resa in metano (SMY dall'inglese: specific methane yield) è uno strumento utilizzato per la valutazione dell'efficienza del processo di digestione anaerobica. Viene calcolata a partire dal volume di metano totale prodotto in funzione del carico organico caricato o rimosso (in termini di COD o di TVS), e può essere dimensionata come: $L\ CH_4/g\ COD_{car}$; $L\ CH_4/g\ COD_{rem}$; $L\ CH_4/g\ TVS_{car}$ oppure $L\ CH_4/g\ TVS_{rem}$. In letteratura si possono trovare esempi d'utilizzo di ciascuna di queste forme. [38-39] In questo lavoro di tesi viene principalmente utilizzata la resa in metano calcolata in funzione del COD caricato.

La produzione di biogas (SGP dall'inglese: specific gas production) è un'altro strumento comunemente utilizzato per la valutazione del processo di digestione anaerobica; e viene calcolato in base al volume di biogas totale prodotto in funzione del carico organico alimentato sotto forma di TVS.

3 – Risultati e discussione

Le prove di digestione anaerobica hanno interessato sia diverse tipologie di substrati (reflui di birreria, fanghi di depurazione esausti, FORSU, insilato di mais, radicchio rosso) sia diverse procedure operative (ad uno o due stadi).

Di seguito si riportano e discutono i risultati ottenuti nella bio-valorizzazione di:

- 1) Reflui di birreria (trebbie, lieviti e farine fossili) con processo monostadio;
- 2) Fanghi di depurazione esausti e FORSU con processo di co-digestione monostadio;
- 3) Insilato di mais e scarti della lavorazione del radicchio rosso di Treviso con processi mono e doppio stadio.

3.1 – Digestione anaerobica di reflui di birreria

La produzione di birra è uno dei settori principali dell'industria alimentare mondiale [40]. Fra tutte le bevande il consumo di birra è, infatti, al quinto posto nel mondo. Pur appartenendo ad un settore industriale molto importante, e studiato da anni, la maggior parte delle birrerie produce grandi quantità di reflui, altamente inquinanti, di cui ancor oggi non ha risolto, in maniera soddisfacente, il problema dello scarico: risultato di questo è che, molto spesso, il generico refluo viene scaricato tal quale sia nelle fognature municipali sia nelle vie acquee naturali, causando gravi problemi d'inquinamento.

Da questo punto di vista, il trattamento anaerobico dei reflui di birreria potrebbe quindi risolvere, almeno parzialmente, il problema ambientale grazie alla possibilità di un recupero energetico, producendo biogas e riducendo il carico organico (COD) degli stessi reflui che comporterebbe, infine, un abbattimento dei costi di smaltimento.

Tutti gli studi effettuati finora si basano sulla corrente reflua complessiva in uscita dall'impianto [41,42]. In realtà il processo di produzione della birra segue diverse fasi di produzione, partendo dalla selezione dei cereali da usare per la produzione del malto, da cui si ottiene il mosto poi aromatizzato e fermentato per ottenere il prodotto finale, ossia la birra [43]. Nel processo di produzione della birra si possono identificare, quindi, tre principali scarti di produzione (appendice A):

- Le Trebbie, che sono il residuo solido del malto dopo l'estrazione degli zuccheri e l'ottenimento del mosto;
- I Lieviti, che sono un il residuo del processo di fermentazione del mosto;
- Le Farine fossili, che vengono utilizzate durante il processo di chiarificazione della birra.

Derivando da diverse fasi nella produzione della birra, le caratteristiche chimiche e fisiche di questi sottoprodotti sono certamente molto diverse fra loro.

3.1.1 Caratterizzazione e impostazione delle prove

3.1.1.a Fanghi:

I microrganismi (fanghi), necessari quali biomassa nelle prove di digestione anaerobica e forniti dall'Impianto di depurazione acque civili di Treviso, sono stati campionati ed analizzati all'arrivo in laboratorio. In tabella 2 vengono riportati i risultati della caratterizzazione iniziale.

Tabella 2: *Caratterizzazione dei fanghi di digestione*

Campione	TS [g/L]	TVS [g/L]	COD _{tot} [g/L]
Fanghi	23,83	13,88	21,48

3.1.1.b Substrati:

I tre diversi reflui di birreria studiati sono stati forniti dall'impianto BIRRA CASTELLO SPA di San Giorgio di Nogaro.

I risultati delle analisi (presentati in tabella 3), hanno confermato le aspettative, con i lieviti che hanno evidenziato il maggior carico organico e le farine fossili il più basso valore di COD dovuto alla forte presenza di inerti (come risultante anche dai valori di solidi totali e solidi totali volatili).

Tabella 3: *Caratterizzazione dei substrati*

Campione	TS [g/g _{ts}]	TVS [g/g _{ts}]	COD _{tot} [g/g _{TS}]
Trebbie	0,19	0,18	1,47
Lieviti	0,16	0,15	2,13
Farine Fossili	0,28	0,01	0,14

Tutti e quattro i reattori di figura 3 sono stati caricati con 3 litri di fanghi e 1,5 litri di acqua, per un volume finale di 4,5 litri. Quindi tre reattori sono stati alimentati con i tre diversi reflui da birreria mentre il quarto reattore è stato caricato con tritume di mela, substrato a cinetica biologica nota (per precedenti esperimenti).

Complessivamente la sperimentazione ha avuto una durata di 48 giorni mentre il numero delle cariche, per ogni reattore, è variato in funzione dei diversi tempi di digestione dei tre substrati caricati: ogni nuova alimentazione, infatti, veniva effettuata quando la produzione di biogas, relativa alla carica precedente, raggiungeva un valore minimo di 15 mL/h, tale da far considerare completamente consumato il COD iniziale.

Per ogni nuova carica è stato, infine, effettuato un prelievo di fanghi per le analisi dei solidi e del COD totale.

3.1.2 Risultati delle prove di bio-metanazione

3.1.2.a Lieviti

Complessivamente i lieviti sono stati alimentati ai reattori per sette volte. La concentrazione di metano nel biogas è risultata, in media, del 41%.

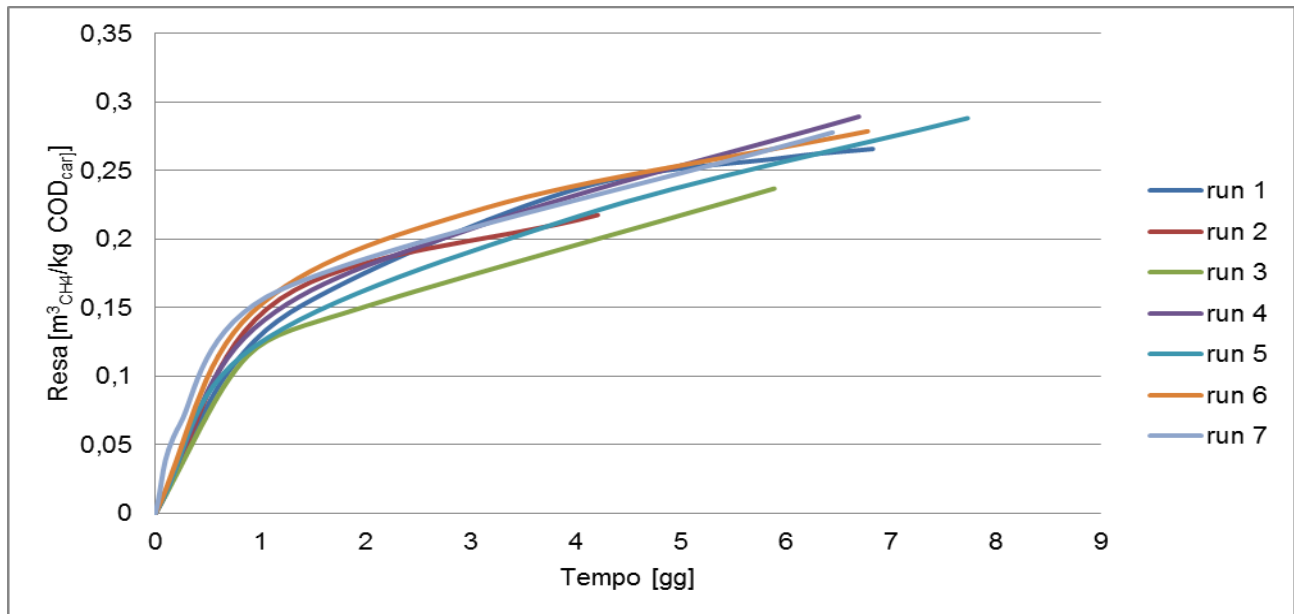


Figura 6: Curve di resa del metano ottenute dalla digestione anaerobica dei Lieviti

In figura 6 sono riportate le curve riportanti la resa in metano. Le curve risultano abbastanza vicine l'una all'altra con andamenti crescenti nella resa di metano, che raggiungono profili costanti nelle ultime 3 curve (run5, run6 e run7), confermando il raggiungimento di una condizione a regime. Gli indici di resa di metano (SMY) e di produzione di biogas (SGP) sono riportati in tabella 4.

Tabella 4: Dati di resa di metano e produzione di biogas

Prova	SMY [m ³ CH ₄ /kg COD _{in}]	SGP [m ³ biog/kg TVS _{in}]
Run 1 [‡]	0,27	1,26
Run 2 [†]	0,22	1,21
Run 3 [*]	0,24	1,40
Run 4 [‡]	0,29	1,56
Run 5 [‡]	0,29	1,66
Run 6 [‡]	0,28	1,54
Run 7 [‡]	0,28	1,52

[†] prova condotta a 4 giorni; ^{*} prova condotta a 6 giorni

[‡] prova condotta a 7 giorni

Come si osserva dai valori di SMY la resa di metano dopo un primo calo iniziale tende ad aumentare fino a raggiungere un valore stabile. Questo andamento indica in modo chiaro il periodo di stabilizzazione del processo, cioè il tempo necessario a raggiungere una produzione a regime che, per i lieviti, è risultato pari a 18 giorni.

3.1.2.b Trebbie

Nel caso delle trebbie sono state portate a termine sei prove d'alimentazione con le trebbie. La concentrazione di metano nel biogas è stata, in media, del 40%.

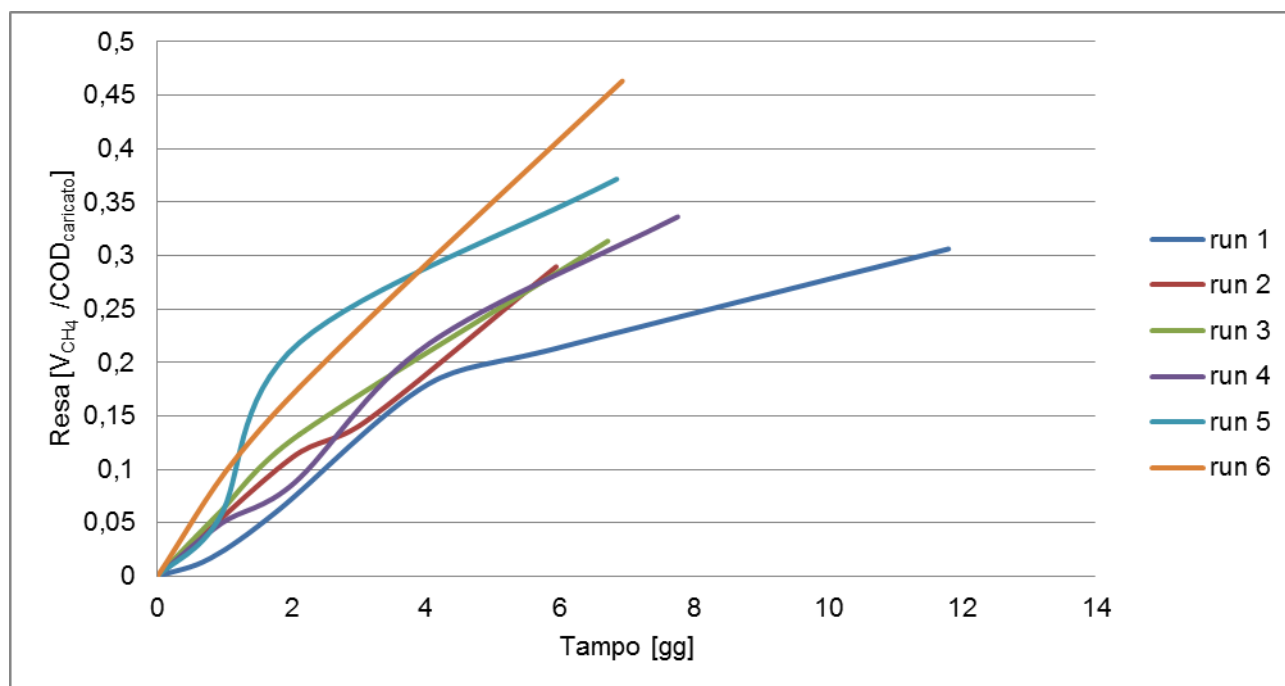


Figura 7: Curve di resa del metano ottenute dalla digestione anaerobica delle Trebbie

In figura 7 sono riportate le curve di resa in metano: a differenza dei lieviti, le curve seguono un andamento quasi lineare, con una pendenza in aumento al susseguirsi delle cariche, ad indicare un maggiore acclimatemento dei microrganismi al substrato. L'andamento quasi lineare delle curve è dovuto alla natura del substrato (contenente soprattutto molecole complesse) che influisce sulle cinetiche di disintegrazione e d'idrolisi. Gli indici di resa di metano (SMY) e di produzione di biogas sono riportati in tabella 5.

<

Tabella 5: Dati di resa di metano e produzione di biogas

Prova	SMY [m ³ CH ₄ /kg COD _{in}]	SGP [m ³ biog/kg TVS _{in}]
Run 1*	0,31	0,90
Run 2†	0,29	1,19
Run 3‡	0,31	1,41
Run 4♦	0,34	1,36
Run 5‡	0,37	1,24
Run 6‡	0,46	1,81

† prova condotta a 6 giorni; ‡ prova condotta a 7 giorni

♦ prova condotta a 8 giorni; * prova condotta a 12 giorni

Come per i lieviti si osserva un calo iniziale della resa in metano seguito poi da un aumento. Nel caso delle trebbie non si è però riscontrato l'instaurarsi di un processo a regime nel corso della

sperimentazione, indice della necessità di un periodo di stabilizzazione più lungo dei 48 giorni dedicati alla sperimentazione.

3.1.2.c Farine Fossili

Le farine fossili sono state utilizzate nel corso di 4 prove. Il contenuto medio di metano nel biogas è stato del 40%.

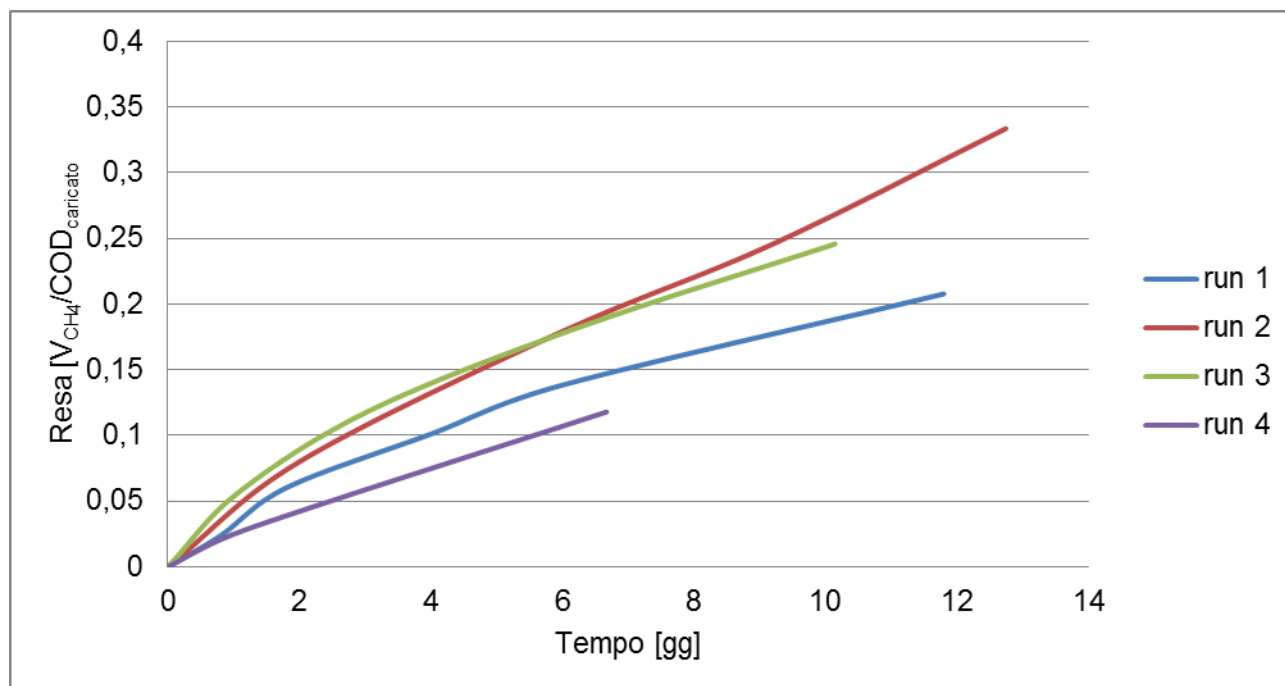


Figura 8: Curve di resa del metano ottenute dalla digestione anaerobica delle farine fossili

In figura 8 sono riportate le curve di resa del metano: come nel caso delle trebbie, anche le curve delle farine seguono un andamento quasi lineare, ma la pendenza delle curve aumenta solo dopo la prima carica, senza variare molto tra la seconda e la terza carica (run2 e run3) per poi abbassarsi molto alla quarta carica. Mentre l'aumento iniziale è una conseguenza dell'acclimatamento della comunità di microrganismi al substrato, l'anomala riduzione nella produzione durante l'ultima prova è risultata dall'accumulo di solidi pesanti ed inerti (sabbia) all'interno del reattore con conseguente blocco dell'agitazione magnetica. Gli indici di resa in metano (SMY) e di produzione di biogas (SGP) sono riportati in tabella 6.

Tabella 6: Dati di resa di metano e produzione di biogas

Prova	SMY [m ³ CH ₄ /kg COD _{in}]	SGP [m ³ biog/kg TVS _{in}]
Run 1*	0,21	0,10
Run 2†	0,33	0,16
Run 3‡	0,31	0,13
Run 4♦	0,12	0,08

*prova condotta a 12 giorni; †prova condotta a 13 giorni;

‡prova condotta a 10 giorni; ♦prova condotta a 7 giorni

In tabella 6 è ben evidenziato l'aumento iniziale con mantenimento della resa di metano fino alla run3, e cioè prima dell'inibizione dell'agitazione.

Questi risultati indicano le farine quale substrato non adatto ad uno sfruttamento di tipo anaerobico: il loro basso contenuto di materiale organico, infatti, obbliga ad alimentazioni molto ricche che, in poco tempo, rendono impossibile mantenere un livello soddisfacente di agitazione.

3.1.3 Conclusioni

Le prove di digestione anaerobica degli scarti di produzione della birra (lieviti, trebbie e farine), evidenziano una diversa potenzialità nella produzione di bio-metano, conseguenza diretta della loro diversa biodegradabilità.

La biodegradabilità, infatti, indica la potenzialità di degradazione biologica di un materiale organico. [44] Il tempo di biodegradazione è funzione della complessità molecolare del materiale d'interesse e, quindi, quanto più un substrato è ricco di molecole con struttura complessa (cellulose, lignina) tanto più è grande l'intervallo di tempo necessario per la sua degradazione biologica. Quanto detto si applica direttamente ai tre diversi reflui della birra considerati.

I lieviti evidenziano un'alta biodegradabilità, perché ricchi di zuccheri e molecole semplici come l'etanolo: da questo derivano quindi le maggiori rese di produzione di metano e l'andamento quasi esponenziale delle curve (figura 6).

Le trebbie sono dei substrati ricchi di cellulosa e proteine, molecole più complesse che quindi vengono idrolizzate più lentamente, mentre le farine fossili, principalmente ricche di materiale inerte e basso carico organico non riescono ad essere trattate con la tecnica anaerobica.

Come già detto, i dati in letteratura riguardano la digestione anaerobica del refluo di birreria come tale (comprensivo dei tre substrati considerati) con rese sperimentali che si aggirano tra i 0,15 e i 0,3 m³ CH₄/kg COD_{rem}: le prove portate a termine in questa sperimentazione hanno rilevato una resa intorno ai 0,3 m³ CH₄/kg COD_{rem} sia per i lieviti che per le trebbie.

Si può quindi concludere che lieviti e trebbie sono substrati che possono garantire una buona attività di metanogenesi. I dati di velocità di produzione sono risultati migliori per i lieviti, mentre le trebbie hanno riportato una resa migliore.

I problemi legati all'alimentazione con farine fossili hanno reso impossibile una biovalorizzazione affidabile di questo substrato.

3.2 Digestione anaerobica di fanghi di depurazione esausti e FORSU

La gestione e lo smaltimento dei fanghi di supero degli impianti di depurazione costituisce uno dei problemi più importanti sia nei paesi industrializzati che nei paesi in via di sviluppo [45,46]. I costi del loro smaltimento (di solito in discarica controllata), infatti, possono rappresentare fino al 50% del totale dei costi di gestione di un impianto [47].

Negli ultimi anni, inoltre, è cresciuta la necessità di trovare metodi di smaltimento sostenibili, a causa dei limiti e divieti imposti dalla legge, che rendono praticamente impraticabili i metodi di smaltimento tradizionali, come l'utilizzo diretto in agricoltura o il compostaggio [48].

Il concetto di sostenibilità al giorno d'oggi viene ampiamente utilizzato nei piani di sviluppo dell'attività umana. Nella pratica, la sostenibilità si realizza quando le risorse naturali o rinnovabili vengono consumate ad un ritmo pari alla velocità con cui si riformano in natura [49].

Da qui, per ottenere un efficace sistema sostenibile è necessario considerare 3 elementi fondamentali, che non possono essere tra loro disgiunti:

- L'elemento ambientale (sistema che rispetta le normative ambientali);
- L'elemento economico (economicamente accessibile, con tecnologia fattibile, e con stabilità operativa);
- L'elemento sociale (socialmente accettabile).

Al giorno d'oggi, i sistemi di gestione dei fanghi sono spesso poco efficienti e inadeguati, oppure economicamente onerosi [50].

Nel presente studio è stata effettuata, inizialmente, un'analisi sull'efficienza della digestione anaerobica di fanghi di supero generati presso l'impianto di trattamento acque del Consorzio Acquedotto del Friuli Centrale (CAFC SpA) del comune di Lignano Sabbiadoro. In un secondo tempo si è quindi studiata la possibile bio-valorizzazione di altri substrati (Frazione Organica dei Rifiuti Solidi Urbani o FORSU e tritume di mele) utilizzando gli stessi microrganismi metanigeni.

Attualmente, il digestore anaerobico di Lignano viene alimentato esclusivamente con i fanghi di supero prodotti nell'impianto di depurazione, con il duplice scopo di ottenerne la stabilizzazione e recuperare il valore energetico sotto forma di biogas. Il problema che si riscontra nella gestione del digestore anaerobico è legato ad una alimentazione non costante degli stessi fanghi, con periodi di evidente sotto-alimentazione, e ciò per il particolare funzionamento dell'impianto di depurazione di Lignano, il cui carico organico varia moltissimo durante l'anno solare. Lignano è infatti un'area turistica in cui la densità di popolazione è molto alta durante l'estate e decisamente inferiore durante il periodo invernale: è proprio durante i mesi freddi che l'impianto anaerobico manifesta un grosso problema di sotto-alimentazione, per cui la quantità di biogas che si riesce a produrre non è sufficiente nemmeno a garantire la costanza della temperatura al digestore, comportando un significativo aumento dei costi di mantenimento del trattamento anaerobico.

Dunque, l'impianto di trattamento di depurazione delle acque reflue di Lignano, in questa situazione, non assolve ai requisiti necessari per un mantenimento sostenibile.

In questo studio si è quindi ipotizzata una stagione invernale in cui, oltre ai fanghi del depuratore (pochi e insufficienti) al digestore di Lignano venissero alimentati anche altri possibili substrati, per un processo finale di co-digestione anaerobica.

Come già detto, il primo substrato considerato, per la sua disponibilità a livello locale, è stata la FORSU, frazione ricca di sostanza organica biodegradabile, notoriamente adatta per la digestione anaerobica [51;52]: si è quindi considerata la possibile evoluzione di un sistema di co-digestione fanghi di supero-FORSU, con lo scopo di migliorare l'efficienza del digestore anaerobico, in particolare nei mesi invernali, e di mantenere una stazionarietà di funzionamento per il lo stesso reattore anaerobico durante l'intero anno solare. A questo scopo, la sperimentazione da laboratorio ha visto un primo stadio di biovalorizzazione del fango di supero industriale seguito da un secondo stadio in cui, con gli stessi microrganismi, sono stati trattati altri due substrati, la stessa FORSU ed il tritume di mele.

3.2.1 Caratterizzazione e impostazione delle prove

3.2.1.a Fanghi:

I fanghi sono stati campionati dall'Impianto di depurazione acque civili di Lignano Sabbiadoro, ed analizzati all'arrivo in laboratorio. Nelle tabelle 7 ed 8 vengono riportati i risultati della caratterizzazione iniziale per i fanghi di digestione (microrganismi, tabella 7) e quelli di supero (biomassa, tabella 8).

Tabella 7: *Caratterizzazione dei fanghi di digestione*

campione	TS [g/L]	TVS [g/L]	COD _{tot} [g/L]
Fanghi anaerobici	22,41	12,94	18,96

Tabella 8: *Caratterizzazione dei fanghi di supero*

campione	TS [g/L]	TVS [g/L]	COD _{tot} [g/L]
Sedimentatore I	9,3	5,07	17,74
Sedimentatore II	10,88	6,8	8,43
Pre-ispessitore	14,44	7,60	9,91

Per quanto riguarda i fanghi di supero (tabella 8), sono stati prelevati campioni da diverse vasche dell'impianto depurativo, corrispondenti a diversi stadi del processo di trattamento delle acque reflue. La sperimentazione è stata effettuata sui fanghi del pre-ispessitore, essendo questi i fanghi che vengono destinati all'alimentazione del digestore anaerobico in impianto.

3.2.1.b Substrati:

Come detto, per il secondo stadio del processo di digestione anaerobica sono stati considerati due diversi substrati: il tritume di mela e la FORSU. La FORSU è stata fornita dall'impianto rifiuti urbani Iris (Isontina reti integrate e servizi) nel comune di Moraro, mentre il tritume di mela è stato preparato in laboratorio.. I dati delle caratterizzazioni sono presentati in tabella 9.

Tabella 9: Caratterizzazione dei substrati solidi

campione	TS [g/g _{tsq}]	TVS [g/g _{tsq}]	COD _{tot} [g/g _{TS}]
Tritume di mela	0,16	0,15	0,89
FORSU	0,33	0,26	0,97

La sperimentazione in laboratorio è stata organizzata caricando i quattro reattori di figura 3 con alimentazioni diverse, sia nei fanghi di supero (biomassa) che in quelli di digestione (microrganismi): questa scelta è stata fatta considerando la situazione reale del digestore di impianto che, come detto, è sottoposto ad una carica che può variare di molto durante l'intero arco dell'anno. Due reattori (il primo ed il quarto di figura 3, R1 ed R4) sono stati caricati, rispettivamente, in difetto (rapporto 2/2.5) ed in eccesso (rapporto 2.5/2) di fanghi metanigeni rispetto a quelli di supero, mentre i due reattori centrali di figura 3 (R2 ed R3) sono stati caricati con percentuali equivalenti dei due fanghi (rapporto 1/1), ma con quantità caricate diverse.

In tabella 10 vengono riportate le condizioni di alimentazione imposte.

Tabella 10: Alimentazioni dei quattro reattori da laboratorio

campione	Fango metanigeno [L]	Fango di supero [L]	Acqua [L]
Reattore 1 (R1)	2,0	2,5	0,0
Reattore 2 (R2)	2,0	2,0	0,5
Reattore 3 (R3)	1,5	1,5	1,0
Reattore 4 (R4)	2,5	2,0	0,0

3.2.2 Risultati delle prove di bio-metanazione

3.2.2.a Primo stadio: prove di digestione anaerobica dei fanghi di supero

In figura 9 sono riportate le rese di produzione di metano dei reattori, relative alle diverse composizioni dei fanghi caricati riportate in tabella 10. Nel grafico la resa viene riportata in funzione del COD rimosso dai reattori.

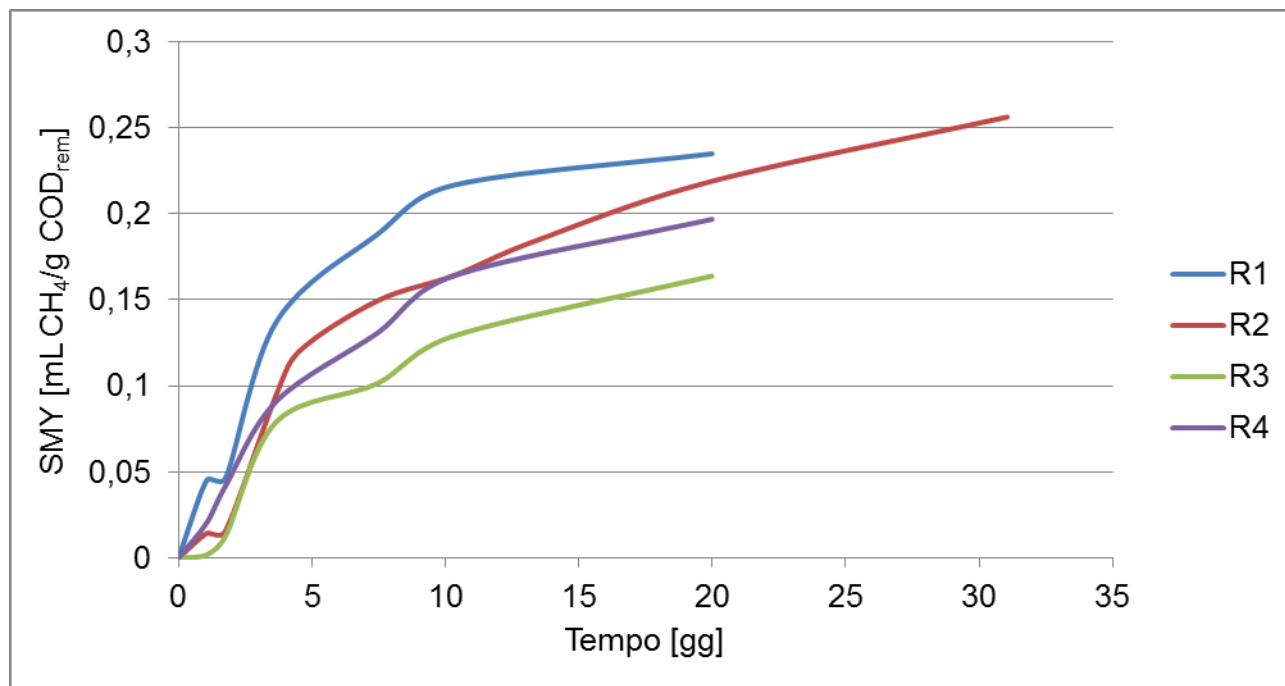


Figura 9: Curve di resa del metano ottenute dalla digestione anaerobica dei fanghi di supero

Tutte e quattro le curve di figura 9 fanno riferimento ad un'unica alimentazione iniziale che, per tre dei quattro reattori (R1, R3 ed R4) è stata poi seguita, dopo 20 giorni di sperimentazione (secondo stadio), da una carica di altri substrati (tritume di mele e FORSU). Per il reattore R2, invece, la prova è continuata oltre i 20 giorni, senza ulteriori cariche, per un problema di impianto (al trasduttore di pressione) ed è quindi stata mantenuta, quale riferimento, per un tempo superiore.

Le curve di produzione di figura 9 presentano un andamento simile ma sfasato fra loro.

La curva relativa a R3, ossia al reattore caricato con un volume minore di entrambi i fanghi (metanigeni e di supero), riporta, naturalmente, la curva di produzione più bassa.

Due curve sono quasi sovrapponibili (R2 ed R4) e sono quelle relative ad una uguale alimentazione dei fanghi di supero: in questo caso sembra che la presenza dei microrganismi, anche in quantità inferiore (in R2), sia comunque sufficiente ad ottenere una buona produzione di metano.

Infine la curva del primo reattore di digestione (R1) raggiunge valori di produzione di biometano superiori, come logica conseguenza di una maggiore carica iniziale dei fanghi di supero (ed una comunque sufficiente presenza di microrganismi).

In tabella 11 sono riportati i valori di resa di metano (SMY) e di produzione di biogas (SGP) ottenute alla fine della sperimentazione. Questa è stata di 20 giorni per tre reattori mentre per il

quarto, reattore R2, ha riguardato un arco di tempo superiore (33 giorni) con conseguente aumento nella resa SMY.

Tabella 11: *Dati di resa di metano e produzione di biogas a 20 giorni*

Prova	SMY [m ³ CH ₄ /kg COD _{rem}]	SGP [m ³ biog/kg TVS _{in}]
R 1 [†]	0,23	0,17
R 2*	0,26	0,21
R 3 [†]	0,16	0,20
R 4 [†]	0,20	0,21

*Prova condotta a 33 giorni; †Prova condotta a 20 giorni

3.2.2.b Secondo stadio: prove di digestione anaerobica con altri substrati

Come nel caso dei reflui da birra, la sperimentazione con il solo fango di supero è stata bloccata nel momento in cui, per ogni reattore, la produzione di biogas raggiungeva un valore minimo di 15 mL/h, tale da far considerare sufficientemente consumato il COD iniziale: per i tre reattori (R1, R3 ed R4) questa condizione si è verificata dopo 20 giorni di sperimentazione.

A questo punto è iniziata la seconda parte della sperimentazione con una carica successiva di diversi substrati (come detto tritume di mela e FORSU) ad uguale carico organico (3g COD).

Il reattore R1 è stato caricato con tritume di mela, il reattore R3 con una seconda aliquota di fanghi di supero ed il reattore R4 con FORSU.

Solo per i reattori R1 ed R4 è stata poi effettuata una ulteriore carica di substrato.

L'intera sperimentazione ha avuto una durata di circa 15 giorni.

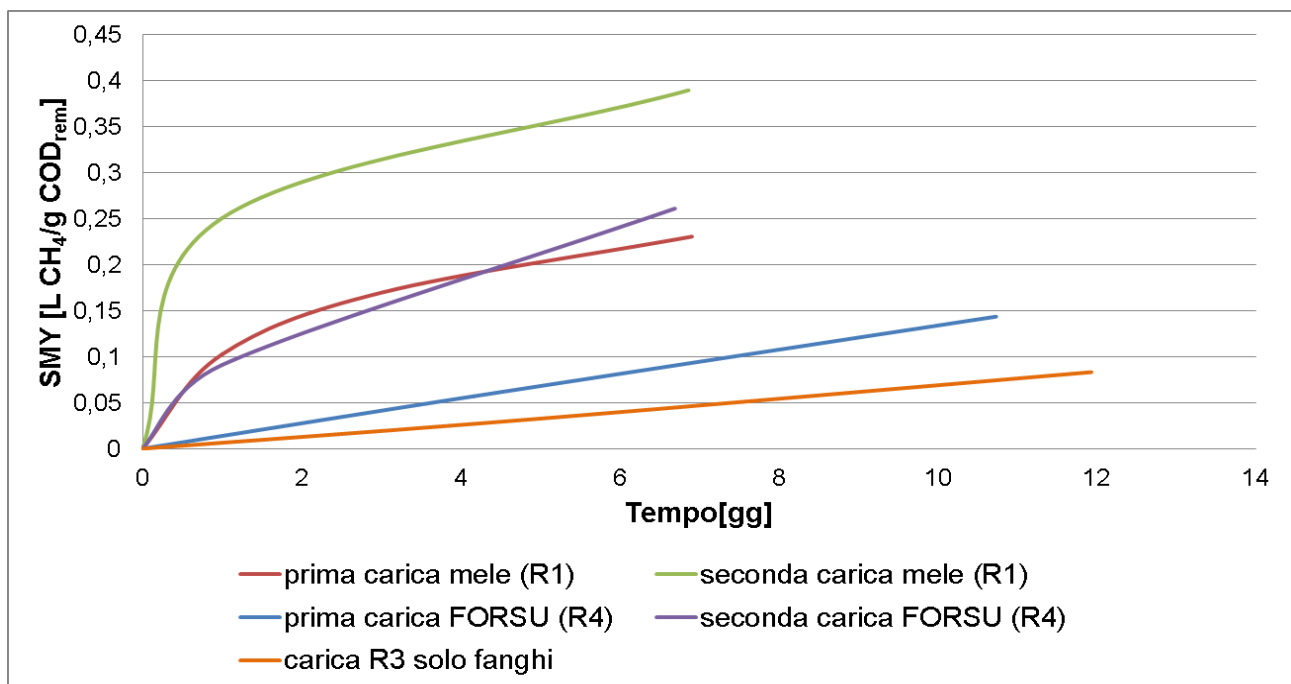


Figura 10: Curve di resa del metano ottenute dalla digestione anaerobica dei substrati alimentati dopo i fanghi di supero. Sono state eseguite due prove di alimentazione sia per il tritume di mela, sia per la FORSU

Le curve di figura 10 mostrano andamenti diversi in funzione dei diversi substrati caricati: il reattore R3, con una nuova carica di fango di supero, non riesce a superare, dopo 10 giorni, il valore di SMY pari a 0,1 [LCH₄/gCOD_{rem}], con un trend (a 10 giorni) simile al reattore R2 preso come riferimento: Per il fango di supero, quindi, la resa in bio-metano risulta sempre inferiore a quella degli altri substrati.

I risultati delle prove ai reattori R1 ed R4, infatti, comportano delle curve sempre più alte rispetto a R3 (ed R2) anche se non raggiungono, nelle due settimane di sperimentazione, un processo a regime.

Questo diverso comportamento è, naturalmente, funzione delle diverse caratteristiche di bio degradabilità dei due substrati alimentati. Il tritume di mele è certamente molto più veloce da degradare (perché composto essenzialmente da zuccheri semplici) mentre la FORSU, pur essendo formata da un numero importante di composti complessi, evidenzia comunque una degradabilità superiore a quella del fango di supero (anche se la prima carica di FORSU impiega molto tempo, circa 11 giorni, per avere una minima produzione di biogas). Questo risultato è confermato dai dati di SMY e SGP di tabella 12.

Tabella 12: *Dati di resa di metano e produzione di biogas*

Prova	SMY [m ³ CH ₄ /kg COD _{car.}]	SGP [m ³ biog/kg TVS _{in.}]
R1 Mela1* (7 gg)	0,33	0,86
R1 Mela2* (7 gg)	0,43	0,84
R3 Fanghi‡ (12 gg)	0,20	0,10
R4 FORSU1† (11 gg)	0,26	0,82
R4 FORSU2* (7 gg)	0,36	0,84

*Prova condotta a 7 giorni; †Prova condotta a 11 giorni; ‡Prova condotta a 12 giorni

3.2.3 Conclusioni

I risultati della sperimentazione confermano la possibile bio-degradazione da parte dei fanghi metanogeni industriali di substrati diversi dai fanghi di supero. Così è possibile suggerire un utilizzo di cariche quali gli scarti della produzione di mele o la frazione FORSU per una eventuale co-digestione all'interno del digestore di Lignano nei mesi di basso carico al depuratore.

Nelle prove sperimentali per il tritume di mela la resa di metano calcolata sui TVS è stata pari a 0,35 m³ CH₄/kg TVS_{car.}, in accordo con più dati di letteratura che riportano rese tra i 0,28 e i 0,32 m³ CH₄/kg TVS_{car.} [53;54]

La FORSU ha ottenuto una resa in metano, sempre calcolata sui TVS, pari 0,38 m³ CH₄/kg TVS_{car.}; anche questo dato è risultato in accordo con dati di letteratura che, vista la complessità della frazione, riportano rese comprese tra i 0,16 e i 0,53 m³ CH₄/kg TVS_{car.} [55;56]

3.3. Digestione anaerobica di insilato di mais a due stadi

Il continuo aumento del fabbisogno energetico, combinato con la limitata disponibilità dei combustibili fossili e soprattutto con la gravità del danno ecologico/climatico da essi causato, ha orientato la ricerca verso lo sviluppo dello sfruttamento di fonti energetiche diversificate, che possano essere allo stesso tempo rinnovabili e bio-sostenibili. In origine, con la digestione anaerobica si era inteso trattare solo fanghi biologici risultanti dal trattamento aerobico delle acque reflue. In tempi più recenti, l'interesse dell'utilizzo di un vettore energetico quale il biogas ha dato sviluppo alla ricerca per il trattamento anaerobico su colture dedicate a questo processo [57-59].

Tra le varie colture prese in esame, il mais (o, meglio, l'insilato di mais) ha messo in evidenza molto interesse in ragione dei costi di coltivazione e dei costi di trasformazione in biogas. I conseguenti numerosi studi dedicati all'uso del mais come substrato nella digestione anaerobica hanno evidenziato un problema non indifferente: la produzione di biogas, e quindi di metano, infatti, è estremamente variabile e dipende da una serie di fattori tra i quali [60-62]:

- Il periodo di raccolta;
- Il tempo d'insilaggio;
- La varietà del mais.

Per questo, nonostante l'estensione degli studi sul mais, ancora oggi non si è riusciti ad individuare condizioni ottimali del processo di digestione applicabili a qualunque situazione [63].

Date queste premesse, proprio in casi di questo tipo, i sistemi di digestione a due stadi potrebbero rappresentare un'alternativa interessante rispetto alla digestione a singolo stadio.

Nel processo bi-stadio, infatti, il primo step, è dedicato allo sviluppo del processo idrolitico (di demolizione) di acidogenesi ed acetogenesi, con la formazione di acidi grassi volatili, CO₂, H₂ ed acido acetico. L'utilizzo di un ambiente che lavora in condizioni ideali per la fase idrolitica (a pH acido, normalmente antagonista al processo di metanogenesi) permetterebbe, quindi, di degradare efficacemente la maggior parte della frazione biodegradabile del COD di un generico substrato (anche complesso) per poi passare al successivo stadio di metanogenesi mantenuto alle proprie condizioni ideali.

3.3.1 Caratterizzazione e impostazione delle prove

3.3.1.a Fanghi:

I fanghi (microrganismi) di ogni stadio (primo di idrolisi e secondo di metanogenesi) sono stati campionati presso lo stabilimento di Pomposa (FE) di Conserve Italia Soc. Coop. Agr., ed analizzati all'arrivo in laboratorio. In tabella 13 vengono riportati i risultati della loro caratterizzazione.

Tabella 13: *Caratterizzazione dei fanghi di digestione*

Campione	TS [g/L]	TVS [g/L]	COD _{tot} [g/L]
Primo stadio	64,55	56,18	74,26
Secondo stadio	37,38	29,00	38,84

4.3.1.b Substrato:

Anche l'insilato di mais utilizzato in queste prove è stato fornito dallo stabilimento di Pomposa (FE) di Conserve Italia Soc. Coop. Agr.

I risultati delle analisi effettuate il giorno dopo l'arrivo in laboratorio, sono presentati in tabella 14.

Tabella 14: *Caratterizzazione dei substrati*

Campione	TS [g/g _{ts}]	TVS [g/g _{ts}]	COD _{tot} [g/g _{TS}]
Insilato di mais	0,28	0,27	1,99

La sperimentazione ha visto l'utilizzo dei quattro reattori di figura 3 a coppie di due per lo sviluppo del processo a due stadi.

Nei reattori per l'acidogenesi (R1 e R3) sono stati caricati 0,75 L di fanghi acidogenici e 3,75 L di acqua. Nei reattori destinati allo step di metanazione (R2 ed R4) sono stati caricati 1,5 L di fanghi metanogenici e 3 L di acqua.

Nei due reattori acidogenici è stato caricato insilato di mais. I reattori metanigenici sono stati caricati con il digestato prelevato dai reattori acidogenici, dopo un primo periodo di mantenimento durante il quale venivano caricati con tritume di mela.

L'alimentazione dei reattori di metanogenesi (e, di conseguenza il ripristino nei reattori del primo stadio) veniva effettuata nel momento in cui la produzione di biogas raggiungeva un valore minimo (15 mL/h) tale da far considerare completamente consumato il COD iniziale.

Per ciascuna carica è stato effettuato il prelievo di un campione di fanghi per le analisi dei solidi e del COD totale.

3.3.2 Risultati delle prove di bio-metanazione

Come detto, le prove sono state divise in due parti. Una prima fase di mantenimento in cui si sono effettuate le seguenti cariche ai reattori: mais per gli acidogeni e tritume di mela per i metanigeni. Questa fase è stata necessaria per portare a un accumulo di COD all'interno dei reattori acidogeni e per garantire l'idrolisi del substrato caricato. Successivamente, si è proceduto alla carica dei reattori metanogeni con un'aliquota prelevata dai reattori acidogeni (a cui è stata alimentata un'equivalente quantità di insilato di mais): ciò è stato fatto in due prove consecutive portando la sperimentazione ad un totale di 26 giorni. In figura 11 è riportato il grafico indicante la resa di biogas del reattore R4 di metanogenesi. Le curve di resa relative al reattore di metanogenesi R2 si trovano in appendice B.

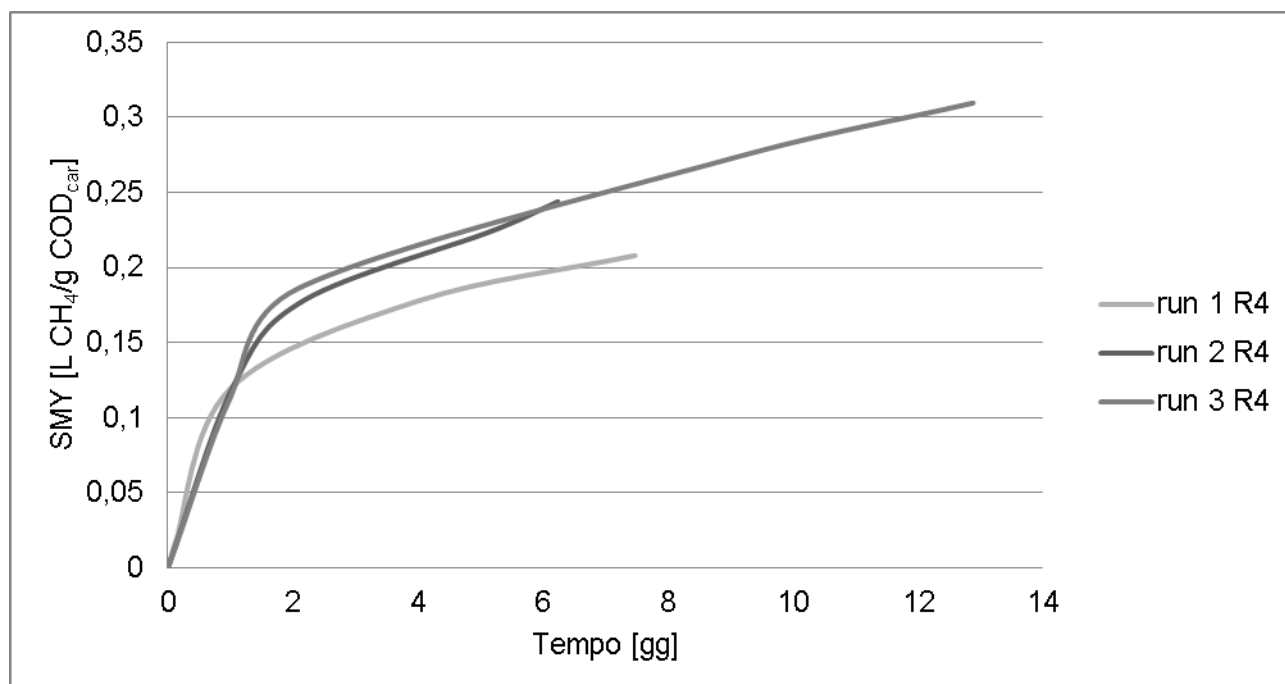


Figura 11: Curve di resa del metano ottenute dalla digestione anaerobica dei campioni prelevati dal secondo reattore di acidogenesi

I dati di resa di metano e di produzione di biogas, alla fine di ognuna delle tre sperimentazioni, sono riportati in tabella 15 per i due reattori metanogenici R2 ed R4. Si osserva un progressivo miglioramento, nel tempo, del valore di resa in metano.

Tabella 15: Dati di resa di metano e produzione di biogas

Prova	SMY [m ³ CH ₄ /kg COD _{in}]	SGP [m ³ biog/kg TVS _{in}]	Prova	SMY [m ³ CH ₄ /kg COD _{in}]	SGP [m ³ biog/kg TVS _{in}]
Run 1R2 [†]	0,25	1,47	Run 1R4 [†]	0,21	1,54
Run 2R2 [*]	0,22	1,46	Run 2R4 [*]	0,24	1,47
Run 3R2 [‡]	0,36	1,85	Run 3R4 [‡]	0,31	1,82

[†]Prova condotta a 6 giorni; ^{*}Prova condotta a 7 giorni; [‡]Prova condotta a 12 giorni

3.3.3 Conclusioni

L'insilato di mais è un substrato ricco di proteine e cellulosa, come le trebbie utilizzate nel primo periodo di sperimentazione: diversamente da queste, però, la separazione degli stadi coinvolti nella digestione anaerobica ha notevolmente migliorato la stabilità del processo, come si osserva dalle curve di resa in metano di figura 11. In effetti, dopo la stabilizzazione del primo stadio di idrolisi, la successiva alimentazione e mantenimento del secondo stadio è avvenuta senza problemi, raggiungendo condizioni a regime in un tempo relativamente breve. Parlando in termini di biodegradabilità, è chiaro che il reattore in cui avviene il primo stadio di digestione migliora la biodegradabilità del substrato iniziale grazie alle condizioni che possono garantire uno stadio di idrolisi e fermentazione in condizioni più spinte (con un pH più basso di circa 4 e maggiori concentrazioni).

3.4 Digestione anaerobica a due stadi di scarti di produzione del radicchio rosso e co-digestione con insilato di mais

Il radicchio di Treviso IGP è una varietà di cicoria che viene coltivata in determinate aree della regione veneta. Il radicchio è un ortaggio di grande importanza economica per il territorio: vengono prodotte circa 10000 tonnellate all'anno di prodotto finale, di cui un terzo è destinato all'esportazione. [web 1-2]

La produzione del radicchio di Treviso segue una specifica serie di passaggi necessari all'ottenimento del prodotto finale, durante i quali si produce anche una gran quantità di scarti (soprattutto durante l'ultima parte, dove vengono scartate tutte le foglie esterne più o meno guaste). È stimato infatti, che circa il 20-30% del totale viene scartato durante la lavorazione. [web 3]

Essendo il radicchio una coltura stagionale prevalentemente invernale, il suo scarto di lavorazione si presta come substrato ideale data la generale carenza di substrati "freschi" nei mesi più freddi.

Il radicchio, come la maggior parte degli ortaggi, presenta una composizione solida costituita prevalentemente da cellulosa, e una parte liquida costituita prevalentemente da acqua, pigmenti, e minerali.

L'alto contenuto di acqua (94g in 100 grammi di prodotto) rende questo substrato altamente biodegradabile, ma poco funzionale da un punto di vista energetico. L'alto contenuto di minerali (potassio, calcio e fosforo) e vitamine (tiamina, riboflavina e niacina) però, può rendere questo substrato un ottimo target per un sistema di co-digestione, come fonte di micronutrienti importanti per lo sviluppo dei microrganismi.[web 4]

Su questa base si è deciso di condurre una serie di prove in laboratorio a doppio stadio per la biovalorizzazione sia di singoli substrati di insilato di mais e scarti di lavorazione del radicchio (da ora indicati con il solo termine radicchio), sia della miscela dei due in un sistema di co-digestione.

Inoltre sugli stessi substrati è stata condotta anche una sperimentazione in singolo stadio allo scopo di verificare l'effettiva esistenza di un miglioramento della produzione in sistemi mantenuti, sotto le stesse condizioni operative in un sistema di digestione a due stadi.

3.4.1 Caratterizzazione e impostazione delle prove

3.4.1.a Fanghi:

I fanghi sono stati campionati presso lo stabilimento di Pomposa (FE) di Conserve Italia Soc. Coop. Agr., ed analizzati all'arrivo in laboratorio. I fanghi del primo stadio sono stati filtrati attraverso un setaccio con lume 2 mm di \varnothing ed il filtrato è stato poi analizzato ed utilizzato per lo start-up dei reattori. In tabella 16 sono riportati i risultati delle analisi dei fanghi filtrati del primo stadio e dei fanghi metanogeni.

Tabella 16: *Caratterizzazione dei fanghi di digestione*

Campione	TS [g/L]	TVS [g/L]	COD _{tot} [g/L]
Primo stadio	47,63	42,35	68,00
Secondo stadio	34,02	25,30	22,83

3.4.1.b Substrati:

L'insilato di mais utilizzato in queste prove è stato ancora fornito dallo stabilimento di Pomposa (FE) di Conserve Italia Soc. Coop. Agr. Lo scarto di radicchio è stato fornito da produzioni domestiche del Trevigiano.

I risultati delle analisi effettuate il giorno dopo l'arrivo in laboratorio, sono presentati in tabella 17.

Tabella 17: *Caratterizzazione dei substrati*

Campione	TS [g/g _{ts}]	TVS [g/g _{ts}]	COD _{tot} [g/g _{TS}]
Insilato di mais	0,33	0,33	1,48
Scarti Radicchio	0,05	0,05	1,74

Dei quattro reattori a disposizione, due (R1 e R4) sono stati caricati con fanghi metanogeni, e due (R2 ed R3) con fanghi dedicati all'acidogenesi.

I reattori metanogeni sono stati caricati con 2 L di fanghi di inoculo e 2,5 L di acqua.

I fanghi destinati alla fase di acidogenesi sono stati filtrati attraverso un setaccio con lume di \varnothing di 2mm, per eliminare residui di substrato non digeriti. 2,5 L di questi fanghi sono poi stati immessi, quale inoculo, nei reattori del primo stadio e diluiti con 2 L di acqua.

Il volume finale dei reattori è stato mantenuto a 4,5 L per evitare intasamenti nel caso di una possibile formazione di schiume.

Le prove sperimentali sono state pianificate in diverse fasi: inizialmente i fanghi acidogeni venivano caricati con solo insilato di mais, al fine di aumentare il carico organico ed ottenere una buona concentrazione di COD solubile disponibile al secondo stadio di digestione. Uno dei due reattori di questo (R1) veniva quindi caricato con aliquote idrolizzate (prelevate dai due reattori del primo stadio) e venivano eseguite le analisi della produzione di metano. L'altro reattore di metanogenesi (R4) è stato destinato alla bio-valorizzazione ad unico stadio.

In una seconda fase venivano infine caricati, al primo stadio, gli altri substrati: dapprima solo radicchio e poi una miscela al 50%, in carico organico, di radicchio ed insilato di mais. Le prove dopo ciascun cambio di substrato sono state ripetute quattro volte a tempi fissati di 7 giorni per il sistema a due stadi.

Infine, per ciascun substrato studiato (insilato di mais, radicchio e miscela dei due) sono state effettuate delle prove di bio-valorizzazione ad unico stadio le cui rese sono state poste a confronto a quelle del doppio stadio.

3.4.2 Analisi del primo stadio di idrolisi

Il controllo dell'attività di acidogenesi al primo stadio, solitamente, viene effettuata tramite la misura della produzione di anidride carbonica e idrogeno. Durante le prove condotte in questa sperimentazione, la produzione di gas nei reattori acidogeni è stata nulla per tutti i substrati caricati. Inizialmente è stato ipotizzato un fallimento dei reattori, e si è quindi cercato di recuperare la produzione di gas tramite sia un aumento del carico organico che un aumento della frequenza di carica, come suggerito in letteratura.[64;65] Nonostante ciò i reattori acidogeni continuavano a non produrre gas: a questo punto, però, è stato osservato un aumento costante del COD solubile all'interno dei reattori, a suggerire comunque un'attività di degradazione e solubilizzazione del substrato solido caricato. Il risultato ottenuto è verificabile dagli andamenti grafici delle figure 12 e 13, per la alimentazione di insilato di mais, in un mese e mezzo di fase idrolitica.

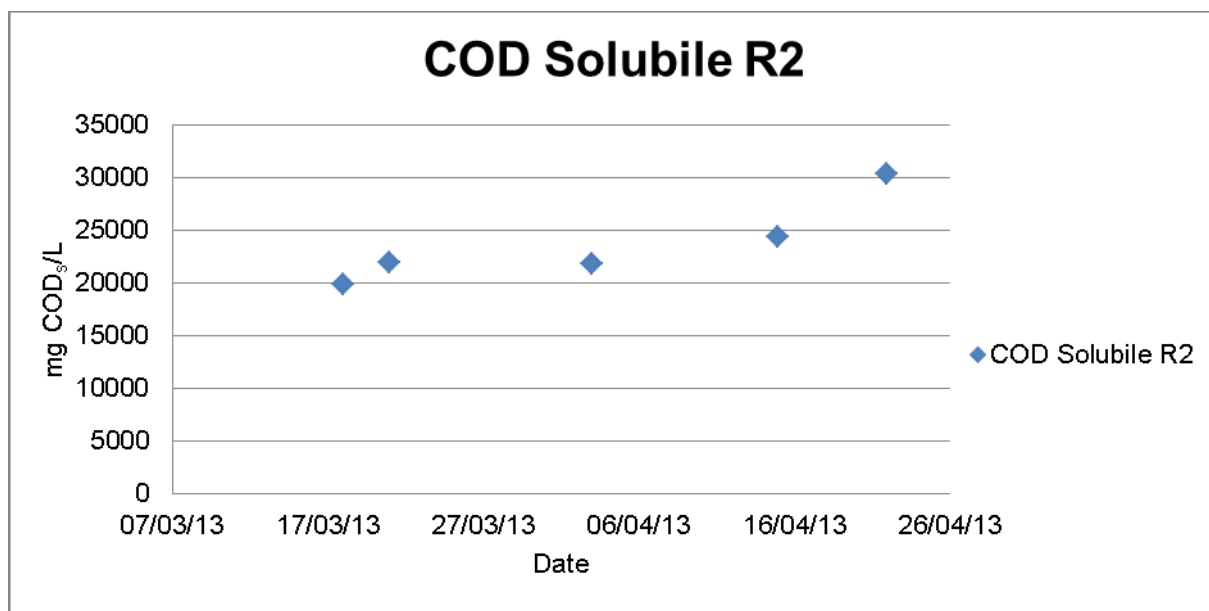


Figura 12: Valori della concentrazione di COD solubile nel primo reattore di acidogenesi

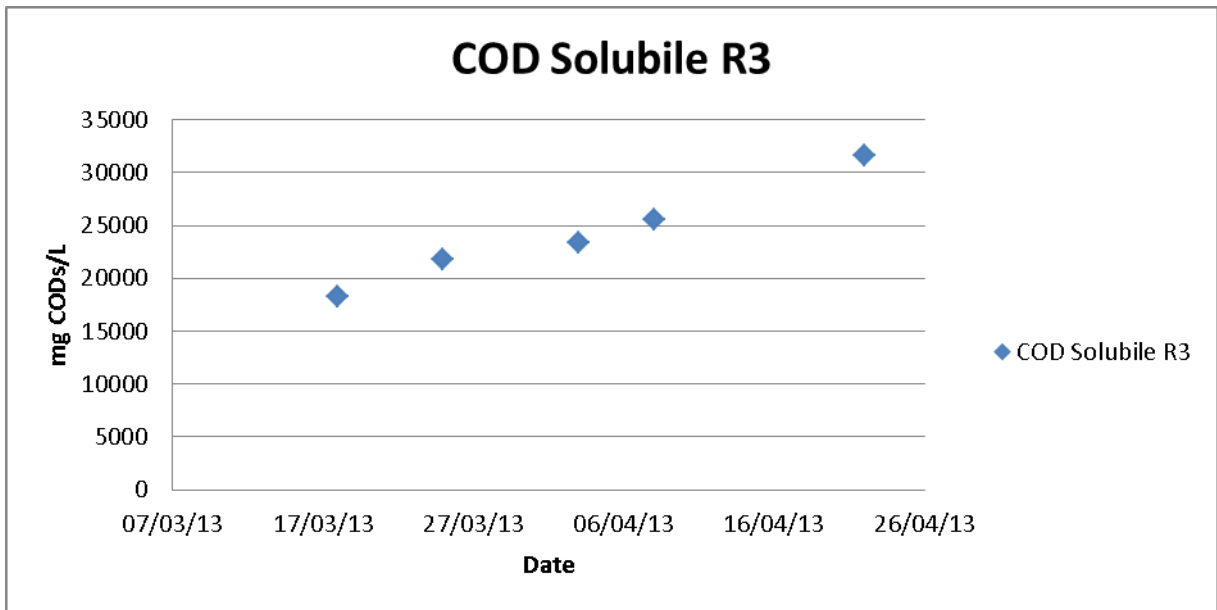


Figura 13: Valori della concentrazione del COD solubile nel secondo reattore di acidogenesi

Al fine di verificare l'effettiva presenza e composizione di substrato solubile nei reattori, è stata effettuata un'analisi gas cromatografica su un campione filtrato della fase liquida al primo stadio.. Il gascromatogramma di figura 14 si riferisce al primo stadio , alimentato con insilato di mais: l'analisi qualitativa ha rivelato un forte contenuto di acetato ed acido butanoico con minime tracce di etanolo.

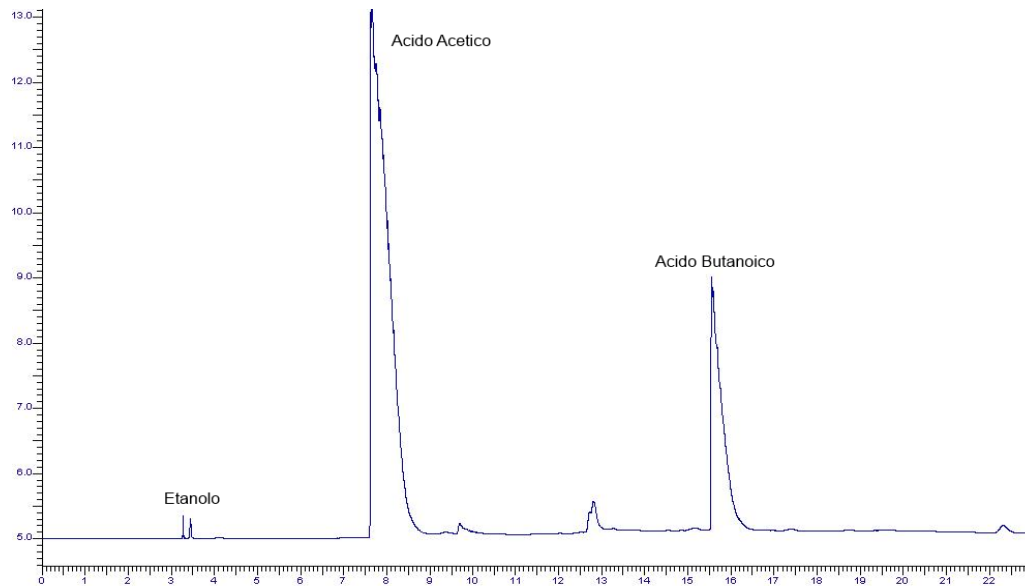


Figura 14: Gascromatogramma dell'analisi del filtrato prelevato dal primo reattore di acidogenesi, durante l'alimentazione con insilato di mais

Analoghe analisi gas cromatografiche, alla fase liquida del primo stadio, state fatte anche durante le prove di alimentazione con il solo radicchio e durante le prove di co-digestione. Gli spettri ottenuti da queste analisi (riportati nelle in figure 15 e 16) risultavano molto diversi dai precedenti con il solo insilato di mais, ad indicare un effettivo adattamento delle popolazioni dei microrganismi ai diversi substrati alimentati.

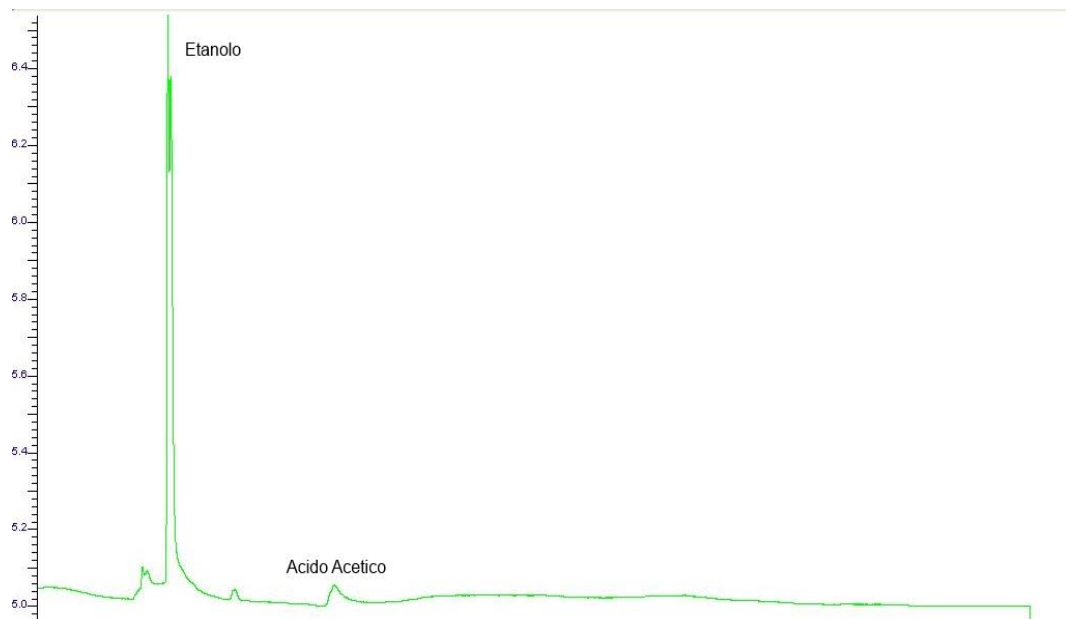


Figura 15: Gascromatogramma dell'analisi del filtrato prelevato dal primo reattore di acidogenesi, durante l'alimentazione con il radicchio rosso di Treviso

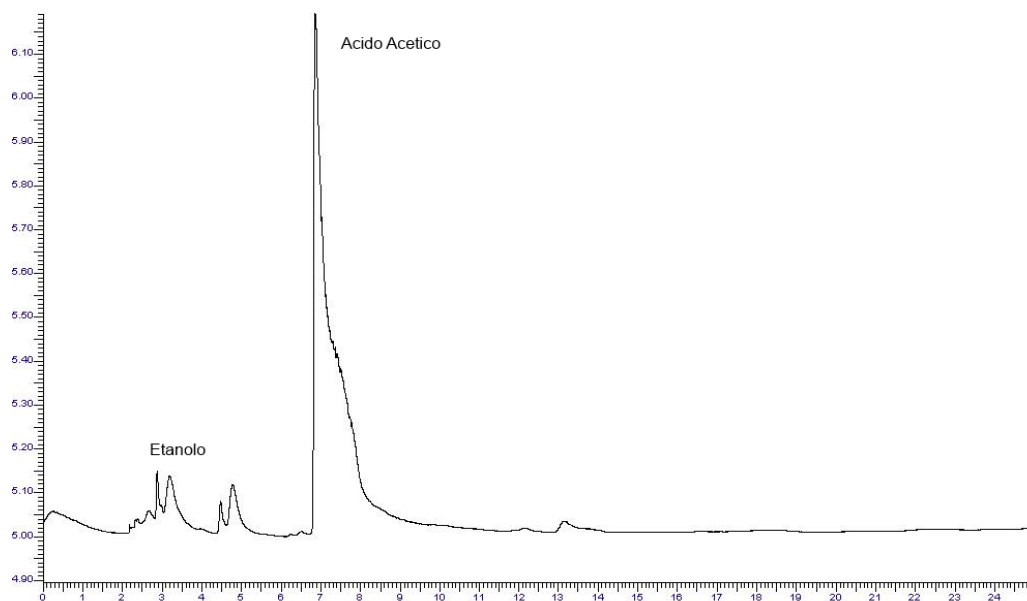


Figura 16: Gascromatogramma dell'analisi del filtrato prelevato dal primo reattore di acidogenesi, durante l'alimentazione in parti uguali (dal punto di vista di carico organico) di radicchio rosso di Treviso ed insilato di Mais

Il gascromatogramma di figura 15 è particolarmente interessante, poiché si osserva che, con la carica del solo radicchio, si ottiene un forte accumulo di etanolo nel reattore di acidogenesi, con una produzione quasi nulla di acido acetico: questo inizia a prodursi nuovamente, invece, quando vengono combinati il radicchio e l'insilato di mais nel primo stadio di codigestione di figura 16. È importante sottolineare il comportamento anomalo del primo stadio relativo al radicchio (gascromatogramma in figura 15) in cui, alla formazione di etanolo non succedeva mai la fase acetogenica di produzione di acido acetico. Questa inibizione non si verificava nel caso di insilato

di mais che quindi seguiva la classica via acido-acetogenica del primo stadio di digestione anaerobica.

L'anomalia del primo stadio del radicchio comportava quindi che, al secondo stadio, arrivasse una carica ricca in etanolo il quale veniva quindi trasformato in acido acetico (e poi in biogas) proprio dall'inoculo metanogenico. I tempi di residenza di 7 giorni imposti nella sperimentazione riuscivano quindi ad ottenere queste trasformazioni nel secondo stadio con una discreta resa in biometano dell'ordine del 50%.

Il problema del primo stadio non si verificava in maniera così importante nel caso della co-digestione in cui la gran parte di etanolo, nel primo stadio, veniva trasformata in acido acetico: l'alimentazione alla metanogenesi comunque presentava ancora dell'etanolo residuo (vedi gascromatogramma di figura 16).

3.4.3 Secondo stadio: risultati delle prove di bio-metanazione Produzione di metano

3.4.3.a Insilato di Mais

L'insilato di mais è stato caricato per quattro volte nel sistema a doppio stadio (per un totale di 35 giorni di sperimentazione) e per tre volte nel sistema a stadio singolo (per un totale di 42 giorni di sperimentazione), in figura 17 si possono osservare le curve di resa in metano relative alle ultime alimentazioni effettuate.

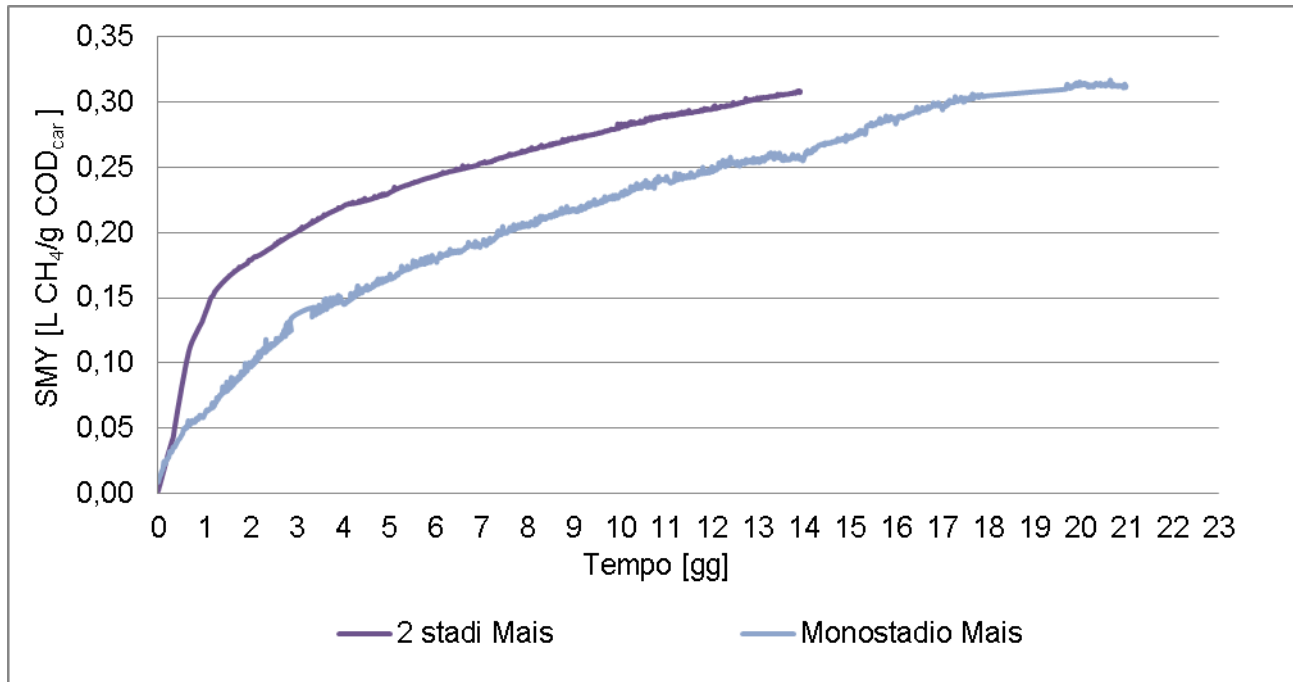


Figura 17: Curve di resa del metano ottenute dal reattore di metanogenesi del sistema a due stadi e dal reattore monostadio, quando alimentati con insilato di mais.

Come si può osservare, entrambi i processi raggiungono una resa massima che va oltre i 0,3 L CH₄/g COD_{car}. Il ritmo di produzione del mono stadio risulta sfasato rispetto al due stadi, e valori paragonabili di resa in metano vengono raggiunti con alcuni giorni di ritardo, confermando la maggiore efficienza di digestione del substrato in un sistema a regime a due stadi. In tabella 18 sono riportati i dati di resa in metano e di produzione di biogas ottenuti dalle prove di digestione a doppio e singolo stadio con insilato di mais.

Tabella 18: Dati di resa di metano e produzione di biogas della digestione di insilato di mais

Prova	SMY [m ³ CH ₄ /kg COD _{in}]	SGP [m ³ biog/kg TVS _{in}]	Prova	SMY [m ³ CH ₄ /kg COD _{in}]	SGP [m ³ biog/kg TVS _{in}]
2 stadi 1*	0,32	0,73	Monostadio 1 [‡]	0,26	0,85
2 stadi 2*	0,24	0,77	Monostadio 2*	0,20	0,79
2 stadi 3*	0,24	0,74	Monostadio 3 [^]	0,31	1,19
2 stadi 4 [†]	0,31	0,78	-	-	-

*Prova condotta a 7 giorni; [†]Prova condotta a 14 giorni; [‡]Prova condotta a 9 giorni; [♦]Prova condotta a 12 giorni; [^]Prova condotta a 21 giorni

3.4.3.b Radicchio

Sono state portate a termine 4 prove di digestione anaerobica degli scarti di produzione di radicchio, sia per le prove a monostadio (per un totale di 35 giorni di sperimentazione), che per le prove a due stadi (per un totale di 37 giorni di sperimentazione). In figura 18 si possono osservare le curve di resa di metano per le ultime alimentazioni dei due sistemi.

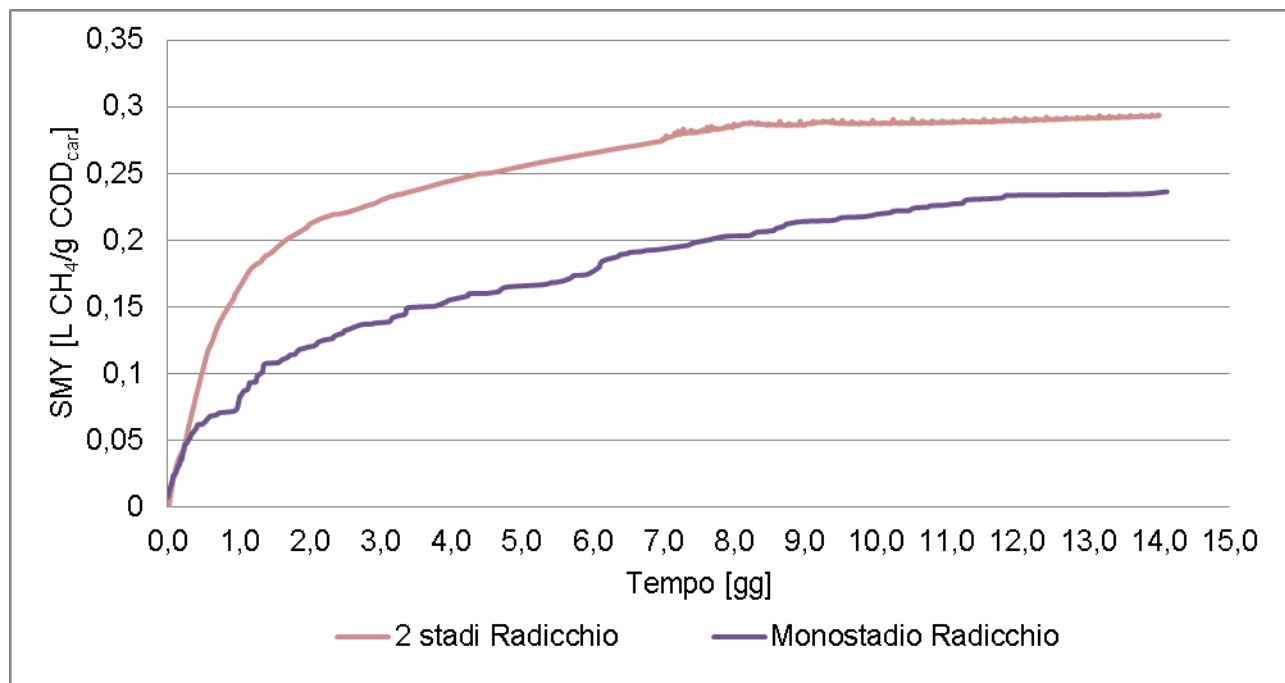


Figura 18: Curve di resa del metano ottenute dal reattore di metanogenesi del sistema a due stadi e dal reattore monostadio, quando alimentati con radicchio rosso di Treviso.

In questo caso, rispetto alle prove con insilato di mais, la differenza di resa tra i due processi è più netta, il monostadio infatti non raggiunge mai il punto di massima resa raggiunto dal sistema a due stadi. Ciò è confermato dai valori di SMY e SGP, relativi alla fine di ogni prova sperimentale, riportati in tabella 19 (con valori certamente inferiori rispetto a quelli raggiunti dall'insilato di mais).

Tabella 19: Dati di resa di metano e produzione di biogas della digestione del Radicchio di Treviso

Prova	SMY [m ³ CH ₄ /kg COD _{in}]	SGP [m ³ biog/kg TVS _{in}]	Prova	SMY [m ³ CH ₄ /kg COD _{in}]	SGP [m ³ biog/kg TVS _{in}]
Bi-stadio 1*	0,23	0,61	Monostadio 1 [‡]	0,19	0,49
Bi-stadio 2*	0,24	0,65	Monostadio 2*	0,20	0,47
Bi-stadio 3*	0,24	0,74	Monostadio 3*	0,21	0,49
Bi-stadio 4 [†]	0,29	0,74	Monostadio 4 [†]	0,20	0,49

* Prova condotta a 7 giorni; [‡] prova condotta a 10 giorni; [†] prova condotta a 14 giorni;

3.4.3.c Miscela di mais e radicchio

Per l'ultima fase di sperimentazione è stata utilizzata una miscela di mais e radicchio in cui i due substrati apportavano ciascuno il 50% del carico organico e quindi del COD alimentato ai reattori. Questi sono stati così alimentati per 4 prove consecutive (per un totale di 30 giorni di sperimentazione per il doppio stadio e di 42 giorni di sperimentazione per lo stadio singolo). In figura 19 si possono osservare le curve di produzione nei reattori metanogeni per le ultime cariche dei due sistemi.

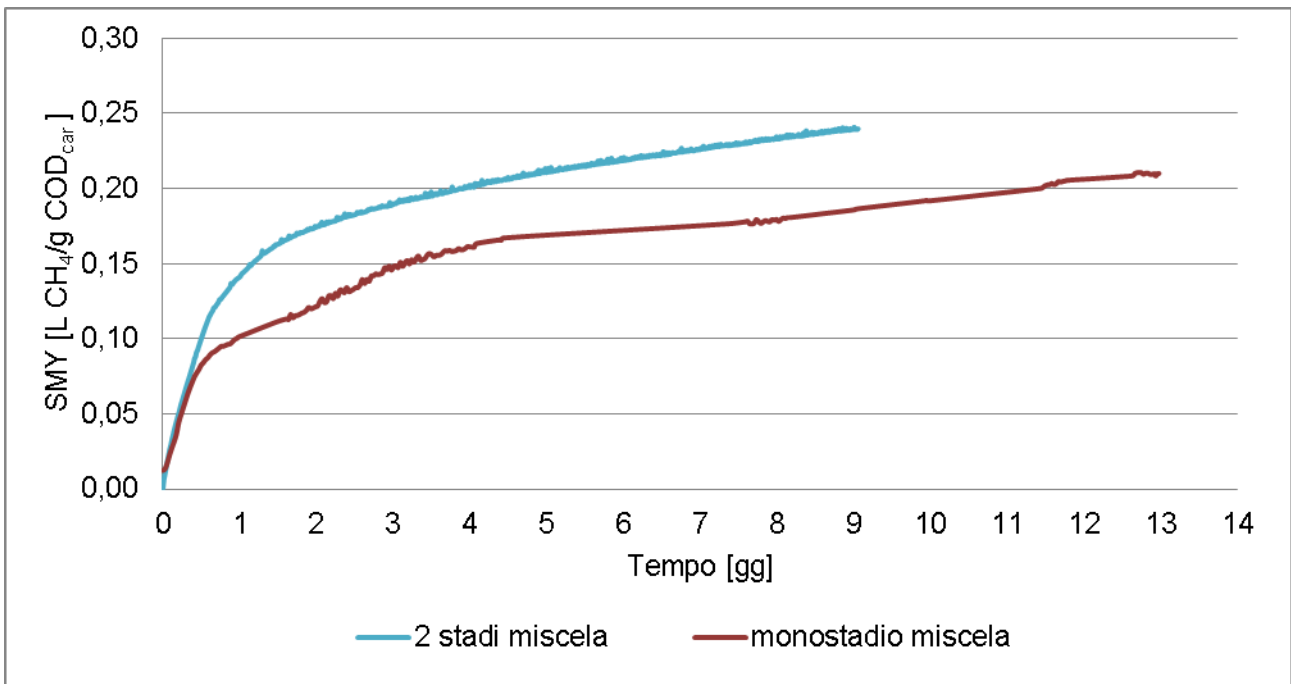


Figura 19: Curve di resa del metano ottenute dal reattore di metanogenesi del sistema a due stadi e dal reattore monostadio, ottenuti dalle prove di codigestione.

Come si vede dal grafico, la produzione di metano in entrambi i reattori si è notevolmente ridotta rispetto alla produzione con solo insilato di mais; il reattore metanogeno del sistema due stadi (2 stadi miscela) raggiunge una resa in metano di 0,2 L CH₄/g COD_{car} in circa 4 giorni, e cioè in un tempo praticamente doppio rispetto alle prove bi-stadio con i substrati separati (vedi figure 17 e 18).

Lo stesso risultato si verifica anche nel sistema monostadio (monostadio miscela), dove una resa in metano di 0,2 L CH₄/g COD caricato è raggiunta nell'arco di circa 11 giorni, rispetto i 7 richiesti nelle prove con i substrati caricati singolarmente.

Questi andamenti suggeriscono un possibile effetto inibitorio provocato dai due substrati posti in miscela. Del resto, le già commentate analisi gas cromatografiche riportate dalle figure 14-16 avevano evidenziato i diversi prodotti di acidogenesi ottenuti per i due substrati (acido acetico per l'insilato di mais ed etanolo per il radicchio): questo, nel caso di miscele, sembra portare ad una bassa specializzazione delle popolazioni di microrganismi metanogeni con conseguente riduzione della produzione di metano e di biogas come riportato in tabella 20.

Tabella 20: Dati di resa di metano e produzione di biogas della co-digestione con insilato di mais e radicchio

Prova	SMY [m ³ CH ₄ /kg COD _{in}]	SGP [m ³ biog/kg TVS _{in}]	Prova	SMY [m ³ CH ₄ /kg COD _{in}]	SGP [m ³ biog/kg TVS _{in}]
Bi-stadio 1*	0,21	0,73	Monostadio 1*	0,12	0,34
Bi-stadio 2*	0,24	0,72	Monostadio 2*	0,24	0,61
Bi-stadio 3*	0,22	0,67	Monostadio 3*	0,20	0,53
Bi-stadio 4 [†]	0,24	0,67	Monostadio 4 [‡]	0,21	0,60

*Prova condotta a 7 giorni; [†]prova condotta a 8 giorni; [‡]prova condotta a 9 giorni; [‡]prova condotta a 13 giorni

Studi sulla specializzazione delle popolazioni di *Methanosarcina* hanno dimostrato l'esistenza di una specializzazione dei microrganismi in funzione del tipo di substrato alimentato, ossia di una variazione statisticamente significativa nell'espressione di geni responsabili della via metabolica di metanogenesi. [66, 67]

La ridotta produzione di metano riscontrata durante la prova di co-digestione potrebbe quindi essere una conseguenza di una mancata (e marcata) specializzazione dei microrganismi metanogeni a causa della contemporanea presenza di etanolo e acido acetico.

In realtà c'è da aggiungere che le ultime prove di co-digestione sono state condotte con gli inoculi del secondo stadio "più anziani" cioè con fanghi aventi già 6 mesi di attività. Questo potrebbe anche aver influito sulla produzione di biogas e quindi inficiare in parte l'ipotesi dell'inibizione reciproca dei due substrati.

3.4.4 Conclusioni

In questa ultima campagna sperimentale si è voluta confrontare la possibile bio-valorizzazione di due diversi substrati, insilato di mais e scarti di lavorazione del radicchio di Treviso, con sistemi di digestione anaerobica a singolo e doppio stadio.

Si è quindi messa a punto una metodologia di prove che ha consentito di condurre le stesse, sia in singolo che in doppio stadio simultaneamente e alle stesse condizioni operative (temperatura, volume, concentrazione di fanghi nel reattore). I risultati ottenuti hanno confermato l'effettivo miglioramento del processo condotto con il sistema a 2 stadi.

I dati sperimentali delle prove di digestione anaerobica con solo insilato di mais sono risultati conformi a quelli riportati in letteratura [68].

Le prove di codigestione hanno inoltre evidenziato una mancanza di affinità tra i due substrati considerati. Ciò ha fatto immaginare un possibile effetto inibitorio alla produzione di biogas in caso di co-digestione anaerobica. Questa ipotesi è comunque da verificare con prossime sperimentazioni perché anche l'avanzata età dei fanghi metanogenici potrebbe spiegare in parte la minore attività dimostrata durante la co-digestione.

Capitolo 4 Sviluppo di un modello matematico

4.1. ADM1

Come già descritto nel capitolo 1, la digestione anaerobica è un processo che coinvolge una serie di processi paralleli ed interconnessi tra loro.

Esistono diverse proposte di modello in letteratura, tra i quali il modello ADM1 definito dal gruppo di ricerca IWA è quello più noto ed utilizzato.

L'ADM1 suddivide le reazioni coinvolte nella digestione anaerobica in due gruppi: *processi biochimici* (ossia reazioni enzimatiche di tipo extra- ed intracellulare) e *processi chimico-fisici* (ossia trasformazioni che non dipendono dall'attività enzimatica).

Processi biochimici

Il modello considera le reazioni intracellulari di acidogenesi, acetogenesi e metanogenesi, e le reazioni extracellulari di disintegrazione ed idrolisi.

La disintegrazione include sia il processo di solubilizzazione di un substrato solido, sia il processo di decadimento cellulare in seguito alla morte dei microrganismi. L'idrolisi segue la disintegrazione e coinvolge il substrato solubilizzato sotto forma di molecole complesse. Questi processi extracellulari vengono definiti con cinetiche di primo ordine.

Viene utilizzata una cinetica di tipo Monod per l'assorbimento e l'utilizzo dei composti coinvolti nelle reazioni intracellulari.

La crescita cellulare è inclusa nelle cinetiche di Monod, mentre la morte cellulare viene rappresentata da una cinetica di primo ordine.

Sono incluse anche funzioni per descrivere gli effetti inibitori del pH, del idrogeno e dell'ammoniaca libera.

Il modello inoltre include anche cinetiche monod secondarie per i processi che utilizzano azoto inorganico, e per i processi che utilizzano il valerato ed il butirato. Le espressioni delle cinetiche biochimiche sono presentate in figura 20 che riporta la matrice Peterson creata secondo il formato di Henze et. Al (1986).[69]

Processi chimico-fisici

In questo caso si parla di trasformazioni non mediate dai microrganismi che avvengono comunemente nei digestori anaerobici. In questa categoria vengono incluse: trasformazioni di tipo liquido-liquido (dissociazioni/associazioni ioniche) e fenomeni di diffusione tra la fase gassosa e la fase liquida. Le trasformazioni che coinvolgono la fase solida (precipitazione, solubilizzazione) non sono incluse nel modello.

Il modello utilizza equazioni di tipo algebrico per descrivere i processi chimico-fisici, che vengono implementati a seconda delle condizioni che devono essere simulate.

Il modello ADM1 quindi, utilizza una vasta gamma di equazioni algebrico differenziali più o meno complesse ed interconnesse, la cui risoluzione non è fattibile con un semplice foglio di calcolo. [70]

Biochemical rate coefficients (V_{ij}) and kinetic rate equations (p_i) for particulate components ($i = 13-24; j = 1-19$): This matrix is the core of ADM1 (D.J.Batstone, J. K. I. S. V. K. G. P. A. R. W. T. M. S. H. S. A. V. 2002); It shows the reaction stoichiometry and the reaction kinetics with every inhibition. Table 67.

component i →	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	Rate (ρ_i , kg COD·m ⁻³ ·d ⁻¹)	
j down	S_{su}	S_{aa}	S_{ha}	S_{sa}	S_{bu}	S_{pro}	S_{ac}	S_{h2}	S_{ch4}	S_{ic}	S_{in}	S_{i1}	X_c	X_{th}	X_{pr}	X_{hi}	X_{su}	X_{aa}	X_{ha}	X_{sa}	X_{bu}	X_{pro}	X_{ac}	X_{h2}	X_i	
1 Disintegration												$f_{d,inc} - 1$	$f_{d,inc} - 1$	$f_{d,inc} - 1$	$f_{d,inc} - 1$	$f_{d,inc} - 1$										$k_{dis} X_c$
2 Hydrolysis Carbohydrates	1																									$k_{hyd} X_c$
3 Hydrolysis of Proteins		1																								$k_{hyd} X_c$
4 Hydrolysis of Lipids			1																							$k_{hyd} X_c$
5 Uptake of Sugars																										$k_{m,aa} \cdot \frac{S_{su}}{K_s + S_{su}} \cdot X_{su} \cdot I_1$
6 Uptake of amino-acids																										$k_{m,aa} \cdot \frac{S_{aa}}{K_s + S_{aa}} \cdot X_{aa} \cdot I_1$
7 Uptake of LCFA																										$k_{m,fa} \cdot \frac{S_{fa}}{K_s + S_{fa}} \cdot Y_{fa} \cdot I_2$
8 Uptake of Valerate																										$k_{m,va} \cdot \frac{S_{va}}{K_s + S_{va}} \cdot X_{va} \cdot \frac{1}{1 + S_{bu}/S_{bu}}$
9 Uptake of butyrate																										$k_{m,ba} \cdot \frac{S_{bu}}{K_s + S_{bu}} \cdot X_{ba} \cdot \frac{1}{1 + S_{bu}/S_{bu}}$
10 Uptake of propionate																										$k_{m,pr} \cdot \frac{S_{pro}}{K_s + S_{pro}} \cdot X_{pro} \cdot I_2$
11 Uptake of Acetate																										$k_{m,ac} \cdot \frac{S_{ac}}{K_s + S_{ac}} \cdot X_{ac} \cdot I_3$
12 Uptake of Hydrogen																										$k_{m,h2} \cdot \frac{S_{h2}}{K_s + S_{h2}} \cdot X_{h2} \cdot I_4$
13 Decay of X su																										$k_{dec,su} X_{su}$
14 Decay of X aa																										$k_{dec,aa} X_{aa}$
15 Decay of X fa																										$k_{dec,fa} X_{fa}$
16 Decay of X ca																										$k_{dec,ca} X_{ca}$
17 Decay of X pro																										$k_{dec,pro} X_{pro}$
18 Decay of X ac																										$k_{dec,ac} X_{ac}$
19 Decay of X h2																										$k_{dec,h2} X_{h2}$
																										Inhibition factors: $I_1 = \frac{1}{1 + K_{i1} \cdot I_{in,1}}$ $I_2 = \frac{1}{1 + K_{i2} \cdot I_{in,2} + K_{i3} \cdot I_{in,3}}$ $I_3 = \frac{1}{1 + K_{i3} \cdot I_{in,3} + K_{i4} \cdot I_{in,4}}$ $I_4 = \frac{1}{1 + K_{i4} \cdot I_{in,4}}$ Free ammonia and hydrogen inhibition (7-12): $I = \frac{1}{1 + K_{i5} \cdot I_{NH_3} + K_{i6} \cdot I_{H_2}}$ Non competitive inhibition: $I = \frac{1}{1 + K_{i7} \cdot I_{in,7}}$ Secondary substrate inhibition (5-12): $I = \frac{1}{1 + K_{i8} \cdot I_{in,8}}$ pH inhibition upper and lower: $I = \frac{1 + 10^{0.05 \cdot (pH - pH_{opt})}}{1 + 10^{0.05 \cdot (pH - pH_{opt})} + 10^{0.05 \cdot (pH - pH_{low})}}$ only lower: $I = \frac{1}{1 + 10^{0.05 \cdot (pH - pH_{low})}}$ $pH > pH_{opt} \implies I = 1$

Figura 20: Matrice Peterson delle cinetiche biochimiche coinvolte nella digestione anaerobica

4.2. ADM1 semplificato

In questo progetto di ricerca è stato pensato un modello basato sul ADM1 ma estremamente semplificato. La semplificazione rende il modello finale più semplice da utilizzare e può essere risolto tramite un foglio di calcolo Excel.

Il modello creato dal professor Vittorino Gallo, si basa sulla descrizione approssimata delle reazioni di utilizzo del substrato in condizioni anaerobiche.

Partendo dal presupposto che in un processo anaerobico in stato stazionario, i prodotti delle reazioni intermedie di acidogenesi ed acetogenesi non vengono accumulati; si può ipotizzare che la cinetica di produzione di metano dipende dal processo d'idrolisi, dal processo di metanogenesi e dalla crescita/decadimento dei microrganismi. Per cui si possono definire le seguenti variabili:

X_t : ossia il totale del substrato alimentato, che si suppone composto da due frazioni:

X_f : frazione di substrato alimentato che rimane particolato [kgCOD/m³]

S_f : frazione di substrato che va in soluzione [kgCOD/m³]

La frazione X_f rimasta particolato, viene degradata in

X_i : frazione di substrato particolato inerte [kgCOD/m³]

f_{Pi} : frazione di substrato particolato che diventa inerte [-]

S_b : frazione di substrato solubile che si trasformerà assieme a S_f [kgCOD/m³]

Dalla trasformazione di $S_t = S_b + S_f$ si forma anche

S_i : frazione di substrato solubile che rimane tale ed inerte [kgCOD/m³]

I microrganismi sono rappresentati in modo indistinto con il termine:

X_b : concentrazione di biomassa attiva [kgSSV/m³]

Queste variabili possono essere utilizzate per definire le reazioni secondo le seguenti equazioni:

$$\mathbf{1- Solubilizzazione / idrolisi :} \quad X_f \rightarrow (1 - f_{Pi}) \cdot S_b + f_{Pi} \cdot X_i \quad (10)$$

$$\text{solubilizzazione} \quad \frac{dS_b}{dt} = (1 - f_{Pi}) \cdot k_1 \cdot X_f \quad (11)$$

$$\text{inertizzazione} \quad \frac{dX_i}{dt} = f_{Pi} \cdot k_1 \cdot X_f \quad (12)$$

$$\text{bilancio particolato} \quad \frac{dX_f}{dt} = -\frac{dS_b}{dt} + \frac{dX_i}{dt} - \left(\frac{dX_b}{dt}\right)_d = -k_1 \cdot X_f + k_d \cdot X_b \quad (13)$$

$$\mathbf{2- Metanogenesi e crescita :} \quad S_t \rightarrow (1 - f_{Si} - Y \cdot f_x) \cdot CH_4 + f_{CO_2} \cdot CO_2 + Y \cdot f_x \cdot X_b + f_{Si} \cdot S_i \quad (14)$$

$$\text{produzione CO}_2: \quad \frac{dCO_2}{dt} = \mu_m \cdot \frac{S_t}{K_s + S_t} \cdot X_b \cdot f_{CO_2} \quad (15)$$

$$\text{crescita biomassa attiva: } \left(\frac{dX_b}{dt}\right)_c = -\mu_m \cdot \frac{S_t}{K_s+S_t} \cdot X_b \cdot Y \cdot f_x \quad (16)$$

$$\text{produzione inerte solubile: } \frac{dS_i}{dt} = -\mu_m \cdot \frac{S_t}{K_s+S_t} \cdot X_b \cdot f_{Si} \quad (17)$$

$$\text{produzione CH}_4\text{: } \frac{dCH_4}{dt} = \mu_m \cdot \frac{S_t}{K_s+S_t} \cdot X_b \cdot (1 - f_{Si} - Y \cdot f_x) \quad (18)$$

$$\mathbf{3}\text{-Decadimento : } X_b \rightarrow X_f \quad (19)$$

$$\text{decadimento biomassa: } \left(\frac{dX_b}{dt}\right)_d = -k_d \cdot X_b \quad (20)$$

Ovviamente devono essere rispettati i bilanci di materia:

$$\text{particolato: } X_t = S_f + X_f \quad (21)$$

$$\text{substrato solubile: } S_t = S_b + S_f \quad (22)$$

In questo modo si riduce notevolmente la quantità di dati iniziali che bisogna avere a disposizione per la valutazione del modello:

- Inoculo o biomassa attiva caricata all'inizio della prova:
 - a) SSV [kgSSV/m³]
 - b) SST (non necessario) [kgSST/m³]
 - c) COD del liquido filtrato [kgCOD/m³]
 - d) COD del particolato dopo filtrazione [kgCOD/m³]
- Carica:

Dalle analisi prima della prova sperimentale si deve poter disporre di S_f, X_f ed X_b

4.3. Integrazione numerica

Per l'integrazione sono disponibili diversi algoritmi, in questo modello grazie al basso numero di variabili da integrare si può utilizzare il metodo Runge-Kutta, che può essere facilmente integrato in un foglio di calcolo (Excel).

Noto il valore della variabile y al tempo t_i, indicato come y(t_i) si può ricavare il valore y₁ al tempo t₁=t_i+h utilizzando la relazione:

$$y(t_{i+1}) = y(t_i + h) = y(t_i) + \frac{h}{6} (k_1 + 2k_2 + 2k_3 + k_4) \quad (23)$$

dove

$$k_1 = f(t_i, x, y(t_i)) \quad (24)$$

$$k_2 = f\left(t_i + \frac{h}{2}, x, y(t_i) + \frac{h}{2} \cdot k_1\right) \quad (25)$$

$$k_3 = f\left(t_i + \frac{h}{2}, x, y(t_i) + \frac{h}{2} \cdot k_2\right) \quad (26)$$

$$k_4 = f(t_i + h, x, y(t_i) + h \cdot k_3) \quad (27)$$

4.4. Applicazione del modello

Il modello semplificato è stato quindi confrontato con i dati sperimentali raccolti durante le prove di biometanazione.

Il modello calcola la produzione di metano sotto forma di resa di produzione sui solidi volatili caricati all'inizio della prova, per cui anche le curve di resa di metano sperimentale sono state adattate e calcolate in base ai solidi volatili caricati.

Al fine di ottenere dei parametri indicativi del processo, sono stati considerati i dati di biometanazione delle prove considerate in stato stazionario.

Dall'analisi dei dati sperimentali previamente presentati (capitolo 3), possono essere utilizzati i dati di resa di metano ottenuti dalle prove di: biometanazione con reflui di birreria e biometanazione con sistemi a due stadi.

Il fitting è stato eseguito mediante riduzione della varianza quadrata tra il risultato calcolato dal modello ed i dati sperimentali, utilizzando la funzione solver del foglio di calcolo Excel con metodo GRG non lineare.

4.4.1 Confronto del modello con i dati sperimentali delle prove di biovalorizzazione con reflui di birreria

Dalle prove dei reflui di birreria è stato possibile applicare il modello di produzione di metano alle prove di digestione dei lieviti, questo refluo infatti ha raggiunto ritmi di produzione di metano stabili nel tempo. La biometanazione a partire dalle trebbie non ha dato risultati che indichino il raggiungimento dello stato stazionario, per cui non è stato possibile utilizzare questi dati per il modello. Mentre la biovalorizzazione delle farine fossili non è stata possibile a causa dei problemi all'alimentazione descritti nel capitolo 3.1.2.c.

I parametri ottenuti dall'integrazione del modello per la digestione anaerobica del lievito di birra sono riportati in tabella 21, mentre la figura 21 riporta la curva calcolata dal modello e la curva ottenuta dai dati sperimentali, dopo l'integrazione.

Tabella 21: *Parametri del modello di produzione di metano da lieviti di birra*

Parametro	Unità di misura	Valore
f_{Pi}	adim.	0,791
k_1	1/d	0,750
k_d	1/d	0,030
f_{Si}	adim.	0,001
Y	kgSSV/kgCOD	0,054
μ_{max}	1/d	0,068
K_s		0,451

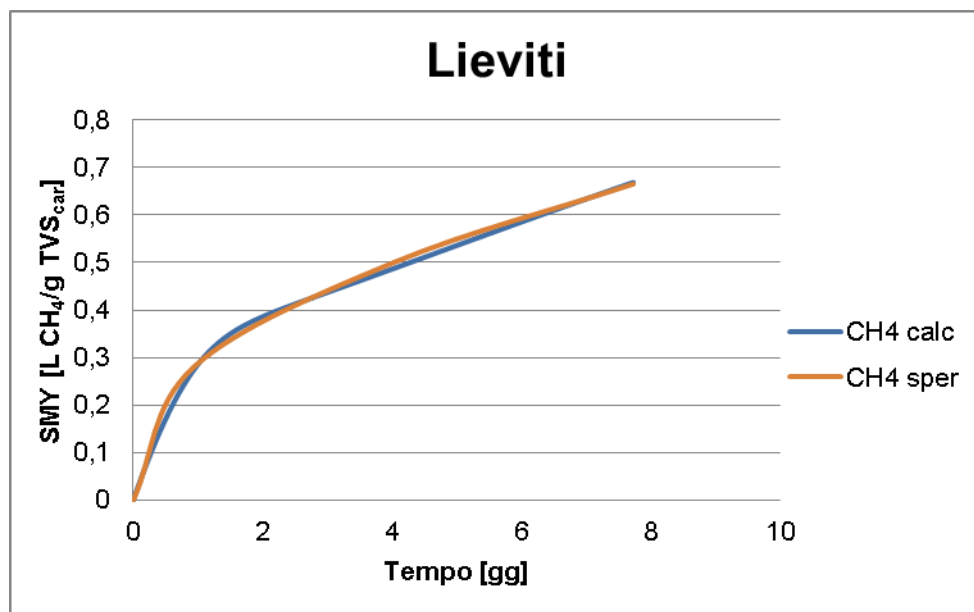


Figura 21: Confronto tra la curva di resa di metano sperimentale (curva arancione) e la curva calcolata dal modello (blu).

Come si osserva in figura 21, la curva sperimentale e la curva calcolata con il modello presentano un buon grado di sovrapposibilità, validando perciò il modello e l'ipotesi che la produzione di metano nel processo anaerobico dipende principalmente dai processi di idrolisi e metanogenesi.

4.4.2 Confronto del modello con i dati sperimentali delle prove eseguite con un sistema di digestione a due stadi

Le prove di digestione a due stadi dell'insilato di mais e degli scarti di produzione del radicchio rosso di Treviso, hanno dato risultati idonei alla verifica dell'applicabilità del modello.

In tabella 22 sono riportati i parametri cinetici ottenuti dall'integrazione del modello per la digestione anaerobica a due stadi dell'insilato di mais, mentre in figura 22 si possono osservare la curva ottenuta dai dati sperimentali e la curva calcolata con il modello.

Tabella 22: Parametri del modello di produzione di metano da insilato di mais in un sistema a due stadi

Parametro	Unità di misura	Valore
f_{Pi}	adim.	0,432
k_1	1/d	1,026
k_d	1/d	0,010
f_{Si}	adim.	0,009
Y	kgSSV/kgCOD	0,073
μ_{max}	1/d	0,032
K_s		0,001

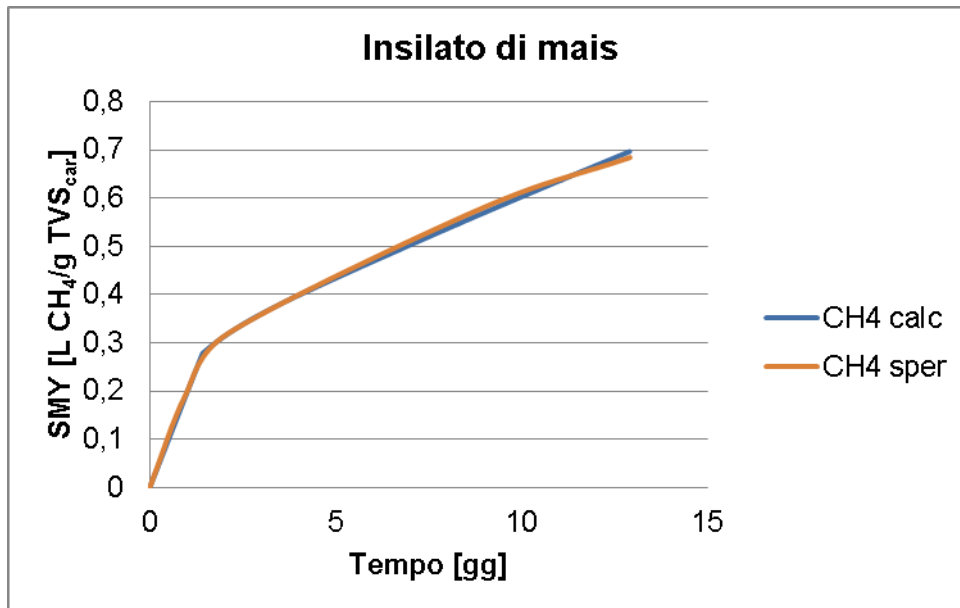


Figura 21: Confronto tra la curva di resa di metano sperimentale (curva arancione) e la curva calcolata dal modello (blu).

Anche in questo caso la curva calcolata con il modello presenta una buona sovrapposizione con i dati ottenuti sperimentalmente.

I parametri e le curve relative alla digestione a due stadi del radicchio di Treviso ed al sistema di codigestione si possono trovare in appendice C, in entrambi i casi è stato possibile riscontrare una buona sovrapposizione delle curve, rendendo l'utilizzo del modello fattibile anche nel caso di processi di digestione a due stadi.

CONCLUSIONI

Il fine di questo lavoro di tesi era la biovalorizzazione di diversi substrati organici mediante l'applicazione della digestione anaerobica, e lo sviluppo di un modello semplice ma accurato, in grado di fornire i parametri minimi necessari ad un possibile dimensionamento su scala industriale. Inizialmente è stata verificata l'effettiva resa di metano dei substrati in esame, attraverso una serie di studi in laboratorio con reattori batch.

Le prove di biovalorizzazione sono state impostate in sistemi di digestione monostadio (eseguiti con tutti i substrati studiati) e sistemi di digestione a due stadi (nel caso dell'insilato di mais, e degli scarti di produzione del radicchio rosso di Treviso).

I risultati ottenuti dalla biovalorizzazione dei substrati mediante un sistema di digestione anaerobica monostadio sono molto diversi a seconda del substrato esaminato. Nel caso di substrati ricchi di composti semplici (Lievito di birra), le prove hanno raggiunto uno stato di produzione a regime in tempi relativamente brevi, mentre nelle prove in cui l'alimentazione avveniva con substrati più complessi non si è potuto osservare l'instaurarsi di un sistema di biometanazione a regime.

I sistemi di digestione a due stadi hanno dimostrato una maggiore stabilità di processo, quando messi in confronto con i sistemi di digestione monostadio. I sistemi di digestione a due stadi, infatti, riuscivano a raggiungere ritmi di produzione di biometano tali da poter essere considerati a regime.

Dai risultati sperimentali è stato possibile ricavare i dati cinetici necessari alla verifica della validità di una modellazione semplice basata sul modello ADM1.

In conclusione, si può affermare che la digestione anaerobica monostadio è molto più sensibile alla natura del substrato alimentato rispetto al sistema di digestione a due stadi.

È possibile inoltre, sviluppare un modello cinetico per la digestione anaerobica basato solo sulle cinetiche di idrolisi, di metanogenesi e di crescita/decadimento cellulare.

Bibliografia

- [1] Ferry G. J., 2011, Fundamentals of Methanogenic pathways that are key to the biomethanation of complex biomass, *Current Opinion in Biotechnology*, 22, 351-357
- [2] Ghosh S., Pohland F. G., 1974, Kinetics of substrate assimilation and product formation in anaerobic digestion, *Journal of Water Pollution Control Federation*, 46, 748-759
- [3] Metcalf & Eddy, 2011 *Ingegneria delle acque reflue trattamento e riuso*, 4° edizione, 603-609;
- [4] Ghosh S., Klass D.L., 1977, Two phase anaerobic digestion system, US Patent No: 4,022,665
- [5] Kayhanian M. 1999, Ammonia inhibition in high solids biogasification an overview and practical solutions, *Environmental Technology*, 20, 2355-365
- [6] Kayhanian M. 1994, Performance of a high solids anaerobic digestion process under various ammonia concentrations, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 59, 349-352
- [7] Liu T. S., 2002, Ammonia inhibition on thermophilic acetoclastic methanogens, *Water Science Technology* 45, 113-120
- [8] Kroecker E.J., Schulte D.D., Sparling A.B., Lapp H.M., 1979, Anaerobic Treatment process stability, *Journal of Water Pollution Control Federation*, 51, 718-727
- [9] van Velsen A.F.M., Adaptation of methanogenic sludge to high ammonia-nitrogen concentrations, 1979, *Water Research*, 13, 995-999
- [10] Braun R., Huber P., Meyrath J., 1981 Ammonia toxicity in liquid piggery manure digestion, *Biotechnology Letters*, 3, 159-164
- [11] De Baere L.A., Devocht M., Van Assche P., Verstraete W., 1984, Influence of high NaCl and NH₄Cl salt levels on methanogenic associations- *Water Research*, 18, 543-548
- [12] Zeeman G., Wiegant W.M., Koster-Treffers M.E., Lettinga G., 1985, The influence of the total ammonia concentration on the thermophilic digestion of cow manure, *Agricultural Wastes*, 14, 13-35
- [13] Hashimoto A.G. 1986, Ammonia inhibition of methanogenesis from cattle wastes, *Agricultural Wastes*, 17, 241-261
- [14] Jarrell K.F., Saulnier M., Ley A., 1987, Inhibition of methanogenesis in pure cultures by ammonia, fatty acids, and heavy metals, and protection against heavy metal toxicity by sewage sludge, *Canadian Journal of Microbiology*, 30, 663-668
- [15] Koster I.W., Lettinga G., 1988, Anaerobic digestion at extreme ammonia concentrations, *Biological Wastes*, 25. 51-59
- [16] Bhattacharya S.K., Parking G.F., 1989, The effect of ammonia on methane fermentation process, *Journal of Water Pollution Control Federation*, 61(1), 55-59
- [17] Hendrksen H.V., Ahring B.K., 1991, Effects of ammonia on growth and morphology of thermophilic hydrogen-oxidizing methanogenic bacteria, *FEMS Microbiology Letters*, 85, 241-246

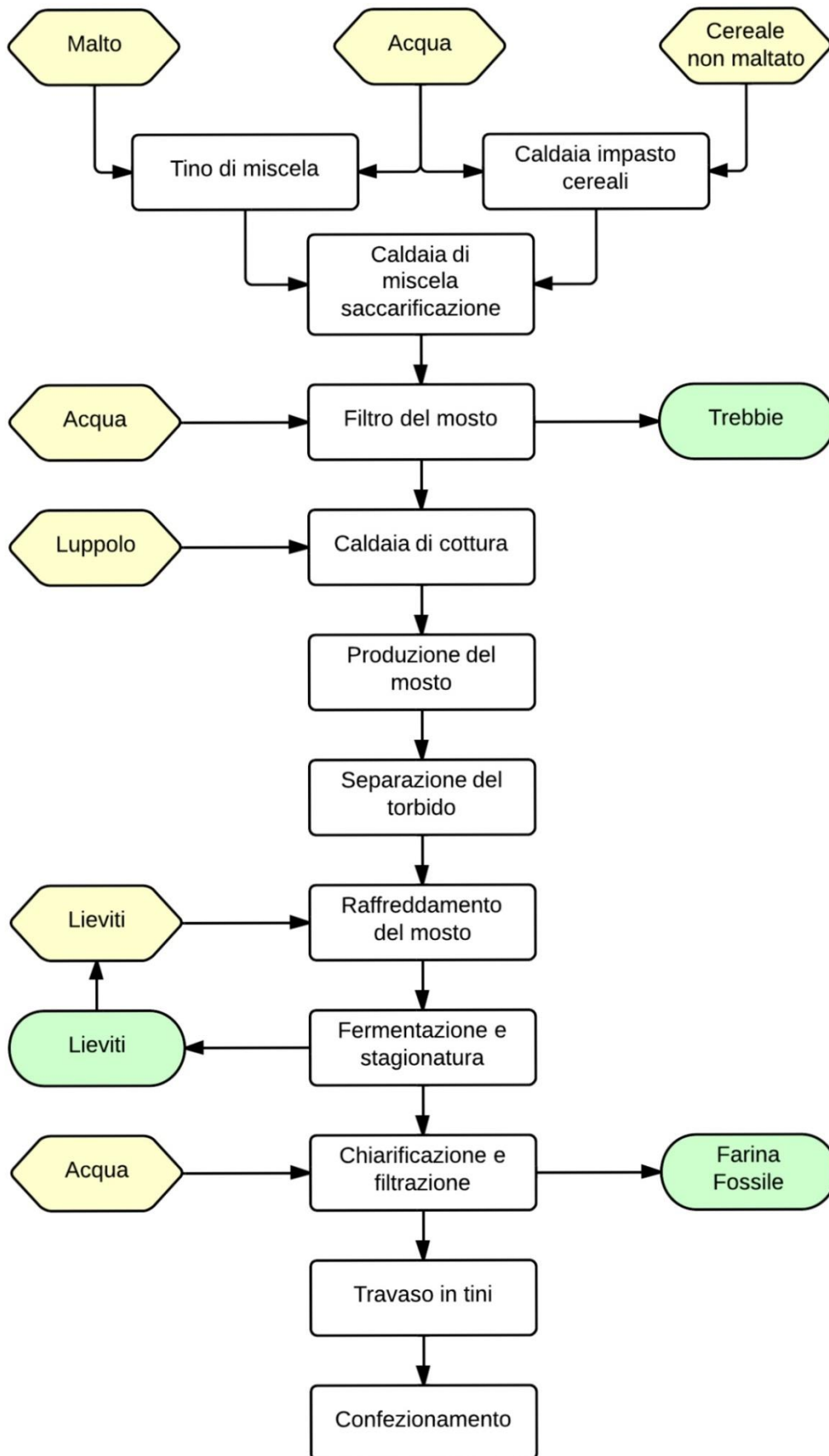
- [18] Angelidaki I., Ahring B.K., 1994, Anaerobic thermophilic digestion of manure at different ammonia loads: effect of temperature, *Water Research*, 28, 727-731
- [19] Soubes M., Muxi L., Fernandez A., Tarlera S., Queirolo M. 1994, Inhibition of methanogenesis from acetate by Cr^{3+} and ammonia, *Biotechnology Letters*, 16, 195-200
- [20] Bujoczek G., Oleskiewicz J., Sparling R., Cenkowski S., 2000, High solid anaerobic digestion of chicken manure, *Journal of Agricultural Engineering Research*, 76, 51-60
- [21] Sung S., Liu T., 2003, Ammonia inhibition on thermophilic digestion, *Chemosphere* 53, 43-52
- [22] Melbinger N.R., Donnellon J., 1971 Toxic Effects of Ammonia Nitrogen in High-Rate Digestion, *Journal of Water Pollution Control Federation*, 43, 1658-1670
- [23] Speece R.E., 1983, Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment, *Environmental science & technology*, 17, A416-A427
- [24] Soto M., Méndez R., Lema J.M., 1993, Sodium inhibition and sulphate reduction in the anaerobic treatment of mussel processing wastewaters, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 58, 1-7
- [25] Chen Y., Cheng J. J., Creamer K.S., 2008, Inhibition of anaerobic digestion process: A review, *Bioresource Technology*, 99, 4044-4064
- [26] Sterritt R. M., Lester J. N., 1980, Interaction of heavy metals with bacteria, *Science of the Total environment*, 14(1), 5-17
- [27] Takashima M., Speece R.E., 1989, Mineral nutrient requirements for high rate methane fermentation of acetate at low SRT, *Journal of Water Pollution Control Federation*, 61 (11-12), 1645-1650
- [28] Mosey F.E., Swanwick J.D., Hughes D.A., 1971, Factors affecting the availability of heavy metals to inhibit anaerobic digestion, *Water Pollution Control*, 70, 668-679
- [29] Lin C.Y., Chen C.C., 1999, Effect of heavy metals on the methanogenic UASB granule, *Water Research*, 33, 409-416
- [30] Zayed G., Winter J., 2000, Inhibition of methane production from whey by heavy metals- protective effect of sulfide, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53, 726-730
- [31] Heiprieper H.J., Weber F.J., Sikkema J., Kewelch H., de Bont J.A.M., 1994, Mechanisms of resistance of whole cells to toxic organic solvents, *Trends in Biotechnology*, 12, 409-415
- [32] Sikkema J., de Bont J.A.M., Poolman B, 1994, Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes, *Journal of Biological Chemistry*, 26, 8022-8028
- [33] Yang J., Speece R.E., 1986, The effects of chloroform toxicity on methane fermentation, *Water Research*, 20, 1273-1279
- [34] Anthony R.M., Breinmurst L.H., 1981, Determining maximum influent concentrations of priority pollutants for treatment plants, *Journal of Water Pollution Control Federation*, 53, 1457-1468

- [35] O'Connor O.A., Young L.Y., 1989, Toxicity and anaerobic biodegradability of substituted phenols under methanogenic conditions, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 8, 853-862
- [36] Uberoi V., Bhattacharya S.K., 1997, Toxicity and degradability of nitrophenols in anaerobic systems, *Water Environment Research*, 69, 146-156
- [37] APHA, 2005, Standard methods for the examination of water and wastewater (twenty first ed.), American Public Health Association, Washington
- [38] Gunaseelan V.N., 1997, Anaerobic digestion of biomass for methane production: A review, *Biomass and Bioenergy*, 13, 83-114
- [39] Raposo F., De la Rubia M. A., Fernandez-Cegri V., Borja R., 2011, Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16, 861-877
- [40] L. Fillaudeau, P. Blanpain-Avet, G Daufin, Water, wastewater and waste management in brewing industries, *Journal of Cleaner Production* 14 (2006) 463-471
- [41] C. Cronin, K.V. Lo, Anaerobic Treatment of brewery wastewater using UASB reactors seeded with activated sludge, *Bioresource Technology* 64 (1998) 33-38
- [42] A.G. Brito, J. Peixoto, J.M Oliveira, J.A Oliveira, C. Costa, R. Nogueira, A Rodrigues, Brewery and winery wastewater treatment: some focal points of design and operation, in: V. Oreopoulous, W. Russ (Eds), *Utilisation of Byproducts and Treatment of waste in the food industry*, Vol. 3, Springer, New York 2007
- [43] M. Knirsch, A. Penscheke, R. Meyer-Pittroff, Disposal situation for brewery waste in Germany – results of a survey. *Brauwelt International* 4 (1999) 81-477
- [44] F. Raposo, M.A. de la Rubia, R. Borja, M. Alaiz, Assessment of a modified and optimised method for determining chemical oxygen demand of solid substrates and solutions with high suspended solid content, *Talanta* 76 (2008) 448–453
- [45] Arnaiz C., Gutierrez J. C., Lebrato J. Biomass stabilization in anaerobic digestion of wastewater sludges; *Bioresource Technology* 2006; 97; 1179-1184
- [46] Bolzonella D., Cavinato C., Fatone F., Pavan P., Cecchi F. High rate mesophilic, thermophilic, and temperature phased anaerobic digestion of waste activated sludge: A pilot scale study; *Waste Management* 2012; 32; 1196-1201
- [47] Appels L., Baeyens J., Degréve J., Dewil R. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste activated sludge; *Progress in Energy and Combustion Science* 2008; 34; 755-781
- [48] Spinoso L., Ayol A., Baudez J.C, Canziani R., Jenicek P., Leonard A., Rulkens W., Xu G., van Dijk L. Sustainable and Innovative Solutions for Sewage Sludge Management; *Water* 2011; 3; 702-717
- [49] Spinoso, L. Sustainability in sludge management: A combined approach to meet future needs; *Water*; 21 2010; December; 31-33

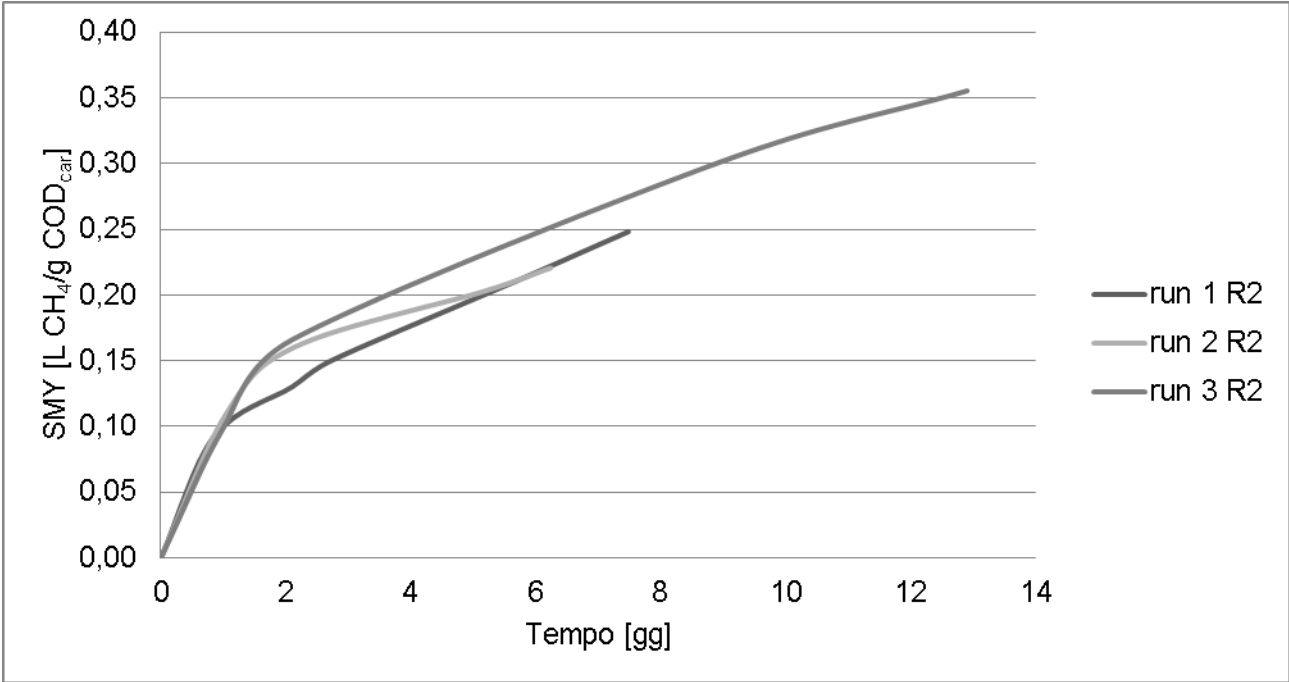
- [50] Adams, W.M. The Future of Sustainability: Re-thinking Environment and Development in the Twenty-first Century; Report of the IUCN Renowned Thinkers Meeting, Zurich (Hotel Uto Kulm), Switzerland, 2006; pp. 29-31
- [51] Liu C., Yuan X., Zeng G., Li W. Li J. Prediction of methane yield at optimum pH for anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste; *Bioresource Technology* 2008; 99; 882-888
- [52] Nishio N., Nakashimada Y. Recent development of Anaerobic digestion processes for energy recovery from wastes; *Journal of Bioscience and Bioengineering* 2007; 103, No.2; 105-112
- [53] Buffière P., Loisel D., Bernet N., Delgemnes J.P.. Towards new indicators for the prediction of solid waste anaerobic digestion properties. *Water Science and Technology*, 2006. 53, 233-41.
- [54] James D. Browne, Jerry D. Murphy, Assessment of the resource associated with biomethane from food waste. *Applied Energy*, 104, 2013, 170–177.
- [55] Cecchi F, Traverso P, Pavan P, Bolzonella D, Innocenti L.. Characteristics of the OFMSW and behaviour of the anaerobic digestion process. In: Mata-Alvarez J, editor. *Biomethanisation of the organic fraction of municipal solid wastes*. London: IWA Publishing; 2003. p. 141–154 [chapter 6].
- [56] Davidsson A, Gruvberger C, Christensen TH, Hansen TL, Jansen JIC. Methane yield in source-sorted organic fraction of municipal solid waste. *Waste Manage*, 27(3), 2007, 406–14.
- [57] Amon T., Amon B., Kryvoruchko V. Methane production through anaerobic digestion of various energy crops grown in sustainable crop rotations; *Bioresource Technology* 2007; 98; 3204-3212
- [58] Demirel B., Scherer P. Trace element requirement of agricultural biogas digesters during biological conversion of biomass to methane; *Biomass and Bioenergy* 2011; 35; 992-998
- [59] Comino E., Rosso M., Riggio V. Investigation of increasing loading rate in the codigestion of energy crops and cow manure mix; *Bioresource Technology* 2010; 101; 3013-3019
- [60] Gao R., Yuan X., Zhu W., Chen S., Cheng X., Cui Z. Methane yield through anaerobic digestion for various maize varieties in China; *Bioresource Technology* 2012; 118; 611-614
- [61] Oslaj M., Mursec B., Vindis P. Biogas production from maize hybrids; *Biomass and Bioenergy* 2010; 34; 1538-1545
- [62] Bruni E., Jensen A. P., Pendersen E. S, Angelidaki I. Anaerobic digestion of maize focusing on variety, harvest time and pretreatment; *Applied Energy* 2010; 87; 2212-2217
- [63] Herrmann A., Rath J. Biogas production from Maize: Current state, challenges, and Prospects 1. Methane Yield Potential; *BioEnergy Research* 2012; 5; 4; 1027-42

- [64]Demirer G. N., Chen S., 2004, Effect of retention time and organic loading rate on anaerobic acidification and biogasification of dairy manure, Journal of Chemical Technology and Biotechnology 79, 12, 1381-1387
- [65] Orozco A. M., Nizami A.S., Murphy J. D., 2013, Optimizing the thermophilic hydrolysis of grass silage in a two-phase anaerobic digestion system, Bioresource Technology 143, 117-125
- [67]Hovey R., Lentes S., Ehrenreich A., Salmon K., Saba K., Gottschalk G., Gunsalus R.P., Deppenmeier U., 2005, DNA microarray analysis of Methanosarcina mazei Gö1 reveals adaptation to different methanogenic substrates, Molecular Genetics and Genomics 273, 225-239.
- [68]Li L., Li Q., Rohlin L., Kim U. M., Salmon K., Rejtar T., Gunsalus R.P., Karger B.L, Ferry J.G., 2007, Quantitative proteomic and microarray analysis of the Archeon Methanosarcina acetovorans grown with acetate versus methanol, Journal of Proteome research 6, 759-771.
- [69] Henze M., Grady C.P.L., Gujer W., Marais G. v. R., Masuto T., 1986, Activated Sludge Model 1, IAWPRC, London
- [70] Batstone D.J., Keller J., Angelidaki I., Kalyuzhnyi S.V., Pavlostatis S.G., Rozzi A., Sanders W.T.M., Siergrist H., Vavilin V.A., 2002, The IWA Anaerobic digestion model No1 (ADM1), Water Science and Technology, 45 No 10, 65-73
- [web 1] Il Radicchio di Treviso- Il Fiore che si mangia: Origini del Radicchio Trevigiano –ultima visita 9.12.2013
<http://www.radicchio.net/storia.html>
- [web 2] Dati di produzione agricola pubblicati dall'Istat –ultima visita 10.01.2013
<http://agri.istat.it/jsp/dawinci.jsp?q=plC100000020000063200&an=2012&ig=1&ct=258&id=15A|18A|28A>
- [web 3] Consorzio tutela Radicchio rosso di Treviso e Variegato di Castelfranco IGP: Disciplinare di produzione del Radicchio Rosso di Treviso –ultima visita 10.01.2013
http://www.radicchioditreviso.it/cms/index.php?option=com_content&view=article&id=14&Itemid=22
- [web 4] Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione: Tabelle di Composizione degli Alimenti – Radicchio rossoultima visita 10.02.2013
http://www.inran.it/646/tabelle_di_composizione_degli_alimenti.html?idalimento=005440&quant=100

Appendice A



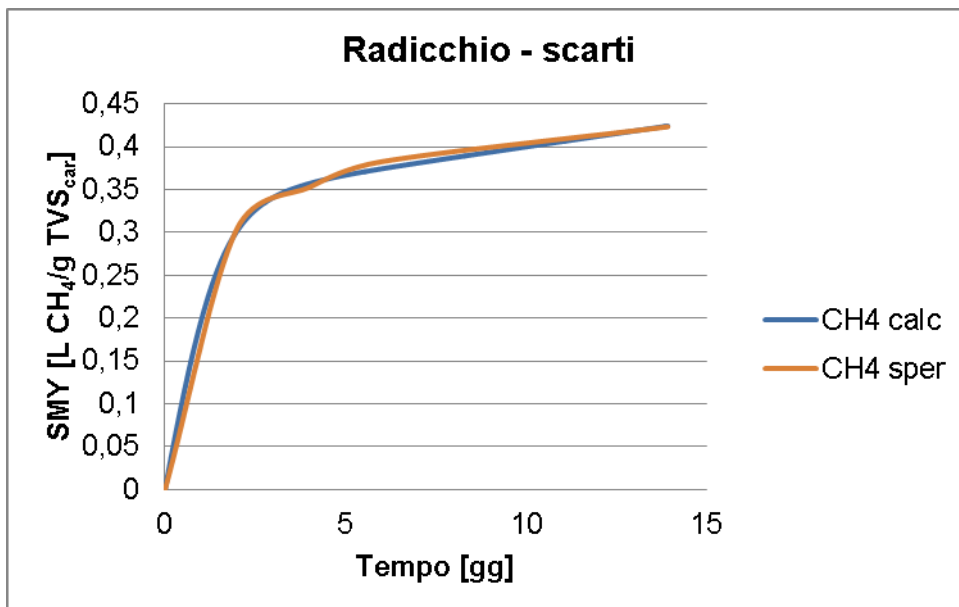
Appendice B



Appendice C

Parametri del modello di produzione di metano da radicchio in un sistema a due stadi

Parametro	Unità di misura	Valore
f_{Pi}	adim.	0,200
k_1	1/d	1,000
k_d	1/d	0,001
f_{Si}	adim.	1,00E-6
Y	kgSSV/kgCOD	0,030
μ_{max}	1/d	0,060
K_s		0,800



Parametri del modello di produzione di metano codigestione di insilato di mais e radicchio in un sistema a due stadi

Parametro	Unità di misura	Valore
f_{Pi}	adim.	0,420
k_1	1/d	0,700
k_d	1/d	0,002
f_{Si}	adim.	1,00E-6
Y	kgSSV/kgCOD	0,06
μ_{max}	1/d	0,03
K_s		0,3

