

# Risorse energetiche tradizionali ed innovative dalle attività microbiche nel sistema agroindustriale

Roberto De Philippis\*, Massimo Vincenzini

Dipartimento di Biotecnologie Agrarie, Università di Firenze  
Piazzale delle Cascine 24, 50144 Firenze

Società Italiana di Microbiologia Agraria, Alimentare e Ambientale

---

## Riassunto

I processi microbici che consentono di ottenere energia dalle biomasse vegetali e dai residui del sistema agroindustriale permettono di sfruttare fonti energetiche ampiamente disponibili e rinnovabili in processi che si possono considerare a bilancio zero per quanto riguarda la fissazione e l'emissione di anidride carbonica. Tali processi sono ad un diverso grado di maturazione tecnologica: accanto a processi ormai maturi, quali quelli che portano alla produzione di etanolo e di biogas, ve ne sono altri che si trovano in fase avanzata di ricerca, come quelli che portano alla produzione microbiologica di idrogeno. Dal punto di vista delle prospettive future, è proprio quest'ultimo prodotto ad avere suscitato, in anni recenti, una crescente attenzione a causa delle sue promettenti caratteristiche di impiego. L'idrogeno, infatti, è un gas caratterizzato da un alto potere calorifico e la sua utilizzazione, sia in combustione diretta che tramite celle a combustibile, consente di ottenere energia senza il contemporaneo rilascio di gas inquinanti.

Nella rassegna sono presentate le attività condotte dai gruppi di ricerca afferenti alla Società Italiana di Microbiologia Agraria, Alimentare e Ambientale (SIMTREA) impegnati nel settore, con particolare riferimento agli studi in corso sulla produzione di biogas e di idrogeno a partire da residui dell'agroindustria.

*Parole chiave:* biogas, bioidrogeno, recupero energetico, residui vegetali, agroindustria, fonti energetiche rinnovabili.

## Summary

### NEW AND TRADITIONAL ENERGY RESOURCES FROM MICROBIAL ACTIVITIES IN THE AGROINDUSTRIAL SYSTEM

Microbial processes leading to the production of energy from vegetable biomasses and from residues of the agroindustry make possible the exploitation of widely available and renewable energy sources which can be considered at zero balance with regard to CO<sub>2</sub> fixation and emission. These processes show a different level of technological maturity: some of them, like the production of bioethanol or biogas, are well established and diffused processes, while others, like hydrogen production, are in the phase of advanced research. Considering the future prospects, the latter process is the most promising owing to the high calorific value of hydrogen and the absence of polluting emissions when H<sub>2</sub> is used for combustions or for the production of electricity with fuel cells. In this review, the research activities carried out, in the field of biogas and hydrogen production, by research groups belonging to the Italian Society for Agricultural, Environmental and Food Microbiology (SIMTREA) are presented.

*Key-words:* biogas, biohydrogen, energy recovery, vegetable residues, agroindustry, renewable energy resources.

\* Autore corrispondente: tel.: +39 055 3288284; fax: +39 055 3288272. Indirizzo e-mail: roberto.dephilippis@unifi.it

## Introduzione

Oltre l'80% dell'energia primaria prodotta e consumata ogni anno dagli oltre sei miliardi di esseri umani che vivono sul nostro pianeta è ottenuta utilizzando combustibili fossili (carbone, petrolio, gas naturale) (fig. 1). Secondo le proiezioni dei consumi di energia primaria ottenuta da fonti di natura fossile, nei prossimi anni è atteso un incremento dei consumi superiore al 50% rispetto ai valori di inizio millennio, con un aumento quasi proporzionale delle emissioni annue di anidride carbonica, che passerebbero dai circa 20 miliardi di tonnellate del 1990 ai circa 40 miliardi di tonnellate del 2030 (IEA, 2006). Le conseguenze di queste scelte di politica energetica sarebbero quindi la riduzione delle riserve di fonti energetiche non rinnovabili, quali sono i combustibili fossili, e l'emissione nell'atmosfera di grandi quantità di gas inquinanti, tra i quali l'anidride carbonica, che è uno dei gas causa dell'effetto serra e del conseguente aumento della temperatura del pianeta. A queste problematiche di natura ambientale occorre aggiungere quelle di natura politica legate alla necessità, sempre più vincolante per la stabilità politico-economica delle singole Nazioni, di avere accesso a fonti energetiche sicure, la cui disponibilità a prezzi sostenibili dai sistemi economici non sia legata né a fattori fisici (esaurimento delle fonti stesse, interruzioni nella produzione ecc.) né a fattori economici (variabilità dei prezzi, pressioni speculative ecc.) (Costantini et al., 2007).

Alla luce di queste considerazioni, lo sfruttamento di risorse energetiche rinnovabili, quali sono quelle derivabili dal sistema agroindustriale, può assumere una notevole importanza, sia dal punto di vista economico che dal punto di vista ambientale. Infatti, i vari processi che consentono di ottenere energia dalle biomasse vegetali e dai residui del sistema agroindustriale permettono lo sfruttamento di fonti energetiche ampiamente disponibili e rinnovabili in processi che si possono considerare a bilancio zero per quanto riguarda la fissazione e l'emissione di anidride carbonica. In questa direzione sono quindi orientate molte delle ricerche attualmente in corso sia a livello nazionale che internazionale, indirizzate ad individuare e a sperimentare processi che portino al recupero effi-

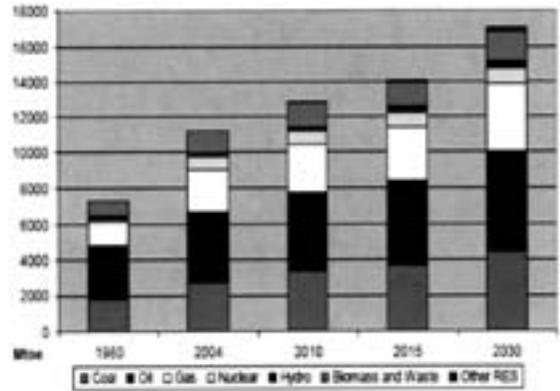


Figura 1. Richiesta energetica mondiale (fonte: World Energy Outlook 2006, International Energy Agency; Mtoe = tonnellate (x 10<sup>6</sup>) di petrolio equivalente).

Figure 1. World energy demand (source: World Energy Outlook 2006, International Energy Agency; Mtoe = metric tons (x 10<sup>6</sup>) of oil equivalent).

ciente dell'energia contenuta nei diversi tipi di residui vegetali derivanti dalle attività agroindustriali e forestali.

Alcuni dei processi più efficienti per ottenere energia dai residui vegetali vedono coinvolti specifici gruppi di microrganismi, i quali, metabolizzando i substrati vegetali per produrre energia, potere riducente e i precursori metabolici necessari a sintetizzare nuovi costituenti cellulari, liberano come prodotti di scarto etanolo, metano o idrogeno, sostanze che possono essere utilizzate dall'uomo come combustibili alternativi a quelli di origine fossile.

A tal proposito, va sottolineato come i processi di produzione di energia tramite l'impiego di microrganismi si trovino, al momento attuale, ad un diverso grado di maturazione tecnologica: infatti, accanto a processi ormai maturi quali quelli che portano alla produzione di etanolo e di biogas, ve ne sono altri che si trovano in fase avanzata di studio, come quelli che portano alla produzione di idrogeno per via microbiologica.

Scopo di questa breve rassegna è quello di dare il quadro delle ricerche attualmente in corso in Italia nell'ambito di questo settore, facendo particolare riferimento agli studi sulla produzione di biogas e di idrogeno condotti da gruppi di ricerca i cui componenti sono membri della Società Italiana di Microbiologia Agraria, Alimentare e Ambientale (SIMTREA).

**Produzione di biogas da residui del sistema agroindustriale**

Il biogas, composto per il 50-80% di metano, può essere ottenuto dalla digestione anaerobica di varie tipologie di residui dell'agroindustria. Nel corso dell'ultimo decennio si è osservato un crescente interesse verso questo tipo di fonte rinnovabile di energia per ragioni sia economiche che ambientali, tanto che l'Unione Europea ha stabilito l'obiettivo ambizioso di raggiungere, entro il 2010, una produzione di biogas pari a 15 milioni di tonnellate di petrolio equivalente, corrispondente a circa il doppio della quantità ipotizzabile in base alla tendenza attuale. In Italia esistono molti impianti di digestione anaerobica per la produzione di biogas, sia presso aziende agricole sia presso le piattaforme ecologiche di depurazione delle acque. Questi impianti funzionano da anni, trattando prevalentemente liquami zootecnici o fanghi di risulta della depurazione delle acque. Recentemente, sono in fase di studio nuove proposte tecnologiche che riguardano soprattutto la tipologia della materia prima da utilizzare per alimentare gli impianti. Oltre alle biomasse tradizionali, infatti, si sta iniziando a utilizzare biomassa vegetale sia tal quale che opportunamente mescolata con deiezioni zootecniche, fanghi di risulta della depurazione delle acque o residui di industrie agroalimentari.

Nei digestori anaerobici, la produzione di biogas avviene come fase finale di un processo microbico complesso, articolato in più fasi, alle

quali partecipano gruppi microbici diversi (fig. 2). La complessità del processo è dovuta all'incapacità dei microrganismi produttori di metano (metanogeni) di degradare molecole organiche complesse per produrre  $CH_4$  e  $CO_2$ ; infatti, una delle principali caratteristiche fisiologiche dei metanogeni, microrganismi procarioti appartenenti al Dominio degli Archea, è l'estrema specializzazione metabolica, che li rende capaci di utilizzare solo uno o due tipi di substrati, in genere composti organici ad un solo atomo di carbonio. A causa di ciò, i metanogeni dipendono, nella maggior parte degli ambienti in cui vivono, dalla presenza di idonei substrati prodotti dalle attività metaboliche di altri microrganismi.

Nell'ambito dei gruppi di ricerca i cui membri sono soci della SIMTREA, gli studi sui metanogeni sono stati condotti prevalentemente dal gruppo afferente al Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali dell'Università di Bologna, che ha caratterizzato filogeneticamente ceppi di batteri metanogeni isolati da vari ambienti arrivando, in alcuni casi, alla descrizione di nuove specie (Biavati et al., 1988; 1992; Ferrari et al., 1994). Più recentemente, gli studi sono proseguiti con l'isolamento e la caratterizzazione filogenetica di ceppi di metanogeni provenienti da digestori anaerobici sperimentali e da discariche di rifiuti solidi urbani. Gli studi condotti hanno portato all'individuazione di un certo numero di ceppi mesofili e termofili, appartenenti a sei generi diversi di metanogeni (B. Biavati, comunicazione personale).

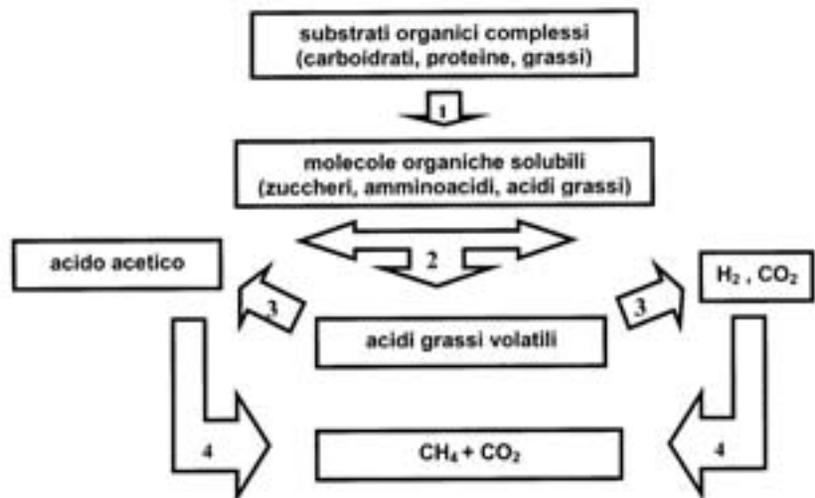
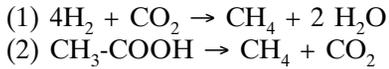


Figura 2. Schema del processo di digestione anaerobica: (1) fase di idrolisi, (2) fase di fermentazione (acidogenesi), (3) fase di acetogenesi, (4) fase di metanogenesi.

Figure 2. Outline of the process of anaerobic digestion: (1) hydrolysis, (2) fermentation (acidogenesis), (3) acetogenesis, (4) methanogenesis.

Come già accennato, le caratteristiche metaboliche dei metanogeni sono tali che le prime fasi della digestione anaerobica (idrolisi delle molecole complesse, fermentazione acidogenica, fermentazione acetogenica) sono condotte da una microflora anaerobica non costituita da metanogeni, i quali invece intervengono soltanto nell'ultima fase (metanogenesi), producendo metano a partire da substrati formati nelle fasi precedenti, secondo le due reazioni sotto riportate:



Nel caso della reazione (1), si può osservare come il metano si formi a partire dall'idrogeno con un forte spreco energetico. Infatti soltanto il 50% dell'idrogeno prodotto durante le precedenti fasi di fermentazione viene convertito in metano, mentre l'altro 50% viene trasformato in acqua. Sulla scorta di questa osservazione, i gruppi di ricerca coordinati dal professor Giancarlo Ranalli, afferente al Dipartimento di Scienze e Tecnologie per Ambiente ed il Territorio dell'Università degli Studi del Molise, e dalla professoressa Claudia Sorlini, afferente al Dipartimento di Scienze e Tecnologie Alimentari e Microbiologiche dell'Università degli Studi di Milano, hanno avviato una serie di ricerche volte a valutare la fattibilità di un processo di digestione anaerobica in cui viene disaccoppiata la produzione di idrogeno dalla sintesi di metano. Il vantaggio di operare in tal senso è duplice: (a) si può recuperare energia sotto forma di idrogeno, anziché di metano, in tempi ridotti (3-7 giorni); (b) si può recuperare una quantità di energia decisamente maggiore di quanta se ne otterrebbe se venisse recuperato il solo metano, considerando anche che il potere calorifico dell'idrogeno è circa due volte e mezzo quello del metano (119,9 MJ/Kg contro 50,0 MJ/Kg). I vantaggi dell'impianto bifase rispetto allo stadio singolo sono i seguenti: per il reattore 1 (Fase di Idrolisi, produzione di idrogeno), i minori costi di investimento per la costruzione del reattore per effetto dei tempi ridotti di fermentazione e un incremento della resa in idrogeno di circa il 30% per effetto del suo rapido strippaggio, ottenuto con un'apposita pompa. Per la fase di metanazione del reattore 2 i vantaggi sono: una miglior condizione di formazione di  $CH_4$  per effetto della minor acidificazione del fermentato dovuta al-

la rimozione di  $H^+$  sottoforma di  $H_2$ , una maggior stabilità del processo conseguente alla sua separazione in due stadi e la produzione di biogas più ricco in  $CH_4$  perché ottenuto dalla conversione di acidi organici (G. Ranalli e C. Sorlini, comunicazione personale).

### **Produzione di idrogeno da residui del sistema agroindustriale**

Il grande interesse recentemente sviluppatosi nei confronti dell'uso dell'idrogeno come vettore energetico trae origine non soltanto dalla possibilità di utilizzare questo gas per produrre energia senza la contemporanea emissione di sostanze inquinanti nell'atmosfera ma anche dalla possibilità di utilizzare, per la sua produzione, fonti rinnovabili di energia in alternativa ai combustibili fossili. In particolare, la produzione di idrogeno per via microbiologica, sfruttando cioè specifici processi metabolici di microrganismi di diversa natura che portano alla produzione di idrogeno, è stata fatta oggetto di studio da parte di molti gruppi di ricerca a livello internazionale. La messa a punto di sistemi biologici di produzione di idrogeno presenta, infatti, interessanti vantaggi rispetto alle tecniche termochimiche ed elettrochimiche attualmente in uso o allo studio e può contribuire efficacemente a stimolare e favorire il passaggio da un'economia basata quasi esclusivamente sull'uso di combustibili fossili ad un'economia basata sull'idrogeno come vettore energetico, riducendo al tempo stesso le emissioni di gas serra secondo le direttive del protocollo di Kyoto. In aggiunta a questo peraltro non trascurabile aspetto, la produzione biologica di idrogeno può avvenire anche utilizzando fonti di energia rinnovabili quali scarti di natura organica (rifiuti vegetali, sottoprodotti di industrie alimentari ecc.) operando a temperatura ambiente e pressione atmosferica, secondo un processo a basso impatto ambientale.

Nell'ambito dei soci della SIMTREA, studi sulla produzione microbiologica di idrogeno sono stati condotti prevalentemente dal gruppo di ricerca afferente al Dipartimento di Biotecnologie Agrarie dell'Università di Firenze, che ha studiato in particolare la produzione fotoeterotrofa di idrogeno condotta dai batteri fotosintetici rossi non sulfurei (BRNS) (Vincenzini et al.,



Figura 3. Fotobioreattore utilizzato per la produzione di idrogeno con batteri fotosintetici rossi non sulfurei in coltura su fermentato da residui vegetali (De Philippis et al., 2007).

Figure 3. Photobioreactor utilized for hydrogen production with photosynthetic purple non sulfur bacteria cultivated on the fermentation product obtained from vegetable residues (De Philippis et al., 2007).

1982a; 1982b; 1985; 1986; 1989; 1997; De Philippis et al., 2005; De Philippis e Vincenzini, 2007; De Philippis et al., 2007).

I BRNS sono comunemente annoverati in

letteratura tra i microrganismi più promettenti per quanto riguarda la produzione fotobiologica di idrogeno. Il loro impiego nella produzione di questo gas presenta infatti alcuni significativi vantaggi rispetto all'utilizzazione di altri gruppi microbici, dal momento che i BRNS sono caratterizzati da un'alta resa teorica di conversione substrato-idrogeno e, in virtù della loro grande versatilità metabolica, sono in grado di produrre idrogeno a partire da molti tipi diversi di substrati organici, ivi incluse acque reflue di origine industriale o substrati derivanti dalla fermentazione di scarti vegetali di varia origine. La produzione di idrogeno da parte dei BRNS è prevalentemente dovuta all'attività di un complesso enzimatico, chiamato nitrogenasi, il quale, in una reazione fortemente dipendente dalla fotosintesi per il rifornimento di ATP e  $\text{NADH}_2$ , riduce i protoni ad idrogeno molecolare; la nitrogenasi è in grado di catalizzare questa reazione soltanto in assenza di ossigeno e di ione ammonio (De Philippis et al., 2005; De Philippis e Vincenzini, 2007).

Recentemente, sono stati ottenuti risultati molto interessanti sperimentando, in un fotobioreattore da 11 litri di capacità (fig. 3), un processo a due stadi (fig. 4), in cui nel primo stadio è stata condotta la fermentazione di residui vegetali, effettuata dalla microflora autoctona presente sui residui stessi, che ha portato alla produzione di un fermentato ricco in acido lattico e acetico. In questa fase, a partire da una quantità di residui vegetali pari a  $1 \text{ Kg L}^{-1}$ , è stato ottenuto un fermentato contenente  $10\text{-}12 \text{ g L}^{-1}$  di acido lattico e  $1,5\text{-}2 \text{ g L}^{-1}$  di acido acetico. Nel secondo stadio, i BRNS sono stati inoculati nel fermentato e hanno prodotto idroge-

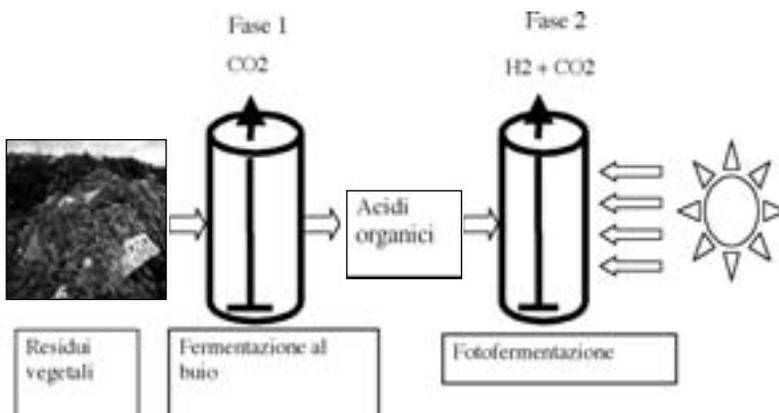


Figura 4. Schema del processo a due stadi di produzione di idrogeno con batteri fotosintetici rossi non sulfurei a partire da residui vegetali.

Figure 4. Outline of the two-stage process for hydrogen production with photosynthetic purple non sulfur bacteria utilizing vegetable residues.

no per circa cinque giorni, fino all'esaurimento degli acidi in esso contenuti, ad un tasso medio di circa  $10 \text{ ml H}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  e con un tasso massimo, durato 24 ore, di circa  $17\text{-}18 \text{ ml H}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . È stata anche dimostrata sperimentalmente la possibilità di utilizzare direttamente l'idrogeno prodotto dai BNRS nel fermentatore per alimentare una cella a combustibile di nuova concezione, ottenendo energia elettrica con una densità di  $60 \text{ mW cm}^{-2}$  (De Philippis et al., 2007). Gli ottimi risultati ottenuti hanno stimolato un ulteriore approfondimento delle ricerche, attualmente in corso, al fine di giungere ad ottimizzare le varie fasi del processo e di validare quest'ultimo in un impianto semipilota dimostrativo.

## Conclusioni

Le ricerche attualmente in corso in Italia nel settore della produzione di energia per via microbiologica a partire dai residui del sistema agroindustriale sono orientate a saggiare sperimentalmente la fattibilità di processi che ottimizzino la resa in idrogeno del tradizionale processo di digestione anaerobica o che consentano il recupero energetico, sempre sotto forma di idrogeno, di residui di fermentazione dei vegetali. Questi studi si collocano, quindi, a pieno titolo nei settori di punta della ricerca internazionale per quanto riguarda lo sfruttamento di risorse rinnovabili per la produzione di energia in forma non inquinante, e possono dare un contributo alla soluzione di due problemi di fondamentale importanza per le società avanzate quali lo sviluppo di un vettore energetico ricavabile da fonti non fossili e rinnovabili e la diminuzione della quantità di rifiuti organici da avviare agli impianti di smaltimento.

## Ringraziamenti

Le ricerche condotte presso il Dipartimento di Biotecnologie agrarie sono state svolte nell'ambito del Programma strategico "Nuovi sistemi di produzione e gestione dell'energia" (finanziamento fondi FISR del Ministero dell'Università e della Ricerca), del Progetto Firenze Hydrolab (finanziamento Ente Cassa di Risparmio di Firenze), e del Programma Ricerca per l'Ambiente - PRAA 2004-2006 (finanziamento Regione Toscana).

## Bibliografia

- Biavati B., Sgorbati B., Palenzona D. 1992. Plasmid DNA from methanogenic bacteria. *Curr. Microbiol.*, 24:285-287.
- Biavati B., Vasta M., Ferry J.G. 1988. Isolation and characterization of *Methanospaera cunicoli* sp. nov. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54:768-771.
- Costantini V., Graceva F., Markandya A., Vicini G. 2007. Security of energy supply. Comparing scenarios from a European perspective. *Energy Policy*, 35:210-226.
- De Philippis R., Bianchi L., Mannelli F. 2005. Photobiological hydrogen production by two *Rhodospseudomonas palustris* strains. In: Valdès A., Spazzafumo G. (eds.): *Hydrogen Power Theoretical and Engineering Solutions*. Proceedings of VI Hypothesis - International Symposium, 8-12 May, Habana, Cuba, 336-341.
- De Philippis R., Vincenzini M. 2007. Produzione fotobiologica di idrogeno: stato dell'arte e prospettive di ricerca. In: Bordin A. (ed.): *Biocombustibili e biocarburanti*, 239-253. IPSOA - Wolters Kluwer Italia, Milano.
- De Philippis R., Bianchi L., Colica G., Bianchini C., Peruzzini M., Vizza F. 2007. From vegetable residues to hydrogen and electric power: feasibility of a two step process operating with purple non sulfur bacteria. *J. Biotechnol.*, 131S:S122-S123.
- Ferrari A., Brusa T., Rutili A., Canzi E., Biavati B. 1994. Isolation and characterization of *Methanobrevibacter oralis* sp. nov. *Curr. Microbiol.*, 29:7-12.
- International Energy Agency (IEA). *World Energy Outlook 2006*. <http://www.iea.org/>
- Vincenzini M., Materassi R., Tredici M.R., Florenzano G. 1982a. Hydrogen production by immobilized cells - I. Light dependent dissimilation of organic substances by *Rhodospseudomonas palustris*. *Int. J. Hydrogen Energy*, 7:231-236.
- Vincenzini M., Materassi R., Tredici M.R., Florenzano G. 1982b. Hydrogen production by immobilized cells - II.  $\text{H}_2$ -photoevolution and waste-water treatment by agar-entrapped cells of *Rhodospseudomonas palustris* and *Rhodospirillum molischianum*. *Int. J. Hydrogen Energy*, 7:725-728.
- Vincenzini M., Materassi R., Sili C., Balloni W. 1985. Evidence for a hydrogenase dependent  $\text{H}_2$ -producing activity in *Rhodospseudomonas palustris*. *Ann. Microbiol.*, 35:155-164.
- Vincenzini M., Materassi R., Sili C., Florenzano G. 1986. Hydrogen production by immobilized cells. III. Prolonged and stable  $\text{H}_2$  photoevolution by *Rhodospseudomonas palustris* in light-dark cycles. *Int. J. Hydrogen Energy*, 11:623-626.
- Vincenzini M., Tassinato G., Materassi R. 1989. Bioreattore a flusso verticale per cellule immobilizzate di microrganismi fotosintetici. Brevetto italiano No. 9368 A/89.
- Vincenzini M., Marchini A., Ena A., De Philippis R. 1997.  $\text{H}_2$  and poly- $\beta$ -hydroxybutyrate, two alternative chemicals from purple non sulfur bacteria. *Biotechnol. Letters*, 19:759-762.