



Ricerca di Sistema elettrico

Scale up del processo di trattamento anaerobico di biomasse lignocellulosiche mediante l'impiego di inoculo batterico fungino ruminale e pool batterico selezionato F210

M. Fabbricino, A. Ferraro, E. Bianco, L. Pontoni



SCALE UP DEL PROCESSO DI TRATTAMENTO ANAEROBICO DI BIOMASSE LIGNOCELLULOSICHE MEDIANTE L'IMPIEGO DI INOCULO BATTERICO FUNGINO RUMINALE E POOL BATTERICO SELEZIONATO F210

M. Fabbicino, A. Ferraro, E. Bianco, L. Pontoni

Settembre 2016

Report Ricerca di Sistema Elettrico

Accordo di Programma Ministero dello Sviluppo Economico - ENEA

Piano Annuale di Realizzazione 2015

Area: Generazione di energia elettrica con basse emissioni di carbonio

Progetto: Bioenergia

Obiettivo: Nuovi processi di co-produzione flessibile e programmabile di elettricità e biometano

Responsabile del Progetto: Vincenzo Gerardi, ENEA

Il presente documento descrive le attività di ricerca svolte all'interno dell'Accordo di collaborazione "Scale up del processo di trattamento anaerobico di biomasse lignocellulosiche mediante l'impiego di inoculo fungino ruminale e pool batterico selezionato F210"

Responsabile scientifico ENEA: Giulia Massini

Responsabile scientifico Università di Napoli: Massimiliano Fabbicino

Indice

SOMMARIO.....	4
1 INTRODUZIONE.....	5
2 DESCRIZIONE DELLE ATTIVITÀ SVOLTE E RISULTATI.....	7
2.1 METODOLOGIA SPERIMENTALE	7
2.2 SINTESI DEI RISULTATI DELLA CA2015.....	10
2.3 ANALISI DEI RISULTATI DELLO SCALE-UP DI PROCESSO.....	11
2.4 RISULTATI DEI TEST NON STERILI.....	17
3 CONCLUSIONI.....	20
4 RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI	22
5 ABBREVIAZIONI ED ACRONIMI.....	24

Sommario

Il documento illustra i risultati del processo di digestione anaerobica di paglia di grano in reattori batch del volume di 12 L.

La sperimentazione era finalizzata a verificare replicabilità a scala 100x dei risultati precedentemente ottenuti [28] presso questa Università a scala banco con reattori da 120 mL potenziando la comunità microbica, ovvero mediante bioaugmentation con un pool batterico selezionato, denominato F210, e da ceppi di Funghi Anaerobi Ruminali (ARF). L'inoculo metanogeno è stato effettuato con reflui bufalini.

Nello studio vengono analizzate sia configurazioni impiantistiche comprendenti un'unica fase di processo, durante la quale ARF e F210 cooperano fin dall'inizio con la comunità metanigena nello svolgimento delle diverse fasi di trasformazione biochimica del substrato lignocellulosico, sia configurazioni impiantistiche comprendenti due fasi distinte, poste in serie, durante le quali l'azione idrolitica e fermentativa di ARF e F210 è separata (I fase) e precede la fase in cui si produce metano (II fase), avviata a seguito dell'aggiunta dell'inoculo metanogeno.

In vista dell'applicabilità del processo proposto a piena scala vengono inoltre confrontati i risultati ottenibili, su reattori da 120 mL, attraverso sterilizzazione in autoclave del substrato adoperato, con quelli ottenibili senza operazioni di sterilizzazione.

I risultati ottenuti sono in linea con quelli della precedente sperimentazione e mostrano che la bioaugmentation ha un effetto positivo sullo svolgimento del processo, consentendo di aumentare la produzione complessiva di metano in entrambe le configurazioni analizzate rispetto alla digestione condotta con la sola comunità metanigena.

In particolare l'incremento del potenziale di biometanazione della biomassa testata è quantificabile in oltre il 40% del valore finale cumulato. Sebbene la produzione complessiva di metano, in condizioni di bioaugmentation ottenibile nella configurazione monofase ed in quella bifase siano simili alla fine della fase di produzione, la realizzazione del processo in due fasi consente l'accelerazione delle cinetiche complessive delle trasformazioni. Infatti la produzione di metano in bifase è più rapida ed inoltre consente di ottenere idrogeno.

I test condotti in assenza di sterilizzazione in autoclave presentano valori del tutto confrontabili con quelli ottenibili con il substrato autoclavato, testimoniando la possibilità di non dover ricorrere a questo pretrattamento nelle applicazioni impiantistiche.

Complessivamente, quindi, le prove confermano non solo la validità del processo proposto, ma anche la possibilità di un suo utilizzo a piena scala.

1 Introduzione

La produzione di energia rinnovabile, sotto forma di gas combustibile, attraverso un trattamento biologico anaerobico di substrati biodegradabili è una pratica da tempo affermata sia a livello di ricerca che a livello applicativo [1-4], stante l'evidente convenienza economica del processo - denominato Digestione Anaerobica (DA) - e la sua elevata sostenibilità ambientale.

La DA, infatti, è tra i processi a bilancio nullo in termini di emissioni di gas serra, poiché è possibile assumere che la produzione globale di anidride carbonica derivante dalla trasformazione della biomassa e dalla combustione dei prodotti che si ottengono dalla trasformazione stessa, è pressoché uguale alla quantità di anidride carbonica sottratta all'atmosfera dalla biomassa nel corso del suo ciclo vitale [5-6].

Al contempo la DA non produce sovralli o percolati che possano costituire una minaccia alla qualità dell'ambiente circostante, potendosi addirittura recuperare i prodotti finali non gassosi per l'ottenimento di ammendanti da adoperare in agricoltura [7-9].

Vale infine notare che, contrariamente ad altri processi di valorizzazione delle biomasse a fini energetici, la DA può essere applicata a prodotti di scarto, e come tale non solo non entra in competizione con le pratiche di valorizzazione dei terreni agricoli per la produzione alimentare, ma è anche in grado di risolvere le problematiche legate allo smaltimento dei rifiuti derivanti proprio da queste pratiche di valorizzazione [10].

Esistono tuttavia ancora delle riserve nell'applicazione della DA a piena scala per alcune biomasse particolari, incluse quelle a matrice lignocellulosica, le quali invece, a livello teorico, sarebbero caratterizzate da un ottimo potenziale d'uso, sia per la loro elevata capacità teorica di bio-metanazione (BMP, Bio-Methanation Potential), sia perché abbondanti su tutto il territorio Europeo ed Italiano in particolare, come conseguenza della vocazione di molti Paesi allo sviluppo di attività economiche che risultano nella produzione di ingenti quantità di substrati del genere indicato [11].

Nella fattispecie delle biomasse di scarto a matrice lignocellulosica, le riserve nell'applicazione dei processi di DA sono da attribuirsi al fatto che il pieno completamento delle trasformazioni che porterebbero al totale utilizzo della componente biodegradabile in esse presente, e quindi al totale sfruttamento del loro BMP, richiederebbe una serie di modifiche di processo e di impiantistica che potrebbero risultare tanto onerosi e complessi da non rendere conveniente lo sviluppo del processo a livello industriale, ostacolandone la piena ingegnerizzazione [12-13].

La sequenza delle trasformazioni biologiche anaerobiche che porta alla produzione di biogas combustibile e quindi allo sfruttamento energetico delle biomasse, passa infatti, necessariamente per la fase di idrolisi, a seguito della quale possono svilupparsi gli altri step caratteristici del percorso degradativo della DA, sinteticamente raggruppati nelle macro-categorie note come acido-produzione e metano-produzione.

La complessa struttura dei materiali lignocellulosici, derivante dall'accoppiamento di cellulosa, emi-cellulosa e lignina, rende difficile proprio la fase di idrolisi, e rallenta l'intero pathway biochimico, potendo giungere, in certi casi, ad auto-inibire la trasformazione complessiva, per il mancato equilibrio tra le fasi che la compongono [14-16].

La conseguenza di ciò è che la DA di biomasse lignocellulosiche si presenta come un processo di trasformazione caratterizzato da cinetiche molto lente, e risulta comunque parzialmente incompleto, poiché una parte della componente organica della biomassa resiste all'azione idrolitica e permane, praticamente immutata, nei residui di processo (digestato). Ne consegue che per sfruttare completamente il BMP delle biomasse lignocellulosiche è necessario ricorrere a trattamenti aggiuntivi, di natura fisica, chimica o biologica [17-20].

Di norma i trattamenti fisici e/o chimici sono eseguiti sui substrati in ingresso all'impianto, e per questo, più correttamente, si configurano come pre-trattamenti. Tra essi si citano i processi di frantumazione e disgregazione basati su azioni puramente meccaniche o sull'utilizzo di ultrasuoni e microonde, ed i processi elettrocinetici, di idrolisi termica e di ossidazione con acidi e/o basi [21-23]. Anche i trattamenti di natura biologica, possono essere effettuati sia prima dell'avvio del processo di digestione anaerobica, come nel caso

dell'idrolisi enzimatica [24], sia in contemporanea ad esso, configurandosi, in quest'ultima ipotesi, come forma di co-trattamento, di cui la bioaugmentation rappresenta uno degli aspetti più interessanti [25-26].

I vantaggi della DA eseguita in bioaugmentation rispetto alle altre possibilità sopra riportate sono evidenti soprattutto in termini di applicabilità del processo a piena scala. Essa, infatti, è caratterizzata da costi realizzativi e gestionali decisamente più contenuti, e non richiede la realizzazione di una fase apposita per lo sviluppo del pre-trattamento, potendo avvenire all'interno degli stessi reattori convenzionalmente adottati per i processi biologici anaerobici.

Al contempo, tuttavia, un intervento di bioaugmentation, soprattutto se basato sull'utilizzo di colture pure e/o specifiche (esempio pool batterici fermentanti), può necessitare di accorgimenti gestionali particolari che ne consigliano la verifica sperimentale non solo a scala banco, e quindi in condizioni facilmente controllabili, ma anche a scala maggiore, così da attestarne, unitamente alla validità di processo, anche la fattibilità prototipale, prodromo alla completa ingegnerizzazione ed industrializzazione del processo.

Sulla base di tali premesse si fonda l'attività oggetto del presente studio, che si pone in logica sequenza rispetto ai risultati ottenuti nel corso di precedenti sperimentazioni [27-28], volte ad investigare l'ottimizzazione del processo di produzione di biogas dalla paglia di grano (PG), ricorrendo alla bioaugmentation con inoculi microbici selezionati. Viene inoltre valutata la convenienza del ricorso a configurazioni impiantistiche che prevedono lo svolgimento del processo in due fasi separate anziché in una fase unica.

La ricerca presentata si pone l'obiettivo di replicare, effettuando uno scale-up del processo, la sperimentazione condotta a scala di laboratorio sulla PG [28], potenziando i primi due stadi della digestione tramite l'impiego di un pool batterico selezionato, denominato F210, e di ceppi di funghi anaerobici ruminali (ARF, Anaerobic Ruminant Fungi). Viene inoltre valutata la fattibilità di un processo di DA eseguito in due fasi successive, ovvero portando a regime la fase idrolitica-fermentativa con relativa produzione di idrogeno prima di provvedere all'inoculo con una comunità microbica produttrice di metano, rispetto al processo in monofase, effettuando la bioaugmentation della comunità contestualmente all'avvio del processo di produzione di metano

Contemporaneamente a questo aspetto primario, e coerentemente con l'obiettivo di avanzare la conoscenza del processo in vista della sua proposizione in un sistema a piena scala, la ricerca si propone di investigare anche l'effetto dell'azione di sterilizzazione in autoclave, eseguita, per esigenze di replicabilità, sui substrati in uso sia nel corso delle sperimentazioni a scala banco, che nel corso dello scale-up di processo. Ciò allo scopo di accertare che l'azione dell'autoclave si risenta solo sulla comunità microbica autoctona, e non alteri anche i complessi legami di lignina, emicellulosa e cellulosa che vanno a formare la struttura della PG, favorendone la successiva idrolisi. E' infatti evidente che l'applicazione del processo a piena scala, deve prescindere dal ricorso ad operazioni di sterilizzazione in autoclave per ovvie esigenze di carattere tecnico ed economico, ed è pertanto fondamentale accertare la validità del processo di DA in bioaugmentation proposto, anche in assenza di tali operazioni.

2 Descrizione delle attività svolte e risultati

2.1 Metodologia sperimentale

Come indicato nell'introduzione, le attività sperimentali hanno riguardato, sostanzialmente, la ripetizione di prove eseguite nel corso di una precedente campagna di analisi [28], adoperando, questa volta, reattori di volume utile 100 volte maggiore (Campagna di Analisi 2016, CA2016).

In particolare lo scale-up è stato svolto utilizzando reattori, in vetro temperato, di volume utile pari a 12 L, funzionanti in modalità batch. Ciascuna prova è stata eseguita in triplo per minimizzare l'errore sperimentale e ridurre la variabilità dovuta alla disomogeneità dei substrati.

In aggiunta alle prove citate, sono stati eseguiti una serie di test finalizzati a verificare l'effetto della sterilizzazione dei substrati in autoclave (Test non Sterili, TNS). Tali test sono stati effettuati a scala banco, in doppio, adoperando reattori in vetro del volume utile di 120 mL, funzionanti anch'essi in modalità batch.

Sia nel corso della CA2016 che dei TNS, i reattori sono stati mantenuti in condizioni di mescolamento completo. Il processo è stato sviluppato in mesofilia, alla temperatura di 37°C, mantenuta immergendo i reattori in un bagno termostato, e monitorando giornalmente i valori di temperatura (Figura 2.1.1).



Figura 2.1.1 – Reattori da 12 litri adoperati nella CA2016

Le condizioni anaerobiche sono state garantite dall'utilizzo di un sistema di chiusura ermetica dei reattori dopo il riempimento e dal flussaggio con azoto dei reattori stessi in modo da eliminare l'aria dallo spazio di testa. Allo scopo di assicurare condizioni ottimali di pH, in tutte le prove è stata adoperata una soluzione di tampone fosfato 0,1 M.

Prima dell'utilizzo, i reattori della CA2016, ciascuno con il suo contenuto di substrato, sono stati sterilizzati in autoclave. Come unico substrato testato è stata selezionata la paglia di grano (PG) perché nel corso della CA2015 aveva fornito i risultati più interessanti in termini di rendimenti del processo di digestione sviluppato in condizioni di bioaugmentation [28]. Per la preparazione del substrato si è proceduto al taglio dei culmi e delle foglie, precedentemente essiccati all'aria. Sono stati esclusi gli internodi e i nodi: per la loro resistenza alla degradazione e perché di peso più elevato dei fusti, la loro casuale distribuzione rischiava di rendere il substrato disomogeneo.

Prima dell'utilizzo la PG è stata adeguatamente caratterizzata in termini di solidi totali (ST) e solidi volatili (SV) in modo da garantire che tutti i test potessero essere svolti in condizioni note e controllate di carico organico e contenuto di solidi. I risultati della caratterizzazione sono riassunti in Tabella 2.1.1.

Tabella 2.1.1 – Caratteristiche del substrato adoperato

	ST (%)	SV (%)
Paglia di grano	91,97	84,21

Per le diverse condizioni di prova sono stati adoperati tre inoculi microbici distinti, ovvero un inoculo metanogeno (M) e due colture usate per la bioaugmentazione, costituite rispettivamente dal pool batterico fermentante che favorisce l'idrogeno-produzione F210, e da una mix di 2 ceppi di funghi anaerobici ruminali (*Neocallimastix* sp. e *Orpinomyces* sp.), con ottime capacità idrolitiche (ARF).

L'inoculo M è stato prelevato a valle di un impianto di digestione anaerobica di reflui bufalini: prima dell'impiego è stato degasato per circa 40 giorni in condizioni mesofile, adoperando reattori analoghi a quelli utilizzati nelle prove sperimentali. Lo scopo è stato quello di rendere nullo il potenziale di biometanazione derivante dal solo inoculo. Le caratteristiche degli inoculi F210 e ARF sono dettagliate altrove [27].

I reattori hanno operato in condizioni ad umido, mantenendo quindi una concentrazione di solidi sospesi totali non superiore al 5%. Il mezzo liquido era costituito da tampone fosfato. Nei reattori in bi-fase (3 repliche), la metano-produzione è stata avviata dopo 5 giorni dall'avvio della sperimentazione con ARF ed F210, aggiungendo l'inoculo metanogeno M nei reattori. Per altri 3 reattori si è adottata invece una configurazione mono-fase, provvedendo all'aggiunta contemporanea di tutti gli inoculi. Tale scelta, operata anche nella CA2015, è stata orientata a comprendere se la cooperazione di più specie microbiche e fungine, operanti tutte nello stesso tempo, possa essere da preferire, in termini di produzione di metano, rispetto al potenziamento della fase idrolitico-fermentativa in assenza di metanigeni.

Nel dettaglio le condizioni di funzionamento testate nella CA2016 sono state le seguenti (Figura 2.1.2):

- i) reattori in configurazione mono-fase con solo inoculo M (prove di controllo, Test A);
- ii) reattori in configurazione mono-fase con inoculo contemporaneo di ARF, F210 e M (Test B);
- iii) reattori in configurazione bi-fase, con prima fase idrolitico-fermentativa ottenuta per inoculo con ARF ed F210 e, dopo 5 giorni, avvio della seconda fase con aggiunta di inoculo M (Test C).

Non è stato necessario effettuare prove di controllo, con reattori contenenti unicamente tampone fosfato e inoculi, perché tali risultati erano già disponibili in letteratura [27] ed inoltre l'inoculo era stato lasciato a degasare prima dell'uso. In Tabella 2.1.2 è riassunto il contenuto dei reattori da 12 L, adoperati nella CA2016.

Test	Inoculo			Configurazione	
	ARF	F210	M	Mono-fase	Bi-fase
A					
B					
C					

Figura 2.1.2 – Disegno sperimentale nella CA2016: reattori da 12 L

Tabella 2.1.2 – Contenuto dei reattori da 12 L (CA2016)

Test	Tampone (L)	PG (g)	F210 (mL)	ARF (mL)	M (mL)
A	5	47,5	-	-	1250
B	4	47,5	500	500	1250
C	4	47,5	500	500	1250

Nei TNS sono state monitorate, invece, le condizioni di funzionamento riassunte in Figura 2.1.3, comprendenti:

- i) reattori in configurazione mono-fase con inoculo contemporaneo di ARF, F210 e M (Test Bb);
- ii) reattori in configurazione bi-fase, con prima fase idrolitico-fermentante ottenuta per inoculo con ARF ed F210, e seconda fase con aggiunta di inoculo M (Test Cb).

Test	Inoculo			Configurazione	
	ARF	F210	M	Mono-fase	Bi-fase
Bb					
Cb					

Figura 2.1.3 – Disegno sperimentale nei TNS: reattori da 120 mL

In Tabella 2.1.3 è riassunto il contenuto dei reattori da 120 mL, adoperati nei TNS.

Tabella 2.1.3 – Contenuto dei reattori da 120 mL (TNS)

Test	Tampone (mL)	PG (g)	F210 (mL)	ARF (mL)	M (mL)
Bb	40	0,475	5	5	12,5
Cb	40	0,475	5	5	12,5

Come si può constatare dalle Tabelle, in tutte le prove il rapporto tra substrato e biomassa (F/M, Food to Microorganism ratio) è stato regolato come negli esperimenti del CA2015. Tale rapporto ha infatti dimostrato di garantire che il carico organico in ingresso non risultasse eccessivo, al fine di evitare la produzione e l'accumulo di elevate concentrazioni di acidi che avrebbero potuto ostacolare lo sviluppo del processo, ed al contempo non risultasse troppo basso [28].

Le misure effettuate nel corso del processo hanno riguardato, oltre al monitoraggio della temperatura, quello del pH, la caratterizzazione quantitativa e qualitativa del biogas prodotto, e la determinazione degli acidi volatili grassi a catena corta.

Le misurazioni del biogas sono state condotte circa ogni 12 h per i primi 5 giorni di prove, ogni 24 h per i successivi 17 giorni ed ogni 48h fino al 39°giorno per poi ridurre la frequenza delle analisi al diminuire della produzione di biogas. L'estrazione del liquido per il monitoraggio degli acidi, a sua volta, è stata condotta circa ogni due giorni diradando, anche in questo caso, il numero di prelievi al ridursi della produzione di biogas.

Per la misura quantitativa del gas si è adottato un sistema volumetrico a spostamento di liquido, differenziato per le prove con reattori da 12 L e per quelle con reattori da 120 mL. Per i reattori da 12 L è stato realizzato presso questa Università un sistema composto da due cilindri in vetro contenenti una soluzione acida di HCl 1,5% tale da non solubilizzare l'anidride carbonica prodotta (Figura 2.1.4).



Figura 2.1.4 – Sistema di misura volumetrico del gas adottato nella CA2016

I cilindri presentano superiormente, un tappo di chiusura con due fori per il passaggio di tubi di lattice che consentono, durante la misurazione, il collegamento con i reattori. Inferiormente, vi è un tappo di chiusura con un solo foro che consente l'uscita del liquido contenuto nella colonna. I reattori, a loro volta, presentano superiormente un tappo forato in cui è inserita una piastra di silicone che permette l'inserimento di due aghi sterili: a questi ultimi sono collegati esternamente due tubi di lattice, l'uno adoperato per la misura del gas mediante connessione al cilindro sopra descritto, l'altro impiegato per il prelievo della fase liquida. I tappi sono resi ermetici con silicone termo-resistente per evitare l'ingresso di aria. Una volta collegato il reattore ad uno dei tubi superiori, si aprono le valvole dei due sistemi ed il gas prodotto spinge il liquido delle colonne che viene raccolto in cilindri graduati. Il volume d'acqua spostato è proprio pari al volume di gas prodotto. Quest'ultimo, raccolto all'interno dei cilindri può essere campionato per determinarne la composizione.

Per i reattori da 120 mL, invece, il sistema di misura ha previsto l'utilizzo di una siringa graduata su cui è montata una piccola valvola a farfalla per consentirne l'apertura e la chiusura del flusso del gas. Durante la misura tale siringa viene riempita completamente della soluzione acida di HCl 1,5% e immersa in un Becher. Il gas viene convogliato alla siringa attraverso un tubicino dotato di un sistema aperto/chiuso all'estremità, dove un ago sterile permette il passaggio del biogas dal reattore al sistema di misura. Il biogas viene così fatto gorgogliare nella parte di siringa immersa nel Becher e, andando ad occuparne lo spazio di testa, crea una sovrappressione che spinge il liquido contenuto nella siringa stessa verso il basso fino a ristabilire l'equilibrio di pressione. Il volume di liquido spostato rappresenta la misura del volume di biogas prodotto nel reattore. Per l'analisi qualitativa, il gas può essere prelevato, con altra siringa, dallo spazio di testa della siringa graduata attraverso la valvola a farfalla.

Per determinare la concentrazione di CH₄, H₂ e CO₂ nel biogas campionato è stato adoperato un gascromatografo Varian Star 3400. La concentrazione di H₂S, invece, è stata valutata con metodo colorimetrico. La determinazione degli acidi volatili, infine, è stata eseguita con l'ausilio di un HPLC Knauer, dotato di detector Jasco RI-2031 Plus.

Tutte le analisi sono state effettuate seguendo metodiche standard. Nel corso dell'intera sperimentazione sono stati adoperati, per le determinazioni analitiche, reagenti a grado di laboratorio ed acqua ultrapura per eseguire ogni tipo di diluizione.

2.2 Sintesi dei risultati della CA2015

Allo scopo di verificare la scalabilità e la riproducibilità del processo studiato, è necessario, riassumere alcuni dei risultati ottenuti nel corso delle prove effettuate su reattori da 120 mL, il cui disegno sperimentale è illustrato in Figura 2.2.1. Per i dettagli sulle modalità di conduzione della sperimentazione in scala banco, si rimanda alle informazioni riportate nello studio relativo alla CA2015 [27].

Test	Inoculo			Configurazione	
	ARF	F210	M	Mono-fase	Bi-fase
a₁₂₀					
b₁₂₀					
c₁₂₀					

Figura 2.2.1 – Disegno sperimentale nella CA2015: reattori da 120 mL

La produzione di idrogeno al termine della Fase 1 registrata nel corso delle prove in configurazione bi-fase, e la produzione di metano registrata al termine delle prove in configurazione mono-fase e bi-fase, sono riassunte in Tabella 2.2.1.

Tabella 2.2.1 – Produzioni di idrogeno (Fase 1) e metano (Fase 2) nei reattori da 120 mL (CA2015)

Test	H ₂ (mL/L)	H ₂ (mL·gSV ⁻¹)	CH ₄ (mL/L)	CH ₄ (mL·gSV ⁻¹)
a₁₂₀	-	-	478,4±62,4	74,7±9,8
b₁₂₀ (monofase)	-	-	820,8±19,2	128,2±3,0
c₁₂₀ (bifase)	46,0±6,0	5,7±0,8	942,4±52,8	147,2±8,3

Dai dati riportati si registra un incremento della produzione di metano pari al 97% per la prova bi-fase, ed al 72% per la prova mono-fase rispetto alla prova di controllo, senza bioaugmentation.

L'incremento ($\Delta\%$) è calcolato in termini percentuali come:

$$\Delta\% = \frac{P_{\text{inoculo}} - P_0}{P_0} \cdot 100 \quad (2.2.1)$$

in cui:

P_{inoculo} = produzione di metano (mL) nella prova con inoculo ARF e F210;

P_0 = produzione di metano (mL) nella prova senza inoculo ARF e F210.

Le cinetiche di produzione, modellate attraverso la legge di Gompertz:

$$M(t) = M_{\text{max}} \cdot \exp\left\{-\exp\left[\frac{r_M}{M_{\text{max}}} \cdot (\lambda_M - t)\right]\right\} \quad (2.2.2)$$

con:

$M(t)$ = produzione di metano al tempo t (mL);

M_{max} = massima produzione di metano (mL);

r_M = tasso di produzione di metano (mL·h⁻¹);

λ_M = tempo di ritardo nella produzione di metano (h);

portano a valori dei parametri poco distinti nelle configurazioni analizzate, sintetizzati in Tabella 2.2.2.

Tabella 2.2.2 – Parametri dell'equazione di Gompertz relativi alle prove in reattori da 120 mL (CA2015)

	Test a ₁₂₀	Test b ₁₂₀	Test c ₁₂₀
M_{max} (mL)	10	24	28
r_M (mL·h⁻¹)	2,7	5,0	1,8

Complessivamente quindi si può affermare che le prove a scala banco su reattori da 120 mL hanno mostrato la convenienza del processo di bioaugmentation in termini di produzione di metano, con valori teorici massimi di produzione (M_{max}) non particolarmente distinti nelle due diverse configurazioni, ed hanno evidenziato altresì la possibilità di ottenere interessanti produzioni di idrogeno nelle prove bi-fase.

2.3 Analisi dei risultati dello scale-up di processo

I risultati relativi alle produzioni qualitative e quantitative di biogas registrate nel corso delle prove eseguite sui reattori da 12 L sono riassunti in Tabella 2.3.1 e nelle Figure 2.3.1 – 2.3.3

Nella elaborazione della Tabella si è adottata la stessa logica adoperata nella presentazione dei dati relativi alle prove ottenute nel corso della CA2015 (cfr. par. 2.1), allo scopo di poter effettuare il confronto tra le due campagne sperimentali ed evidenziare l'effetto dello scale-up.

In analogia con la Tabella 2.2.1, pertanto, anche la Tabella 2.3.1 riporta i dati della produzione di idrogeno al termine della Fase 1, ed i dati di produzione di metano al termine della Fase 2, in termini di produzione complessiva (mL) e resa per grammo di substrato (mL·gSV⁻¹).

Tutti i valori sono da intendersi come medie dei test effettuati in triplo per minimizzare l'errore sperimentale e ridurre la variabilità dovuta alla disomogeneità dei substrati. Unitamente al valore medio per ciascun dato è riportata anche la deviazione standard.

Tabella 2.3.1 – Produzioni di idrogeno (Fase 1) e metano (Fase 2) nei reattori da 12 L (CA2016)

Test	H ₂ (mL/L)	H ₂ (mL·gSV ⁻¹)	CH ₄ (mL/L)	CH ₄ (mL·gSV ⁻¹)
A	1,1±0,1	0,2±0,1	1413,6±11,4	220,9±1,8
B	5,7±0,8	0,9±1,3	2000,6±148,6	312,6±23,2
C	115,8±14,1	14,5±1,8	2071,7±200,3	323,7±31,3

Dall'esame dei valori in Tabella si nota innanzitutto una produzione non trascurabile di idrogeno nelle prove bi-fase, che conferma la capacità di idrogeno-produzione e di conseguenza, di idrolisi da parte degli inoculi batterici e fungini adoperati per la bioaugmentation. In particolare la produzione di idrogeno va attribuita in prevalenza al pool batterico F210, essendo accertato che i soli funghi anaerobici ruminali contribuiscono in maniera assai parziale alla fase specifica di idrogeno-produzione [27-28] ma di contro hanno elevate capacità idrolitiche. Il processo condotto in bioaugmentation, inoltre, porta ad un incremento della produzione di metano simile nelle due configurazioni adottate, con valori di Δ% pari rispettivamente al 42% per i Test B ed al 46% per i Test C.

In termini assoluti, tuttavia, la produzione di metano ottenuta nel corso del processo in presenza del solo inoculo M risulta non trascurabile, ad indicare che tale inoculo contiene al proprio interno un pool microbico efficiente nella idrolisi della PG. Ciò è da attribuirsi, probabilmente, al fatto che l'inoculo proviene da un impianto di digestione anaerobica di reflui bufalini¹ e presenta dunque ceppi microbici idonei alla degradazione della paglia, presente nei reflui sia come residuo dell'alimentazione che della lettiera.

Confrontando i valori di Tabella 2.2.1 e quelli di Tabella 2.3.1, e, al contempo, esaminando gli indici di incremento percentuale di produzione di metano registrato nella CA2015 e nella CA2016, si possono notare delle importanti analogie, ma anche delle significative differenze a seguito dello scale-up del processo.

In primo luogo nelle prove a scala banco condotte in configurazione bi-fase, la produzione specifica di idrogeno e quella di metano erano decisamente più basse di quelle rilevate nelle prove di scale-up della presente sperimentazione. Questo risultato, attribuibile all'incremento del volume e alla maggiore resilienza che esso conferisce al processo di DA, depone a favore di ulteriori applicazioni della bioaugmentation verso la scala reale.

Nella CA2015 si è avuta una produzione di metano maggiore nelle prove bi-fase che non in quelle mono-fase, mentre nella CA2016 le differenze sono state non sostanziali. D'altra parte, gli incrementi nelle produzioni cumulative di biogas tra le prove sperimentali (mono-fase e bi-fase) con bioaugmentation rispetto a quelle con solo inoculo metanogeno M, sono stati maggiori nei reattori da 120 mL (CA 2015) che non in quelli da 12 L. Questo risultato può essere attribuito ad un inoculo metanogeno M, molto attivo, che infatti nelle prove di scale-up condotte in assenza di bioaugmentation, ha dato luogo comunque a produzioni elevate di metano (Test A). Ciò ha comportato da un lato valori più bassi dell'indice di incremento percentuale Δ% rispetto a quanto registrato nella CA2015, e dall'altro ad una maggiore efficacia nella cooperazione con gli ARF e con il pool batterico F210, come evidenziato dai valori comparabili di produzione di metano nelle prove mono-fase e bi-fase.

¹ Nella serie sperimentale CA2015 l'inoculo metanigeno era costituito dal digestato di un impianto pilota alimentato per sei mesi con scotta, un substrato di scarto liquido ottenuto dalla lavorazione della ricotta, ad alto contenuto zuccherino; pertanto la comunità autoctona metanigena verosimilmente poteva contenere una minore componente microbica a carattere idrolitico. Tale inoculo non era più disponibile per la sperimentazione CA2016.

Le giustificazioni sopra riportate sono peraltro avvalorate dai risultati dei TNS eseguiti con l'inoculo M adoperato nella CA2016 su reattori da 120 mL, di cui si dirà più avanti (cfr. par. 2.4).

Va altresì segnalato che i valori di M_{max} ottenuti per le due configurazioni nella campagna CA2015 sono risultati molto prossimi (cfr. Tabella 2.2.2), confermando una tendenza al raggiungimento di valori asintotici simili sia nelle prove bi-fase che in quelle mono-fase. Al di là delle differenze evidenziate, i valori di Tabella 2.3.1 confermano la decisa convenienza dell'utilizzo dei ceppi batterici e fungini proposti per la valorizzazione energetica di substrati lignocellulosici attraverso DA, e garantiscono la possibilità di ottenere buoni risultati anche avvicinandosi ad una scala impiantistica più prossima a quella reale.

Nei grafici delle figure 2.3.1-2.3.2 sono illustrate le cinetiche di produzione di idrogeno e metano nelle prove di scale-up. Per maggiore chiarezza di rappresentazione i grafici sono riferiti ai valori medi misurati. La deviazione standard calcolata è riportata in legenda.

Nelle Figure non è riportata la produzione di idrogeno solforato nel biogas, sebbene questa sia stata monitorata con continuità nel corso della sperimentazione, attestandosi su valori compresi tra lo 0,1 e lo 0,2% per le prove condotte in bioaugmentation (Test B e Test C) e su valori inferiori allo 0,1% per le prove condotte con solo inoculo M (Test A).

Per quanto riguarda la produzione di idrogeno (Figura 2.3.1), questa è risultata significativa solo per le prove condotte secondo la configurazione bi-fase, nelle quali il ritardato avvio dell'attività metanogena ha comportato una produzione sempre crescente di H_2 fino all'ottenimento di un volume cumulato pari ad oltre 500 mL intorno al quinto giorno, in corrispondenza del quale si è proceduto all'avvio della seconda fase. La durata del periodo in cui si è riusciti a rilevare la produzione di H_2 nei test in monofase è stata circa la metà rispetto ai bi-fase, senza peraltro che si raggiungessero produzioni interessanti.

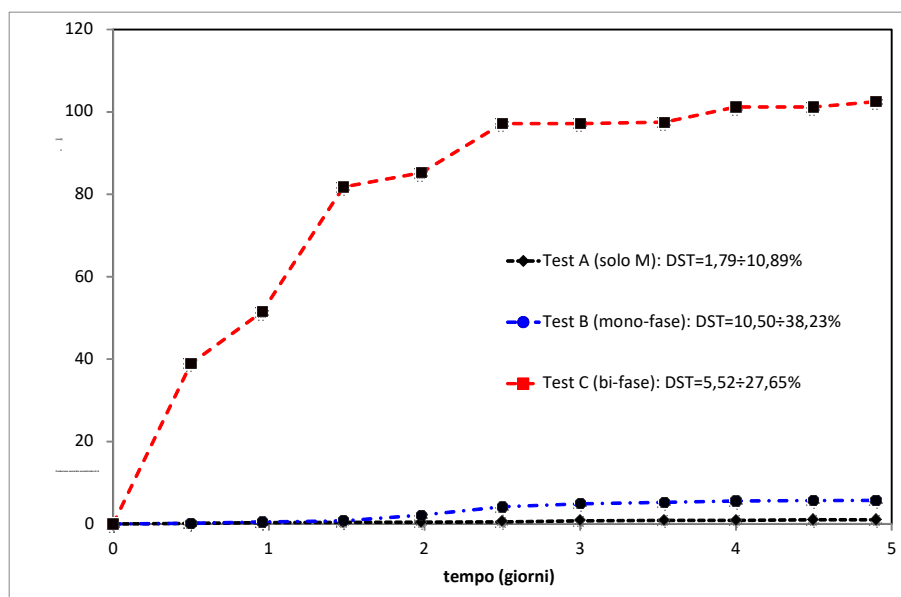


Figura 2.3.1 – Andamento della produzione cumulata di H_2 nei reattori da 12 L. DST = deviazione standard

In Figura 2.3.2 sono presentate le produzioni cumulative di metano per le tre condizioni sperimentali - i.e. con solo inoculo metanogeno (Test A, controllo) contro le prove con bioaugmentation, sia nella configurazione mono-fase (Test B) che bi-fase (Test C).

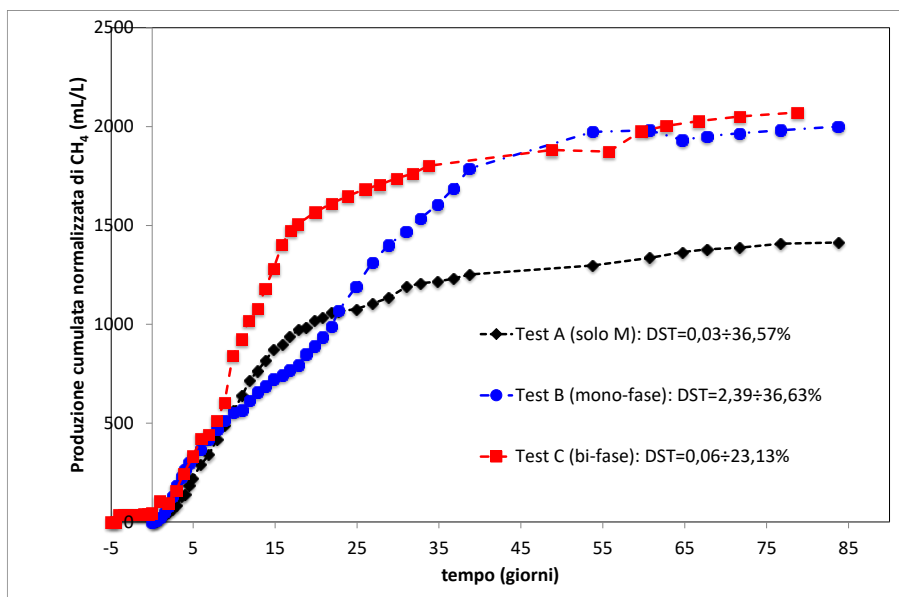


Figura 2.3.2 – Andamento della produzione cumulata di CH₄ nei reattori da 12 L. DST = deviazione standard

Confrontando gli andamenti delle produzioni di metano nelle tre condizioni sperimentali non si rilevano differenze nei primi 10 giorni dall’inoculo con comunità metanogena.

Dal decimo giorno gli andamenti delle produzioni cambiano drasticamente: la produzione cumulativa della prova di controllo A continua ad incrementare seguendo un andamento esponenziale fino al 25° giorno ed attestandosi poi su un plateau corrispondente a 1413 mL/L ± 11. Di contro nella prova con bioaugmentation con ARF e F210 in configurazione di processo monofase (B) la fase esponenziale di produzione prosegue fino a circa il 40° giorno, seppur con lieve flessione intorno al 20°, fornendo a fine produzione 2000 mL/L ± 148 di CH₄. La prova con bioaugmentation in configurazione di processo bi-fase (C) fornisce produzioni cumulative praticamente uguali con 2017 mL/L ± 200, ma è da rilevare che la fase esponenziale di produzione culmina già al 18° giorno con un significativo vantaggio rispetto alla configurazione monofase. La configurazione bi-fase infatti è caratterizzata da cinetiche molto più rapide rispetto a quelle rilevate nella configurazione monofase confermando, come già osservato in altre serie sperimentali, che il primo stadio della configurazione bifase ha un ruolo preparatorio e fondamentale per l’attività della comunità metanogena.

Si può quindi affermare che la possibilità di svolgere separatamente la fase di idrogeno-produzione e quella di metano-produzione a questa scala di sperimentazione non porta complessivamente ad un miglioramento in termini di produzione finale di metano, ma permette da un lato di sfruttare l’idrogeno prodotto nel corso della Fase 1, e dall’altro di abbreviare i tempi di svolgimento della Fase 2, dimezzandoli con un conseguente risparmio nella volumetria di reattori, quando si operasse a piena scala.

Per quanto riguarda i test condotti in bi-fase (Test C), si conferma una produzione nulla di metano nella Fase 1, coerente con l’assenza di inoculo metanogeno.

Nei grafici della figura 2.3.3 è riportata la composizione percentuale del biogas registrata nel corso del processo per le tre diverse condizioni sperimentali. Come si evince dagli istogrammi riportati, il biogas nella serie di reattori del controllo (Test A) e del mono-fase (Test B) si compone essenzialmente di CH₄ ed CO₂.

Di contro, nei reattori bi-fase si registra una produzione di H₂ che concorre alla composizione del gas con una percentuale media del 40% nei 5 giorni che precedono l’inoculo metanogeno, durante i quali erano presenti solo gli inoculi ARF e F210. Da notare che tra il giorno -5 ed il giorno -4 si registra inoltre un picco di H₂ dell’80%. Per tutta la durata della fase 2, avviata con l’inoculo della comunità M, la composizione del biogas nei reattori bi-fase continua ad essere costituita quasi esclusivamente da CH₄ e CO₂. L’idrogeno solforato concorre per un valore di 0,1-0,2% e non viene rappresentato nei grafici. Da rilevare la concentrazione particolarmente elevata di CH₄ intorno al 40° giorno. I dati relativi alla produzione di biogas ed il buon

andamento generale delle prove in tutte le configurazioni analizzate sono coerenti con i valori del pH, che si sono attestati intorno a $6,9 \pm 0,1$.

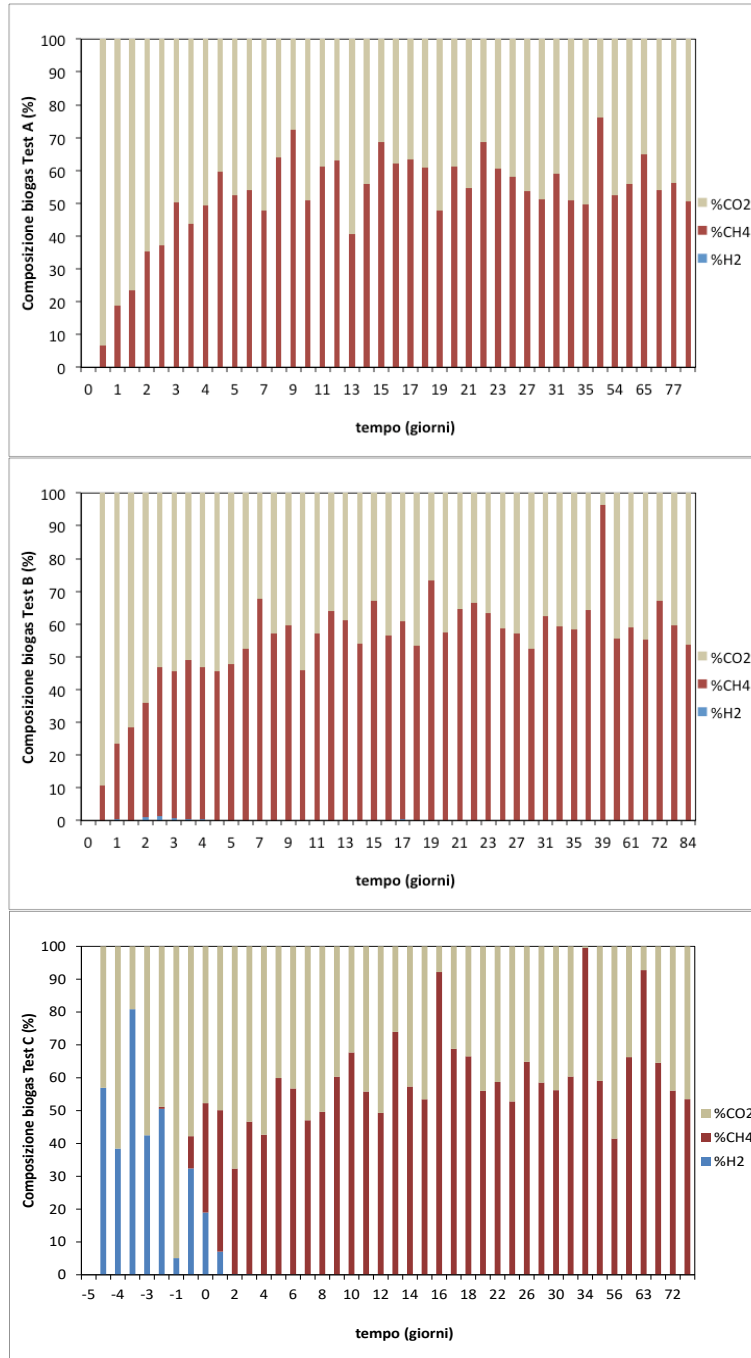


Figura 2.3.3 – Composizione percentuale del biogas prodotto nei reattori da 12 litri

Nei grafici delle figure 2.3.4 e 2.3.5 sono riportate le concentrazioni registrate durante il periodo sperimentale dei principali intermedi del processo: acido lattico, acetico, propionico, butirrico, isovalerico e valerico.

La concentrazione di acido lattico (Figura 2.3.4.a) si mantiene sempre molto bassa, indicando una buona transizione tra la fase di acido-produzione e quella di metano-produzione. Il picco raggiunto prima dell'inoculo metanogeno, nella prova bi-fase è ovviamente da attribuirsi all'elevata capacità idrolitica di ARF e F210, che dà luogo ad una immediata accelerazione del processo fermentativo, con relativo consumo dell'acido formatosi, che va rapidamente a zero, nell'arco di circa 10 giorni.

Anche la concentrazione di acido acetico (Figura 2.3.4.b) presenta un trend regolare, caratterizzato da una fase di crescita ed accumulo che va progressivamente riducendosi all'avanzare della fase di metano-

produzione. L'accumulo maggiore misurato nella prova mono-fase condotta in bioaugmentation è verosimilmente connessa alla presenza degli inoculi F210 e ARF che favoriscono la biodegradabilità del substrato, facendo sì che, nel complesso, il processo di digestione sia limitato dalle cinetiche della metano-produzione.

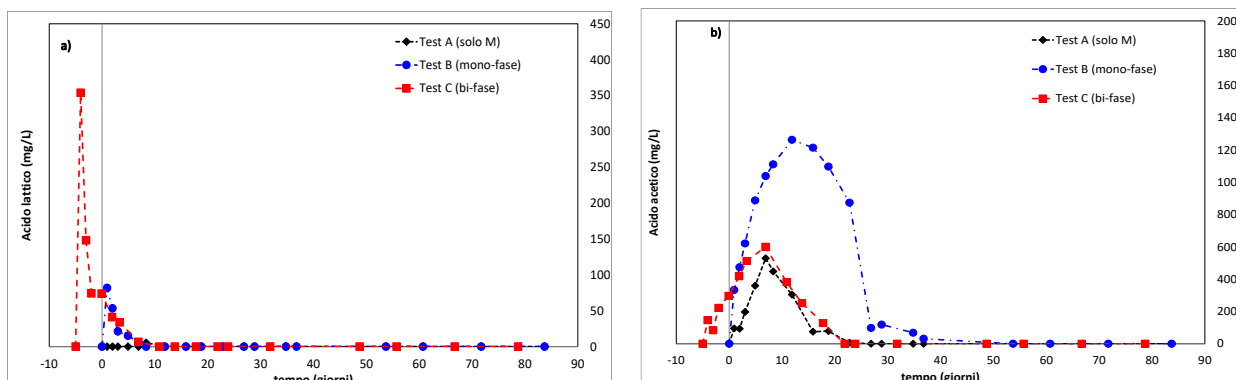


Figura 2.3.4 – Andamento nel tempo della concentrazione di acidi volatili nei reattori da 12 L: a) Acido lattico; b) Acido acetico

Per quanto concerne gli andamenti di produzione e consumo degli acidi propionico (Figura 2.3.5.a), butirrico (Figura 2.3.5.b), isovalerico (Figura 2.3.5.c) e valerico (Figura 2.3.5.d), essi presentano sempre un picco nei primi giorni, seguito da un rapido consumo. L'unica eccezione è costituita dall'acido propionico, per il quale il picco permane per un arco temporale molto ampio (dal 1° al 35° giorno) in tutte e tre le configurazioni testate, senza per questo determinare una irregolarità nello sviluppo del processo, nel senso di un rallentamento o una inibizione nella produzione di biogas.

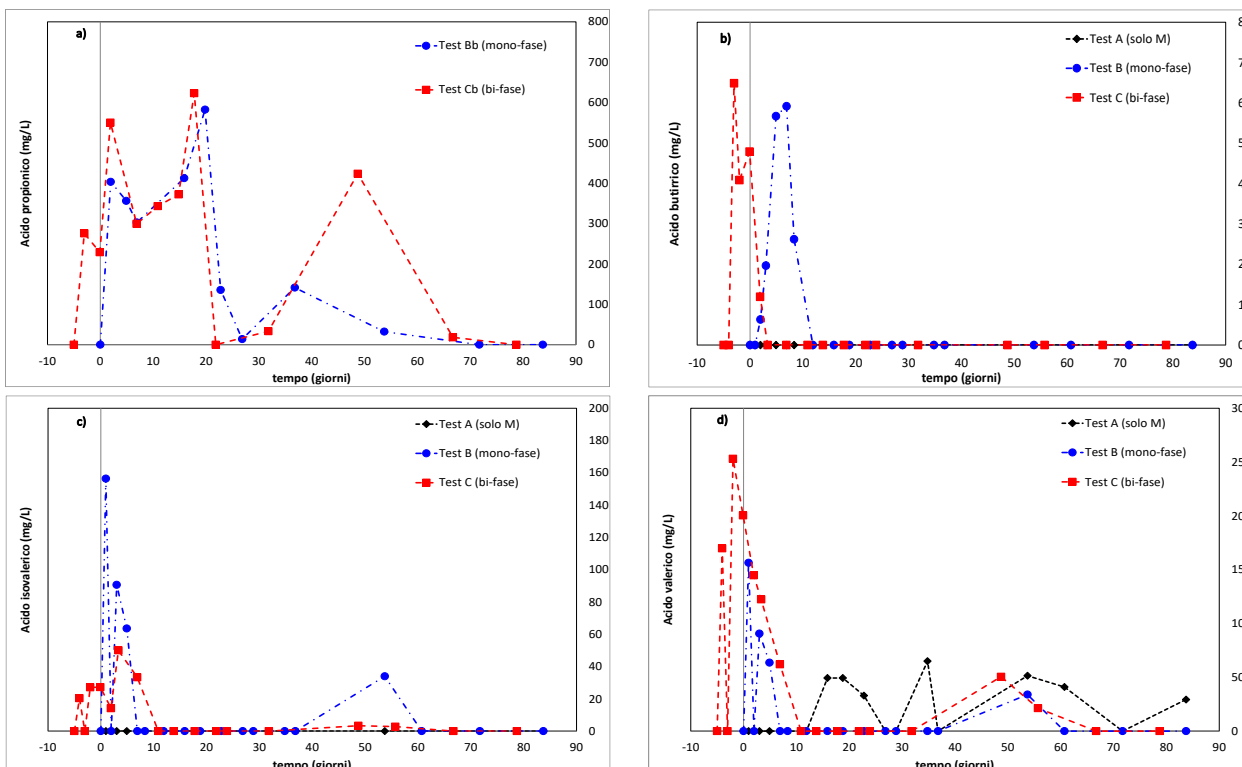


Figura 2.3.5 – Andamento nel tempo della concentrazione di acidi volatili nei reattori da 12 L: a) Acido propionico; b) Acido butirrico; c) Acido isovalerico; d) Acido valerico

Più irregolari e frastagliati sono gli andamenti delle concentrazioni di acido isovalerico e valerico, il primo caratterizzato da punte particolarmente elevate nella configurazione bi-fase, ed il secondo da punte più accentuate nella configurazione mono-fase.

In generale i picchi di acidi sono coerenti con le produzioni di biogas: la presenza di massimi assoluti rilevabili all'inizio del processo e contenuti in un arco di tempo molto ristretto mostrano come la digestione del substrato riesca a procedere senza ritardi dovuti all'accumulo di acidi.

2.4 Risultati dei Test non sterili

I TNS hanno prodotto risultati particolarmente interessanti non solo per conoscere l'effetto della sterilizzazione in autoclave del substrato sulla eventuale degradazione dei composti lignocellulosici, ma anche per valutare l'effetto dello scale-up eseguito a pari caratteristiche di inoculo metanogeno (M). Come indicato in precedenza (par. 2.1) i TNS sono stati condotti, infatti, su reattori da 120 mL, adoperando lo stesso inoculo M utilizzato nella CA2016.

Tabella 2.4.1 – Produzioni di idrogeno (Fase 1) e metano (Fase 2) nei reattori da 120 mL senza sterilizzazione del substrato (TNS)

Test	H ₂ (mL/L)	H ₂ (mL·gSV ⁻¹)	CH ₄ (mL/L)	CH ₄ (mL·gSV ⁻¹)
Bb_{monofase}	-	-	1802,0±89,6	296±14,1
Cb_{bifase}	50,9±37,8	9,8±4,7	1632,1±190,4	293±29,8

I risultati delle prove, in termini di produzione di gas, sono sintetizzati in Tabella 2.4.1 e nelle Figure 2.4.1 e 2.4.2. Come si può osservare confrontando questi dati con quelli riportati in Tabella 2.2.1, l'assenza di sterilizzazione non ha determinato una maggiore difficoltà nello sviluppo del processo, ad indicare che l'azione dell'autoclave non ha favorito l'idrolisi del substrato. Le rese di produzione di metano e di idrogeno sono addirittura maggiori di quelle ottenute nella sperimentazione del CA2016 condotta con reattori della stessa dimensione, e più prossime, seppur inferiori, a quelle effettuate su reattori da 12L. Questi risultati mettono in evidenza il ruolo svolto dall'inoculo scelto per la produzione di metano e ulteriori studi circa la composizione della comunità metanigena di partenza sono certamente necessari per approfondire questo aspetto.

I risultati ottenuti evidenziano la possibilità di condurre il processo di DA con bioaugmentation senza dover sterilizzare il substrato di partenza: infatti la flora microbica autoctona non sembra ostacolare l'attività degli inoculi adoperati per la bioaugmentation.

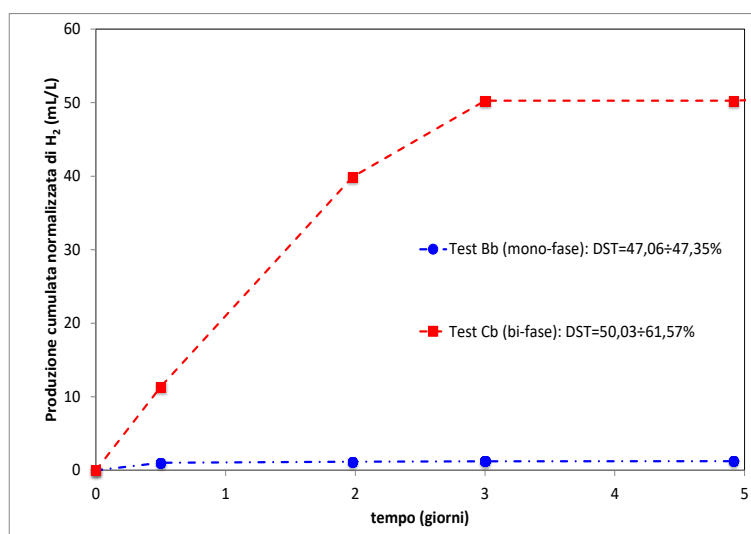


Figura 2.4.1 – Andamento della produzione cumulata di H₂ nei TNS. DST = deviazione standard

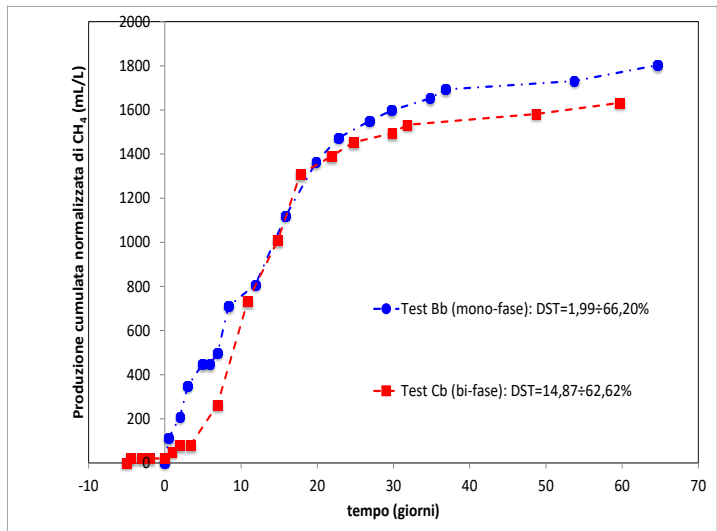


Figura 2.4.2 – Andamento della produzione cumulata di CH₄ nei TNS.
DST = deviazione standard

Le concentrazioni di acidi volatili rilevate nel corso dei TNS, riassunte nelle Figure 2.4.3 e 2.4.4, presentano andamenti simili, in linea di massima, a quelli delle prove della CA2016 eseguita nelle stesse condizioni e secondo la stessa configurazione, ma in reattori di volumetria maggiore.

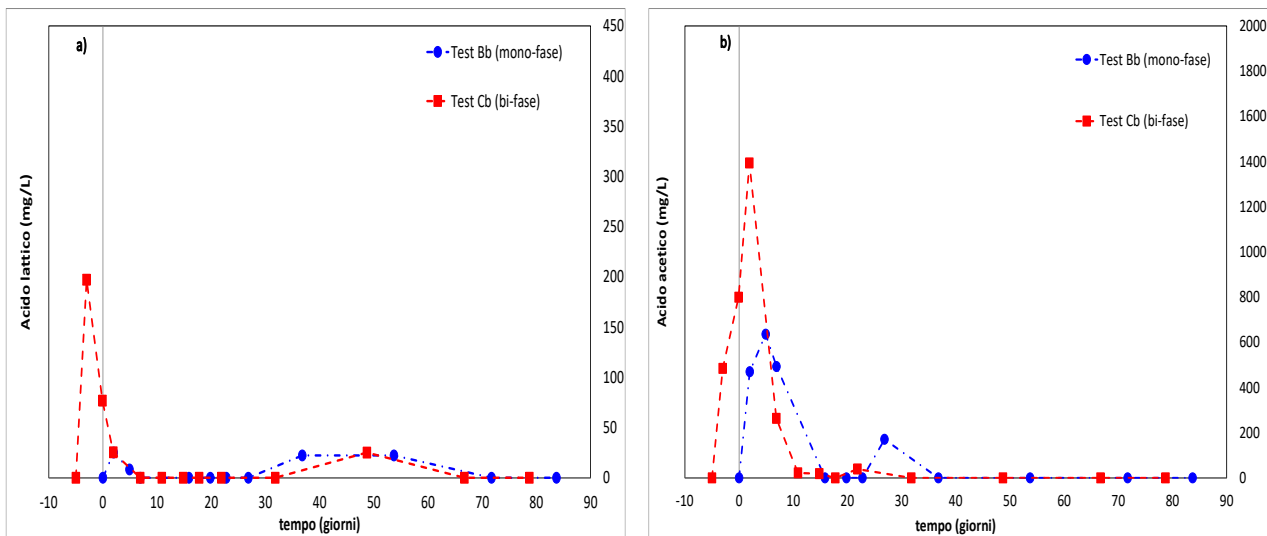
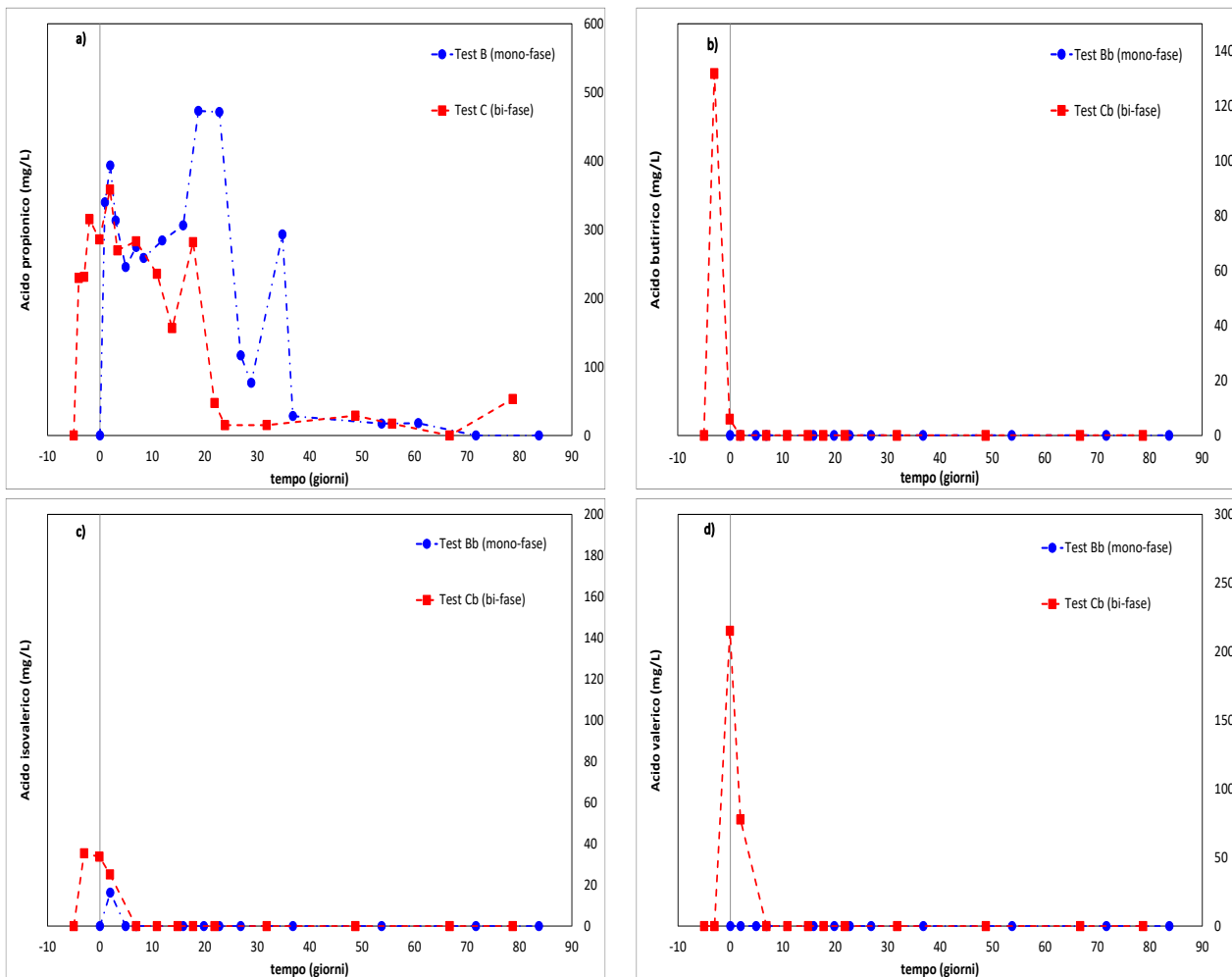


Figura 2.4.3 – Andamento nel tempo della concentrazione di acidi volatili nei TNS L:
a) Acido lattico; b) Acido acetico



**Figura 2.4.4 – Andamento nel tempo della concentrazione di acidi volatili nei TNS:
a) Acido propionico; b) Acido butirrico; c) Acido isovalerico; d) Acido valerico**

Una evidente eccezione è costituita dal picco di acido acetico, che nelle prove non sterili è maggiore nel test bifase rispetto al monofase, mentre il contrario si verifica nelle prove eseguite su reattori da 12L in condizioni sterili. Tutto ciò enfatizza la perfetta scalabilità del processo proposto, ed avvalorava le ipotesi sopra riportate circa le differenze esistenti tra la CA2015 e la CA2016.

3 Conclusioni

La digestione anaerobica di scarti lignocellulosici costituisce argomento di intense ricerche: infatti la possibilità di produrre idrogeno e metano dalla trasformazione di materiali di scarto abbondanti sul territorio nazionale ed Europeo quali possono essere la paglia di grano ed altri substrati analoghi, rappresenta una alternativa allo sfruttamento energetico di risorse fossili troppo importante per poter essere trascurata a livello applicativo, ed essere relegata al campo della ricerca.

D'altra parte i materiali lignocellulosici costituiscono una tipologia di substrato tra le più recalcitranti alla degradazione a causa della presenza di legami complessi tra lignina, emicellulosa e cellulosa che ne rallentano il processo di idrolisi, e di conseguenza alterano l'equilibrio tra le diverse fasi del percorso biochimico degradativo della digestione anaerobica limitando la produzione di biogas e idrogeno.

Nell'ambito di questa problematica il presente studio si è posto come obiettivo quello di facilitare il passaggio delle attività di ricerca al campo delle applicazioni. A tal fine sono state effettuate prove di scale-up di esperimenti che avevano fornito risultati molto interessanti di produzione di CH₄ e H₂ da paglia di grano mediante bioaugmentation della comunità metanogena con ceppi di Funghi Anaerobi Ruminali e il pool batterico fermentante F210: il processo, già testato a scala di banco con risultati molto promettenti (CA2016), è stato studiato su reattori da 12L, effettuando un passaggio di scala 100x. Si è inoltre analizzata la possibilità di eseguire bioaugmentation senza sterilizzare preventivamente il substrato.

I risultati ottenuti hanno dimostrato che:

- anche aumentando la dimensione dei reattori (100x), le prove con bioaugmentation della comunità metanogena forniscono maggiori produzioni di CH₄ rispetto alle prove di controllo, condotte con solo inoculo metanogeno M; in questa serie sperimentale l'incremento del 42% e del 46% rispettivamente per la configurazione in mono-fase ed in bi-fase;
- la configurazione in bi-fase aumenta le cinetiche di produzione dimezzando i tempi di produzione di CH₄: infatti la fase esponenziale della sua produzione si conclude a 40 giorni nella configurazione monofase e a 20 giorni nella bifase;
- le produzioni finali di biogas ottenibili in presenza di bioaugmentation non dipendono dalla configurazione impiantistica adottata: sia il processo condotto in bi-fase che quello condotto in mono-fase giungono allo stesso valore finale di produzione specifica di metano. D'altra parte, poiché le cinetiche del processo bi-fase sono molto più veloci, tale configurazione risulta di maggiore interesse nella pratica applicativa;
- nel passaggio di scala, utilizzando reattori da 12 litri si rileva, per tutte le condizioni sperimentali, un incremento sia nelle produzioni cumulative di CH₄ (mL/L) e che nelle rese (mL·gSV⁻¹), con valori raddoppiati. D'altra parte l'incremento della produzione e della resa anche delle prove di controllo, mettono in luce l'importanza delle caratteristiche dell'inoculo utilizzato per la avviare la produzione di metano: in questa serie sperimentale è stato utilizzato l'effluente di un impianto di DA alimentato con reflui bufalini che si suppone avere una comunità microbica caratterizzata da una maggiore diversità funzionale della rispetto a quella utilizzata nel precedente esperimento, e attualmente non disponibile (si veda nota 1);
- lo sviluppo del processo bi-fase, in presenza di ARF e del pool batterico F210, permette lo sfruttamento non solo del CH₄, ma anche dell'H₂ risultante dalla prima fase, che va a costituire circa il 40% della produzione di gas nel corso dei primi 5-6 giorni di processo;
- la produzione di idrogeno solforato nel biogas, monitorata con continuità nel corso della sperimentazione, si attesta su valori compresi tra lo 0,1 e lo 0,2% per le prove condotte in bioaugmentation (Test B e Test C) e su valori inferiori allo 0,1% per le prove condotte con solo inoculo M (Test A);
- è possibile svolgere il processo di DA con bioaugmentation senza dover sterilizzare il substrato di partenza: infatti la flora microbica autoctona non sembra ostacolare l'attività degli inoculi adoperati per la bioaugmentation.

L'insieme dei risultati ottenuti suggerisce, come immediato prosieguo della ricerca, da un lato la sperimentazione su scala pilota, con reattori funzionanti in continuo, per i quali potrebbe risultare più difficile la regolazione dei parametri di processo, dall'altro la sperimentazione con inoculi liofilizzati, da attivare direttamente sull'impianto.

Potrà essere opportuno ottimizzare anche il trattamento del digestato prodotto al termine del processo, pensando eventualmente di adoperarlo come ammendante per la crescita di nuovo substrato, realizzando così un circuito virtuoso che includa la valorizzazione energetica degli scarti, ed il recupero dei nutrienti dagli stessi.

Andrà infine valutata la possibilità di condurre la digestione in condizioni diverse in termini di umidità, eventualmente mescolando gli scarti lignocellulosici con acque reflue agro-industriali in percentuali tali da massimizzare la produzione energetica, minimizzando i volumi degli impianti da realizzare.

4 Riferimenti bibliografici

1. D.P. Chynoweth, J. M. Owens, R. Legrand, "Renewable methane from anaerobic digestion of biomass", *Renewable Energy*, 22 (2001), 1-8.
2. Angelidaki, L. Ellegaard, B.K. Ahring, "Applications of the anaerobic digestion process", *Biomethanation II*, (2003), 1-33, Springer, Berlin Heidelberg, Germania.
3. J.B. Holm-Nielsen, T. Al Seadi, P. Oleskowicz-Popiel, "The future of anaerobic digestion and biogas utilization", *Bioresource Technology*, 100 (2009), 5478-5484.
4. L. Appels, J. Lauwers, J. Degrève, L. Helsen, B. Lievens, K. Willems, J. Van Impe, R. Dewil, "Anaerobic digestion in global bio-energy production: potential and research challenges", *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15 (2011), 4295-4301.
5. F.Y. Cakir, M.K. Stenstrom, "Greenhouse gas production: a comparison between aerobic and anaerobic wastewater treatment technology", *Water Research*, 39 (2005), 4197-4203.
6. P.A. Gerin, F. Vliegen, J.M. Jossart, "Energy and CO₂ balance of maize and grass as energy crops for anaerobic digestion", *Bioresource Technology*, 99 (2008), 2620-2627.
7. S. Chen, B. Chen, D. Song, "Life-cycle energy production and emissions mitigation by comprehensive biogas–digestate utilization", *Bioresource Technology*, 114 (2012), 357-364.
8. T. Al Seadi, B. Drogg, W. Fuchs, D. Rutz, R. Janssen, "Biogas digestate quality and utilization", *The Biogas Handbook*, (2013), Woodhead Publishing, Sawstone Cambridge, Regno Unito.
9. D. Bueno Piaz Barbosa, M. Nabel, N.D. Jablonowski, "Biogas-digestate as nutrient source for biomass production of *Sida hermaphrodita*, *Zea mays L.*, and *Medicago sativa L.*", *Energy Procedia*, 59 (2014), 120-126.
10. S. Raghu, J.L. Spencer, A.S. Davis, R.N. Wiedenmann, "Ecological considerations in the sustainable development of terrestrial biofuel crops", *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 3 (2011), 15-23.
11. C. Di Blasi, V. Tanzi, M. Lanzetta, "A study on the production of agricultural residues in Italy", *Biomass and Bioenergy*, 12 (1997), 321-331.
12. M.M. Benjamin, S.L. Woods, J.F. Ferguson, "Anaerobic toxicity and biodegradability of pulp mill waste constituents", *Water Research*, 18 (1984), 601-607.
13. Y. Chen, J.J. Cheng, K.S. Creamer, "Inhibition of anaerobic digestion process: a review", *Bioresource Technology*, 99 (2008), 4044-4064.
14. F.G. Pohland, S. Ghosh, "Developments in anaerobic stabilization of organic wastes – the two-phase concept", *Environmental Letters*, 1 (1971), 255-266.
15. B. Demirel, O. Yenigun, "Two-phase anaerobic digestion processes: a review", *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 77 (2002), 743–755.
16. M. Dupla, T. Conte, J.C. Bouvier, N. Bernet, J.P. Steyer, "Dynamic evaluation of a fixed bed anaerobic-digestion process in response to organic overloads and toxicant shock loads", *Water Science and Technology*, 49 (2004), 61–68.
17. M.J. Taherzadeh, K. Keikhosro, "Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review", *International Journal of Molecular Sciences*, 9 (2008), 1621-1651.
18. A.T.W.M. Hendriks, G. Zeeman, "Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass", *Bioresource Technology*, 100 (2009), 10-18.
19. A. Lagerkvist, F. Morgan-Sagastume, "The effects of substrate pre-treatment on anaerobic digestion systems: a review", *Waste Management*, 32 (2012), 1634-1650.
20. Y. Zheng, J. Zhao, F. Xu, Y. Li, "Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production", *Progress in Energy and Combustion Science*, 42 (2014), 35-53.

21. T.V Fernandes, G.J. Klaasse Bos, G. Zeeman, J.P.M. Sanders, J.B. van Lier, "Effects of thermo-chemical pre-treatment on anaerobic biodegradability and hydrolysis of lignocellulosic biomass", *Bioresource Technology*, 100 (2009), 2575-2579.
22. D. Jackowiak, D. Bassard, A. Pauss, T. Ribeiro "Optimisation of a microwave pretreatment of wheat straw for methane production", *Bioresource Technology*, 102 (2011), 6750-6756.
23. S. Bolando-Rodríguez, C. Torquero, J. Martìn-Juarez, R. Travaini, P.A. Garcia-Encina, "Effect of thermal, acid, alkaline and alkaline-peroxide pretreatments on the biochemical methane potential and kinetics of the anaerobic digestion of wheat straw and sugarcane bagasse", *Bioresource Technology*, 201 (2016), 182-190.
24. X. Tong, L.H. Smith, P.L. McCarty, "Methane fermentation of selected lignocellulosic materials", *Biomass*, 21 (1990), 239-255.
25. X. Peng, R. Aragao Borner, I. Achu Nges, J. Liu, "Impact of bioaugmentation on biochemical methane potential for wheat straw with addition of *Clostridium cellulolyticum*", *Bioresource Technology*, 152 (2014), 567-571.
26. A. Martin-Ryals, L. Schideman, P. Li, H. Wilkinson, R. Wagner "Improving anaerobic digestion of a cellulosic waste via routine bioaugmentation with cellulolytic microorganisms", *Bioresource Technology*, 189 (2015), 62-70.
27. C. Patriarca, G. Massini, L. Mentuccia, A. Pannicelli, A. Signorini "Produzione biologica di idrogeno da scarti agroalimentari e zootecnici: ruolo della codigestione", *Rivista di Studi sulla Sostenibilità*, (2012), Franco Angeli, Italia
28. G. D'Alessandro, G. Dottorini, M. Fabbicino, F. Liotta, L. Pontoni, "Ottimizzazione delle condizioni di processo per la valorizzazione energetica di substrati di scarto lentamente biodegradabili attraverso decomposizione biologica per via anaerobica", *Ricerca di Sistema Elettrico Report RdS/PAR2014/144*, (2015), ENEA - Ministero dello Sviluppo Economico, Italia.

5 Abbreviazioni ed acronimi

ARF = funghi anaerobici ruminanti;

BMP = potenziale di biometanazione;

CA2015 = campagna di analisi 2015;

CA2016 = campagna di analisi 2016;

DA = Digestione Anaerobica;

DST= Deviazione Standard

M = inoculo metanogeno;

PG = paglia di grano;

ST = solidi totali;

SV = solidi volatili;

TNS = test non sterili.

6 Curriculum scientifico del gruppo di lavoro impegnato nell'attività

Curriculum Vitae di Massimiliano Fabbricino

Massimiliano Fabbricino è Professore Ordinario di Ingegneria Sanitaria Ambientale presso il Dipartimento di Ingegneria Civile Edile ed Ambientale dell'Università di Napoli Federico II, dove è docente dei Corsi di "Rifiuti Solidi" e "Bonifiche dei Siti Contaminati". E' docente altresì presso il Dipartimento di Medicina e Scienze della Salute dell'Università degli Studi del Molise, ed è stato docente nel 2013 presso la University of Washington (Seattle - USA), e nel 2014, 2015 e 2016 presso la University of Sichuan (Chengdu – Cina). E' laureato con lode in Ingegneria Idraulica, e specializzato con lode in Ingegneria Sanitaria Ambientale presso l'Ateneo Federiciano. Ha conseguito il titolo di Dottore di Ricerca in Ingegneria Sanitaria Ambientale presso il Politecnico di Milano. E' stato, ed è tuttora Responsabile Scientifico di numerosi progetti di ricerca. E' risultato vincitore del Premio Fondazione Cortese nel 1996, del Premio dell'American Fulbright Commission for Research Activities nel 2002, e del Premio Endowed Visiting Professorship della University of Washington nel 2013. Si interessa di problematiche connesse con la valorizzazione di rifiuti e scarti domestici ed industriali, e di tematiche connesse con la protezione dell'ambiente e della salute ambientali in senso lato.

Elenco delle principali pubblicazioni degli ultimi 5 anni:

- 1) Tosti S., Fabbricino M., Pontoni L., Palma V., Ruocco C. (2016) CATALYTIC REFORMING OF OLIVE MILL WASTEWATER AND METHANE IN A PD-MEMBRANE REACTOR. *International Journal of Hydrogen Energy* (ISSN: 0360-3199).
- 2) Ferraro A., Fabbricino M., van Hullebusch E.D., Esposito G., Pirozzi F. (2016) Effect of soil/contamination characteristics and process operational conditions on aminopolycarboxylates enhanced soil washing for heavy metals removal: a review. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* (ISSN: 1569-1705).
- 3) d'Antonio G., Esposito G., Fabbricino M., Panico A. (2016) MODELLING THE BIOLOGICAL PROCESSES OF MBR TREATMENT PLANTS. *Desalination and Water Treatment* (ISSN: 1944-3994).
- 4) Lukić B., Huguenot D., Panico A., Fabbricino M., Van Hullebusch E.D., Esposito G. (2016) IMPORTANCE OF ORGANIC AMENDMENT CHARACTERISTICS ON BIOREMEDIATION OF PAH-CONTAMINATED SOIL. *Environmental Science and Pollution Research* (ISSN: 0944-1344).
- 5) Pontoni L., Fabbricino M., Frunzo L., Pirozzi F., Esposito G. (2016) BIOLOGICAL STABILITY AND DEWATERABILITY OF CAS AND MBR SLUDGE. *Desalination and Water Treatment* (ISSN: 1944-3994).
- 6) Ferraro A., Fabbricino M., van Hullebusch E.D., Esposito G. (2016) Calibration and Validation of a Two-Step Kinetic Mathematical Model for Predicting Cu Extraction Efficiency in an EDDS-Enhanced Soil Washing. *Water, Air, & Soil Pollution* (ISSN: 1573-2932).
- 7) Liotta F., Esposito G., Fabbricino M., van Hullebusch E.D., Lens P.N.L., Pirozzi F., Pontoni L. (2016) METHANE AND VFA PRODUCTION IN ANAEROBIC DIGESTION OF RICE STRAW UNDER DRY, SEMI-DRY AND WET CONDITIONS DURING START-UP PHASE. *Environmental Technology* (ISSN: 0959-3330).
- 8) Crocamo A., Di Bernardino S., Di Giovanni R., Fabbricino M., Martins-Dias S. (2015) AN INTEGRATED APPROACH TO ENERGY PRODUCTION AND NUTRIENT RECOVERY THROUGH ANAEROBIC DIGESTION OF VETIVERIA ZIZANOIDES. *Biomass & Bioenergy* (ISSN: 0961-9534).
- 9) Ferraro A., van Hullebusch E.D., Huguenot D., Fabbricino M., Esposito G. (2015) Application of an electrochemical treatment for EDDS soil Washington solution regeneration and reuse in a multi-step soil washing process: Case of a Cu contaminated soil. *Journal of Environmental Management* (ISSN: 0301-4797).
- 10) Tosti S., Cavezza C., Fabbricino M., Pontoni L., Palma V., Ruocco C. (2015) PRODUCTION OF HYDROGEN IN A PD-MEMBRANE REACTOR VIA CATALYTIC REFORMING OF OLIVE MILL WASTEWATER. *Chemical Engineering Journal* (ISSN: 1385-8947).

- 11) Chen Y., Fabbricino M., Benedetti M.F., Korshin G.V. (2015) SPECTROSCOPIC IN SITU EXAMINATION OF INTERACTIONS OF RARE EARTH IONS WITH HUMIC SUBSTANCES. *Water Research* (ISSN: 0043-1354).
- 12) Liotta F., Chatellier P., Esposito G., Fabbricino M., Frunzo L., van Hullebusch E.D., Lens P.N.L., Pirozzi F. (2015) MODIFIED ANAEROBIC DIGESTION MODEL NO.1 FOR DRY AND SEMI-DRY ANAEROBIC DIGESTION OF SOLID ORGANIC WASTE. *Environmental Technology* (ISSN: 0959-3330).
- 13) Race M., Nabelkova J., Fabbricino M., Pirozzi F., Raia P. (2015) ANALYSIS OF HEAVY METAL SOURCES FOR URBAN CREEKS IN THE CZECH REPUBLIC. *Water, Air and Soil Pollution* (ISSN: 0049-6979).
- 14) Pontoni L., D'Alessandro G., d'Antonio G., Esposito G., Fabbricino M., Frunzo L., Pirozzi F. (2015) Effect of anaerobic digestion on rheological parameters and dewaterability of aerobic sludges from MBR and conventional activated sludge plants. *Chemical Engineering Transactions* (ISSN: 2283-9216).
- 15) Agresta A., Fattoruso G., Lanza B., Fabbricino M., Trifuoggi M., De Vito S., Di Francia G. (2015) APPLYING NUMERICAL MODELS AND OPTIMIZED SENSOR NETWORKS FOR DRINKING WATER QUALITY CONTROL. *Procedia Engineering* (ISSN: 1877-7058).
- 16) Liotta F., Chatellier P., Esposito G., Fabbricino M., van Hullebusch E.D., Lens P.N.L., Pirozzi F. (2015) CURRENT VIEWS ON HYDRODYNAMIC MODELS OF NONIDEAL FLOW ANAEROBIC REACTORS. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* (ISSN: 1064-3389).
- 17) d'Antonio L., Fabbricino M., Pontoni L. (2015) Optimization of the treatment cycle of pressed-off leachate produced in a facility processing the organic fraction of municipal solid waste. *Environmental Technology* (ISSN: 0959-3330).
- 18) d'Antonio L., Fabbricino M., Pirozzi F. (2015) EFFECT OF CR(III) ON PROCESS PERFORMANCES OF MBR SYSTEMS. *Desalination and Water Treatment* (ISSN: 1944-3994).
- 19) Pontoni L., d'Antonio G., Esposito G., Fabbricino M., Frunzo L., Pirozzi F. (2015) Thermal pretreatment of olive mill wastewater for efficient methane production: control of aromatic substances degradation by monitoring cyclohexane carboxylic acid. *Environmental Technology* (ISSN: 0959-3330).
- 20) Yan M., Korshin G.V., Claret F., Croué J-P., Fabbricino M., Gallard H., Schafer T., Benedetti M.F. (2014) EFFECTS OF CHARGING ON THE CHROMOPHORES OF DISSOLVED ORGANIC MATTER FROM RIO NEGRO BASIN. *Water Research* (ISSN: 0043-1354).
- 21) Liotta F., Chatellier P., Esposito G., Fabbricino M., van Hullebusch E.D., Lense P.N.L. (2014) HYDRODYNAMIC MATHEMATICAL MODELING OF AEROBIC PLUG FLOW AND NON-IDEAL FLOW REACTORS: A CRITICAL AND HISTORICAL REVIEW. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* (ISSN: 1064-3389).
- 22) d'Antonio L., Fabbricino M., Pirozzi F. (2014) Effect of Cr(III) on process performances of MBR systems. *Desalination and Water Treatment* (ISSN: 1944-3994).
- 23) Liotta F., d'Antonio L., Esposito G., Fabbricino M., Frunzo L., van Hullebusch E.D. Lens P.N.L., Pirozzi F. (2014) EFFECT OF MOISTURE ON DISINTEGRATION KINETICS DURING ANAEROBIC DIGESTION OF COMPLEX ORGANIC SUBSTRATES. *Waste Management and Research* (ISSN: 0734-242X).
- 24) Achard P.O., Fabbricino M., d'Antonio L. (2013) RESOURCES RECOVERY, REUSE, RECYCLING AND CONVERSION IN ITALY. *The Journal of Solid Waste Technology and Management* (ISSN: 1088-1697).
- 25) Fabbricino M., Ferraro A., Del Giudice G., d'Antonio L. (2013) CURRENT VIEWS ON EDDS USE FOR EX-SITU WASHING OF POTENTIALLY TOXIC METAL CONTAMINATED SOILS. *Reviews in Environmental Sciences and Biotechnology* (ISSN: 1569-1705)
- 26) Fabbricino M., Naviglio B., Tortora G., d'Antonio L. (2013) AN ENVIRONMENTAL FRIENDLY CYCLE FOR CR(III) REMOVAL AND RECOVERY FROM TANNERY WASTEWATER. *Journal of Environmental Management* (ISSN: 0301-4797).
- 27) Tosti S., Accetta C., Fabbricino M., Sansovini M., Pontoni L. (2013) REFORMING OF OLIVE MILL WASTEWATER THROUGH A PD-MEMBRANE REACTOR. *Journal of Hydrogen Energy* (ISSN: 0360-3199).

- 28) Pontoni L., Fabbricino M. (2012) Use of Chitosan and Chitosan-derivatives to Remove Arsenic from Aqueous Solutions – A Mini Review. Carbohydrate Research (ISSN: 0008-6215).
- 29) Fabbricino M., d’Antonio L. (2012) USE OF SOLAR RADIATION FOR CONTINUOUS WATER DISINFECTION IN ISOLATED AREAS. Environmental Technology (ISSN: 0959-3330).

Curriculum Vitae di Alberto Ferraro

L’ingegnere Alberto Ferraro ha conseguito la Laurea Specialistica in Ingegneria per l’Ambiente ed il Territorio nel Marzo 2012 presso l’Università degli Studi di Napoli con voto 110 e lode e discussione di tesi dal titolo: “Phosphate removal from an anaerobic digester supernatant by chemical precipitation”.

Nel Dicembre 2015, ha conseguito il titolo di Dottore di ricerca in Tecnologie Ambientali conseguito, nell’ambito del progetto “Erasmus Joint doctorate programme in Environmental Technology for Contaminated Solids, Soils and Sediments” (ETeCoS³), rilasciato congiuntamente dall’Università degli Studi di Cassino e del Lazio Meridionale, Université Paris-Est e UNESCO-IHE, discutendo la tesi dal titolo: “Optimal design and operation of HMs removal from soil by EDDS-enhanced washing”.

L’attività di ricerca di Alberto Ferraro è stata svolta nell’ambito di tematiche concernenti l’Ingegneria Ambientale focalizzandosi sul trattamento del surnatante dei Digestori Anaerobici, durante le attività sperimentali relative alla tesi specialistica, e la bonifica dei siti contaminati da metalli pesanti, durante le attività sperimentali legate al dottorato di ricerca.

In particolare, relativamente alla sperimentazione per la tesi specialistica, condotta presso il Dipartimento di Ingegneria Civile, Ambientale e Oceanica dello Stevens Institute of Technology (Hoboken, NJ), ha avuto la possibilità di affrontare e approfondire lo studio, sia per reattori batch che in continuo, della rimozione del fosfato dal surnatante della fase di Digestione Anaerobica mediante precipitazione chimica con dolomia.

Successivamente, durante il periodo di dottorato, ha investigato gli aspetti legati alla rimozione del rame, da suoli contaminati, con applicazione del processo chimico-fisico del Soil Washing curandone l’ottimizzazione dei parametri operativi e della configurazione reattoristica, la calibrazione e validazione di un modello atto a predire le efficienze di processo al variare di alcuni dei suddetti parametri, l’implementazione di un processo elettrochimico per il recupero e riutilizzo delle soluzioni estraenti coinvolte nel trattamento.

A tal riguardo, i risultati conseguiti dalla propria attività di dottorato hanno consentito la redazione di articoli pubblicati su riviste scientifiche di rilevanza internazionale.

Elenco pubblicazioni

- 1) A. Ferraro, M. Fabbricino, E.D. van Hullebusch, G. Esposito (2016), “Calibration and validation of a two-step kinetic mathematical model for predicting Cu extraction efficiency in an EDDS-enhanced soil washing”, Water Air and Soil Pollution, 227, pp. 1-11
- 2) A. Ferraro, M. Fabbricino, E.D. van Hullebusch, G. Esposito, F. Pirozzi (2016), “Effect of soil/contamination characteristics and process operational conditions on aminopolycarboxylates enhanced soil washing for heavy metals removal: a review”, Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 15, pp. 111-145
- 3) A. Ferraro, E.D. van Hullebusch, D. Huguenot, M. Fabbricino, G. Esposito (2015), “APPLICATION OF AN ELECTROCHEMICAL TREATMENT FOR EDDS SOIL WASHING SOLUTION REGENERATION AND REUSE IN A MULTI-STEP SOIL WASHING PROCESS: CASE OF A Cu CONTAMINATED SOIL”, Journal of Environmental Management, 163, pp. 62-69
- 4) M. Fabbricino, A. Ferraro, G. Del Giudice, L. d’Antonio (2013), “CURRENT VIEW ON EDDS USE FOR EX SITU WASHING OF POTENTIALLY METAL CONTAMINATED SOILS”, Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 12, pp. 391-398

Curriculum Vitae di Elena Bianco

La Dottoressa Elena Bianco ha conseguito la laurea triennale in Ingegneria per l'Ambiente ed il Territorio presso l'Università degli Studi di Napoli "Federico II" nel settembre 2014. Nell'anno 2016 ha svolto il tirocinio formativo presso il Laboratorio di Analisi e Ricerca Ambientale dell'Università degli Studi di Napoli "Federico II", dove ha sviluppato le principali competenze nell'ambito della cromatografia liquida ad elevate prestazioni e della gascromatografia. L'attività sperimentale è stata condotta a scala semi-pilota ed ha riguardato l'ottimizzazione impiantistica dei processi di bioaugmentation finalizzati alla valorizzazione energetica di biomasse di scarto a matrice lignocellulosica. Nel settembre 2016 ha conseguito la laurea specialistica in Ingegneria per l'Ambiente ed il Territorio presso l'Università degli Studi di Napoli "Federico II" con la votazione di 110 e lode.

Curriculum Vitae di Ludovico Pontoni

Laureato con il Massimo dei voti in Scienze Chimiche presso l'università degli Studi di Napoli Federico II con tesi in Chimica Organica dal titolo "Caratterizzazione strutturale del lipopolisaccaride isolato da *Bradyrhizobium* sp. ORS 278" è attualmente al secondo anno del Dottorando di ricerca in Environmental Technologies for Contaminated Solids, Soils and Sediments (ETeCoS3) Erasmus Mundus Joint Doctorate, dottorato congiunto delle Università di Cassino e del Lazio Meridionale (Italy) – University of Paris Est (France) – UNESCO IHE Institute for Water Education (The Netherlands). Ha svolto dal 2010 al 2013 attività di ricerca presso il Laboratorio di Analisi e Ricerche Ambientali del Dipartimento di Ingegneria Civile, Edile ed Ambientale dell'Università Federico secondo di Napoli, nell'ambito del progetto "STABULUM" sull'argomento: "Determinazioni analitiche a supporto del progetto stabulum e messa a punto di una procedura per la determinazione degli intermedi di reazioni di un processo di digestione anaerobica di substrati a diversa biodegradabilità presenti in fase liquida e gassosa". I principali argomenti di ricerca sviluppati sono stati: Analisi chimica ambientale, Digestione Anaerobica, Bonifica di suoli contaminati, Trattamento delle Acque. Nell'arco della esperienza formativa e professionale ha maturato un alto livello di conoscenza pratica e teorica delle strumentazioni di laboratorio con particolare riferimento alle seguenti tecniche analitiche e pratiche di laboratorio: UV-VIS/Fluorescenza UV; GC, GC-MS, IC, HPLC, Analisi Elementare (CHNS/O), NMR - mono e bidimensionale, AAS (FAAS, GFAAS, HGAAS), ICP-OES, ICP-MS, Tritrimetria, Gravimetria, Spirometria, Elettroforesi, Preparazione e derivatizzazione del campione (LLE, SPME, SPE, MWAE), Analisi di matrici complesse, Pratica base di microbiologia: Manipolazione, crescita e arricchimento di colture biologiche.

Elenco Principali Pubblicazioni:

- 1) L. Pontoni, M. Fabbricino, USE OF CHITOSAN AND CHITOSAN-DERIVATIVES TO REMOVE ARSENIC FROM AQUEOUS SOLUTIONS-A MINI REVIEW, Carbohydrate Research, (2012) 356, pp. 86-92.
- 2) S. Tosti, C. Accetta, M. Fabbricino, M. Sansovini, L. Pontoni, REFORMING OF OLIVE MILL WASTEWATER THROUGH A PD-MEMBRANE REACTOR, International Journal of Hydrogen Energy, (2013) 38, pp. 10252-10259
- 3) M. Race, L. Pontoni, M. Fabbricino, J. Nabelkova, F. Pirozzi LA VALUTAZIONE DELLA CONTAMINAZIONE NEI SEDIMENTI DI PRAGA, Eco, (2013) 24, 32-35.
- 4) F. Liotta, G. D'Antonio, G. Esposito, M. Fabbricino, E.D. Van Hullebusch, P.N.L. Lens, F. Pirozzi, L. Pontoni, EFFECT OF TOTAL SOLIDS CONTENT ON METHANE AND VOLATILE FATTY ACID PRODUCTION IN ANAEROBIC DIGESTION OF FOOD WASTE, Waste Management and Research, (2014) 32 (10), pp. 947-953.
- 5) L. Pontoni, G. D'Antonio, G. Esposito, M. Fabbricino, L. Frunzo, F. Pirozzi, THERMAL PRETREATMENT OF OLIVE MILL WASTEWATER FOR EFFICIENT METHANE PRODUCTION: CONTROL OF AROMATIC SUBSTANCES DEGRADATION BY MONITORING CYCLOHEXANE CARBOXYLIC ACID, Environmental Technology (United Kingdom), (2015) 36 (14), pp. 1785-1794.

- 6) L. d'Antonio, M. Fabbricino, L. Pontoni, OPTIMIZATION OF THE TREATMENT CYCLE OF PRESSED-OFF LEACHATE PRODUCED IN A FACILITY PROCESSING THE ORGANIC FRACTION OF MUNICIPAL SOLID WASTE, *Environmental Technology (United Kingdom)*, (2015) 36 (11), pp. 1367-1372.
- 7) A. Ghimire, L. Frunzo, L. Pontoni, G. d'Antonio, P.N.L. Lens, G. Esposito, F. Pirozzi, DARK FERMENTATION OF COMPLEX WASTE BIOMASS FOR BIOHYDROGEN PRODUCTION BY PRETREATED THERMOPHILIC ANAEROBIC DIGESTATE, *Journal of Environmental Management*, (2015) 152, pp. 43-48.
- 8) S. Tosti, C. Cavezza, M. Fabbricino, L. Pontoni, V. Palma, C. Ruocco, PRODUCTION OF HYDROGEN IN A PD-MEMBRANE REACTOR VIA CATALYTIC REFORMING OF OLIVE MILL WASTEWATER, *Chemical Engineering Journal*, (2015) 275, pp. 366-373.
- 9) L. Pontoni, G. D'Alessandro, G. d'Antonio, G. Esposito, M. Fabbricino, L. Frunzo, F. Pirozzi, EFFECT OF ANAEROBIC DIGESTION ON RHEOLOGICAL PARAMETERS AND DEWATERABILITY OF AEROBIC SLUDGES FROM MBR AND CONVENTIONAL ACTIVATED SLUDGE PLANTS, *Chemical Engineering Transactions*, (2015) 43, pp. 2311-2316.
- 10) L. Pontoni, A. Panico, E. Salzano, L. Frunzo, P. Iodice, F. Pirozzi, INNOVATIVE PARAMETERS TO CONTROL THE EFFICIENCY OF ANAEROBIC DIGESTION PROCESS, *Chemical Engineering Transactions*, (2015) 43, pp. 2089-2094.
- 11) F. Liotta, G. Esposito, M. Fabbricino, E. D. van Hullebusch, P.N. Lens, F. Pirozzi, L. Pontoni, METHANE AND VFA PRODUCTION IN ANAEROBIC DIGESTION OF RICE STRAW UNDER DRY, SEMI-DRY AND WET CONDITIONS DURING START-UP PHASE, *Environmental Technology*, (2016) 37, pp 505-512.
- 12) P.S. Calabrò, L. Pontoni, I. Porqueddu, R. Greco, F. Pirozzi, F. Malpei, EFFECT OF THE CONCENTRATION OF ESSENTIAL OIL ON ORANGE PEEL WASTE BIOMETHANIZATION: PRELIMINARY BATCH RESULTS, *Waste Management*, 48 (2016) 440-447.
- 13) L. Pontoni, M. Fabbricino, L. Frunzo, F. Pirozzi, G. Esposito, BIOLOGICAL STABILITY AND DEWATERABILITY OF CAS AND MBR SLUDGE, *Desalination and Water Treatment*, (2016) 1-8.
- 14) S. Tosti, M. Fabbricino, L. Pontoni, V. Palma, C. Ruocco, CATALYTIC REFORMING OF OLIVE MILL WASTEWATER AND METHANE IN A PD-MEMBRANE REACTOR, *International Journal of Hydrogen Energy*, 41 (2016) 5465-5474.
- 15) M. Fabbricino, L. Pontoni, USE OF NON-TREATED SHRIMP-SHELLS FOR TEXTILE DYE REMOVAL FROM WASTEWATER, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 4 (2016) 4100-4106.
- 16) L. Pontoni, E.D. van Hullebusch, M. Fabbricino, G. Esposito, F. Pirozzi, ASSESSMENT OF TRACE HEAVY METALS DYNAMICS DURING THE INTERACTION OF AQUEOUS SOLUTIONS WITH THE ARTIFICIAL OECD SOIL: EVALUATION OF THE EFFECT OF SOIL ORGANIC MATTER CONTENT AND COLLOIDAL MOBILIZATION, *Chemosphere*, 163 (2016) 382-391.