



## Ricerca di Sistema elettrico

# Sperimentazione in impianto pilota per la produzione di biogas da colture energetiche provenienti da terreni marginali non agricoli

*R. Ciccoli, A. Correnti, A. Farneti, S. Orlandini, M. Broglia, F. Petrazzuolo,  
L. Chiarini, S. Tabacchioni, M. Sperandei, V. Pignatelli*

**SPERIMENTAZIONE IN IMPIANTO PILOTA PER LA PRODUZIONE DI BIOGAS DA COLTURE ENERGETICHE  
PROVENIENTI DA TERRENI MARGINALI NON AGRICOLI**

R. Ciccoli, A. Correnti, A. Farneti, S. Orlandini, M. Broglia, F. Petrazzuolo, L. Chiarini, S. Tabacchioni,  
M. Sperandei, V. Pignatelli (ENEA)

Settembre 2013

Report Ricerca di Sistema Elettrico

Accordo di Programma Ministero dello Sviluppo Economico - ENEA

Piano Annuale di Realizzazione 2012

Area: Produzione di energia elettrica e protezione dell'ambiente

Progetto: Sviluppo di sistemi per la produzione di energia elettrica da biomasse e l'upgrading dei biocombustibili

Obiettivo: Sviluppo dei sistemi di produzione di biocombustibili

Responsabile del Progetto: Vito Pignatelli, ENEA

## Indice

SOMMARIO .....	4
1 INTRODUZIONE .....	5
2 DESCRIZIONE DELLE ATTIVITÀ SVOLTE E RISULTATI.....	7
2.1 PRODUZIONE DI BIOMASSA DA TOPINAMBUR.....	7
2.1.1 <i>Epoca e modalità di semina</i> .....	7
2.1.2 <i>Cure colturali</i> .....	7
2.1.3 <i>Raccolta e trattamento della biomassa</i> .....	8
2.2 DIGESTIONE ANAEROBICA DEL TOPINAMBUR.....	8
2.2.1 <i>Alimentazione del DMM2000</i> .....	9
2.2.2 <i>Risultati</i> .....	9
2.2.3 <i>Verifica del potenziale energetico</i> .....	12
2.3 CARATTERIZZAZIONE DELLA COMUNITÀ MICROBICA (BATTERI ED ARCHAEA) .....	12
2.3.1 <i>2.3.1 Procedura Sperimentale</i> .....	12
2.3.2 <i>Risultati</i> .....	13
3 CONCLUSIONI.....	16
BIBLIOGRAFIA .....	17

## Sommario

Vengono descritte di seguito le attività sperimentali volte a definire la fattibilità di una produzione di biomassa da coltura energetica (topinambur) potenzialmente coltivabile in aree marginali o non destinabili all'agricoltura.

La biomassa ottenuta è stata utilizzata per alimentare un digestore anaerobico, operante in mesofilia per la produzione di biogas ricco in metano.

Gli obiettivi del presente lavoro sono così riassumibili:

- Produzione e stoccaggio della biomassa di topinambur da utilizzare nella fase di digestione anaerobica.
- Verifica della potenzialità energetica, sotto forma della produzione di biogas, in un digestore anaerobico pilota del volume di 2 m<sup>3</sup>.
- Caratterizzazione della comunità microbica (Batteri ed Archea) presente nel digestore nelle varie fasi di produzione del biogas.

Verranno descritte le fasi di coltivazione, raccolta e preparazione della biomassa, i risultati e le problematiche riscontrate nel digestore anaerobico utilizzato nella sperimentazione e l'evoluzione della comunità microbica durante la fase metanigena della produzione di biogas.

## 1 Introduzione

Fra le attività da svolgere nell'ambito del PAR 2012 della Ricerca di Sistema sui sistemi di produzione di biocombustibili, era prevista la sperimentazione sull'impianto pilota DMM6000, realizzato nell'ambito del precedente Piano Triennale, di processi di codigestione anaerobica di differenti miscele di matrici organiche fra cui, per il notevole interesse nell'ottica del recupero e riqualificazione produttiva di terreni agricoli abbandonati e, più in generale, terreni marginali e/o degradati, biomasse prodotte da colture dedicate no-food, con particolare riferimento al topinambur (*Heliantus tuberosus L.*).

Di conseguenza, l'attività proposta prevedeva l'uso della biomassa proveniente da prove colturali realizzate dall'ENEA nell'ambito di altri programmi di ricerca sulla coltivazione e conservazione del topinambur (parte aerea, sottoposta ad essiccazione naturale o insilata, previa triturazione, in modo analogo a quanto comunemente fatto con il mais) al fine di verificarne l'idoneità all'impiego per l'alimentazione di un impianto pilota di taglia significativa per la produzione di biogas, evidenziando e superando i problemi posti da un simile passaggio di scala rispetto alle prove di biometanazione e fermentazione in reattori di laboratorio, che avevano peraltro dato risultati molto positivi.

La constatazione del notevole ritardo che si stava verificando per l'avvio dell'impianto pilota DMM6000, e la conseguente disponibilità dello stesso per la realizzazione di una campagna sperimentale di durata significativa, hanno portato alla decisione di utilizzare per le suddette prove un altro impianto, denominato DMM2000, più piccolo di quello collocato presso il Centro ENEA della Casaccia, ma del tutto analogo a questo per tipologia e modalità di funzionamento, che era stato precedentemente collocato dall'ENEA presso Cupinoro (Bracciano, Roma), sede di una discarica per rifiuti speciali non pericolosi gestita dalla Bracciano Ambiente S.p.A. pertanto non utilizzabile per attività agricole. L'impianto ha consentito la realizzazione di prove sperimentali in collaborazione con la Società Bracciano Ambiente S.p.A., che gestisce la suddetta discarica.



**Figura 1. Digestore anaerobico DMM2000**

L'impianto in oggetto, realizzato precedentemente al DMM6000 e utilizzato a suo tempo come modello per la progettazione e realizzazione di quest'ultimo, ha un volume utile di 2 m<sup>3</sup> ed opera con un processo "ad umido" (come la maggior parte dei digestori anaerobici attualmente in funzione in Italia e in Europa). Essendo dotato, come il DMM6000, di un circuito esterno autonomo di termostatazione, è in grado di operare sia in mesofilia che in termofilia. Una foto dell'impianto è visibile in Figura 1.

I tuberi utilizzati per la semina del topinambur provenivano dal campo sperimentale situato a Cupinoro presso l'area circostante la discarica. Già dal 2009 la Bracciano Ambiente e l'Enea hanno impostato una collaborazione finalizzata alla individuazione di colture dedicate alla produzione di biogas. Ciò per ottimizzare l'utilizzo dei circa 40 ettari di terreno circostanti la discarica per la produzione di biomassa vegetale da miscelare con la frazione organica dei Rifiuti Solidi Urbani proveniente dalla raccolta differenziata e destinati ad alimentare un impianto combinato anaerobico-aerobico di prossima realizzazione.

## 2 Descrizione delle attività svolte e risultati

### 2.1 Produzione di biomassa da Topinambur

Nel marzo del 2012, su una superficie di terreno di circa 470 m<sup>2</sup> del CR dell'Enea Casaccia (Roma), è stata realizzata una coltivazione di topinambur per la produzione di steli da destinare all'alimentazione del DMM 2000.

Come puntualizzato nell'introduzione, i tuberi utilizzati per la semina provenivano da un campo sperimentale situato in località Cupinoro. In origine, il germoplasma utilizzato è stato fornito in parte da uno dei più significativi produttori di topinambur italiani (azienda agricola Zanchettin di Ronco all'Adige-Verona) ed in parte acquisito presso produttori della provincia di Roma e di Viterbo o prelevato da aree dove cresce spontaneo. Sono stati utilizzati inoltre tuberi di una varietà registrata dall'Enea denominata Giano 223. La Tabella 1 riporta il quadro del materiale genetico utilizzato.

**Tabella 1. Materiale genetico utilizzato**

Nome	Provenienza	Origine geografica	Colore dei tuberi
Bianco Verona	Az. Zanchettin (Vr)	Nord Europa	Bianco
Gigante viola	Az. Zanchettin (Vr)	Nord Europa	Viola
Bianchetto Lorenzo	Az. Perla (Rm)		Bianco
Violetto Lorenzo	Az. Perla (Rm)		Viola
Bianchetto Vejano	Az. Barlattani (Vt)		Bianco
Violetto Vejano	Az. Barlattani (Vt)		Viola
Violetto Anguillara S.	Spontaneo		Viola
Giano 223	Az. Cervigni (Pg)	Umbria	Viola

#### 2.1.1 Epoca e modalità di semina

La semina è stata effettuata tra l'8 ed il 9 marzo su terreno preventivamente lavorato alla profondità di 20-25 cm., su file di lunghezza di 20 m. ciascuna e con un sesto d'impianto di 1-1,1 m. tra le file e di 30-35 cm. sulla fila. Si trattava di due parcelle rispettivamente di dieci e otto file. La prima parcella si componeva di una fila di Giano 223, tre file di Bianchetto Vejano, due file di Bianco Verona, due file di Violetto Vejano e due file di Violetto Lorenzo. La seconda comprendeva tre file di Gigante viola, due file di Bianco Vejano, due file di Bianco Lorenzo e una fila di Violetto Anguillara S..

I tuberi seminati interi venivano preventivamente concitati con un anticrittogamico a largo spettro d'azione, per proteggere le piante da eventuali attacchi da parte di parassiti vegetali dell'apparato radicale.

#### 2.1.2 Cure colturali

In coincidenza con la semina, è stata effettuata una fertilizzazione con nitrato d'ammonio alla dose di 120 kg/ha di azoto.

Successivamente, alla germinazione, risultata molto vicina al 100%, iniziata con gli ecotipi più precoci la prima settimana di aprile e proseguita poi fino alla fine dello stesso mese, si sono resi necessari due interventi meccanici rinettanti tra le file (fresature con motocoltivatore).

A partire dalla prima settimana di giugno e fino alla fine di agosto, ogni 2-3 giorni, in funzione dell'andamento termico e pluviometrico, è stata apportata l'irrigazione distinguendo tra quella a goccia

nella prima parcella di dieci file e quella per aspersione nella seconda di otto. Ciò per mettere in relazione i due sistemi d'irrigazione con le rese produttive di biomassa verde.

### 2.1.3 Raccolta e trattamento della biomassa

La raccolta degli steli di tutte le varietà, eseguita manualmente, è iniziata l'8 ottobre ed è proseguita fino al 18 dello stesso mese. Complessivamente sono stati ottenute circa 3 tonnellate di materiale, di cui i due terzi destinati all'essiccamento naturale in fascine, un terzo biotriturato ed insilato in vasche di vetroresina delle dimensioni di circa 2 m<sup>3</sup>. Tale diversità di trattamento del materiale vegetale ha consentito di capire quale fosse la forma di conservazione più idonea per il suo utilizzo in impianti di digestione anaerobica a livello industriale.

Per rappresentare graficamente entità e tempi di degradazione degli zuccheri nel materiale vegetale così diversamente conservato, dal 18 ottobre compreso e fino al 5 marzo 2013, ad intervalli settimanali sono stati prelevati sia campioni dalle fascine in via di disseccamento, che campioni d'insilato.

Le relative analisi chimiche sono attualmente in corso di esecuzione presso uno dei laboratori dell'ENEA.

## 2.2 Digestione anaerobica del Topinambur

Il digestore anaerobico DMM2000 (Figura 2) è progettato per operare "ad umido" cioè con un contenuto di sostanza secca inferiore al 10% in peso. L'alimentazione deve quindi essere preventivamente triturrata ed omogeneizzata con acqua prima di procedere all'immissione. Il corpo del digestore è dotato di 3 termocoppie per il controllo della temperatura poste a varia altezza di cui una è collegata tramite PLC al sistema di termostatazione a camicia di fluido riscaldato. Sono presenti inoltre 3 punti di prelievo del campione in corrispondenza delle termocoppie. Nel fondo del digestore sono posizionati il motore dell'albero dell'agitatore interno e due valvole a saracinesca utilizzate per l'immissione dell'alimentazione e per lo svuotamento del DMM2000. Il biogas fuoriesce da una bocchetta posta nella parte superiore del digestore e, dopo essere convogliato in un sistema di guardia idraulica per garantire l'assenza di contatto con l'atmosfera, passa in un contatore volumetrico per la misura.

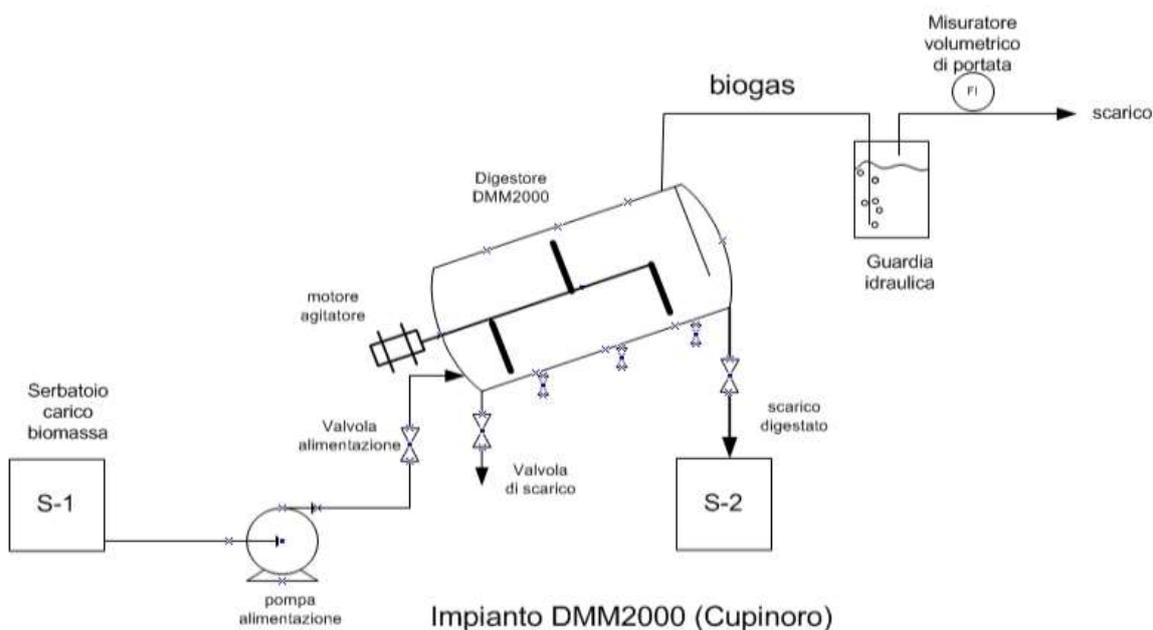


Figura 2. Schema dell'impianto DMM2000

### 2.2.1 Alimentazione del DMM2000

Bisogna puntualizzare che in un primo tempo il digestore avrebbe dovuto essere alimentato con la frazione organica dei rifiuti solidi urbani (FORSU) provenienti dalla raccolta differenziata. Successivamente l'alimentazione sarebbe dovuta essere integrata con Topinambur, una coltura energetica coltivata in un'area marginale adiacente alla discarica stessa.

Problemi autorizzativi relativi al conferimento in discarica della FORSU, hanno determinato l'avvio della sperimentazione con l'utilizzo di solo Topinambur. Allo scopo è stata prodotta una miscela delle 8 varietà, utilizzando esclusivamente la parte aerea della pianta e lasciando i tuberi in campo per la produzione annuale successiva.

Per la triturazione è stato utilizzato un trituratore in grado di ridurre il materiale secco alle dimensioni di circa 1 cm e ridurre ulteriormente, prima dell'uso, il materiale insilato.

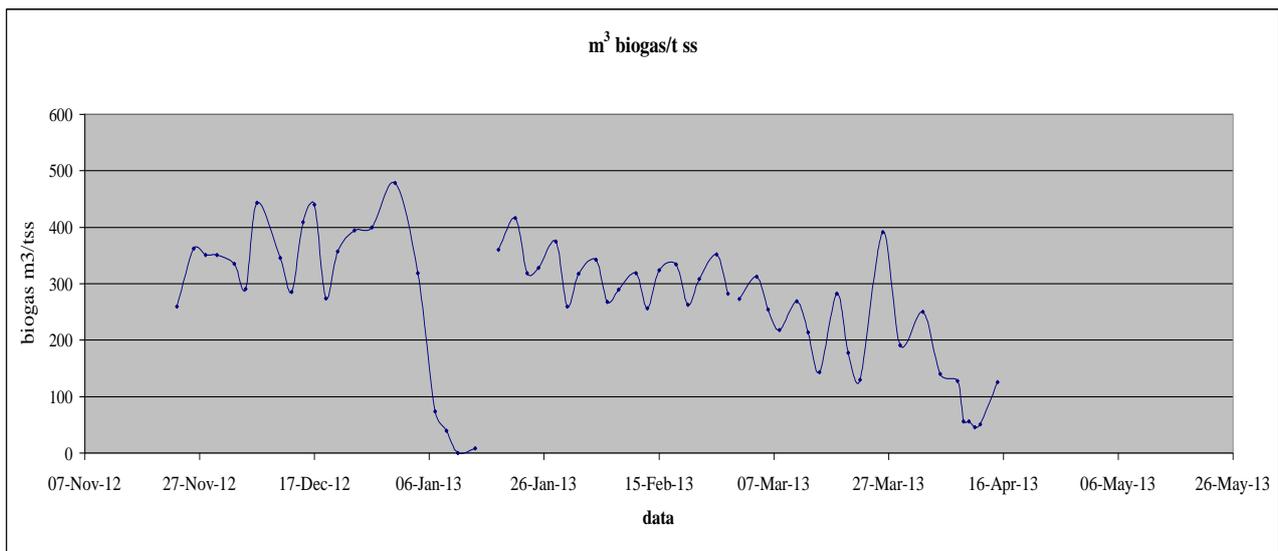
L'alimentazione del digestore è stata avviata con materiale essiccato. Questo ha messo immediatamente in luce l'inadeguatezza della pompa di carico del digestore, costringendo a tritare la biomassa più volte e solo dopo setacciamento (setaccio con maglie di 0,5 cm) a premiscelarla con acqua sino ad un contenuto di secco non superiore al 5%, mantenendola in vorticoso agitazione durante il carico, al fine di contrastare la sua concentrazione per galleggiamento, che avrebbe ostruito la pompa. Una volta trasferita la biomassa nel digestore questa avrebbe dovuto essere efficientemente agitata al fine di essere mantenuta nel corpo del digestore, in condizioni anaerobiche, per poter essere aggredita dai batteri deputati al processo. Al contrario il sistema di agitazione interna si è rivelato assolutamente insufficiente allo scopo, cosicché la biomassa introdotta saliva rapidamente in superficie dove si formava un 'cappello' di materiale solido che, ad ogni carico, doveva essere rimosso manualmente per evitare l'ostruzione della linea di uscita del gas. Un diverso sistema di agitazione (ad es. mediante ricircolo del liquido e/o del gas) avrebbe forse potuto ovviare a questi problemi. Il materiale insilato poteva essere triturato più finemente e mostrava una tendenza al galleggiamento inferiore a quella del materiale essiccato.

La laboriosità della fase di preparazione della razione ha fatto sì che il digestore venisse alimentato a giorni alterni e ogni 3-4 giorni in occasione delle festività. Questo regime di alimentazione unito ai suddetti problemi strutturali del digestore hanno determinato il funzionamento dello stesso in condizioni di assoluta sottoalimentazione. Per confronto si consideri che un tipico digestore da 1 MW alimentato con liquami suini e silomais adotta correntemente un rate di carico organico di  $3 \text{ kgSV m}^{-3} \text{ die}^{-1}$  (Sanchez E. *et al*, 2005) contro un valore massimo di 1,1 raggiunto nel presente impianto.

### 2.2.2 Risultati

A parte il guasto quasi immediato di uno dei sensori di temperatura, il sistema di termostatazione non ha suscitato grandi preoccupazioni, riuscendo a mantenere la temperatura di lavoro nel range 37-40°C per quasi tutta la durata della sperimentazione (novembre-aprile): la mancanza di un sistema di registrazione tuttavia non ha consentito di rilevare l'escursione giorno-notte.

In Figura 3 è illustrata la produzione media giornaliera di biogas espressa in metri cubi di biogas prodotto per tonnellata di sostanza secca introdotta nel digestore. Dall'analisi dei dati di produzione, rilevati ad ogni carico del digestore su un normale contatore del gas, l'aspetto più evidente è l'andamento oscillante della produzione, la cui origine si sarebbe forse potuta indagare variando il regime dell'alimentazione (vedi oltre).



**Figura 3. Produzione specifica di biogas per l’impianto DMM2000**

Inizialmente si è adottato un carico di 6 kg di topinambur secco, che aveva un buon contenuto di sostanza volatile (SV) pari al 90,9% del secco totale. Ricordiamo che la sostanza volatile è la parte fermentiscibile della biomassa. In questa fase il carico organico introdotto (6 kg di topinambur essiccato) corrispondeva a  $1,13 \text{ kgSV m}^{-3} \text{ die}^{-1}$  e una parte del separato liquido del digestato veniva ricircolata nel sistema per recuperare alcalinità. In queste condizioni la produzione di biogas è arrivata a picchi di  $1 \text{ Nm}^3/\text{die}$ .

A parte la riduzione del carico da 6 a 4 kg di topinambur secco, corrispondenti a  $0,75 \text{ kgSV m}^{-3} \text{ die}^{-1}$  adottata nel periodo natalizio, un guasto al contatore del gas ha determinato un vero e proprio crollo della produzione rilevata. Con la riparazione del guasto e la ripresa del carico organico più sostenuto il sistema ritornava a produrre intorno a  $0,7\text{-}0,8 \text{ m}^3/\text{die}$ . Il passaggio all’alimentazione con insilato, per quanto graduale, ha determinato una riduzione di alimentazione, a causa della sua elevata umidità e perdita di potenziale energetico, attestando la produzione giornaliera intorno a  $0,4 \text{ m}^3/\text{die}$ .

All’inizio di aprile, considerata ormai esaurita la sperimentazione, al fine di verificare l’origine dell’andamento oscillante della produzione di biogas, si è voluto tentare una variazione del regime alimentare, effettuando un carico giornaliero del DMM2000.

Purtroppo, a questo punto, si è proceduto con incremento troppo rapido del rateo di carico organico e ciò ha determinato l’arresto del processo di fermentazione per over-load del sistema. In Figura 4 si vede chiaramente l’incremento della acidità, dovuta agli acidi grassi volatili (VFA), che causa una rapida caduta del pH portando il rapporto FOS/TAC oltre il range di stabilità del digestore ( $0,2\div 0,3$ ) inibendo l’intero processo. L’incremento della concentrazione dei VFA è esplicitata in Figura 5 dall’andamento del VFA più abbondante, l’acido acetico.

Una maggiore gradualità nell’operazione avrebbe consentito di mantenere sotto controllo i parametri di processo (diminuzione del pH, aumento dell’acido propionico, FOS/TAC, composizione del gas).

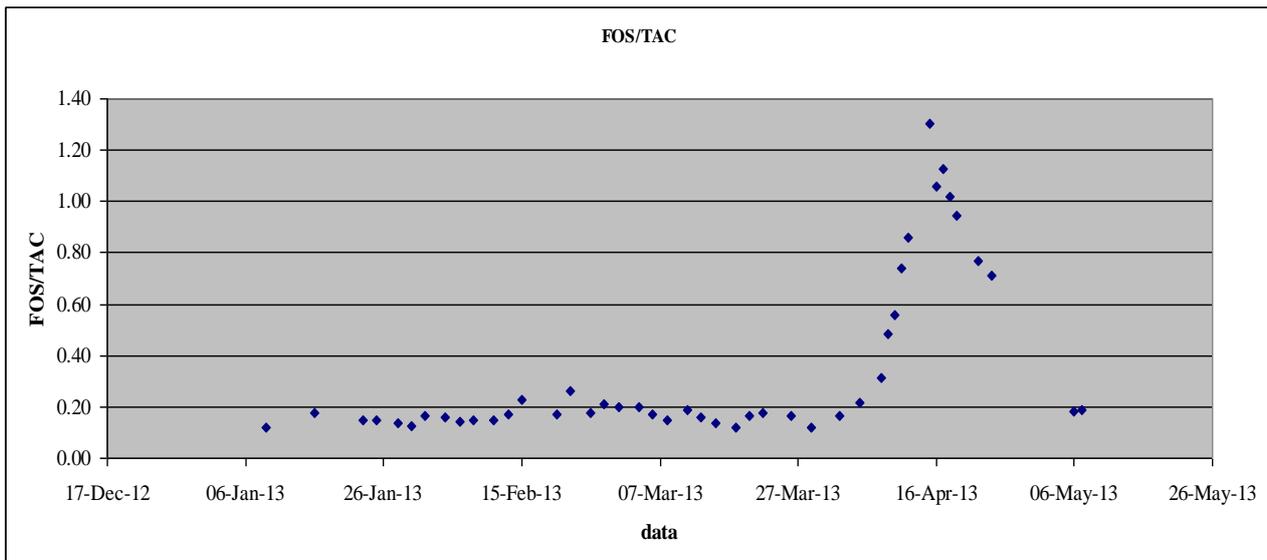


Figura 4. Andamento del rapporto FOS/TAC per l'impianto DMM2000

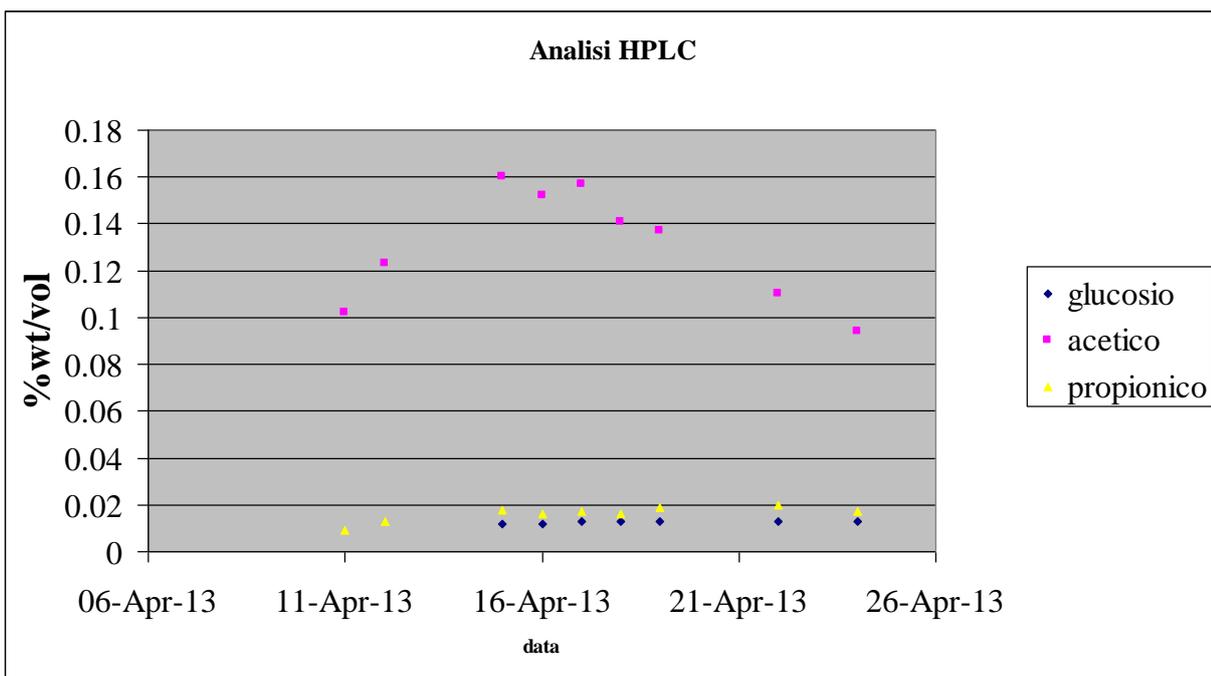


Figura 5. Andamento degli acidi acetico e propionico nel periodo di overload del DMM 2000

Per valutare l'efficienza del processo di digestione, oltre a calcolare la produzione specifica di biogas per tonnellata di sostanza secca ( $m^3$  biogas/t ss) immessa nell'impianto (Figura 3), si è valutato il potenziale energetico del digestato in uscita dall'impianto. Il risultato è che il separato solido del digestato ha ancora un notevole potenziale produttivo ( $450 m^3/t$  ss). Si è inoltre verificata la percentuale di degradazione della frazione volatile della sostanza secca (la parte fermentiscibile della biomassa) tra ingresso ed uscita del reattore che si è attestata al 62% di degradazione.

### 2.2.3 Verifica del potenziale energetico

Parallelamente alla gestione del digestore, per valutare la funzionalità dell'impianto ed avere dei valori di riferimento e confronto, sono state condotte in laboratorio prove di produzione potenziale di biogas delle matrici utilizzate (topinambur fresco, essiccato ed insilato) e dei reflui del digestore stesso (digestato, separato in liquido e solido).

L'analisi dei risultati fa notare che l'insilaggio può portare ad una leggera riduzione del potenziale produttivo (da 670 a 450-550 m<sup>3</sup>/t ss) tanto maggiore quanto più lungo il periodo di insilaggio.

## 2.3 Caratterizzazione della comunità microbica (Batteri ed Archaea)

### 2.3.1 Procedura Sperimentale

Al fine di studiare la dinamica della comunità microbica durante la fermentazione del topinambur per la produzione di metano sono stati effettuati prelievi sia dal substrato utilizzato per l'alimentazione che dal digestato. I campioni pari ad un volume di circa 35 ml sono stati prelevati settimanalmente per un periodo di 10 settimane a partire dal terzo mese dall'inizio del processo di fermentazione (Tabella 2).

**Tabella 2. Schema prelievi durante il processo di fermentazione**

Campionamenti	Alimentazione
Settimana 1	Topinambur secco
Settimana 2	Topinambur secco
Settimana 3	Topinambur secco/insilato (1:1)
Settimana 4	Topinambur secco/insilato (1:4)
Settimana 5	Topinambur insilato
Settimana 6	Topinambur insilato
Settimana 7	Topinambur insilato
Settimana 8	Topinambur insilato
Settimana 9	Topinambur insilato
Settimana 10	Topinambur insilato

Per caratterizzare la comunità microbica è stato utilizzato un approccio sperimentale indipendente dalla coltivazione dei batteri che prevede l'impiego della tecnica molecolare "Denaturing Gradient Gel Electrophoresis" (DGGE), una tecnica impiegata per la separazione di frammenti di DNA che differiscono nella sequenza nucleotidica anche di una sola coppia di basi. Infatti, nella DGGE, che viene condotta in presenza di denaturanti chimici, i frammenti di DNA di pari peso molecolare si separano in base al *pattern* di denaturazione.

Da ciascun campione è stato estratto il DNA genomico totale secondo la procedura descritta da Minas *et al.* (2011). Circa 20 ng di DNA genomico totale sono stati amplificati tramite PCR con primers specifici per il gene che codifica per la subunità ribosomiale 16S (16S rDNA) sia dei Batteri che degli Archaea come descritto rispettivamente in El Fantroussi *et al.* (1999) e Wu *et al.* (2001). La separazione tramite DGGE degli ampliconi del gene 16S rDNA rappresentativi della comunità microbica dei Batteri e degli Archaea presente nei campioni di alimentazione e digestato è stata effettuata seguendo la procedura descritta da Paganin *et al.* (2013). Poiché il bioreattore durante l'ultimo periodo del processo di fermentazione (circa 8 settimane), è stato alimentato con topinambur insilato è stata verificata anche l'eventuale presenza di specie batteriche appartenenti al genere *Clostridium*, in questo caso il controllo è stato effettuato mediante l'amplificazione del gene che codifica per la subunità *hydA* dell'enzima [FeFe]-idrogenasi.

La scelta di un gene funzionale come target molecolare dipende dal fatto che il gene 16S rDNA comunemente utilizzato per studi di caratterizzazione delle comunità microbiche non è sufficiente per distinguere le diverse specie del genere *Clostridium*. Il gene *hydA* è stato amplificato sia dal topinambur insilato che dai campioni di digestato prelevati a cadenza settimanale secondo la procedura descritta da Fang et al. (2006).

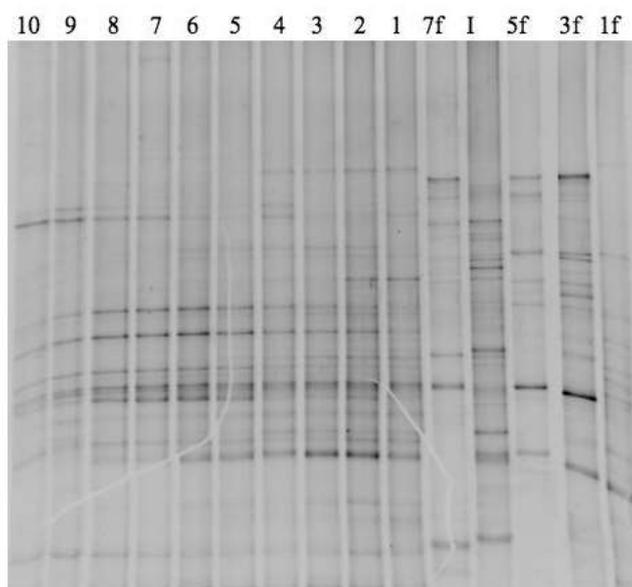
### 2.3.2 Risultati

L'analisi della composizione della comunità microbica mediante DGGE ha evidenziato come entrambe le comunità dei Batteri (Figura 8) e degli Archaea (Figura 6) subiscono forti variazioni soprattutto nelle prime settimane di fermentazione (campioni 1, 2, 3, 4).

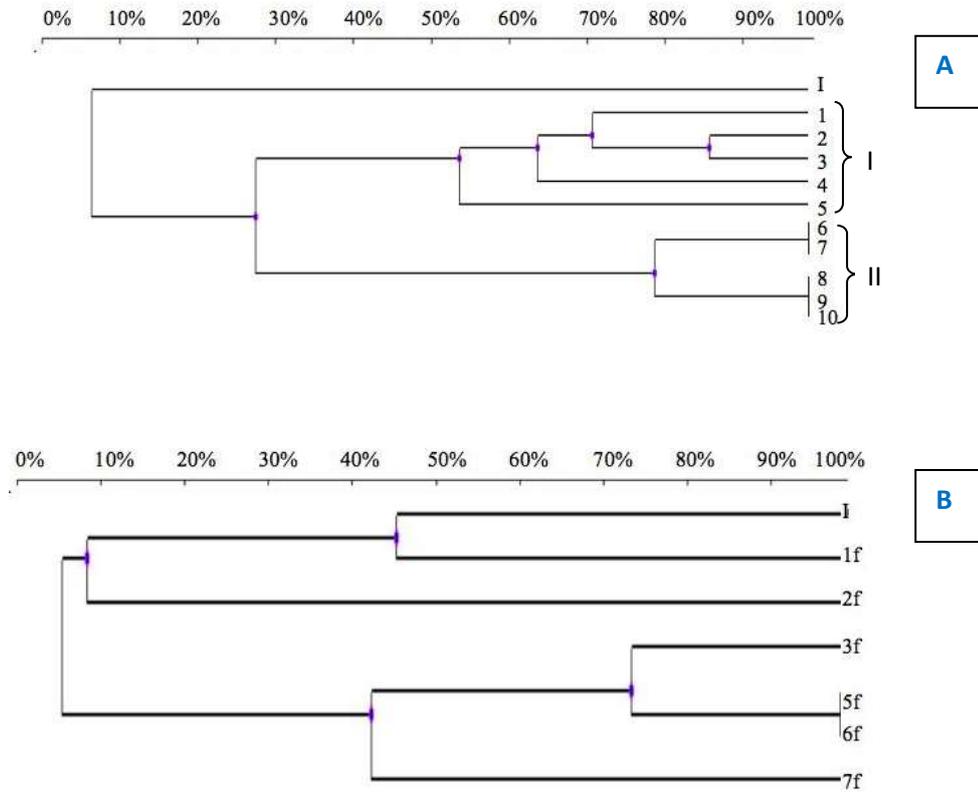
In seguito, alla sostituzione di topinambur secco con quello insilato come alimentazione per la fermentazione (campioni 5, 7, 8, 9, 10) le due comunità microbiche tendono a stabilizzarsi, anche se un'analisi più approfondita dei due gel DGGE rivela differenze significative. In particolare, la diversità, misurata mediante il numero di bande presenti in ciascun profilo DGGE, è in generale maggiore nella comunità degli Archaea rispetto a quella dei batteri, inoltre, la diversità di questi ultimi aumenta nel tempo, mentre quella degli Archaea mostra una chiara tendenza opposta.

Lo stesso andamento è reso ancora più evidente dai dendrogrammi risultanti dalla "cluster analysis" effettuata sui profili DGGE (Figura 7A e Figura 9A). È interessante notare che anche i due substrati (topinambur secco e insilato) si differenziano tra di loro per quanto riguarda la composizione delle due comunità microbiche (Figura 7B, Figura 9B). D'altronde, al passaggio da topinambur secco a topinambur insilato corrisponde anche una diminuzione del pH del digestato, dovuto probabilmente ad una variazione nella composizione della comunità microbica. Attualmente sono in corso esperimenti riguardanti il sequenziamento di bande prelevate dai gel DGGE al fine di definire l'appartenenza a taxa microbici specifici.

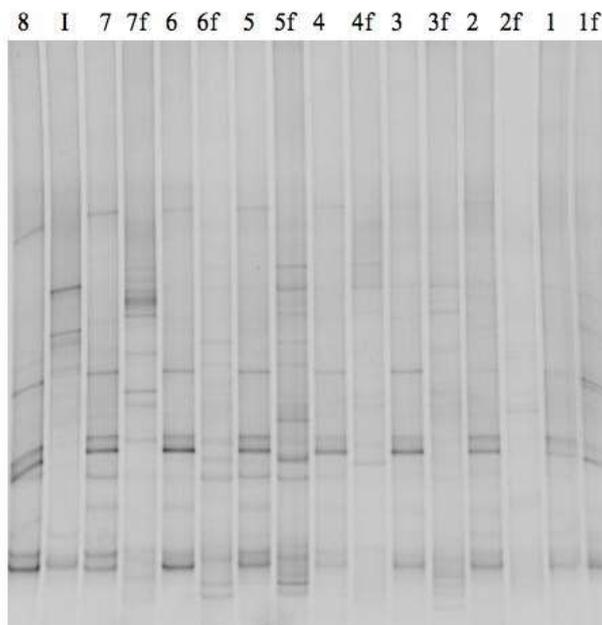
Per quanto riguarda la presenza di batteri appartenenti al genere *Clostridium*, solo in due campioni di digestato corrispondenti alle settimane in cui il bioreattore è stato alimentato con topinambur insilato è stata rilevata una banda di amplificazione con i primers specifici per il gene *hydA*. Successivi esperimenti saranno condotti per analizzare la composizione in specie di questa specifica comunità microbica.



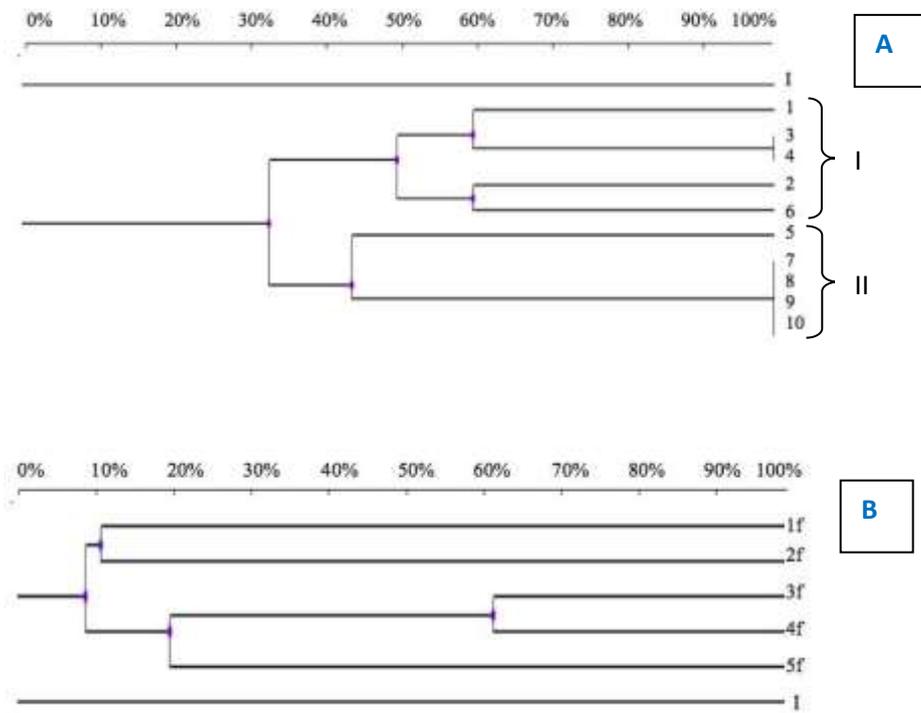
**Figura 6. DGGE della comunità degli Archaea presente nei campioni di digestato (settimane 1-10), inoculo (I) e substrato utilizzato per l'alimentazione (1f, 3f, 5f, 7f)**



**Figura 7. Dendrogrammi derivanti dall'analisi dei profili DGGE della comunità degli Archaea presente nei campioni di digestato (A) (settimane 1-10), inoculo (I) e substrato utilizzato per l'alimentazione (B) (1f, 3f, 5f, 7f)**



**Figura 8. DGGE della comunità degli Batteri presente nei campioni di digestato (settimane 1-8), inoculo (I) e dal substrato utilizzato per l'alimentazione (1f, 2f, 3f, 4f, 5f, 6f, 7f)**



**Figura 9. Dendrogrammi derivanti dall'analisi dei profili DGGE della comunità degli Archaea presente nei campioni di digestato (A) (settimane 1-10), inoculo (I) e dal substrato utilizzato per l'alimentazione (B) (1f, 3f, 5f, 7f)**

### 3 CONCLUSIONI

Obiettivo della sperimentazione era di verificare la fattibilità di un processo di recupero energetico tramite digestione anaerobica di una coltura ad elevato potenziale energetico come il topinambur. La pianta si presta ad essere coltivata in terreni marginali o di scarso valore agricolo. E' una pianta pluriennale, resistente ed estremamente adattabile, che si presta ad essere coltivata in terreni marginali o di scarso valore per l'agricoltura tradizionale, con bassa richiesta di manodopera, fertilizzanti, acqua ed energia. La conservazione tramite insilaggio ha evidenziato una perdita del potenziale energetico di circa il 30 % dopo 6 mesi che si può fissare come termine ultimo per un adeguato utilizzo a fini energetici.

Per la prima volta in assoluto una sperimentazione di digestione anaerobica su un impianto pilota di taglia dell'ordine dei metri cubi è stata condotta con il topinambur, dimostrando la fattibilità di un processo di produzione di biogas (e, quindi, in prospettiva, di energia e/o biocombustibili) da questa pianta.

Come conseguenza delle problematiche emerse nel corso della sperimentazione (necessità di macinazione fine, formazione di croste in testa al digestore dovuta al non adeguato sistema di agitazione interno, impossibilità di una alimentazione costante) si è ottenuta una non adeguata efficienza globale del processo. I valori di produzione di biogas ( $m^3$  biogas/t ss) rilevati sull'impianto si attestano intorno a 1/2 – 2/3 del teorico, dato confermato dall'ancora elevato potenziale produttivo del digestato in uscita dal DMM 2000. Si sono comunque acquisite utili informazioni sulle modalità di trattamento del topinambur in questo tipo di impianti ed è probabile che sperimentazioni successive, effettuate sull'impianto pilota della Casaccia (che consente una migliore agitazione del digestato ed un controllo costante dell'alimentazione e dei parametro di processo), anche in co-digestione con altre tipologie di biomasse e rifiuti organici, forniranno informazioni più accurate sulla reale potenzialità di impiego a fini energetici di questa coltura.

La fase di caratterizzazione della comunità microbica mediante DGGE ha evidenziato come entrambe le comunità dei Batteri e degli Archaea subiscono forti variazioni soprattutto nelle prime settimane di fermentazione. Dopo la variazione della alimentazione da topinambur secco ad insilato le due comunità tendono a stabilizzarsi ma in modo diverso. La diversità è in generale maggiore nella comunità degli Archaea rispetto a quella dei Batteri, e la diversità di questi ultimi aumenta nel tempo, mentre quella degli Archaea mostra una chiara tendenza opposta.

Per quanto riguarda la presenza di batteri appartenenti al genere *Clostridium*, che potrebbero dare qualche preoccupazione per la loro diffusione in ambiente, solo in due campioni di digestato corrispondenti alle settimane in cui il bioreattore è stato alimentato con topinambur insilato è stata rilevata una banda di amplificazione con i primers specifici per il gene *hydA*. Indagini ulteriori saranno condotte per analizzare la composizione in specie di questa specifica comunità microbica.

## Bibliografia

Sanchez E., Borja R., Travieso L., Martín A., Colmenarejo M.F. (2005) Effect of organic loading rate on the stability, operational parameters and performance of a secondary upflow anaerobic sludge bed reactor treating piggery waste. *Bioresource Technology* **96**: 335–344

El Fantroussi S, Verschuere L, Verstraete W & Top EM (1999) Effect of phenylurea herbicides on soil microbial communities estimated by analysis of 16S rRNA gen fingerprints and community-level physiological profiles. *Appl Environ Microbiol* **65**: 982–988.

Fang H. H. P., Zhang T., Li C. (2006) Characterization of Fe-hydrogenase genes diversity and hydrogen-producing population in an acidophilic sludge. *J. Biotechnol.* **126**: 357 – 364.

Minas K, McEwan NR, Newbold CJ, Scott PK (2011) Optimization of a high-throughput CTAB-based protocol for the extraction of qPCR-grade DNA from rumen fluid, plant and bacterial pure cultures *FEMS Microbiology Letters* **325**:162–169.

Paganin P., Chiarini L, Bevivino A, Dalmastrì C, Farcomeni A, Izzo G, Signorini A, Varrone C, Tabacchioni S (2013) *Vertical distribution of bacterioplankton in Lake Averno in relation to water chemistry* *FEMS Microbiol Ecol* **84**: 176-188.

Wu J-H, Liu W-T, Tseng I-C & Cheng S-S (2001) Characterization of microbial consortia in a terephthalate-degrading anaerobic granular sludge system. *Microbiology* **147**: 373–382.