

POLITECNICO DI TORINO

Collegio di Ingegneria Chimica e dei Materiali

**Corso di Laurea Magistrale in
Ingegneria Chimica e dei Processi Sostenibili**

Tesi di Laurea Magistrale

Valorizzazione di scarti dell'industria agroalimentare per la produzione di biogas e biofertilizzanti e valutazione degli effetti agronomici



Relatrice

Prof. Tonia Tommasi

Correlatrice

Dott. Francesca Demichelis

Candidata

Fabiola Pappalettera

Dicembre 2024

Indice

Indice delle figure.....	V
Indice delle tabelle	VIII
Sommario	X
1. Introduzione	1
1.1 Economia circolare e scarti agroalimentari	1
1.2 Gli scarti di mela	2
1.3 Processi per la produzione di biofertilizzanti	6
1.3.1 Digestione anaerobica	6
2. Materiali e metodi	12
2.1 Inoculo.....	12
2.2 Substrato Vortex.....	12
2.2.1 Pretrattamenti substrato.....	13
2.3 Set-up digestione anaerobica.....	16
2.4 Configurazioni delle prove di digestione anaerobica.....	21
2.4.1 Configurazioni con sansa di mela non pretrattata	21
2.4.2 Configurazioni con sansa di mela pretrattata mediante estrazione assistita da microonde.....	21
2.4.3 Configurazioni con sansa di mela pretrattata mediante estrazione assistita da ultrasuoni.....	22
2.5 Tecniche analitiche utilizzate per la caratterizzazione di biogas e di digestato	23
2.5.1 Analisi al Gas-cromatografo	24
2.5.2 Analisi elementare CHNS(O).....	26
2.5.3 Analisi FOS/TAC	26
2.5.4 Analisi Solidi Volatili (SV) e Solidi Totali (ST).....	28
2.6 Caratterizzazione dei digestati per applicazione in serra	29
2.7 Prove in serra.....	30
3. Risultati	32
3.1 Substrati iniziali.....	32
3.1.1 Inoculo.....	32
3.1.2 Sansa di mela.....	32
3.2 Effetti dei pretrattamenti della sansa di mela sulla digestione anaerobica: confronto tra configurazioni.....	33
3.2.1 Configurazioni S:I 1:1	34
3.2.2 Configurazioni S:I 2:1	37

3.3 Effetti del volume del reattore sulla digestione anaerobica: confronto tra configurazioni	40
3.3.1 Configurazioni con sansa di mela non pretrattata	40
3.3.2 Configurazioni con sansa di mela prettata mediante estrazione assistita da microonde	42
3.3.3 Configurazioni con sansa di mela prettata mediante estrazione assistita da ultrasuoni	45
3.4 Effetti del rapporto S:I sulla digestione anaerobica: confronto tra configurazioni	48
3.4.1 Configurazioni RAW, S:I 1:1 e 2:1	48
3.4.2 Configurazioni MWE, S:I 1:1 e 2:1	50
3.4.3 Configurazioni USE, S:I 1:1 e 2:1	53
3.5 Analisi FOS/TAC	56
3.6 Caratterizzazione dei digestati per prove in serra	59
3.7 Prove in serra.....	61
4. Conclusioni.....	67
Bibliografia.....	71
Ringraziamenti	75

Indice delle figure

Figura 1: sottoprodotti della mela, fonti di terpenoidi, composti fenolici, acidi grassi e fibre alimentari, 2022, tratta da [7]	3
Figura 2: processo industriale della mela e generazione dell'apple pomace, tratta da [8]	4
Figura 3: industria della mela, tecnologia verde e sostenibile, economia circolare, 2022, tratta da [7]	5
Figura 4: degradazione di una sostanza organica a CH ₄ e CO ₂ , tratta da [17]	7
Figura 5: fasi del processo di produzione azienda Vortex, tratta da [26].....	12
Figura 6: sansa di mela essiccata.....	13
Figura 7: microonde (Anton Paar Multiwave 5000)	15
Figura 8: bagno ad ultrasuoni.....	16
Figura 9: configurazione impiantistica digestione anaerobica in laboratorio	19
Figura 10: gas-cromatografo, tratta da [35]	25
Figura 11: gas-cromatografo	25
Figura 12: cromatogramma	26
Figura 13: cromatogramma	26
Figura 14: stufa.....	28
Figura 15: muffola.....	29
Figura 16: confronto produzione cumulata di biogas tra RAW AP 1-250, MWE AP 1-250 e USE AP 1-250.....	35
Figura 17: confronto produzione cumulata di CH ₄ tra RAW AP 1-250, MWE AP 1-250 e USE AP 1-250	36
Figura 18: analisi comparativa della composizione del biogas tra RAW AP 1-250, MWE AP 1-250 e USE AP 1-250	36
Figura 19: confronto produzione cumulata di biogas tra RAW AP 2-250, MWE AP 2-250 e USE AP 2-250.....	38
Figura 20: confronto produzione cumulata di CH ₄ tra RAW AP 2-250, MWE AP 2-250 e USE AP 2-250	38
Figura 21: analisi comparativa della composizione del biogas tra RAW AP 2-250, MWE AP 2-250, USE AP 2-250.....	39
Figura 22: confronto produzione cumulata di biogas tra RAW AP 1-250, RAW AP 1-500 e RAW AP 1-2000	41
Figura 23: confronto produzione cumulata di CH ₄ tra RAW AP 1-250, RAW AP 1-500 e RAW AP 1-2000	41
Figura 24: analisi comparativa della composizione del biogas tra RAW AP 1-250, RAW AP 1-500 e RAW AP 1-2000	42
Figura 25: confronto produzione cumulata di biogas tra MWE AP 1-250, MWE AP 1-500 e MWE AP 1-2000.....	43

Figura 26: confronto produzione cumulata di CH ₄ tra MWE AP 1-250, MWE AP 1-500 e MWE AP 1-2000	44
Figura 27: analisi comparativa della composizione del biogas tra MWE AP 1-250, MWE AP 1-500 e MWE AP 1-2000.....	44
Figura 28: confronto produzione cumulata di biogas tra USE AP 1-250 e USE AP 1-500.....	46
Figura 29: confronto cumulata di CH ₄ tra USE AP 1-250 e USE AP 1-500	46
Figura 30: analisi comparativa della composizione del biogas tra USE AP 1-250, USE AP 1-500 e USE AP 1-2000	47
Figura 31: confronto produzione cumulata di biogas tra RAW AP 1-250 e RAW AP 2-250 .	49
Figura 32: confronto produzione cumulata di CH ₄ tra RAW AP 1-250 e RAW AP 2-250	49
Figura 33: analisi comparativa della composizione del biogas tra RAW AP 1-250 e RAW AP 2-250.....	50
Figura 34: confronto produzione cumulata di biogas tra MWE AP 1-250 e MWE AP 2-250	51
Figura 35: confronto produzione cumulata di CH ₄ tra MWE AP 1-250 e MWE AP 2-250 ...	52
Figura 36: analisi comparativa della composizione del biogas tra MWE AP 1-250 e MWE AP 2-250.....	52
Figura 37: confronto produzione cumulata di biogas tra USE AP 1-250 e USE AP 2-250.....	54
Figura 38: confronto produzione cumulata di CH ₄ tra USE AP 1-250 e USE AP 2-250	54
Figura 39: analisi comparativa della composizione del biogas tra USE AP 1-250 e USE AP 2-250.....	55
Figura 40: titolazione campione di digestato prelevato al giorno 28 della digestione.....	57
Figura 41: titolazione campione di digestato prelevato al termine della digestione	57
Figura 42: titolazione campione di digestato prelevato al giorno 28 della digestione.....	57
Figura 43: titolazione campione di digestato prelevato al termine della digestione	57
Figura 44: titolazione campione di digestato prelevato al giorno 28 della digestione.....	57
Figura 45: titolazione campione di digestato prelevato al termine della digestione	57
Figura 46: crescita settimana 4, prova 1, post-hoc Duncan	62
Figura 47: crescita settimana 4, prova 2, post-hoc Duncan	62
Figura 48: crescita settimana 9, prova 1, post-hoc Duncan	62
Figura 49: crescita settimana 9, prova 2, post-hoc Duncan	62
Figura 50: Indice del Contenuto di Clorofilla settimana 4, prova 1, post-hoc Duncan	63
Figura 51: Indice del Contenuto di Clorofilla settimana 4, prova 2, post-hoc Duncan	63
Figura 52: Indice del Contenuto di Clorofilla settimana 9, prova 1, post-hoc Duncan	63
Figura 53: Indice del Contenuto di Clorofilla settimana 9, prova 2, post-hoc Duncan	63
Figura 54: biomassa fresca, prova 1, post-hoc Duncan.....	65
Figura 55: biomassa fresca, prova 2, post-hoc Duncan.....	65
Figura 56: biomassa secca, prova 1, post-hoc Duncan	65
Figura 57: biomassa secca, prova 2, post-hoc Duncan	65
Figura 58: numero di foglie, prova 1, post-hoc Duncan	65
Figura 59: numero di foglie, prova 2, post-hoc Duncan	65

Figura 60: indice di sviluppo radicale, prova 1, post-hoc Duncan.....	66
Figura 61: indice di sviluppo radicale, prova 2, post-hoc Duncan.....	66

Indice delle tabelle

Tabella 1: configurazioni sperimentali digestione anaerobica	17
Tabella 2: correzione del pH	20
Tabella 3: quantità teoriche di sansa di mela, inoculo e acqua nelle configurazioni AP - RAW	21
Tabella 4: quantità effettive di sansa di mela, inoculo e acqua nelle configurazioni AP - RAW	21
Tabella 5: quantità teoriche di sansa di mela, inoculo e acqua nelle configurazioni AP - MWE	22
Tabella 6: quantità effettive di sansa di mela, inoculo e acqua nelle configurazioni AP - MWE	22
Tabella 7: quantità teoriche di sansa di mela, inoculo e acqua nelle configurazioni AP - USE	23
Tabella 8: quantità effettive di sansa di mela, inoculo e acqua nelle configurazioni AP - USE	23
Tabella 9: fattori per calcolare FOS/TAC, tratta da [38]	28
Tabella 10: solidi totali (ST) e rapporto tra solidi volatili e solidi totali (SV/ST) dell'inoculo	32
Tabella 11: composizione elementare dell'inoculo	32
Tabella 12: solidi totali (ST) e rapporto tra solidi volatili e solidi totali (SV/ST) del substrato	33
Tabella 13: composizione elementare del substrato	33
Tabella 14: solidi totali (ST) e rapporto tra solidi volatili e solidi totali (SV/ST) dei digestati	34
Tabella 15: composizione elementare dei digestati	35
Tabella 16: solidi totali (ST) e rapporto tra solidi volatili e solidi totali (SV/ST) dei digestati	37
Tabella 17: composizione elementare dei digestati	37
Tabella 18: solidi totali (ST) e rapporto tra solidi volatili e solidi totali (SV/ST) dei digestati	40
Tabella 19: composizione elementare dei digestati	41
Tabella 20: solidi totali (ST) e rapporto tra solidi volatili e solidi totali (SV/ST) dei digestati	43
Tabella 21: composizione elementare dei digestati	43
Tabella 22: solidi totali (ST) e rapporto tra solidi volatili e solidi totali (SV/ST) dei digestati	45
Tabella 23: composizione elementare dei digestati	45
Tabella 24: solidi totali (ST) e rapporto tra solidi volatili e solidi totali (SV/ST) dei digestati	48
Tabella 25: composizione elementare dei digestati	49

Tabella 26: solidi totali (ST) e rapporto tra solidi volatili e solidi totali (SV/ST) dei digestati	50
Tabella 27: composizione elementare dei digestati.....	51
Tabella 28: solidi totali (ST) e rapporto tra solidi volatili e solidi totali (SV/ST) dei digestati	53
Tabella 29: composizione elementare dei digestati.....	53
Tabella 30: valori di pH e del rapporto FOS/TAC dei campioni dei digestati.....	58
Tabella 31: valori del rapporto FOS/TAC, tratta da [44].....	58
Tabella 32: composizione elementare dei digestati.....	59
Tabella 33: valori kit Hatch Lange e caratterizzazione.....	60

Sommario

La filiera agroalimentare genera ogni anno più di 190 milioni di tonnellate di sottoprodotti a livello mondiale, derivanti da ogni fase del processo produttivo, dalla coltivazione alla distribuzione e all'utilizzo.

La conversione degli scarti agroalimentari in prodotti ad alto valore aggiunto rappresenta un'opportunità per promuovere un'agricoltura a basso impatto ambientale e circolare. L'economia circolare mira a minimizzare la produzione dei rifiuti, ottimizzare l'utilizzo delle risorse e creare valore da ciò che tradizionalmente viene considerato uno scarto.

Nel settore della produzione agricola globale ogni anno vengono generate 55 milioni di tonnellate di rifiuti alimentari, di questi tra 16.5 e 20.5 milioni di tonnellate provengono da frutta e verdura. In particolare, i sottoprodotti dell'industria melicola costituiscono una quota rilevante di questi rifiuti.

Nel 2019 la produzione mondiale di mele ha raggiunto circa 87.24 milioni di tonnellate, posizionandosi al quarto posto nel consumo globale di frutta fresca. Parallelamente, si stima che siano state generate tra 3.91 e 4.70 milioni di tonnellate di sottoprodotti.

Il presente studio si focalizza sull'analisi della digestione anaerobica degli scarti della mela, costituiti prevalentemente da buccia, semi e steli, con l'obiettivo di valutarne il potenziale nella produzione di biogas e nella formulazione di un digestato ad alto valore agronomico.

Le prove in laboratorio sono state condotte in condizioni mesofile e con alimentazione batch, variando il rapporto substrato:inoculo (S:I) 1:1, 2:1, il trattamento del substrato (nessuno, microonde e ultrasuoni) e il volume del reattore (250 mL, 500 mL e 2000 mL). L'obiettivo è stato valutare l'influenza di questi parametri sulla produzione di biogas e sulla qualità del digestato.

Il digestato prodotto, analizzato per valutarne la conformità al Regolamento 2019/1009/UE, è stato impiegato come fertilizzante in prove di coltivazione di piante di pomodoro in serra. Sono state testate tre diverse formulazioni, variabili per il contenuto di azoto (25, 50 e 100 kg N/ha). L'effetto del digestato sulla crescita delle piante è stato confrontato con quello di un fertilizzante minerale NPK (contenente azoto, fosforo e potassio), con un compost commerciale e con un testimone non trattato. Ogni trattamento è stato replicato dieci volte.

Nonostante la complessa composizione del substrato utilizzato, i risultati sperimentali hanno dimostrato un'alta efficienza del processo. Sono state ottenute percentuali di metano (CH₄) nel biogas pari al 79.69% v/v nella configurazione con rapporto S:I pari a 1:1, substrato trattato mediante gli ultrasuoni e volume del reattore di 500 mL; il 78.07% v/v nella configurazione con rapporto S:I pari a 1:1, substrato non trattato e volume del reattore di 500 mL.

I risultati ottenuti dimostrano l'elevato potenziale della digestione anaerobica degli scarti della mela come strategia per la valorizzazione degli scarti agroalimentari. Le elevate percentuali di metano raggiunte, associate alla produzione di un digestato ad alto valore agronomico, aprono nuove prospettive per la creazione di modelli di bioeconomia circolare, riducendo l'impatto ambientale e promuovendo l'utilizzo sostenibile delle risorse.

1. Introduzione

1.1 Economia circolare e scarti agroalimentari

L'economia circolare, che si pone in contrapposizione al modello tradizionale di estrazione-produzione-consumo-smaltimento, si fonda sui principi di riutilizzo, riciclo e rigenerazione. Questo paradigma produttivo mira a minimizzare la produzione di rifiuti, ottimizzare l'utilizzo delle risorse e creare valore da ciò che tradizionalmente è considerato uno scarto.

La transizione verso una società a basse emissioni di carbonio richiede un profondo ripensamento dei processi produttivi tradizionali. L'adozione di un modello economico biocircolare, incentrato sulla valorizzazione di risorse biologiche rinnovabili e sull'ottimizzazione dei flussi di materia ed energia, rappresenta una promettente alternativa all'attuale paradigma fossile. Le imprese, in particolare quelle operanti nel settore chimico, sono chiamate a sviluppare e implementare soluzioni innovative, basate su principi di *green chemistry* e ingegneria sostenibile, al fine di ridurre l'impronta ambientale dei loro prodotti e processi [1].

L'Unione Europea, con il suo *Green Deal*, ha posto l'economia circolare al centro delle politiche ambientali, promuovendo soluzioni innovative per ridurre al minimo la produzione di rifiuti e valorizzare al massimo le risorse [2].

L'economia circolare trova un solido fondamento nell'Obiettivo 12 dell'Agenda 2030, che promuove l'adozione di modelli di consumo e produzione sostenibili, riducendo gli sprechi e ottimizzando l'utilizzo delle risorse [3].

L'Agenda 2030 per lo Sviluppo Sostenibile è stata sottoscritta il 25 settembre 2015 da 193 Paesi delle Nazioni Unite, tra cui l'Italia; rappresenta un punto di svolta nel dibattito globale sullo sviluppo. Questo ambizioso programma d'azione ha l'obiettivo di eradicare la povertà, proteggere il pianeta e garantire la prosperità per tutti entro il 2030. L'Agenda si articola in 17 Obiettivi di Sviluppo Sostenibile (*Sustainable Development Goals* – SDGs nell'acronimo inglese), declinati in 169 target specifici, che costituiscono un quadro normativo di riferimento per le politiche nazionali e internazionali, promuovendo un approccio integrato alle sfide economiche, sociali e ambientali [4].

Uno dei settori in cui l'applicazione dei principi dell'economia circolare è particolarmente rilevante è quello agroalimentare.

La gestione dei sottoprodotti dell'industria agroalimentare rappresenta una sfida complessa ma anche un'opportunità per stimolare l'innovazione e lo sviluppo di nuovi modelli di business. Ogni anno, ingenti quantità di sottoprodotti agricoli e alimentari vengono generate lungo l'intera filiera produttiva, dal campo alla tavola. La valorizzazione degli scarti agroalimentari, trasformandoli in prodotti ad alto valore aggiunto, si presenta quindi come un'opportunità per promuovere un'agricoltura sostenibile e circolare, contribuendo alla mitigazione dei cambiamenti climatici (riduzione delle emissioni di gas serra, sequestro del carbonio) e alla

sicurezza alimentare (riduzione dello spreco alimentare, aumento della produzione di cibo e miglioramento della qualità del suolo).

Gli studi riportati nella letteratura scientifica si sono concentrati sulla valorizzazione dell'intero sottoprodotto principale della mela (*apple pomace*). Il presente lavoro di tesi, in un'ottica di sostenibilità ambientale, introduce un nuovo approccio, focalizzandosi esclusivamente sulla frazione fibrosa degli scarti, costituita prevalentemente da bucce, semi e steli.

Attraverso un processo di digestione anaerobica, l'obiettivo è stato duplice: da un lato ottimizzare il processo per massimizzare la produzione di biogas e la qualità del digestato; dall'altro, valutare il potenziale agronomico del digestato come fertilizzante alternativo ai prodotti di sintesi.

1.2 Gli scarti di mela

Secondo il rapporto “*What a Waste 2.0*” del 2018, la produzione mondiale di rifiuti solidi urbani, con una prevalenza di scarti alimentari, è destinata a un significativo incremento entro il 2050.

I sottoprodotti derivanti dal processo di produzione di succo di mela costituiscono una frazione significativa dei rifiuti alimentari.

La mela è uno dei frutti più amati in tutto il mondo per il suo delizioso sapore e l'alto valore nutrizionale, classificandosi al quarto posto nel consumo di frutta fresca a livello mondiale [5].

Nel 2019 sono state prodotte circa 87.24 milioni di tonnellate di mele. Nel periodo compreso tra il 2010 e il 2018, la produzione annuale di mele in Polonia ha oscillato tra un minimo di 1.877 e un massimo di 3.9 milioni di tonnellate.

La sansa di mela (*apple pomace, AP*) è il sottoprodotto principale della produzione di succhi e rappresenta circa il 25-30% del peso iniziale del frutto. Considerando questa percentuale, si può calcolare che nel 2018 in Polonia sono state generate circa 0,5 milioni di tonnellate di AP. La Cina genera oltre un milione di tonnellate di AP all'anno.

Nel 2019 sono state generate tra 3.915 e 4.698 milioni di tonnellate di sottoprodotto (AP) a livello mondiale. Si può stimare che, se la produzione di 1 L di succo richiede 1.6 kg di mele, si producono circa 0.4-0.58 kg di AP per ogni litro di succo prodotto [6].

La Cina, per la FAO (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*), è il maggior produttore mondiale di mele, classificandosi come il Paese predominante nell'industria mondiale della produzione melicola, a seguire l'Unione Europea (UE) e gli Stati Uniti. La composizione chimica della mela varia in base alle pratiche agricole adottate e alla regione di produzione.

È un'ottima fonte di fibre solubili, in particolare la pectina; ha minime quantità di lipidi e di proteine; è desiderabile un alto rapporto di zuccheri su acidi grassi sia per il consumo diretto, poiché influisce sul gusto, sia perché rende questo frutto adatto alla produzione di succhi di frutta.

Per quanto concerne i composti fenolici, i cinque gruppi più presenti sono: gli acidi idrossicinnamici, i flavani-3-oli/procianidine, antocianine, flavonoidi e diidrocalconi. Gli acidi

fenolici presenti in maggiore quantità sono: l'acido p-coumarico, clorogenico e feruloilquinico; per i flavonoidi: la quercetina, la catechina, la rutina, l'isoramnetina, la floridzina; le procianidine più abbondanti sono: la floretina, il procianidin dimero A2 e il procianidin trimero C; l' antocianina più presente è il cianiding-3-O-galattoside.

La mela rappresenta la materia prima principale per la produzione di succhi di frutta, data la sua composizione chimica caratterizzata da un rapporto ottimale di zuccheri su acidi. Dalla produzione dei succhi di mela si ottengono grandi quantità di sottoprodotti, che sono costituiti principalmente da bucce, semi, steli e polpa; questi residui sono costituiti da: fibra alimentare, composti fenolici, triterpeni e acidi grassi (Figura 1) [7].

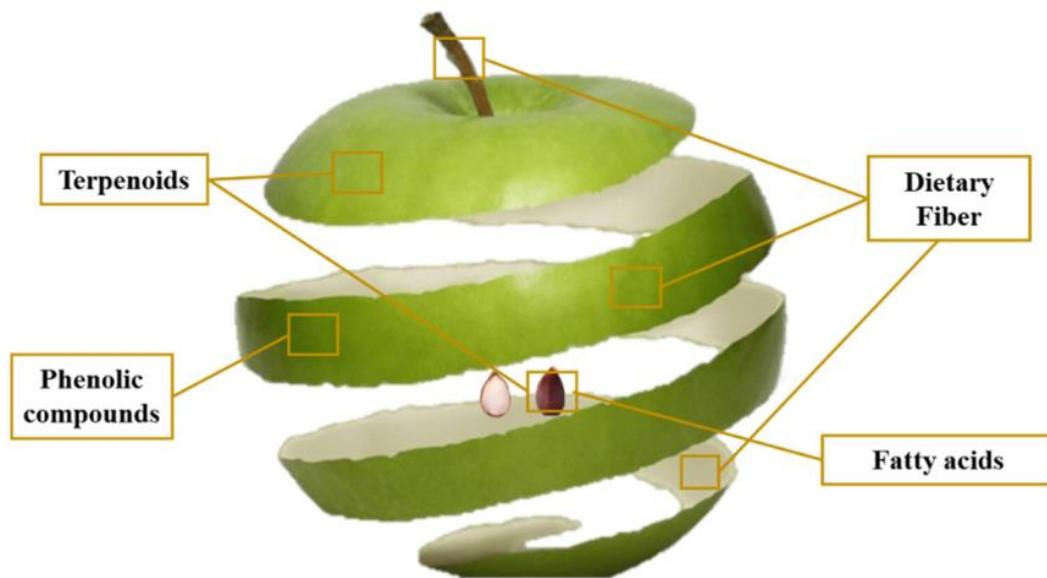


Figura 1: sottoprodotti della mela, fonti di terpenoidi, composti fenolici, acidi grassi e fibre alimentari, 2022, tratta da [7]

La Figura 2 mostra il processo industriale di lavorazione della mela, dalla coltivazione fino allo smaltimento dei sottoprodotti. L'AP, sottoprodotto principale della produzione di succhi, rappresenta circa il 25-30% del peso iniziale del frutto; è formata da buccia e polpa (95%), semi (2-4%) e residui legnosi degli steli (1%) [8].

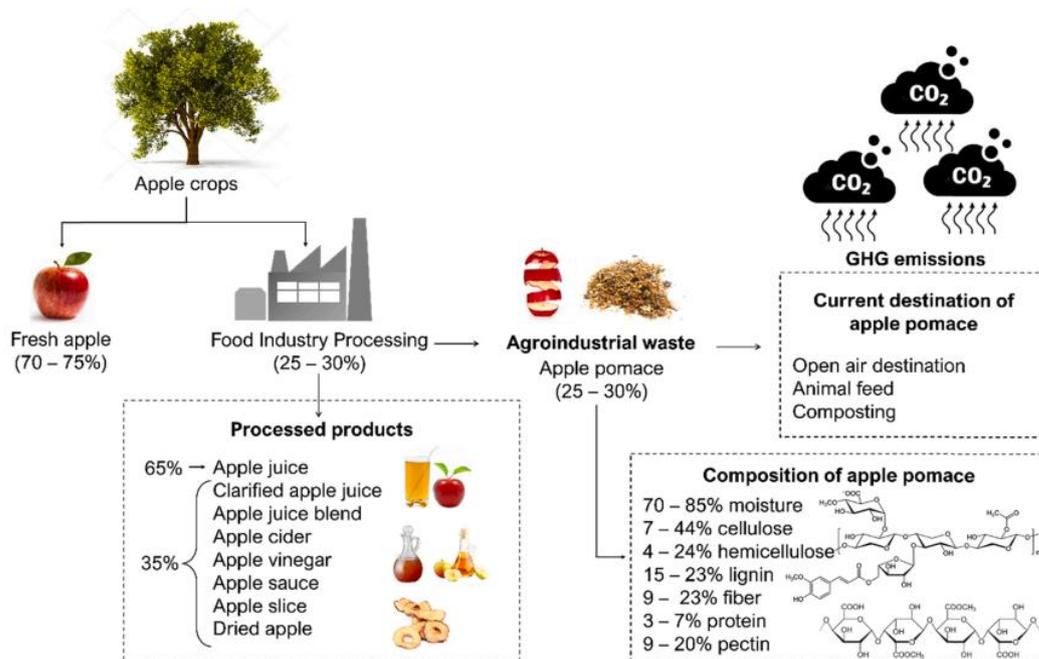


Figura 2: processo industriale della mela e generazione dell'apple pomace, tratta da [8]

La buccia della mela viene generata sia durante la produzione del succo, sia per il consumo della mela tal quale per la preparazione di altri prodotti industriali, come la mela essiccata.

Insieme al torsolo, la buccia viene pressata per ottenere succo e può essere trasformata in mangime per animali o fertilizzante. Grazie all'alta concentrazione di prodotti fenolici è un sottoprodotto molto apprezzato nell'industria alimentare [9]. La buccia contiene flavonoidi non presenti nella polpa, come i glicosidi di quercetina e i glicosidi di cianidina.

È stata condotta una ricerca su otto mele coltivate e sono state identificati sedici composti polifenolici; è stata analizzata la concentrazione dei polifenoli con l'HPLC (*High-Performance Liquid Chromatography*), riscontrando che è più bassa nella polpa che nella buccia [10].

La quantità di semi presenti nelle mele dipende dalla *cultivar* e può oscillare fino allo 0.7% del peso del frutto fresco [11].

Col termine *cultivar* in agronomia si indica una "varietà di pianta coltivata ottenuta tramite miglioramento genetico, che riassume un insieme di specifici caratteri morfologici, fisiologici, agronomici e merceologici di particolare interesse e trasmissibili con la propagazione, sia per seme sia per parti di pianta" [12]

I semi presentano un tenore in olio compreso tra il 27.5% m/m e il 28% m/m e un contenuto proteico del 33.8% m/m - 34.5% m/m. L'analisi cromatografica ha evidenziato un profilo acido caratterizzato da un'elevata percentuale di acido linoleico (circa il 49%), oltre ad acido oleico, palmitico e stearico [9]. Inoltre, contengono fosforo (720 mg/100 g), potassio (650 mg/100 g), magnesio (510 mg/100 g), calcio (210 mg/100 g) e ferro (110 mg/100 g) [13].

La sansa di mela, un tempo considerata un mero scarto della produzione, è oggi al centro di numerosi studi e applicazioni. La crescente consapevolezza ambientale e la scoperta delle sue ricche proprietà nutrizionali hanno spinto la ricerca verso nuove soluzioni per valorizzare questo sottoprodotto. La sua composizione chimica ricca di zuccheri, fibre, minerali e composti

fenolici, la rendono una risorsa per diverse applicazioni e l'elevata quantità prodotta la rende una materia prima-seconda economicamente vantaggiosa.

I *green process* puntano a ridurre l'impatto ambientale, utilizzando tecnologie a basso consumo energetico e solventi GRAS (*Generally Recognised as Safe*); l'obiettivo è produrre beni di alta qualità, minimizzando la produzione di scarti e valorizzando al massimo le risorse naturali (Figura 3) [7].

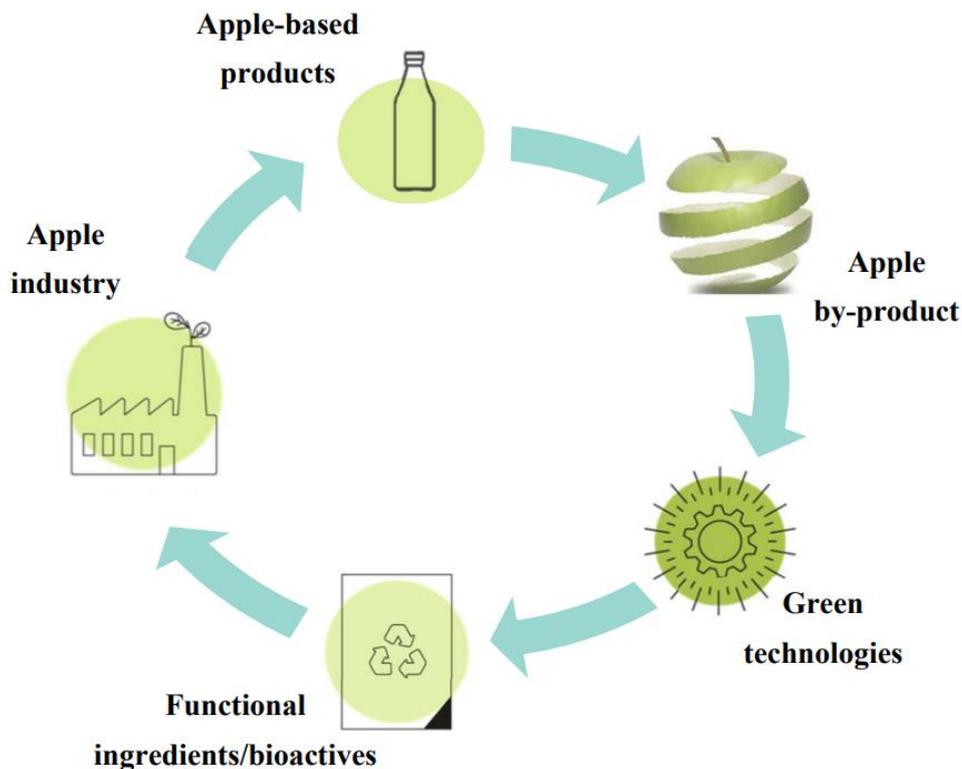


Figura 3: industria della mela, tecnologia verde e sostenibile, economia circolare, 2022, tratta da [7]

Tra le varie applicazioni, la sansa di mela viene tradizionalmente usata come mangime, nonostante il suo basso contenuto proteico, contribuendo al fabbisogno energetico degli animali [14].

Una delle prime applicazioni della sansa di mela è legata al compostaggio, producendo un compost di qualità che sostituisca i fertilizzanti, migliorando la qualità del suolo. Il compost ottenuto dalla sansa di mela si è dimostrato un ottimo fertilizzante, in grado di migliorare la fertilità del suolo e di fornire alle piante i nutrienti necessari per un'ottima crescita. In particolare, uno studio ha mostrato come questo compost possa mitigare le carenze di zinco nel terreno, aumentando la resa e la qualità dei cavoli cinesi [15].

La sansa di mela, essendo ricca di carboidrati, trova applicazioni anche nell'industria biotecnologica; infatti, viene sfruttata come substrato per ottenere prodotti ad alto valore aggiunto come enzimi, proteine ed etanolo. Un'altra applicazione è il settore della panificazione: aggiungendo la sansa di mela si può ridurre la quantità di zucchero utilizzato [9]. L'applicazione più importante che consente l'uso dei sottoprodotti della mela è la produzione della pectina e l'estrazione dei fenoli.

1.3 Processi per la produzione di biofertilizzanti

L'agricoltura è soggetta a una crescente pressione per far fronte all'aumento della domanda alimentare, determinato dall'esplosione demografica.

“L'uso di fertilizzanti chimici influisce negativamente sull'ambiente provocando eutrofizzazione, acidificazione del suolo e infertilità, indebolisce le radici delle piante, causa la perdita di diversità genetica, l'emissione di gas come l'ossido nitroso e il dilavamento di sostanze chimiche” [16].

La crescente consapevolezza degli impatti negativi dei fertilizzanti chimici sull'ambiente ha stimolato la ricerca di alternative meno impattanti. I biofertilizzanti, grazie all'azione dei microrganismi, offrono una promettente soluzione, migliorando la fertilità del suolo e la produttività agricola senza compromettere l'equilibrio degli ecosistemi: solubilizzando i nutrienti del suolo (i microrganismi rendono disponibili i fosfati presenti nel suolo, rendendoli più facilmente assorbibili dalle radici delle piante); mobilizzando fosfati, zinco e potassio; fissando l'azoto ambientale (i batteri sono in grado di trasformare l'azoto atmosferico in una forma utilizzabile dalle piante, riducendo così la necessità di fertilizzanti azotati di sintesi); rilasciando regolatori della crescita nel suolo (produzione di fitormoni: i microrganismi producono sostanze che stimolano la crescita delle piante e ne rafforzano le difese naturali); contribuiscono a migliorare la struttura del suolo, aumentandone la capacità di trattenere l'acqua e i nutrienti [16].

Per la produzione dei biofertilizzanti esistono diversi processi, tra cui:

- Compostaggio: è il metodo più tradizionale e consiste nella decomposizione aerobica di materiali organici (residui vegetali, letame ecc.) ad opera di microrganismi.
- Vermicompostaggio: utilizzo dei lombrichi per trasformare i rifiuti organici in un fertilizzante altamente umificato e ricco di nutrienti. I lombrichi ingeriscono la materia organica e la trasformano in escrementi ricchi di nutrienti, chiamati vermicompost.
- Fermentazione solida: processo biotecnologico che prevede la decomposizione della materia organica in assenza di acqua libera, utilizzando substrati solidi, come residui agricoli o scarti alimentari.
- Fermentazione liquida: decomposizione della materia organica in condizioni aerobiche o anaerobiche, con un alto contenuto di umidità.
- Digestione anaerobica: decomposizione della materia organica ad opera di microrganismi, producendo biogas e un residuo solido (digestato), ricco di sostanze nutritive e microrganismi.
- Biochar.

1.3.1 Digestione anaerobica

La digestione anaerobica (DA) è un processo biologico in cui un consorzio microbico, in condizioni di anaerobiosi, degrada la sostanza organica attraverso una serie di reazioni chimiche. Questo processo metabolico culmina nella produzione di biogas, una miscela gassosa

principalmente composta da metano e anidride carbonica, e di un residuo organico, denominato digestato.

La peculiarità di questo processo risiede nell'assenza di una catena di trasporto degli elettroni terminante con un accettore esterno, come l'ossigeno, che fungerebbe da accettore finale. Dunque la DA conserva lo stato di ossidazione/riduzione complessivo del sistema: i prodotti finali catabolici, anidride carbonica (CO_2) e metano (CH_4), rappresentano rispettivamente il massimo e il minimo grado di ossidazione del carbonio; la percentuale di metano e anidride carbonica è direttamente correlata allo stato di ossidazione dei materiali organici sottoposti a digestione: se il materiale organico di partenza è molto ossidato, tenderà a produrre più anidride carbonica; se il materiale di partenza è poco ossidato, tenderà a produrre più metano [17]

La DA si configura in una successione di processi biochimici (Figura 4): l'idrolisi, l'acidogenesi, l'acetogenesi e la metanogenesi [17], [18].

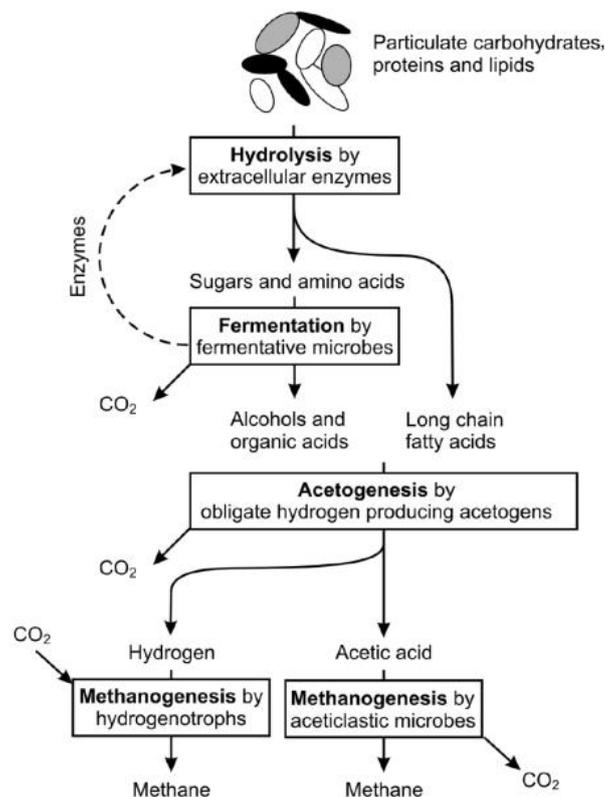


Figura 4: degradazione di una sostanza organica a CH_4 e CO_2 , tratta da [17]

Idrolisi

Nella prima fase dell'AD, l'idrolisi, le macromolecole del substrato organico (carboidrati, proteine e lipidi) vengono scisse nei loro monomeri costitutivi: monosaccaridi, amminoacidi ed acidi grassi a catena lunga, consentendo ai microrganismi di assorbirli e utilizzarli come fonte di energia e di carbonio.

Le reazioni biochimiche avvengono mediante tre gruppi batterici principali: i batteri idrolitico-fermentativi, i batteri acetogenici e i batteri metanigeni.

In questa prima tappa della digestione, la decomposizione della materia organica avviene mediante degli enzimi extracellulari. Questi ultimi vengono secretati da batteri fermentativi: i batteri proteolitici secernono proteasi per scindere le proteine in amminoacidi; i batteri cellulotici e xilanotici producono la cellulasi e la xilanasi, enzimi che depolimerizzano la cellulosa e lo xilano, liberando glucosio e xilosio; i batteri lipolitici sono in grado di degradare i lipidi grazie alla produzione di lipasi, che li scindono in glicerolo e acidi grassi a catena lunga.

I carboidrati, la cui formula empirica è $C_n(H_2O)_m$, sono un substrato che generalmente produce un gas con il 50% v/v di CH_4 e il 50% v/v di CO_2 . I carboidrati lignocellulosici (la lignocellulosa è composta da cellulosa, emicellulosa e lignina), a differenza degli zuccheri o dell'amido, sono difficili da idrolizzare, per cui in substrati ricchi di cellulosa, l'idrolisi rappresenta la fase limitante del processo; se invece il substrato è costituito principalmente da amido, lo stadio controllante è la decomposizione dell'acetato in metano.

La decomposizione degli scarti alimentari, ricchi in proteine e lipidi, genera principalmente CH_4 piuttosto che CO_2 a causa del maggior grado di riduzione di queste macromolecole rispetto ai carboidrati.

Le proteine e i lipidi producono rispettivamente ammoniaca e acidi grassi a catena lunga, che agiscono da agenti inibitori nella fase metanogenica.

Dunque, dall'idrolisi si ottengono: zuccheri semplici, amminoacidi e acidi grassi a catena lunga.

La cinetica dei processi idrolitici è fortemente condizionata dal rapporto superficie/massa del substrato. Un'elevata superficie di contatto tra i microrganismi e il substrato favorisce l'azione degli enzimi e accelera la reazione. Per questo motivo, nei processi industriali di digestione anaerobica, vengono spesso applicati pretrattamenti fisici, chimici o biologici, che hanno lo scopo di aumentare la superficie specifica del substrato, facilitando così l'azione degli enzimi idrolitici e migliorando l'efficienza complessiva del processo [17], [18].

Acidogenesi

L'acidogenesi è caratterizzata dalla degradazione di composti organici solubili risultanti dal processo di idrolisi. Questa fase dell'AD è mediata da un consorzio microbico che converte gli zuccheri e gli amminoacidi in un'ampia gamma di acidi grassi volatili (AGV), tra cui acetato, propionato e butirato, alcoli, idrogeno (H_2) e CO_2 .

Gli AGV prodotti fungono da substrati per le successive tappe del processo: l'acetogenesi e la metanogenesi.

In particolare, gli acidi organici a catena corta vengono ulteriormente metabolizzati, attraverso vie fermentative, fino alla formazione di acetato (molecola chiave per la produzione di metano).

Gli acidi organici a catena lunga, provenienti dall'idrolisi, vengono ossidati durante la fase di acetogenesi.

L'acidogenesi costituisce una fase di fondamentale importanza per l'efficienza complessiva dei processi di digestione anaerobica, influenzando sia la velocità di conversione dei substrati che la composizione della comunità microbica [17], [18].

Acetogenesi

In questa fase della digestione gli AGV e gli alcoli, che derivano dall'acidogenesi, vengono convertiti in acido acetico, acido formico (in minor quantità), anidride carbonica e idrogeno molecolare.

Il processo è catalizzato da acetogeni produttori obbligati di idrogeno (OHPA) i quali accoppiano l'ossidazione degli AGV alla riduzione dei protoni, generando molecole di H₂.

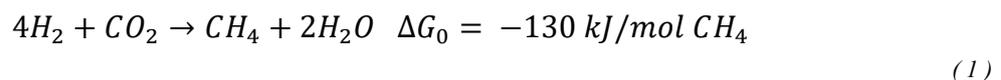
La termodinamica di questa reazione è fortemente influenzata dalla concentrazione di H₂ presente nel sistema. I metanigeni, consumatori di idrogeno, svolgono un ruolo essenziale nel mantenere bassi i livelli di questo gas, contribuendo all'equilibrio del sistema microbico. Tuttavia, esiste un range ottimale e ristretto di concentrazioni di H₂ che consente la coesistenza e l'attività sia degli acetogeni che dei metanigeni. La comprensione delle interazioni tra acetogeni e metanigeni è cruciale per ottimizzare l'efficienza dei processi di digestione anaerobica [17], [18].

Metanogenesi

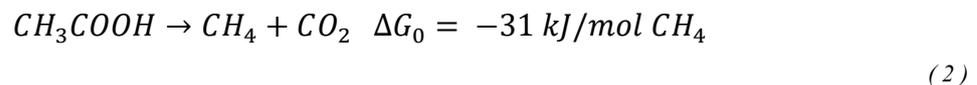
La metanogenesi costituisce tipicamente la fase limitante del processo di digestione anaerobica, poiché è caratterizzata da una cinetica lenta dovuta alla bassa velocità di crescita dei batteri metanigeni. Tuttavia, in presenza di substrati particellari e cellulolitici, l'idrolisi iniziale può divenire la tappa che controlla la velocità complessiva della conversione.

La produzione di metano avviene principalmente attraverso due vie metaboliche distinte: metanogenesi idrogenotrofica, in cui si ha la conversione di H₂ e CO₂ in CH₄ e la metanogenesi acetoclassica, in cui l'acetato viene scisso in CH₄ e CO₂, contribuendo per la produzione del 60-70% del CH₄ totale.

La metanogenesi idrogenotrofica è strettamente interconnessa con l'acetogenesi e rappresenta tipicamente il 30-40% della produzione totale di metano:



La metanogenesi acetoclassica è catalizzata da due gruppi di Archaea: i Methanosarcinaceae e Methanosaetaceae, entrambi appartenenti all'ordine Methanosarcinales. La reazione complessiva esotermica prevede la conversione dell'acetato in CH₄ e CO₂:



Nonostante appartengano alla stessa famiglia, i due gruppi presentano differenze significative nelle loro vie metaboliche e nella resa energetica. I *Methanosarcinaceae* producono 1 mole di ATP per ogni mole di acetato, i *Methanosaetaceae* mostrano una resa energetica quasi doppia, producendo 2 moli di ATP per mole di acetato. Di conseguenza, la resa energetica complessiva dei *Methanosaetaceae* è stimata essere pari a 0.25 moli di ATP per mole di acetato convertito, mentre quella dei *Methanosarcinaceae* varia tra 1,0 e 1.25 moli di ATP per mole di acetato.

Questi ultimi presentano un tasso di crescita più elevato rispetto ai Methanosaetaceae, tuttavia richiedono concentrazioni di acetato più elevate per il loro metabolismo.

Al contrario, i Methanosaetaceae, pur essendo più efficienti in termini di resa energetica, sono più sensibili alle variazioni ambientali e alle inibizioni.

Di conseguenza, la dominanza di uno o dell'altro gruppo all'interno di un reattore anaerobico dipende dalle condizioni operative, in particolare dalla concentrazione di acetato disponibile. A basse concentrazioni di acetato i Methanosaetaceae sono favoriti, mentre a elevate concentrazioni prevalgono i Methanosarcinaceae [17].

Parametri di processo

La produzione di biogas è condizionata da parametri che permettono di gestire il processo di DA, quali: temperatura, tempo di ritenzione idraulico (HRT), pH, rapporto carbonio/azoto (C/N), carico organico, quantità di nutrienti essenziali e composizione del substrato. Di seguito vengono descritti i principali parametri [19].

- Temperatura

Il mantenimento di condizioni termiche ottimali è un prerequisito fondamentale per il successo della digestione anaerobica. La temperatura, infatti, influisce in modo determinante sull'attività metabolica dei metanigeni, microorganismi chiave per la produzione di biogas. Anche piccole deviazioni dalla temperatura di set-point possono comportare una riduzione significativa dell'efficienza del processo.

Sulla base della temperatura ottimale per la crescita microbica, la DA può essere classificata in:

- Psicrofila: Operante a basse temperature (10-20 °C), con una minore efficienza rispetto agli altri range.
- Mesofila: Operante a temperature moderate (30-40 °C), caratterizzata da un buon equilibrio tra velocità di reazione e stabilità del processo.
- Termofila: Operante ad alte temperature (50-60 °C), con elevati tassi metabolici e produzione di biogas, ma maggiore sensibilità a shock termici e potenziale inibizione dei metanigeni a temperature troppo elevate.

- Tempo di ritenzione idraulica (*Hydraulic residence time*, HRT)

L'HRT indica la durata media della permanenza di un substrato all'interno del digestore. L'ottimizzazione del processo di digestione anaerobica richiede un'attenta valutazione dell'HRT poiché influenza direttamente la struttura e la funzionalità della comunità microbica, impattando sulla velocità di degradazione dei substrati e sulla produzione di biogas. Per garantire un'efficiente conversione dei substrati e una stabilità del processo nel lungo termine, è fondamentale dimensionare l'HRT in funzione delle caratteristiche dei microrganismi metanigeni.

- pH

Il pH esercita un'influenza determinante sulla crescita e sull'attività metabolica dei microrganismi coinvolti nel processo. Le diverse fasi della digestione anaerobica presentano requisiti di pH specifici. In particolare, nei sistemi a due stadi, il

mantenimento di un pH leggermente alcalino nella seconda fase risulta cruciale per ottimizzare la produzione di biogas.

Il pH ottimale nel processo di DA è compreso tra 6.5 e 7.5 [20].

- Composizione del substrato

La resa in biogas ottenuta attraverso il processo di DA è strettamente correlata alla composizione chimica e alla biodegradabilità dei substrati impiegati. In particolare, la presenza di carboidrati, proteine e lipidi all'interno della matrice organica rappresenta un fattore determinante per l'efficienza della conversione biologica. Tra i substrati maggiormente utilizzati nella produzione di biogas si annoverano le deiezioni zootecniche (letame bovino e suino), i fanghi di depurazione, i rifiuti organici di origine alimentare e gli scarti agroindustriali. È stato ampiamente dimostrato in letteratura che i substrati caratterizzati da un elevato contenuto di macromolecole organiche, come carboidrati, proteine e lipidi, favoriscono una maggiore produzione di biogas, con particolare riferimento alla frazione metanica [21], [22], [23]. A titolo esemplificativo, i rifiuti organici di origine domestica e agroalimentare presentano generalmente una resa in metano superiore rispetto alle deiezioni zootecniche e ai fanghi.

- Rapporto C/N

Il rapporto stechiometrico C/N è un parametro fondamentale nella modellazione e nella gestione dei processi di digestione anaerobica. La letteratura scientifica indica generalmente un intervallo ottimale di C/N compreso tra 20 e 30. Valori al di fuori di tale range possono influenzare negativamente la cinetica di reazione e la resa in biogas. Un eccesso di carbonio limita la crescita microbica, mentre un eccesso di azoto può inibire l'attività metanogenica e favorire la formazione di composti azotati tossici.

2. Materiali e metodi

2.1 Inoculo

L'inoculo utilizzato nel processo di digestione anaerobica è stato prelevato dal digestore operante nell'impianto della Cooperativa Agricola Speranza, situata a Candiolo (TO).

Questa cooperativa è stata fondata nel 1974 con l'obiettivo di valorizzare le produzioni bovine locali. Ha inaugurato nel 2008 il primo impianto di biogas, seguito da un secondo impianto nel 2012 e un impianto a biometano liquido per autotrazione nel 2020. I due impianti cogenerativi utilizzano il letame, il liquame animale, gli scarti di prodotti vegetali e una parte di tranciato di mais per la produzione di biogas. La biomassa rimanente viene separata formando un compost e un concime minerale che ritorna ai campi [24], [25].

2.2 Substrato Vortex

Il substrato utilizzato nel processo di digestione anaerobica proviene dall'impianto produttivo dell'azienda Vortex S.r.l. &SB.

Vortex S.r.l. &SB è una startup innovativa nata nel 2020 che si focalizza sulla valorizzazione degli scarti della filiera agroalimentare con l'obiettivo di ridurre lo spreco alimentare e promuovere l'economia circolare. L'azienda ha sviluppato un processo che consente di trasformare i sottoprodotti in materie prime di alta qualità, destinate al settore cosmetico (*NASTE beauty*).

Il processo di produzione prevede una serie di fasi che, a partire dalla selezione della materia prima, conducono all'ottenimento di un prodotto finale. La sansa di mela viene ottenuta mediante spremitura a freddo del frutto e contiene polpa, bucce e semi. Viene poi ulteriormente sottoposta a trattamenti meccanici che ne consentono la riduzione in particelle di dimensioni variabili, ottenendo una farina dalla granulometria personalizzabile [26].



Figura 5: fasi del processo di produzione azienda Vortex, tratta da [26]

In Figura 6 è illustrata la sansa di mela essiccata utilizzata come substrato del processo di digestione anaerobica del presente lavoro.



Figura 6: sansa di mela essicata

2.2.1 Pretrattamenti substrato

La matrice lignocellulosica della sansa di mela, composta da lignina, cellulosa ed emicellulosa, rappresenta una sfida significativa per l'efficienza della digestione anaerobica. La lignina, essendo un polimero aromatico altamente resistente alla degradazione biologica, e la cellulosa, con la sua struttura cristallina che limita l'azione degli enzimi idrolitici, complicano il processo. Per ottimizzare l'idrolisi e, di conseguenza, la produzione di biogas, numerosi studi suggeriscono l'implementazione di fasi di pretrattamento preliminari alla digestione anaerobica.

I processi di pretrattamento, che includono tecniche chimiche, termiche e biologiche, disgregano la struttura complessa del substrato, aumentando la produzione di CH₄ durante la digestione anaerobica. Dunque, i pretrattamenti sono necessari per migliorare la biodegradabilità del substrato, aumentarne la quantità solubile e l'accessibilità per la degradazione microbica.

I pretrattamenti possono essere di natura chimica, fisica, meccanica, termica e biologica.

Nei pretrattamenti fisici e meccanici vengono disintegrate le particelle solide, aumentandone la superficie esposta e facilitando così l'azione dei microrganismi coinvolti nella digestione anaerobica.

Tra i pretrattamenti fisici e meccanici vi è l'omogenizzazione ad alta pressione (fino a 900 bar) che, sfruttando la cavitazione e le forze di taglio, permette di pretrattare il substrato rendendolo più facilmente degradabile dai microrganismi.

Uno dei metodi di pretrattamento meccanico più efficace è l'ultrasonificazione, che crea delle forze di taglio idromeccaniche che frammentano la struttura del substrato, migliorandone la biodegradabilità. In alcuni studi riportati in letteratura, questo pretrattamento ha portato ad un aumento della produzione del biogas anche di oltre il 40% [27]. Il principale svantaggio del pretrattamento a ultrasuoni è l'elevato costo energetico, soprattutto su larga scala.

Tra i pretrattamenti fisici e meccanici vi è il pretrattamento con le microonde, che opera a lunghezze d'onda di 1 mm-1m e con frequenze di 300 MHz e 300 GHz. Uno studio presente in letteratura ha riportato un aumento del 50% della produzione di biogas con questo pretrattamento ed ha aumentato la resa di CH₄ e CO₂ del 20% e del 70% [28].

Il pretrattamento meccanico mediante macinazione consiste nella riduzione dei substrati di grandi dimensioni in particelle fini. Tale processo determina un incremento significativo dell'area superficiale specifica, favorendo l'azione dei microrganismi coinvolti nella digestione anaerobica. Due svantaggi legati a questa tecnica sono il consumo energetico elevato del processo e la formazione di particelle eccessivamente fini che possono portare ad un rischio di acidificazione con accumulo di AGV.

I pretrattamenti chimici vengono prevalentemente usati per i fanghi di depurazione. È il metodo più promettente per la distruzione dei rifiuti organici complessi. Vengono utilizzati dei reagenti chimici come acidi o alcali, che idrolizzano i fanghi. Tra le tecniche di pretrattamento chimico vi sono: il pretrattamento alcalino, acido e l'ossidazione.

Nei pretrattamenti termici i substrati vengono sottoposti ad alte temperature che inducono l'idrolisi e aumentano la digeribilità, disgregando le membrane cellulari. Possono essere condotti a temperature comprese nel range tra 50 °C e 250 °C.

I pretrattamenti biologici, basati su processi aerobici, anaerobici ed enzimatici, mirano a predigerire i substrati, facilitando così le fasi successive della digestione. Sebbene presentino vantaggi in termini ecologici ed economici, richiedono l'ottimizzazione di parametri operativi ottimali per la proliferazione batterica, quali la temperatura e il pH del reattore [29].

Negli ultimi anni, la ricerca si è focalizzata sullo sviluppo di metodologie alternative sempre più sostenibili, in grado di garantire un'estrazione efficiente e selettiva dei composti bioattivi. In questo contesto, l'estrazione assistita da microonde (MWE) e l'estrazione assistita da ultrasuoni (USE) si sono affermate come promettenti tecnologie. Proseguendo su questa linea di ricerca, il presente lavoro di tesi si concentra sull'applicazione di queste tecniche per il pretrattamento della sansa di mela. La scelta della MWE e USE è stata inoltre motivata dalla loro rapidità e dalla loro efficacia nel disgregare strutture complesse.

I liquidi ottenuti dall'estrazione sia con MWE sia con USE, sono ricchi di componenti, tra cui i polifenoli (6.58 mL/L). In linea con i principi di bioeconomia circolare, il recupero di tali composti rappresenta una strategia sostenibile per valorizzare risorse altrimenti destinate allo scarto [30]. Nell'ottica di un modello di economia circolare interamente inserito all'interno della filiera agroalimentare, in questo caso si è voluto utilizzare il liquido di estrazione, ricco di polifenoli per trattare il fogliame delle piante affette da patologie. Infatti, i polifenoli presentano proprietà batteriche e antivirali, oltre a conferire alle piante una maggiore resistenza agli stress ambientali, come l'attacco di patogeni e le radiazioni UV [31], [32].

Estrazione assistita da microonde

La MAE è stata condotta impiegando un digestore a microonde (Anton Paar Multiwave 5000) (Figura 7) equipaggiato con un rotore 16HF100. Quest'ultimo è costituito da un tamburo in grado di ospitare 16 reattori ad alta pressione.

Ciascun reattore è stato preparato col rapporto biomassa:acqua (B:A) 1g:20mL, introdotto in un vial a pressione e sigillato ermeticamente. Il rotore è stato quindi inserito nel digestore a microonde e sottoposto a un ciclo di riscaldamento a 300 W per 5 minuti. Il processo è stato ripetuto fino al raggiungimento della quantità di campione desiderata.

La selezione di questi parametri operativi è stata motivata dai risultati di uno studio comparativo [33] che ha evidenziato l'efficacia di tale combinazione nel massimizzare il recupero di composti fenolici dalla sansa di mela.



Figura 7: microonde (Anton Paar Multiwave 5000)

Estrazione assistita da ultrasuoni

L'UAE è stata effettuata mediante il generatore a ultrasuoni (Weber Ultrasonics Sonic Digital) accoppiato a un bagno ad ultrasuoni (Figura 8). Il bagno è stato preparato col rapporto B:A 1.5 g: 20 mL e sonicato a 200 W per 30 minuti.

Il rapporto B:A è stato scelto sulla base di uno studio condotto sull'estrazione assistita da ultrasuoni della sansa di mela, che indica 1.5 g: 20 mL come rapporto ottimale per l'estrazione dei polifenoli [34]



Figura 8: bagno ad ultrasuoni

2.3 Set-up digestione anaerobica

È stata condotta un'analisi sperimentale in laboratorio, volta a valutare l'efficienza della digestione anaerobica sottoposta a diverse condizioni operative.

In particolare, sono stati studiati gli effetti dell'inoculo, del pre-trattamento della biomassa e della scala del reattore.

Nel dettaglio, per quanto concerne l'inoculo sono stati studiati i rapporti substrato:inoculo (S:I), pari a 1:1 e 2:1 per provare a trattare più substrato a pari volume di reattore.

Per quanto riguarda i pretrattamenti sono stati studiati e confrontati MWE e USE per valutare l'effetto di essi nel rendere disponibile la sostanza organica da biodegradare e incrementare le rese di metano e ridurre i tempi di latenza.

Infine è stato studiato l'effetto del volume del reattore utilizzando reattori di capacità pari a 250 mL (in triplicato), 500 mL e 2000 mL.

Ogni reattore è stato preparato con un volume di lavoro (VL) pari all' 80% v/v del suo volume totale, al fine di garantire un adeguato spazio di testa per la raccolta del biogas prodotto.

In Tabella 1 sono elencate le configurazioni sperimentali utilizzate nella prova:

Configurazione	S:I	Sigla	Volume reattore [mL]
AP non pretrattata (RAW)	1:1	RAW AP 1-250	250
		RAW AP 1-500	500
		RAW AP 1-2000	2000
	2:1	RAW AP 2-250	250
AP pretrattata mediante estrazione assistita da microonde (<i>Microwave Extraction</i> , MWE)	1:1	MWE AP 1-250	250
		MWE AP 1-500	500
		MWE AP 1-2000	2000
	2:1	MWE AP 2-250	250
AP pretrattata mediante estrazione assistita da ultrasuoni (<i>Ultrasound Extraction</i> , USE)	1:1	USE AP 1-250	250
		USE AP 1-500	500
	2:1	USE AP 2-250	250

Tabella 1: configurazioni sperimentali digestione anaerobica

Le prove di digestione anaerobica delle configurazioni RAW AP 2-250 e MWE AP 2-250 sono state ripetute, perché i risultati della prima prova non erano soddisfacenti.

Le quantità di inoculo (I) e AP inserite nei reattori sono state calcolate sulla base dei solidi totali (ST) e dei solidi volatili (SV), considerando che la quantità totale di ST alimentati nel reattore è l'8% v/v, in modo da garantire il rapporto desiderato tra SV di inoculo e di substrato.

- **Configurazione S:I 1:1**

Per il calcolo della quantità di ST da alimentare al reattore si sono utilizzate le equazioni (3) e (4) che seguono:

$$VL [ml] = \frac{VL \% \cdot Volume_{reattore}}{100}$$

(3)

$$ST_{alimentati} [g] = VL [ml] \cdot ST_{alimentati} \%$$

(4)

poiché l'AP è alimentata come unico substrato, la quantità di SV dell'AP da alimentare è uguale a quella dei SV da alimentare in totale, dunque:

$$SV_{AP} [g] = SV_{alimentati} [g] = \frac{ST_{alimentati} [g]}{\frac{1}{\left(\frac{SV}{ST}\right) \%_{AP}} + \frac{1}{\left(\frac{SV}{ST}\right) \%_I}} \quad (5)$$

$$SV_{AP} [g] = SV_I [g] \quad (6)$$

calcolo delle quantità di ST dell'AP e dell'I

$$ST_{AP} [g] = \frac{SV_{AP} [g]}{\left(\frac{SV}{ST}\right) \%_{AP}} \quad (7)$$

$$ST_I [g] = \frac{SV_I [g]}{\left(\frac{SV}{ST}\right) \%_I} \quad (8)$$

Infine, il calcolo della quantità di AP, I e acqua da introdurre nel reattore

$$AP [g] = \frac{ST_{AP} [g]}{ST \%_{AP}} \quad (9)$$

$$I [g] = \frac{ST_I [g]}{ST \%_I} \quad (10)$$

$$Acqua [g] = VL [ml] - (AP [g] + I [g]) \quad (11)$$

- **Configurazione S:I 2:1**

$$ST_{alimentati} [g] = VL \cdot ST_{alimentati} \% \quad (12)$$

$$SV_{alimentati} [g] = \frac{ST_{alimentati} [g]}{\frac{2}{\left(\frac{SV}{ST}\right) \%_{AP}} + \frac{1}{\left(\frac{SV}{ST}\right) \%_I}} \quad (13)$$

$$SV_{AP} [g] = 2 \cdot SV_{alimentati} [g] \quad (14)$$

$$SV_I [g] = \frac{SV_{AP} [g]}{2} \quad (15)$$

I calcoli delle quantità di ST dell'AP e dell'I e le quantità effettive inserite nel reattore di AP, I e acqua, nel caso di S:I 2:1 sono analoghi alla configurazione S:I 1:1.

Per garantire un ambiente strettamente anossico, essenziale per la crescita e l'attività dei microrganismi metanigeni, i reattori sono stati preliminarmente spurgati con azoto gassoso per circa 25 minuti e successivamente incubati in un bagno termostatico a 35°C (mesofilia). Questa procedura ha permesso di eliminare l'ossigeno disciolto e di creare un microambiente favorevole alla metanogenesi.

I reattori utilizzati sono in vetro sigillati, configurati per simulare un processo con alimentazione batch. Ogni reattore è dotato di un tappo a due vie: una valvola con il tappo rosso che è aperta solo durante l'introduzione di azoto nella fase iniziale (*up-stream*) e viene poi successivamente chiusa, e una valvola col tappo blu per il prelievo del biogas prodotto. Quest'ultimo è convogliato in sacche di raccolta e analizzato mediante gascromatografia.

Al fine di ottimizzare le condizioni di reazione e favorire l'efficienza del processo, i reattori sono stati sottoposti ad agitazione manuale quotidiana. Tale pratica ha consentito di assicurare un'omogeneizzazione efficiente del contenuto e di promuovere il *mass-transfer* dei nutrienti all'interno del reattore.

La Figura 9 mostra la configurazione impiantistica utilizzata.

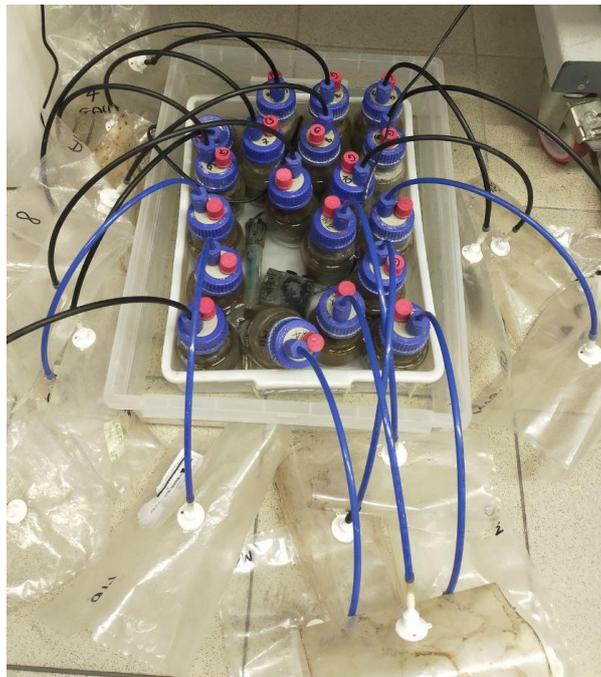


Figura 9: configurazione impiantistica digestione anaerobica in laboratorio

Il processo è stato monitorato attraverso analisi regolari sia sul biogas prodotto che sul digestato. In particolare, sono state effettuate misurazioni giornaliere del volume di biogas mediante svuotamento delle sacche con una siringa e analisi cromatografica della sua composizione. Il digestato è stato caratterizzato in termini di solidi totali, solidi volatili e composizione elementare. Il pH (pHmetro *Pc 80 + DHS, XS instruments*) è stato monitorato sui campioni tal quali in tre diversi momenti temporali e il rapporto tra acidi grassi volatili (FOS) e alcalinità totale (TAC) è stato utilizzato come indicatore della stabilità del processo.

Durante la fase acidogena della digestione anaerobica, caratterizzata da un aumento degli acidi grassi volatili (AGV), è stato necessario correggere il pH dei reattori mediante l'aggiunta di una soluzione di idrossido di sodio (NaOH) 3 M o 8 M. Questa operazione ha permesso di neutralizzare l'acidità, inibendo la proliferazione dei batteri acidogeni e favorendo lo sviluppo dei metanigeni, responsabili della produzione di biogas.

In Tabella 2 sono riportati i valori di pH prima e dopo la correzione con NaOH.

Sigla	NaOH 3 M [mL]	NaOH 8 M [mL]	pH iniziale	pH finale
RAW AP 1-250	4.5 ± 0.06		5.57	7 ± 0.09
RAW AP 1-500		3.5	5.4	7.3
RAW AP 1-2000		14	5.4	6.9
RAW AP 2-250		2	5.51 ± 0.06	8.17 ± 0.2
MWE AP 1-250	4.5		5.52 ± 0.03	6.95 ± 0.09
MWE AP 1-500	0.6		5.37	7.2
MWE AP 1-2000	0.8		5.42	7.63
MWE AP 2-250	6		5.07 ± 0.06	6.65 ± 0.3
USE AP 1-250		1.5	5.69 ± 0.09	7.73 ± 0.33
USE AP 1-500		2.5	5.73	7.4
USE AP 2-250		2.5	5.17 ± 0.14	8.410 ± 0.97

Tabella 2: correzione del pH

Il pH è responsabile della produzione di CH₄ e delle reazioni che avvengono durante la digestione anaerobica. Per i metanigeni il pH ottimale è tra 7.0 e 8.0 [31]

Ogni fase della digestione ha un pH ottimale, poiché i microrganismi, come i batteri metanigeni, hanno intervalli di pH ottimali per la loro attività.

Durante la digestione vengono prodotti gli acidi grassi volatili (AGV) che possono acidificare il sistema e inibire i metanigeni.

2.4 Configurazioni delle prove di digestione anaerobica

2.4.1 Configurazioni con sansa di mela non pretrattata

In questa configurazione sperimentale è stata valutata la produzione di biogas a partire dalla sansa di mela non pretrattata. Mediante le equazioni da (3) a (15) riportate nel paragrafo 2.3 *Set-up digestione anaerobica* sono state calcolate le quantità effettive di sansa di mela, inoculo e acqua da inserire nei reattori.

Nella Tabella 3 sono riportate le quantità calcolate da inserire in ogni reattore.

Configurazione	Reattore	AP – RAW [g]	I [g]	Acqua [g]
RAW AP 1-250	1	7.7	104.94	87.36
	2			
	3			
RAW AP 1-500		15.39	209.88	174.72
RAW AP 1-2000		61.57	839.53	698.9
RAW AP 2-250	10	11	148.61	40.39
	11			
	12			

Tabella 3: quantità teoriche di sansa di mela, inoculo e acqua nelle configurazioni AP - RAW

La Tabella 4 riassume le quantità effettive introdotte in ogni reattore.

Configurazione	Reattore	AP – RAW [g]	VS AP RAW [g]	I [g]	VS I [g]	Acqua [g]
RAW AP 1-250	1	7.34	6.58	105	6.55	87.2
	2	7.68	6.53	105.5	6.58	87.1
	3	7.82	6.65	105.3	6.57	87.3
RAW AP 1-500		15.39	13.09	209.88	13.09	174.72
RAW AP 1-2000		61.57	52.37	839.53	52.37	698.9
RAW AP 2-250	10	11.02	9.37	148.6	4.68	40.4
	11	11.08	9.42	148.8	4.68	40.5
	12	11.02	9.37	148.9	4.69	40.5

Tabella 4: quantità effettive di sansa di mela, inoculo e acqua nelle configurazioni AP - RAW

2.4.2 Configurazioni con sansa di mela pretrattata mediante estrazione assistita da microonde

In questa configurazione sperimentale è stata valutata la produzione di biogas a partire dalla sansa di mela pretrattata mediante estrazione assistita da microonde. Mediante le equazioni da

(3) a (15) riportate nel paragrafo 2.3 *Set-up digestione* sono state calcolate le quantità effettive di sansa di mela, inoculo e acqua da inserire nei reattori.

In Tabella 5 sono riportate le quantità calcolate da inserire in ogni reattore.

Configurazione	Reattore	AP – MWE [g]	I [g]	Acqua [g]
MWE AP 1-250	7	40.29	104.93	54.77
	8			
	9			
MWE AP 1-500		65.71	209.88	124.41
MWE AP 1-2000		262.84	839.53	497.63
MWE AP 2-250	10	56.74	73.88	69.38
	11			
	12			

Tabella 5: quantità teoriche di sansa di mela, inoculo e acqua nelle configurazioni AP - MWE

In Tabella 6 sono riportate le quantità effettive introdotte in ogni reattore.

Configurazione	Reattore	AP – MWE [g]	VS AP MWE [g]	I [g]	VS I [g]	Acqua [g]
MWE AP 1-250	7	40.46	6.57	104.8	6.54	54.5
	8	40.38	6.56	104.8	6.54	54.8
	9	40.31	6.55	104.8	6.54	54.8
MWE AP 1-500		65.7	13.09	210	13.1	124.6
MWE AP 1-2000		262.8	52.35	838	52.27	498.3
MWE AP 2-250	10	11.02	9.37	148.6	4.68	40.4
	11	11.08	9.42	148.8	4.68	40.5
	12	11.02	9.37	148.9	4.69	40.5

Tabella 6: quantità effettive di sansa di mela, inoculo e acqua nelle configurazioni AP - MWE

2.4.3 Configurazioni con sansa di mela pretrattata mediante estrazione assistita da ultrasuoni

In questa configurazione sperimentale è stata valutata la produzione di biogas a partire dalla sansa di mela pretrattata mediante estrazione assistita da ultrasuoni. Mediante le equazioni da (3) a (15) riportate nel paragrafo 2.3 *Set-up digestione* sono state calcolate le quantità effettive di sansa di mela, inoculo e acqua da inserire nei reattori.

La Tabella 7 contiene le quantità calcolate da inserire in ogni reattore.

Configurazione	Reattore	AP – USE [g]	I [g]	Acqua [g]
USE AP 1-250	1	29.3	213.48	-42.78
	2			
	3			
USE AP 1-500		59.01	424.76	-83.77
USE AP 2-250	4	41.29	148.6	10.11
	5			
	6			

Tabella 7: quantità teoriche di sansa di mela, inoculo e acqua nelle configurazioni AP - USE

In Tabella 8 sono riportate le quantità introdotte nei reattori.

Configurazione	Reattore	AP – USE [g]	VS AP USE [g]	I [g]	VS I [g]	Acqua [g]
USE AP 1-250	1	29.54	6.77	170.6	5.37	-
	2	29.61	6.79	170.7	5.37	-
	3	29.53	6.77	170.6	5.37	-
USE AP 1-500		59.06	13.38	339	10.67	-
USE AP 2-250	4	41.36	9.37	148.7	4.68	10.3
	5	41.3	9.36	148.7	4.68	10.3
	6	41.39	9.38	148.7	4.68	10.3

Tabella 8: quantità effettive di sansa di mela, inoculo e acqua nelle configurazioni AP - USE

Come è possibile notare dalle Tabella 7 e Tabella 8, le configurazioni USE AP 1-250 e -500 hanno richiesto la rimozione di acqua per raggiungere la percentuale di TS di progetto. L'inoculo è stato quindi preventivamente centrifugato a 5000 rpm per 5 minuti (centrifuga *Thermo Scientific 16R*) per rimuovere la quantità di acqua richiesta. Nella configurazione USE AP 2-250 come quantitativo di acqua è stata utilizzata la frazione liquida rimossa dall'inoculo centrifugato.

2.5 Tecniche analitiche utilizzate per la caratterizzazione di biogas e di digestato

Il monitoraggio della produzione di biogas è stato condotto mediante analisi gascromatografiche (MicroGC, SRA, Figura 11). I campioni di biogas sono stati prelevati dalle sacche di raccolta utilizzando siringhe e successivamente introdotti nel gas-cromatografo, oppure le sacche sono state direttamente collegate allo strumento.

2.5.1 Analisi al Gas-cromatografo

La gas-cromatografia (GC) è una tecnica analitica che permette di separare e identificare i composti organici volatili (*Volatile Organic Compounds*, VOC) e altre piccole molecole sfruttando la loro diversa interazione con una fase stazionaria all'interno di una colonna capillare. Lo strumento impiegato per eseguire la cromatografia a gas è chiamato gas-cromatografo.

Durante il trasporto dei componenti della miscela gassosa attraverso la colonna, mediato da un gas inerte (elio o azoto), i differenti analiti vengono separati in base alle loro specifiche affinità per la fase stazionaria, le quali dipendono da una combinazione di proprietà fisiche e chimiche intrinseche. In virtù di queste interazioni, ciascun composto eluisce in un tempo caratteristico, definito tempo di ritenzione. Il confronto tra i tempi di ritenzione sperimentali e quelli di riferimento permette l'identificazione dei componenti della miscela.

I componenti della miscela, una volta separati all'interno della colonna, raggiungono il rivelatore (*detector*), un dispositivo in grado di fornire un segnale analitico proporzionale alla quantità di ciascun analita presente nel campione.

La GC è una tecnica analitica versatile e altamente selettiva, ampiamente impiegata in diversi settori, dalla chimica analitica alla biochimica e alla scienza ambientale. Trova applicazione nella determinazione qualitativa e quantitativa di composti organici volatili e semivolatili presenti in matrici complesse, quali aria, acqua, suolo e matrici biologiche. Inoltre, è uno strumento fondamentale nel controllo di qualità di prodotti alimentari, farmaceutici e industriali [35], [36].

I componenti principali sono (Figura 10):

- bombola del gas (*gas cylinder*), contenente il gas inerte che funge da fase mobile;
- *autosample*, dispositivo automatico che introduce in modo preciso i campioni da analizzare all'interno del sistema;
- *inlet*, punto di ingresso del campione;
- colonna (*column*), tubo rivestito internamente da uno strato sottile di fase stazionaria (liquido o polimero). Questa fase stazionaria agisce come una sorta di setaccio molecolare, trattenendo i componenti del campione in base alla loro affinità chimica. La diversa interazione dei componenti con la fase stazionaria determina differenti tempi di percorrenza all'interno della colonna, consentendo così la loro separazione.
- *detector*, dispositivo posizionato all'uscita della colonna, rileva i composti separati e riproduce un segnale proporzionale alla loro concentrazione;
- *computer*, riceve il segnale elettrico proveniente dal detector e lo converte in un formato digitale, generando un cromatogramma. Il cromatogramma (Figura 12 e Figura 13) è un grafico che mostra l'intensità del segnale del detector in funzione del tempo; permette di identificare i diversi picchi corrispondenti ai singoli composti e di quantificarli sulla base dell'area dei picchi stessi.

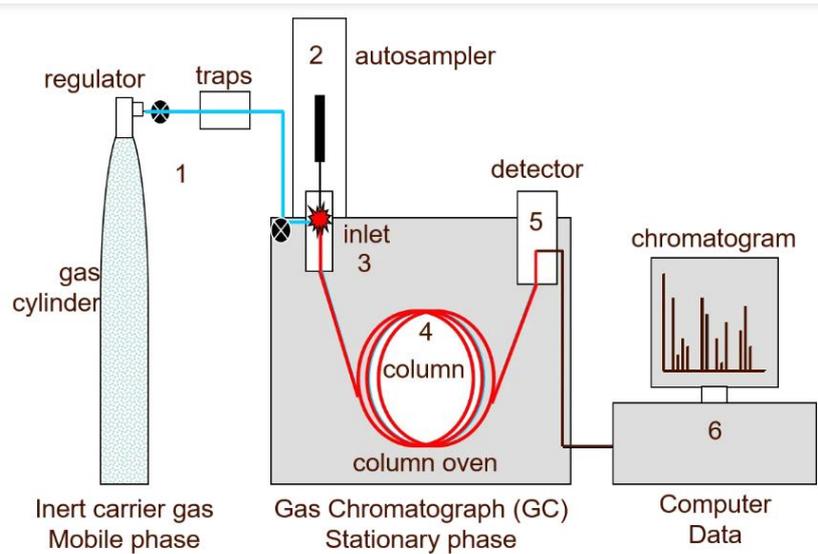


Figura 10: gas-cromatografo, tratta da [35]



Figura 11: gas-cromatografo

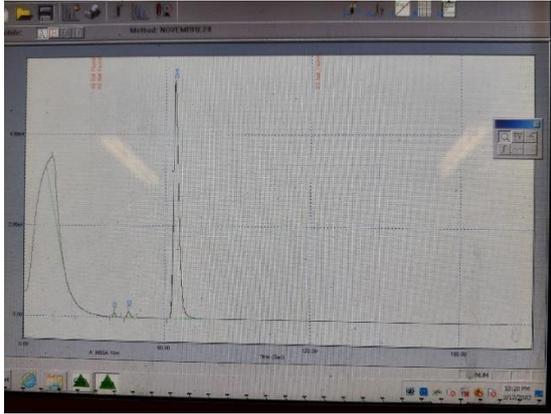


Figura 12: cromatogramma

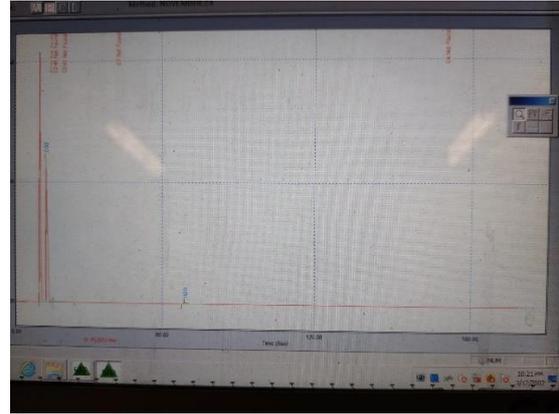


Figura 13: cromatogramma

2.5.2 Analisi elementare CHNS(O)

L'analisi elementare è una tecnica analitica che consente una caratterizzazione completa della composizione elementare di un campione, sia in termini qualitativi identificando gli elementi costitutivi, sia quantitativi quantificandone le relative percentuali in massa.

L'analisi elementare CHNS(O) permette di determinare quantitativamente carbonio (C), idrogeno (H), azoto (N), zolfo (S) e, talvolta, ossigeno (O). Trova applicazione in molteplici settori, quali quello farmaceutico, energetico, ambientale e alimentare.

Questa tecnica analitica sfrutta la combustione ad alta temperatura del campione in un ambiente ossidante, per convertire gli elementi C, H, N e S nei rispettivi ossidi gassosi. Questi ultimi vengono quindi separati e quantificati mediante gascromatografia, fornendo un profilo dettagliato della composizione elementare del campione.

Nell'ambito della presente ricerca, l'analisi elementare è stata condotta su campioni di circa 20 mg, a cui è stata aggiunta una quantità circa uguale di ossido di tungsteno. Il campione e l'ossido sono stati inseriti in stampi di alluminio, precedentemente tarati, e poi chiusi tramite pressatura per creare una pastiglia.

Le pastiglie, inserite nell'analizzatore (*Elemental macro cube system Vario, Germany*), subiscono una combustione a circa 1150 °C in un ambiente ricco di ossigeno. Il carbonio viene completamente ossidato in CO₂, l'idrogeno in H₂O, l'azoto in N₂ o NO_x e lo zolfo in SO₂. La quantità di O viene misurata indirettamente mediante pirolisi con una miscela di gas idrogeno-elio (H₂-He), riducendo tutti i composti contenenti ossigeno in CO₂ [37].

2.5.3 Analisi FOS/TAC

Il processo di digestione anaerobica richiede un preciso sincronismo tra le quattro fasi che lo compongono, al fine di garantire l'efficienza complessiva della conversione della biomassa.

Il parametro **FOS** (*Flüchtige Organische Säuren, Acidi Organici Volatili*)/**TAC** (*Totales Anorganisches Carbonat, Capacità Tampone Alcalina*) è un indicatore dell'equilibrio del processo. Tale parametro viene ottenuto mediante titolazione acido-base e consente di prevenire l'insorgenza di fenomeni di acidificazione, evitando l'arresto del processo fermentativo.

Per questo lavoro di tesi, il parametro FOS/TAC è stato calcolato a valle del processo sui campioni di digestato, consentendo una verifica degli squilibri dei valori di pH misurati per alcuni reattori a circa metà del processo.

In questa ricerca, l'indicatore è stato valutato mediante titolazione manuale, aggiungendo una soluzione di H₂SO₄ 0.05 mol/L poco per volta fino ai valori di pH: 5.0 e 4.4.

Il campione utilizzato è stato centrifugato per 5 minuti a 5000 rpm (centrifuga *Thermo Scientific 16R*) e diluito con acqua distillata con un rapporto campione:acqua distillata 1:1.5. In particolare, sono stati usati 5 mL di campione (centrifugato) e 7.5 mL di acqua distillata.

Il rapporto FOS/TAC è stato calcolato utilizzando le seguenti espressioni e i parametri riportati in Tabella 9 [38]:

$$TAC = \frac{F1}{V} \cdot EP1 \cdot F2 \quad (16)$$

$$FOS = \left(\frac{F1}{V} \cdot (EP2 - EP1) \cdot F3 - F4 \right) \cdot F5 \quad (17)$$

$$\frac{FOS}{TAC} = \frac{(F6 \cdot F7)}{(F8 \cdot F9)} \quad (18)$$

EP1		Consumo di titolante al primo punto (pH 5.0)
EP2		Consumo di titolante al secondo punto (pH 4.4)
V		Volume del campione
F1	20	Fattore di conversione 1
F2	250	Fattore di conversione 2
F3	1.66	Fattore di conversione 3
F4	0.15	Fattore di conversione 4
F5	500	Fattore di conversione 5

F6	FOS	Valore FOS, dalla formula (17)
F7	1	Fattore di conversione 7
F8	TAC	Valore TAC, dalla formula (16)
F9	1	Fattore di conversione 9

Tabella 9: fattori per calcolare FOS/TAC, tratta da [38]

2.5.4 Analisi Solidi Volatili (SV) e Solidi Totali (ST)

I ST e SV rivestono un ruolo importante in numerosi ambiti scientifici, in particolare in quelli legati all'ambiente, all'ingegneria sanitaria e alla biotecnologia, perché permettono di caratterizzare la composizione di matrici complesse come i suoli, le biomasse, le acque reflue e i fanghi, fornendo informazioni sulla quantità e sulla natura delle sostanze presenti.

Il valore di ST è ottenuto mediante l'eliminazione dell'acqua presente nel campione tramite essiccamento in stufa a 105 °C fino al raggiungimento di un peso costante (Figura 14).

I ST rappresentano dunque la quantità di residuo del campione sottoposto a evaporazione. Il calcolo del parametro avviene mediante l'espressione seguente:

$$ST \% = \frac{\text{massa del campione post essiccazione a } 105 \text{ } ^\circ\text{C [g]}}{\text{massa del campione iniziale [g]}} \cdot 100 \quad (19)$$



Figura 14: stufa

I campioni ottenuti vengono poi sottoposti a combustione all'interno di una muffola (Figura 15) a 550 °C per una durata di 6 ore con una rampa di riscaldamento di 5°C/min. La frazione

di SV corrisponde alla porzione del campione che, sottoposta a tali condizioni termiche, non lascia residui solidi (cenere) e si volatilizza. Di seguito l'espressione per calcolare il rapporto SV/ST %:

$$SV/ST \% = \frac{\text{massa del campione iniziale [g]} - \text{massa del campione post essiccazione a } 550\text{ }^\circ\text{C [g]}}{\text{massa del campione iniziale [g]}} \cdot 100$$

(20)



Figura 15: muffola

2.6 Caratterizzazione dei digestati per applicazione in serra

I digestati ottenuti dal processo di digestione anaerobica sono stati impiegati come fertilizzanti in una prova condotta in serra presso AgriNewTech s.r.l., sede di Grugliasco (TO).

Per la caratterizzazione dei digestati sono state effettuate le analisi elementari CHNS(O) sui campioni liquidi di digestato tal quale.

Dopo un'accurata preparazione dei campioni, che ha incluso una centrifugazione a 5000 rpm per 10 minuti (centrifuga *Thermo Scientific 16R*) al fine di rimuovere le particelle solide in sospensione, sono state effettuate delle caratterizzazioni mediante i kit commerciali Hach Lange.

È stata misurata la conducibilità elettrica (C.E.) con il pHmetro (*Pc 80 + DHS, XS instruments*) sulla frazione liquida dei campioni di digestato dopo centrifugazione.

Le frazioni liquide dei campioni di digestato sono state opportunamente diluite per adeguarle ai range di calibrazione dei kit.

Le determinazioni analitiche sono state effettuate mediante spettrofotometria ed hanno riguardato i principali macronutrienti presenti nei digestati, quali potassio, azoto totale (presente come nitrati e ammonio) e fosfati.

I kit commerciali utilizzati sono:

- Ed_LCK228 POTASSIO
- Ed_LCK338 AZOTO
- Ed_LCK340 NITRATO
- Ed_LCK350 FOSFORO e FOSFATI
- Ed_LCK503 AZOTO AMMONIACALE

2.7 Prove in serra

Al fine di valutare gli effetti agronomici dei digestati prodotti, è stato allestito un esperimento in serra presso l'azienda AgriNewTech s.r.l., utilizzando piante di pomodoro (*Solanum lycopersicum L.*, cv. ESASEM S.p.A.).

I semi di pomodoro sono stati seminati in alveoli e, dopo circa tre settimane dalla germinazione, le piantine sono state trapiantate singolarmente in vasi (12 cm x 12 cm, 1.25 L) contenenti un substrato di crescita composto da torba e perlite (50:50 v/v). I digestati sono stati applicati al momento del trapianto in vaso in tre differenti dosaggi, equivalenti a 25, 50 e 100 kg N/ha, e confrontati con un compost commerciale (ACSR S.p.A.) e un fertilizzante minerale NPK 16-4-8 (Osmocote Topdress) applicati negli stessi dosaggi; è stato inoltre inserito anche un testimone senza alcun trattamento. Una volta dosati, tutti i trattamenti sono stati opportunamente diluiti con acqua fino a raggiungere un volume totale (acqua e trattamento) pari al 20% del volume del vaso. Il substrato di coltivazione è stato quindi bagnato con la soluzione ottenuta e miscelato per garantire una bagnatura omogenea, e successivamente utilizzato per riempire i vasi.

Il disegno sperimentale ha previsto un totale di dieci repliche per ciascun trattamento, ottenute replicando ogni trattamento cinque volte su due prove in parallelo (prova 1 e prova 2).

I vasi sono stati disposti in modo randomizzato all'interno della serra, al fine di evitare che la posizione influisse sulla crescita delle piante, minimizzando l'effetto di eventuali fattori di disturbo ambientali.

Settimanalmente sono stati effettuati i rilievi di crescita e di contenuto di clorofilla (misuratore di clorofilla *SPAD 502plus, Konica Minolta*). Il contenuto di clorofilla è stato monitorato per valutare lo stato fisiologico delle piante settimanalmente. Parallelamente, è stata monitorata la crescita delle piante mediante misure settimanali, misurando l'incremento in altezza rispetto alla

settimana precedente. Questa metodologia è stata adottata per ovviare alle differenze iniziali di altezza tra le piantine. La prova è durata dieci settimane, nel periodo tra maggio e luglio.

Al termine dell'esperimento, sono stati raccolti i seguenti dati: biomassa fresca e secca, numero di foglie e sviluppo radicale, quest'ultimo assegnato come indice da 0 a 4 tramite esame visivo del pane di terra estratto dal vaso, che tiene conto della compattezza del terreno e della diffusione delle radici nel vaso. È stato assegnato 0 in assenza di radici e 4 in caso di sviluppo massimo [39], [40]. Questi parametri sono stati utilizzati come indicatori della crescita e dello sviluppo delle piante in risposta ai diversi trattamenti.

Le analisi sono state valutate mediante l'analisi della varianza a una via (ANOVA), utilizzando il software IBM SPSS Statistics26.

3. Risultati

3.1 Substrati iniziali

3.1.1 Inoculo

Per le prove di digestione anaerobica sono stati utilizzati due inoculi prelevati in periodi differenti e che quindi presentano caratteristiche diverse: l'Inoculo 1 è stato impiegato per le configurazioni RAW AP 1-250, RAW AP 1-500, RAW AP 1-2000, MWE AP 1-250, MWE AP 1-500 e MWE AP 1-2000, mentre l'Inoculo 2 è stato utilizzato per le restanti configurazioni.

Di seguito vengono riportate le loro caratteristiche: i ST, i SV e l'analisi elementare CHNS(O):

Inoculo	ST %	SV/ST %
Inoculo 1	8.84 ± 0.31	70.57 ± 0.29
Inoculo 2	4.3 ± 0.06	73.2 ± 0.21

Tabella 10: solidi totali (ST) e rapporto tra solidi volatili e solidi totali (SV/ST) dell'inoculo

Inoculo	N %	C %	H %	S %	O %	C/N
Inoculo 1	2.34 ± 0.14	34.83 ± 1.14	4.11 ± 0.15	0.44 ± 0.02	58.27 ± 1.38	14.91 ± 0.66
Inoculo 2	1.83 ± 0.01	17.95 ± 0.17	2.30 ± 0.17	0.41 ± 0.03	77.50 ± 0.36	9.80 ± 0.14

Tabella 11: composizione elementare dell'inoculo

3.1.2 Sansa di mela

Il substrato utilizzato per le prove di digestione anaerobica proviene dall'impianto produttivo dell'azienda Vortex S.r.l. &SB.

Per le configurazioni RAW AP 1-250, RAW AP 1-500, RAW AP 1-2000 e RAW AP 2-250 è stata utilizzata la sansa di mela essiccata, senza pretrattamenti.

Per le configurazioni MWE AP 1-250, MWE AP 1-500, MWE AP 1-2000 e MWE AP 2000 è stata usata sansa di mela pretrattata mediante estrazione assistita da microonde.

Per le restanti configurazioni è stata utilizzata la sansa di mela pretrattata mediante estrazione assistita da ultrasuoni.

Di seguito, nella Tabella 12 vengono riportate le caratteristiche dei tre substrati: i ST, i SV e l'analisi elementare CHNS(O):

AP	ST %	SV/ST %
AP - RAW	87.37 ± 0.17	97.35 ± 0.03
AP - MWE	20.47 ± 1.55	98.25 ± 0.23
AP - USE	23.27 ± 0.09	98.52 ± 0.10

Tabella 12: solidi totali (ST) e rapporto tra solidi volatili e solidi totali (SV/ST) del substrato

AP	N %	C %	H %	S %	O %	C/N
AP - RAW	0.98 ± 0.05	44.53 ± 1.19	6.36 ± 0.17	0.18 ± 0.07	47.95 ± 1.31	45.67 ± 1.69
AP - MWE	2.1 ± 0.24	44.38 ± 0.44	6.22 ± 0.14	0.1 ± 0.01	47.2 ± 0.83	21.26 ± 2.31
AP - USE	2.15 ± 0.23	42.63 ± 0.42	5.94 ± 0.23	0.14 ± 0.03	49.14 ± 0.44	19.95 ± 1.88

Tabella 13: composizione elementare del substrato

Come si può osservare nella Tabella 12, l'analisi dei ST e dei SV/ST ha evidenziato delle differenze tra la AP – RAW e le AP - MWE e AP – USE.

In particolare, i valori di ST sono risultati nettamente inferiori nella sansa di mela pretrattata.

La diminuzione dei ST nella sansa di mela pretrattata può essere attribuita all'estrazione dei componenti solubili dalla matrice lignocellulosica, conseguente all'applicazione delle tecniche di estrazione mediante le microonde e gli ultrasuoni. Questi pretrattamenti, infatti, favoriscono la rottura delle pareti cellulari e il rilascio di sostanze solubili nella fase liquida (solvente di estrazione).

Inoltre, prima di effettuare le analisi dei ST e dei SV, è stata rimossa l'acqua in eccesso dalla sansa di mela pretrattata, aumentando la concentrazione dei solidi contenuti in essa.

L'analisi della composizione elementare riportata nella Tabella 13 evidenzia una riduzione del contenuto di azoto (N) nella sansa di mela sottoposta ai pretrattamenti con le microonde (AP – MWE) e gli ultrasuoni (AP – USE) rispetto alla sansa di mela non pretrattata (AP – RAW).

Questa diminuzione potrebbe essere attribuita all'estrazione di composti azotati come amminoacidi e proteine, indotta dai pretrattamenti. Le condizioni generate dai pretrattamenti favoriscono la rottura delle pareti cellulari e la solubilizzazione di queste macromolecole. La diminuzione del contenuto di N determina un abbassamento dei rapporti C/N nei substrati pretrattati.

La AP – MWE e AP – USE hanno valori di C/N rispettivamente di 21.26 ± 2.31 e 19.95 ± 1.88, rientrando nel range ottimale di C/N (20-30) per la digestione anaerobica.

3.2 Effetti dei pretrattamenti della sansa di mela sulla digestione anaerobica: confronto tra configurazioni

La presente sezione della tesi è dedicata all'analisi dei risultati ottenuti variando il pretrattamento della sansa di mela. L'obiettivo è valutare l'effetto dei pretrattamenti sulla produzione di biogas e sulle caratteristiche elementari dei digestati.

I confronti sono stati effettuati sulle configurazioni caratterizzate dallo stesso volume (250 mL), stesso rapporto S:I e substrato diverso.

L'effetto dei pretrattamenti è stato valutato in due diversi casi: nel primo caso con rapporto S:I di 1:1, nel secondo caso con rapporto S:I di 2:1.

Il confronto si basa sulla composizione del biogas (H_2 , CH_4 e CO_2) e sulla produzione cumulata. Inoltre, mediante l'analisi elementare CHNS(O) è stato possibile ottenere dati relativi alle percentuali degli elementi di cui è composto ogni digestato prodotto e il rapporto C/N.

Vengono riportati i risultati del CHNS(O), i valori dei ST % e dei SV/ST % ottenuti mediante essiccamento in stufa a 105 °C e combustione all'interno di una muffola a 550 °C per 6 ore e i valori di pH misurati alla fine della digestione.

3.2.1 Configurazioni S:I 1:1

In questo paragrafo vengono confrontate le configurazioni RAW AP 1-250, MWE AP 1-250 e USE AP 1-250, che hanno cioè stesso S:I 1:1, stesso volume del reattore di 250 mL e si differenziano per il substrato utilizzato. Nella configurazione RAW AP 1-250 è stata usata come substrato la sansa di mela non pretrattata, nella configurazione MWE AP 1-250 la sansa di mela pretrattata mediante estrazione assistita da microonde e nella configurazione MWE AP 1-250 la sansa di mela pretrattata mediante estrazione assistita da ultrasuoni.

Di seguito nella Tabella 14 sono riportati i valori dei solidi totali (ST) e del rapporto solidi volatili su solidi totali (SV/ST) dei digestati al termine del processo.

	RAW AP 1-250	MWE AP1-250	USE AP 1-250
ST %	4.39 ± 1.44	6.32 ± 0.32	5.91 ± 0.2
SV/ST %	79.48 ± 1.53	80.59 ± 1.7	72.11 ± 0.66
pH finale	ND	ND	8.04 ± 0.1

Tabella 14: solidi totali (ST) e rapporto tra solidi volatili e solidi totali (SV/ST) dei digestati

I valori di ST % e SV/ST % sono risultati più elevati nelle configurazioni in cui è stato previsto il pretrattamento della sansa di mela. Questo può essere attribuito ai pretrattamenti effettuati sui substrati che, rilasciando i componenti più solubili della matrice lignocellulosica, l'hanno resa più densa e compatta. I pretrattamenti, alterando la struttura chimica e fisica della materia organica di cui è composta la sansa di mela, hanno potuto favorire la degradazione dei composti organici in composti più semplici, come CO_2 e H_2O , aumentando i SV.

Di seguito, nella Tabella 15 ci sono i dati dell'analisi elementare CHNS(O) dei digestati.

	N %	C %	H %	S %	O %	C/N
RAW AP 1-250	2.45 ± 0.05	35.82 ± 4.28	4.38 ± 0.67	0.42 ± 0.01	56.94 ± 4.92	14.84 ± 2.10
MWE AP 1-250	2.55 ± 0.1	39.56 ± 3.08	4.35 ± 0.42	0.42 ± 0.02	52.65 ± 3.59	15.51 ± 0.79

USE AP 1-250	2.71 ± 0.59	41.52 ± 3.83	4.99 ± 0.7	0.44 ± 0.05	50.34 ± 3.89	16.17 ± 5.66
--------------	-----------------	------------------	----------------	-----------------	------------------	------------------

Tabella 15: composizione elementare dei digestati

Di seguito si riportano i grafici che mostrano la produzione cumulata di biogas, la produzione cumulata di CH₄ e i grafici di ripartizione del biogas che mostrano la composizione del biogas delle tre configurazioni.

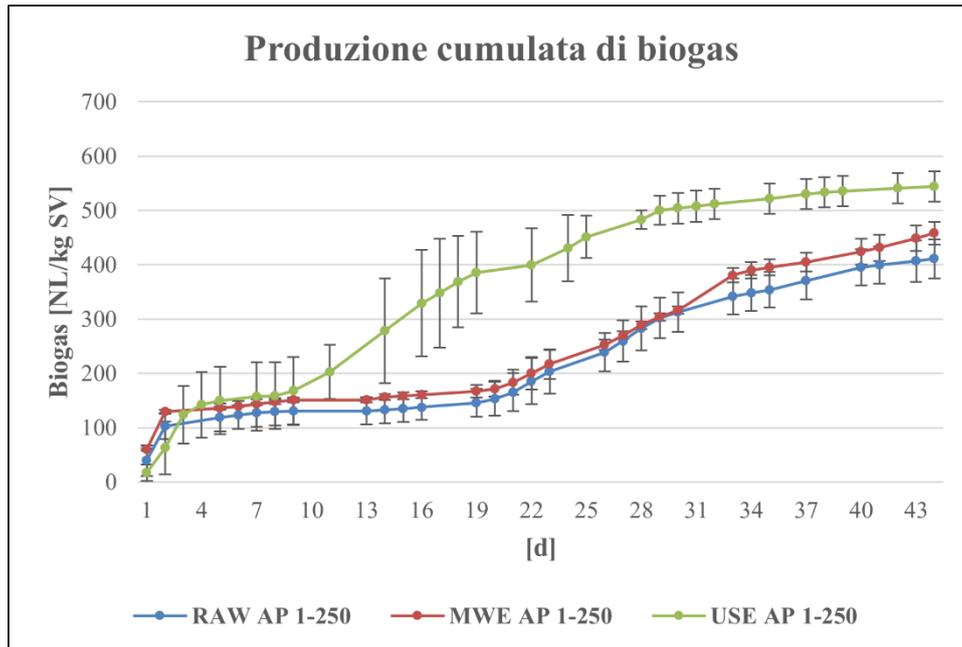


Figura 16: confronto produzione cumulata di biogas tra RAW AP 1-250, MWE AP 1-250 e USE AP 1-250

Come è possibile notare dal grafico Figura 16, nei primi dieci giorni di digestione anaerobica non si notano nette differenze tra le configurazioni; a partire dal dodicesimo giorno la configurazione USE AP 1-250 si distacca nettamente dalle altre due fino al giorno 35, dove è possibile notare che la produzione inizia a stabilizzarsi.

Dunque, la configurazione USE AP 1-250 ha prodotto più biogas, arrivando al giorno 43 di digestione con 544.1 NL/kg_{sv}. Le configurazioni MWE AP 1-250 e RAW AP 1-250 hanno prodotto rispettivamente 457.89 e 411.09 NL/kg_{sv} di biogas.

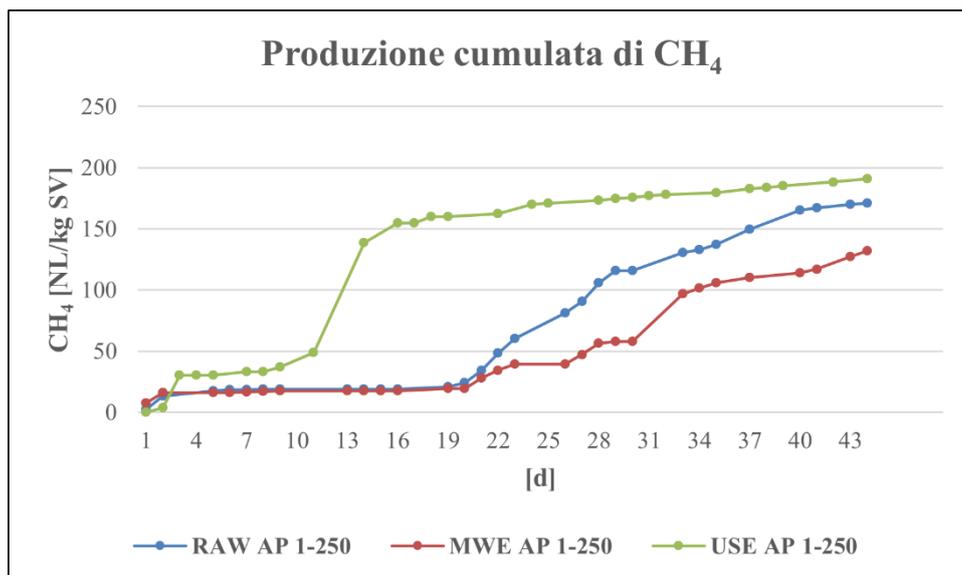


Figura 17: confronto produzione cumulata di CH₄ tra RAW AP 1-250, MWE AP 1-250 e USE AP 1-250

La produzione cumulata di CH₄ conferma l'andamento della produzione cumulata di biogas (Figura 16 e Figura 17). La configurazione USE AP 1-250 risulta più performante, soprattutto nella fase tra il giorno 10 e giorno 32 della digestione anaerobica, arrivando a produrre 190.78 NL/kg sv.

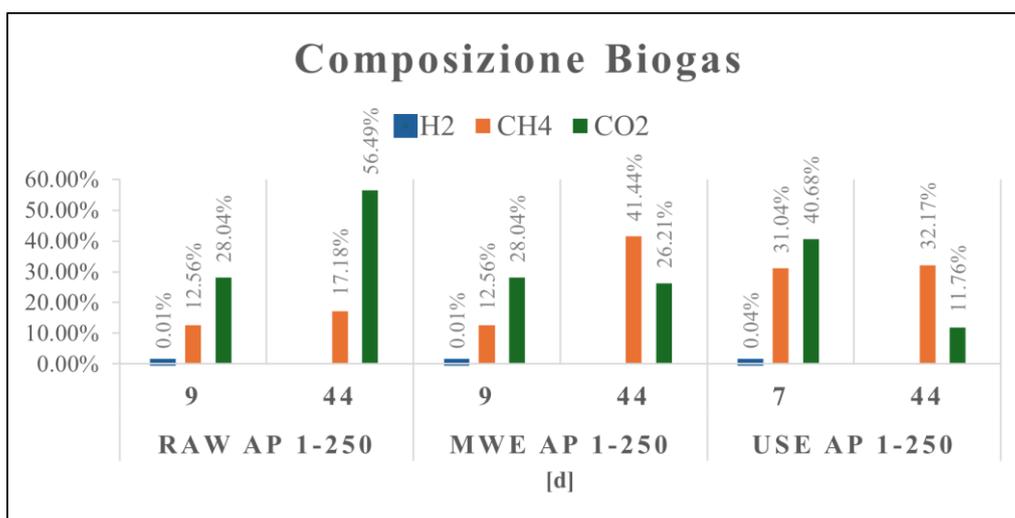


Figura 18: analisi comparativa della composizione del biogas tra RAW AP 1-250, MWE AP 1-250 e USE AP 1-250

Il grafico in Figura 18 mostra un'analisi comparativa della composizione del biogas prodotto dalle configurazioni RAW AP 1-250, MWE AP 1-250 e USE AP 1-250 in riferimento ai dati dell'ultimo giorno di rilevamento dell'H₂ (9) e dell'ultimo giorno di digestione (44). Si evidenziano significative variazioni della percentuale di CH₄, componente principale del biogas. Le configurazioni caratterizzate dalla sansa di mela pretrattata hanno raggiunto percentuali di CH₄ maggiori. Tale fenomeno suggerisce che il pretrattamento abbia alterato la struttura del substrato, rendendo le componenti complesse più facilmente degradabili dagli enzimi prodotti dai metanigeni.

L'H₂ è presente in piccole percentuali fino al giorno 9 per le RAW AP 1-250 e MWE AP 1-250 e fino al giorno 7 per la USE AP 1-250.

3.2.2 Configurazioni S:I 2:1

In questo paragrafo vengono confrontate le configurazioni RAW AP 2-250, MWE AP 2-250 e USE AP 2-250, che hanno stesso S:I 2:1, stesso volume del reattore di 250 mL e si distinguono per il substrato utilizzato. Nella configurazione RAW AP 2-250 è stata usata come substrato la sansa di mela non pretrattata, nella configurazione MWE AP 2-250 la sansa di mela pretrattata mediante estrazione assistita da microonde e nella configurazione MWE AP 2-250 la sansa di mela pretrattata mediante estrazione assistita da ultrasuoni.

Di seguito nella Tabella 16 sono riportati i valori dei solidi totali (ST) e del rapporto solidi volatili su solidi totali (SV/ST) dei digestati alla fine del processo.

	RAW AP 2-250	MWE AP 2-250	USE AP 2-250
ST %	4.06 ± 0.93	4.52 ± 0.52	3.99 ± 0.17
SV/ST %	61.07 ± 8.64	78.26 ± 2.76	62.79 ± 3.96
pH finale	7.99 ± 0.04	5.39 ± 0.08	7.65 ± 0.32

Tabella 16: solidi totali (ST) e rapporto tra solidi volatili e solidi totali (SV/ST) dei digestati

Il valore SV/ST % più elevato si osserva per la configurazione MWE AP 2-250, questo può indicare che il pretrattamento dell'estrazione assistita da microonde potrebbe aver reso la sansa di mela più degradabile, causando un aumento della frazione dei SV.

	N %	C %	H %	S %	O %	C/N
RAW AP 2-250	2.90 ± 0.38	32.69 ± 5.78	3.67 ± 0.43	0.37 ± 0.02	60.36 ± 6.61	11.21 ± 0.55
MWE AP 2-250	2.28 ± 0.05	40.29 ± 1.64	5.26 ± 0.26	0.27 ± 0.01	51.9 ± 1.88	17.7 ± 1
USE AP 2-250	2.19 ± 0.59	39.17 ± 0.94	5.03 ± 0.3	0.33 ± 0.06	53.27 ± 0.59	18.59 ± 5.40

Tabella 17: composizione elementare dei digestati

I grafici presentati di seguito mostrano l'evoluzione nel tempo della produzione cumulata di biogas e del suo componente principale, il CH₄, e la composizione percentuale del biogas in termini di CH₄, CO₂ e H₂ delle tre diverse configurazioni sperimentali.

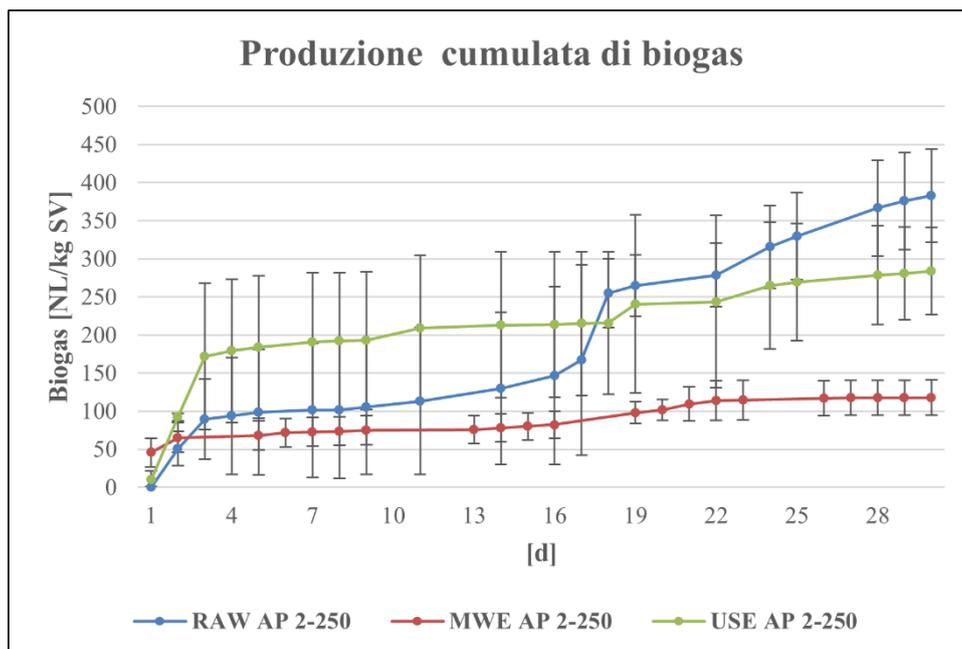


Figura 19: confronto produzione cumulata di biogas tra RAW AP 2-250, MWE AP 2-250 e USE AP 2-250

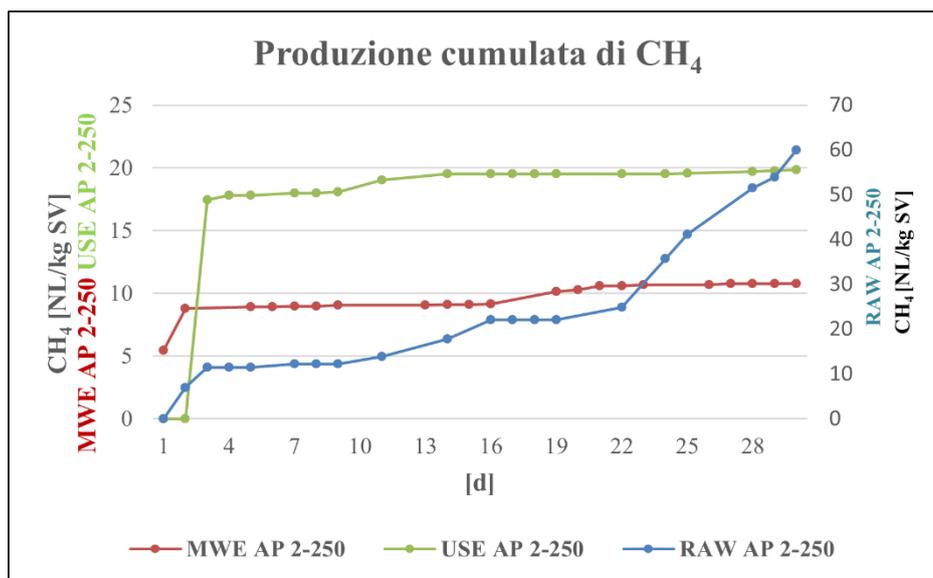


Figura 20: confronto produzione cumulata di CH4 tra RAW AP 2-250, MWE AP 2-250 e USE AP 2-250

Il grafico riportato in Figura 19 mostra che fino al giorno 16 di digestione la configurazione USE AP 2-250 ha prodotto più biogas, superata questa fase temporale la RAW AP 2-250 con 383.04 NL/kg_{SV} è risultata essere la configurazione migliore.

Si possono fare le stesse considerazioni per la produzione di CH₄, infatti la configurazione con la sansa di mela non pretrattata ha prodotto più CH₄ delle altre due configurazioni.

L'andamento del grafico riportato in Figura 20 illustra che la configurazione con la sansa di mela non pretrattata ha prodotto 59.96 NL/kg_{SV} di CH₄, la USE AP 2-250 19.82 NL/kg_{SV} di CH₄ e a seguire la MWE AP 2-250 con 10.77 NL/kg_{SV} di CH₄.

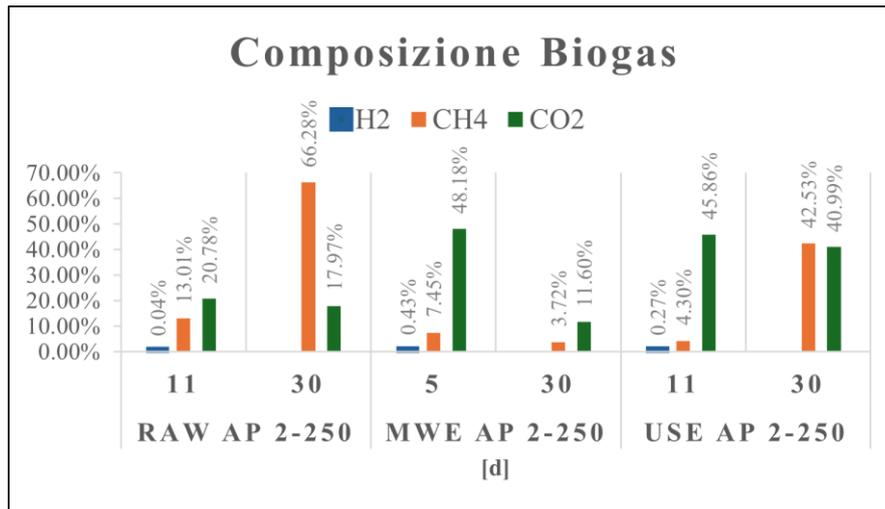


Figura 21: analisi comparativa della composizione del biogas tra RAW AP 2-250, MWE AP 2-250, USE AP 2-250

Il grafico riportato in Figura 21 mostra le percentuali di H₂, CH₄ e CO₂ nell'ultimo giorno di rilevamento di H₂ (9) e nell'ultimo giorno di digestione (30). I risultati evidenziano una produzione significativamente maggiore di H₂ nelle configurazioni MWE AP 2-250 e USE AP 2-250 rispetto alla configurazione RAW AP 2-250. Al contrario, la configurazione RAW AP 2-250 ha prodotto una percentuale di CH₄ superiore rispetto alle configurazioni che hanno previsto il pretrattamento del substrato (sansa di mela).

A conclusione dei risultati ottenuti confrontando le configurazioni con la sansa di mela pretrattata e non, la configurazione USE AP 1-250 si è rivelata essere la migliore tra le configurazioni con S:I 1:1 e volume di 250 mL, sia per la produzione cumulata di CH₄ sia per la produzione cumulata di biogas.

In uno studio condotto sui pretrattamenti dei substrati per una prova di co-digestione anaerobica di scarti alimentari e letame avicolo [41], sono state confrontate le produzioni cumulative di biogas, le produzioni di CH₄ e le composizioni di biogas. Dai risultati si evince che la configurazione con il substrato pretrattato mediante gli ultrasuoni (Conf – USE) è stata la più performante, con una produzione di 9926 mL approssimativamente pari a 86.96 L/kg_{sv} di biogas dopo 30 giorni di digestione, contro i 9426 mL approssimativamente pari a 82.58 L/kg_{sv} della configurazione con il substrato trattato mediante le microonde (Conf – MWE).

Nel presente lavoro, la USE AP 1-250, è risultata la più performante tra quelle testate, con una produzione di 503.85 NL/kg_{sv} di biogas dopo 30 giorni di digestione, superiore rispetto ai dati dello studio citato. La MWE AP 1-250 ha prodotto 316.3 NL/kg_{sv}, dunque una produzione superiore rispetto alla Conf – MWE dello studio citato.

Per quanto riguarda la composizione del biogas, lo studio in letteratura mostra percentuali di CH₄ molto simili tra la configurazione col substrato pretrattato al microonde e il substrato pretrattato agli ultrasuoni, invece, in questo studio, nel caso di S:I 1:1 la configurazione MWE AP 1-250 ha la composizione di biogas con maggiore percentuale di CH₄, a seguire la configurazione USE AP 1-250 e poi la RAW AP 1-250.

Invece, nel confronto tra pretrattamenti con S:I 2:1 nel presente lavoro di tesi, è risultata più produttiva la configurazione RAW AP 2:1 sia per la produzione cumulata di biogas sia per la

produzione cumulata di CH₄. Dunque, con S:I 2:1 le produzioni dei pretrattamenti sono stati insoddisfacenti.

In conclusione, le configurazioni con la sansa di mela pretrattata sono state più performanti nel caso di S:I 1:1, dunque, i pretrattamenti hanno migliorato la resa di produzione del biogas, a differenza del caso di S:I 2:1, in cui invece la configurazione con la sansa di mela non pretrattata è stata la migliore.

3.3 Effetti del volume del reattore sulla digestione anaerobica: confronto tra configurazioni

In questa sezione si analizzano i risultati ottenuti variando il volume del reattore.

L'obiettivo è valutare l'impatto dei volumi del reattore sulla produzione di biogas e sulle caratteristiche elementari dei digestati.

A tal fine sono state testate diverse configurazioni sperimentali, caratterizzate dallo stesso substrato, stesso rapporto S:I e volume diverso (250 mL, 500 mL e 2000mL).

L'effetto del volume del reattore è stato valutato in tre diversi casi: nel primo caso con la sansa di mela non pretrattata, nel secondo caso con la sansa di mela pretrattata mediante estrazione assistita da microonde e nel terzo caso con la sansa di mela pretrattata mediante estrazione assistita da ultrasuoni.

Il confronto si basa sulla composizione del biogas (H₂, CH₄ e CO₂) e sulla produzione cumulata. Vengono riportati i dati dell'analisi elementare CHNS(O), dei ST % e SV/ST % e i valori di pH misurati alla fine della digestione.

3.3.1 Configurazioni con sansa di mela non pretrattata

In questo paragrafo vengono confrontate le configurazioni RAW AP 1-250, RAW AP 1-500 e RAW AP 1-2000, che ossia hanno S:I 1:1, substrato non pretrattato e si diversificano per il volume del reattore. Nella configurazione RAW AP 1-250 sono stati usati reattori di 250 mL, nella configurazione MWE AP 1-500 è stato usato un reattore di 500 mL e nella configurazione MWE AP 1-250 un reattore di 2000 mL.

Di seguito nella Tabella 18 sono riportati i valori dei solidi totali (ST) e del rapporto solidi volatili su solidi totali (SV/ST) dei digestati alla fine del processo.

	RAW AP 1-250	RAW AP 1-500	RAWAP 1-2000
ST %	4.39 ± 1.44	2.83 ± 0.82	3.1 ± 0.79
SV/ST %	79.48 ± 1.53	68.17 ± 0.02	53.96 ± 0.49
pH finale	n.d.	7.85	7.95

Tabella 18: solidi totali (ST) e rapporto tra solidi volatili e solidi totali (SV/ST) dei digestati

La configurazione con un volume di 250 mL (RAW AP -1-250) presenta valori più elevati sia di ST % che di SV/ST %, indicando una maggiore concentrazione di solidi nel digestato. Questo potrebbe essere attribuito a una maggiore efficienza di miscelazione perché aumenta il contatto tra i microrganismi e il substrato, facilitando la degradazione dei solidi volatili, causando una maggiore concentrazione di solidi nel digestato finale.

	N %	C %	H %	S %	O %	C/N
RAW AP 1-250	2.45 ± 0.05	35.82 ± 4.28	4.38 ± 0.67	0.42 ± 0.01	56.94 ± 4.92	14.84 ± 2.10
RAW AP 1-500	2.53 ± 0.04	30.41 ± 0.49	3.66 ± 0.02	0.51 ± 0.01	62.89 ± 0.57	12.02 ± 0.03
RAW AP 1-2000	2.3 ± 0.04	25.76 ± 1.14	3.60 ± 0.12	0.38 ± 0.04	67.95 ± 1.28	11.12 ± 0.39

Tabella 19: composizione elementare dei digestati

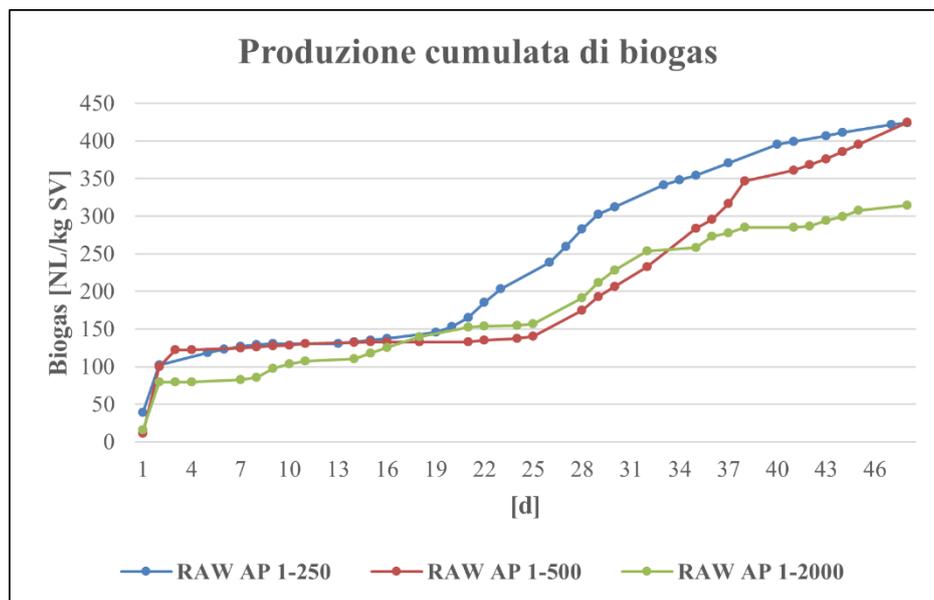


Figura 22: confronto produzione cumulata di biogas tra RAW AP 1-250, RAW AP 1-500 e RAW AP 1-2000

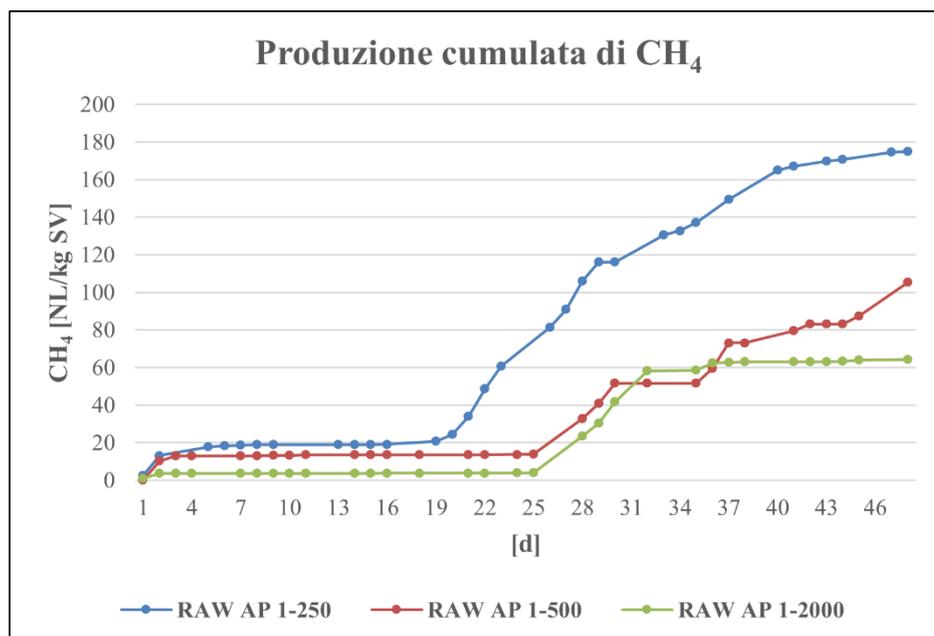


Figura 23: confronto produzione cumulata di CH4 tra RAW AP 1-250, RAW AP 1-500 e RAW AP 1-2000

Come si può osservare dal grafico in Figura 22, la produzione cumulata di biogas nelle configurazioni con reattori da 250 mL e 500 mL (RAW AP 1-250 e RAW AP 1-500, rispettivamente) è risultata molto simile, con valori di 424.1 e 424,33 NL/kg sv. L'assenza di miscelazione continua ostacola il *mass-transfer* e l'accessibilità alla biomassa da parte dei microrganismi, questo è più evidente nei reattori di dimensioni maggiori, dove probabilmente anche l'agitazione manuale è stata meno efficiente. Tuttavia, per quanto riguarda la produzione di CH₄, si nota una differenza significativa tra la configurazione RAW AP 1-250 e le altre due. La configurazione con il reattore più piccolo ha prodotto 174,88 NL/kg sv di CH₄, un valore nettamente superiore rispetto alle altre due configurazioni che hanno prodotto 105.42 NL/kg sv di CH₄ (RAW AP 1-500) e 64.24 NL/kg sv di CH₄ (RAW AP 1-2000).

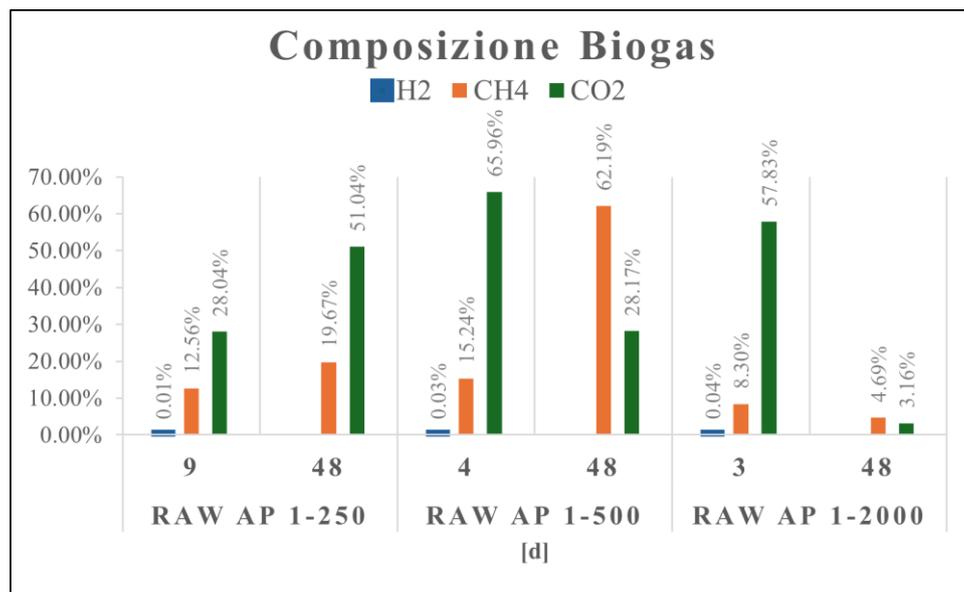


Figura 24: analisi comparativa della composizione del biogas tra RAW AP 1-250, RAW AP 1-500 e RAW AP 1-2000

Il grafico in Figura 24 illustra l'analisi comparativa tra le configurazioni RAW AP 1-250, RAW AP 1-500 e RAW AP 1-2000, analizzando l'effetto del volume del reattore (250, 500 e 2000 mL) sulla produzione del biogas.

I risultati evidenziano come la configurazione RAW AP 1-500 abbia prodotto una percentuale di CH₄ significativamente superiore alla fine del processo digestivo (48) rispetto alle altre due configurazioni. Tale risultato potrebbe essere attribuito a condizioni operative ottimali all'interno del reattore, correlate al volume e al rapporto S:I.

Nonostante la configurazione RAW AP 1-2000 abbia mostrato una produzione cumulata di 65.53 NL/kg sv di CH₄, inferiore rispetto alle produzioni della RAW AP 1-250 e RAW AP 1-500, durante la prova di digestione anaerobica ha raggiunto il 70.03 % v/v di CH₄.

3.3.2 Configurazioni con sansa di mela prettata mediante estrazione assistita da microonde

In questo paragrafo vengono confrontate le configurazioni MWE AP 1-250, MWE AP 1-500 e MWE AP 1-2000, ossia hanno S:I 1:1, substrato pretrattato mediante estrazione assistita da microonde e si diversificano per il volume del reattore. Nella configurazione MWE AP 1-250

sono stati usati reattori di 250 mL, nella configurazione MWE AP 1-500 è stato usato un reattore di 500 mL e nella configurazione MWE AP 1-2000 un reattore di 2000 mL.

Di seguito nella sono riportati i valori dei solidi totali (ST) e del rapporto solidi volatili su solidi totali (SV/ST).

	MWE AP 1-250	MWE AP 1-500	MWE AP 1-2000
ST %	6.32 ± 0.32	7.61 ± 0.01	6.79 ± 0.01
SV/ST %	80.59 ± 1.7	80.66 ± 0.01	76.53 ± 0.03
pH finale	n.d.	n.d.	8.01

Tabella 20: solidi totali (ST) e rapporto tra solidi volatili e solidi totali (SV/ST) dei digestati

	N %	C %	H %	S %	O %	C/N
MWE AP 1-250	2.55 ± 0.1	39.56 ± 3.08	4.35 ± 0.42	0.42 ± 0.02	52.65 ± 3.59	15.51 ± 0.79
MWE AP 1-500	3.31 ± 0.03	46.71 ± 2.78	5.46 ± 0.27	0.86 ± 0.06	43.65 ± 3.03	14.10 ± 0.9
MWE AP 1-2000	3.21 ± 0.25	43.91 ± 2.32	5.19 ± 0.23	0.84 ± 0.07	46.85 ±	13.74 ± 1.45

Tabella 21: composizione elementare dei digestati

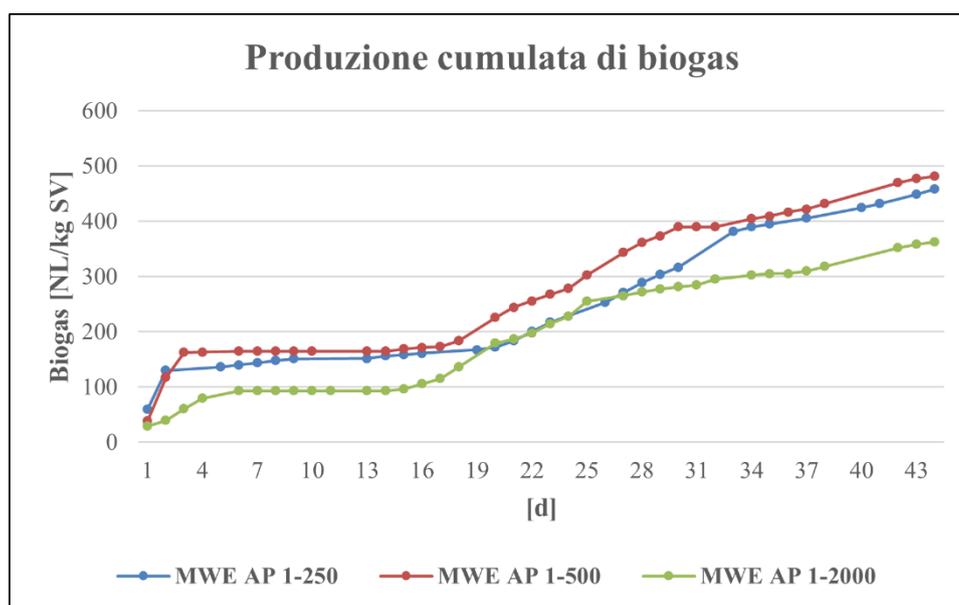


Figura 25: confronto produzione cumulata di biogas tra MWE AP 1-250, MWE AP 1-500 e MWE AP 1-2000

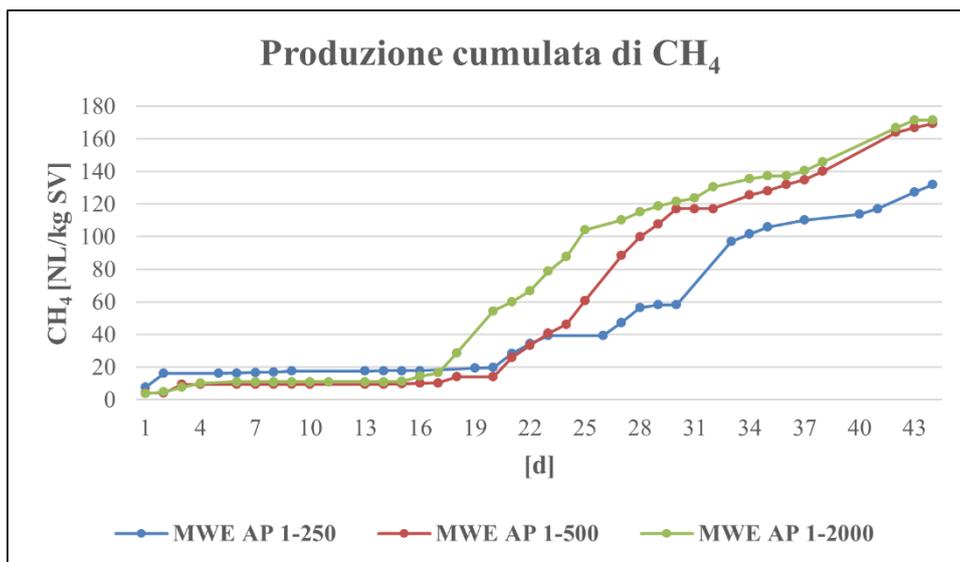


Figura 26: confronto produzione cumulata di CH₄ tra MWE AP 1-250, MWE AP 1-500 e MWE AP 1-2000

L'andamento delle produzioni giornaliere cumulate di biogas (Figura 25) non mostra evidenti differenze, infatti la MWE AP 1-250 ha prodotto 457.89 NL/kg_{SV} di biogas, la MWE AP 1-500 480.98 NL/kg_{SV} e la MWE AP 1-2000 318.08 NL/kg_{SV}, discostandosi di poco dalle altre due.

La produzione cumulata di CH₄ mostra un andamento opposto al grafico della Figura 25, infatti la configurazione col reattore di 2000 mL ha prodotto più CH₄ (171.26 NL/kg_{SV}), a seguire la MWE AP 1-500 (169.13 NL/kg_{SV}) e la MWE AP 1-250 (132.06 NL/kg_{SV}).

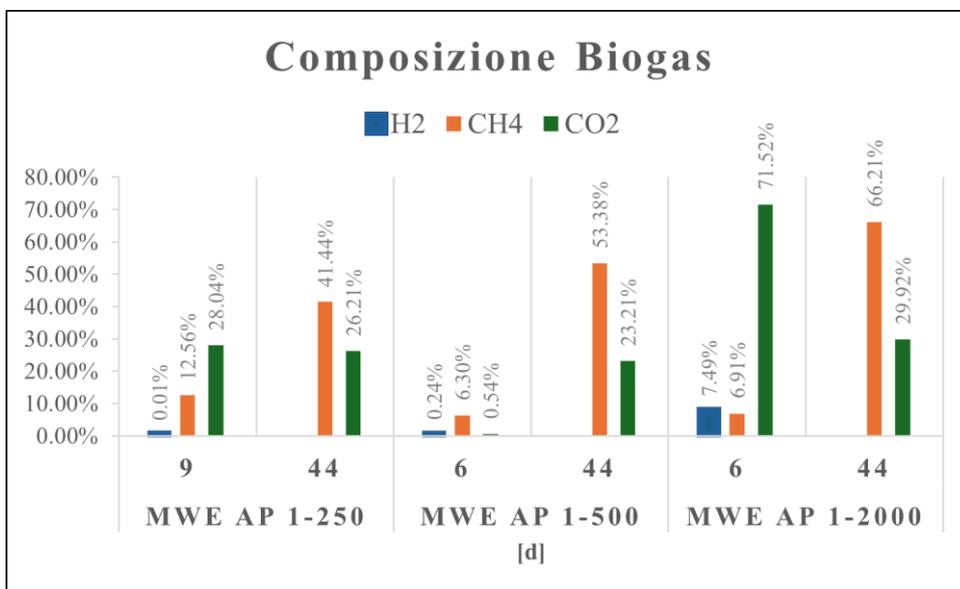


Figura 27: analisi comparativa della composizione del biogas tra MWE AP 1-250, MWE AP 1-500 e MWE AP 1-2000

Come illustrato nel grafico (Figura 27), la configurazione MWE AP 1-2000 ha evidenziato una produzione di CH₄ significativamente superiore (66.21%) rispetto alle altre configurazioni l'ultimo giorno di digestione (44). In particolare, la configurazione MWE AP 1-500 ha mostrato una percentuale di CH₄ pari al 53.38%, mentre la configurazione MWE AP 1-250 al 41.44%.

Questi risultati suggeriscono che sia il volume del reattore che il pretrattamento della sansa di mela hanno influenzato positivamente la produzione di CH₄. Analogamente, la configurazione MWE AP 1-250 ha mostrato una percentuale di H₂ inferiore (9%) rispetto alle altre due configurazioni.

3.3.3 Configurazioni con sansa di mela prettata mediante estrazione assistita da ultrasuoni

In questo paragrafo vengono confrontate le configurazioni USE AP 1-250 e USE AP 1-500, con S:I 1:1, substrato pretrattato mediante estrazione assistita da ultrasuoni e si diversificano per il volume del reattore. Nella configurazione USE AP 1-250 sono stati usati reattori di 250 mL e nella USE AP 1-500 è stato usato un reattore di 500 mL.

Di seguito nella Tabella 22 sono riportati i valori dei solidi totali (ST), del rapporto solidi volatili su solidi totali (SV/ST) e del pH finale dei digestati.

	USE AP 1-250	USE AP 1-500
ST %	5.91 ± 0.2	6.29 ± 1.02
SV/ST %	72.11 ± 0.66	73.58 ± 1.53
pH finale	8.04 ± 0.1	7.91

Tabella 22: solidi totali (ST) e rapporto tra solidi volatili e solidi totali (SV/ST) dei digestati

	N %	C %	H %	S %	O %	C/N
USE AP 1-250	2.71 ± 0.59	41.52 ± 3.83	4.99 ± 0.7	0.44 ± 0.05	50.34 ± 3.89	16.17 ± 5.66
USE AP 1-500	2.81 ± 0.25	38.48 ± 0.84	4.9 ± 0.13	0.45 ± 0.03	53.36 ± 1.09	13.77 ± 1.23

Tabella 23: composizione elementare dei digestati

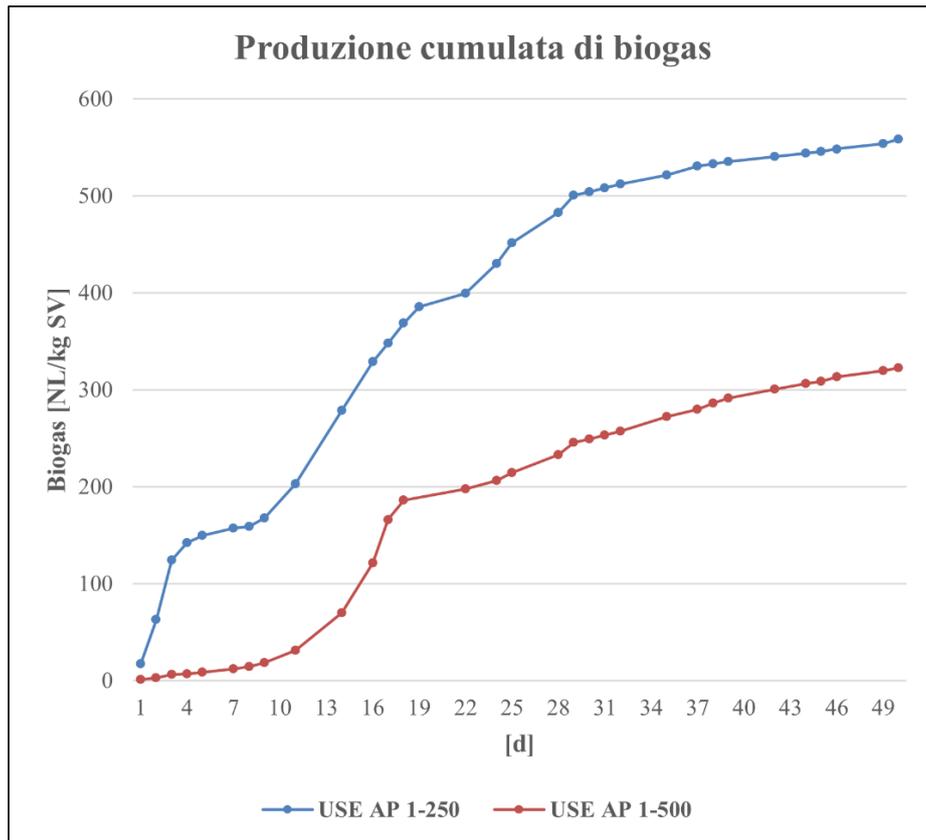


Figura 28: confronto produzione cumulata di biogas tra USE AP 1-250 e USE AP 1-500

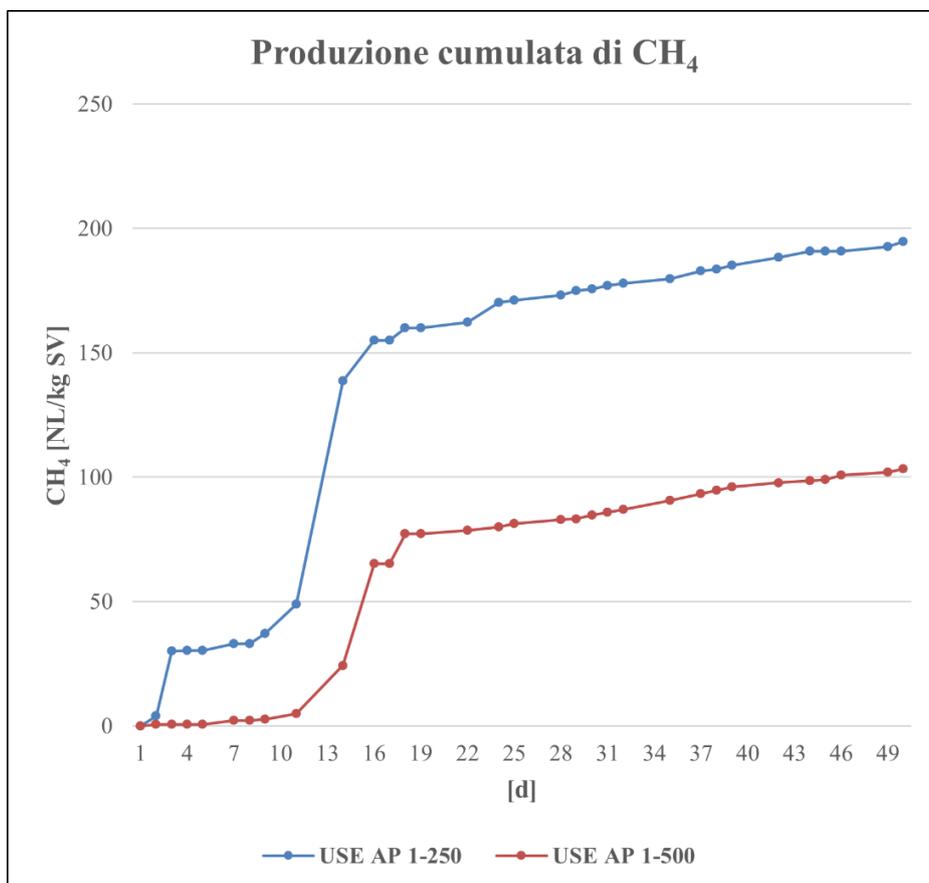


Figura 29: confronto cumulata di CH₄ tra USE AP 1-250 e USE AP 1-500

Entrambi i grafici mostrati in Figura 28 e Figura 29 evidenziano che la configurazione col reattore di 250 mL ha prodotto più biogas e di conseguenza più CH₄ rispetto alla configurazione col reattore di 500 mL. La superiorità in termini di produzione di biogas potrebbe essere attribuita a un volume del reattore inferiore che potrebbe favorire una maggiore efficienza di miscelazione, garantendo un *mass-transfer* ottimale dei nutrienti, influenzando positivamente la cinetica del processo di digestione.

La configurazione USE AP 1-250 ha prodotto 558.49 NL/kg sv di biogas e 194.59 NL/kg sv di CH₄; la USE AP 1-500 ha prodotto 322.18 NL/kg sv di biogas e 103.35 NL/kg sv di CH₄.

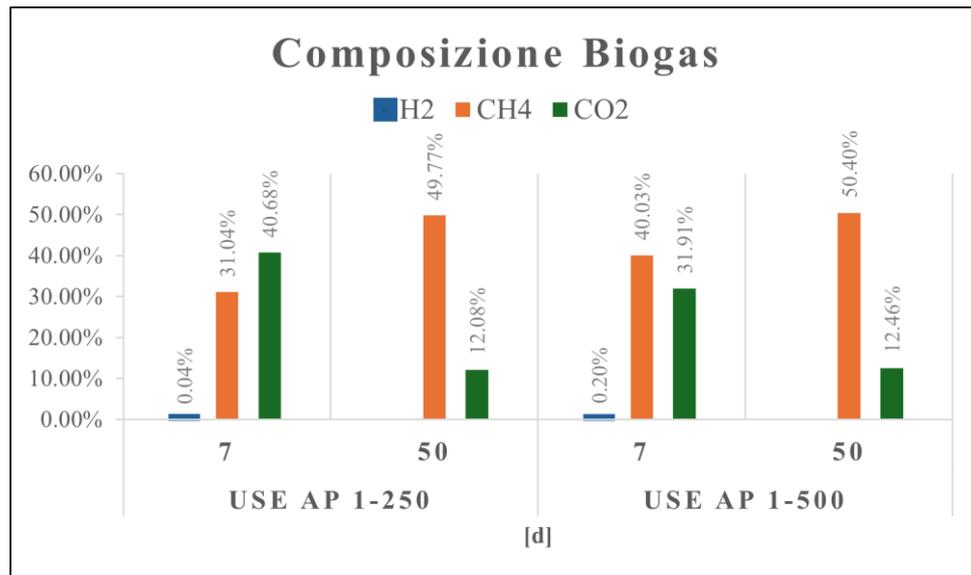


Figura 30: analisi comparativa della composizione del biogas tra USE AP 1-250, USE AP 1-500 e USE AP 1-2000

Il grafico riporta l'analisi comparativa del biogas tra le configurazioni USE AP 1-250 e USE AP 1-500. Sia nel giorno 7 della digestione (giorno di ultimo rilevamento di H₂) sia nell'ultimo giorno di digestione (50) non si notano nette differenze tra le due configurazioni. Infatti, la USE AP 1-250 ha il biogas costituito dal 40.68% di CH₄, la USE AP 1-500 è costituita dal 50.40% di CH₄. Anche le percentuali di CO₂ sono molto simili tra loro: 12.08% (50, USE AP 1-250) e 12.46% (50, USE AP 1-500).

In conclusione, nella configurazione con la sansa di mela non pretrattata, la RAW AP 1-250 è risultata essere la configurazione migliore in termini di produzione cumulata di CH₄: 174.88 NL/kg sv vs 105.42 NL/kg sv della RAW AP 1-500 e 64.24 NL/kg sv della RAW AP 1-2000; la RAW AP 1-500 ha mostrato una produzione cumulata di biogas leggermente superiore rispetto alla RAW AP 1-500 (424.33 vs 424.1 NL/kg sv).

Nella configurazione MWE, la MWE AP 1-500 ha prodotto più biogas, ma la configurazione USE AP 1-2000 ha prodotto più CH₄, discostandosi però di poco dalla produzione di CH₄ della MWE AP 1-500 (171.26 vs 169.13 NL/kg sv). Dunque, considerando la produzione cumulata di biogas, di CH₄ nella composizione del biogas, con il 53.38% di CH₄, si può concludere che la MWE AP 1-500 sia stata la più performante.

Nella configurazione USE, con la sansa di mela pretrattata mediante gli ultrasuoni, la USE AP 1-250 si distacca di molto dalla USE AP 1-500, sia in termini di produzione cumulata di biogas

sia in termini di produzione cumulata di CH₄. Tuttavia, le composizioni di biogas sono abbastanza equivalenti tra le due configurazioni, sia dopo 7 giorni sia al termine della prova.

Quindi le configurazioni migliori, basandosi sul confronto dello stesso substrato e dello stesso S:I, sono: la RAW AP 1-250 per le configurazioni con AP-RAW e S:I 1:1, MWE AP 1-500 per le configurazioni con AP-MWE e S:I 1:1 e USE AP 1-250 per le configurazioni con AP-USE e S:I 1:1.

Se si confrontano le produzioni della MWE AP 1-2000 con i dati raccolti da uno studio condotto sulla co-digestione con scarti alimentari e letame [41], si nota che i dati di questa tesi sono molto soddisfacenti. La configurazione dello studio citato, caratterizzata da volume 2000 mL e substrato pretrattato mediante le microonde, ha prodotto dopo 30 giorni di digestione 9426 mL di biogas, approssimativamente pari a 82.58 L/Kg_{sv} di biogas (cumulata), contro i 280.91 NL/kg_{sv} di biogas prodotti dalla MWE AP 1-2000 dopo 30 giorni di digestione.

La RAW AP 1-2000, pur avendo il substrato non pretrattato, ha comunque superato le produzioni delle configurazioni dello studio citato in cui sono stati previsti i pretrattamenti del substrato, infatti ha prodotto 228.33 NL/kg_{sv} di biogas dopo 30 giorni di digestione.

Quindi, le produzioni raccolte dai reattori di 2000 mL di questo lavoro sono state molto soddisfacenti.

3.4 Effetti del rapporto S:I sulla digestione anaerobica: confronto tra configurazioni

L'obiettivo di questo studio è valutare l'impatto del parametro substrato:inoculo (S:I) sulla produzione di biogas e sulle caratteristiche elementari dei digestati, confrontando le configurazioni caratterizzate dallo stesso substrato, stesso volume e rapporto S:I diverso.

L'effetto del S:I è stato valutato in tre diversi casi: nel primo caso con la sansa di mela non pretrattata, nel secondo caso con la sansa di mela pretrattata mediante estrazione assistita da microonde e nel terzo caso con la sansa di mela pretrattata mediante estrazione assistita da ultrasuoni. Dunque, si mettono a confronto le configurazioni RAW AP 1-250 con RAW AP 2-250, MWE AP 1-250 con MWE AP 2-250 e USE AP 1-250 con USE AP 2-250.

3.4.1 Configurazioni RAW, S:I 1:1 e 2:1

In questo paragrafo vengono confrontate le configurazioni RAW AP 1-250 e RAW AP 2-250, la cui unica differenza è il rapporto S:I, nel primo caso 1:1, nel secondo 2:1.

Di seguito nella Tabella 24 sono riportati i valori dei solidi totali (ST), del rapporto solidi volatili su solidi totali (SV/ST) e del pH finale dei digestati.

	RAW AP 1-250	RAW AP 2-250
ST %	4.39 ± 1.44	4.06 ± 0.93
SV/ST %	79.48 ± 1.53	61.07 ± 8.64
pH finale	n.d.	7.99 ± 0.04

Tabella 24: solidi totali (ST) e rapporto tra solidi volatili e solidi totali (SV/ST) dei digestati

	N %	C %	H %	S %	O %	C/N
RAW AP 1-250	2.45 ± 0.05	35.82 ± 4.28	4.38 ± 0.67	0.42 ± 0.01	56.94 ± 4.92	14.84 ± 2.10
RAWAP 2-250	2.90 ± 0.38	32.69 ± 5.78	3.67 ± 0.43	0.37 ± 0.02	60.36 ± 6.61	11.21 ± 0.55

Tabella 25: composizione elementare dei digestati

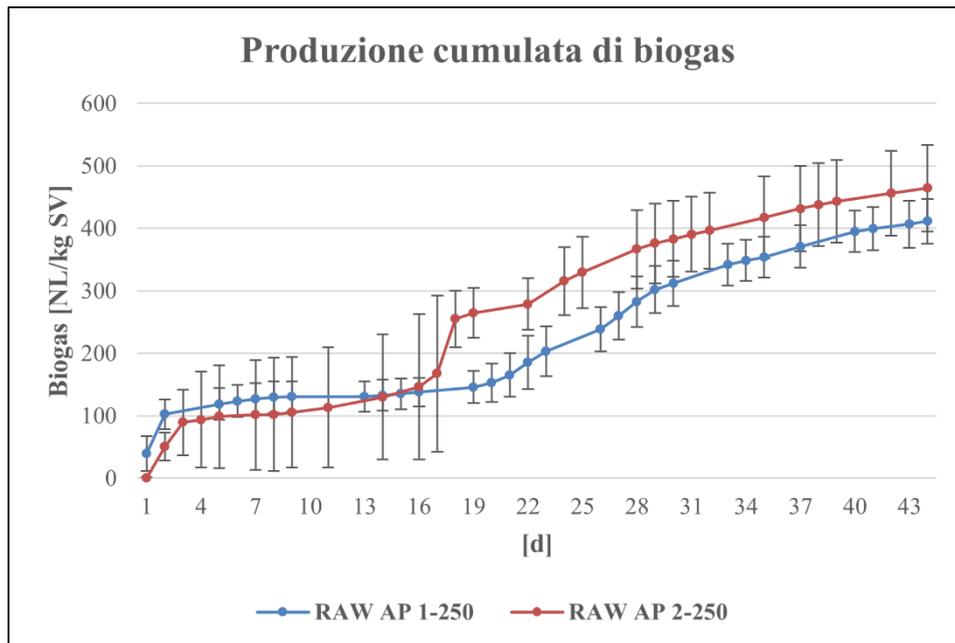


Figura 31: confronto produzione cumulata di biogas tra RAW AP 1-250 e RAW AP 2-250

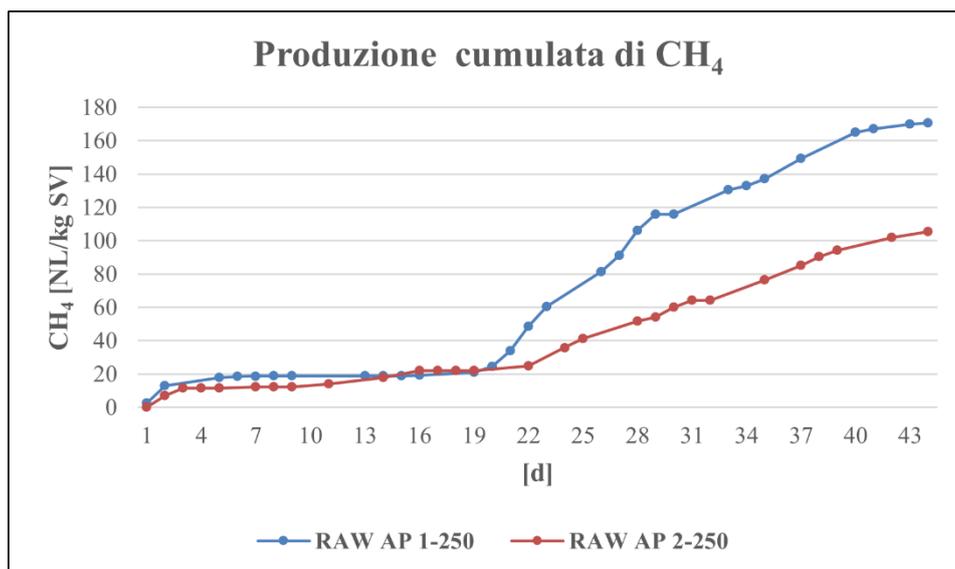


Figura 32: confronto produzione cumulata di CH4 tra RAW AP 1-250 e RAW AP 2-250

I grafici presentati in Figura 31 e Figura 32 mostrano un confronto tra le configurazioni sperimentali RAW AP 1-250 e RAW AP 2-250 basato sulla differenza del S:I, rispettivamente

di 1:1 e 2:1. La RAW AP 2-250 ha prodotto più biogas, specificatamente 464.18 NL/kg sv, rispetto alla RAW AP 1-250 con 411.09 NL/kg sv.

Per quanto riguarda la produzione di CH₄, la configurazione con S:I 1:1 (RAW AP 1-250) ha prodotto 170.70 NL/kg sv di CH₄ contro i 105.43 NL/kg sv di CH₄.

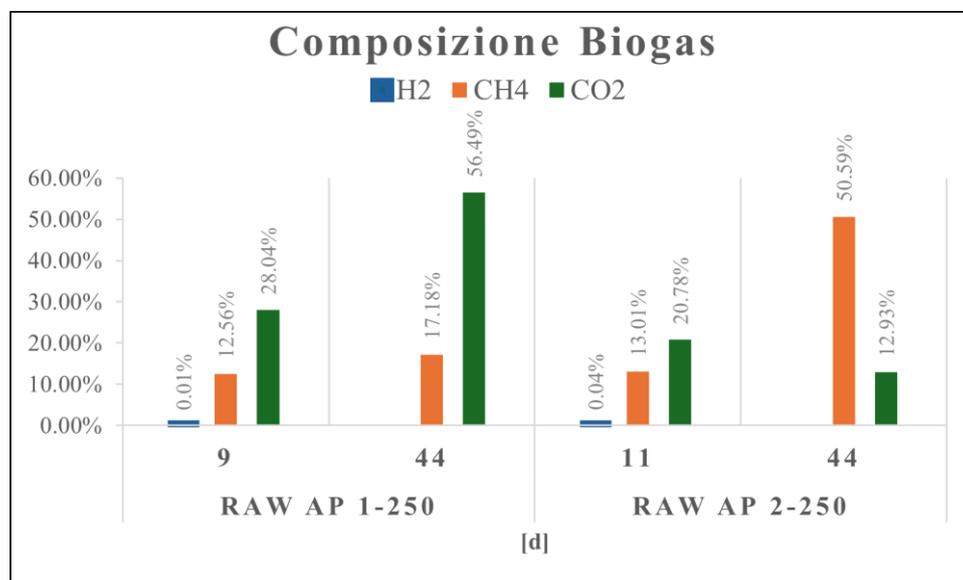


Figura 33: analisi comparativa della composizione del biogas tra RAW AP 1-250 e RAW AP 2-250

I dati presentati nel grafico (Figura 33) evidenziano una significativa differenza nella composizione del biogas prodotto dalle configurazioni RAW AP 1-250 e RAW AP 2-250 al termine dei 44 giorni di digestione. La configurazione RAW AP 2-250 ha mostrato una percentuale di CH₄ significativamente superiore (50.59%) rispetto alla configurazione RAW AP 1-250 (17.18%). Al contrario, la configurazione RAW AP 1-250 è risultata caratterizzata da una prevalenza di CO₂, a differenza della configurazione RAW AP 2-250.

La RAW AP 1-250 durante la digestione ha prodotto molto CH₄: al giorno 26 della digestione ha raggiunto il 69.62% v/v di CH₄. Questo spiega perché, nonostante abbia una produzione cumulata di biogas minore rispetto alla RAW AP 2-250 ed anche una percentuale minore di CH₄ l'ultimo giorno di digestione, ha una produzione cumulata di CH₄ maggiore.

3.4.2 Configurazioni MWE, S:I 1:1 e 2:1

Il presente paragrafo è dedicato al confronto tra le configurazioni sperimentali caratterizzate da differenti rapporti S:I: MWE AP 1-250 (S:I 1:1) e MWE AP 2-250 (S:I 2:1).

Di seguito nella Tabella 26 sono riportati i valori dei solidi totali (ST), del rapporto solidi volatili su solidi totali (SV/ST) e del pH finale dei digestati.

	MWE AP1-250	MWE AP 2-250
ST %	6.32 ± 0.32	4.52 ± 0.52
SV/ST %	80.59 ± 1.7	78.26 ± 2.76
pH finale	ND	5.39 ± 0.08

Tabella 26: solidi totali (ST) e rapporto tra solidi volatili e solidi totali (SV/ST) dei digestati

	N %	C %	H %	S %	O %	C/N
MWE AP 1-250	2.55 ± 0.1	39.56 ± 3.08	4.35 ± 0.42	0.42 ± 0.02	52.65 ± 3.59	15.51 ± 0.79
MWE AP 2-250	2.28 ± 0.05	40.29 ± 1.64	5.26 ± 0.26	0.27 ± 0.01	51.9 ± 1.88	17.7 ± 1

Tabella 27: composizione elementare dei digestati

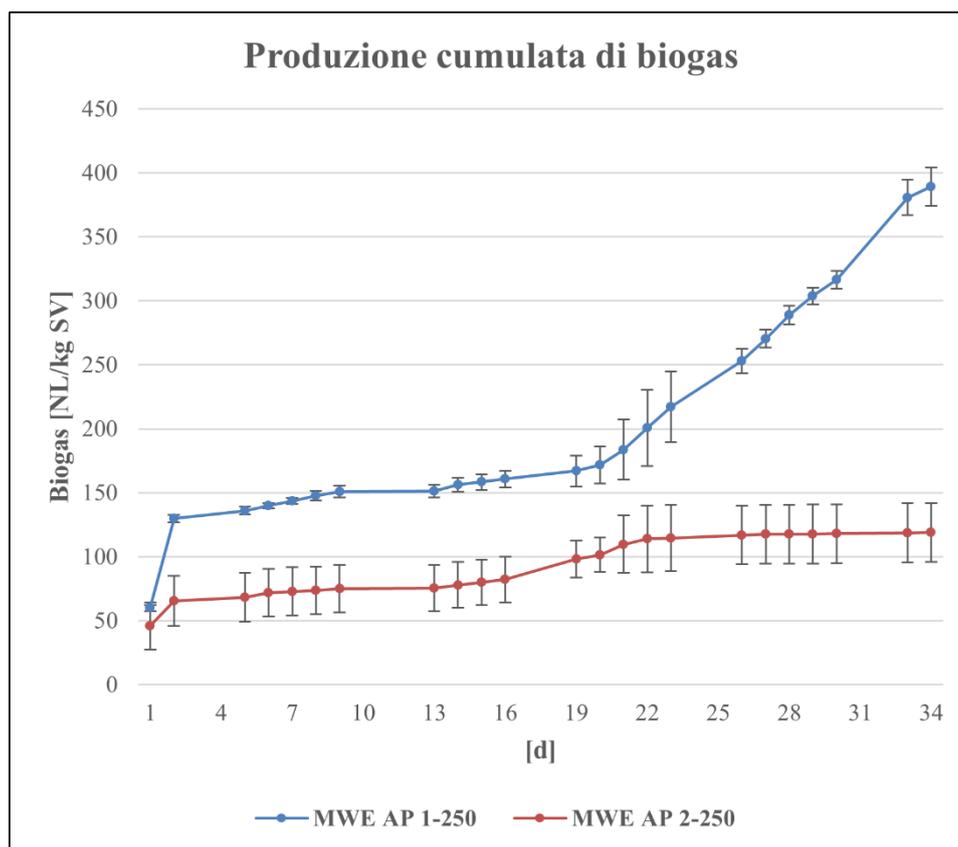


Figura 34: confronto produzione cumulata di biogas tra MWE AP 1-250 e MWE AP 2-250

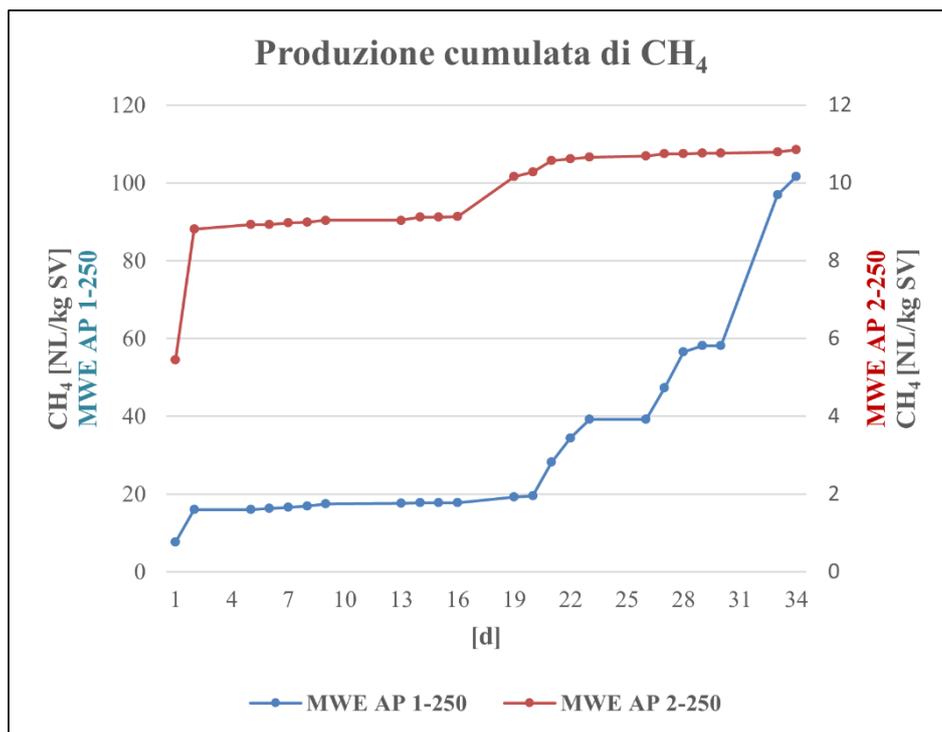


Figura 35: confronto produzione cumulata di CH₄ tra MWE AP 1-250 e MWE AP 2-250

L'analisi comparativa delle configurazioni MWE AP 1-250 e MWE AP 2-250, presentata nelle Figura 34 e Figura 35, indica una significativa differenza nella produzione di biogas (389.26 vs 118.83 NL/kg sv) e CH₄ (101.63 vs 10.84 NL/kg sv). I risultati ottenuti suggeriscono che il rapporto S:I 1:1 ha favorito una maggiore efficienza di conversione della sostanza organica in biogas. Tale fenomeno potrebbe essere attribuito a una minore probabilità di inibizione da parte di prodotti intermedi della digestione, come gli acidi grassi volatili.

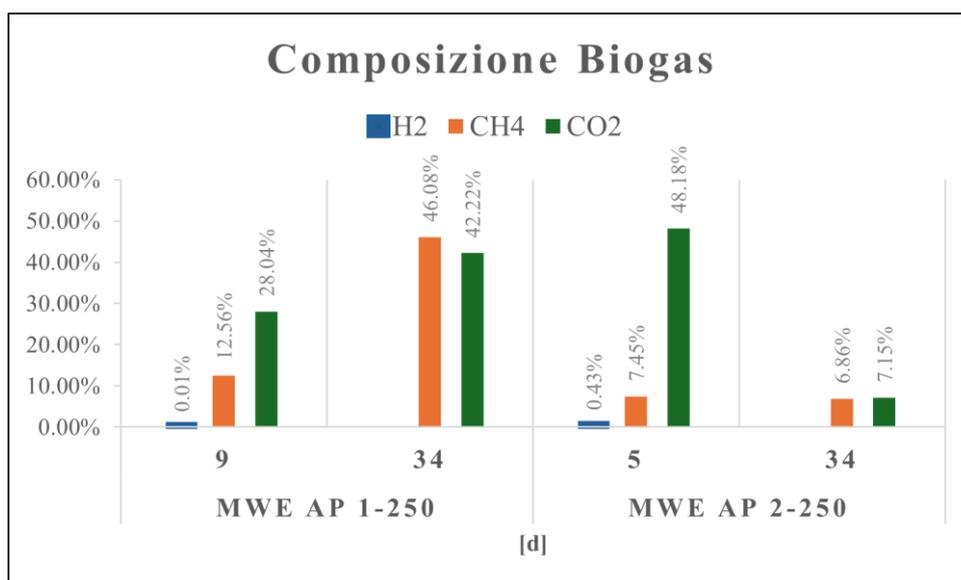


Figura 36: analisi comparativa della composizione del biogas tra MWE AP 1-250 e MWE AP 2-250

A differenza di quanto osservato per le configurazioni RAW AP 1-250 e RAW AP 2-250 (Figura 33), l'analisi comparativa delle configurazioni MWE AP 1-250 e MWE AP 2-250 (Figura 36) rivela un andamento inverso nella produzione di biogas.

Specificatamente, la configurazione con S:I 2:1 mostra una percentuale di CH₄ nettamente inferiore rispetto alla configurazione con S:I 1:1.

Inoltre, la MWE AP 2-250 ha evidenziato una concentrazione di H₂ più elevata (0.43%) rispetto alla MWE AP 1-250 (0.01%). Tuttavia, la presenza di una percentuale di CH₄ del 12.56% al giorno 9 di digestione nella MWE AP 1-250 suggerisce l'avvio della fase metanogenica, compensando parzialmente la minore produzione di H₂.

3.4.3 Configurazioni USE, S:I 1:1 e 2:1

Così come per le configurazioni con sansa di mela non pretrattata e sansa di mela pretrattata mediante estrazione assistita da microonde, anche per le configurazioni con sansa di mela pretrattata mediante estrazione assistita da ultrasuoni si possono confrontare le configurazioni con S:I 1:1 e 2:1: USE AP 1-250 (S:I 1:1) e USE AP 2-250 (S:I 2:1).

Di seguito nella Tabella 28 sono riportati i valori dei solidi totali (ST), del rapporto solidi volatili su solidi totali (SV/ST) e del pH finale dei digestati.

	USE AP 1-250	USE AP 2-250
ST %	5.91 ± 0.2	3.99 ± 0.17
SV/ST %	72.11 ± 0.66	62.79 ± 3.96
pH finale	8.04 ± 0.1	7.65 ± 0.32

Tabella 28: solidi totali (ST) e rapporto tra solidi volatili e solidi totali (SV/ST) dei digestati

	N %	C %	H %	S %	O %	C/N
USE AP 1-250	2.71 ± 0.59	41.52 ± 3.83	4.99 ± 0.7	0.44 ± 0.05	50.34 ± 3.89	16.17 ± 5.66
USE AP 2-250	2.19 ± 0.59	39.17 ± 0.94	5.03 ± 0.3	0.33 ± 0.06	53.27 ± 0.59	18.59 ± 5.40

Tabella 29: composizione elementare dei digestati

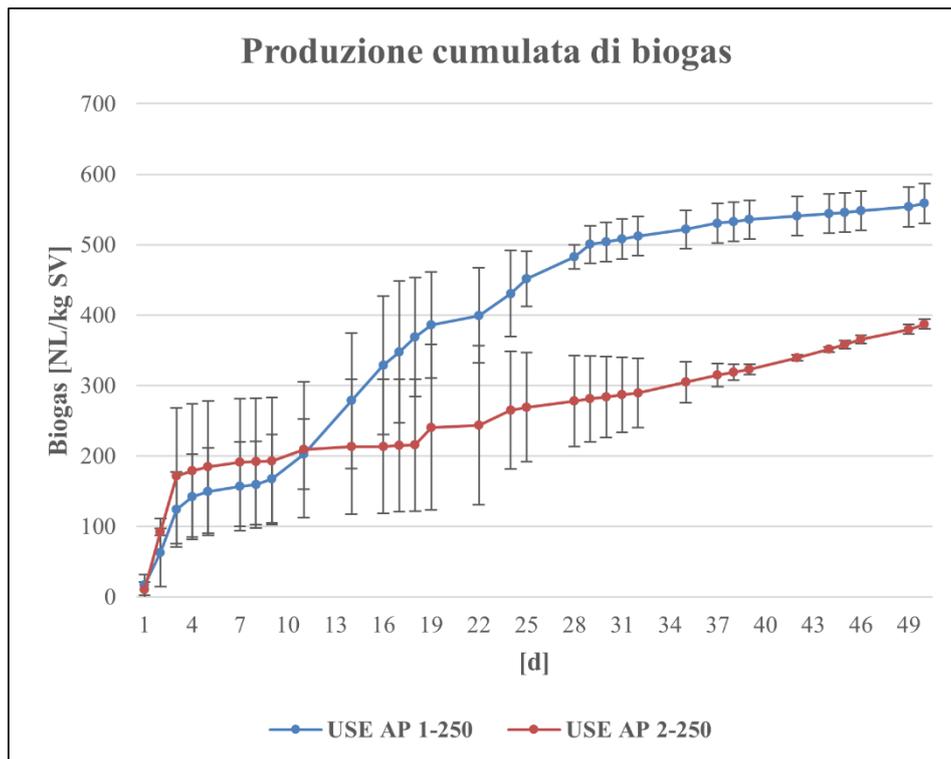


Figura 37: confronto produzione cumulata di biogas tra USE AP 1-250 e USE AP 2-250

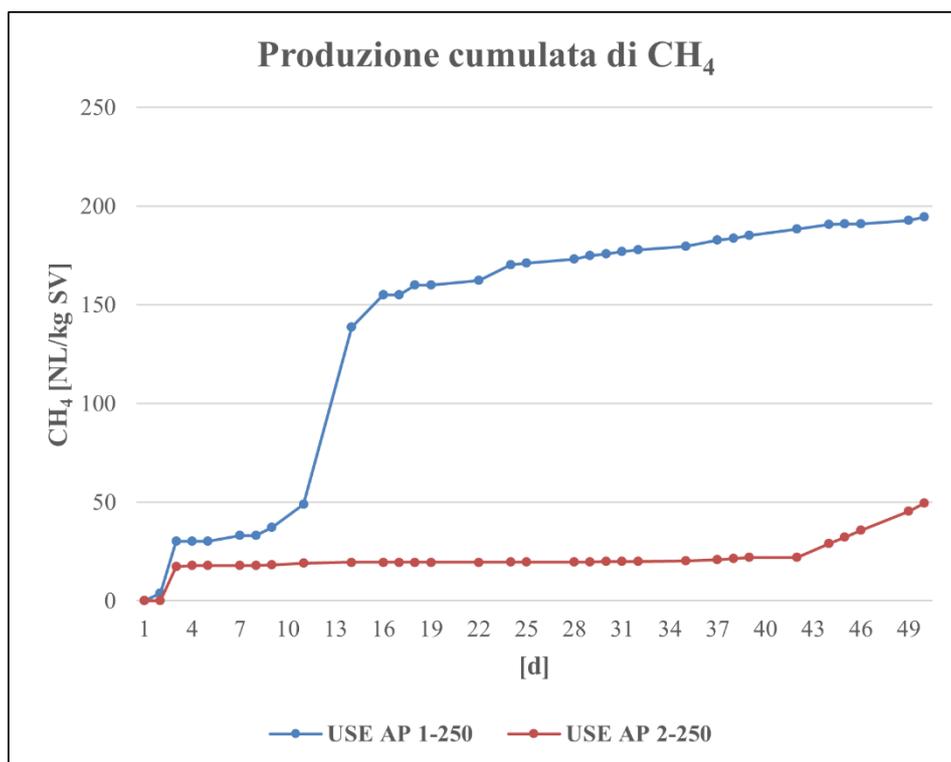


Figura 38: confronto produzione cumulata di CH₄ tra USE AP 1-250 e USE AP 2-250

Come è possibile vedere nei grafici (Figura 37 e Figura 38), la configurazione USE AP 1-250 risulta aver prodotto più biogas (558.49 NL/kg sv) e anche più CH₄ (194.59 NL/kg sv), contro i 387.10 NL/kg sv di biogas e 49.53 NL/kg sv di CH₄ della UAE AP 2-250.

Dunque, la configurazione con S:I 1:1 è risultata nettamente migliore. Si può ipotizzare, così come per il confronto tra MWE AP 1-250 e MWE AP 2-250, che il maggior contenuto di substrato abbia potuto inibire la cinetica della digestione.

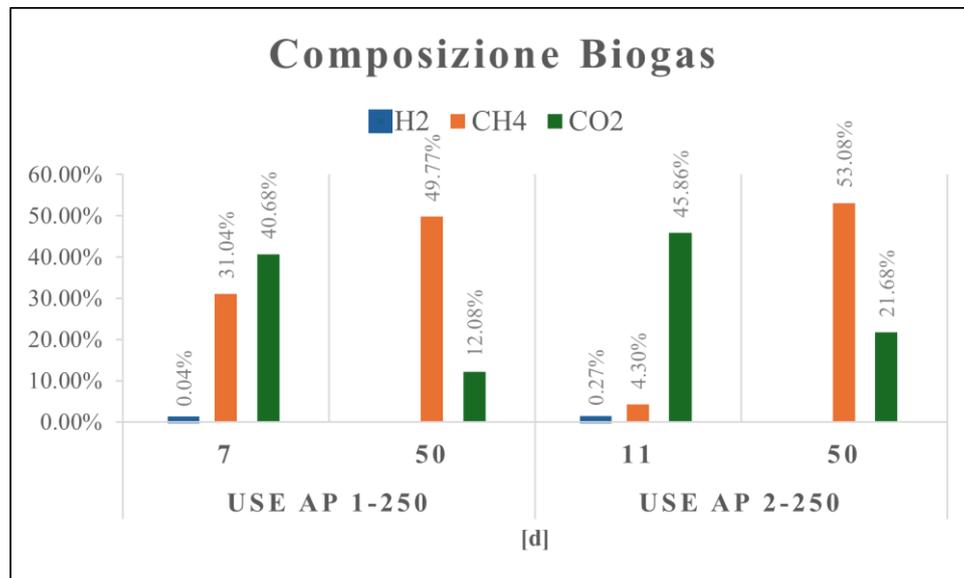


Figura 39: analisi comparativa della composizione del biogas tra USE AP 1-250 e USE AP 2-250

Il grafico in Figura 39 mostra una comparazione della composizione del biogas nelle configurazioni USE AP 1-250 e USE AP 2-250, sia al giorno 7 (ultimo rilevamento di H₂) che al giorno 50 (fine della digestione). Entrambe le configurazioni presentano una composizione simile, caratterizzata da un'elevata percentuale di CH₄: (il 49.77% per la USE AP 1-250 e il 53.08% per la USE AP 2-250). Sebbene si osservi una differenza nella produzione di H₂, con la USE AP 2-250 che presenta uno 0.27% contro lo 0.04% della USE AP 1-250, i risultati indicano che il diverso rapporto S:I non ha influenzato in modo significativo la produzione di CH₄.

In conclusione, il rapporto S:I 1:1 è risultato ottimale per le produzioni cumulate di biogas per le tutte le configurazioni, sia in quelle in cui è stato previsto il pretrattamento del substrato, sia in quelle in cui non è stato previsto.

Nel dettaglio, la RAW AP 1-250 si è rivelata migliore rispetto alla RAW AP 2-250 in termini di produzione cumulata di CH₄ (170.7 vs 105.43 NL/kg sv), mentre la RAW AP 2-250 ha prodotto più biogas (464.12 ± 69.13 vs 411.09 ± 35.86 NL/kg sv).

In uno studio condotto sull'effetto del rapporto S:I (0.5, 1, 2) in una prova di digestione anaerobica, è risultato che la produzione cumulata di biogas dopo 30 giorni di digestione è stata di 70.38 mL (S:I 2:1), 126.57 mL (S:I 1:1) e 153.51 mL (S:I 0.5:1), risultando come ottimale il rapporto S:I 0.5:1, a seguire 1:1 e 2:1 [42].

Dunque, in accordo con lo studio citato, il rapporto ottimale per questo lavoro di tesi risulta essere S:I 1:1 (confrontando 2:1 e 1:1).

3.5 Analisi FOS/TAC

In questo studio il parametro FOS/TAC è stato valutato al termine del processo di digestione anaerobica su alcuni campioni di digestato.

In particolare, l'analisi è stata condotta sui campioni di digestato dei reattori 6 (UAE AP 2-250), 7 e 8 (MWE AP 2-250).

In considerazione dei risultati non del tutto soddisfacenti, si è ritenuto opportuno approfondire lo studio della digestione anaerobica della configurazione MWE AP 2-250, ripetendo la prova sperimentale.

I digestati dei reattori 7 e 8 analizzati, appartengono alla configurazione MWE AP 2-250 che ha avuto prestazioni inferiori in termini di produzione di biogas, e che, per tale motivo, è stata esclusa dalla analisi dei risultati riguardanti le performance della digestione anaerobica discussi nei paragrafi 3.1-3.4 di questo capitolo.

Per cui, il parametro FOS/TAC ha consentito di indagare sulla causa dell'improduttività della prima prova di digestione della configurazione MWE AP 2-250.

È stato effettuato un confronto del valore FOS/TAC sui campioni di digestato prelevati al giorno 28 della digestione anaerobica con i campioni prelevati al termine della prova.

Di seguito sono riportati i grafici di titolazione dei reattori e i valori FOS/TAC.

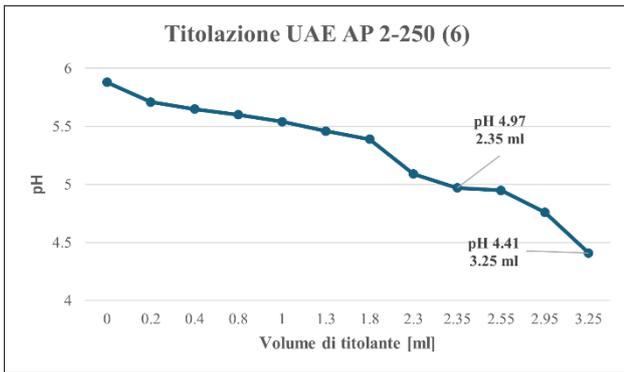


Figura 40: titolazione campione di digestato prelevato al giorno 28 della digestione

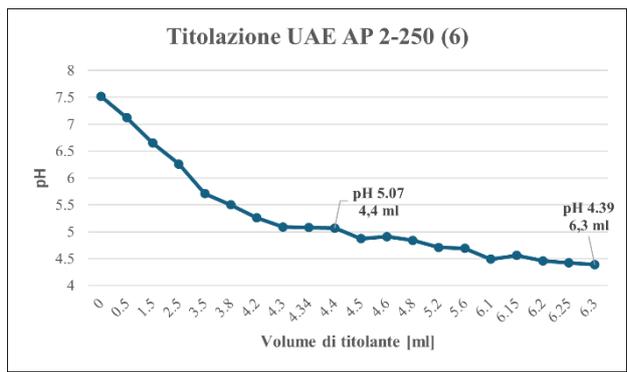


Figura 41: titolazione campione di digestato prelevato al termine della digestione

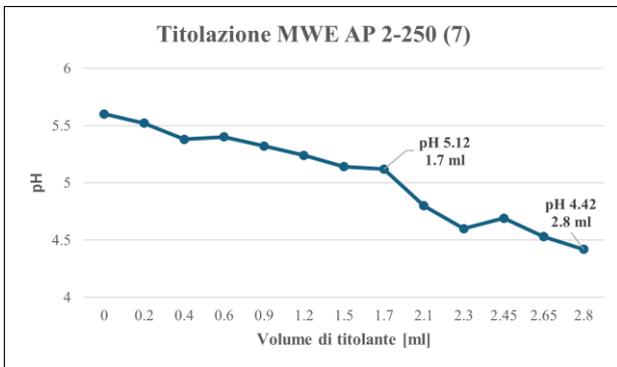


Figura 42: titolazione campione di digestato prelevato al giorno 28 della digestione

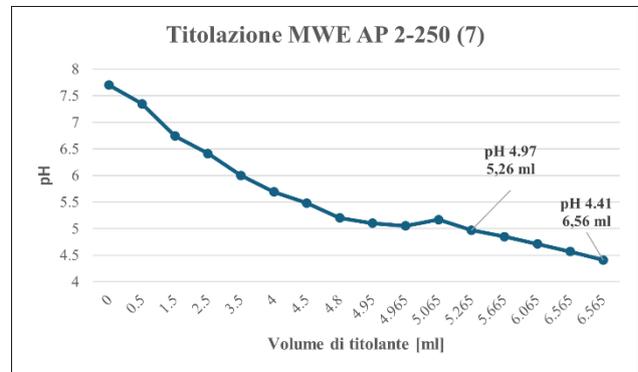


Figura 43: titolazione campione di digestato prelevato al termine della digestione

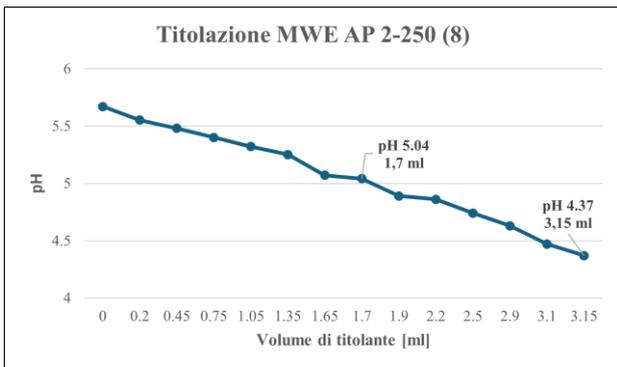


Figura 44: titolazione campione di digestato prelevato al giorno 28 della digestione

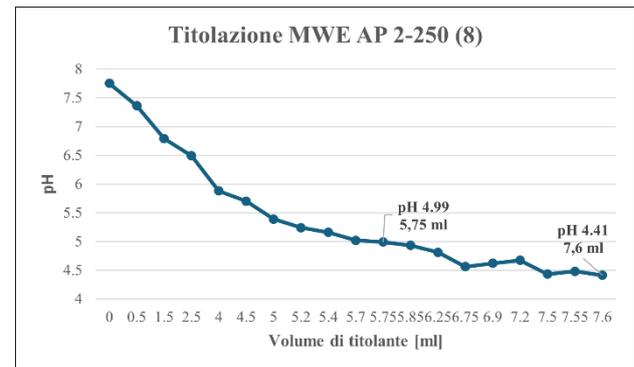


Figura 45: titolazione campione di digestato prelevato al termine della digestione

	Giorno 28 della digestione		Ultimo giorno della digestione	
	pH	FOS/TAC	pH	FOS/TAC
Digestato UAE AP 2-250 (6)	5.88	1.24	7.52	1.45
Digestato MWE AP 2-250 (7)	5.60	2.1	7.70	0.8
Digestato MWE AP 2-250 (8)	4.8	2.79	7.75	1.05

Tabella 30: valori di pH e del rapporto FOS/TAC dei campioni dei digestati

Nella Tabella 30 sono riportati i valori di pH dei campioni dei digestati e dei rapporti FOS/TAC corrispondenti.

Il parametro FOS/TAC rappresenta l'equilibrio biochimico tra la concentrazione di acidi grassi volatili (AGV) e la capacità tampone del sistema (mantenere il pH stabile in presenza di batteri produttori di acidi). Gli AGV, costituiti prevalentemente da acido acetico, butirrico e propionico, sono degli intermedi metabolici prodotti durante la digestione anaerobica.

Secondo i dati riportati in letteratura [43], i valori di FOS/TAC molto alti (>0.6) indicano un accumulo di AGV che porta ad acidificazione e inibizione del processo, diminuendo la resa di produzione del biogas.

La Tabella 31 riassume i valori del rapporto FOS/TAC e il significato di ogni valore.

Rapporto FOS/TAC	Indicazione
>0.6	Apporto di biomassa eccessivamente elevato
0.5 – 0.6	Apporto di biomassa eccessivo
0.4 – 0.5	Impianto sovraccarico
0.3 – 0.4	Massima produzione di biogas
0.2 – 0.3	Apporto di biomassa troppo basso
<0.2	Apporto di biomassa decisamente troppo basso

Tabella 31: valori del rapporto FOS/TAC, tratta da [44]

I valori di FOS/TAC corrispondenti ad una produzione ottimale di biogas si collocano nell'intervallo 0.3-0.4 e corrispondono a valori di pH compresi tra 6.5 e 7.5.

I dati sperimentali relativi al giorno 28 della digestione indicano che a valori di pH acidi corrispondono valori di FOS/TAC molto alti. Per cui, sono in linea con le considerazioni fatte, in quanto valori di FOS/TAC alti sono indice di acidità poiché sottintendono un accumulo di AGV.

I dati dell'ultimo giorno di digestione presentano una discrepanza rispetto alle aspettative teoriche, in quanto i valori di FOS/TAC non corrispondono a valori di pH acidi.

Confrontando i valori di FOS/TAC ottenuti coi valori calcolati per un impianto di produzione di biogas [43] si notano delle discrepanze. Il valore di FOS/TAC misurato per l'impianto è 0.2 ± 0.05 e il pH misurato è 7.9 ± 0.22 , invece, al valore di pH 7.66 ± 0.12 dei digestati dell'ultimo giorno di digestione corrisponde il valore di FOS/TAC 1.1 ± 0.33 . Tuttavia, si deve considerare che tutti e tre i reattori appartengono a configurazioni con S:I 2:1, per cui è plausibile che i valori di FOS/TAC siano elevati a causa del possibile carico organico eccessivo.

Le discrepanze osservate tra i risultati sperimentali e i dati riportati in letteratura potrebbero essere attribuite agli errori sistematici e casuali associati al metodo di titolazione manuale, come incertezze nella preparazione della soluzione titolante e difficoltà nel raggiungere con precisione il valore di pH desiderato.

3.6 Caratterizzazione dei digestati per prove in serra

I digestati testati per le prove in serra sono quelli prodotti dalla configurazione con la sansa di mela non pretrattata (Digestato RAW, D-RAW) e quelli prodotti dalla configurazione con la sansa di mela pretrattata mediante estrazione assistita da microonde (Digestato MWE, D-MWE) con rapporto S:I 1:1.

I digestati sono stati analizzati per valutarne la composizione elementare e la quantità di ortofosfati (Orto-P), potassio (K), nitrati (NO_3^-) e azoto ammoniacale (NH_4^+).

Di seguito sono riportate le tabelle con i valori dell'analisi elementare CHNS(O) e i valori ottenuti mediante i kit.

	N %	C %	H %	S %	C/N
D-RAW	0.36 ± 0.04	0.93 ± 0.5	2.53 ± 0.72	0.03	2.54 ± 1.26
D-MWE	0.37 ± 0.03	1.16 ± 0.15	2.52 ± 2.01	0.05 ± 0.02	3.15 ± 0.17

Tabella 32: composizione elementare dei digestati

	pH	TS %	C.E. [ms/cm]	Orto-P [mg/L]	K [mg/L]	NO₃⁻ [mg/L]	NH₄⁺ [mg/L]
D-RAW	7.9	7.68	13	7.03	2260	24.8	n.d.
D-MWE	8.01	7.05	18.01	16.62	2620	38.4	1220

Tabella 33: valori kit Hatch Lange e caratterizzazione

Durante il processo di digestione anaerobica si generano macro e micronutrienti che restano in toto nel digestato.

L'azoto, componente chiave dei fertilizzanti, subisce processi di assorbimento: una parte viene assorbita dalle piante, una parte viene fissata nel suolo e una parte viene rilasciata in aria per volatilizzazione e in acqua per percolazione.

A differenza dell'utilizzo del fertilizzante minerale, di cui è possibile prevedere il comportamento dell'effetto dell'azoto, i digestati hanno una variabilità intrinseca che riduce la prevedibilità degli effetti, poiché la loro composizione è variabile [45].

Il D-MWE, rispetto al D-RAW, mostra una percentuale leggermente inferiore di sostanza secca, dovuta ad una perdita maggiore di sostanza organica nel processo di digestione anaerobica, poiché la sansa di mela pretrattata mediante le microonde è più digeribile rispetto alla sansa di mela non pretrattata.

Inoltre, il D-MWE ha un valore di conducibilità elettrica (C.E.) maggiore, che indica una maggiore concentrazione di sali nel digestato, causata dalla solubilizzazione di alcuni componenti della sansa di mela a seguito del pretrattamento.

Il potassio è un macroelemento essenziale per la nutrizione delle piante. Esso interviene in molteplici processi metabolici, tra cui l'attivazione enzimatica e la fotosintesi. Inoltre, accresce la tolleranza delle piante allo stress idrico, mitigando gli effetti negativi della siccità.

Il fosforo è un altro macroelemento fondamentale per la crescita e lo sviluppo delle piante. La sua carenza limita la divisione cellulare, riduce la sintesi di acidi nucleici e fosfolipidi e compromette l'assorbimento di altri nutrienti.

In uno studio condotto sull'utilizzo del digestato come fertilizzante, sono state determinate le concentrazioni dei macroelementi di cui era costituito il digestato, che proveniva da un impianto di biogas. Nello specifico, sono stati rilevati 0.09 g/L di P, 5.25 g/L di K [46].

I digestati prodotti nel presente lavoro contengono le seguenti quantità di K: 2.26 g/L (D-RAW) e 2.62 g/L (D-MWE). Sono valori di concentrazione simili a quelli riportati nello studio di riferimento, a conferma della validità dei risultati ottenuti.

I digestati del presente studio contengono 7.03 mg/L di orto-P (D-RAW) e 16.62 mg/L di orto-P (D-MWE). Dato che questi valori rappresentano la frazione di fosforo presente sotto forma di ortofosfati, si presuppone che i valori di fosfato totale siano più elevati.

I digestati sono caratterizzati da valori molto simili in termini di composizione elementare.

Dal 16 luglio 2022 è in vigore il Regolamento (UE) 2019/1009 del Parlamento Europeo e del Consiglio, che stabilisce le norme relative alla messa a disposizione sul mercato di prodotti

fertilizzanti dell'UE. Il regolamento prevede quindici categorie di materiali costituenti (CMC): un fertilizzante deve essere composto esclusivamente di materiali che rispettino le prescrizioni di una o più CMC.

Il digestato, per essere utilizzato come fertilizzante, deve rispettare dei limiti qualitativi di: sostanza organica, salmonella, piombo totale, cadmio totale, nichel totale, zinco totale, rame totale, mercurio totale e cromo VI totale [47].

In questo studio non sono stati valutati i limiti qualitativi, per cui non è possibile verificare se il digestato rientri nei valori limite del quadro normativo. Si può ipotizzare che, essendo il substrato di partenza uno scarto di mela, i livelli di metalli pesanti nel digestato siano contenuti; dunque, si presuppone che il digestato prodotto rispetti i limiti previsti.

3.7 Prove in serra

I digestati prodotti sono stati testati per valutarne gli effetti agronomici.

Il confronto dei trattamenti (digestato D-RAW, digestato D-MWE, compost commerciale, fertilizzante minerale e testimone non trattato) si basa sulla crescita delle piante, monitorata settimanalmente, sull'indice di clorofilla e sui rilievi raccolti alla fine della prova, ossia biomassa fresca, biomassa secca, sviluppo radicale e il numero delle foglie.

Di seguito sono riportati i grafici che mostrano la crescita settimanale delle piante in due momenti maggiormente significativi, ossia dopo quattro settimane dal trapianto e al termine della prova (nona settimana). Questi due punti temporali permettono di valutare sia l'impatto iniziale dei trattamenti sia l'effetto complessivo alla fine del periodo sperimentale.

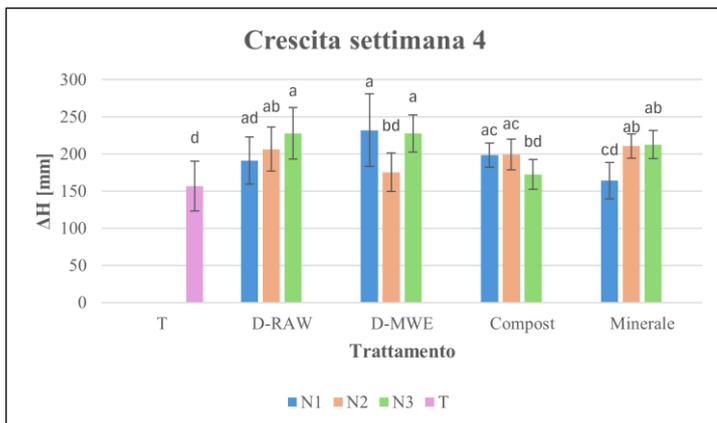


Figura 46: crescita settimana 4, prova 1, post-hoc Duncan

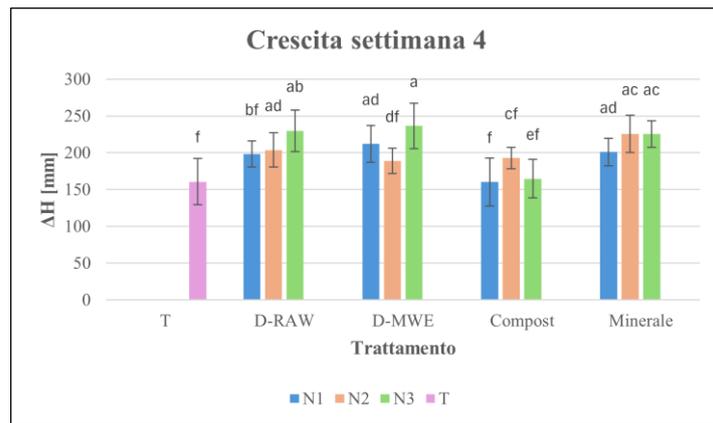


Figura 47: crescita settimana 4, prova 2, post-hoc Duncan

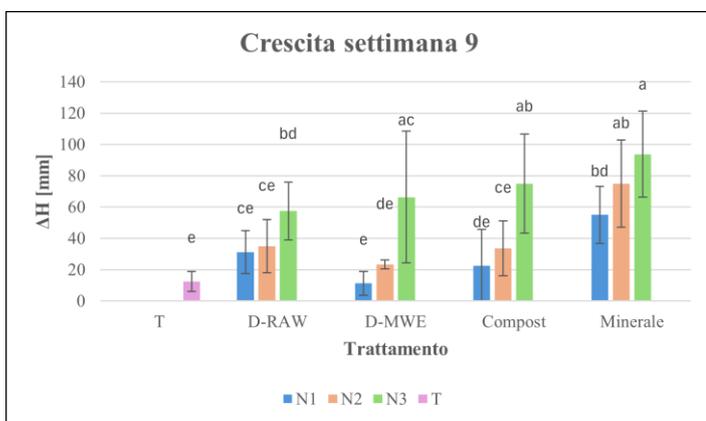


Figura 48: crescita settimana 9, prova 1, post-hoc Duncan

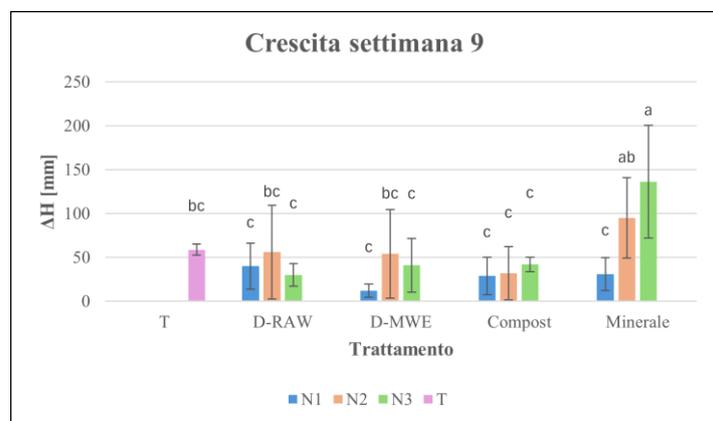


Figura 49: crescita settimana 9, prova 2, post-hoc Duncan

I grafici Figura 46 e Figura 47 mostrano la crescita settimanale della settimana 4 della prova 1 e della prova 2. Tra la prova 1 e prova 2 non si rilevano nette differenze.

Sia nella prova 1 che nella prova 2, i trattamenti D-MWE e D-RAW con 100 kg N/ha hanno consentito una crescita maggiore rispetto al fertilizzante minerale e al compost commerciale. Nella prova 1, inoltre, hanno avuto crescite maggiori rispetto al minerale anche le piante sottoposte al trattamento con 25 kg N/ha.

In entrambe le prove, tutti i trattamenti hanno prodotto una crescita maggiore rispetto al testimone non trattato.

Nei grafici Figura 48 e Figura 49 è possibile vedere la crescita della settimana 9. Le prove mostrano delle differenze, dovute probabilmente a degli effetti ambientali diversi.

Nella prova 1 (Figura 48) si rileva un andamento crescente della crescita delle piante in ordine del contenuto di azoto contenuto nei trattamenti. Le piante sottoposte al trattamento del fertilizzante minerale mostrano una crescita maggiore rispetto agli altri trattamenti, per tutti e tre i dosaggi.

Rispetto alla prova 1, il testimone sano della prova 2 (Figura 49) ha avuto una crescita maggiore, comparabile alle piante sottoposte ai trattamenti con 50 kg N/ha D-RAW e D-MWE.

Nella prova 2 la crescita delle piante col fertilizzante minerale è nettamente superiore rispetto agli altri trattamenti.

Di seguito vengono riportati i grafici che mostrano l'Indice del Contenuto di Clorofilla (*Chlorophyll Content Index*, CCI) nelle stesse settimane.

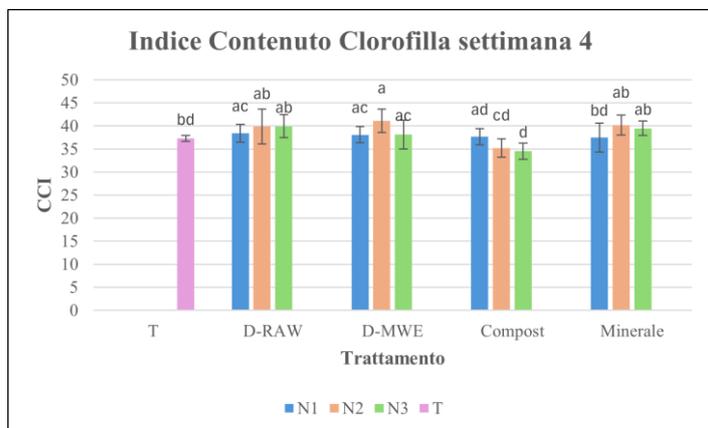


Figura 50: Indice del Contenuto di Clorofilla settimana 4, prova 1, post-hoc Duncan

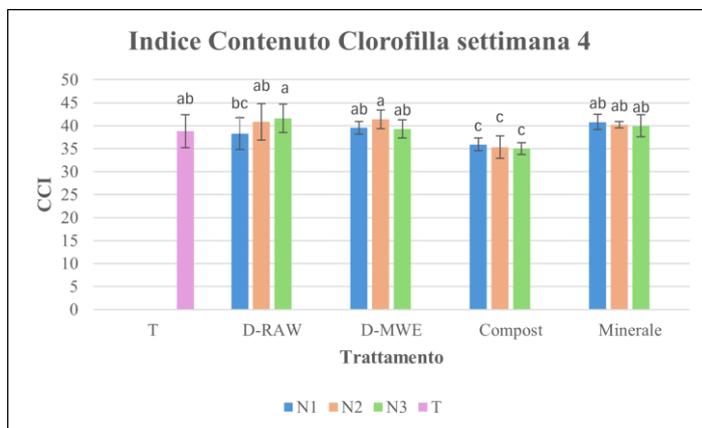


Figura 51: Indice del Contenuto di Clorofilla settimana 4, prova 2, post-hoc Duncan

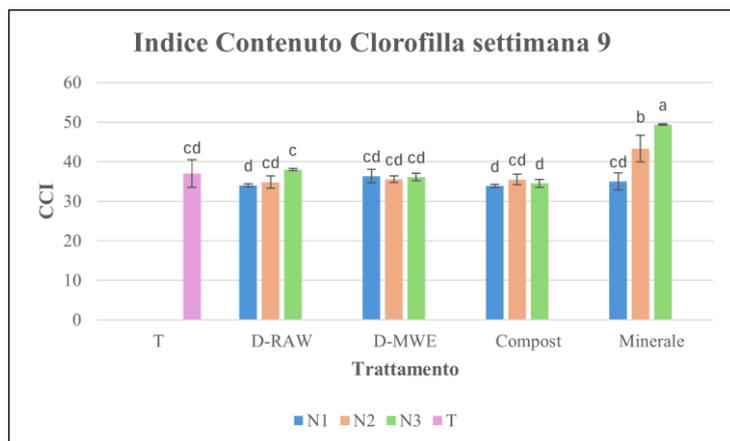


Figura 52: Indice del Contenuto di Clorofilla settimana 9, prova 1, post-hoc Duncan

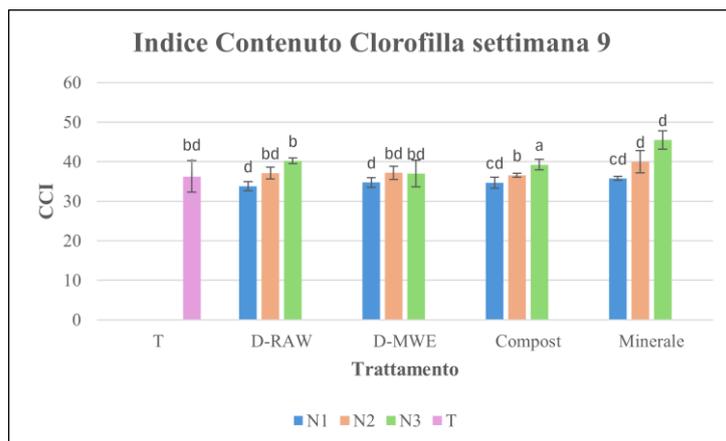


Figura 53: Indice del Contenuto di Clorofilla settimana 9, prova 2, post-hoc Duncan

IL CCI è un parametro che fornisce informazioni sulla quantità di clorofilla presente nelle foglie di una pianta. La clorofilla è un pigmento verde essenziale per la fotosintesi (processo attraverso il quale le piante convertono l'energia solare in energia necessaria per la crescita).

Dunque, monitorare il contenuto di clorofilla permette di valutare l'efficacia dei trattamenti.

I grafici riportati nelle Figura 50 e Figura 51 mostrano il CCI nelle settimana 4 per la prova 1 e la prova 2. Non vengono rilevate nette differenze tra i due grafici; le piante hanno mostrato contenuti simili di clorofilla.

I grafici mostrati in Figura 52 e Figura 53 riportano il contenuto di clorofilla monitorato nella settimana 9 della prova. Non si notano grandi differenze tra le due prove. Sia nella prova 1 che

nella prova 2, le piante col minerale hanno un contenuto di clorofilla più alto rispetto alle altre piante, nella prova 1 la differenza tra il minerale e i digestati è più accentuata.

Di seguito vengono riportati i grafici dei rilievi raccolti al termine della prova.

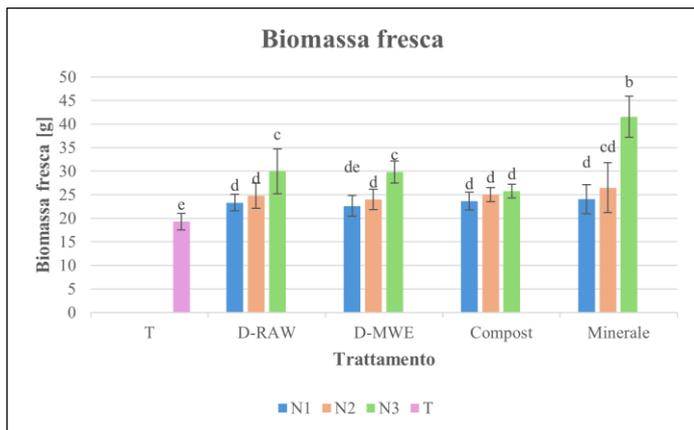


Figura 54: biomassa fresca, prova 1, post-hoc Duncan

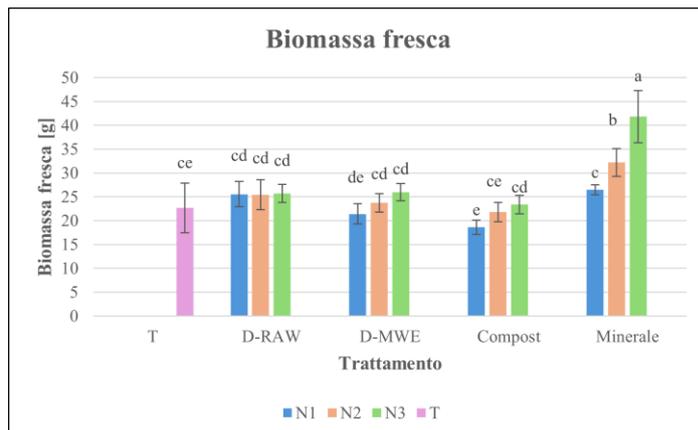


Figura 55: biomassa fresca, prova 2, post-hoc Duncan

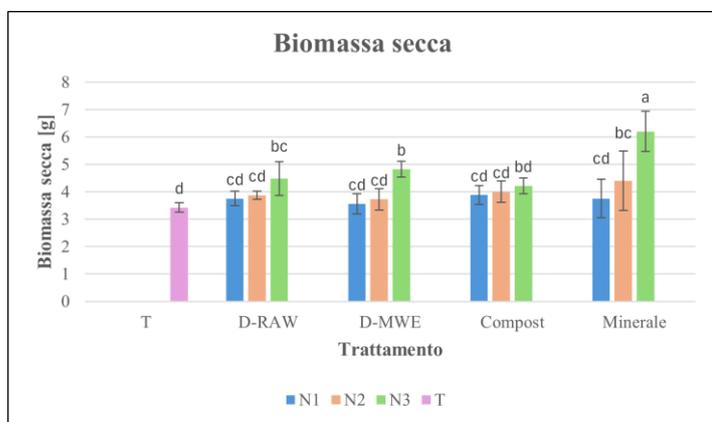


Figura 56: biomassa secca, prova 1, post-hoc Duncan

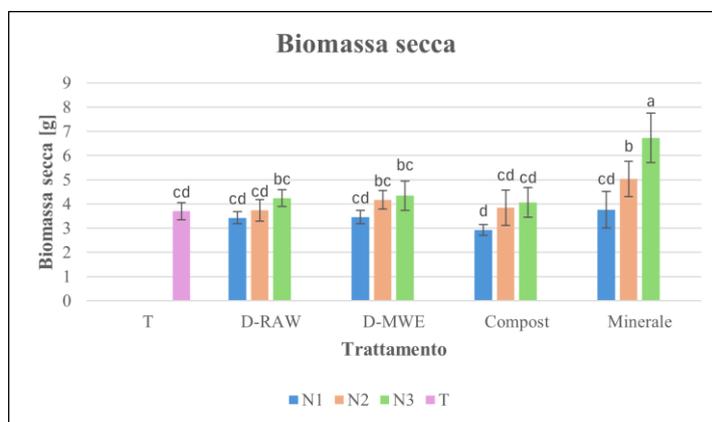


Figura 57: biomassa secca, prova 2, post-hoc Duncan

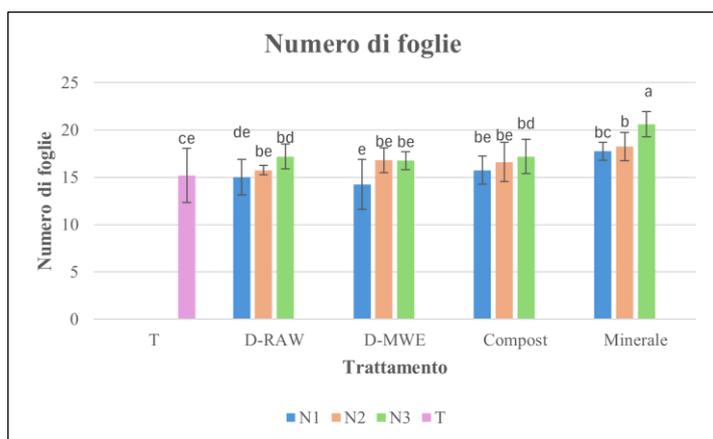


Figura 58: numero di foglie, prova 1, post-hoc Duncan

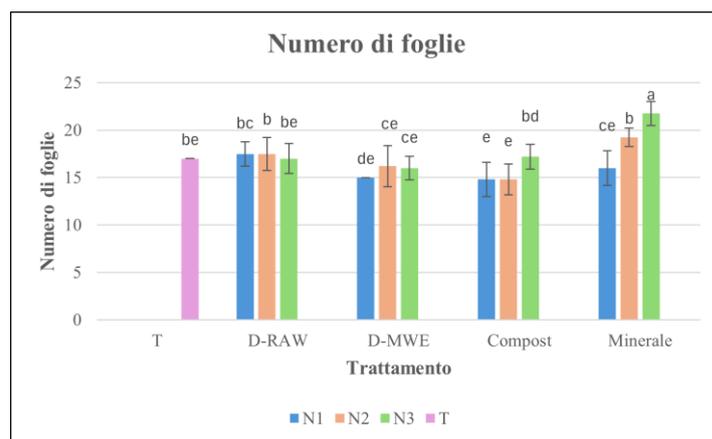


Figura 59: numero di foglie, prova 2, post-hoc Duncan

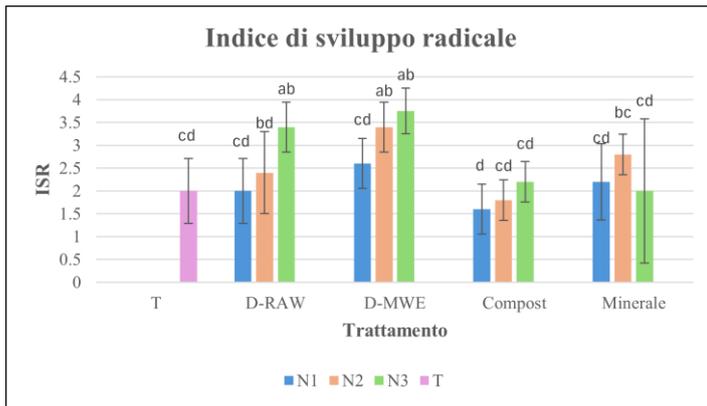


Figura 60: indice di sviluppo radicale, prova 1, post-hoc Duncan

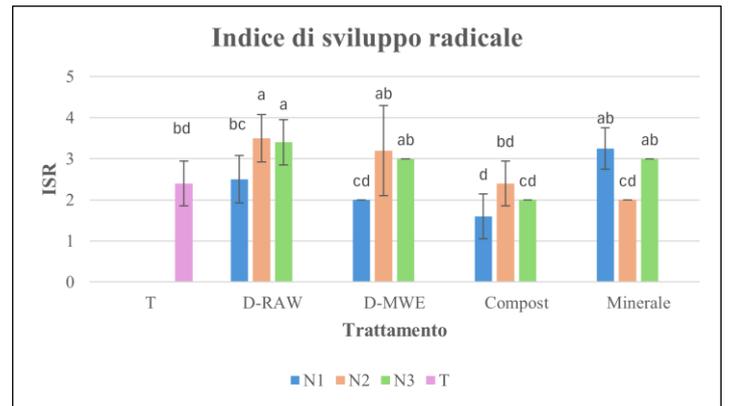


Figura 61: indice di sviluppo radicale, prova 2, post-hoc Duncan

Sia il trattamento D-RAW sia il D-MWE hanno promosso una crescita maggiore delle piante rispetto al testimone non trattato (T), questo suggerisce che i digestati hanno i nutrienti essenziali per garantire la crescita delle piante.

Il trattamento col fertilizzante minerale ha garantito una crescita maggiore delle piante rispetto a tutti gli altri trattamenti non solo in altezza ma anche in termini di biomassa.

Per quanto riguarda l'Indice di Sviluppo Radicale (ISR) nella prova 1, le piante col trattamento dei digestati con 100 kg N/ha, risultano avere radici più sviluppate rispetto alle piante col minerale.

Nella prova 2 del grafico dell'ISR, si nota un andamento decrescente tra i trattamenti con 50 kg N/ha da D-RAW verso destra fino al fertilizzante minerale.

In generale si può notare che i trattamenti che hanno garantito una crescita della biomassa, risultano avere un ISR minore: le piante hanno prioritizzato la crescita del fusto e delle foglie a discapito dello sviluppo radicale e viceversa.

Tuttavia è emersa una tendenza interessante: i trattamenti che hanno favorito una maggiore crescita aerea hanno generalmente comportato uno sviluppo radicale inferiore. Ciò suggerisce che le piante, in risposta ai diversi trattamenti, hanno prioritizzato l'allocazione delle risorse verso la parte aerea a discapito della parte radicale.

Dunque, i risultati delle analisi dimostrano che i trattamenti a base di digestato di sansa di mela (D-RAW e D-MWE) si sono rivelati altrettanto efficaci del fertilizzante minerale e del compost nel promuovere la crescita delle piante di pomodoro.

4. Conclusioni

L'economia circolare si fonda sui principi di riutilizzo, riciclo e rigenerazione, minimizzando la produzione dei rifiuti e ottenendo valore da ciò che tradizionalmente viene considerato uno scarto.

La gestione dei sottoprodotti dell'industria agroalimentare rappresenta una sfida complessa ma anche un'opportunità per sviluppare nuovi modelli di business.

In un'ottica di sostenibilità ambientale, questa ricerca si concentra sulla valorizzazione degli scarti della lavorazione delle mele. L'obiettivo è sviluppare processi innovativi per convertire la sansa di mela, composta da bucce, semi e steli, in prodotti ad alto valore aggiunto, contribuendo al recupero di risorse e alla riduzione dell'impatto ambientale dell'industria agroalimentare. Nel dettaglio, il processo studiato è stato la digestione anaerobica per la produzione di un vettore energetico (il biogas contenente metano) e del digestato da applicare come fertilizzante alternativo ai prodotti di sintesi.

Nonostante la complessa struttura lignocellulosica della sansa di mela, i risultati dello studio sono stati soddisfacenti ed hanno dimostrato che anche da uno scarto simile si possono ottenere produzioni di biogas e qualità del digestato idonee all'autosufficienza energetica e all'applicazione in campo, rispettivamente.

La prova di digestione anaerobica è stata condotta valutando varie condizioni operative: il rapporto (S:I) pari a 1:1 e 2:1, il pretrattamento del substrato e il volume del reattore.

Nel dettaglio, i pretrattamenti eseguiti sul substrato sono stati l'estrazione assistita a microonde (MWE AP) e ultrasuoni (USE AP).

Le performances della sansa di mela pretrattata e tal quale (RAW AP) sono state confrontate sia nelle prove di digestione anaerobia che nell'applicazione in campo del digestato.

Le configurazioni sperimentali confrontate sono: RAW AP 1 (250, 500 e 2000 mL), RAW AP 2 (250 mL), MWE AP 1 (250, 500 e 200 mL), MWE AP 2 (250 mL), USE AP 1 (250 e 500 mL) e USE AP 2 (250 mL).

Nella fase acidogena della digestione, è stato necessario correggere il pH mediante l'aggiunta di NaOH, per neutralizzare l'acidità, favorendo la proliferazione dei microorganismi metanigeni.

Il biogas prodotto è stato monitorato con analisi gas-cromatografiche e il volume di biogas è stato valutato mediante svuotamento delle sacche di raccolta.

Dal confronto dei pretrattamenti è emerso che, nel caso di S:I 1:1, la configurazione migliore è la USE AP 1-250, sia per la produzione cumulata di biogas sia per la produzione cumulata di CH₄.

Nel confronto tra i pretrattamenti con S:I 2:1 è risultata più produttiva la RAW AP 2-250.

Si può dedurre dunque che i pretrattamenti abbiano avuto effetto nel caso di S:I 1:1 ma, se si alimenta più substrato, la sansa di mela non pretrattata risulta essere stato il substrato migliore.

La USE AP 1-250 ha raggiunto il 71.38% v/v di CH₄ dopo due settimane dall'inizio della prova. Le altre configurazioni hanno raggiunto il 69.62 % v/v (RAW AP 1-250), il 70.46 % v/v (MWE AP 1-250), il 71.47 % v/v (RAW AP 2-250), il 67.28% v/v (USE AP 2-250), il 21.49% v/v (MWE AP 2-250).

Dal confronto del volume del reattore sugli effetti della produzione di biogas è emerso che: tra le configurazioni RAW la migliore è stata quella di 250 mL, la RAW AP 1-250; per le MWE la migliore è stata la MWE AP 1-500; per le configurazioni USE la migliore è stata la USE AP 1-250.

Le configurazioni coi volumi del reattore di 500 mL e 2000 mL hanno raggiunto le seguenti percentuali di CH₄: il 78.07% v/v RAW AP 1-500, il 70.03% v/v RAW AP 1-2000, il 68.3% v/v MWE AP 1-500, il 71.95% v/v MWE AP 1-2000 e il 79.69% v/v USE AP 1-500.

Si è potuto constatare che, dal confronto tra le configurazioni con S:I 1:1 e 2:1, il rapporto S:I 1:1 è risultato ottimale per le produzioni cumulate di biogas sia per le configurazioni che hanno previsto il pretrattamento sia in quelle in cui non è stato previsto.

Nelle configurazioni USE e MWE, le USE AP 1-250 e MWE AP 1-250 hanno avuto risultati migliori di produzioni cumulate di CH₄ rispetto alle USE AP 2-250 e MWE AP 2-250. Questo risultato suggerisce che l'eccesso di substrato potrebbe aver portato ad un accumulo di prodotti intermedi della digestione, tra cui gli AGV, che possono aver inibito l'attività dei metanigeni, con una conseguente riduzione della produzione di CH₄.

Per la RAW, la RAW AP 2-250 ha prodotto più biogas della RAW AP 1-250. Tuttavia, la RAW AP 1-250 durante la digestione ha prodotto più CH₄ della RAW AP 2-250. Infatti, al giorno 26 della digestione ha raggiunto il 69.62% v/v di CH₄ (RAW AP 1-250). Questo spiega perché, nonostante abbia una produzione cumulata di biogas minore rispetto alla RAW AP 2-250 ed anche una percentuale minore di CH₄ l'ultimo giorno di digestione, ha una produzione cumulata di CH₄ maggiore.

Sono state inoltre condotte delle analisi per valutare il parametro FOS/TAC al termine del processo di digestione anaerobica sui digestati della UAE AP 2-250 (reattore 6) e della MWE AP 2-250 (reattori 7 e 8) della prima prova sperimentale, esclusa dai dati della tesi.

Sono emersi valori di FOS/TAC alti in corrispondenza di valori di pH acidi, rivelando un accumulo di AGV. I dati dei valori di FOS/TAC dell'ultimo giorno di digestione sono >0.6; dato che i digestati appartengono a configurazioni con S:I 2:1, è plausibile che i valori siano elevati a causa del possibile carico organico eccessivo.

I digestati prodotti sono quindi stati caratterizzati in termini di composizione elementare tramite analisi CHNS(O) e di contenuto dei principali nutrienti con kit commerciali Hach Lange per la successiva prova in serra, svolta per valutare gli effetti agronomici dei digestati sulle piante di pomodoro.

I digestati sono poi stati testati sulle piante di pomodoro per valutarne gli effetti agronomici.

Sono stati confrontati i seguenti trattamenti: digestati in tre differenti dosaggi (25, 50 e 100 kg N/ha), testimone senza alcun trattamento, compost commerciale (ACSR S.p.A.) e fertilizzante minerale NPK 16-4-8 (Osmocote Topdress) applicati negli stessi dosaggi dei digestati.

Sono state condotte dieci repliche per ciascun trattamento su due prove in parallelo (cinque repliche per la prova 1 e cinque repliche per la prova 2). I confronti si sono basati su diversi parametri: crescita delle piante, contenuto di clorofilla, biomassa fresca e secca, sviluppo radicale e numero delle foglie.

Per lo studio dei dati raccolti è stata usata l'analisi della varianza a una via (ANOVA) con IBM SPSS Statistics26.

Dai risultati della crescita settimanale delle piante è emerso che il minerale è stato il fertilizzante migliore, però i digestati hanno dimostrato di avere i nutrienti essenziali per la crescita delle piante e hanno comunque consentito uno sviluppo paragonabile a quello ottenuto con il fertilizzante minerale, soprattutto nelle prime settimane dal trattamento.

Infatti, i dati raccolti sull'indice di clorofilla indicano che tutti i trattamenti hanno garantito la stessa quantità di clorofilla presente nelle foglie delle piante.

Inoltre, i dati dei rilievi finali hanno mostrato che i digestati hanno promosso una crescita maggiore rispetto al testimone non trattato. L'ISR della prova 1 con 100 kg N/ha di D-RAW e D-MWE risulta essere migliore del minerale e del compost commerciale. Nella prova 2 l'ISR con 50 kg N/ha di D-RAW e D-MWE risulta essere migliore del minerale e del compost commerciale.

I trattamenti che hanno favorito la crescita della biomassa hanno ISR minore poiché hanno prioritizzato la crescita della parte aerea a discapito dello sviluppo radicale e viceversa.

È stata valutata l'autosufficienza energetica della digestione anaerobica, considerando il fabbisogno energetico associato ai pretrattamenti (microonde e ultrasuoni), l'energia necessaria per il riscaldamento dei digestori e il contributo energetico derivante dal CH₄. È risultato che l'Energy Sustainable Index (ESI) (rapporto tra l'energia ricavata dal processo e l'energia necessaria al processo) sia 1.82 per la digestione anaerobica che ha previsto il pretrattamento del substrato mediante estrazione assistita da microonde (MWE) e 1.42 per la digestione anaerobica che non ha previsto il pretrattamento del substrato (RAW). Dunque, la RAW e la MWE hanno prodotto più energia di quella di cui necessitano.

La UAE invece si è rivelata non autosufficiente in termini di energia, infatti ha ESI pari a 0.11: ha speso più energia di quanta ne ha prodotto.

I risultati ottenuti in questo studio hanno dimostrato il potenziale della sansa di mela come substrato per la produzione di biogas e di biofertilizzanti. L'ottimizzazione delle condizioni operative, in particolare l'effetto dei pretrattamenti, ha evidenziato la possibilità di incrementare la biodegradabilità del substrato e di ottenere rendimenti energetici significativi, e allo stesso tempo aumentare il valore dello scarto consentendo di ottenere un altro prodotto (l'estratto ricco di polifenoli) ad alto valore aggiunto.

Questi risultati aprono prospettive interessanti per lo sviluppo di processi industriali sostenibili, contribuendo alla valorizzazione degli scarti agroalimentari e alla transizione verso un'economia circolare.

Per ottimizzare il processo e aumentare i rendimenti, future ricerche potrebbero approfondire l'influenza di diversi S:I, come 0.5:1. Inoltre, l'impiego di reattori miscelati con agitatori, che

permetterebbero una maggiore omogeneizzazione del substrato e un miglioramento delle condizioni di *mass-transfer*.

Bibliografia

- [1] D. Marshall, A. O’Dochartaigh, A. Prothero, O. Reynolds, and E. Secchi, “Are you ready for the sustainable, biocircular economy?,” *Bus Horiz*, vol. 66, no. 6, pp. 805–816, Nov. 2023, doi: 10.1016/j.bushor.2023.05.002.
- [2] M. Hamam *et al.*, “Circular economy models in agro-food systems: A review,” *Sustainability (Switzerland)*, vol. 13, no. 6, Mar. 2021, doi: 10.3390/su13063453.
- [3] “Trasformare il nostro mondo: l’Agenda 2030 per lo sviluppo sostenibile.” Accessed: Sep. 07, 2024. [Online]. Available: <https://sdgs.un.org/2030agenda>
- [4] “L’Agenda 2030 dell’Onu per lo sviluppo sostenibile,” Sep. 2024.
- [5] F. Zhang, T. Wang, X. Wang, and X. Lü, “Apple pomace as a potential valuable resource for full-components utilization: A review,” Dec. 20, 2021, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.jclepro.2021.129676.
- [6] E. Gołębiewska, M. Kalinowska, and G. Yildiz, “Sustainable Use of Apple Pomace (AP) in Different Industrial Sectors,” Mar. 01, 2022, *MDPI*. doi: 10.3390/ma15051788.
- [7] R. De la Peña-Armada and I. Mateos-Aparicio, “Sustainable Approaches Using Green Technologies for Apple By-Product Valorisation as A New Perspective into the History of the Apple,” Oct. 01, 2022, *MDPI*. doi: 10.3390/molecules27206937.
- [8] J. M. Costa, L. C. Ampese, H. D. D. Ziero, W. G. Sganzerla, and T. Forster-Carneiro, “Apple pomace biorefinery: Integrated approaches for the production of bioenergy, biochemicals, and value-added products - An updated review,” *J Environ Chem Eng*, vol. 10, no. 5, Oct. 2022, doi: 10.1016/j.jece.2022.108358.
- [9] C. M. Galanakis, *Valorization of Fruit Processing By-products*. Elsevier, 2020.
- [10] R. Tsao, R. Yang, J. C. Young, and H. Zhu, “Polyphenolic profiles in eight apple cultivars using high-performance liquid chromatography (HPLC),” *J Agric Food Chem*, vol. 51, no. 21, pp. 6347–6353, Oct. 2003, doi: 10.1021/jf0346298.
- [11] M. Fromm, S. Bayha, R. Carle, and D. R. Kammerer, “Comparison of fatty acid profiles and contents of seed oils recovered from dessert and cider apples and further Rosaceous plants,” *European Food Research and Technology*, vol. 234, no. 6, pp. 1033–1041, Jun. 2012, doi: 10.1007/s00217-012-1709-8.
- [12] “Tecniche di Miglioramento Genetico Vegetale. Una valutazione dal punto di vista dell’agricoltura biologica.” Accessed: Nov. 17, 2024. [Online]. Available: <https://www.fibl.org/fileadmin/documents/shop/1120-selezione.pdf>
- [13] X. Yu, F. R. van de Voort, Z. Li, and T. Yue, “Proximate Composition of the Apple Seed and Characterization of Its Oil,” vol. 3, no. 5, 2007, doi: 10.2202/1556-3758.1283.
- [14] C. A. Perussello, Z. Zhang, A. Marzocchella, and B. K. Tiwari, “Valorization of Apple Pomace by Extraction of Valuable Compounds,” *Compr Rev Food Sci Food Saf*, vol. 16, no. 5, pp. 776–796, Sep. 2017, doi: 10.1111/1541-4337.12290.
- [15] H. Mao *et al.*, “Apple pomace improves the quality of pig manure aerobic compost by reducing emissions of NH₃ and N₂O,” *Sci Rep*, vol. 7, no. 1, Dec. 2017, doi: 10.1038/s41598-017-00987-y.

- [16] Inamuddin, Mohd Imran Ahamed, Rajender Boddula, and Mashallah Rezakazemi, *Biofertilizers. Study and Impact*. Scrivener Publishing, 2021.
- [17] T. H. . Christensen, *Solid waste technology & management. Volume 2*. Wiley, 2011.
- [18] N. Horan, A. Zahrim, Y. Newati, and W. Editors, “Green Energy and Technology Applications and Effluent Treatment Anaerobic Digestion Processes.” [Online]. Available: <http://www.springer.com/series/8059>
- [19] M. Laiq Ur Rehman, A. Iqbal, C. C. Chang, W. Li, and M. Ju, “Anaerobic digestion,” Oct. 01, 2019, *John Wiley and Sons Inc*. doi: 10.1002/wer.1219.
- [20] T. Conant, A. Karim, and A. Datye, “Coating of steam reforming catalysts in non-porous multi-channeled microreactors,” *Bioresour Technol*, vol. 99, no. 4, pp. 882–888, 2008, doi: 10.1016/j.biortech.2007.01.013.
- [21] W. C. Valenti, J. M. Kimpara, B. de L. Preto, and P. Moraes-Valenti, “Indicators of sustainability to assess aquaculture systems,” *Ecol Indic*, vol. 88, pp. 402–413, May 2018, doi: 10.1016/j.ecolind.2017.12.068.
- [22] U. C. Okonkwo, E. Onokpite, and A. O. Onokwai, “Comparative study of the optimal ratio of biogas production from various organic wastes and weeds for digester/restarted digester,” *Journal of King Saud University - Engineering Sciences*, vol. 30, no. 2, pp. 123–129, Apr. 2018, doi: 10.1016/j.jksues.2016.02.002.
- [23] A. E. Maragkaki, I. Vasileiadis, M. Fountoulakis, A. Kyriakou, K. Lasaridi, and T. Manios, “Improving biogas production from anaerobic co-digestion of sewage sludge with a thermal dried mixture of food waste, cheese whey and olive mill wastewater,” *Waste Management*, vol. 71, pp. 644–651, Jan. 2018, doi: 10.1016/j.wasman.2017.08.016.
- [24] “Con l’economia circolare il futuro è più azzurro per tutti,” Confcooperative Piemonte Nord. Accessed: Nov. 03, 2024. [Online]. Available: <https://piemontenord.confcooperative.it/storie/cooperativa-speranza/>
- [25] “UN’INTERESSANTE ESPERIENZA NEL CAMPO DELLA BIO-COGENERAZIONE AL SERVIZIO DELLE IMPRESE AGRICOLE: IL CASO DI COOPERATIVA SPERANZA,” ABetter Way. Accessed: Nov. 03, 2024. [Online]. Available: <https://www.gruppoab.com/it/stories/un-interessante-esperienza-nel-campo-della-bio-cogenerazione-al-servizio-delle-im/>
- [26] “Vortex s.r.l.” Accessed: Nov. 07, 2024. [Online]. Available: <https://www.vortexsrl.it/>
- [27] T. Yusaf and R. A. Al-Juboori, “Alternative methods of microorganism disruption for agricultural applications,” *Appl Energy*, vol. 114, pp. 909–923, 2014, doi: 10.1016/j.apenergy.2013.08.085.
- [28] A. Gil, J. A. Siles, M. A. Martín, A. F. Chica, F. S. Estévez-Pastor, and E. Toro-Baptista, “Effect of microwave pretreatment on semi-continuous anaerobic digestion of sewage sludge,” *Renew Energy*, vol. 115, pp. 917–925, 2018, doi: 10.1016/j.renene.2017.07.112.
- [29] V. Khanh Nguyen *et al.*, “Review on pretreatment techniques to improve anaerobic digestion of sewage sludge,” *Fuel*, vol. 285, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.fuel.2020.119105.

- [30] P. Tapia-Quirós, M. Granados, S. Sentellas, and J. Saurina, “Microwave-assisted extraction with natural deep eutectic solvents for polyphenol recovery from agrifood waste: Mature for scaling-up?,” Feb. 20, 2024, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.168716.
- [31] X. Bai, H. Zhang, and S. Ren, “Antioxidant activity and HPLC analysis of polyphenol-enriched extracts from industrial apple pomace,” *J Sci Food Agric*, vol. 93, no. 10, pp. 2502–2506, Aug. 2013, doi: 10.1002/jsfa.6066.
- [32] B. Carratù and E. Sanzini, “Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetale,” *Ann Ist Super Sanità*, vol. 41, pp. 7–16, 2005.
- [33] S. Fraterrigo Garofalo, F. Demichelis, V. Peletti, L. Picco, T. Tommasi, and D. Fino, “Comparative study of polyphenol extraction using physical techniques and water as a solvent: a sustainable approach for the valorization of apple pomace,” *Environmental Science and Pollution Research*, 2024, doi: 10.1007/s11356-024-34637-4.
- [34] D. Pingret *et al.*, “Lab and pilot-scale ultrasound-assisted water extraction of polyphenols from apple pomace Author’s personal copy Lab and pilot-scale ultrasound-assisted water extraction of polyphenols from apple pomace,” *J Food Eng*, vol. 111, pp. 73–81, 2012, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2012.01.026.
- [35] “What is Gas Chromatography.” Accessed: Nov. 10, 2024. [Online]. Available: <https://estanalytical.com/gas-chromatography/>
- [36] D. Li and S. Liu, “Chapter 10 - Drinking Water Detection,” in *Water Quality Monitoring and Management*, D. Li and S. Liu, Eds., Academic Press, 2019, pp. 251–267. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811330-1.00010-7>.
- [37] “Elemental Analysis CHNS(O),” Auriga Research. Accessed: Nov. 08, 2024. [Online]. Available: <https://aurigaresearch.com/pharmaceutical-testing/elemental-analysis-chns/>
- [38] SI Analytics, “Titration of FOS/TAC.” Accessed: Nov. 10, 2024. [Online]. Available: https://www.xylemanalytics.com/File%20Library/Resource%20Library/SIA/09%20Application%20Papers/UK/fos_tac_EN.pdf
- [39] G. Cristina, E. Camelin, M. Pugliese, T. Tommasi, and D. Fino, “Evaluation of anaerobic digestates from sewage sludge as a potential solution for improvement of soil fertility,” *Waste Management*, vol. 99, pp. 122–134, Nov. 2019, doi: 10.1016/j.wasman.2019.08.018.
- [40] G. Cristina, E. Camelin, T. Tommasi, D. Fino, and M. Pugliese, “Anaerobic digestates from sewage sludge used as fertilizer on a poor alkaline sandy soil and on a peat substrate: Effects on tomato plants growth and on soil properties,” *J Environ Manage*, vol. 269, Sep. 2020, doi: 10.1016/j.jenvman.2020.110767.
- [41] B. Deepanraj, V. Sivasubramanian, and S. Jayaraj, “Effect of substrate pretreatment on biogas production through anaerobic digestion of food waste,” *Int J Hydrogen Energy*, vol. 42, no. 42, pp. 26522–26528, Oct. 2017, doi: 10.1016/j.ijhydene.2017.06.178.
- [42] S. Zeng, X. Yuan, X. Shi, and Y. Qiu, “Effect of inoculum/substrate ratio on methane yield and orthophosphate release from anaerobic digestion of *Microcystis* spp.,” *J Hazard Mater*, vol. 178, no. 1–3, pp. 89–93, Jun. 2010, doi: 10.1016/j.jhazmat.2010.01.047.

- [43] M. Lili, G. Biró, E. Sulyok, M. Petis, J. Borbély, and J. Tamás, “NOVEL APPROACH ON THE BASIS OF FOS/TAC METHOD,” *Fascicula Protecia Mediului*, vol. XVII, 2011.
- [44] M. Lili, Gy. Biró, E. Sulyok, M. Petis, J. Borbély, and J. Tamás, “Novel approach on the basis of FOS/TAC method.,” 2011. [Online]. Available: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:19641347>
- [45] L. Rossi and G. Bezzi, “MANUALE OPERATIVO IL DIGESTATO AGRICOLO PER LA FERTILIZZAZIONE ORGANICA. CARATTERISTICHE, MODALITÀ E COSTI DI DISTRIBUZIONE,” 2024.
- [46] M. Koszel and E. Lorencowicz, “Agricultural Use of Biogas Digestate as a Replacement Fertilizers,” *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, vol. 7, pp. 119–124, 2015, doi: 10.1016/j.aaspro.2015.12.004.
- [47] L. Rossi, G. Bezzi, and D. Fichera, “Linee Guida per l’uso del digestato agricolo in Agricoltura Biologica,” 2018.

Ringraziamenti

Desidero ringraziare la Professoressa Tonia Tommasi, relatrice della presente tesi, per avermi affidato questo progetto di ricerca, che mi ha permesso di approfondire le mie conoscenze e di acquisire nuove competenze.

Un ringraziamento speciale va alla Dottoressa Francesca Demichelis, per i suoi consigli durante le fasi di analisi e di stesura della tesi.

Ringrazio sentitamente la Dottoressa Melania Fiore per la sua guida preziosa e il supporto costante durante tutto il percorso di ricerca. La sua competenza e disponibilità sono state fondamentali per la realizzazione di questo lavoro.