



# Processi innovativi per la produzione di biocarburanti avanzati

**Vito Pignatelli, Giulia Massini**

## **Laboratorio Biomasse e Biotecnologie per l'Energia**

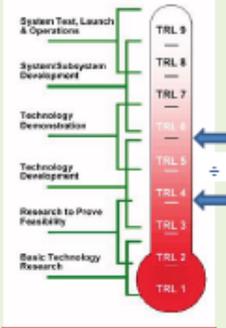
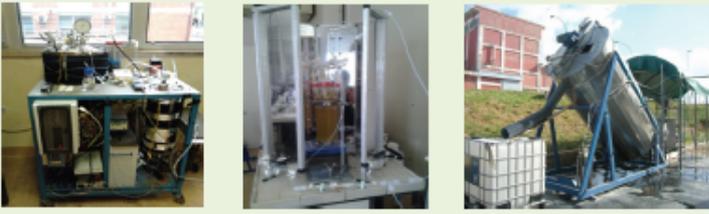
**Innovazione tecnologica per la competitività:  
l'Atlante ENEA**

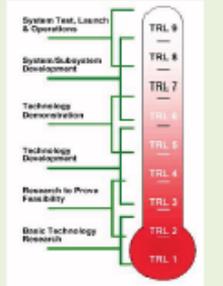
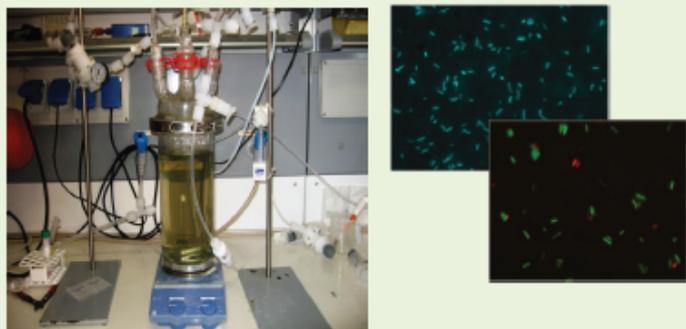
Roma, Unindustria, 29 Ottobre 2015



Per quel che riguarda **l'Atlante dell'Innovazione dell'ENEA**, il tema dei biocarburanti avanzati ricade nell'ambito del Cluster "Chimica Verde", e le attività, svolte dal Laboratorio Biomasse e Biotecnologie per L'Energia, sono riportate nelle schede:

- **PROCESSI INNOVATIVI DI PRODUZIONE DI BIOGAS A DOPPIO STADIO**
- **PRODUZIONE DI BIOCARBURANTI E CHEMICALS CON VALORIZZAZIONE DEL GLICEROLO**

CLUSTER	Fornitura di Energia Elettrica, Gas, Vapore e Aria Condizionata FORNITURA DI ENERGIA ELETTRICA, GAS, VAPORE E ARIA CONDIZIONATA CODICE ATECO D 35
<p><b>CHIMICA VERDE</b></p> <p><b>Tecnologia ENEA:</b></p> <p><b>PROCESSI INNOVATIVI DI PRODUZIONE DI BIOGAS A DOPPIO STADIO</b></p>  <p><b>Livello di Maturità Tecnologica (TRL): 4-6</b></p>	<p><b>Aspetti innovativi e relativi benefici</b> (con riferimento alle tecnologie più comuni):</p> <p>L'ENEA dispone di tecnologie per il clean-up e l'upgrading del biogas a biometano e per la valorizzazione del digestato.</p> <p>L'obiettivo è la valorizzazione energetica e industriale di reflui e rifiuti agricoli, zootecnici e agroindustriali, con produzione di gas utilizzabile per la cogenerazione di energia elettrica e/o calore o come biometano per trazione o immissione in rete, con risparmio di combustibili fossili e riduzione dell'impatto ambientale.</p>
<p><b>Utilizzo:</b> Produzione di biogas e biometano da rifiuti organici dell'agricoltura, dell'agroindustria e del ciclo urbano.</p> <p><b>Attività svolte e in corso:</b> Sono in corso attività di studio e sperimentazione di laboratorio e su prototipi. Depositati 3 brevetti (777,790,817). Accordo di collaborazione con una azienda del settore, la Biogas Italia. Presentata una proposta specifica sull'upgrading del biogas a biometano con una nuova tecnologia basata sull'uso di ammine in fase organica in collaborazione con un'azienda nazionale al bando "b". della Ricerca di Sistema Elettrico (MISE).</p>	
	
<p><b>Unità Tecnica di riferimento: Unità Tecnica Fonti Rinnovabili (UTRINN)</b> <b>Referente: Giulio Izzo, <a href="mailto:giulio.izzo@enea.it">giulio.izzo@enea.it</a></b></p>	

CLUSTER	Attività Manifatturiere FABBRICAZIONE PRODOTTI CHIMICI CODICE ATECO C 20
<p><b>-CHIMICA VERDE</b> <b>-MEZZI E SISTEMI PER LA MOBILITA' DI SUPERFICIE TERRESTRE E MARINA</b></p> <p><b>Tecnologia ENEA:</b></p> <p><b>PRODUZIONE DI BIOCARBURANTI E CHEMICALS CON VALORIZZAZIONE DEL GLICEROLO</b></p>  <p><b>Livello di Maturità Tecnologica (TRL): 4-5</b></p>	<p><b>Aspetti innovativi e relativi benefici</b> (con riferimento alle tecnologie più comuni):</p> <p>Il processo messo a punto da ENEA per l'utilizzazione del glicerolo, consente la valorizzazione dell'utilizzo del glicerolo, con processi innovativi di fermentazione anaerobica per l'ottenimento di bioetanolo, idrogeno e intermedi di sintesi di interesse dell'industria chimica ed energetica.</p>
<p><b>Utilizzo:</b> Produzione di bioetanolo, idrogeno e intermedi di sintesi di interesse dell'industria chimica ed energetica.</p> <p><b>Attività svolte e in corso:</b> Sono in corso attività di studio e sperimentazione su circuiti di laboratorio e impianti pilota, nell'ambito di un progetto europeo, con il coinvolgimento di un'azienda nazionale interessata allo sviluppo industriale del processo (Processi Innovativi s.r.l. del Gruppo Tecnimont). Brevetto RM2011A000480 (esteso USA e EPO).</p>	
	
<p><b>Unità Tecnica di riferimento: Unità Tecnica Fonti Rinnovabili (UTRINN)</b> <b>Referente: Vito Pignatelli, <a href="mailto:vito.pignatelli@enea.it">vito.pignatelli@enea.it</a></b></p>	

## Le attività svolte dal Laboratorio Biomasse e Biotecnologie per l'Energia dell'ENEA riguardano in particolare:

- Lo sviluppo di processi e tecnologie innovativi per la filiera del Biogas ottenuto dal processo di Digestione Anaerobica (3 brevetti): configurazione di processo in bifase per l'incremento della produttività e del contenuto in metano nel biogas; Clean up biologico del biogas; trattamento del digestato
- Lo sviluppo di processi innovativi per la produzione di biocarburanti - idrogeno ed etanolo - mediante la fermentazione anaerobica del glicerolo, sottoprodotto dell'industria del biodiesel (1 brevetto)

In entrambe i casi (biometano prodotto dalla digestione anaerobica di biomasse residuali e biocarburanti derivati dal glicerolo) i prodotti finali sono a tutti gli effetti da considerarsi come **biocarburanti avanzati**

### Obiettivi da raggiungere per il 2020:

- Ridurre le emissioni di CO<sub>2</sub> del 20% rispetto ai livelli del 1990
- Incrementare del 20% l'efficienza negli usi finali dell'energia rispetto ai livelli attuali (Comunicazione CE del 19.10.2006 "Piano d'azione per l'efficienza energetica: concretizzare le potenzialità")
- Promuovere le Fonti di Energie Rinnovabili (FER) con un obiettivo vincolante del 20% sul totale dei consumi energetici della UE, con valori diversi per i diversi paesi (per l'Italia il 17%) e del **10%, per ciascun paese membro, dei consumi nel settore dei trasporti terrestri**
- Stabilire uno stretto collegamento tra lo sviluppo della produzione di energia da FER e l'aumento dell'efficienza energetica

**Direttiva recepita dall'Italia con il Decreto Legislativo  
n. 28 del 3 marzo 2011**

- L'obiettivo del 10% di sostituzione dei combustibili fossili con energia rinnovabile nel settore dei trasporti può essere raggiunto con **i biocarburanti, l'idrogeno e l'elettricità da fonti rinnovabili**
- Per poter essere considerati ai fini dell'assolvimento dell'obbligo di sostituzione dei combustibili fossili nel settore dei trasporti o del raggiungimento della quota stabilita di uso di energia rinnovabile, biocarburanti e bioliquidi devono dimostrare il rispetto di criteri di sostenibilità
- Biocarburanti e bioliquidi non devono essere prodotti su terreni ad alto livello di biodiversità. Nel calcolo delle emissioni di gas ad effetto serra (GHG) saranno considerate anche le emissioni causate dal cambiamento dell'uso del suolo

- Il Decreto del 10 ottobre 2014 del Ministero dello Sviluppo Economico, stabilisce le quote obbligatorie di immissione al consumo dei biocarburanti per gli anni 2015-2022 **e introduce, a partire dal 2018, una quota obbligatoria di biocarburanti avanzati**
- Per **biocarburanti avanzati** si intendono tutti quelli prodotti da scarti e residui agricoli ed agroindustriali, biomasse lignocellulosiche - anche da colture dedicate - alghe e colture di microalghe, con l'eccezione del biodiesel ottenuto da oli alimentari esausti e grassi animali non commestibili
- Questa definizione corrisponde sostanzialmente a quella comunemente accettata per i **biocarburanti di seconda generazione**, che contano il doppio del loro valore energetico reale ai fini dell'assolvimento degli obblighi di immissione al consumo da parte dei distributori di carburanti per autotrazione

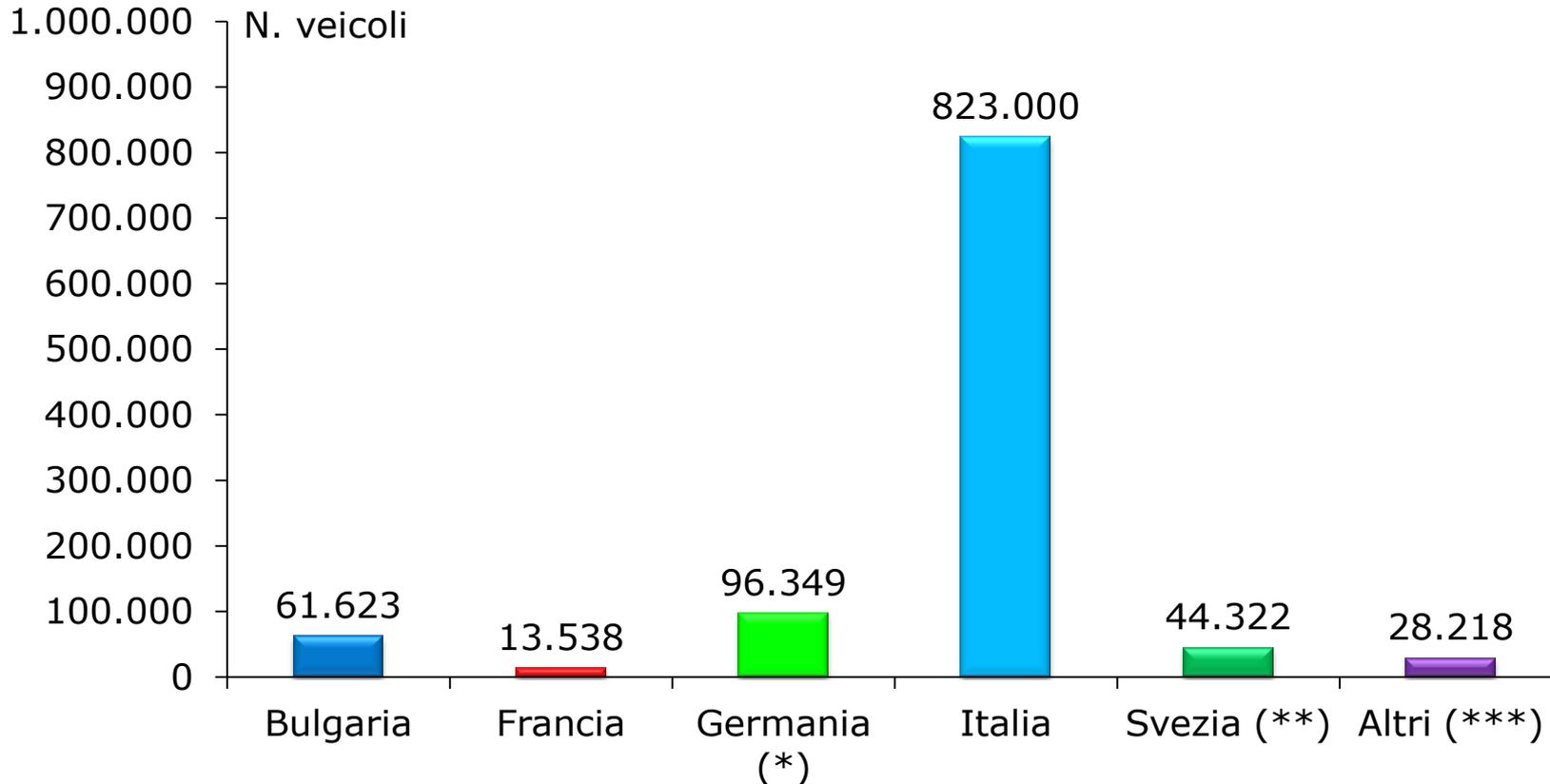
# Immissione al consumo di biocarburanti nel settore dei trasporti in Italia previste per gli anni 2015-2022



<b>Anno</b>	% immissione biocarburanti	<b>% obbligatoria biocarburanti avanzati</b>
<b>2015</b>	5,0	
<b>2016</b>	5,5	
<b>2017</b>	6,5	
<b>2018</b>	7,5	<b>1,2</b>
<b>2019</b>	9,0	<b>1,2</b>
<b>2020</b>	10,0	<b>1,6</b>
<b>2021</b>	10,0	<b>1,6</b>
<b>2022</b>	10,0	<b>2,0</b>

Fonte: Ministero dello Sviluppo Economico, D.M. 10 ottobre 2014

# Veicoli a gas naturale in alcuni paesi UE (giugno/luglio 2013)



(\*) dati aggiornati a maggio 2013

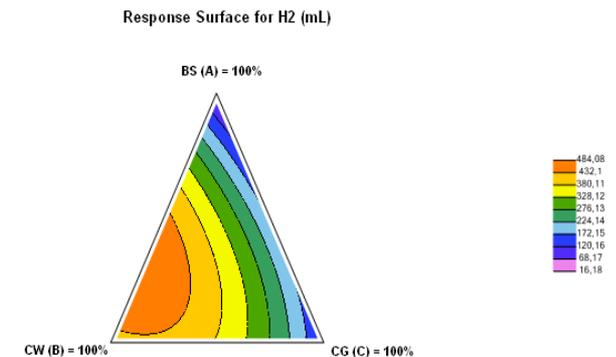
(\*\*) dati aggiornati a dicembre 2012

(\*\*\*) Paesi con più di 1.000 veicoli, nell'ordine: Austria, Paesi Bassi, Ungheria, Spagna, Polonia, Finlandia (maggio 2013), Slovacchia

## 1) ENEA-CRA Brevetto numero PCT/IB2014/059942

Digestione anaerobica a doppio stadio:  
*innovazione di processo e di configurazione di impianto*

- Ottimizzazione statistica della composizione del substrato (effluenti zootecnici, scotta, e glicerolo) per indirizzare il processo
- Separazione delle fasi con produzione separata di idrogeno e metano
- Condizioni di pressione subatmosferiche al primo stadio
- Ricircolo parziale dell' idrogeno al secondo stadio
- Condizioni di mesofilia

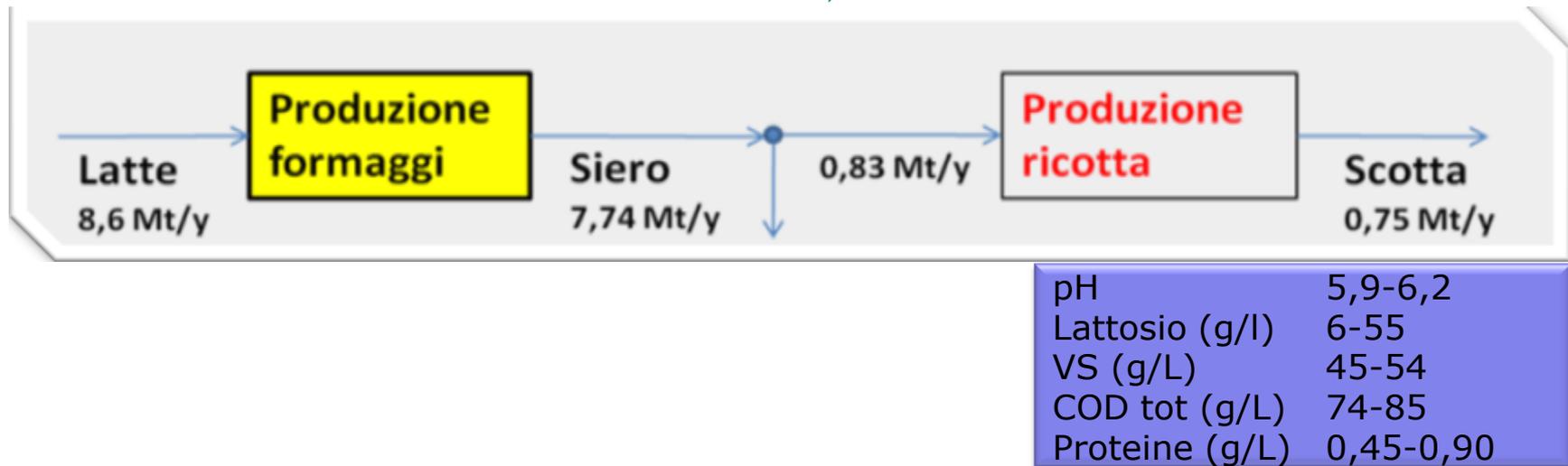


- **Autonomia energetica delle aziende latte-casearie: la scotta**
- **Trattamento dei reflui zootecnici: scarti ad alto contenuto in fibre**
- **Valorizzazione energetica degli scarti ad elevato contenuto di fenoli della filiera olearia**
- **Selezione di inoculi microbici esplorando la biodiversità funzionale di pool microbici presenti in ecosistemi naturali e/o negli scarti**
- **Studio e monitoraggio della composizione e della funzionalità delle comunità microbiche durante i diversi stadi del processo di digestione anaerobica e desolfurazione biologica del biogas**

**Bioraffinerie (IEA):** trasformazione sostenibile di biomassa in uno spettro di prodotti per il mercato e per l'energia

**“Da un processo lineare ad uno ciclico”**

SCARTO  RISORSA



Costi di smaltimento per la Formaggi Boccea s.r.l.: fino a 4,6 euro per t di refluo prodotto (produzione media annua...)



- Ciclizzazione dei processi produttivi
- Smaltimento autonomo dei rifiuti
- Autonomia energetica
- Ritorno economico

# La scotta: caratteristiche dell'impianto CSTR (Continuous Stirred Tank Reactor)



## Inoculo I stadio:

sedimenti marino-costieri o liquame

## Inoculo II stadio:

liquame (20%) + scotta (10g/l lattosio).

## Primo stadio:

Volume di lavoro: 10 L

HRT: 12-24-48 h

T: 37 °C

pH: 5-5,5

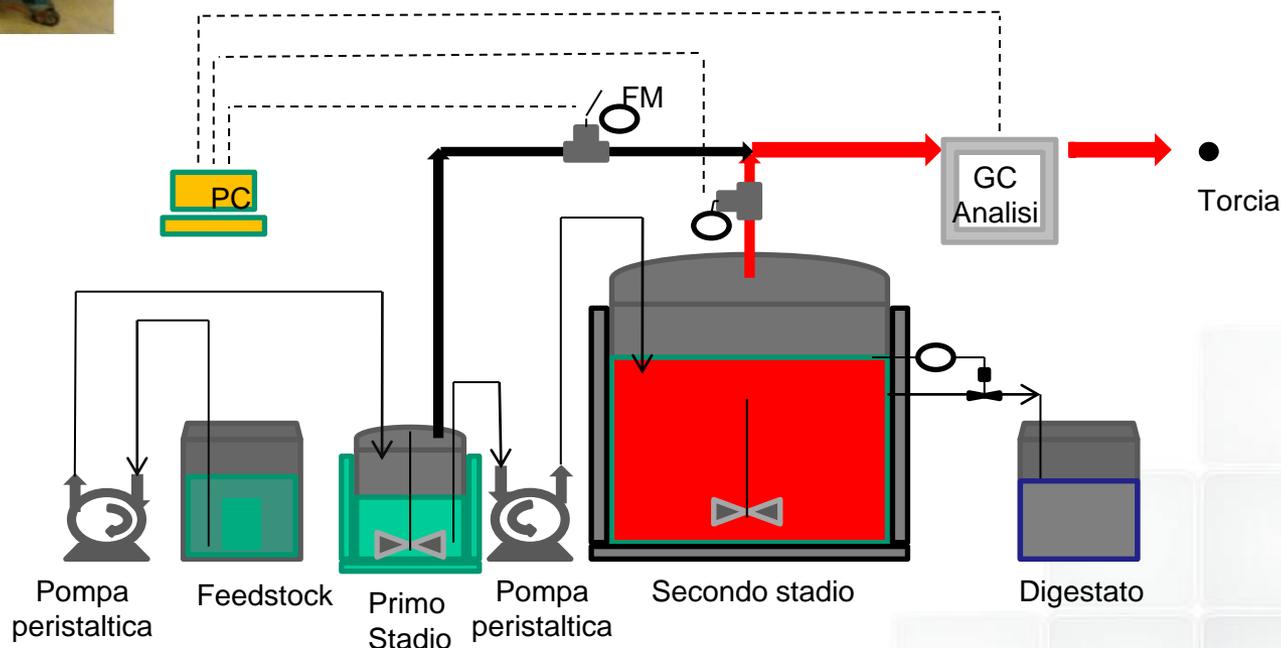
## Secondo stadio:

Volume di lavoro: 51 L

HRT: 7,5-15 d

T: 37 °C

pH: 6,8-7,8



# La scotta: risultati della sperimentazione

- ✓ M1 (10 g/l lattosio); HRT CH<sub>4</sub> = 7,5 giorni; OLR CH<sub>4</sub> = 0.67g<sub>VS</sub>/L reattore \* d
- ✓ B1 (10 g/l lattosio); HRT<sub>H<sub>2</sub></sub> = 24h; HRT<sub>CH<sub>4</sub></sub> = 7,5 d; OLR<sub>H<sub>2</sub></sub> = 1,33g<sub>VS</sub>/L; OLR<sub>CH<sub>4</sub></sub> = 0.67g<sub>VS</sub>/L reattore\* d
- ✓ B2\_H<sub>2</sub> (10 g/l lattosio); HRT<sub>H<sub>2</sub></sub> = 12h; HRT<sub>CH<sub>4</sub></sub> = 7,5 d; OLR<sub>H<sub>2</sub></sub> = 1,33g<sub>VS</sub>/L OLR<sub>CH<sub>4</sub></sub> = 0.67 g<sub>VS</sub>/L reattore \* d

Parametri di processo	M1	B1	B2_H <sub>2</sub>
Flusso H <sub>2</sub> (NL/d)	-	-	3,91 ± 0,50
Flusso CH <sub>4</sub> (NL/d)	9,59 ± 0,54	12,2 ± 0,64	11.6 ± 0,44
H <sub>2</sub> (%)	-	-	39,2 ± 2,0
CH <sub>4</sub> (%)	56,3 ± 0,65	66,8 ± 2,75	58,7 ± 1,2
Resa (NL <sub>H<sub>2</sub></sub> *g <sub>VS</sub> <sup>-1</sup> )	-	-	0,115 ± 0,02
Resa (NL <sub>CH<sub>4</sub></sub> *g <sub>VS</sub> <sup>-1</sup> )	0,28 ± 0,016	0.36 ± 0,02	0,34 ± 0,13
KJ tot/g VS	<b>8,86</b>	<b>11,4</b>	<b>12,0</b>

## Vantaggi del bistadio:

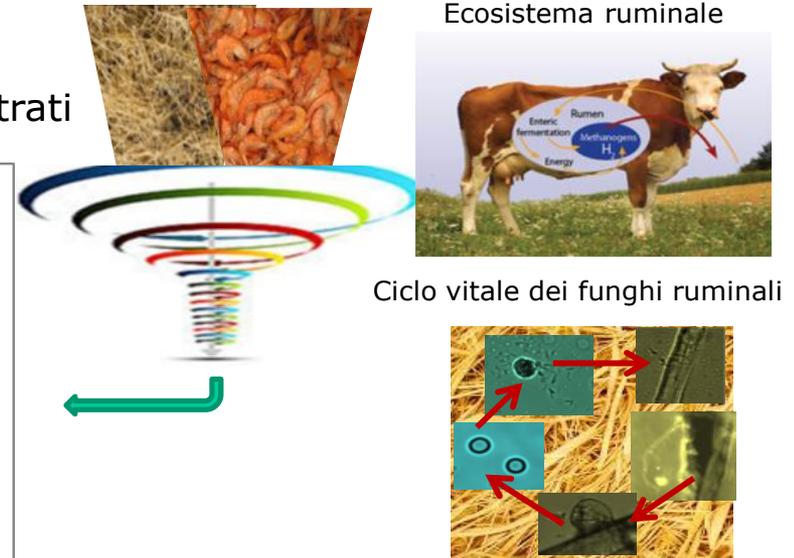
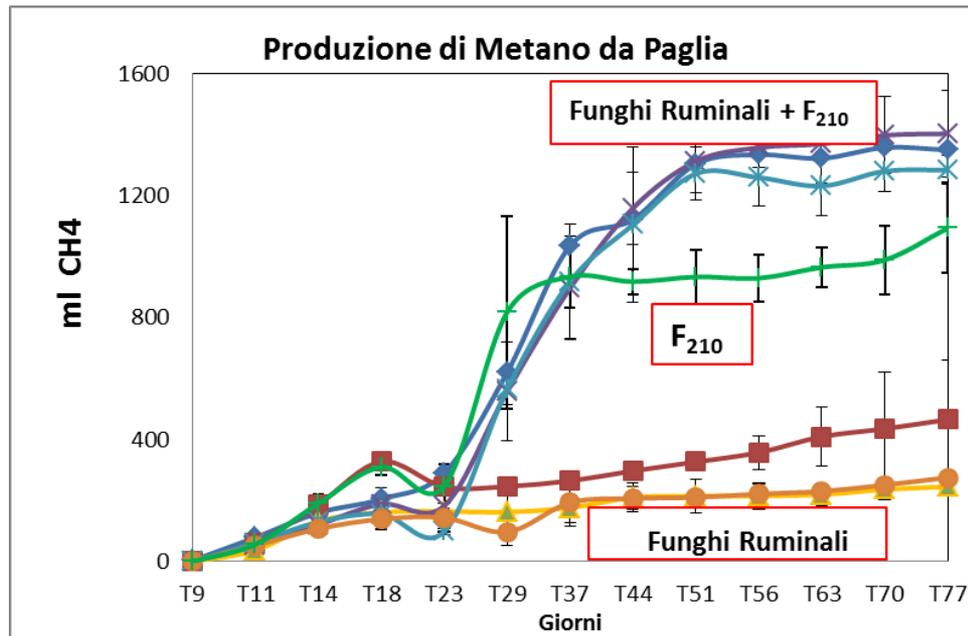
- Incremento della resa energetica anche in assenza di produzione di H<sub>2</sub> (B1)
- Incremento della percentuale di CH<sub>4</sub> nel biogas
- Gestione e controllo del processo sul primo reattore
- Produzione di una miscela arricchita di H<sub>2</sub> (idrometano)

	H <sub>2</sub> (%)	CH <sub>4</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)
Miscela B2_H <sub>2</sub>	11,1 ± 4,33	43 ± 7,3	44,7 ± 3,12

# Trattamento dei reflui zootecnici: scarti ad alto contenuto in fibre

## Utilizzando **funghi ruminali**:

- ✓ si incrementa l'**idrolisi** di biopolimeri resistenti
- ✓ si evitano pretrattamenti costosi e complessi dei substrati

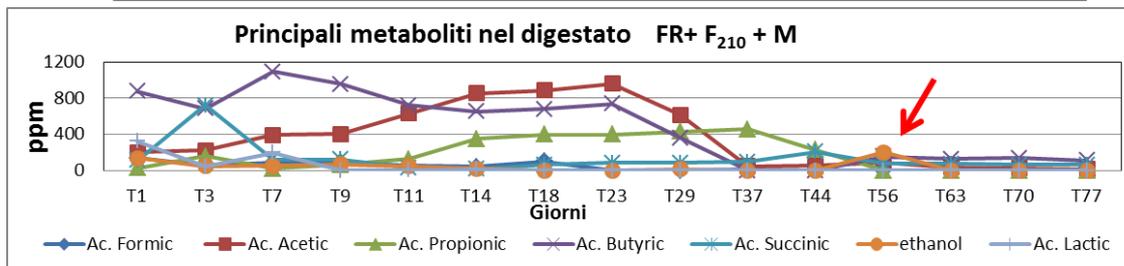


## Utilizzando **funghi ruminali (FR)** in associazione con un **pool microbico fermentante (F<sub>210</sub>)**:

- ✓ Aumenta la quantità di CH<sub>4</sub> prodotta da paglie del 68%
- ✓ Si incrementa la percentuale di CH<sub>4</sub> nel biogas del 5%

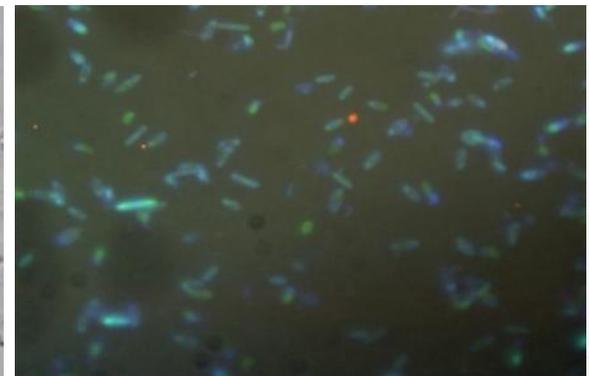
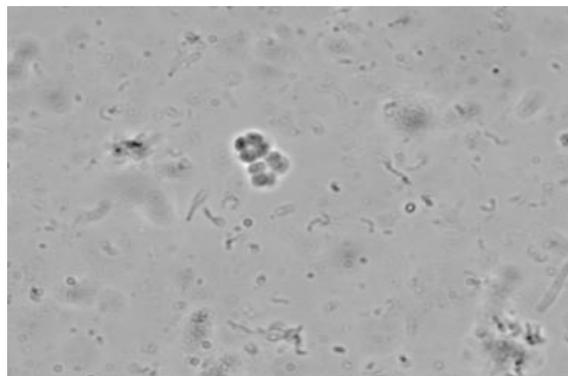
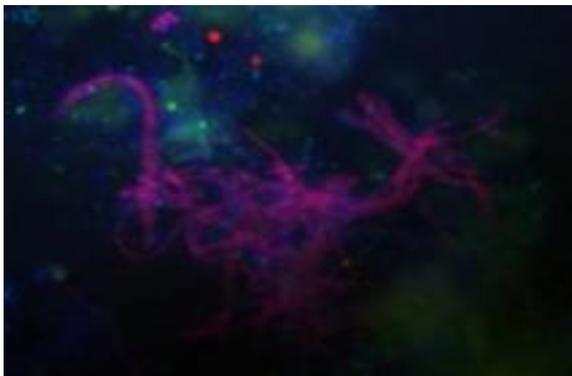
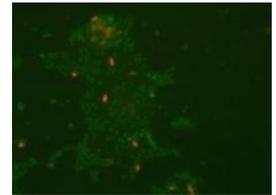
inoltre

- ✓ Si abbattano i metaboliti nel digestato



L'inoculo con Funghi ruminanti + idrogeno produttori  $F_{210}$  incrementa la produzione di metano confermando l'importanza della cooperazione tra gruppi funzionali di microorganismi

- Ceppi di Funghi Ruminanti e Pool Microbici Selezionati possono essere utilizzati per:
  - ✓ incrementare l'efficienza della Digestione Anaerobica
  - ✓ accelerare la fase di avviamento dei reattori
  - ✓ il recupero del processo in caso di malfunzionamenti o fallimenti
- A differenti produzioni di  $CH_4$  corrispondono differenti composizioni della guild di metanogeni acetotrofi
- La dominanza di specifiche componenti microbiche esprime la risultante dei parametri di processo



# Selezione degli inoculi e caratterizzazione delle comunità microbiche con tecniche di biologia molecolare

- Selezione di inoculi microbici esplorando la biodiversità dei microrganismi presenti in natura
- Studio e monitoraggio della composizione e della funzionalità delle comunità microbiche durante i diversi stadi del processo di digestione anaerobica e desolfurazione biologica del biogas

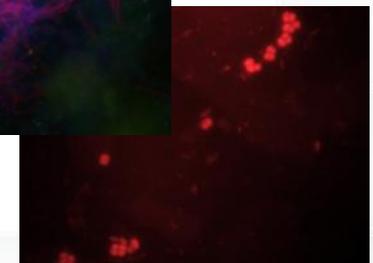
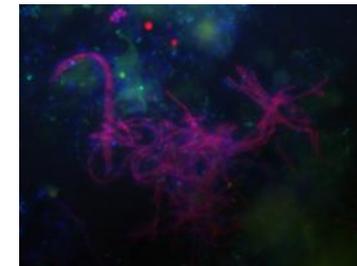
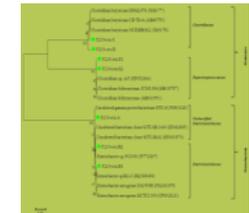
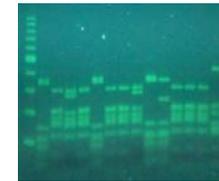


No. Clone	Abundance (%)	Closest relative	no. Accession	Similarity (%)
10	11.11	<i>Klebsiella</i> sp. ANctn2	HQ286642	99-100
3	3.33	Uncultured <i>Klebsiella</i> sp. clone F5feb_43	GQ416012	99
3	3.33	Uncultured <i>Klebsiella</i> sp. clone 5L08	HQ264068	99
5	5.56	<i>klebsiella pneumoniae</i> KCTC2242	CP002910	99
17	18.89	Uncultured bacterium clone 16slp87-10f02.w2k	GQ158955	99-100
1	1.11	<i>klebsiella</i> sp. A18-1 strain A18-1	AB244431	100
1	1.11	<i>Klebsiella pneumoniae</i> strain SF5	JF489150	99
4	4.44	Uncultured <i>Klebsiella</i> sp. Clone F5feb_60	GQ416029	99-100
2	2.22	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i> NTUH-K2044	AP006725	99
2	2.22	Uncultured bacterium clone ncd1468d11c1	JF118845	99
1	1.11	Uncultured bacterium clone ncd1413a11c1	JF122956	99
1	1.11	<i>Klebsiella</i> sp. VITPGPSAA	HM462444	100
2	2.22	Uncultured bacterium clone 16slp87-10d05.p1k	GQ158941	99
5	5.56	<i>Escherichia coli</i> D7-K1 str. CE10	CP003034	99
9	10.00	<i>Escherichia coli</i> UMNK88	CP002729	99
2	2.22	<i>Escherichia coli</i> O111:H	AP010960	99-100
6	6.67	<i>Escherichia coli</i> W	CP002185	99-100
1	1.11	<i>Escherichia coli</i> UM146	CP002167	99
6	6.67	<i>Shigella sonnei</i> strain FBD025	EU009199	99
9	10.00	<i>Cupriavidus metallidurans</i> NBRC-101272	AB681431	99-100

58%  
*Klebsiella*

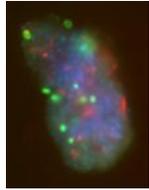
32%  
*Escherichia/Shigella*

10%  
*Cupriavidus*

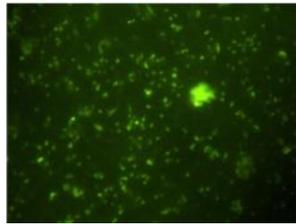
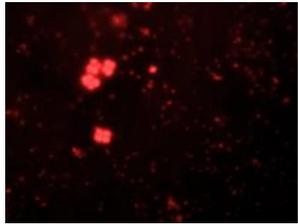
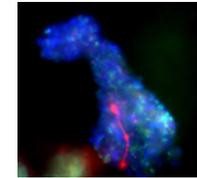


- Costruzione di librerie genomiche del gene 16S rRNA
- Elettroforesi con gradienti denaturati (DGGE)
- Analisi dei frammenti di restrizione del DNA ribosomiale amplificato (ARDRA)
- Fluorescenza con ibridizzazione "in situ" (FISH)

## L'efficienza del processo di DA si basa sulle interazioni sinergiche tra popolazioni microbiche appartenenti ai diversi gruppi funzionali

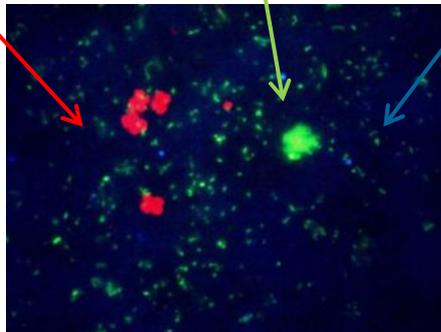


Mediante la tecnica *non colturale* FISH è possibile rilevare le componenti microbiche metabolicamente attive: ogni colorazione evidenzia uno specifico gruppo



### Micrografie relative alla comunità microbica attiva nello stadio a CH<sub>4</sub> dell'impianto pilota ENEA

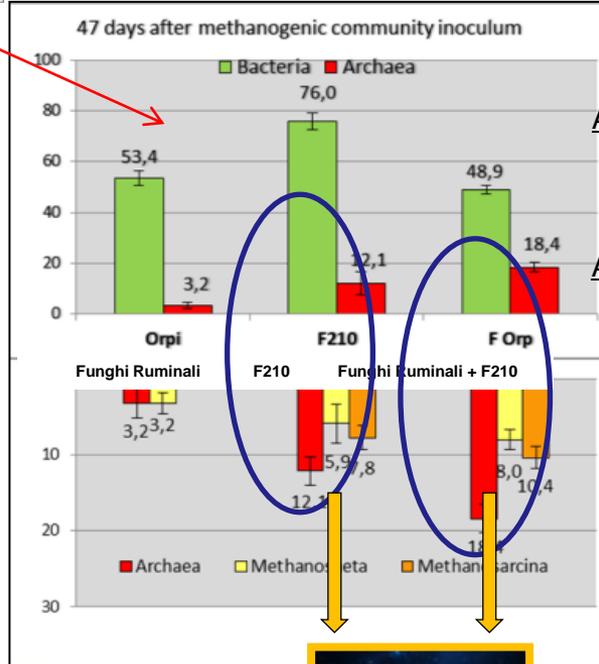
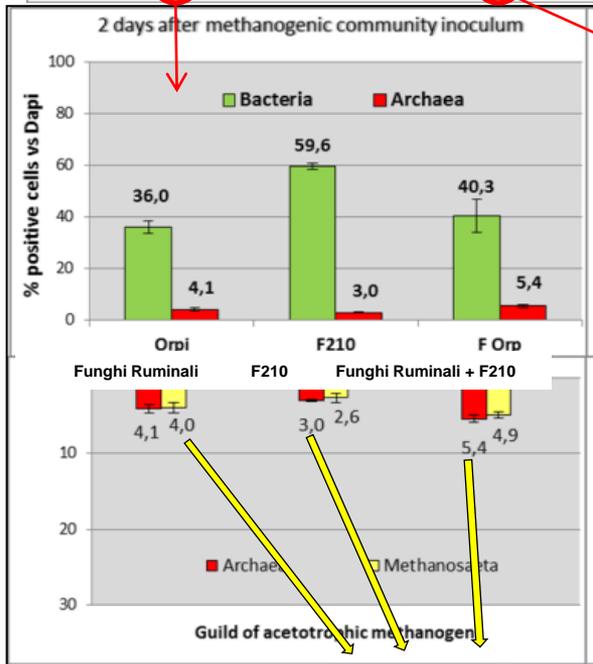
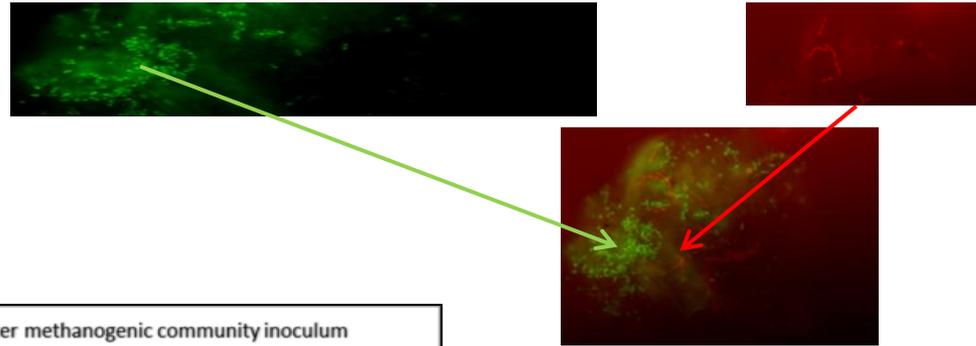
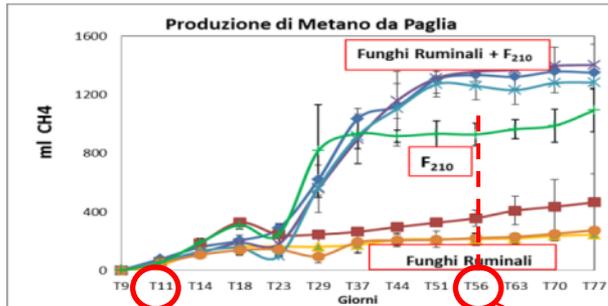
- in rosso batteri del dominio degli Archea (sonda Arch 915);
- in verde batteri del dominio degli Eubacteria (sonde EUB 338, I,II, III);
- in azzurro batteri della famiglia delle Enterobacteriaceae (sonda EBAC), appartenenti al dominio degli Eubacteria



Sovrapposizione delle immagini ottenute per uno stesso campo del microscopio

# Individuazione di parametri microbiologici per il controllo del processo di DA: un esempio sperimentale

Indispensabili per far procedere la DA sono:



Analisi di comunità:

1) *Eubatteri* vs *Archaea* metanoge

Analisi Guild di metanogeni acetotrofi:

2) *Methanosaeta* vs *Methanosarcina*

**INIZIO PRODUZIONE CH<sub>4</sub>**

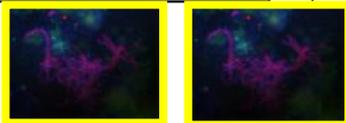
**Solo *Methanosaeta***

Specialisti obbligati nell'uso dell'acetato  
Alta affinità per il substrato

**FINE PRODUZIONE CH<sub>4</sub>**

**Anche *Methanosarcina***

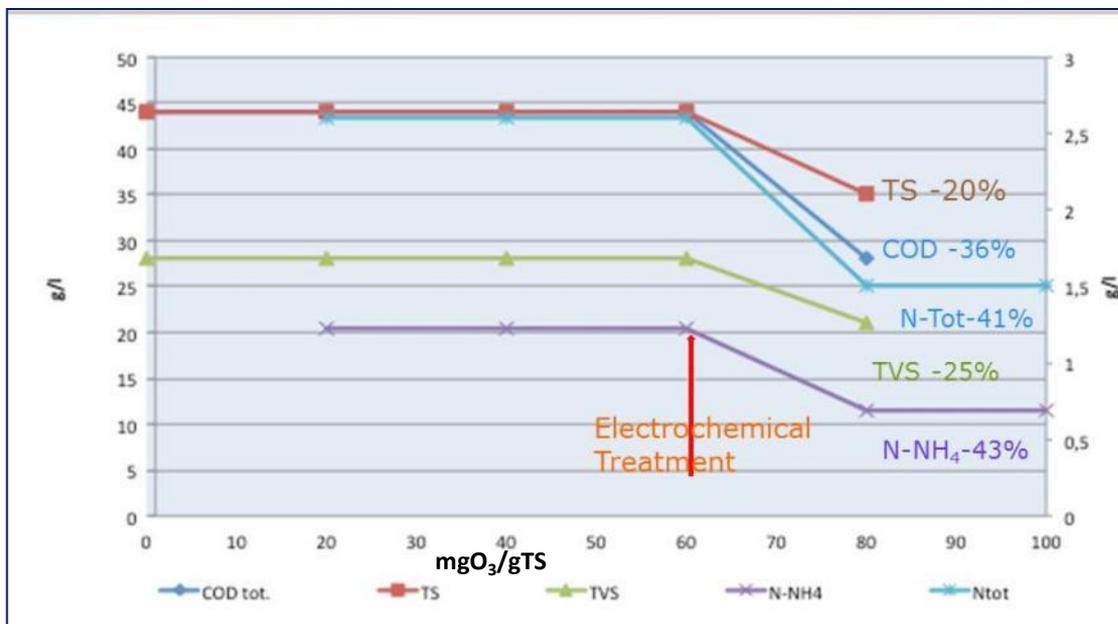
Generalisti nell'uso dell'acetato. In base alla disponibilità possono utilizzare anche metanolo, metilammine e H<sub>2</sub>



## 2) Brevetto ENEA - Università di Roma La Sapienza n. RM2013A000477

### Ottimizzazione di un processo innovativo per la valorizzazione del digestato

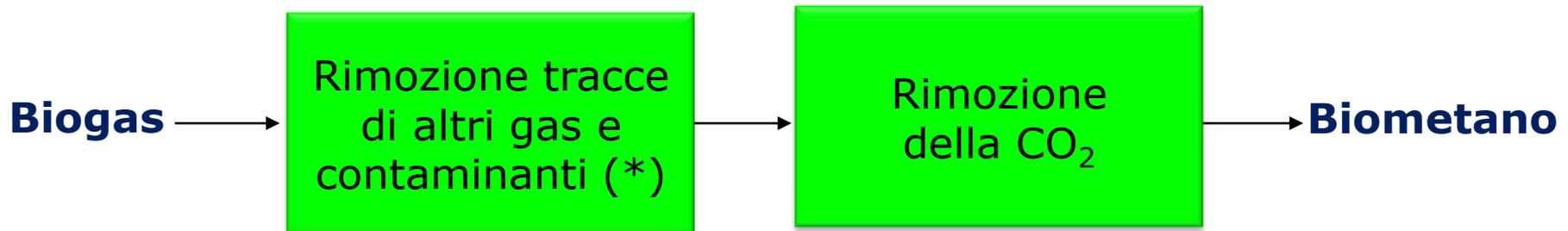
*“Procedimento di rimozione e recupero dell’azoto ammoniacale totale, stabilizzazione e miglioramento delle caratteristiche di filtrabilità di un digestato anaerobico, mediante utilizzo di ozono”.*



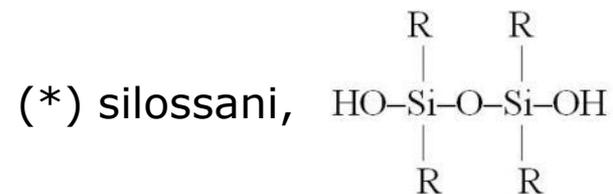
### Peculiarità:

- Recupero dell’azoto
- Processo a Temperatura Ambiente
- Esclusione dei processi biologici di nitrificazione e denitrificazione
- Assenza di emissione di gas clima-alteranti (N<sub>2</sub>O)

- Raffinazione del biogas (55-65% in metano) o gas da discarica (45% in metano) per ottenere biometano ( $\geq 95\%$  in metano, zolfo totale  $< 150 \text{ mg/m}^3$ )
- Generalmente il processo avviene in due stadi successivi:



I punti critici del processo sono i consumi energetici e la presenza di componenti che possono dare origine a fenomeni di corrosione

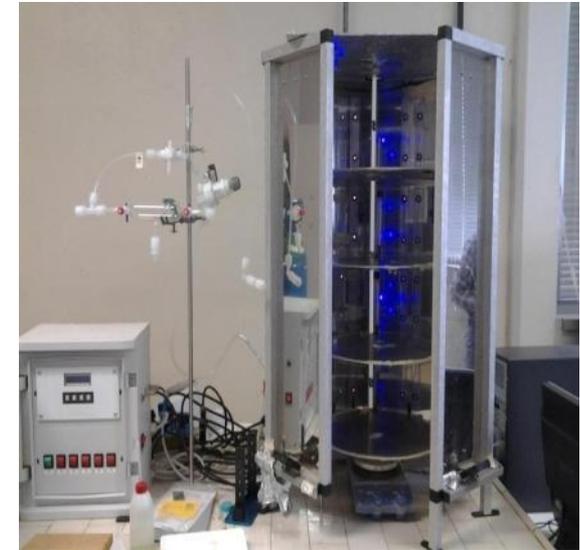
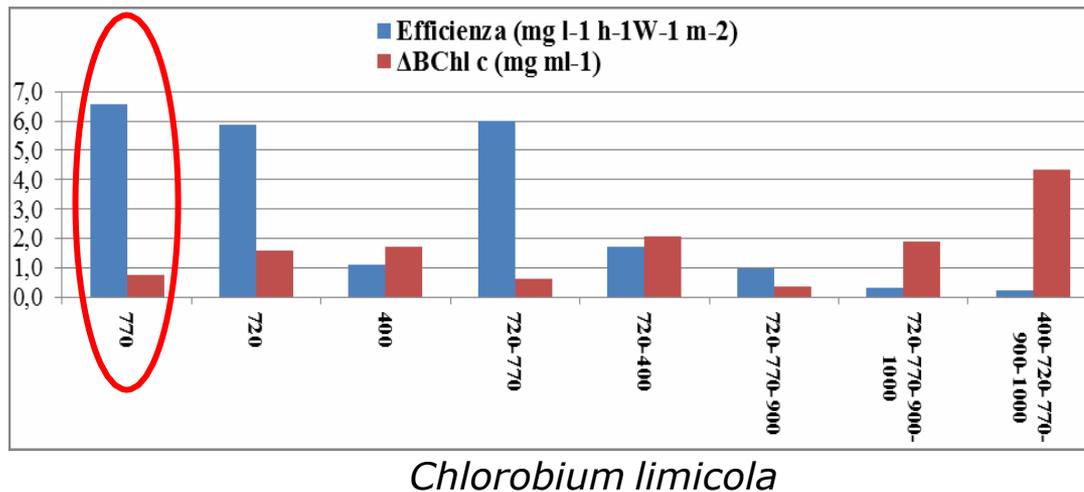


idrogeno solforato, ammoniaca, acqua, azoto, polveri

## 3) Richiesta di brevetto ENEA n. RM2015A000082



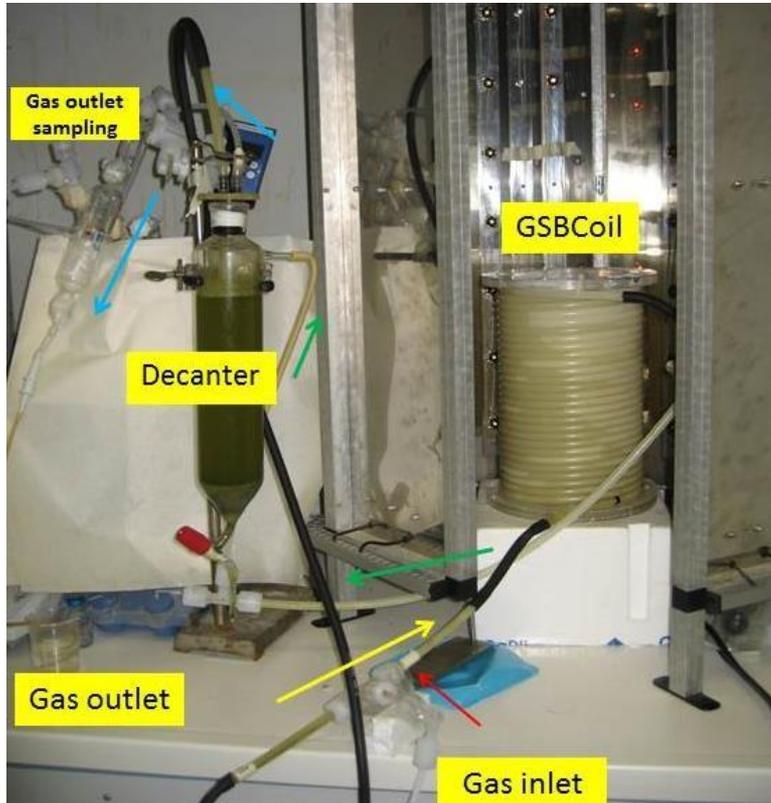
ulteriore ossidazione a SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> in condizioni di eccesso di illuminazione e/o poca disponibilità di H<sub>2</sub>S



- I LED consentono di utilizzare le lunghezze d'onda specifiche riducendo i costi di illuminazione



- I LED che emettono a 770 nm consentono di ottenere valori di efficienza maggiori con un minore incremento in batterioclorofilla. Non si evidenziano effetti sinergici



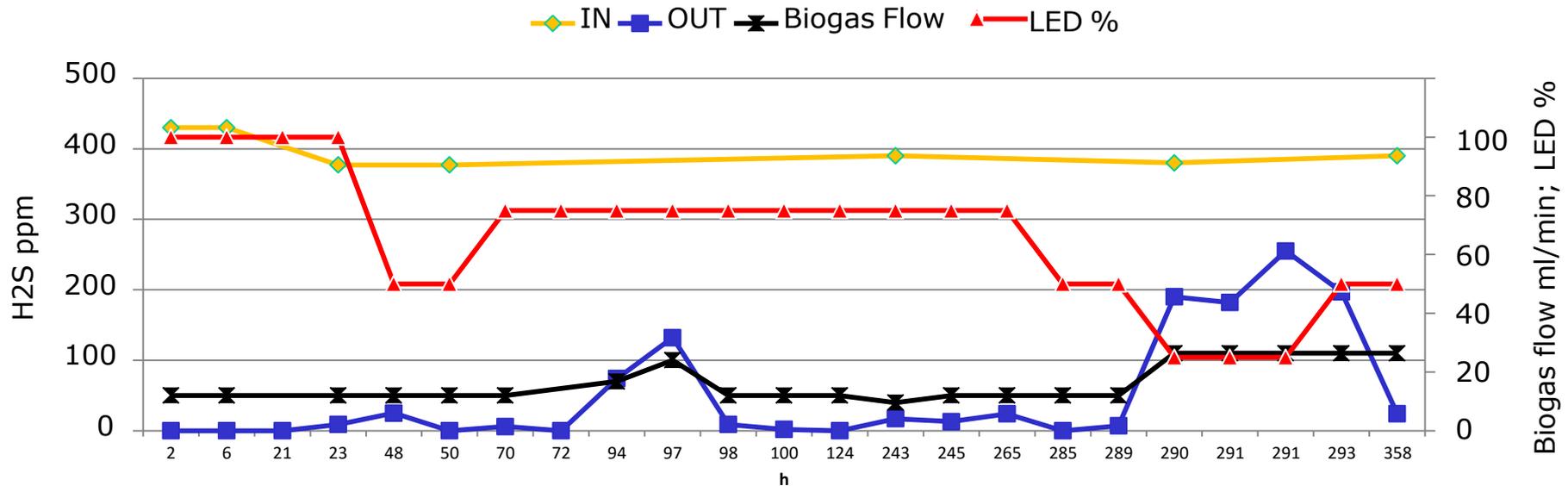
## Dati tecnici

- spirale tubolare di Teflon®-PFA
- pompa peristaltica: HRT di 10-15 min
- Volume Coil: 0,7 l
- Volume decanter: 0,8 l
- l'irradianza: 0,5 W m<sup>-2</sup>
- Monitoraggio di tutti i composti dello zolfo per evidenziare efficienza del sistema
- Analisi molecolari mediante Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) per verificare la purezza e la stabilità dell'inoculo in condizioni di non sterilità

## **E' stato testato in due condizioni sperimentali**

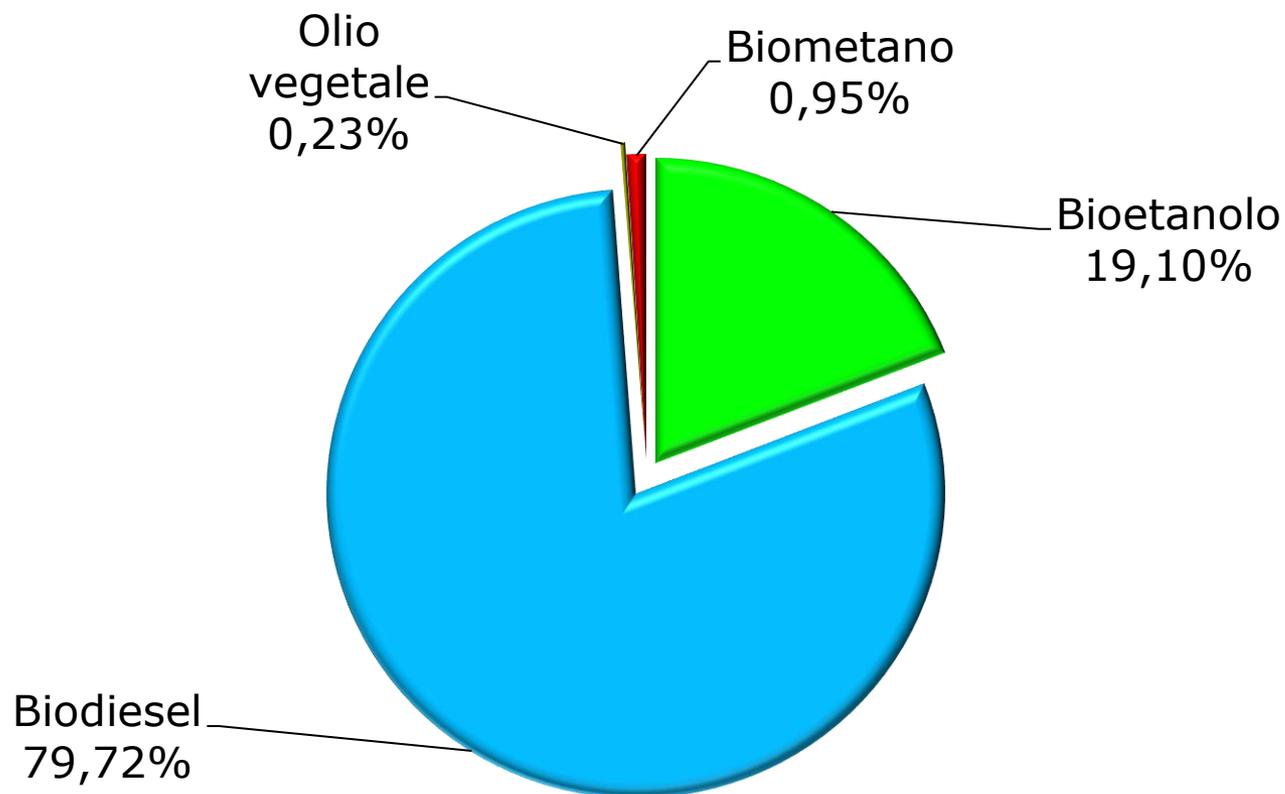
- Biogas sintetico: 2.000 ppm di H<sub>2</sub>S 70 ml min<sup>-1</sup>
- Biogas DA: 400 ppm di H<sub>2</sub>S circa 50 ml min<sup>-1</sup>

# Clean-up biologico: biogas reale 400 ppm di H<sub>2</sub>S



Alimentando il fotobioreattore con biogas a 400 ppm con 0,38 W/m<sup>2</sup> di illuminazione si ottiene il clean-up del 100%, con alcune oscillazioni tra 89 e 98%. Il sistema risponde come previsto alle variazioni di flusso di biogas in entrata e di irradianza

## Consumi percentuali dei diversi biocarburanti nei Paesi dell'Unione Europea (2014)



## 4) Brevetto RM2011A000480 (esteso USA e EPO)

- **Processo** messo a punto da ENEA per la valorizzazione del glicerolo: si basa sulla fermentazione anaerobica da parte di un consorzio microbico selezionato per la produzione di bioetanolo, idrogeno ed intermedi di sintesi di interesse dell'industria chimica utilizzando il glicerolo come unica fonte di carbonio

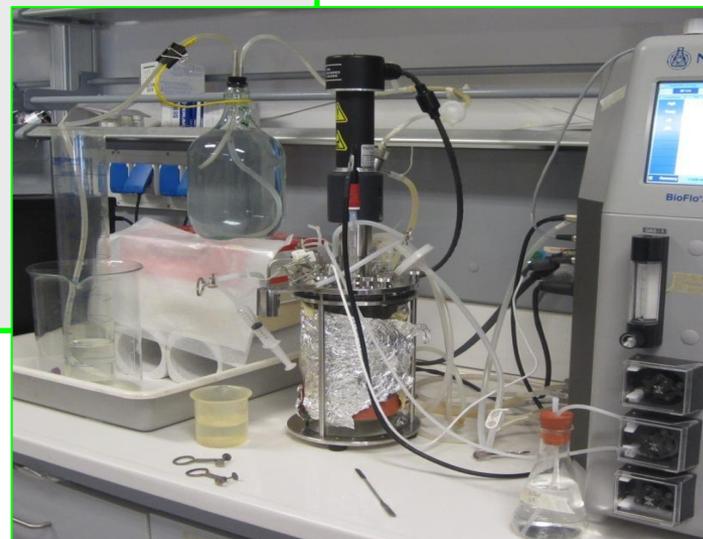


- Sono in corso attività di studio e sperimentazione su circuiti di laboratorio nell'ambito del Progetto Europeo GRAIL, che prevede lo *scaling up* su impianto pilota, con il coinvolgimento di un'impresa nazionale interessata allo sviluppo industriale del processo (Processi Innovativi s.r.l. del Gruppo Technimont)

## Condizioni sperimentali

Fermentazione *fed-batch* in condizioni di non sterilità  
(volume di lavoro 1L)

- Glicerolo Ital Bi Oil: 20 g/l – 40g/l – 60g/l – 80g/l
- Inoculo GCL: 10% (v/v)
- pH iniziale:  $\approx 8.0$
- Agitazione: 120 rpm
- Temperatura: 37°C
- Mezzo di coltura: minimal medium

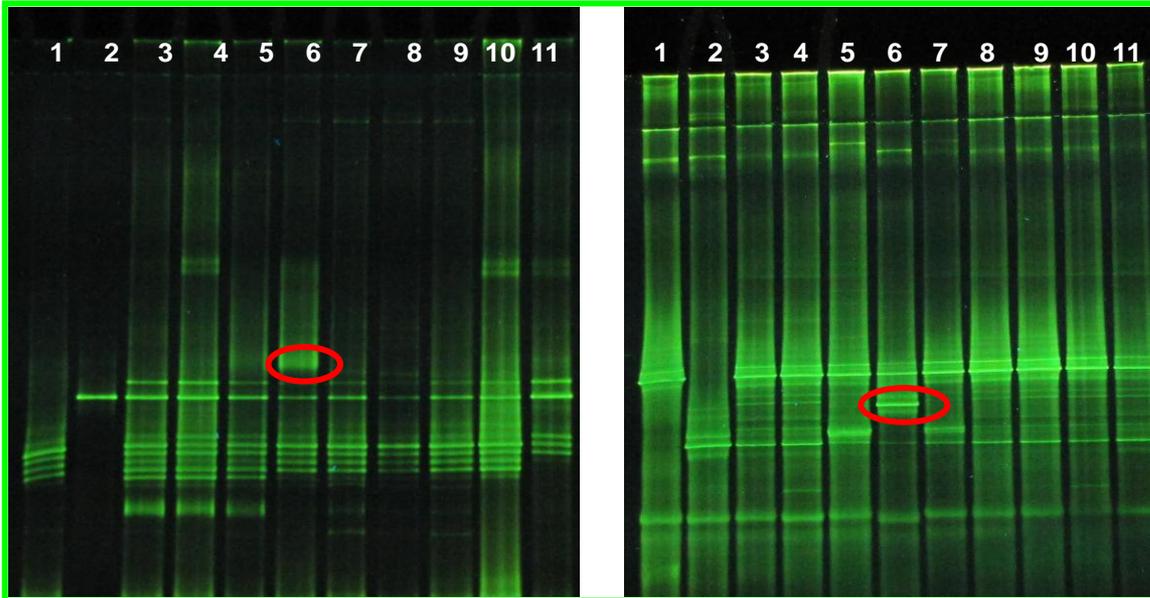


Obiettivo: incrementare la conversione del glicerolo, massimizzando la produzione di idrogeno ed etanolo



Target produzione etanolo:  $\approx 40$  g/L

# Caratterizzazione con DGGE delle comunità di *Klebsiella* ed *E. coli* al termine delle fermentazioni in *fed-batch*



- 1= *klebsiella* community
- 2= *E.coli* community
- 3= activated GCL
- 4= 20\_1
- 5= 20\_2
- 6= 20\_pH
- 7= 40\_1
- 8= 40\_2
- 9= 60
- 10= 80
- 11= activated GCL

Le comunità di *Klebsiella* ed *Escherichia* (idrogeno ed etanolo produttori) si mantengono stabili per l'intera durata delle fermentazioni *fed-batch* conservando il polimorfismo tipico delle loro strutture.

Nella prova 20\_pH è stata identificata una nuova banda appartenente al genere *Clostridium*, non presente nell'inoculo originario

- Origine del *Clostridium*
- Analisi dell'inibizione da etanolo sulla crescita dei batteri dell'inoculo GCL con un modello cinetico
- Valutazione degli effetti del controllo del pH dopo l'alimentazione del bioreattore
- Ottimizzazione della produzione di idrogeno ed etanolo con un processo di fermentazione in continuo (20 g/L e 40 g/L di glicerolo ITB)



**GRAIL**

Glycerol Biorefinery Approach for the Production  
of High Quality Products of Industrial Value

# Grazie per l'attenzione

**Vito Pignatelli, Elena De Luca, Floriana Fiocchetti,  
Giulia Massini, Silvia Rosa, Antonella Signorini**

Laboratorio Biomasse e Biotecnologie per l'Energia  
ENEA - Dipartimento Tecnologie Energetiche  
Divisione Bioenergia, Bioraffineria e Chimica Verde  
C.R. Casaccia - Via Anguillarese, 301  
00123 S.M. di Galeria, Roma

**e-mail: [vito.pignatelli@enea.it](mailto:vito.pignatelli@enea.it)**

