



Università
Ca'Foscari
Venezia

Corso di Laurea Magistrale in
Scienze Ambientali

Tesi di Laurea

*Produzione di acidi grassi volatili e calcolo
dei parametri produttivi da residui di
trebbiatura e fanghi attivi di depurazione*

Relatore

Prof. Francesco Valentino

Laureando

Enrico Muletto

Matricola

886840

Anno accademico

2026/2027

Sommario

Abstract.....	1
1. Introduzione.....	3
1.1 Industria brassicola	8
1.2 Digestione anaerobica.....	12
1.2.1 Fermentazione acidogenica e produzione di VFA	15
1.3 Pretrattamenti.....	21
1.3.1 Pretrattamento termico	22
1.4 Parametri del processo fermentativo.....	24
1.4.1 Substrato e rapporto C/N.....	24
1.4.2 pH.....	26
1.4.3 Temperatura	27
1.4.4 Tempo di ritenzione idraulica (HRT).....	29
1.4.5 Carico organico volumetrico (OLR)	30
1.5 Ruolo del carbone attivo nella fermentazione anaerobica	32
1.6 Ruolo della salinità (NaCl) nella fermentazione anaerobica	37
2. Scopo della tesi.....	40
3. Materiali e metodi.....	41
3.1 Substrati	41
3.2 Piano sperimentale	43
3.3 Monitoraggio della produzione di VFA.....	46
3.4 Determinazione del rendimento e delle cinetiche.....	47
4. Risultati.....	48
4.1 Fermentazione della trebbia non pretrattata.....	48
4.2 Fermentazione della trebbia non pretrattata in ambiente salino	52

4.3 Fermentazione della trebbia con pretrattamento termico in condizioni standard e in ambiente salino	56
4.4 Fermentazione del fango attivo senza pretrattamento in condizioni standard e ambiente salino	62
4.5 Fermentazione del fango attivo pretrattato in condizioni standard e ambiente salino (mesofilia)	67
4.6 Fermentazione del fango attivo pretrattato in condizioni standard e ambiente salino (termofilia)	73
5. Discussione.....	77
6. Conclusioni.....	83
Bibliografia.....	85
Sitografia	90

Abstract

La presente tesi affronta la valorizzazione di scarti in un'ottica di economia circolare, concentrandosi sulla produzione di acidi grassi volatili mediante fermentazione anaerobica di due matrici di scarto, quali la trebbia di birra, derivante dal processo di produzione della birra, e i fanghi attivi di depurazione. L'obiettivo dello studio è stato confrontare la degradabilità e il rendimento produttivo dei due substrati, valutando inoltre l'effetto di differenti pretrattamenti e dell'impiego di quantità crescenti di carbone attivo sulla produzione e sulla composizione degli acidi grassi volatili. La sperimentazione ha previsto sei prove di fermentazione in batch, cinque condotte in condizioni mesofile e una in condizioni termofile, monitorate mediante analisi gascromatografica per quantificare i VFA totali e determinarne la distribuzione.

I risultati relativi alla trebbia di birra hanno evidenziato la presenza di un substrato particolarmente recalcitrante, che in assenza di pretrattamento ha generato una produzione di VFA limitata, mostrando soltanto un moderato incremento in corrispondenza di dosaggi intermedi di carbone attivo. Al contrario, il pretrattamento termico ha determinato un significativo miglioramento del rendimento, mentre l'aggiunta di NaCl ha esercitato un marcato effetto inibitorio sulla cinetica di produzione. La distribuzione degli acidi ha evidenziato andamenti coerenti nelle diverse condizioni prive di sale, suggerendo una maggiore dipendenza dalla natura del substrato che dal pretrattamento applicato.

I fanghi attivi di depurazione si sono invece dimostrati meno recalcitranti rispetto alla trebbia di birra, evidenziando rendimenti di produzione dei VFA più elevati a parità di condizioni operative. Il confronto tra i due substrati, condotto considerando le medesime variabili di processo, conferma pertanto che la scelta della matrice di partenza costituisce

un fattore determinante per l'ottimizzazione della produzione di acidi grassi volatili a partire da materiali di scarto. Nel complesso, i risultati forniscono indicazioni utili per individuare le condizioni operative più favorevoli alla valorizzazione di tali residui.

1. Introduzione

Un'interpretazione del concetto di sostenibilità è fornita dalla *World Commission on Environment and Development (WCED)*, 1987 che la definisce come uno sviluppo in grado di soddisfare i bisogni del presente senza compromettere la capacità delle generazioni future di soddisfare i propri bisogni. Rispettare e preservare il concetto di sostenibilità rappresenta al giorno d'oggi un'impresa piuttosto ardua.

L'attuale modello di sviluppo economico globale si basa sul consumo crescente di risorse naturali, nonostante da tempo risulti insostenibile per il Pianeta. Secondo il *Global Resources Outlook* (ONU, 2024) l'utilizzo delle risorse naturali sta generando una crisi globale che si manifesta principalmente su tre fronti: cambiamento climatico, perdita di biodiversità e inquinamento. Nel 1970, l'estrazione globale di materiali era pari a 30 miliardi di tonnellate, mentre nel 2024 aveva raggiunto 106,6 miliardi di tonnellate. Anche la domanda pro capite di materiali è aumentata passando da 8,4 a 13,2 tonnellate nello stesso periodo temporale. Tra le diverse categorie di risorse, la biomassa, che include colture agricole, biomassa pascolata, legname e catture selvatiche, riveste un ruolo fondamentale, ponendo al contempo rilevanti criticità nel perseguimento dello sviluppo sostenibile. Tra il 1970 e il 2020 la sua estrazione è passata da 12,6 a 24,8 miliardi di tonnellate, registrando una crescita annua dell'1,3 %. Nello stesso arco temporale il raccolto agricolo è cresciuto del 2,2 % annuo e oggi rappresenta circa il 40 % del totale della biomassa. Una crescita analoga ha interessato la biomassa pascolata, mentre l'estrazione di legname è passata da 1 a 4 miliardi di metri cubi, con un incremento annuo del 2 %. Le coltivazioni e i raccolti sono responsabili del 90 % della perdita di biodiversità, principalmente a causa dello stress idrico e all'utilizzo del suolo.

L'Unione europea, nello specifico, si trova ad affrontare sfide crescenti e strutturate che compromettono la resilienza degli ecosistemi. Sebbene recentemente siano stati conseguiti risultati significativi, tra cui la riduzione delle emissioni inquinanti industriali, il miglioramento della qualità dell'aria e delle acque a livello locale e l'adozione di una gestione più strutturata dei rifiuti, il capitale naturale europeo continua a evidenziare condizioni di marcata sofferenza. Circa il 60 % delle specie protette e il 77 % degli habitat versa, infatti, in uno stato di conservazione sfavorevole, rendendo necessari interventi straordinari per cercare di migliorare la situazione (The European environment, 2015).

Per affrontare questa situazione nasce Agenda 2030, ovvero un piano d'azione stilato dall'Organizzazione delle Nazioni Unite (ONU) e sottoscritto nel 2015 dai governi di 193 Paesi membri. L'Agenda 2030 assume come riferimento la definizione di sostenibilità precedentemente citata e concretizza la volontà di contrastare un sistema divenuto chiaramente insostenibile attraverso una strategia basata su 17 obbiettivi interconnessi (www.mase.gov.it).

Per affrontare i limiti strutturali del modello economico lineare, fondato sull'estrazione e sul consumo intensivo di risorse, l'Unione europea ha elaborato anche un quadro strategico integrato, incentrato sul Green Deal europeo, una strategia volta a ridurre le emissioni e a raggiungere la neutralità climatica entro il 2050 (commission.europa.eu/index_it), e sul Nuovo piano d'azione per l'economia circolare (CEAP). Tale approccio mira a trasformare i cicli produttivi in sistemi rigenerativi, favorendo la valorizzazione dei flussi di scarto e promuovendo iniziative di ecoprogettazione orientate a estendere la durabilità, la riparabilità e la riciclabilità dei prodotti (www.europarl.europa.eu/portal/it) (Alnafra et al., 2025; Spani, 2020).

L'obiettivo della transizione consiste nello sviluppo di una bioeconomia circolare, volta a sostituire le materie prime fossili con risorse biologiche rinnovabili, in linea con i principi della green chemistry. Numerosi Paesi hanno integrato nuove direttive nelle proprie strategie, mostrando una crescente attenzione alla valorizzazione delle risorse biologiche, riconosciute come leva strategica per la ripresa economica dei territori nel rispetto dell'ambiente (Albinelli et al., 2024; Pappalettera, 2024).

La linea strategica adottata, definita dalla direttiva quadro sui rifiuti, si fonda su una precisa gerarchia di gestione dei rifiuti che stabilisce una priorità operativa basata sulla prevenzione della produzione del rifiuto come scelta ottimale, seguita dalla predisposizione al riutilizzo, dal riciclo e dal recupero, lasciando lo smaltimento in discarica come ultima opzione residuale (The European environment, 2015).

I dati a livello europeo mostrano che, tra il 2004 e il 2012, la produzione pro capite di rifiuti, a esclusione di quelli minerari, si è ridotta di circa il 7 %. Tuttavia, la persistenza di modelli di business lineari e l'incremento dei consumi continuano a rappresentare ostacoli significativi al conseguimento di una piena dissociazione tra crescita economica e consumo di risorse (Alnafrh et al., 2025; The European environment, 2015). In tale prospettiva, il CEAP si propone di introdurre requisiti rigorosi lungo l'intero ciclo di vita dei materiali, con particolare attenzione agli imballaggi, alle materie plastiche e alla filiera agroalimentare (Spani, 2020).

Nel complesso dei residui generati, i sottoprodotti e i rifiuti dell'industria agroalimentare rivestono un'importanza strategica per lo sviluppo delle bioraffinerie. In Europa, la produzione annua di scarti derivanti dalla lavorazione degli alimenti è stimata in circa 250 milioni di tonnellate. Rispetto ad altre categorie di rifiuti urbani o civili, queste matrici organiche presentano vantaggi come una composizione chimica e fisica

relativamente omogenea e stabile nel tempo oltre che un'elevata concentrazione di macromolecole di interesse e di composti bioattivi (Fava et al., 2015; Shawky et al., 2025). Tradizionalmente, una quota considerevole di questi scarti viene destinata a impieghi a basso valore aggiunto, quali lo spandimento diretto sul suolo e l'alimentazione zootecnica, oppure avviata allo smaltimento, con conseguenti costi elevati per le imprese e ripercussioni negative sulla sostenibilità del settore. La bioeconomia circolare contemporanea promuove, al contrario, l'adozione di modelli di bioraffinazione integrata, nei quali trattamenti fisici, chimici e biologici condotti in sequenza consentono di recuperare dapprima le molecole a maggiore valore aggiunto e di destinare successivamente i residui esausti alla produzione di bioenergia e al reintegro dei nutrienti nel suolo sotto forma di fertilizzanti organici (Fava et al., 2015).

L'evoluzione dal modello economico lineare verso un paradigma circolare ha richiesto un profondo rinnovamento per quanto riguarda il quadro normativo/legislativo relativo ai materiali residui. La Direttiva 2008/98/CE, nota come Waste Framework Directive o Direttiva quadro sui rifiuti, costituisce il principale strumento normativo dell'Unione europea in materia di gestione, prevenzione e riciclaggio dei rifiuti negli Stati membri. Essa definisce obiettivi vincolanti volti a ridurre gli impatti ambientali e sulla salute umana associati alla produzione e all'accumulo dei rifiuti, promuovendo contemporaneamente una gestione più sostenibile delle risorse (The European environment, 2015). I vincoli di riciclaggio per quanto riguarda i rifiuti urbani sono fissati al 60 % entro il 2030 e al 65 % entro il 2035, imponendo al contempo il divieto di conferimento in discarica per rifiuti biodegradabili e riciclabili. Per attuare tali misure, la Direttiva quadro rafforza il principio della responsabilità estesa del produttore (EPR),

imponendo ai fabbricanti di assumere, sotto il profilo finanziario e organizzativo, la gestione dei propri prodotti al termine del loro ciclo di vita (Zalunardo, 2017).

In tale contesto, assume particolare rilevanza la distinzione giuridica tra rifiuto e sottoprodotto, poiché da essa dipende l'applicazione delle norme di controllo ambientale a un determinato materiale oppure la possibilità di immetterlo liberamente sul mercato come risorsa dotata di valore. A livello nazionale nel Testo Unico Ambientale (d.lgs.152/06), un rifiuto, viene definito come qualsiasi oggetto o sostanza di cui il detentore si disfi o abbia l'intenzione o abbia l'obbligo di disfarsi. Un sottoprodotto invece è considerato tale se soddisfa requisiti specifici: l'origine da un processo di produzione di cui costituisce parte integrante e il cui scopo non è la produzione di tale sostanza, la certezza che l'oggetto sarà utilizzato in un ulteriore processo produttivo, la possibilità di essere utilizzato senza alcun trattamento diverso dalla normale pratica industriale e il suo impiego non deve compromettere la salute umana e gli ecosistemi. La differenza tra le due qualifiche definisce il confine tra un costo ambientale e un'opportunità di reddito.

1.1 Industria brassicola

L'industria della birra rappresenta un settore economico di grande rilevanza. La birra, infatti, è una delle bevande più consumate al mondo dopo l'acqua, il latte, il tè e il caffè (Olajire, 2020), con una produzione globale compresa tra 1,91 e 1,97 miliardi di ettolitri all'anno (Hejna, 2022). Negli ultimi decenni, le organizzazioni internazionali hanno istituito sistemi volti a promuovere l'adesione di tutti i Paesi ai principi della sostenibilità ambientale. Le questioni ambientali costituiscono, infatti, un fattore sempre più importante per risultare competitivi nell'industria moderna (Olajire, 2020). La produzione su larga scala comporta la gestione di ingenti quantità di sottoprodotti organici, la cui valorizzazione è diventata una priorità non solo ambientale, ma anche economica (Hejna, 2022; Rachwał et al., 2020).

Il processo tradizionale di produzione della birra prevede la trasformazione delle materie prime, acqua, malto d'orzo, luppolo e lievito, nel prodotto finale, attraverso un processo articolato in più fasi (Hejna, 2022; Rachwał et al., 2020):

- macinazione del malto: il malto viene sottoposto a macinazione al fine di rompere i chicchi e favorire l'estrazione degli zuccheri;
- ammostamento: il malto viene miscelato con acqua calda e l'azione enzimatica determina la conversione dell'amido in zuccheri fermentabili e non fermentabili;
- filtrazione: il mosto zuccherino viene separato dai residui solidi del malto;
- bollitura: il mosto viene portato a ebollizione insieme al luppolo, così da garantire la sterilizzazione, favorirne la concentrazione, inattivare gli enzimi e conferire alla birra il caratteristico gusto amaro;
- separazione del "trub" e raffreddamento: i residui di luppolo e le proteine coagulate vengono rimosse. Successivamente, il mosto viene raffreddato;

- fermentazione: al mosto viene inoculato il lievito, il quale converte gli zuccheri in alcol etilico e anidride carbonica;
- maturazione e confezionamento: la birra viene sottoposta a un periodo di maturazione, eventualmente filtrata e, infine, confezionata in bottiglie o fusti.

Nella Figura 1 viene rappresentato il bilancio di massa che mette in luce gli input di acqua ed energia, oltre che gli output relativi a sottoprodotti, effluenti liquidi ed emissioni atmosferiche. A livello globale i sottoprodotti che vengono generati sono molto simili, con alcune possibili differenze nella composizione in base alla località di produzione.

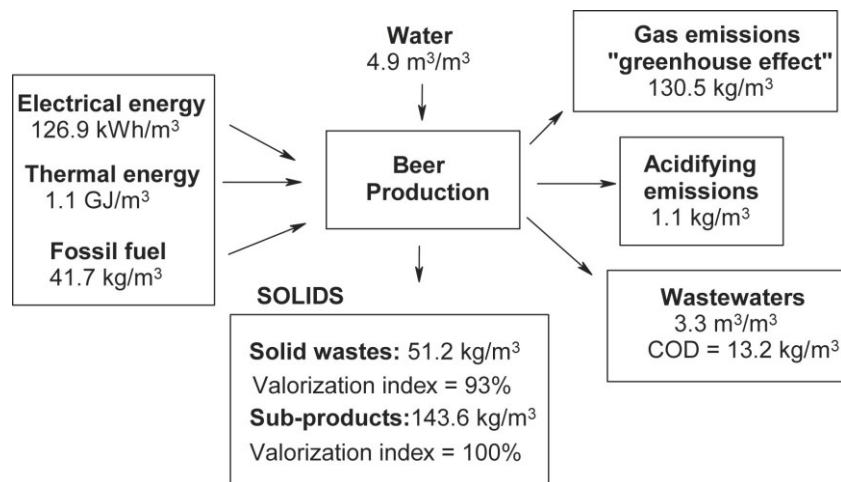


Figura 1. Bilancio di massa nella produzione di birra (Olajire, 2020)

In relazione alle fasi di produzione precedentemente descritte, i principali sottoprodotti dell'industria birraia sono rappresentati dalle trebbie esauste (BSG), dai residui di lavorazione rimossi al termine della bollitura e dal lievito esausto (Hejna, 2022; Olajire, 2020). Le trebbie costituiscono circa l'85 % dei residui solidi complessivamente generati durante il processo produttivo. Esse sono costituite prevalentemente dal materiale solido residuo di malto d'orzo (o altri cereali) che permane dopo l'ammontamento e la successiva filtrazione (Castilla-Archilla et al., 2021; Guarda et al., 2021; Hejna, 2022; Rachwał et al., 2020). In termini quantitativi, è stato stimato che per ogni ettolitro di birra prodotto si

generino circa 15-20 kg di trebbia umida, corrispondenti, su scale globale, a quasi 12 milioni di tonnellate annue.

La trebbia è un materiale lignocellulosico eterogeneo la cui composizione può variare leggermente in funzione della qualità delle materie prime impiegate e dalle condizioni di ammostamento. È costituita principalmente da fibre e carboidrati, presenti in percentuali comprese tra il 40 e il 70 %, suddivisi in cellulosa (12-25 %), emicellulosa (28 % ca.) e lignina (12-28%). La BSG rappresenta inoltre una fonte proteica, con valori compresi tra il 20 e il 30 %, una fonte lipidica pari al 10-12 % e una componente inorganica costituita da ceneri, presente in percentuali variabili tra il 2 e l'8 % (Guarda et al., 2021; Hejna, 2022; Rachwał et al., 2020).

Sebbene la trebbia sia generalmente considerata un residuo a basso valore aggiunto, la sua elevata disponibilità ne favorisce il recupero e la valorizzazione in diversi ambiti, contribuendo alla sostenibilità e ai principi dell'economia circolare. Nell'industria mangimistica, ad esempio, viene ampiamente impiegata come alimento per animali grazie all'elevato contenuto di proteine e fibre. Anche nel settore alimentare umano può essere utilizzata con l'obiettivo di incrementare il tenore proteico e fibroso di specifici prodotti (Hejna, 2022; Rachwał et al., 2020). Nell'ambito della bioraffineria, infine, la BSG può essere sottoposta a fermentazione anaerobica per ottenere VFA, ossia precursori fondamentali per la produzione di bioplastiche (BHA) e biocarburanti (Castilla-Archilla et al., 2021; Guarda et al., 2021).

L'applicazione della BSG per la produzione di VFA introduce nuove sfide operative e biologiche che potenzialmente possono portare ad una fonte di guadagno dal punto di vista economico ma anche nell'ottica dell'economia circolare. La composizione strutturale della trebbia, esposta in precedenza, prevede uno stretto legame di

emicellulosa e cellulosa con la lignina, rendendola altamente recalcitrante alla degradazione microbica. In tale contesto si rende necessario l'introduzione dei pretrattamenti finalizzati a disgregare la matrice lignocellulosica, migliorando la solubilizzazione e convertendo in un liquido ricco di zuccheri accessibili e nutrienti, in maniera tale da poter proseguire con la fermentazione (Atasoy et al., 2018; Castilla-Archilla et al., 2021).

1.2 Digestione anaerobica

La digestione anaerobica è un processo biochimico complesso e degradativo che avviene in assenza di ossigeno, dove una comunità microbica mista scompone la materia organica biodegradabile (Zamel et al., 2026). Questo processo può avvenire in condizioni naturali, ma viene ampiamente sfruttato in reattori chiamati digestori dove i rifiuti di tipo organico subiscono una degradazione completa e vengono trasformati in risorse come il biogas, un combustibile ricco di metano e anidride carbonica, e il digestato, un effluente residuo impiegato come fertilizzante perché ricco di nutrienti (Zamel et al., 2026). Sebbene lo scopo della digestione anaerobica sia la produzione di questi due composti, in questo contesto sfrutta la conversione della frazione organica complessa dei residui agroindustriali e scarti di impianti di depurazione per produrre composti ad elevato valore aggiunto, come ad esempio gli acidi grassi volatili (VFA) impiegati industrialmente nella produzione di materiali plastici. Quando questo processo viene indirizzato intenzionalmente verso la produzione di VFA viene inibita la fase finale di produzione di metano. Normalmente la digestione anaerobica è costituita da quattro stadi consequenziali e sinergici, quali idrolisi, acidogenesi, acetogenesi e metanogenesi, ciascuno attuato da gruppi specifici di microrganismi (Li et al., 2011; Varghese et al., 2022).

L'idrolisi è la prima fase in cui macromolecole organiche complesse e insolubili, come carboidrati, proteine e lipidi vengono depolimerizzate per ottenere monomeri solubili come zuccheri semplici, acidi grassi a catena lunga e amminoacidi, ad opera di enzimi extracellulari e batteri fermentanti. La cinetica di reazione segue un modello di primo ordine con equazione:

$$(-r) = k * S \quad (1)$$

dove:

- $(-r)$ è la velocità di idrolisi specifica
- k è la costante cinetica di idrolisi
- S è la concentrazione di substrato presente

Il valore di k varia in funzione della tipologia di substrato con cui si opera. I residui di trebbiatura considerati in questa tesi sono composti per la maggior parte di lignina e cellulosa oltre che proteine e lipidi, che hanno strutture difficili da degradare con valori di k molto minori rispetto ai carboidrati, di conseguenza rendono l'idrolisi il fattore limitante dell'intero processo (Meegoda et al., 2018; Zamel et al., 2026). Per migliorare l'efficienza del processo è possibile pretrattare in maniera fisica o chimica il substrato, oppure integrare enzimi o sostanze chimiche che promuovono l'idrolisi (Bhatia & Yang, 2017; Sarkar et al., 2026). Ad esempio Sarkar et al. (2020) evidenziano come una certa quantità di sale possa influire sulla disponibilità dei nutrienti e sull'attività enzimatica, portando dei benefici dal punto di vista dell'aumento della solubilizzazione, del trasporto di substrato e di un effetto tampone.

I prodotti dell'idrolisi passano alla fase successiva del processo detta acidogenesi dove vengono assimilati da batteri acidogeni e fermentanti che li convertono in un'ampia gamma di prodotti intermedi, tra cui gli acidi grassi volatili (VFA), alcoli, idrogeno e anidride carbonica (Bastidas-Oyanedel et al., 2015; Meegoda et al., 2018). Le condizioni ottimali di lavoro si ottengono con un pH intorno a 7, questo perché lavorare in condizioni estreme ($\text{pH} < 3$ e $\text{pH} > 11$) provoca una spiccata differenziazione degli acidi prodotti a discapito però di un forte effetto inibitorio sulle comunità microbiche (T. Jin et al., 2026). Successivamente i prodotti intermedi dell'acidogenesi che presentano più di due atomi di carbonio, come acido propionico e acido butirrico, passano alla fase di acetogenesi dove

sono ossidati nuovamente da batteri acetogeni produttori di acetato, idrogeno molecolare e anidride carbonica (Meegoda et al., 2018; Zamel et al., 2026). Per la conversione dei VFA in acetato però è necessario mantenere una pressione parziale di idrogeno molto bassa essendo la reazione termodinamicamente sfavorevole. Questo diventa realizzabile grazie a batteri metanogeni idrogenotrofi che riescono a consumare rapidamente l'idrogeno prodotto (Meegoda et al., 2018; Zamel et al., 2026). Le condizioni ottimali in cui l'acetogenesi procede in maniera efficace si ottengono ad un intervallo di pH compreso tra 6,5 e 7,2 (Zamel et al., 2026).

Per le fasi di acidogenesi e acetogenesi la velocità specifica di crescita dei microrganismi segue il modello di Monod:

$$\mu = \mu_{\max} * \left(\frac{S}{K_S + S} \right) - K_d \quad (2)$$

dove:

- S è la concentrazione di substrato limitante
- $\mu_{\max}$ è la velocità di crescita specifica massima
- K_S è la costante di semisaturazione
- K_d è il coefficiente di decadimento endogeno

La metanogenesi è la fase conclusiva della digestione anaerobica, durante la quale si formano metano e anidride carbonica. Questa fase può seguire due vie metaboliche distinte caratterizzate da specie batteriche che utilizzano substrati differenti (Meegoda et al., 2018; Zamel et al., 2026). La via acetoclastica consiste nella scissione dell'acetato in metano e anidride carbonica. Dal punto di vista cinetico anche questo processo viene rappresentato dall'equazione di Monod ma modificata tenendo in considerazione il possibile effetto di inibizione, come ad esempio quello per eccesso di substrato:

$$\mu = \mu_{\max} * \left(\frac{S}{K_S * (1 + I * K_i) + S} \right) - K_d \quad (3)$$

dove:

- S è la concentrazione di substrato limitante
- $\mu_{\max}$ è la velocità di crescita specifica massima
- K_S è la costante di semisaturazione
- I è la concentrazione della specie inibente
- K_i è il coefficiente di semisaturazione riferito al composto inibente

La via idrogenotrofa, invece, prevede la riduzione dell'anidride carbonica da parte dell'idrogeno con conseguente produzione di metano e acqua. Il processo sotto l'aspetto cinetico viene rappresentato dall'equazione di Monod a due substrati:

$$\mu = \mu_{\max} * \left(\frac{S_1}{K_{S1} + S_1} * \frac{S_2}{K_{S2} + S_2} \right) - K_d \quad (4)$$

dove:

- S_1 e S_2 sono le concentrazioni dei due substrati
- K_{S1} e K_{S2} sono le costanti di semisaturazione riferite ai due substrati

1.2.1 Fermentazione acidogenica e produzione di VFA

La fermentazione acidogenica rappresenta una strategia operativa che si attua quando l'obiettivo è la massimizzazione della produzione di VFA. Rispetto alla digestione anaerobica convenzionale è necessario bloccare la fase finale di metanogenesi rendendo le condizioni sfavorevoli tramite abbassamento o innalzamento del pH, riduzione del tempo di ritenzione idraulica HRT, con trattamenti termici nell'inoculo per selezionare solo batteri acidogeni oppure aggiungendo inibitori chimici (Atasoy et al., 2018; Lee et al., 2014).

I VFA sono acidi monocarbossilici idrosolubili caratterizzati da una catena idrocarburica che può essere corta o media. Vengono suddivisi in base al numero di atomi di carbonio presenti nella catena, da C₂ a C₅ troviamo gli acidi acetico, propionico, butirrico e isovalerico detti acidi grassi a catena corta (SCFA, Short-Chain Fatty Acids) mentre da C₆ a C₁₂ abbiamo acidi grassi a catena media (MCFA, Medium-Chain Fatty Acids), tra cui acido caproico (C₆), acido eptanoico (C₇) e acido ottanico (C₈). Generalmente il loro valore commerciale cresce con l'aumentare dei numeri di carbonio, che rendono la produzione più complessa.

In Tabella 1 vengono riportati i principali VFA con alcune delle loro proprietà chimiche.

Tabella 1. Proprietà chimiche dei principali VFA (Ramos-Suarez et al., 2021)

Acido	Formula chimica	Massa molecolare (g/mol)	Densità a 20 °C (g/cm³)	Punto di ebollizione (°C)	pKa
Acetico	CH ₃ COOH	60,05	1,05	117,9	4,76
Propionico	CH ₃ CH ₂ COOH	74,08	0,99	141,1	4,88
Isobutirrico	(CH ₃) ₂ CHCOOH	88,11	0,95	154,4	4,84
Butirrico	CH ₃ CH ₂ CH ₂ COOH	88,11	0,96	163,7	4,82
Isovalerico	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ COOH	102,13	0,93	176,5	4,77
Valerico	CH ₃ (CH ₂) ₃ COOH	102,13	0,94	186,1	4,84

Gli SCFA si formano nella fase di acidogenesi e acetogenesi a partire dai monomeri generati nella fase di idrolisi decomposti in molecole semplici come il glucosio che viene successivamente convertito in piruvato, generando ATP e riducendo NAD⁺. Il piruvato può essere poi sfruttato in differenti vie metaboliche che lo portano a formare acetato, propionato, butirrato, etanolo e altri composti (Figura 2) (Zhou et al., 2018).

rinnovabili, infatti, ancora oggi, circa il 90 % del mercato è dominato dall'industria petrolchimica (Atasoy et al., 2018; Bhatia & Yang, 2017). La produzione di acido acetico è associata alla carbossilazione del metanolo derivato dal fossile, un processo che ha un grosso impatto ambientale dal punto di vista di emissioni di gas ad effetto serra, circa 3,3 tonnellate di CO₂ equivalenti per ogni tonnellata di acido prodotto secondo le stime di Atasoy et al. (2018). Il percorso di sintesi dell'acido butirrico non è molto differente, si basa infatti sull'ossidazione della butirraldeide ottenuta a sua volta dal propilene derivato dal petrolio (Atasoy et al., 2018). L'acido propionico viene sintetizzato seguendo tre possibili vie legate alla petrolchimica, l'idroformilazione/ossidazione dell'etilene, la carbossilazione dell'etilene con monossido di carbonio e acqua o ossidazione diretta di idrocarburi (Atasoy et al., 2018).

L'esaurimento progressivo delle risorse fossili necessarie alla produzione di VFA, unito all'urgenza della crisi climatica che sta vivendo il nostro Pianeta, sta orientando il settore produttivo industriale verso un nuovo modello di economia circolare in cui i VFA di origine biologica sono ottenuti mediante fermentazione anaerobica di scarti e fanghi di depurazione (Atasoy et al., 2018) .

I campi in cui i VFA sono impiegati sono molteplici (Figura 3), infatti, vengono utilizzati come precursori per le bioplastiche, costituendo il substrato principale per la sintesi di poliidrossialcanoati (PHA) e poli-3-idrossibutirrato (PHB), oltre che poliesteri termoplastici biodegradabili. Nei biocarburanti, vengono convertiti in lipidi microbici destinati alla produzione di biodisel o in alternativa ridotti biologicamente in alcoli come etanolo, propanolo e butanolo. Nel settore energetico sono impiegati nelle celle a combustione microbiche (MFC), dove l'ossidazione microbica dei residui organici viene sfruttata per produrre elettricità in maniera diretta (Atasoy et al., 2018; Bastidas-Oyanedel

et al., 2015; Pandey et al., 2022). Nel settore alimentare i sali di calcio e sodio degli acidi acetico e propionico grazie alla loro capacità di inibire la proliferazione di muffe e batteri vengono utilizzati come conservanti, mentre l'acido butirrico possiede proprietà anti-patogene che gli consentono di essere utilizzato come additivo alternativo (Bastidas-Oyanedel et al., 2015; Bhatia & Yang, 2017). In ambito chimico e dei materiali, l'acido acetico riveste un ruolo essenziale nella produzione di monomeri di vinil acetato, componenti di vernici, adesivi, gomma, plastica, fibre sintetiche, finiture tessili e rivestimenti per carta, oltre a fungere da precursore per l'anidride acetica e per vari solventi. L'acido propionico è impiegato nella sintesi di erbicidi, fragranze e materie plastiche a base cellulosica, mentre l'acido butirrico è impiegato nella produzione di plastiche di cellulosa e vari esteri usati come agenti profumati nei cosmetici (Atasoy et al., 2018; Bastidas-Oyanedel et al., 2015; Bhatia & Yang, 2017). Anche nel campo farmaceutico e medico sono ampiamente utilizzati VFA tra cui gli acidi acetico, butirrico e caproico.

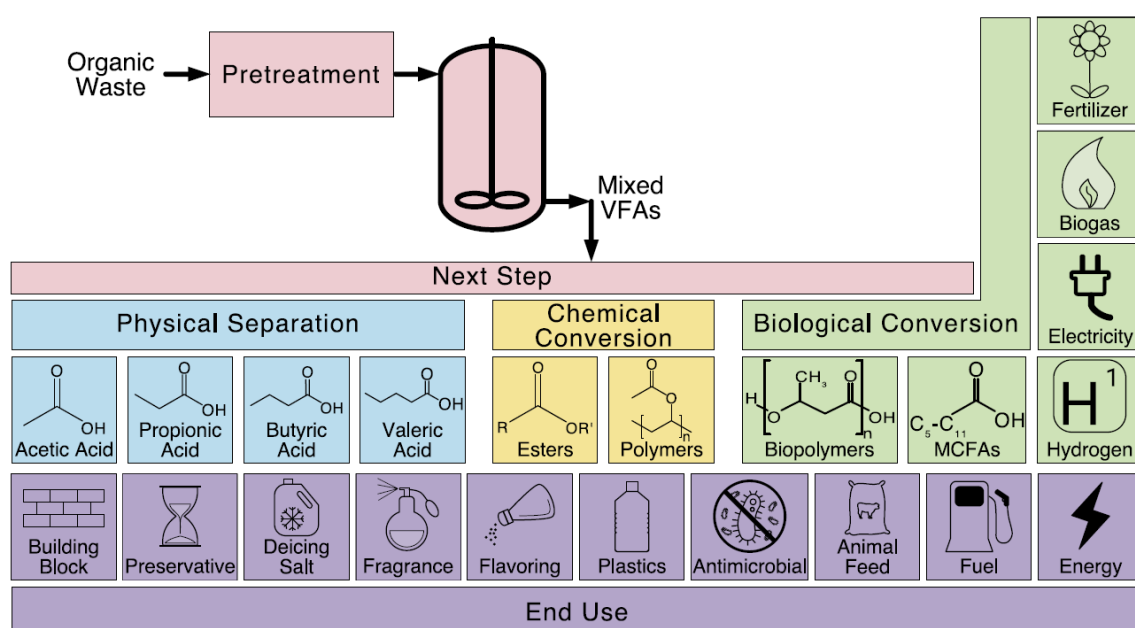


Figura 3. Potenziali impieghi e opzioni di processo per i VFA (Ramos-Suarez et al., 2021)

I principali vantaggi della produzione bio-based di VFA si riconoscono nella sostenibilità, grazie ad una produzione basata sull'impiego di carbonio rinnovabile e conseguente riduzione di utilizzo dei combustibili fossili, nella flessibilità dei substrati trattabili, nella multifunzionalità, che consente di generare sottoprodotti preziosi come idrogeno e anidride carbonica, e infine anche in una migliore accettazione da parte del consumatore che li considera più “sani e naturali”, giustificando prezzi di mercato superiori. Nonostante questi aspetti positivi il mercato resta dominato dalla produzione petrolchimica a causa degli svantaggi che attualmente non consentono di passare ad una produzione bio-based. La sfida più grande che deve affrontare questa produzione è il recupero dei VFA, ossia l'estrazione dal brodo di fermentazione diluito, che rappresenta la voce di costo maggiore e molto elevata (fino a 70 % dei costi totali), rendendo il paragone con la produzione petrolchimica insostenibile, almeno fino a quanto non verranno integrati nuovi sistemi di estrazione e separazione (Atasoy et al., 2018; Bhatia & Yang, 2017; Ramos-Suarez et al., 2021).

1.3 Pretrattamenti

L'applicazione di tecniche di pretrattamento costituisce un prerequisito fondamentale per la disgregazione della struttura del substrato, poiché favorisce l'accessibilità enzimatica e aumenta il rendimento di molecole solubili ad alto valore aggiunto, quali zuccheri e proteine, necessarie per la produzione di VFA. I pretrattamenti applicabili alle biomasse organiche, considerate le più complesse, sono generalmente classificati in quattro categorie principali: meccanici, chimici, fisico-chimici e biologici (Castilla-Archilla et al., 2021; Ramos-Suarez et al., 2021).

I pretrattamenti meccanici comprendono operazioni quali la macinazione e la triturazione, finalizzate a ridurre la granulometria delle particelle di biomassa e ad aumentare l'area superficiale specifica. Ciò favorisce il contatto con gli enzimi o gli agenti chimici, agevolando l'idrolisi e incrementando la solubilità complessiva del substrato. I pretrattamenti chimici prevedono l'impiego di agenti acidi, che favoriscono l'idrolisi dell'emicellulosa, o di agenti alcalini, finalizzati alla solubilizzazione e alla rimozione della lignina, aumentando al contempo la capacità tampone del sistema. I pretrattamenti fisico-chimici comprendono tecnologie avanzate, quali l'esplosione di fibre con ammoniaca (AFEX) o l'impiego di solventi verdi, tra cui i liquidi ionici e i solventi eutettici profondi. Tali processi favoriscono la decristallizzazione della cellulosa e consentono l'estrazione selettiva di proteine o composti bioattivi. Infine, i pretrattamenti biologici, generalmente molto costosi, si basano sull'impiego di consorzi fungini o sull'aggiunta diretta di preparati enzimatici extracellulari commerciali (Ramos-Suarez et al., 2021; Zamel et al., 2026). La scelta del pretrattamento dipende certamente dal rapporto costi-benefici, tuttavia, un ulteriore aspetto fondamentale riguarda l'obiettivo perseguito. Ad esempio, la produzione di biogas e quella di VFA richiedono strategie di ottimizzazione differenti, la prima mira alla degradazione completa della sostanza

organica, mentre la seconda punta a massimizzare il rendimento degli intermedi metabolici prima della fase di metanogenesi.

1.3.1 Pretrattamento termico

Il pretrattamento oggetto di approfondimento è quello termico, considerato una delle tecnologie più consolidate ed efficaci per promuovere l'idrolisi di substrati organici (Ramos-Suarez et al., 2021; Zamel et al., 2026). Il principio alla base di questa tecnologia consiste nell'esposizione della biomassa a temperature elevate, allo scopo di modificare la struttura fisica e chimica della frazione insolubile. Tale trattamento, contestualizzato nella produzione di VFA si pone gli obiettivi di massimizzare la solubilizzazione dei carboidrati e delle proteine oltre che di inibire selettivamente i microrganismi metanogeni. L'esposizione a temperature elevate favorisce infatti la rottura dei legami responsabili della stabilità delle strutture lignocellulosiche, promuovendo la disintegrazione cellulare e la conseguente solubilizzazione di una quota significativa della materia organica, che viene trasferita dalla fase solida a quella liquida. Questo processo determina un incremento della concentrazione di COD solubile nel brodo di fermentazione. La successiva conduzione della fermentazione in condizioni controllate consente di limitare il processo alla fase acidogenica, favorendo l'accumulo di acidi organici (Meegoda et al., 2018; Ramos-Suarez et al., 2021; Sarkar et al., 2026).

Il calore modifica anzitutto la struttura fisica della frazione insolubile della biomassa, determinandone la riduzione della viscosità, inoltre, il suo effetto si manifesta attraverso tre meccanismi principali. Nel caso dei fanghi attivi, il trattamento termico provoca la disgregazione delle pareti cellulari, favorendo la fuoriuscita del materiale citoplasmatico e il rilascio di diverse macromolecole solubili nella fase liquida. Nelle biomasse lignocellulosiche complesse, come la BSG, l'energia termica indebolisce i legami

idrogeno e le forze di Van der Waals che contribuiscono a mantenere compatta la struttura, rendendo la biomassa maggiormente accessibile all'attacco microbico. Infine, l'aumento della temperatura agisce come un fattore di selezione biologica, poiché può determinare l'inattivazione di alcune specie metanogene, favorendo la proliferazione di microrganismi idrolitici e acidogeni più tolleranti alle condizioni termiche applicate (Meegoda et al., 2018; Ramos-Suarez et al., 2021).

L'efficacia del pretrattamento è strettamente correlata alla combinazione tra temperatura operativa e durata dell'esposizione. Ramos-Suarez et al. (2021) hanno osservato un aumento del 680 % nella produzione di VFA sottoponendo il fango a un trattamento a 100 °C per 60 minuti e mantenendo il pH a 9. Quando il pH veniva mantenuto intorno a 7, l'incremento veniva limitato al 300 %. Nel medesimo studio sono stati inoltre riportati i risultati relativi all'applicazione del trattamento ai rifiuti alimentari. In questo caso, gli incrementi sono risultati più contenuti, con un aumento del rendimento di circa il 55 %. Questi risultati mettono in evidenza la natura recalcitrante delle biomasse derivate dai rifiuti alimentari, le quali, per ottenere incrementi del rendimento superiori al 200 %, richiedono l'integrazione di ulteriori fasi di pretrattamento, come il trattamento enzimatico o una fase di pre-fermentazione.

Il pretrattamento termico non incide esclusivamente sulla quantità di COD solubilizzato, ma può anche orientare le vie metaboliche durante la fermentazione, influenzando così la composizione finale dei VFA. Ad esempio, Atasoy et al. (2018) hanno rilevato una prevalenza di acido acetico e acido propionico in condizioni mesofile (35 °C) mentre l'impiego di temperature termofile (55 °C) ha favorito la produzione di acido butirrico.

1.4 Parametri del processo fermentativo

La regolazione del profilo e della composizione degli acidi grassi volatili costituisce una sfida fondamentale per ottimizzare il rendimento dei prodotti finali e controllare la distribuzione della lunghezza delle catene carboniose (Lee et al., 2014). La produzione di miscele con caratteristiche definite, così come l'orientamento del metabolismo microbico verso la sintesi preferenziale di specifici acidi, risulta essenziale per accrescere il valore delle successive applicazioni industriali. In tale prospettiva, la letteratura mostra che la modulazione di determinati parametri operativi può influenzare significativamente la distribuzione e la composizione degli acidi prodotti.

1.4.1 Substrato e rapporto C/N

La tipologia di biomassa impiegata nel processo rappresenta il primo fattore in grado di influenzare la composizione dei VFA prodotti. In generale, i substrati ricchi di carboidrati favoriscono vie metaboliche orientate alla produzione di acido acetico e acido butirrico (Ramos-Suarez et al., 2021), mentre un elevato contenuto proteico tende ad ampliare la distribuzione degli acidi grassi volatili, promuovendo anche la formazione di acido valerico e acido isovalerico (Atasoy et al., 2018). I risultati sperimentali riportati da Atasoy et al. (2018) sembrano confermare tali evidenze: nel loro studio, l'impiego di substrati proteici puri, quali tofu e albume d'uovo, ha determinato concentrazioni di acido valerico pari a circa il 18–25 % dei VFA totali. In questi sistemi, l'acido valerico rappresentava il secondo composto più abbondante, dopo l'acido acetico, che risultava predominante. Nel medesimo studio è stato analizzato anche il siero di latte fermentato, dal quale sono emersi due distinti profili composizionali. Nel primo caso, l'acido acetico risultava predominante, rappresentando il 58 % dei VFA totali, seguito dall'acido propionico (19 %), dall'acido butirrico (13 %) e dall'acido valerico (4 %). Nel secondo

caso, invece, l'acido lattico rappresentava il composto prevalente, con una percentuale pari a circa il 58 %, seguito dall'acido butirrico (26 %) e dall'acido acetico (16 %).

Per quanto riguarda la BSG, Guarda et al. (2021) sostengono che la sua natura di substrato lignocellulosico, caratterizzato da un elevato contenuto di xilosio, favorisca intrinsecamente la produzione di acetato e butirrato. Tale evidenza è confermata dallo studio di Castilla-Archilla et al. (2021), nel quale i test condotti in condizioni batch hanno raggiunto una concentrazione di VFA pari a 16,89 g COD/L, con una composizione costituita per il 40 % da acido acetico e per il 55 % da acido butirrico.

Per quanto concerne i reflui analizzati da Atasoy et al. (2018) il cui carbonio organico era costituito per l'84,7 % da glicerolo, le condizioni operative hanno determinato profili di produzione differenti. A pH 5,5 e alla temperatura di 35 °C, la fermentazione ha favorito prevalentemente la formazione di acido propionico (90,5 %). Contrariamente, aumentando il pH a 10 e la temperatura a 55 °C, la produzione si è orientata principalmente verso l'acido acetico.

Un ulteriore aspetto del substrato su cui vale la pena soffermarsi è il rapporto carbonio/azoto (C/N). Sebbene il carbonio rappresenti una fonte energetica fondamentale, l'azoto svolge a sua volta un ruolo cruciale nella sintesi delle proteine cellulari e nella replicazione della biomassa anaerobica attiva (Meegoda et al., 2018; Sarkar et al., 2026). Regolare l'equilibrio di questo parametro risulta necessario per mantenere la stabilità biologica del reattore, prevenire fenomeni tossici e selezionare il profilo degli acidi prodotti (Pandey et al., 2022; Zhou et al., 2018).

Una disponibilità insufficiente di azoto nel mezzo fermentativo può ostacolare la crescita batterica, determinando una marcata riduzione della proliferazione cellulare e un rallentamento del processo glicolitico (Sarkar et al., 2026). Al contrario, un eccessivo

apporto di azoto organico, tipico di substrati ad alto contenuto proteico può favorire un'intensa degradazione delle proteine da parte delle proteasi extracellulari. La successiva deaminazione degli amminoacidi determina il rilascio di elevate concentrazioni di ammonio (NH_4^+) e ammoniaca libera (NH_3) (Sarkar et al., 2026; Zamel et al., 2026), che accumulandosi nel brodo fermentativo potrebbero causare l'inibizione dell'attività biologica. La soluzione ingegneristica per ottimizzare il rapporto C/N consiste nella co-digestione di substrati diversi (Meegoda et al., 2018; Zhou et al., 2018). Secondo Pandey et al. (2022) i substrati caratterizzati da un'elevata concentrazione di carboidrati complessi e da un alto rapporto C/N favoriscono un accumulo progressivo e costante di acidi propionico e butirrico, il cui profilo tende a stabilizzarsi dopo 8–16 giorni di fermentazione. Al contrario, i substrati ad alto contenuto proteico, contraddistinti da un rapporto C/N particolarmente basso, possono limitare significativamente lo sviluppo della via metabolica propionica (Zhou et al., 2018).

1.4.2 pH

Il pH della miscela esercita un controllo sull'attività enzimatica e regola la termodinamica cellulare, influenzando direttamente le vie metaboliche e la distribuzione finale dei prodotti (Atasoy et al., 2018; Pandey et al., 2022; Zamel et al., 2026). Tipicamente, un pH alcalino favorisce la conversione verso l'acido acetico o propionico a seconda del substrato, mentre un pH mediamente acido promuove la formazione di butirrico (Ramos-Suarez et al., 2021; Zhou et al., 2018).

L'impiego di fanghi attivi come inoculo nel trattamento degli scarti alimentari ha evidenziato che l'aumento controllato del pH da 5,3 a 6,0 modifica significativamente la distribuzione relativa degli acidi acetico, propionico e butirrico, determinando il

passaggio del rapporto da 51:19:24 a 31:41:10 (Zamel et al., 2026). Questa tendenza è confermata dalle osservazioni di Castilla-Archilla et al. (2021) nel loro studio sulla BSG, condotto a pH non controllato, ovvero con valore iniziale pari a 7,0, progressivamente diminuito fino a circa 4,0. In tali condizioni, l'acido butirrico è risultato il prodotto prevalente, rappresentando il 62,2 % dei VFA, seguito dall'acido acetico, pari al 33,3 %. Nelle prove condotte a pH controllato, l'acido butirrico ha raggiunto il picco massimo a pH 5,0, confermando che condizioni acide ne favoriscono la formazione, al contrario, la concentrazione di acido acetico è aumentata all'aumentare del pH, fino a raggiungere il valore massimo a pH 8,0. Anche Sarkar et al. (2026) nel loro studio affermano che un pH inferiore a 6,0 migliora significativamente l'allungamento della catena per la sintesi di acido caproico, mentre valori superiori di pH favoriscono l'accumulo di acidi a catena corta.

1.4.3 Temperatura

La temperatura, come già accennato, costituisce un ulteriore parametro operativo di rilievo nel processo di fermentazione acidogena, poiché modula la termodinamica delle reazioni biochimiche, la cinetica di crescita microbica e la stabilità degli enzimi idrolitici. I diversi consorzi batterici presentano risposte metaboliche e intervalli di tolleranza termica specifici, che si riflettono sia sul rendimento del processo sia sulla composizione dei prodotti finali (Atasoy et al., 2018; Khan et al., 2016; Pandey et al., 2022). In particolare, la temperatura influenza la fase di idrolisi, considerata uno degli stadi più critici della digestione anaerobica, favorendo la solubilizzazione dei carboidrati e delle proteine nel mezzo liquido e accelerando la degradazione del substrato (Khan et al., 2016; Pandey et al., 2022). Inoltre, l'aumento della temperatura può ridurre l'energia di attivazione degli enzimi idrolitici extracellulari, promuovendo la disgregazione delle

strutture cellulari e la depolimerizzazione delle matrici organiche (Bastidas-Oyanedel et al., 2015; Pandey et al., 2022).

I processi fermentativi per la produzione di VFA sono condotti prevalentemente in condizioni mesofile, a temperature comprese tra 25 e 45 °C, poiché questo intervallo è ampiamente riconosciuto come efficiente ed economicamente vantaggioso (Atasoy et al., 2018; Pandey et al., 2022; Zhou et al., 2018). Tuttavia, è possibile operare anche in condizioni termofile, generalmente comprese tra 55 e 65 °C, esplorate come alternativa al regime mesofilo. I risultati ottenuti in tali condizioni sono tuttavia discordanti, infatti, alcuni studi riportano incrementi del rendimento di VFA fino a dieci volte superiori rispetto a quelli ottenuti in regime mesofilo, in assenza di controllo del pH (Atasoy et al., 2018; Pandey et al., 2022), mentre altri evidenziano una diminuzione del rendimento e un rallentamento della fase acidogena (Pandey et al., 2022). Infine, il processo può essere condotto in condizioni psicrofile, a temperature inferiori a 25 °C. Sebbene questo regime sia biologicamente possibile, non risulta competitivo a livello industriale a causa dei rendimenti inferiori e associati all'effetto crioinibitorio sull'attività enzimatica, che rallenta significativamente la cinetica di acidificazione (T. Jin et al., 2026).

La temperatura agisce anche come selettore delle vie metaboliche microbiche, influenzando la composizione della comunità batterica dominante e determinando, di conseguenza, la distribuzione relativa degli acidi grassi volatili prodotti (Bastidas-Oyanedel et al., 2015). Nella fermentazione condotta in condizioni mesofile, i prodotti principali accumulati sono acido acetico e acido propionico (Atasoy et al., 2018; Pandey et al., 2022; Zhou et al., 2018). Al contrario, il passaggio a condizioni termofile può indurre una variazione nella distribuzione dei prodotti, favorendo spesso un incremento

nella frazione relativa di butirrato (Atasoy et al., 2018; Pandey et al., 2022; Zhou et al., 2018).

1.4.4 Tempo di ritenzione idraulica (HRT)

Uno degli strumenti impiegati per ottimizzare il processo di fermentazione anaerobica è il tempo di ritenzione, articolato in due componenti distinte ma strettamente correlate: il tempo di ritenzione idraulica (HRT), che indica il periodo medio di permanenza della fase liquida all'interno del reattore, e il tempo di ritenzione dei solidi (SRT), che corrisponde al periodo medio di permanenza della biomassa microbica attiva (Khan et al., 2016). Nelle configurazioni tradizionali rappresentate dai reattori continui a miscelazione completa senza ricircolo (CSTR) queste due componenti coincidono, ma esistono configurazioni reattoristiche più avanzate che consentono il loro disaccoppiamento (Bastidas-Oyanedel et al., 2015).

L'HRT rappresenta un parametro operativo di primaria importanza, infatti, secondo Khan et al. (2016) la produzione complessiva di VFA è maggiormente influenzata dalle variazioni del tempo di ritenzione idraulica rispetto a quelle della temperatura. Il dimensionamento del processo deve pertanto garantire un periodo di permanenza sufficiente affinché i batteri idrolitici possano convertire la materia organica complessa in composti solubili e i microrganismi acidogeni possano completare la fermentazione. Un HRT eccessivamente breve può determinare il washout, ossia la fuoriuscita della biomassa fermentativa attiva dal reattore, compromettendo significativamente le prestazioni del processo. Al contrario, un HRT troppo elevato non comporta necessariamente un aumento della produzione di VFA, poiché il sistema può raggiungere un plateau cinetico oltre il quale l'ulteriore prolungamento del tempo di ritenzione risulta inefficace (Khan et al., 2016; Pandey et al., 2022).

1.4.5 Carico organico volumetrico (OLR)

Un ulteriore parametro operativo fondamentale nella fermentazione anaerobica è il carico organico volumetrico (OLR), definito come la quantità di substrato alimentata al reattore per unità di volume e di tempo. La variazione dell'OLR può influenzare la disponibilità di nutrienti, l'attività enzimatica e la cinetica microbica, modificando di conseguenza il profilo compositivo dei prodotti finali (Pandey et al., 2022; Zamel et al., 2026; Zhou et al., 2018). Una sua corretta regolazione può inoltre contribuire a superare i rallentamenti associati alle fasi di idrolisi e acidogenesi e a inibire la metanogenesi, favorendo l'accumulo di VFA (Khan et al., 2016; Ramos-Suarez et al., 2021; Sarkar et al., 2026).

Le ricerche condotte da Guarda et al. (2021) sulla fermentazione mostrano che, entro certi limiti, i tassi specifici di consumo degli zuccheri e di produzione di metaboliti acidi crescono all'aumentare del carico organico iniziale, seguendo una cinetica limitata dal substrato descritta del modello di Monod (B. Jin et al., 2016). Un aumento controllato dell'OLR comporta un innalzamento della domanda chimica di ossigeno solubile (sCOD) e una corrispondente crescita nella concentrazione degli acidi grassi volatili (Pandey et al., 2022).

Tuttavia, esiste una soglia critica oltre la quale l'efficienza del sistema subisce un rapido declino. Il superamento di tale soglia può innescare un aumento eccessivo della viscosità del brodo fermentativo, che ostacola la corretta miscelazione e riduce le proprietà di trasporto di massa tra i microrganismi e il substrato, determinando una conseguente instabilità del processo e una riduzione della velocità di idrolisi. Poiché l'idrolisi rappresenta la fase limitante nella degradazione dei substrati solidi, l'inefficiente conversione dei polimeri particolati ostacola il rilascio dei monomeri solubili e lascia una parte significativa del carbonio non utilizzata (Khan et al., 2016; Pandey et al., 2022; Zhou et al., 2018).

Parallelamente, l'influenza dell'OLR si estende alla distribuzione dei singoli acidi carbossilici. In condizioni di carichi ridotti, il metabolismo microbico tende a favorire la produzione di molecole più ridotte e a maggior peso molecolare, come l'acido propionico e l'acido butirrico. Al contrario, un incremento del carico organico può ridurre il tempo a disposizione per le conversioni secondarie e saturando le vie metaboliche primarie, stimolando principalmente la produzione di acido acetico e acido valerico/iso-valerico (Pandey et al., 2022; Zhou et al., 2018).

1.5 Ruolo del carbone attivo nella fermentazione anaerobica

Il carbone attivo (biochar) è un materiale carbonioso poroso ottenuto dalla pirolisi di biomasse di scarto, un processo di riscaldamento ad alta temperatura in assenza di ossigeno. Recentemente, l'utilizzo di questo materiale è stato attenzionato in quanto sembra avere effetti positivi sulla digestione aerobica, grazie a caratteristiche come riduzione dell'inibizione causata dall'ammoniaca, maggiore ricchezza della comunità batterica e promozione del trasferimento di elettroni tra le specie (Zhai et al., 2020; Zheng et al., 2023).



Figura 4. Biochar utilizzato nelle prove di laboratorio

Il biochar si configura come una scelta sostenibile, sia dal punto di vista economico sia sotto il profilo ambientale. L'utilizzo di matrici organiche facilmente reperibili e caratterizzate da costi contenuti, come i fanghi di depurazione, permette di trasformare un materiale di scarto potenzialmente impattante in una risorsa ad alto valore aggiunto. Questo approccio risulta pienamente coerente con i principi dell'economia circolare, poiché la conversione della frazione solida dei fanghi in biochar, successivamente reimpiegato nel processo di digestione della frazione liquida degli stessi fanghi, consente

di instaurare un efficace ciclo di recupero integrato della risorsa. Rispetto ai tradizionali trattamenti fisici o chimici, generalmente più onerosi, il biochar rappresenta una soluzione durevole ed efficiente, in grado non solo di incrementare la produzione di acidi grassi, ma anche di svolgere la funzione di matrice di supporto per la stabilizzazione e l'immobilizzazione degli enzimi (Zhai et al., 2020; Zheng et al., 2023).

Nel contesto attuale del trattamento delle acque reflue, una delle principali sfide ambientali è rappresentata dalla gestione dei fanghi attivi di scarto (WAS), in particolare quelli provenienti dall'industria conciaria, caratterizzati da un elevato contenuto di materia organica, microrganismi patogeni e metalli pesanti (Zhai et al., 2020; Zheng et al., 2023). Per ottimizzare il recupero di risorse preziose, come i VFA, è necessario sottoporre i substrati a un pretrattamento che li renda più facilmente disponibili per l'attività microbica, favorendo così il superamento delle fasi di idrolisi e solubilizzazione, limitanti per il processo di fermentazione anaerobica. L'applicazione su larga scala di tecniche di pretrattamento, termico, chimico o fisico spesso può essere limitata da elevati costi energetici e dei reagenti necessari (Zhai et al., 2020; Zheng et al., 2023).

L'integrazione del biochar durante la fermentazione anaerobica agisce come catalizzatore per le fasi più critiche del processo, la solubilizzazione e l'idrolisi. Un primo effetto positivo consiste nella stimolazione della rottura delle membrane cellulari del fango, con un aumento del tasso di lisi del 10,53 %, secondo le stime di Zheng et al. (2023). Ciò favorisce il rilascio nella fase liquida di sostanze organiche intracellulari, tra cui proteine e carboidrati, rendendole disponibili per la fermentazione. Un secondo effetto positivo è rappresentato dalla capacità di fungere da sito di attaccamento per microrganismi ed enzimi chiave. In questo modo aumenta la probabilità di contatto con il substrato, determinando anche un incremento dell'attività della proteasi, responsabile della

conversione delle proteine in amminoacidi, pari al 68 %, e dell' α -glucosidasi, responsabile della conversione dei polisaccaridi in monosaccaridi, pari al 32 % (Zheng et al., 2023). Infine, un ulteriore effetto benefico consiste nell'aumento del rilascio di nutrienti che può raggiungere 1,8 volte il valore iniziale, secondo le stime di Zheng et al. (2023).

Il principale meccanismo responsabile di questi effetti benefici è riconducibile alla presenza di radicali liberi persistenti nell'ambiente (EPFRs). Gli EPFRs sono gruppi chimici organici dotati di una spiccata capacità redox, presenti nel biochar in funzione della sua temperatura di produzione. Zheng et al. (2023) indicano 450 °C come temperatura ottimale, alla quale si ottiene il segnale massimo di EPFRs. A temperature inferiori a 200-300 °C, invece, il segnale risulta più debole, mentre diventa inesistente a temperature superiori a 650 °C. Sono proprio questi EPFRs che inducono la lisi cellulare e incrementano l'attività enzimatica. La funzione più avanzata dei radicali consiste nel fungere da navette elettroniche durante il metabolismo acidogenico. Possono infatti donare elettroni, favorendo la riduzione del NAD^+ a NADH determinando un aumento del rapporto NADH/NAD^+ nel sistema. Inoltre, per ristabilire l'equilibrio metabolico, le cellule microbiche devono smaltire l'eccesso di NADH accumulato, come conseguenza viene privilegiata la via metabolica che conduce alla formazione di acido propionico, il quale agisce da "pozzo" per gli elettroni in eccesso. In questo modo, gli EPFRs del biochar indirizzano un processo metabolico generico verso la produzione mirata di un acido a maggior valore aggiunto (Zheng et al., 2023).

Sebbene l'aggiunta di biochar sia generalmente considerata una strategia vantaggiosa per migliorare la produzione di acidi grassi volatili, Zhai et al. (2020) e Zheng et al. (2023) evidenziano alcuni possibili effetti negativi o limitazioni operative legate al suo utilizzo.

L'efficacia del carbone attivo dipende fortemente dal rapporto tra la quantità impiegata e la biomassa trattata. Un dosaggio eccessivo può portare alla precipitazione del materiale sul fondo del reattore. Quando il biochar si deposita in quantità rilevanti, diminuisce la sua capacità di agire come catalizzatore nella fase di idrolisi, poiché si riduce il contatto fisico necessario tra enzimi, microrganismi e substrato (Zheng et al., 2023).

Le proprietà elettrochimiche del biochar influenzano inoltre la sua stabilità all'interno del sistema. I biochar caratterizzati da bassi potenziali zeta, che indica il grado di repulsione o attrazione, tendono ad aggregarsi nel brodo fermentativo causando di conseguenza una distribuzione non uniforme dei microrganismi e delle sostanze organiche, favorendo invece la formazione di zone con accumuli di VFA localizzati che rappresentano microambienti sfavorevoli (Zhai et al., 2020).

Benché l'accumulo di VFA costituisca l'obiettivo della fermentazione acidogenica, una distribuzione non omogenea può risultare controproducente. Concentrazioni locali elevate di VFA possono aumentare l'inibizione acida dei batteri acidogeni responsabili della formazione degli acidi. Inoltre, queste condizioni possono favorire la crescita di batteri in grado di consumare gli acidi riducendo così il rendimento finale di VFA (Zhai et al., 2020).

Un ulteriore limite è rappresentato dalla variabilità delle caratteristiche del biochar e della difficoltà di standardizzazione della sua produzione. Il miglioramento dei rendimenti dipende dalle proprietà specifiche del materiale, che possono variare significativamente in funzione della biomassa di origine e delle condizioni di pirolisi. Questa variabilità costituisce una sfida rilevante per l'applicazione industriale su larga scala (Zhai et al., 2020).

Infine, a causa della sua struttura porosa, il biochar può agire come adsorbente e ridurre la concentrazione di fosforo totale e ortofosfati. Sebbene tale proprietà possa risultare utile nei processi di rimozione di inquinante, in determinati contesti biologici essa potrebbe limitare la disponibilità di nutrienti essenziali (Zhai et al., 2020; Zheng et al., 2023).

1.6 Ruolo della salinità (NaCl) nella fermentazione anaerobica

L'influenza del sale, espresso come concentrazione di Cl^- , sulla fermentazione anaerobica e sulla produzione di VFA rappresenta un ambito di ricerca di crescente interesse, sia per la necessità di dover gestire flussi di rifiuti sempre più salini, sia perché il sale può fungere da regolatore biochimico del processo fermentativo. Il crescente impiego di acqua di mare per lo scarico dei servizi igienici ha infatti aumentato la salinità dei reflui civili. Inoltre, settori industriali quali la lavorazione dei frutti di mare, l'industria alimentare, il settore conciario e quello petrolifero generano ingenti quantità di rifiuti ipersalini ricchi di materia organica, che devono essere adeguatamente trattati (Atasoy et al., 2018). L'aggiunta di NaCl è stata inoltre studiata come forma di pretrattamento per arricchire selettivamente la comunità microbica di batteri acidogeni tolleranti al sale e, al contempo, inibire i metanogeni, senza ricorrere a pretrattamenti fisici o chimici.

Il sale promuove la solubilizzazione e l'idrolisi attraverso tre meccanismi principali. Il primo consiste nell'indurre una sollecitazione osmotica, infatti, l'aggiunta di sale provoca una rapida variazione della pressione osmotica esterna rispetto all'interno delle cellule microbiche presenti. Questo squilibrio determina la plasmolisi delle cellule, un processo per cui la cellula va incontro alla rottura o alla contrazione della membrana cellulare a causa di una rapida fuoriuscita dell'acqua dal citoplasma. Ne consegue un aumento di concentrazione di COD_{SOL} causato dal rilascio di componenti intracellulari, come proteine e polisaccaridi, nel brodo di fermentazione (B. Jin et al., 2016; Sarkar et al., 2020). Il secondo meccanismo si verifica soprattutto nel caso dei fanghi attivi di scarto (WAS). Il sale, e in particolare gli ioni sodio (Na^+), modifica la struttura della biomassa favorendo la disaggregazione dei fiocchi di fango mediante processi di scambio ionico. Tale fenomeno determina la solubilizzazione delle sostanze polimeriche extracellulari (EPS) che conferiscono coesione alla matrice di fango, rendendo disponibile la materia organica

e aumentando la superficie accessibile agli enzimi idrolitici (B. Jin et al., 2016). Il terzo, ed ultimo, meccanismo è il potenziamento dell'attività enzimatica. La presenza di sale aumenta l'attività della proteasi e dell' α -glucosidasi, responsabili rispettivamente della scissione dei legami peptidici delle proteine e dell'idrolisi dei legami glicosidici per il rilascio di zuccheri semplici. Anche la deidrogenasi, un enzima essenziale per le reazioni redox responsabili del meccanismo fermentativo, è stimolata dalla salinità. Un'alta attività della deidrogenasi indica che i substrati idrolizzati vengono convertiti più rapidamente in metaboliti acidi (Sarkar et al., 2020). Oltretutto, un gradiente di Na^+ verso l'esterno della cellula può potenzialmente aumentare l'attività di alcuni complessi enzimatici che facilitano il trasporto di substrati all'interno della cellula, aumentando la produzione di VFA (Sarkar et al., 2020).

L'impiego di NaCl nella fermentazione anaerobica è una strategia che comporta dei rischi, infatti, dosato correttamente funziona da potente catalizzatore biochimico, al contrario, se dosato in eccesso inibisce completamente i microrganismi. In letteratura viene evidenziata questa sottile proporzione tra promozione della solubilizzazione e inibizione del metabolismo, inoltre il dosaggio ideale varia in base alla natura del materiale organico trattato e alla popolazione microbica coinvolta. B. Jin et al. (2016) propongono una concentrazione di NaCl ideale di 15 g/L per poter massimizzare l'accumulo di VFA nei fanghi attivi di scarto (WAS). A questa concentrazione si osserva il miglior compromesso tra accelerazione dell'idrolisi e la protezione dei batteri acidogeni. Sarkar et al. (2020) nel loro lavoro trattano rifiuti alimentari e propongono una concentrazione di 40 g/L di NaCl. Questi rifiuti possono tollerare e beneficiare di salinità più elevate grazie alla loro complessità e ricchezza di nutrienti. Il sale viene utilizzato anche con lo scopo di bloccare la metanogenesi e consentire l'accumulo di VFA. Per consentire la soppressione efficace

dei batteri metanogeni sono considerate sufficienti concentrazioni superiori a 10-14 g/L (B. Jin et al., 2016; Sarkar et al., 2020).

Quando non vengono rispettati i dosaggi ottimali, ossia quando si superano i 25 g/L per i WAS o i 50 g/L per i rifiuti alimentari, si può verificare un effetto deleterio. Ad esempio, elevate concentrazioni di ioni sodio riducono l'attività metabolica anche dei batteri acidogeni, poiché questi sono costretti a impiegare parte della loro energia metabolica nella produzione delle sostanze necessarie all'adattamento osmotico, con una conseguente riduzione della produzione di VFA. Attraverso la loro analisi cinetica, B. Jin et al. (2016), hanno evidenziato che, inizialmente la velocità di idrolisi aumentata, tuttavia, a concentrazioni eccessive i siti attivi si saturano e la disgregazione violenta dei fiocchi di fango compromette la stabilità biochimica del sistema. Dal punto di vista tecnologico, l'eccesso di sale o di solfato nel brodo di fermentazione complica il processo di recupero dei VFA, riducendo l'efficienza dei sistemi di adsorbimento e delle resine a scambio ionico (Atasoy et al., 2018; Ramos-Suarez et al., 2021).

2. Scopo della tesi

Il presente lavoro mira a valutare la valorizzazione di scarti e sottoprodotti derivanti da processi industriali e agroindustriali, in accordo con i principi dell'economia circolare. In particolare, lo studio analizza la produzione di acidi grassi volatili (VFA) mediante fermentazione anaerobica, utilizzando due matrici tra loro differenti, la trebbia di birra e i fanghi attivi di depurazione. La sperimentazione è stata finalizzata al confronto tra i due substrati in termini di degradabilità e potenziale rendimento produttivo, nonché all'approfondimento dei principali parametri di processo, allo scopo di massimizzare la produzione di VFA. A tal fine sono state condotte sei prove di fermentazione in batch, impiegando trebbia tal quale, trebbia pretrattata, fango di depurazione tal quale e fango di depurazione pretrattato. La maggior parte delle prove è stata condotta in condizioni mesofile, mentre una sola è stata effettuata in regime termofilo, inoltre sono state valutate condizioni saline e differenti dosaggi di biochar, al fine di verificare l'eventuale effetto stimolante di tali variabili sulla produzione di VFA. Per ciascuna prova sono state quantificate, mediante analisi gascromatografica, le quantità di VFA prodotte e la relativa distribuzione, così da caratterizzare non soltanto il rendimento complessivo, ma anche la qualità del prodotto in relazione al substrato e al pretrattamento adottato.

3. Materiali e metodi

3.1 Substrati

Nel presente lavoro sono stati utilizzati come substrati la trebbia di birra (Figura 5), ovvero un sottoprodotto derivato dal suo processo di lavorazione, e il fango, derivato dall'impianto di trattamento delle acque di Treviso. Quest'ultimo è stato utilizzato anche come inoculo per innescare il processo fermentativo. I dati della caratterizzazione della trebbia riportati in Tabella 2 si riferiscono al lavoro di Scarpa A. (2025), che ha analizzato il medesimo materiale.

Tabella 2. Dati della trebbia di birra (Scarpa, 2025)

Parametro	Valore medio	Unità di misura
TKN	$31,4 \pm 1,57$	gN/KgTS
COD su secco	$972 \pm 5,32$	g COD/kgTS
Solidi Totali	$936 \pm 4,20$	g/kg
Solidi Totali Volatili	$894 \pm 3,30$	g/kg
Solidi Volatili/ Solidi Totali	96 ± 0.50	%



Figura 5. Trebbia di birra secca e disciolta

I dati relativi al fango proveniente dall'ispessitore dell'impianto di depurazione sono elencati in Tabella 3.

Il contenuto di Solidi Totali e di Solidi Totali Volatili rappresentano rispettivamente la massa totale dei solidi (sospesi e disciolti) presenti nel fango e la quota di solidi organici contenuti all'interno del residuo secco. L'analisi sperimentale dei solidi totali e dei solidi volatili è stata condotta in conformità con i metodi standard di riferimento per la caratterizzazione dei reflui. Un campione di fango, posto in un crogiolo, viene essiccato in stufa a 100 °C per circa 24 ore, al fine di eliminare l'acqua fino al raggiungimento di una massa costante. Il residuo ottenuto, corrispondente al contenuto di solidi totali, viene successivamente trasferito in muffola e incenerito a 550 °C, ottenendo così i solidi totali fissi. Il calcolo dei TS e dei TVS è stato effettuato mediante le seguenti equazioni:

$$TS = \frac{P_2 - P_0}{P_1 - P_0} * 1000 \quad (5)$$

$$TVS = \frac{(P_2 - P_0) - (P_3 - P_0)}{P_1 - P_0} * 1000 \quad (6)$$

dove:

- P_0 è il peso del crogiolo vuoto
- P_1 è il peso del crogiolo con una certa quantità di fango
- P_2 è peso del crogiolo con fango dopo la stufa
- P_3 è il peso del crogiolo con fango dopo la muffola

Tabella 3. Dati relativi al fango proveniente dall'impianto di Treviso

Parametro	Valore medio	Unità di misura
Solidi Totali	$30 \pm 1,5$	g/kg
Solidi Totali Volatili	$24 \pm 1,2$	g/kg
Solidi Volatili/ Solidi Totali	80 ± 4	%



Figura 6. Fango attivo proveniente dall'impianto di Treviso

3.2 Piano sperimentale

Il piano sperimentale è stato articolato in sei prove differenti, ciascuna delle quali progettata per testare condizioni differenti. La prima analisi si è concentrata sulla valutazione degli effetti che diverse quantità di biochar possono avere sulla produzione di VFA utilizzando un substrato recalcitrante quale la trebbia di birra. La configurazione sperimentale prevede l'impiego di reattori batch da 700 mL mantenuti in agitazione costante all'interno di un incubatore (BMP Nautilus, Anaero Technology Products USA; Figura 7), in grado di garantire anche un accurato controllo della temperatura operativa fissata a 35 °C (regime mesofilo). La preparazione dei bioreattori prevede, per ognuno, l'utilizzo di 390 mL di trebbia diluita a 70 g/L, 110 mL di fango attivo (concentrati circa 30 g VS/L) come inoculo, il quale è stato precedentemente acclimatato e mantenuto attivo tramite l'aggiunta di glucosio (0,2 g/L), e quantità variabili di biochar. In particolare, il test Bianco non prevede l'aggiunta di nessun quantitativo, mentre, le dosi per gli altri reattori sono state calibrate seguendo il modello di Zheng et al. (2023), impiegando concentrazioni crescenti di materiale carbonioso come riportato in Tabella 4.

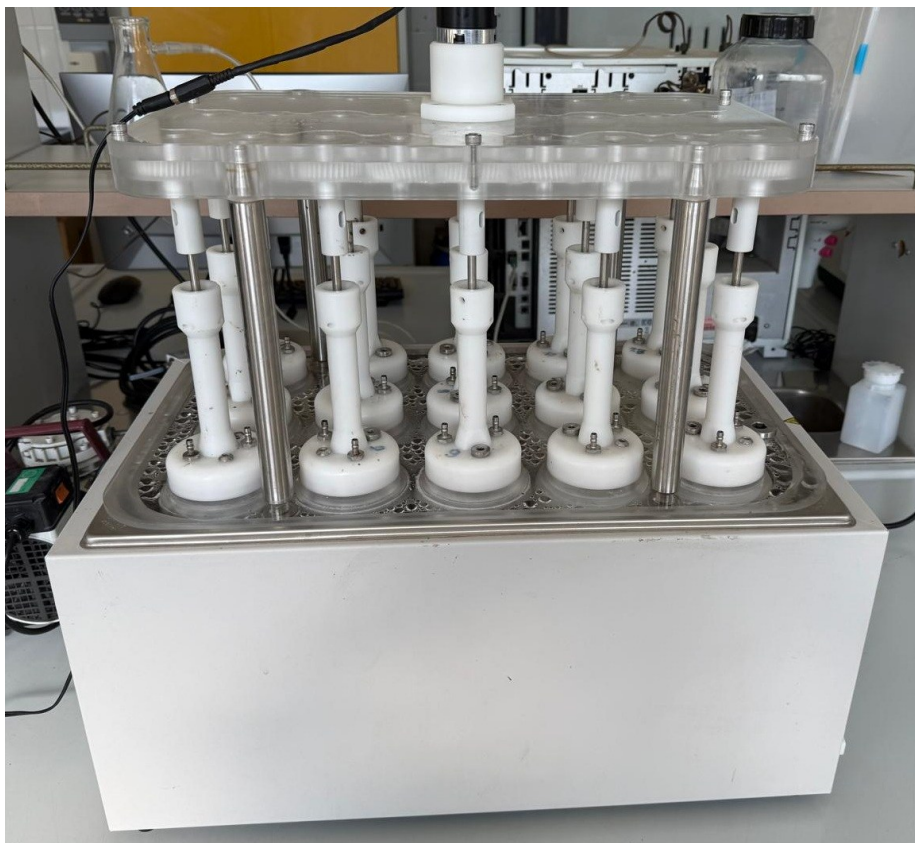


Figura 7. Strumento utilizzato per la miscelazione e mantenimento della temperatura dei reattori batch

Tabella 4. Quantitativi di biochar in riferimento ad ogni campione

Nome campione	Biochar (g)
Bianco	-
2	3,3
3	4,4
4	6,6
5	13,2

La seconda analisi è stata impostata seguendo il modello della prima, introducendo una variabile data dall'aggiunta di 15 g di NaCl per ciascun reattore, finalizzata a valutare l'impatto della salinità sulla cinetica di acidogenesi e sulla tolleranza dei microrganismi al sodio, come proposto da Sarkar et al. (2020) nella loro analisi.

La terza e ultima analisi sulla trebbia di birra è stata finalizzata a indagare gli effetti di un pretrattamento termico del substrato, condotto a 70 °C e pH 12 per 24 ore. Successivamente, sono stati replicati entrambi i modelli sperimentali adottati nella prima e nella seconda analisi.

La quarta analisi sancisce il passaggio verso lo studio del fango attivo di depurazione utilizzato come substrato nel processo fermentativo. In questo esperimento, è stato scelto di investigare l'impiego di biochar e condizioni saline, con dosaggi identici a quelli degli esperimenti precedenti, su un fango di depurazione prelevato dall'impianto di trattamento delle acque reflue sottoposto precedentemente a un processo di ispessimento meccanico per incrementare la concentrazione di solidi totali, fino ad un valore ideale di 70 g/L (la concentrazione effettiva è più bassa). La preparazione dei reattori batch ha mantenuto gli stessi quantitativi di biomassa e inoculo per cercare di standardizzare i risultati ottenuti, con l'unica ovvia differenza che in questo caso i 390 mL di substrato sono costituiti da fango attivo ispessito.

Nella quinta prova è stato utilizzato come substrato lo stesso fango, ma precedentemente sottoposto a pretrattamento termico a 70 °C e pH 12 per 24 ore prima della conduzione della prova, rispettando le medesime condizioni operative previste dalla prova precedente.

Infine, la sesta prova si può considerare una fotocopia della precedente, con l'unica differenza che la temperatura di conduzione dell'esperimento è stata innalzata a 55 °C per verificare gli effetti delle condizioni termofile durante il processo di fermentazione.

3.3 Monitoraggio della produzione di VFA

Per quantificare la produzione di VFA sono stati effettuati campionamenti a intervalli regolari. La procedura prevede il prelievo di una piccola aliquota da ciascun reattore mediante una siringa collegata a un tubicino. I campioni sono stati successivamente centrifugati e filtrati utilizzando una siringa dotata di un filtro con porosità pari a 0,22 μm , così da eliminare i solidi sospesi. In seguito, 1 mL di campione è stato trasferito in una vial, alla quale sono stati aggiunti 100 μL di acido fosforico e 100 μL di standard. Le vial sono state quindi analizzate mediante un gascromatografo Agilent 8890 GC System, equipaggiato con un rivelatore a ionizzazione di fiamma (Figura 8).

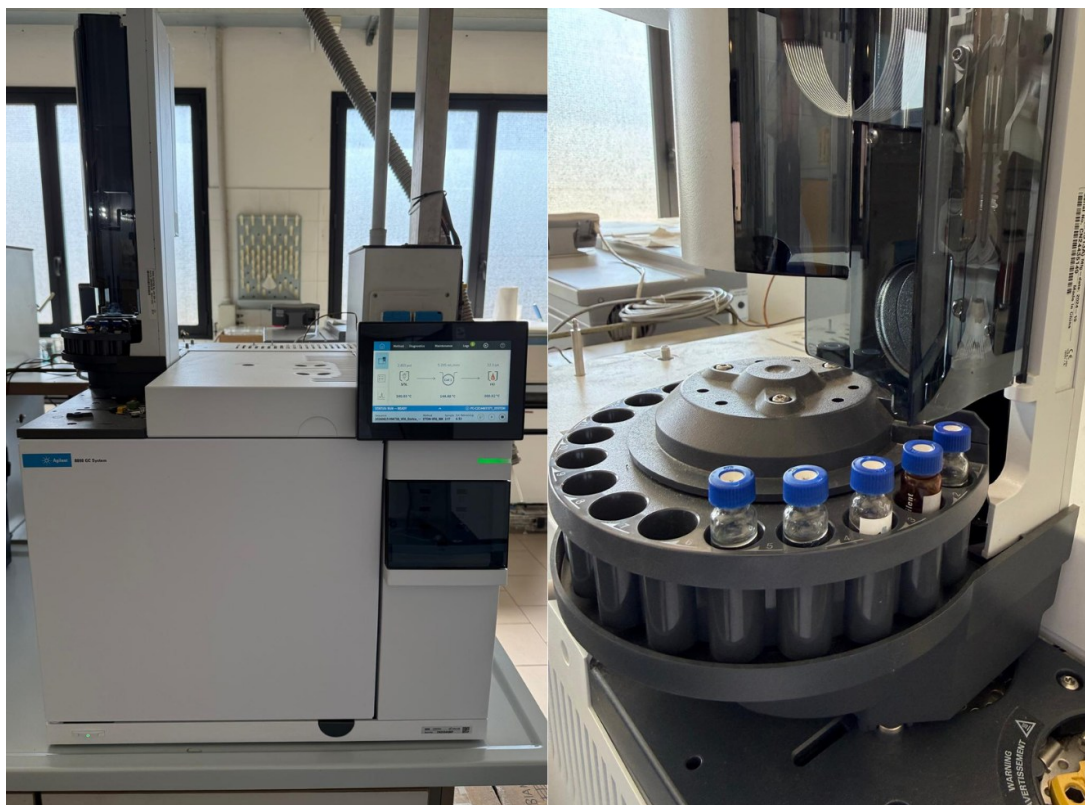


Figura 8. Gascromatografo Agilent 8890 GC System e vial posizionate nell'autocampionatore

Durante ogni campionamento è stato misurato il pH di ogni campione mediante pHmetro professionale portatile XS pH70 Vio in modo da poter ristabilire il pH a 7.

3.4 Determinazione del rendimento e delle cinetiche

Per valutare l'efficienza della conversione del substrato, ovvero la quantità di VFA prodotta per ogni grammo di VS alimentato, in ognuna delle sei prove è stato calcolato il rendimento con la formula:

$$\eta = \frac{VFA\ tot}{VS\ substrato} * 100 \quad (7)$$

dove:

- η è il rendimento espresso in g COD_{VFA}/g VS
- VFA tot è la quantità totale di VFA prodotti espressa in g COD/L
- VS substrato è la quantità di solidi volatili del substrato espressi in g VS/L.

Per le prove ritenute più promettenti sulla base dei risultati ottenuti, è stata calcolata la velocità specifica media di produzione di VFA, così da disporre di un parametro cinetico utile per il confronto tra le diverse prove. La seguente equazione è stata utilizzata per il calcolo delle suddette velocità:

$$V = \frac{VFAMax - VFAi}{VS * d} \quad (8)$$

dove:

- V è la velocità specifica media di produzione di VFA (mg COD_{VFA}/ (g VS*d))
- VFAMax è la massima quantità di VFA prodotta durante l'esperimento espressa in mg COD_{VFA}/L
- VFA_i è la quantità di VFA prodotta al giorno zero espressa in mg COD_{VFA}/L
- VS sono i solidi volatili (g VS/L)
- d è il giorno di massima produzione di VFA

4. Risultati

4.1 Fermentazione della trebbia non pretrattata

In Figura 9 è rappresentata la produzione di VFA relativa alle prove batch condotte in condizioni “standard”, ovvero senza pretrattamento del substrato e mantenendo il pH a 7.

Ai fini dell’analisi, è utile concentrarsi sul settimo giorno di sperimentazione, corrispondente al picco di produzione di VFA registrato nel corso dell’intero test. I dati relativi a questa giornata sono riportati in

Tabella 5.

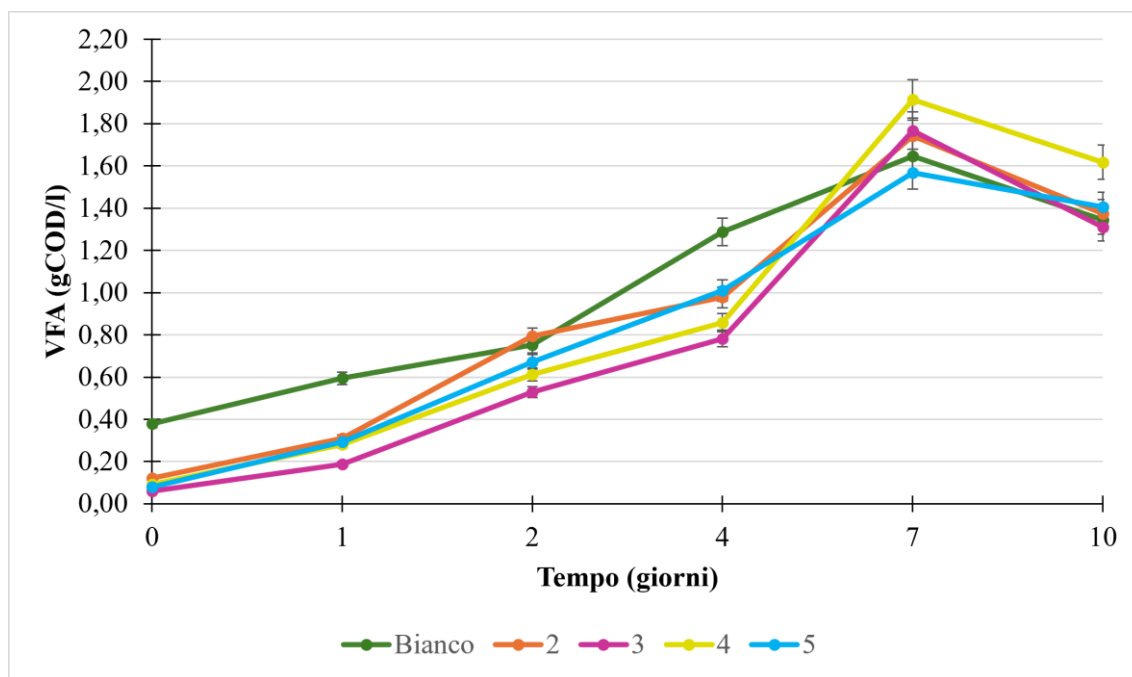


Figura 9. Grafico relativo all’andamento della produzione di VFA

Tabella 5. Dati relativi al settimo giorno di conduzione della prova

Nome campione	Biochar (g)	VFA totali (g COD/L)	Rendimento %
Bianco	0	1,64 ± 0,08	2,7 %
2	3,3	1,74 ± 0,09	2,9 %
3	4,4	1,77 ± 0,09	2,9 %
4	6,6	1,91 ± 0,09	3,2 %
5	13,2	1,57 ± 0,08	2,6 %

In Figura 9 si osserva che, nei primi giorni, il campione Bianco presenta valori superiori rispetto ai campioni contenenti biochar, probabilmente a causa della presenza di una quota libera di VFA. I valori inferiori rilevati nei campioni numero 2, 3, 4 e 5 potrebbero essere attribuiti a un effetto di adsorbimento da parte del biochar, che sequestra una parte dei VFA, rendendoli di fatto non disponibili per la misura analitica, effettuata sulla fase liquida. Nei giorni successivi, tutti i campioni mostrano un incremento costante della concentrazione di VFA, tuttavia, il Bianco mantiene i valori più elevati almeno fino al settimo giorno, quando viene superato da tutti i campioni, ad eccezione del campione numero 5. Dopo il settimo giorno si osserva una diminuzione generalizzata della concentrazione di VFA, attribuibile al consumo del substrato da parte della biomassa. La concentrazione massima di VFA raggiunta non supera i 2 g COD/L, un valore generalmente considerato contenuto.

Analizzando la

Tabella 5 si osserva un leggero aumento della produzione di VFA rispetto al Bianco nei campioni numero 2, 3 e 4, corrispondenti a un'aggiunta di biochar fino a un massimo di 6,6 g. Aumentando il dosaggio a 13,2 g, il processo sembra invece essere sfavorito, poiché

la produzione diminuisce al di sotto dei valori del Bianco. La tendenza positiva nella produzione degli acidi è confermata anche dai dati riportati nell'ultima colonna della Tabella 5, relativa al rendimento. In particolare, nel campione numero 4, che mostra il risultato migliore, il rendimento raggiunge il 3,2 %, rispetto al 2,7 % del Bianco, corrispondente a un incremento relativo della produzione del 18,5 %. Tuttavia, considerando i valori assoluti, un aumento di circa 0,30 g COD/L, a fronte di una produzione totale di VFA inferiore a 2 g COD/L, non può essere considerato un risultato significativo.

Per quanto riguarda la distribuzione degli acidi grassi volatili, la Figura 10 riporta i risultati dei campionamenti effettuati sul Bianco, mentre nella Figura 11 sono raccolti i risultati relativi ai campioni numero 2, 3, 4 e 5, con le rispettive aggiunte di biochar. I dati del Bianco, durante i primi giorni di test, rivelano un pattern di distribuzione tra acido acetico, propionico e butirrico. Tale ripartizione non è evidente nei campioni contenenti biochar, probabilmente a causa degli effetti di adsorbimento precedentemente citati o di altri fattori in grado di influenzare la cinetica iniziale dei microrganismi. Con il progredire della sperimentazione, in particolare al settimo giorno, corrispondente alla massima produzione, lo spettro dei VFA tende a raggiungere un equilibrio simile in tutti i campioni, incluso il Bianco, con una prevalenza dell'acido propionico (40 % ca.) rispetto agli acidi acetico (32 % ca.) e butirrico (19 % ca.). Negli ultimi giorni di conduzione della prova si osserva inoltre la formazione di una modesta quantità di acido valerico, compresa tra il 6 e il 13 %.

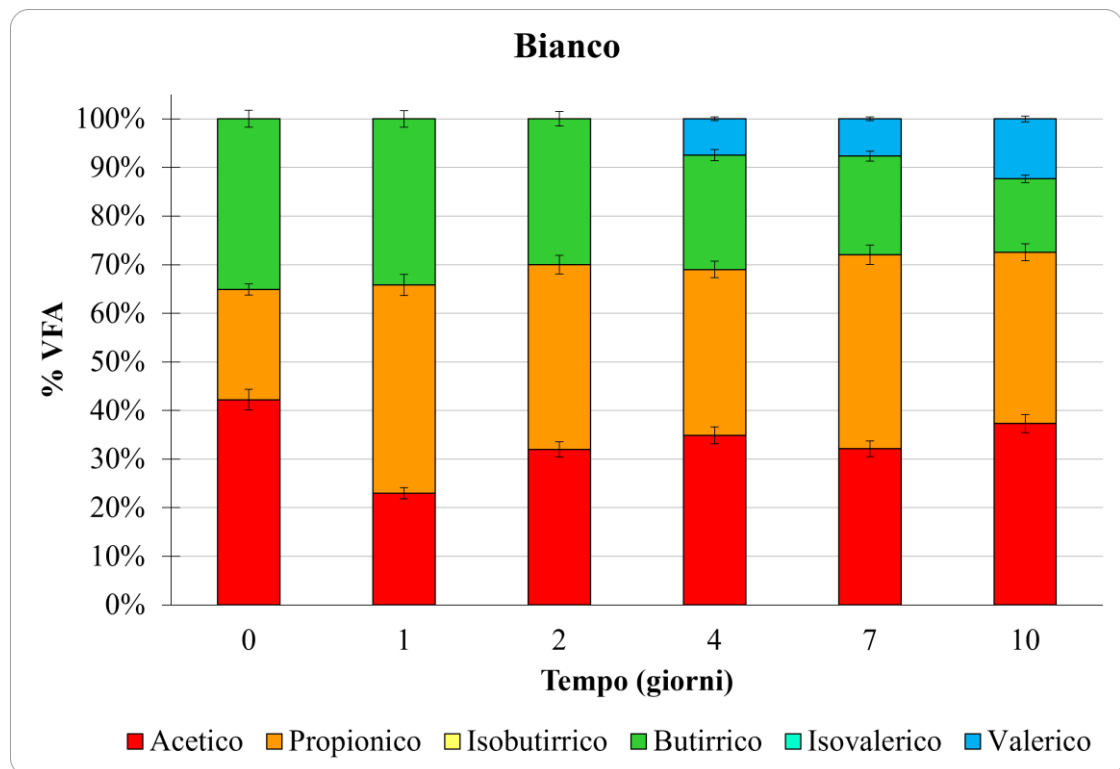


Figura 10. Distribuzione dei VFA nel campione Bianco

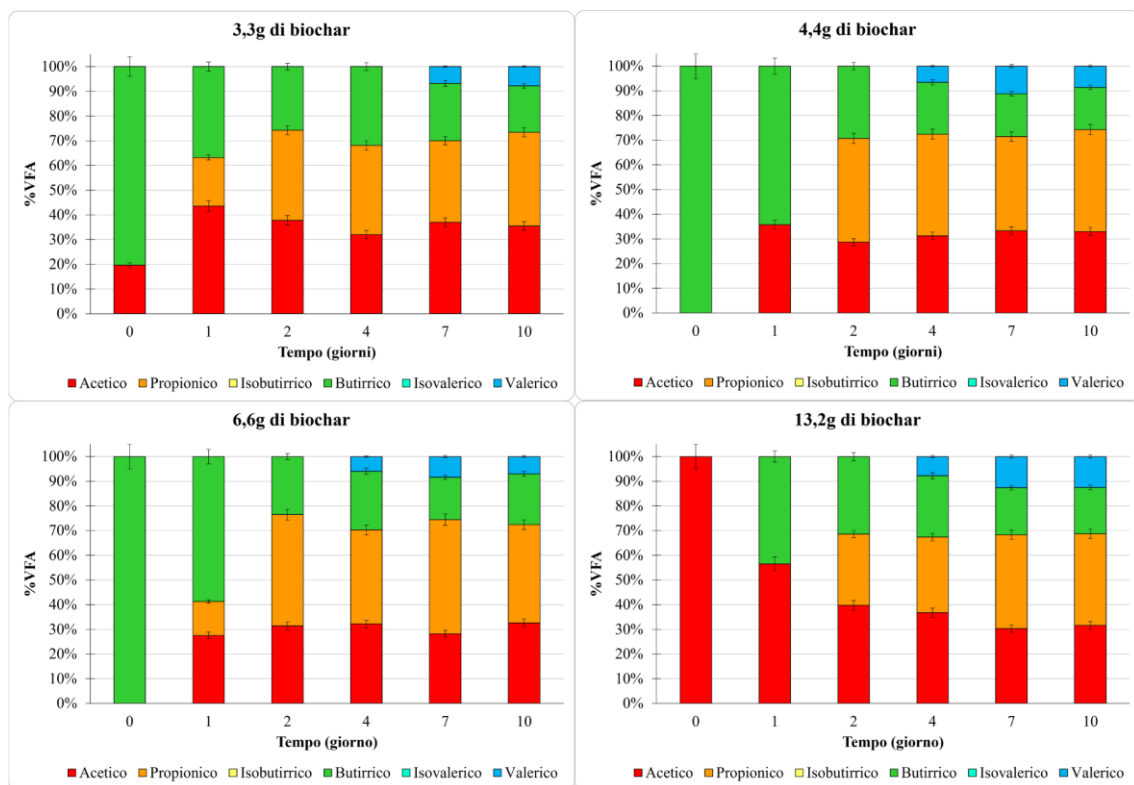


Figura 11. Distribuzione VFA per ogni campione con relativa quantità differente di biochar

4.2 Fermentazione della trebbia non pretrattata in ambiente salino

La Figura 12 mostra la produzione di VFA nelle prove batch condotte senza pretrattamento del substrato, con un pH mantenuto intorno a 7 e una concentrazione di NaCl pari a 30 g/L. Anche in questo caso, ai fini dell'analisi, è utile soffermarsi sul settimo giorno, poiché coincide nuovamente con il picco di produzione di VFA. I dati relativi a tale giornata sono riportati in

Tabella 6.

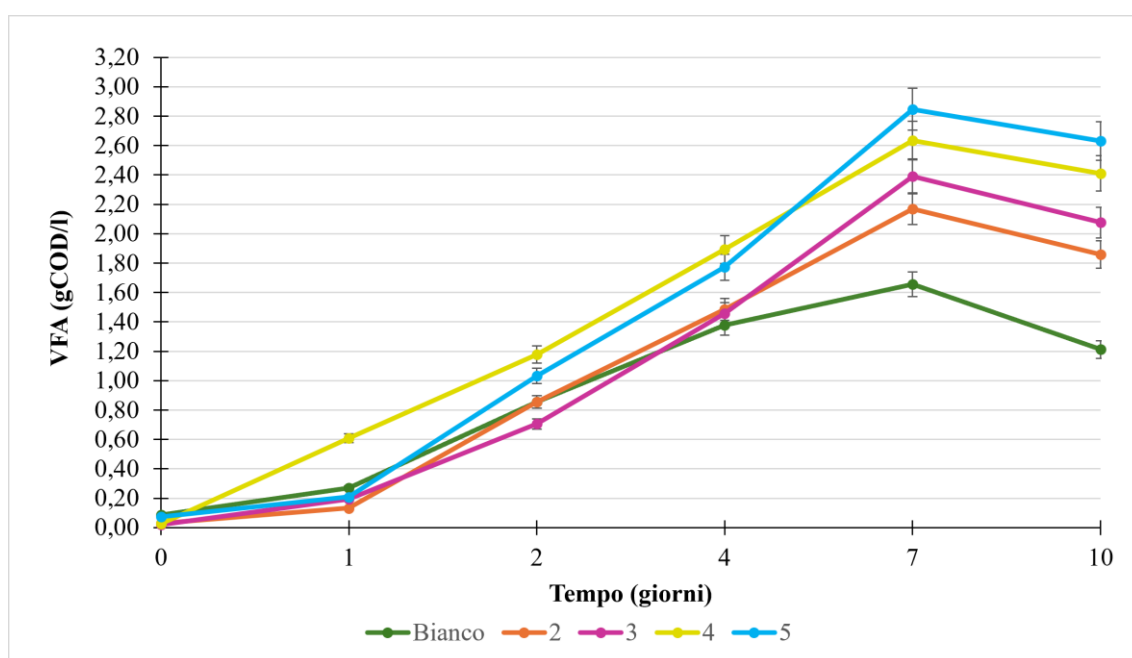


Figura 12. Grafico relativo all'andamento della produzione di VFA

Tabella 6. Dati relativi al settimo giorno di conduzione della prova

Nome campione	Biochar (g)	VFA totali (g COD/L)	Rendimento %
Bianco	0	1,66 ± 0,08	3 %
2	3,3	2,2 ± 0,1	4 %
3	4,4	2,4 ± 0,1	4 %
4	6,6	2,6 ± 0,1	4 %
5	13,2	2,9 ± 0,1	4,7 %

La Figura 12 evidenzia concentrazioni molto basse nei primi giorni in quasi tutti i campioni. A differenza di quanto osservato nel capitolo precedente, infatti, non sembrano essere presenti frazioni libere di VFA. L'unica eccezione è rappresentata dal campione numero 4, che mostra valori di concentrazione più elevati rispetto agli altri. Nei giorni successivi, tutti i campioni evidenziano un andamento crescente, raggiungendo un valore massimo di $2,9 \pm 0,1$ g COD/L nel campione numero 5, corrispondente all'aggiunta di 13,2 g di carbone attivo. Dopo il settimo giorno le concentrazioni di VFA iniziano a calare. L'aggiunta di biochar sembra aver nuovamente favorito la produzione complessiva di VFA. A conferma di ciò, l'ultima colonna della

Tabella 6 mostra un aumento del rendimento di conversione, dal 3 % del campione Bianco al 4,7 % del campione 5.

Un ulteriore dato interessante emerge confrontando questi valori con quelli del capitolo precedente, nel quale il rendimento massimo raggiunto era pari al 3,2 %. L'incremento dei dati relativi a questa prova può essere attribuito all'effetto dell'aggiunta di NaCl, che agisce sul substrato rendendolo più facilmente disponibile ai microrganismi e favorendo, di conseguenza, la trasformazione di una maggiore quantità di substrato in prodotto finale. Considerando nuovamente i valori assoluti, l'incremento di circa 1,19 g COD/L raggiunto nell'ultimo campione non può tuttavia essere ritenuto significativo, anche alla luce del fatto che la produzione, sebbene superiore a quella ottenuta nel capitolo precedente, non supera i 3 g COD/L e rimane quindi relativamente contenuta.

La ripartizione percentuale dei VFA nel campione Bianco è rappresentata in Figura 13, mentre i risultati delle altre prove, contenenti biochar, sono riportati in Figura 14. Nei primi giorni è evidente una distinzione tra il campione Bianco e gli altri campioni. Ciò supporta l'ipotesi che l'aggiunta di carbone attivo inneschi effetti di tipo fisico o influenzi

la cinetica iniziale dei microrganismi. A partire dal settimo giorno, la composizione dei VFA risulta simile in tutti i campioni, dove i valori medi dell'acido acetico, dell'acido propionico e dell'acido butirrico sono rispettivamente pari a 37 %, 46 % e 16 %.

Questi valori non si discostano significativamente da quelli ottenuti nelle prove condotte senza l'aggiunta di NaCl. Le principali differenze riguardano l'assenza di acido valerico negli ultimi giorni e l'aumento della percentuale di acido propionico, che passa dal 40 % al 46 %, a discapito degli acidi acetico e butirrico, le cui percentuali diminuiscono rispettivamente del 5 % e del 3 %.

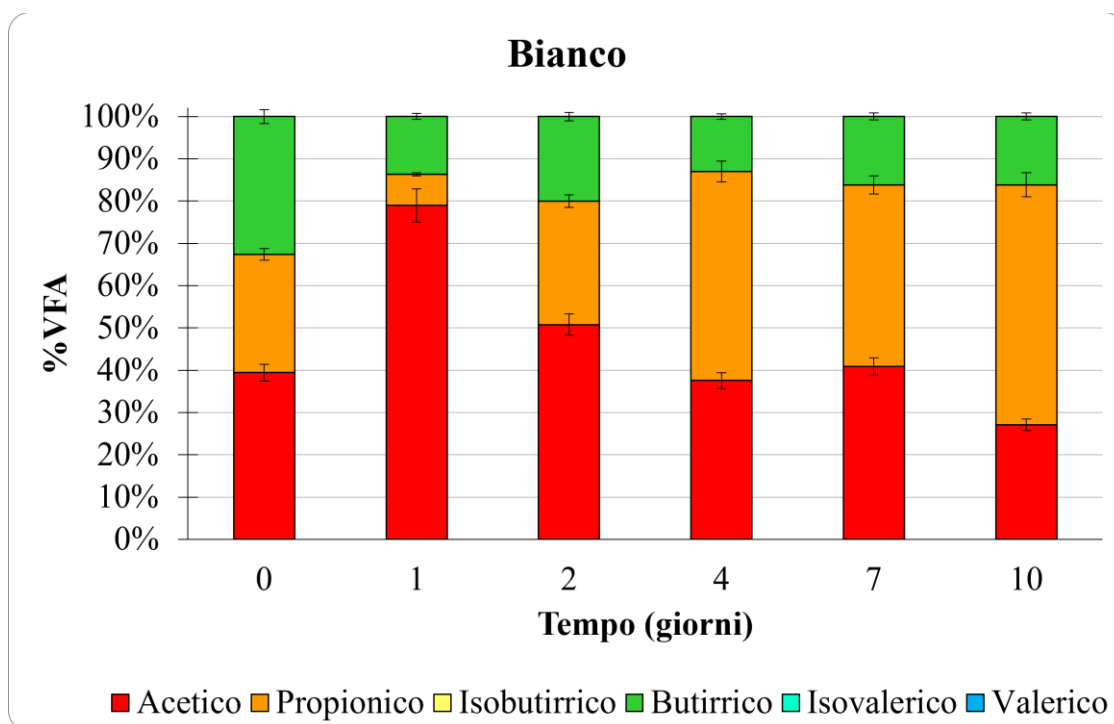


Figura 13. Distribuzione dei VFA nel campione Bianco

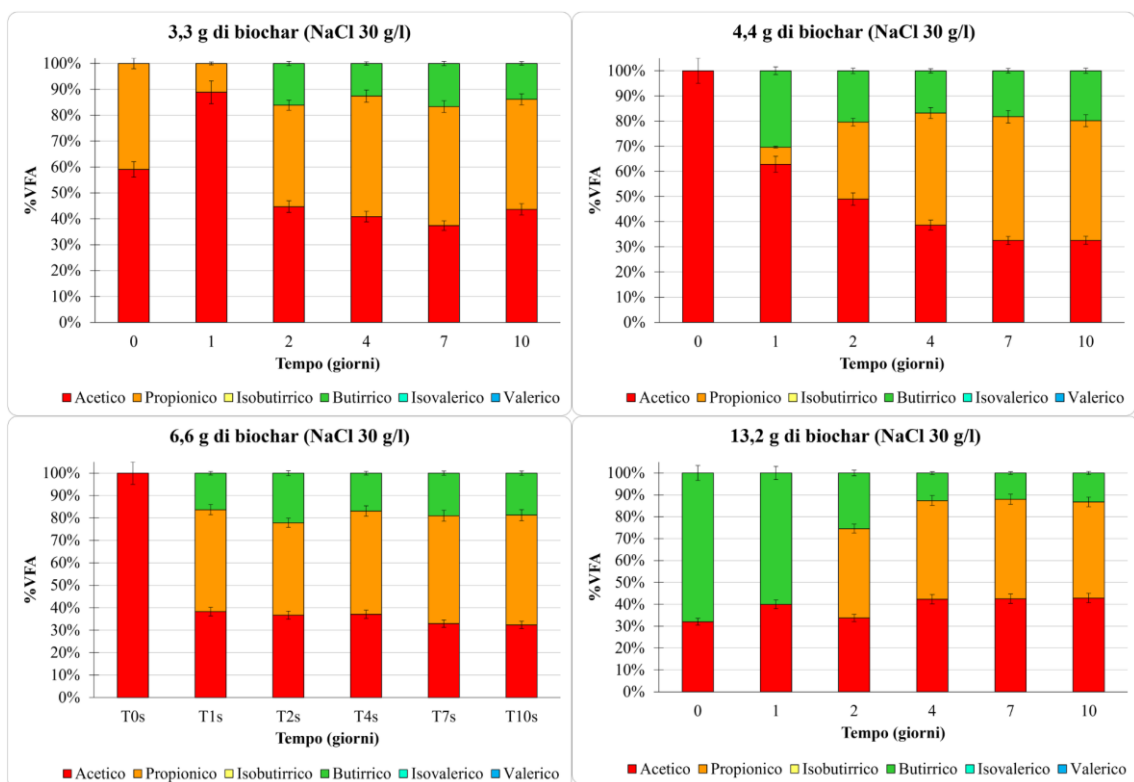


Figura 14. Distribuzione VFA per ogni campione con relativa quantità differente di biochar

4.3 Fermentazione della trebbia con pretrattamento termico in condizioni standard e in ambiente salino

La Tabella 7 riporta la quantità massima di VFA prodotta da ciascun campione e il relativo giorno di produzione. I campioni sono suddivisi tra Bianco, campioni testati in condizioni standard di lavoro, dal numero 2 al numero 5, e campioni ottenuti da un ambiente salino, dal numero 6 al numero 9. Il campione Bianco ha raggiunto il picco di produzione, pari a $9,9 \pm 0,5$ g COD/L, all'ottavo giorno di conduzione dell'esperimento, in linea con i risultati ottenuti nei capitoli precedenti. Per gli altri campioni, invece, non si osserva lo stesso comportamento, infatti, la produzione massima è stata raggiunta con due giorni di anticipo. Questo effetto, meno evidente nei capitoli precedenti, potrebbe essere associato all'aggiunta di carbone attivo, che ha favorito il metabolismo batterico, consentendo ai microrganismi di produrre VFA più rapidamente.

Tabella 7. Dati relativi alla massima produzione di VFA ottenuta durante la prova

Nome campione	Giorno di max. produzione	NaCl (g/L)	Biochar (g)	VFA totali (g COD/L)	Rendimento %
Bianco	8	-	0	$9,9 \pm 0,5$	17 %
2	6	-	3,3	$10,4 \pm 0,5$	17 %
3	6	-	4,4	$9,3 \pm 0,5$	15 %
4	6	-	6,6	$9,7 \pm 0,5$	16 %
5	6	-	13,2	$11,0 \pm 0,6$	18 %
6	6	30	3,3	$5,9 \pm 0,3$	10 %
7	6	30	4,4	$5,8 \pm 0,3$	10 %
8	6	30	6,6	$2,9 \pm 0,1$	4,9 %
9	6	30	13,2	$3,2 \pm 0,2$	5,4 %

La Figura 15 consente di vedere chiaramente l'effetto del biochar, oltretutto mette in luce la distinzione netta fra i campioni testati in condizioni standard (dal numero 2 al 4) rispetto

a quelli testati con NaCl (dal numero 6 al 9). Infatti, ponendo l'attenzione sulla produzione di VFA si nota che i campioni standard hanno tutti produzioni superiori a quella del campione Bianco partendo proprio dai primi giorni, mentre i campioni contenenti NaCl sono tutti posizionati sotto la linea del campione Bianco e di conseguenza hanno delle produzioni inferiori.

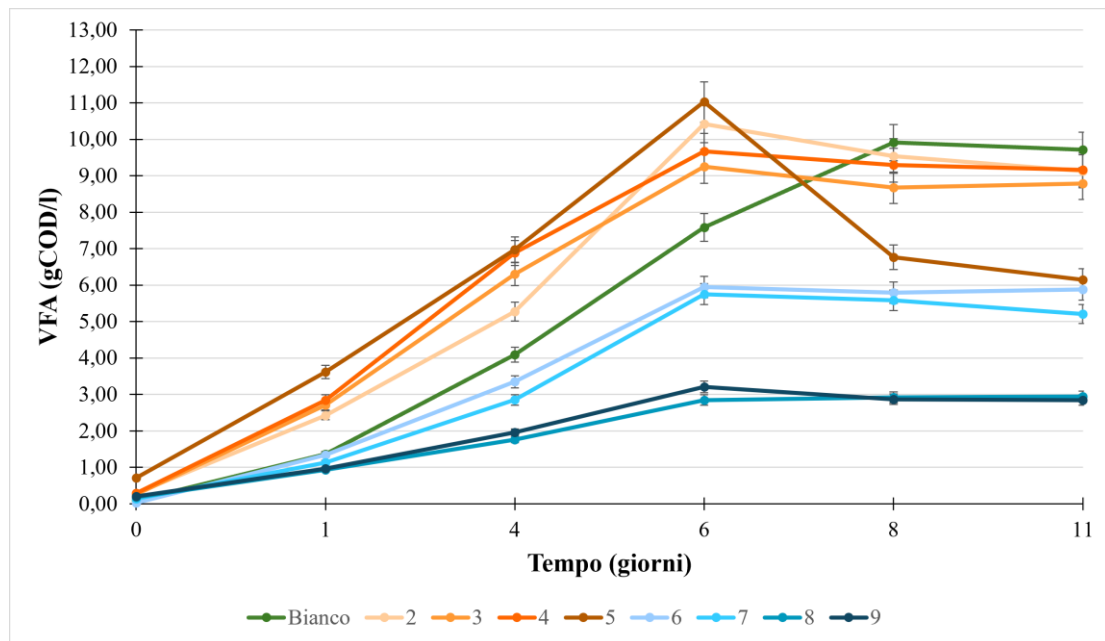


Figura 15. Grafico relativo all'andamento della produzione di VFA

I valori dei campioni standard di produzione di VFA hanno raggiunto una concentrazione media di 10,1 g COD/L, risultando abbastanza promettenti. Anche il rendimento percentuale appare incoraggiante, con valori compresi tra il 15 e il 18 %. A questo punto, è possibile introdurre l'analisi cinetica per calcolare la velocità specifica media di produzione di VFA e confrontare i diversi campioni. Utilizzando l'equazione (8), presentata nel capitolo 3.4 si ottengono le velocità di produzione riportate in Figura 16.

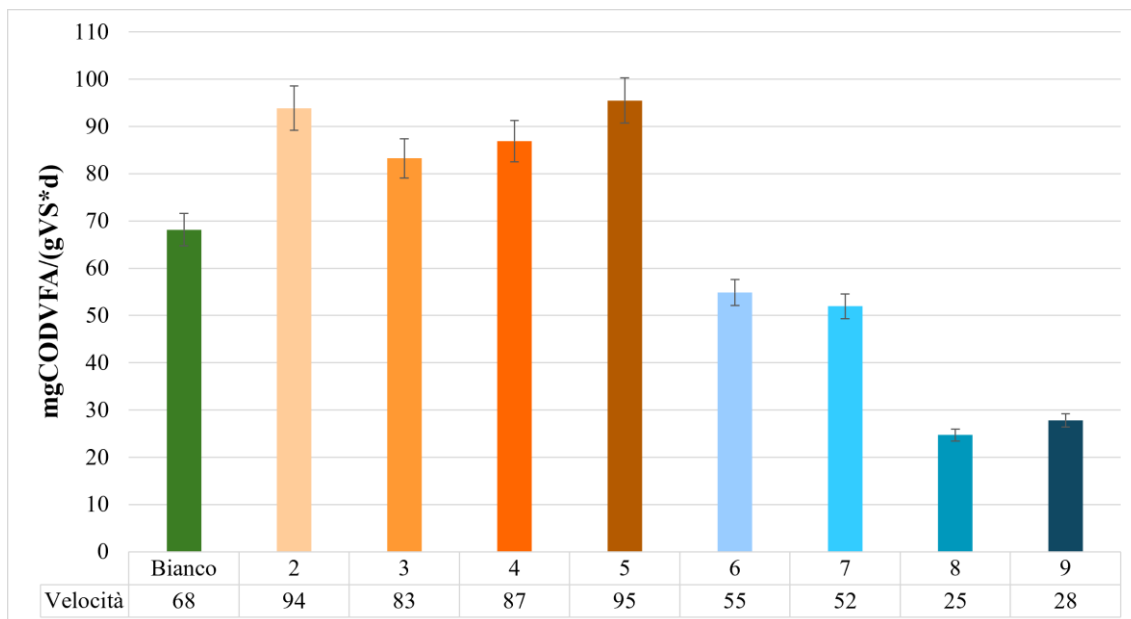


Figura 16. Velocità specifiche medie di produzione di VFA per ogni campione

La Figura 16 evidenzia come la velocità dei campioni testati in condizioni standard (dal numero 2 al 4) sia effettivamente superiore a quella del Bianco, mentre i campioni con aggiunta di NaCl (dal numero 6 al 9) restituiscono valori molto inferiori. Grazie a questa ulteriore conferma si può affermare che effettuare un pretrattamento termico porta ad un buon aumento sulla produzione di VFA, passando da valori che non superano i 3 g COD/L ad un massimo di 11 g COD/L. Si può dire anche che si ottiene un leggero beneficio associato all'aggiunta di carbone attivo mentre lavorare in ambiente salino risulta essere molto sconsigliato.

Il calcolo delle velocità specifiche non ha un valore meramente descrittivo, ma costituisce una base conoscitiva essenziale per il successivo trasferimento del processo da configurazioni batch a sistemi operanti in continuo, come i reattori a miscelazione completa (CSTR). Le cinetiche determinate in batch rappresentano infatti il punto di partenza per il dimensionamento del tempo di ritenzione idraulica (HRT) e del carico organico volumetrico (OLR), parametri che regolano le prestazioni del reattore continuo. Nel passaggio al regime continuo, è inoltre ragionevole attendersi un ulteriore incremento

di tali velocità, poiché l'alimentazione costante di substrato fresco e il contestuale allontanamento del brodo esausto impediscono il raggiungimento del plateau caratteristico delle prove batch, riducendo verosimilmente l'accumulo dei prodotti e i conseguenti fenomeni di inibizione.

La distribuzione dei VFA rappresentata in Figura 17 mostra la ripartizione degli acidi prodotti durante il campione Bianco. Ponendo l'attenzione all'ottavo giorno si nota come gli acidi acetico, propionico e butirrico siano rispettivamente il 23 %, 44 % e 24 %, e una piccola quantità pari al 9 % di acido valerico. La distribuzione si può considerare in linea con quella dei capitoli precedenti, nonostante una leggera diminuzione dell'acido acetico.

La Figura 18 rappresenta la ripartizione dei VFA per quanto riguarda i campioni in condizioni standard (dal numero 2 al 6). Attenzionando il sesto giorno si osservano valori medi del 33 % di acido acetico, 37 % di acido propionico e 24 % di acido butirrico. Rispetto al campione Bianco elencato sopra i valori di acido acetico aumentano del 9 % ca., mentre i valori di acido propionico calano del 7 % ca., e l'acido butirrico resta praticamente invariato. Le quantità di acido valerico restano sempre inferiori al 10 %.

I dati relativi ai campioni con aggiunta di NaCl sono raggruppati in Figura 19. In questo caso le percentuali di distribuzione riferite al giorno di massima produzione sembrano essere discordanti fra loro, in particolare nei campioni numero 6 e 7 (rispettivamente 3,3 e 4,4 g di biochar) prevale l'acido propionico, mentre nei campioni numero 8 e 9 (rispettivamente 6,6 e 13,2 g di biochar) prevale l'acido acetico.

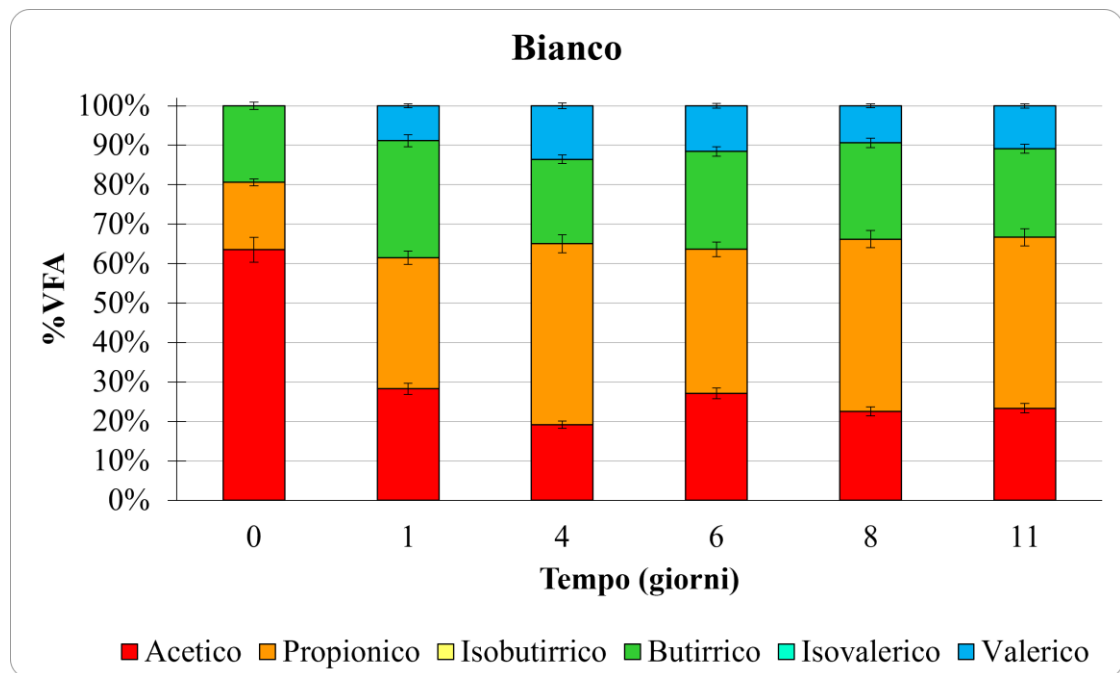


Figura 17. Distribuzione dei VFA nel campione Bianco

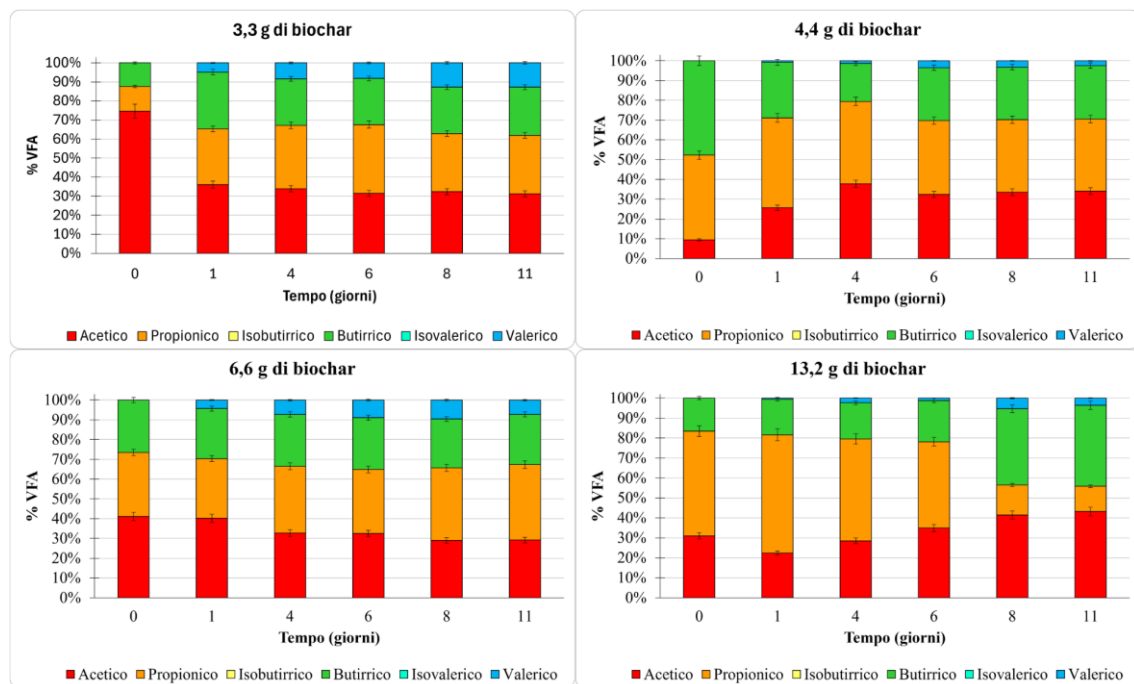


Figura 18. Distribuzione VFA per ogni campione con relativa quantità differente di biochar in condizioni standard

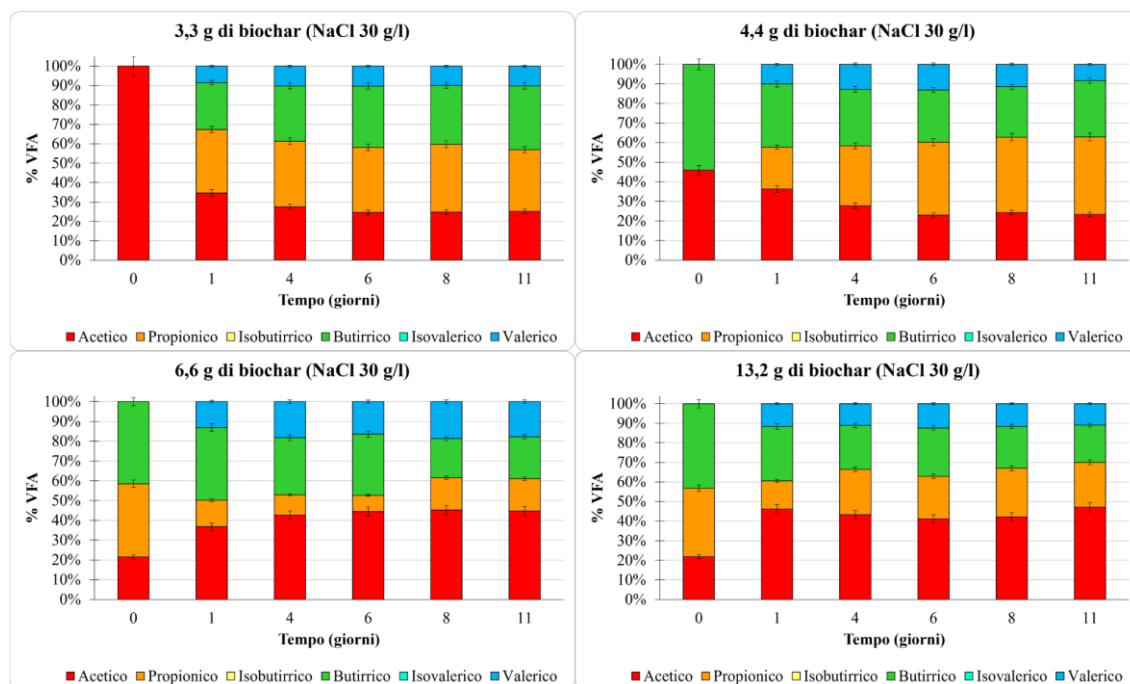


Figura 19. Distribuzione VFA per ogni campione con relativa quantità differente di biochar in ambiente salino

In linea generale è osservabile che il pattern di distribuzione degli acidi grassi a catena corta è molto simile in tutti i test che sono stati condotti senza l'aggiunta di NaCl, quindi, si suppone che la ripartizione percentuale sia una conseguenza diretta della tipologia di substrato utilizzato. Il pretrattamento termico applicato non sembra aver influito sulla distribuzione. Nei campioni che contenevano NaCl invece, la distribuzione ha subito delle modifiche che possono essere attribuite direttamente all'aggiunta del sale che ha alterato il metabolismo microbico.

4.4 Fermentazione del fango attivo senza pretrattamento in condizioni standard e ambiente salino

In questa prova è stato utilizzato il fango attivo proveniente dall'impianto di depurazione come substrato per la fermentazione, al fine di valutare la produzione di VFA in condizioni standard e in ambiente salino. La Tabella 8 mantiene la suddivisione dei campioni proposta nella prova precedente e riporta la quantità massima di VFA prodotta con relativa giornata di produzione.

Tabella 8. Dati relativi alla massima produzione di VFA ottenuta durante la prova

Nome campione	Giorno di max. produzione	NaCl (g/L)	Biochar (g)	VFA totali (g COD/L)	Rendimento %
Bianco	3	-	0	$1,90 \pm 0,09$	6 %
2	3	-	3,3	$2,1 \pm 0,1$	7 %
3	3	-	4,4	$2,0 \pm 0,1$	7 %
4	3	-	6,6	$2,7 \pm 0,1$	9 %
5	3	-	13,2	$2,9 \pm 0,1$	10 %
6	3	30	3,3	$1,9 \pm 0,09$	6 %
7	3	30	4,4	$2,7 \pm 0,1$	9 %
8	6	30	6,6	$3,0 \pm 0,1$	10 %
9	6	30	13,2	$3,0 \pm 0,2$	10 %

Il primo dato che emerge, visibile anche in Figura 20, riguarda il giorno in cui i campioni numero 8 e 9 raggiungono il picco di produzione, ciò avviene con tre giorni di ritardo rispetto a tutti gli altri campioni. Questo risultato sembra indicare che la combinazione di sale ed elevate quantità di biochar rallenti, almeno inizialmente, il metabolismo microbico. Tale interpretazione, tuttavia, contraddice quanto osservato nella prova precedente, nella quale tutti i campioni a cui era stato aggiunto biochar avevano mostrato un anticipo nel raggiungimento della produzione massima.

Un effetto attribuibile alla presenza del carbone attivo emerge dai valori della produzione massima e dal rendimento percentuale, infatti, entrambi aumentano proporzionalmente alla dose di biochar aggiunta, ad eccezione del campione numero 3, sia nelle prove condotte in condizioni standard sia in quella condotta in ambiente salino.

In Figura 20 viene mostrato l'andamento di tutti i campioni in termini di produzione di VFA durante l'intero periodo di sperimentazione. Anche in questo caso, si osserva che i campioni numero 8 e 9 raggiungono il picco al sesto giorno, a differenza degli altri, che presentano il valore massimo al terzo giorno. Nel primo giorno di sperimentazione, i campioni mostrano un comportamento pressoché analogo, mantenendo concentrazioni di VFA simili. I valori più bassi sono rilevati nei test numero 9 e nel Bianco, il quale mantiene questa tendenza anche nel corso della prova, durante la quale registra le concentrazioni minori, seguito dai campioni numero 2, 3 e 6, caratterizzati da un basso contenuto di biochar. Al contrario, i campioni arricchiti con dosi maggiori di carbone attivo, ovvero i campioni numero 4, 5, 7, 8 e 9, si distinguono per un maggiore accumulo di VFA nei giorni successivi di conduzione dell'esperimento. È importante sottolineare che le differenze riscontrate tra i campioni sono inferiori a 1,5 g COD/L, di conseguenza, risultano troppo contenute per consentire di stabilire con certezza una correlazione tra i diversi parametri di processo e determinarne l'influenza.

Un confronto utile può essere effettuato tra questa prova e le prime due prove sperimentali condotte sulla trebbia. Nella prima prova, la trebbia, testata in condizioni standard e senza alcun pretrattamento, aveva raggiunto una produzione massima di $1,91 \pm 0,09$ g COD/L, con un rendimento del 3,2 % al settimo giorno. Come mostrato sopra, la prova condotta sul fango tal quale evidenzia come minimo, corrispondente al campione Bianco, un valore pari a $1,90 \pm 0,09$ g COD/L, con un rendimento del 6 % già al terzo giorno di test. Tale

disparità nella tempistica di conversione e nella quantità di VFA prodotti suggerisce che le caratteristiche intrinseche del substrato, come la composizione del fango rispetto alla trebbia, giochino un ruolo predominante nel determinare presenza e velocità di degradazione dei composti organici.

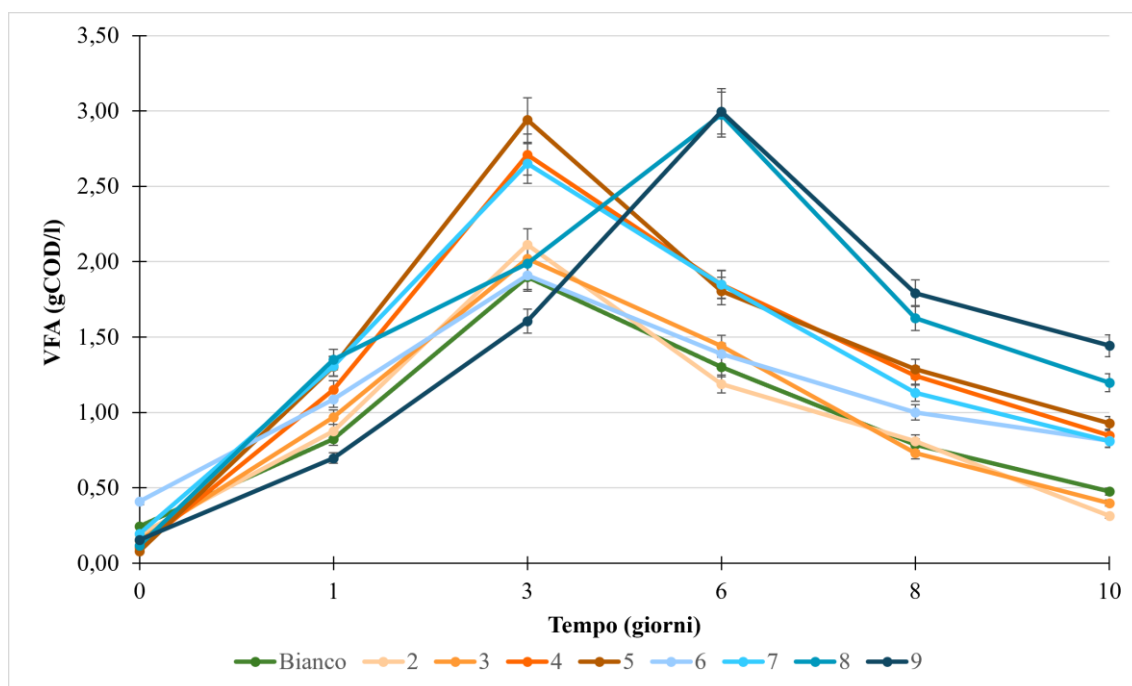


Figura 20. Grafico relativo all'andamento della produzione di VFA

Nella seconda prova di fermentazione della trebbia, condotta introducendo un ambiente salino, era emerso chiaramente l'effetto benefico dell'aggiunta del biochar, oltre che l'effetto benefico del sale che aveva consentito di raggiungere una concentrazione di VFA pari a $2,9 \pm 0,1$ g COD/L con un rendimento del 4,7 % al settimo giorno. Rispetto ai valori ottenuti in questa prova non ci sono molte differenze per quanto concerne la quantità massima prodotta, tuttavia, si osservano rendimenti che partono dal 6 % e che arrivano anche al 10 %, oltre che un tempo inferiore per raggiungere il giorno di massima produzione.

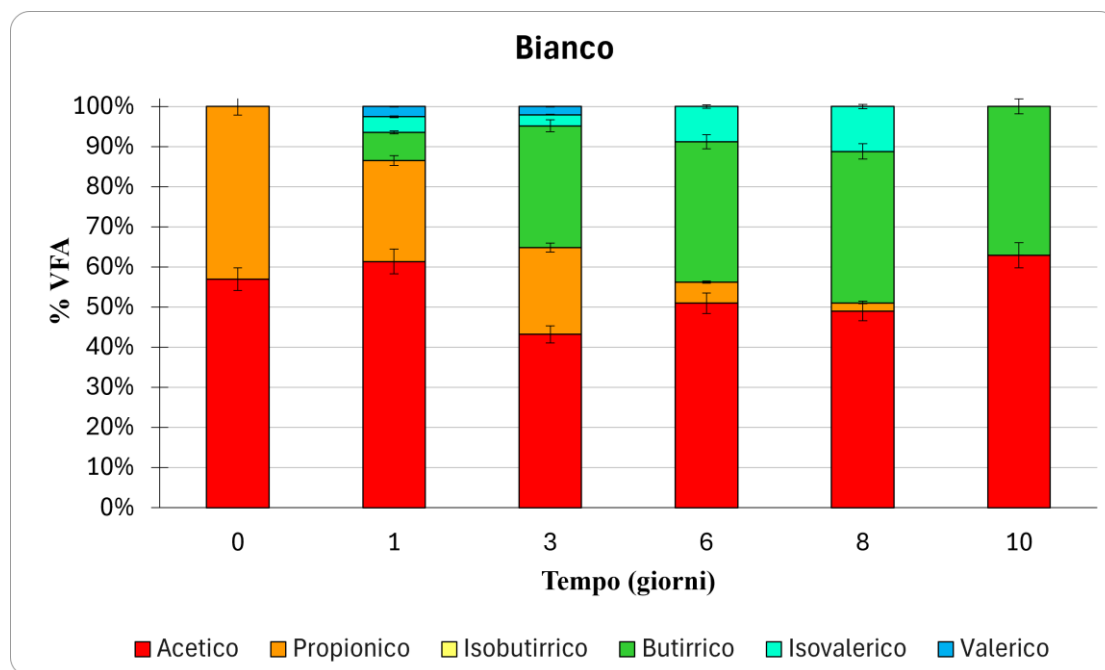


Figura 21. Distribuzione dei VFA nel campione Bianco

La Figura 21, la Figura 22 e la Figura 23 illustrano la ripartizione dei VFA prodotti, rispettivamente, nel campione Bianco, nei campioni standard e in quelli con aggiunta di NaCl. Da queste figure si osserva che il profilo metabolico rilevato nel giorno di massima produzione di VFA è molto simile per tutti i campioni, in linea generale l'acido acetico rappresenta il 42–50%, l'acido propionico il 13–22%, l'acido isobutirrico lo 0–5%, l'acido butirrico il 25–32%, mentre gli acidi valerico e isovalerico presentano valori sempre inferiori al 10%.

In tutti i campioni analizzati le differenze nella distribuzione relativa agli acidi grassi volatili non risultano significative, suggerendo che la composizione del consorzio microbico ha mantenuto una stabilità metabolica nonostante le variazioni nelle condizioni operative.

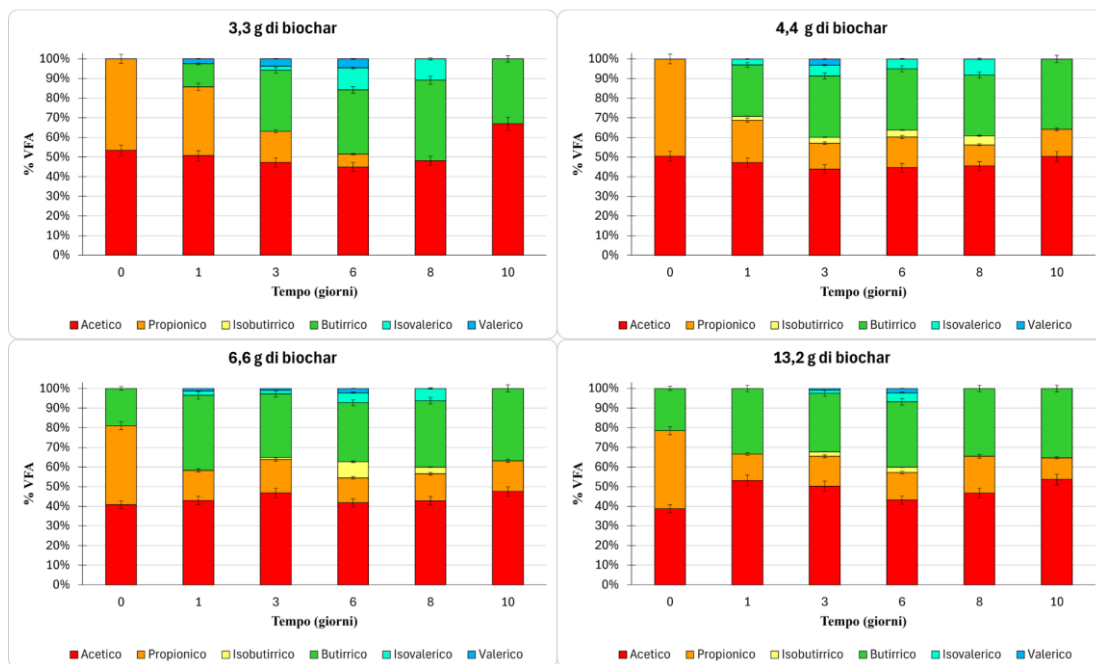


Figura 22. Distribuzione VFA per ogni campione con relativa quantità differente di biochar in condizioni standard

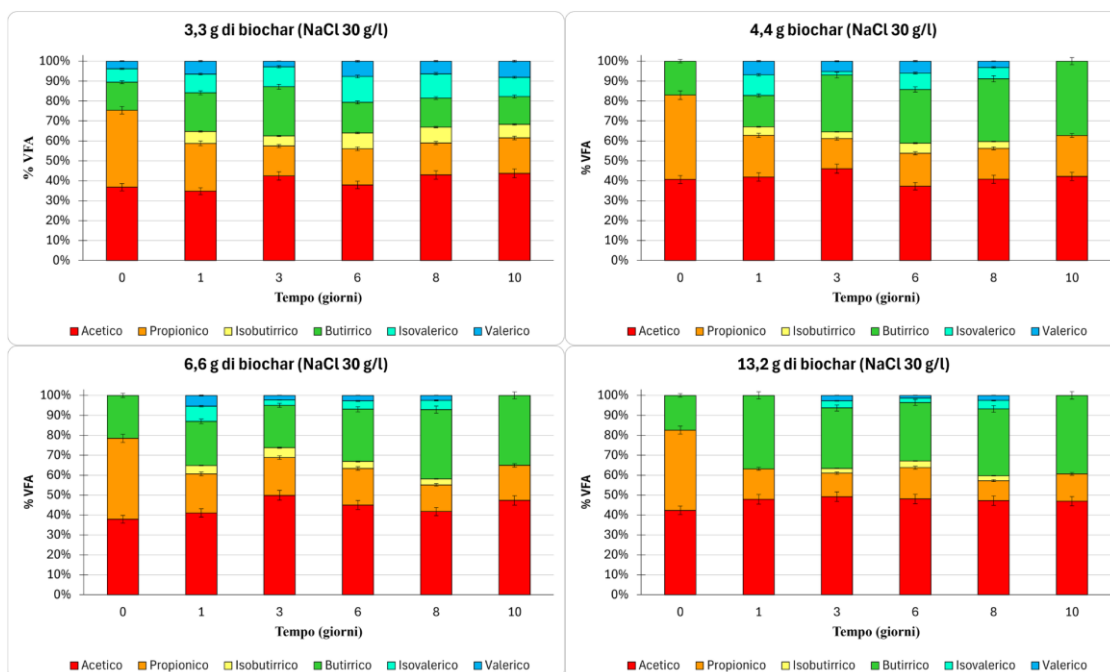


Figura 23. Distribuzione VFA per ogni campione con relativa quantità differente di biochar in ambiente salino

4.5 Fermentazione del fango attivo pretrattato in condizioni standard e ambiente salino (mesofilia)

In questa prova è stato utilizzato il medesimo fango proveniente dall'impianto di depurazione ma con l'implementazione di un trattamento termico. Il fango è stato quindi sottoposto a una temperatura di 70 °C per 24 ore prima di procedere con la fase di fermentazione, condotta sempre a 35 °C, in modo da favorire il processo di idrolisi.

La Tabella 9 riassume i dati dei campioni, mantenendo le modalità di suddivisione adottate nei lavori precedenti, e riporta la quantità totale di VFA prodotta e il relativo rendimento percentuale. Il primo dato visibile è la concentrazione di VFA del campione Bianco, la più bassa tra tutti i campioni analizzati, che fa intendere possibili effetti benefici dati dai parametri modificati negli altri campioni.

Tabella 9. Dati relativi alla massima produzione di VFA ottenuta durante la prova

Nome campione	Giorno di max. produzione	NaCl (g/L)	Biochar (g)	VFA totali (g COD/L)	Rendimento %
Bianco	5	-	0	3,3 ± 0,2	11 %
2	5	-	3,3	4,0 ± 0,2	13 %
3	5	-	4,4	5,2 ± 0,3	17 %
4	5	-	6,6	7,2 ± 0,4	24 %
5	5	-	13,2	7,7 ± 0,4	26 %
6	5	30	3,3	3,9 ± 0,2	13 %
7	5	30	4,4	6,1 ± 0,3	20 %
8	5	30	6,6	8,1 ± 0,4	27 %
9	5	30	13,2	8,1 ± 0,4	34 %

Per ottenere un quadro generale dell'andamento del processo, è utile osservare la Figura 24, che mostra la produzione lungo l'intera durata del test. I valori più bassi, corrispondenti al Bianco, sono chiaramente distinguibili, mentre, gli altri campioni risultano raggruppati in base alla quantità di biochar aggiunta. Infatti, al di sopra del

Bianco si collocano i campioni 2 e 6, caratterizzati dall'aggiunta di 3,3 g di carbone, seguiti dai campioni 3 e 7, contenenti 4,4 g di carbone e, infine, si trovano i restanti campioni, ai quali sono state aggiunte quantità pari a 6,6 g e 13,2 g. Anche in questo caso, l'effetto positivo può essere attribuito all'aggiunta di biochar, che favorisce la produzione di VFA fino a raggiungere un incremento significativo con 6,6 g. Oltre tale quantità, tuttavia, l'aggiunta di biochar non sembra apportare ulteriori vantaggi rilevanti.

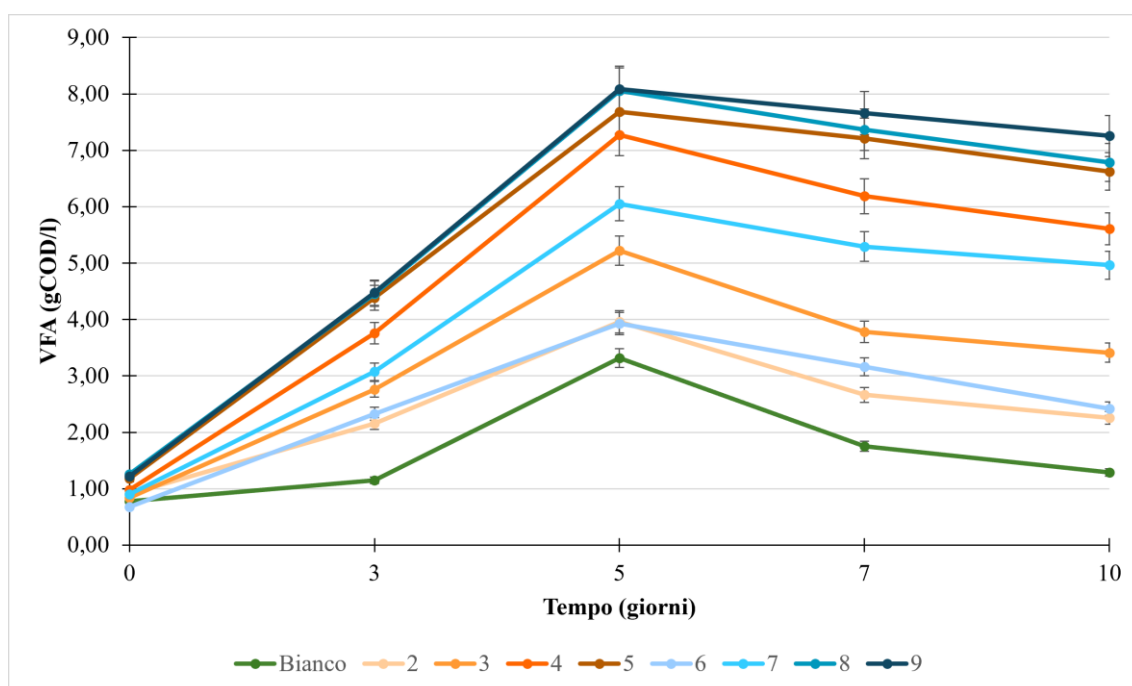


Figura 24. Grafico relativo all'andamento della produzione di VFA

Prendendo in considerazione i dati ottenuti dal pretrattamento della BSG, è possibile osservare alcune differenze. In primo luogo, le concentrazioni ottenute in condizioni standard dalla trebbia erano comprese tra circa 9 e 11 g COD/L, mentre, come mostrato in Tabella 9, in questo caso non superano gli 8 g COD/L. I rendimenti percentuali della trebbia in condizioni standard erano comprese tra il 15 e il 17 %, mentre, nel caso dei fanghi, raggiungono valori fino al 26 %. In secondo luogo, le condizioni saline, che nel caso della BSG avevano mostrato effetti fortemente inibitori, mantenendo la produzione

di VFA al di sotto di 6 g COD/L e il rendimento percentuale massima intorno al 10 %, in presenza di fanghi attivi sembrano invece produrre risultati persino migliori rispetto alle condizioni standard. Come si osserva dalla figura, infatti, i campioni 8 e 9 hanno registrato le concentrazioni di VFA più elevate, pari a $8,1 \pm 0,4$ g COD/L, con rispettivi rendimenti del 27 % e del 34 %.

Al fine di analizzare approfonditamente i dati ottenuti da questa prova, si ripropone l'analisi cinetica introdotta in un capitolo precedente, finalizzata al calcolo della velocità specifica media di produzione dei VFA.

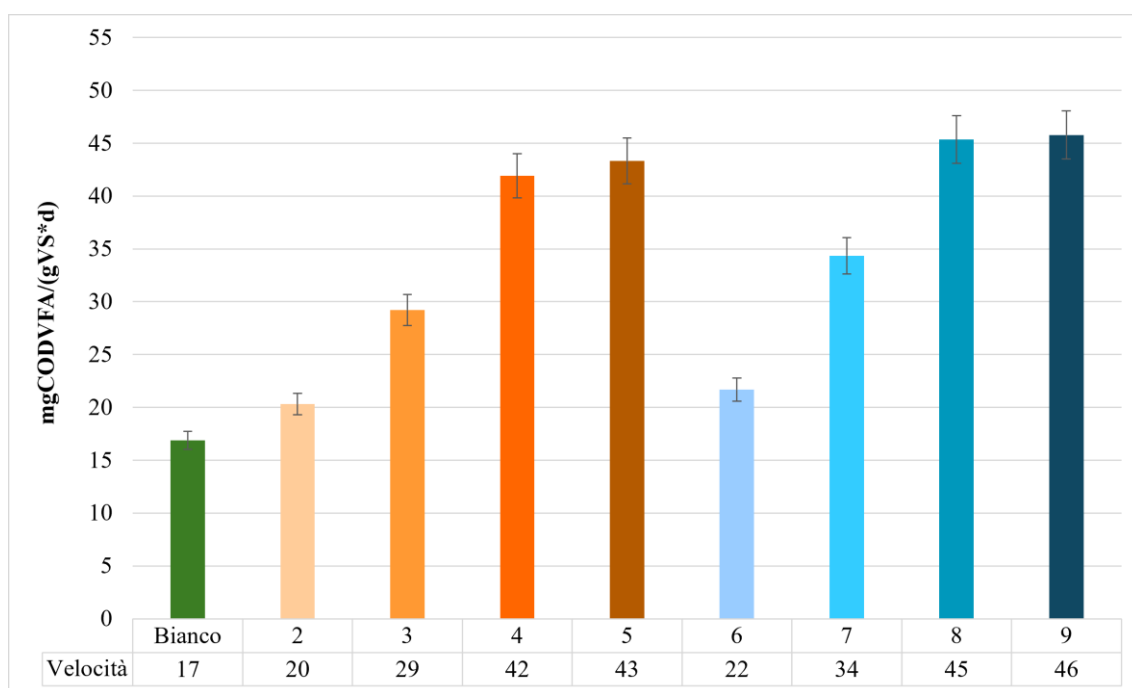


Figura 25. Velocità specifiche medie di produzione di VFA per ogni campione

La Figura 25 mostra la velocità specifica media di produzione dei VFA per ciascun campione analizzato. Il campione Bianco presenta i valori più bassi, analogamente ai campioni numero 2 e 6, i campioni numero 3 e 7 mostrano invece una velocità leggermente superiore, mentre i campioni numero 4, 5, 8 e 9 costituiscono il gruppo

caratterizzato dai valori più elevati. Tale andamento conferma la correlazione positiva con la presenza di biochar, già ipotizzata in precedenza.

A questo punto risulta interessante il confronto con le velocità specifiche ottenute nel capitolo dedicato al pretrattamento della trebbia, infatti, in quel caso le velocità erano comprese tra gli 83 e i 95 mg COD_{VFA}/ (g VS*d) mentre nel capitolo attuale hanno come valore massimo 46 mg COD_{VFA}/ (g VS*d).

Per quanto riguarda l'analisi della composizione dei VFA, la Figura 26, la Figura 27 e la Figura 28 illustrano i dati relativi, rispettivamente, al Bianco, ai campioni standard e ai campioni in ambiente salino. Dai dati si osserva che il profilo metabolico rilevato nel giorno di massima produzione di VFA è molto simile in tutti i campioni. Nello specifico, i valori di acido propionico, compreso tra il 14 e il 18 %, di acido isobutirrico, compreso tra il 3 e il 6 %, di acido butirrico, compreso tra il 23 e il 31 %, e di acido valerico, compreso tra il 2 e il 7 %, sono rimasti dello stesso ordine di grandezza rispetto a quelli ottenuti nel capitolo precedente, in cui non era stato applicato alcun pretrattamento. Al contrario, la frazione di acido acetico ha mostrato una diminuzione, raggiungendo valori compresi tra il 33 e il 38 %, mentre la frazione di acido isovalerico ha presentato percentuali più elevate, comprese tra il 9 e il 15 %.

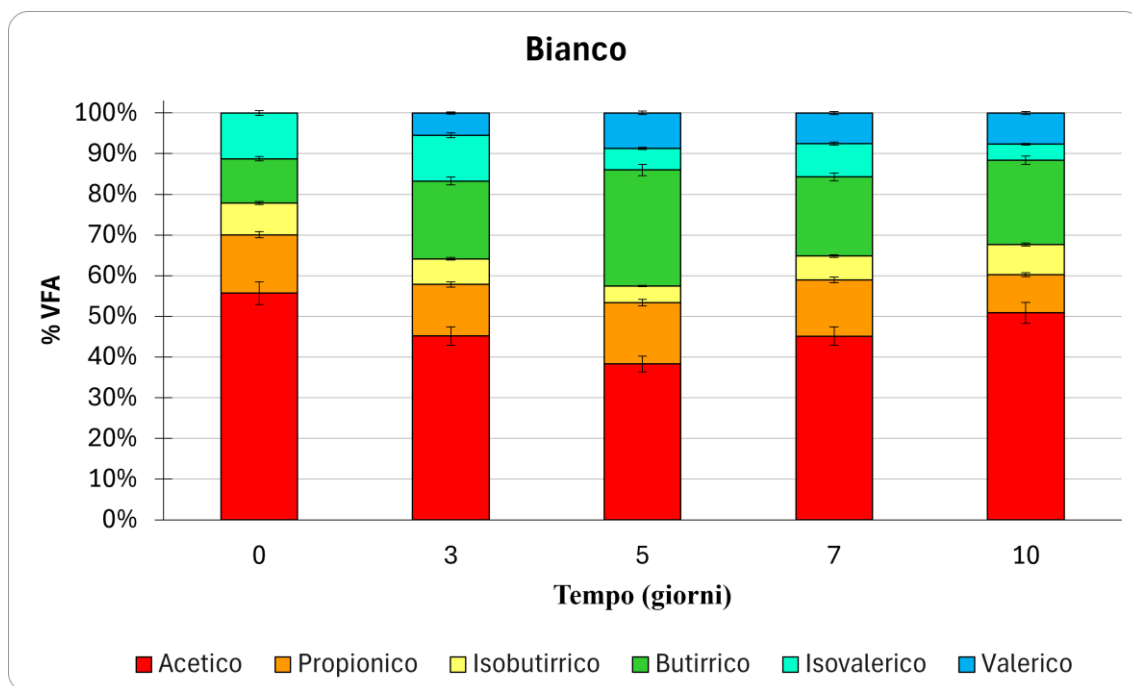


Figura 26. Distribuzione dei VFA nel campione Bianco

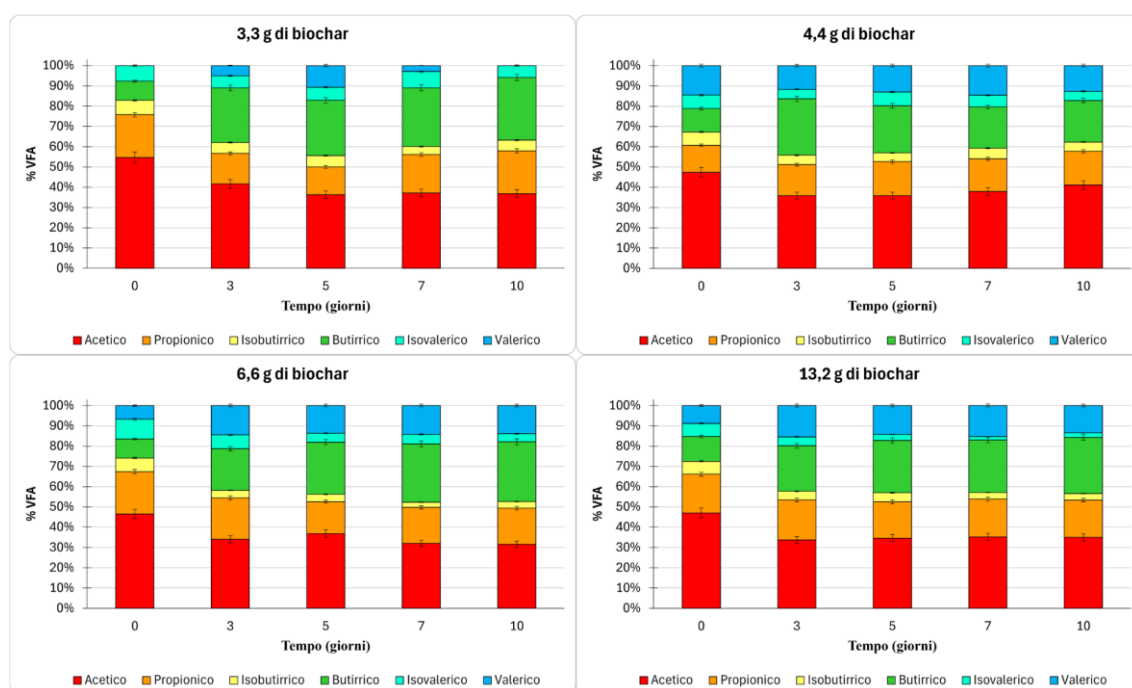


Figura 27. Distribuzione VFA per ogni campione con relativa quantità differente di biochar in condizioni standard

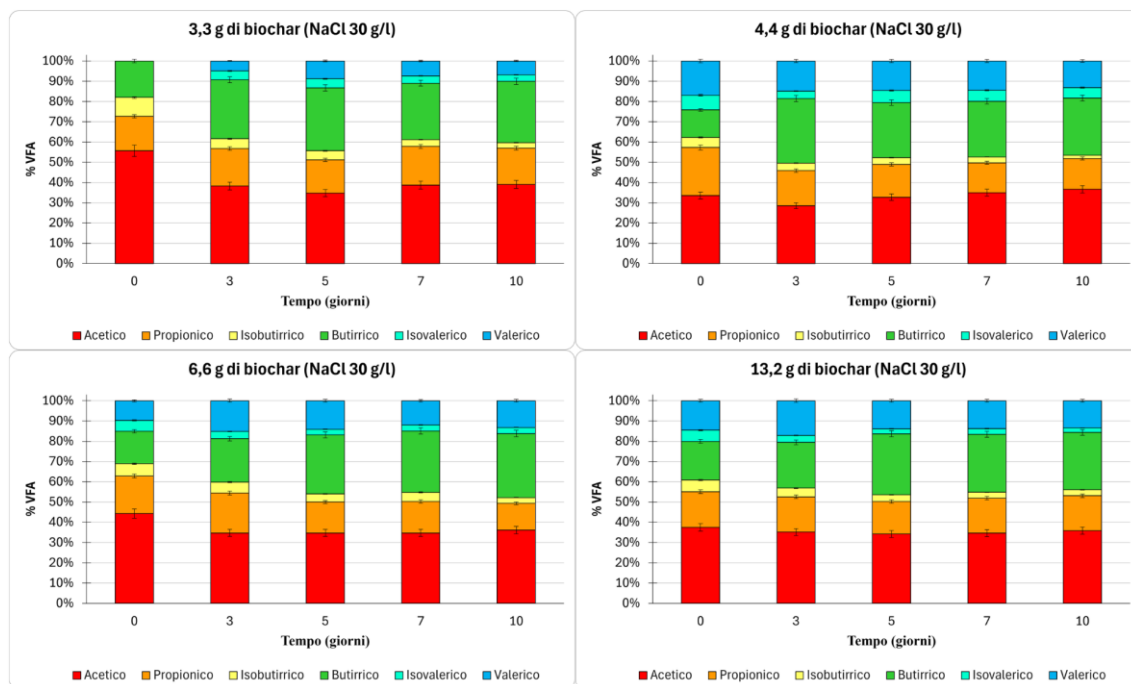


Figura 28. Distribuzione VFA per ogni campione con relativa quantità differente di biochar in ambiente salino

4.6 Fermentazione del fango attivo pretrattato in condizioni standard e ambiente salino (termofilia)

L'analisi che segue è stata eseguita copiando fedelmente le condizioni operative dell'analisi del capitolo precedente, con un'unica sostanziale differenza, la temperatura alla quale sono stati mantenuti i reattori batch. Infatti, fino a questo momento tutte le prove citate in precedenza sono state condotte in regime mesofilo, ovvero mantenendo una temperatura di 35 °C nella vasca dei reattori, mentre per il test attuale è stato scelto un regime termofilo, che corrisponde ad una temperatura di 55 °C. In Tabella 10 vengono riportati i dati relativi alla quantità massima di VFA prodotta durante la prova. Si osserva come anche in questo caso i risultati ottenuti dal campione Bianco si collocano come peggiori per quanto riguarda concentrazione di VFA e rendimento percentuale.

Tabella 10. Dati relativi alla massima produzione di VFA ottenuta durante la prova

Nome campione	Giorno di max. produzione	NaCl (g/L)	Biochar (g)	VFA totali (g COD/L)	Rendimento %
Bianco	4	-	0	4,0 ± 0,2	13 %
2	4	-	3,3	4,2 ± 0,2	17 %
3	4	-	4,4	5,5 ± 0,3	22 %
4	4	-	6,6	8,1 ± 0,4	33 %
5	4	-	13,2	8,4 ± 0,4	35 %
6	4	30	3,3	4,8 ± 0,2	20 %
7	4	30	4,4	6,5 ± 0,3	27 %
8	4	30	6,6	8,1 ± 0,4	34 %
9	4	30	13,2	9,0 ± 0,4	37 %

Analogamente, la Figura 29 che illustra l'andamento temporale della produzione di VFA mostra un profilo molto simile a quello osservato nella prova condotta in condizioni mesofile, infatti, il campione Bianco presenta i valori più bassi, seguito dagli altri campioni, disposti secondo un gradiente crescente in funzione della quantità di biochar

aggiunta. Tuttavia, le condizioni termofile hanno consentito di incrementare leggermente sia la quantità totale di VFA prodotta, che ha raggiunto un massimo di $9,0 \pm 0,4$ g COD/L, sia il rendimento percentuale, pari al 37 %.

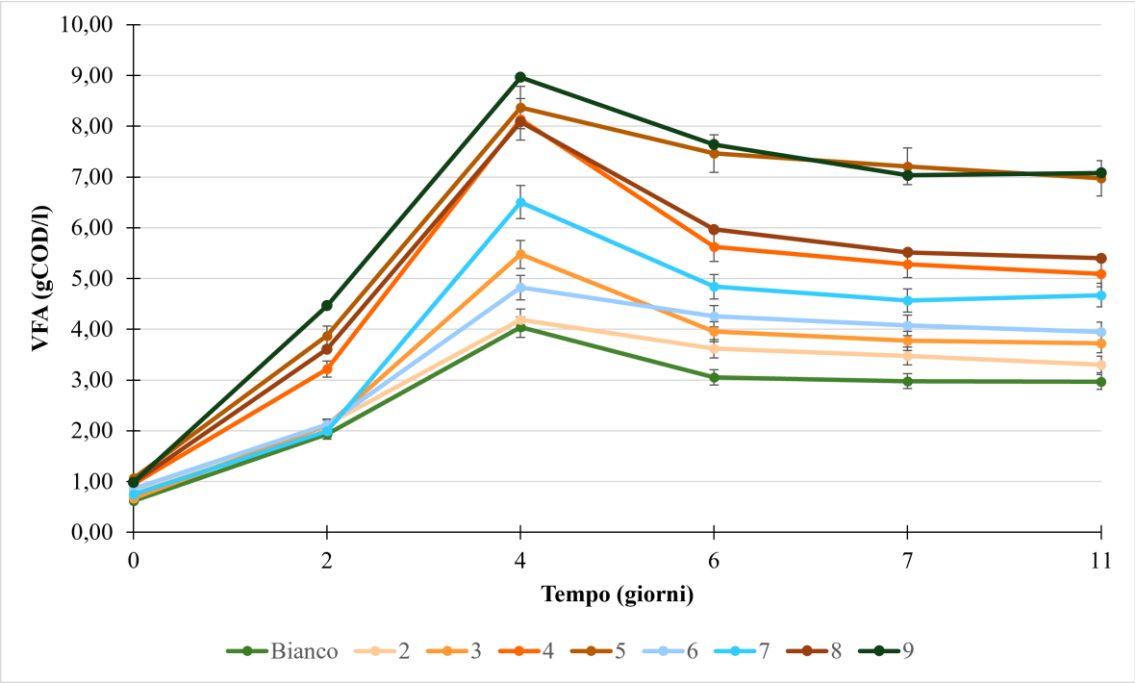


Figura 29. Grafico relativo all'andamento della produzione di VFA

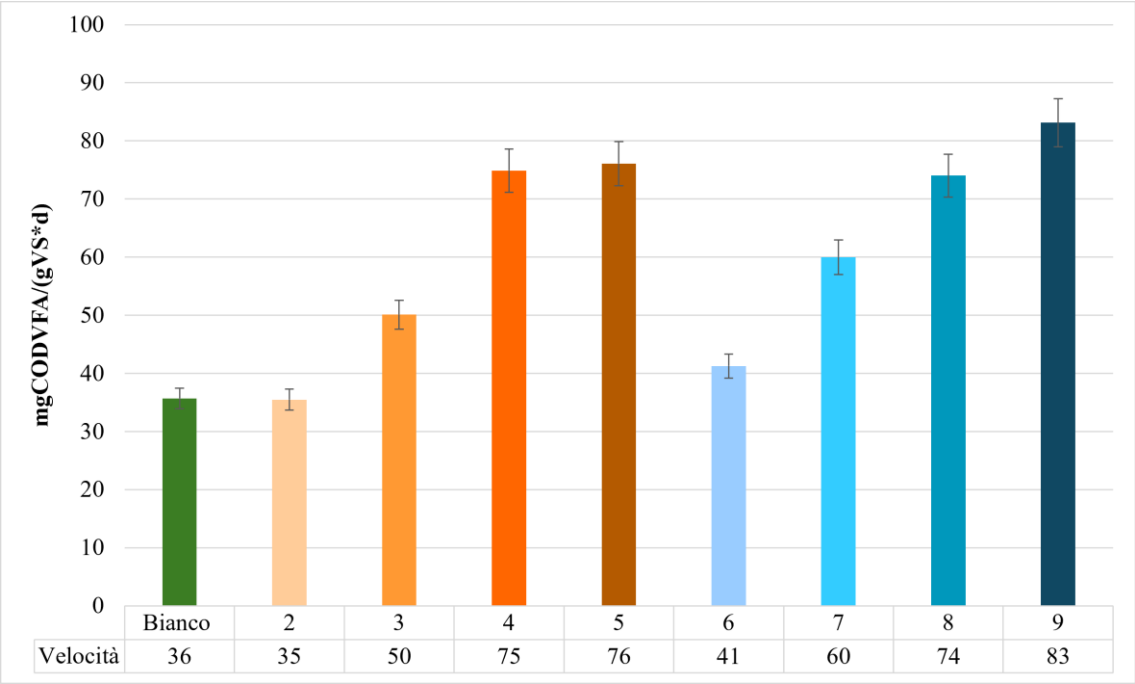


Figura 30. Velocità specifiche medie di produzione di VFA per ogni campione

Anche in questa prova è stata condotta la medesima analisi cinetica sulle velocità specifiche medie di produzione di VFA. I Risultati presenti in Figura 30 rivelano che la distribuzione dei risultati rispetto al capitolo precedente resta la stessa, ma è presente una grande differenza negli ordini di grandezza, infatti, in questa prova le velocità raggiungono anche gli 83 mg COD_{VFA}/ (g VS*d), quasi il doppio rispetto ai 46 mg COD_{VFA}/ (g VS*d) ottenuti in regime mesofilo. Questi dati, invece, si trovano in linea con quelli ottenuti nella prova di pretrattamento della trebbia.

Per quanto riguarda la distribuzione dei VFA, nella Figura 31 è riportato il profilo del Bianco, mentre nella Figura 32 e nella Figura 33 sono raffigurati, rispettivamente, i campioni standard e quelli sottoposti a condizioni saline. Anche in questa prova si osserva un profilo metabolico molto simile tra tutti i campioni, dove l'acido acetico varia dal 26 al 36 %, l'acido propionico dal 14 al 22 %, l'acido isobutirrico dal 5 al 9 % e l'acido butirrico dal 36 al 47 %. Rispetto alle condizioni mesofile, le differenze nel profilo dei VFA riguardano esclusivamente l'aumento dell'acido butirrico e l'assenza degli acidi isovalerico e valerico.

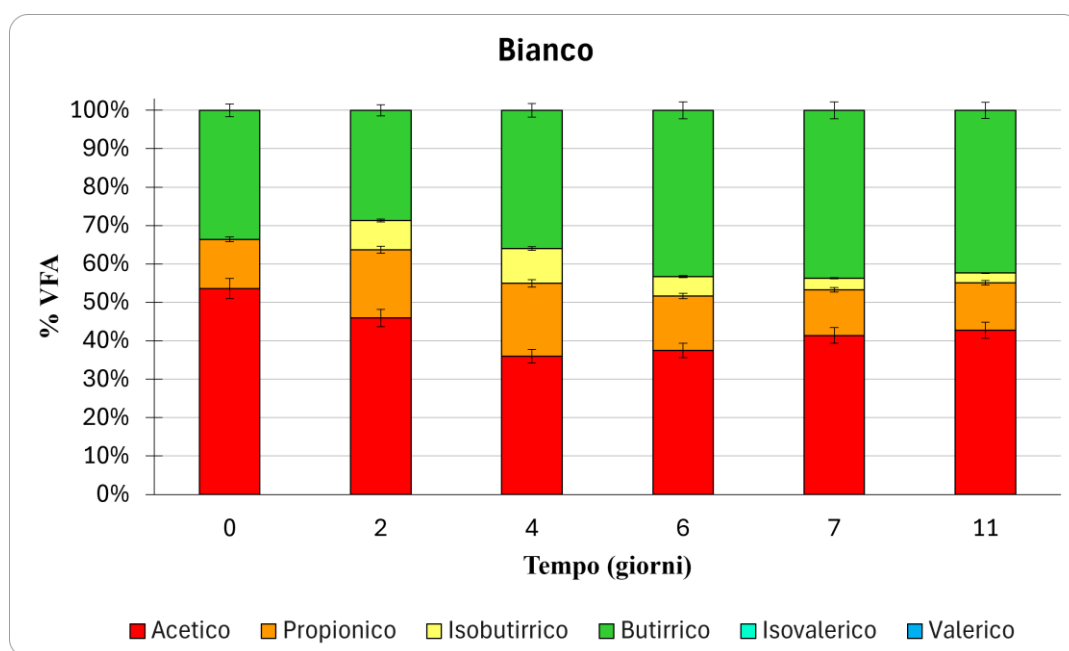


Figura 31. Distribuzione dei VFA nel campione Bianco

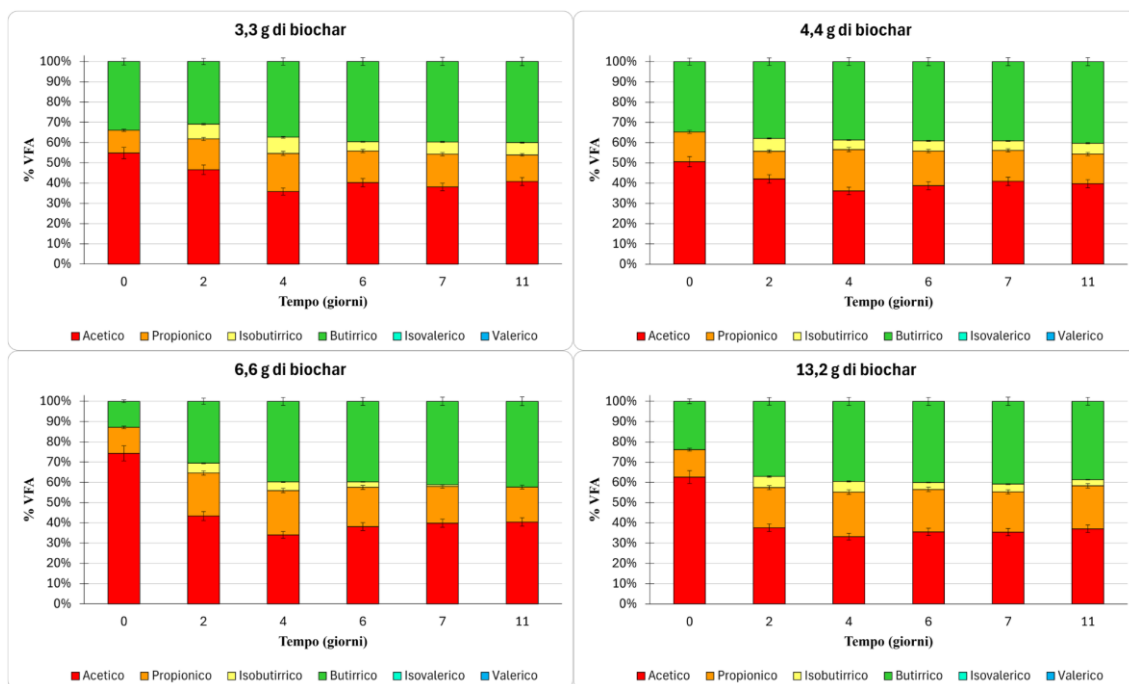


Figura 32. Distribuzione VFA per ogni campione con relativa quantità differente di biochar in condizioni standard

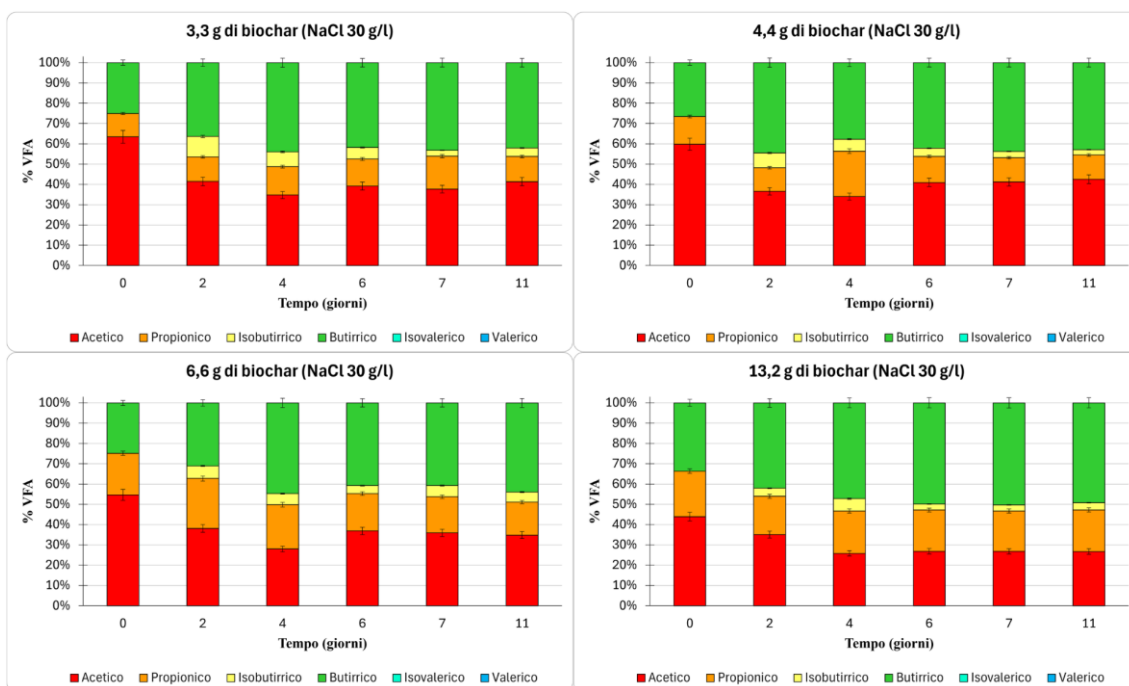


Figura 33. Distribuzione VFA per ogni campione con relativa quantità differente di biochar in ambiente salino

5. Discussione

Il presente lavoro si proponeva di valutare la produzione di acidi grassi volatili (VFA) mediante processi di fermentazione anaerobica, utilizzando due matrici di scarto differenti, la trebbia di birra e il fango attivo di depurazione. Sono state inoltre analizzate le condizioni operative ottimali, quali il pretrattamento termico, la salinità, il dosaggio di carbone attivo e il regime termico. Le prove batch condotte hanno permesso di trarre indicazioni sia sul comportamento dei singoli substrati, sia sulle condizioni operative più favorevoli alla loro valorizzazione in forma preliminare, da approfondire in successivi studi che prevederanno lo sviluppo del processo in continuo.

La prima prova, condotta sulla trebbia tal quale in condizione mesofile e pH neutro, ha confermato una significativa suscettibilità alla biodegradazione del substrato lignocellulosico. Il picco di produzione, raggiunto al settimo giorno, è stato di $1,9 \pm 0,1$ g COD/L nel campione che corrispondeva ad un'aggiunta di 6,6 g di biochar, con un rendimento massimo del 3,2 %. L'aggiunta del carbone attivo rispetto al Bianco corrisponde in termini assoluti ad un incremento di 0,30 g COD/L e non può quindi essere considerato un fattore determinante per l'incremento del rendimento fermentativo. Addirittura, un dosaggio più elevato, pari a 13,2 g, sembra aver determinato un effetto inibitorio, portando la produzione al di sotto del Bianco. L'aggiunta di NaCl ha evidenziato una crescita della produzione proporzionale alla dose di biochar introdotto, raggiungendo un picco di $2,9 \pm 0,1$ g COD/L e un rendimento del 4,7 % nel campione con 13,2 g di carbone attivo. L'elevata salinità ha presumibilmente prodotto, su un substrato non sottoposto a pretrattamento, una parziale solubilizzazione della materia organica, favorendone l'accessibilità ai microrganismi e determinando un aumento del rendimento massimo passando dal 3,2 % al 4,7 %. Nonostante ciò, i valori assoluti della

produzione rimangono piuttosto contenuti e inferiori a 3 g COD/L. Di fatto, un processo di pretrattamento risultava necessario per incrementare le performance di fermentazione. In seguito a pretrattamento termico, la produzione di VFA ha raggiunto un massimo di $11,0 \pm 0,6$ g COD/L, con un rendimento del 18 %. I campioni contenenti biochar hanno evidenziato un'anticipazione di due giorni del picco produttivo, suggerendo un'accelerazione della cinetica microbica. L'aggiunta di NaCl ha invece prodotto un effetto marcatamente inibitorio, con produzioni inferiori a $6,0 \pm 0,3$ g COD/L, e rendimenti dimezzati rispetto ai campioni standard. L'analisi cinetica ha confermato il quadro delineato, evidenziando che il pretrattamento termico ha determinato velocità specifiche particolarmente elevate nei campioni standard, mentre la presenza di sale ha compromesso l'attività metabolica, riducendo significativamente tali velocità.

Per quanto riguarda il secondo substrato investigato, ovvero il fango attivo, il processo fermentativo sul fango tal quale ha prodotto un fermentato avente concentrazione pari a circa 3,0 g COD/L, valore comparabile, in termini assoluti, a quello rilevato in presenza di trebbia non pretrattata. Questa evidenza, dimostra l'elevata recalcitranza delle due matrici, tuttavia, l'utilizzo di fango attivo permetteva di raggiungere il massimo del rendimento fermentativo al terzo giorno, e con rendimenti prossimi al 10 %. L'effetto del biochar è risultato proporzionale alla dose sia in condizioni standard sia in ambiente salino. Nei campioni contenenti 6,6 e 13,2 g di biochar in presenza di sale, il raggiungimento del picco produttivo è stato posticipato al sesto giorno, suggerendo un iniziale rallentamento dell'attività metabolica, seguito da un accumulo più prolungato dei prodotti di fermentazione. Le differenze osservate tra i diversi campioni, inferiori a 1,5 g COD/L, non consentono di individuare correlazioni univoche.

In seguito a pretrattamento termico applicato al fango attivo, si sono delineate differenze nette tra i campioni al variare del contenuto di biochar, sia in condizioni standard sia in ambiente salino. Le concentrazioni massime raggiunte in condizioni standard erano di $7,7 \pm 0,4$ g COD/L, mentre in ambiente salino erano pari a $8,1 \pm 0,4$ g COD/L, entrambi corrispondenti a un'aggiunta di 13,2 g di carbone attivo. L'incremento più rilevante si verifica fino a 6,6 g di biochar, oltre i quali il beneficio marginale si riduce sensibilmente. Le velocità specifiche sono risultate però circa la metà di quelle registrate sulla trebbia pretrattata.

In regime termofilo, la massima produzione di VFA era pari a $9,0 \pm 0,5$ g COD/L, il valore più elevato rispetto agli altri test, con un rendimento di fermentazione del 37 % dopo 4 giorni di incubazione. Pur essendo modesto l'incremento della concentrazione di VFA rispetto al valore riscontrato in regime mesofilo, è importante sottolineare che la velocità specifica di produzione era praticamente doppia, allineandosi ai valori ottenuti con trebbia pretrattata.

Il confronto diretto tra le due matrici conferma il ruolo determinante della scelta del substrato. In assenza di pretrattamento, la trebbia e il fango attivo hanno raggiunto produzioni in termini assoluti comparabili; tuttavia, l'utilizzo di fango attivo consentiva di raggiungere il picco produttivo in tempi più rapidi (circa 3 giorni, rispetto ai 7 richiesti dalla trebbia), oltre che aver registrato rendimenti pressoché doppi. Tale comportamento è indicativo di una minore recalcitranza del fango e della presenza di una frazione organica più facilmente idrolizzabile. In seguito al pretrattamento termico, il quadro si è invece invertito: l'utilizzo della trebbia consentiva di ottenere concentrazioni di VFA superiori rispetto al fango, con rendimenti quasi sempre inferiori. Questo comportamento potrebbe essere attribuito alla diversa concentrazione di VS alimentata nei reattori. La

trebbia, infatti, è stata diluita fino a una concentrazione di 70 g/L (corrispondenti a 60 g VS/L ca.), mentre il fango utilizzato, in uscita dall'ispessitore statico era pressoché pari a 30 g VS/L. Di conseguenza, l'utilizzo della trebbia apportava una quantità maggiore di sostanza organica per unità di volume; da ciò si deduce che utilizzando solo fango attivo, si riesce a convertire in acidi una frazione organica più elevata rispetto alla trebbia.

In un'ottica di dimensionamento impiantistico, il fango pretrattato appare più indicato quando si intende massimizzare l'efficienza di conversione della sostanza organica alimentata; tuttavia, in un'ottica di allargamento dell'approccio a una più larga scelta di substrati, l'utilizzo della trebbia pretrattata come co-substrato in processi di co-fermentazione, potrebbe risultare indicato per l'incremento della produzione di VFA, sfruttando l'attivazione della coltura fermentante (grazie ai tempi di acclimatazione brevi garantiti dai fanghi attivi).

Anche la distribuzione degli acidi consentiva di distinguere nettamente le due matrici. Per le prove effettuate con la trebbia, volendo delineare un profilo generale, si osservava una prevalenza di acido propionico, seguito da acido acetico e butirrico, oltre che una totale assenza di acidi isobutirrico e isovalerico. Il pretrattamento termico ha comportato cambiamenti molto lievi nella composizione, favorendo un leggero aumento della produzione di acido butirrico. Per quanto riguarda l'utilizzo di fango attivo, il profilo è risultato più eterogeneo, con una dominanza dell'acido acetico in condizioni mesofile, seguito da acido butirrico e acido propionico, e percentuali minori da acidi isovalerico e isobutirrico. Il passaggio alla termofilia ha spostato il profilo verso una produzione prevalente di acido butirrico, a discapito degli acidi valerico e isovalerico, praticamente assenti nel brodo di fermentazione.

Il biochar ha evidenziato un effetto positivo, sebbene fortemente dipendente dalla natura del substrato e dal dosaggio impiegato. Nel caso della trebbia non pretrattata, il beneficio è risultato contenuto, con un valore ottimale in corrispondenza di 6,6 g e, in una delle condizioni sperimentali, un effetto inibitorio alla dose di 13,2 g. Nella trebbia sottoposta a pretrattamento termico, l'incremento quantitativo della produzione è stato invece modesto, determinando però un'anticipazione di due giorni del picco produttivo, traducendosi in un miglioramento della cinetica di processo. Nel fango attivo, al contrario, è stata osservata una relazione più evidente e sistematica tra dose di biochar e produzione, sia in condizioni mesofile sia in condizioni termofile, con incrementi apprezzabili rispetto all'utilizzo del substrato non additivato. Complessivamente, in tutte le prove, l'aumento più significativo si è verificato con un dosaggio pari a 6,6 g; oltre tale valore non si riscontravano effetti benefici sulle performance di fermentazione. È inoltre opportuno sottolineare che, nelle prove condotte senza pretrattamento, durante i primi giorni di fermentazione i campioni contenenti biochar mostravano concentrazioni nette inferiori rispetto al Bianco. Tale comportamento potrebbe essere attribuito all'adsorbimento dei VFA da parte della matrice porosa, con conseguente sottostima della produzione effettiva determinata analiticamente sulla sola fase liquida.

L'effetto della salinità non è stato del tutto chiarito nel corso dell'intera sperimentazione, essendo state riscontrate risposte differenti in funzione della matrice e dell'eventuale pretrattamento. Nel caso della trebbia tal quale, la presenza del sale ha favorito la produzione, presumibilmente grazie a un'azione di solubilizzazione della sostanza organica altrimenti non facilmente accessibile. Al contrario, nella trebbia sottoposta a pretrattamento termico, la salinità ha esercitato un marcato effetto inibitorio, determinando una riduzione pressoché dimezzata sia delle produzioni sia delle velocità

specifiche. Una volta garantita l'idrolisi mediante il trattamento termico, infatti, l'ulteriore contributo solubilizzante del NaCl risulta trascurabile, mentre prevale lo stress osmotico a carico dei batteri acidogeni. Nel fango attivo, sia tal quale sia pretrattato, l'ambiente salino non ha determinato effetti inibitori e, in combinazione con dosi elevate di biochar, ha anzi consentito di ottenere le prestazioni migliori. Tale comportamento potrebbe essere ricondotto all'acclimatazione della comunità microbica e alla contestuale inibizione della metanogenesi, che avrebbe favorito un accumulo più prolungato dei VFA.

6. Conclusioni

I risultati ottenuti da questo lavoro trovano parzialmente riscontro nella letteratura scientifica. L'efficacia del pretrattamento termico è stata confermata sia per la trebbia sia per il fango attivo. Gli effetti favorevoli del biochar sono risultati particolarmente evidenti nelle prove condotte sul fango di depurazione, mentre l'inibizione osservata nel caso della trebbia potrebbe essere attribuita all'impiego di una dose eccessiva di materiale. Questo risultato confermerebbe la possibilità che il biochar produca effetti sfavorevoli a dosaggi elevati, così come all'azione adsorbente riscontrata durante i primi giorni delle prove condotte in assenza di pretrattamento. Il comportamento dato dall'aggiunta di 30 g/L di NaCl non è risultato di facile interpretazione, dato che in alcune condizioni sembrava essere in grado di stimolare la cinetica, mentre in altre sembra avere compresso l'efficienza globale del processo fermentativo. Ciò potrebbe suggerire che non esista una soglia definita di salinità alla quale è consigliato lavorare, piuttosto si delinea la possibilità che la risposta dei microrganismi sia strettamente dipendente dalle caratteristiche specifiche del substrato e dalle interazioni metaboliche che vengono instaurate.

Anche per quanto riguarda la distribuzione dei VFA emergono delle difficoltà nell'interpretazione, dovuta principalmente alla variabilità dei diversi parametri operativi che influiscono con intensità differenti sulla composizione finale. Trovano riscontro il ruolo del biochar che indirizza il metabolismo verso la via propionica, almeno per la trebbia, così come lo spostamento verso forme ramificate dato dal fango attivo. Anche il passaggio alla termofilia ha confermato l'incremento del butirrato, oltre che l'aumento del rendimento e delle velocità. Resta tuttavia da sottolineare che le condizioni batch non rappresentino di per sé condizioni stabili di funzionamento; tale caratteristica intrinseca non favorisce la stabilità dei pathways metabolici in un consorzio misto (come quello

utilizzato in questa sperimentazione). Pertanto, aspetti come la distribuzione di VFA devono essere considerati come semplici tendenze, da confermare o meno in fase di sviluppo dei processi in continuo.

Per la trebbia di birra, le condizioni migliori risultano essere in assenza di sale, con pretrattamento termico, fermentazione in mesofilia, con pH riportato a 7.0 e scarico del reattore al sesto giorno. Il pretrattamento è la variabile decisiva, mentre il biochar svolge un ruolo accessorio. Le condizioni migliori per il fango attivo sono date dal pretrattamento termico, fermentazione in regime termofilo, salinità di 30 g/L e aggiunta di biochar, con scarico del reattore al quarto giorno.

In conclusione, i risultati vanno interpretati con la consapevolezza della presenza di alcuni limiti. Le prove sono state condotte in sistemi batch limitati, i quali impediscono una valutazione esaustiva delle dinamiche di accumulo dei VFA su scala continua. In diverse prove le differenze di concentrazione sono risultate troppo contenute per attribuire con certezza l'effetto di una singola variabile.

Sviluppi futuri dovrebbero prevedere la conduzione in reattori semicontinui o continui, per l'ottimizzazione di parametri operativi come OLR e HRT, e il confronto tra più livelli di salinità e la messa a punto di processi di co-fermentazione, ovvero processi in cui possono essere investigate miscele a composizione variabile dei substrati in esame, nel rispetto dei parametri operativi impostati. Non ultimo, il controllo di pH dovrà essere attenzionato, onde evitare fenomeni di forte acidificazione ($\text{pH} < 4.5$) con conseguente inibizione della coltura. Un ultimo aspetto fondamentale che andrebbe considerato è l'analisi del bilancio di massa ed energetico, a seguito del pretrattamento scelto così come del regime di temperatura adeguato, che potrebbe determinare la reale sostenibilità (anche economica) del processo nel lungo termine, applicato su larga scala.

Bibliografia

- Albinelli, I., Neretin, L., Nijmeijer, M., Lester, G., & Gomez, M. (2024). Bioeconomy for food and agriculture: A global stocktaking study. In *Bioeconomy for food and agriculture: A global stocktaking study*. FAO. <https://doi.org/10.4060/cd2490en>
- Alnafrah, I., Alqararah, K., & AlJaradin, M. (2025). From linear to circular: Evaluating the effects of circular economy on sustainable development progress in the EU economies. *Journal of Environmental Management*, 382. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2025.125383>
- Atasoy, M., Owusu-Agyeman, I., Plaza, E., & Cetecioglu, Z. (2018). Bio-based volatile fatty acid production and recovery from waste streams: Current status and future challenges. *Bioresource Technology*, 268, 773–786. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2018.07.042>
- Bastidas-Oyanedel, J. R., Bonk, F., Thomsen, M. H., & Schmidt, J. E. (2015). Dark fermentation biorefinery in the present and future (bio)chemical industry. In *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* (Vol. 14, Number 3, pp. 473–498). Kluwer Academic Publishers. <https://doi.org/10.1007/s11157-015-9369-3>
- Bhatia, S. K., & Yang, Y. H. (2017). Microbial production of volatile fatty acids: current status and future perspectives. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 2017 16:2, 16(2), 327–345. <https://doi.org/10.1007/S11157-017-9431-4>
- Castilla-Archilla, J., Papirio, S., & Lens, P. N. L. (2021). Two step process for volatile fatty acid production from brewery spent grain: Hydrolysis and direct acidogenic fermentation using anaerobic granular sludge. *Process Biochemistry*, 100, 272–283. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.10.011>
- The European environment, state and outlook: synthesis report. (2015). *EEA, The European environment*. Publications Office.

- Fava, F., Totaro, G., Diels, L., Reis, M., Duarte, J., Carioca, O. B., Poggi-Varaldo, H. M., & Ferreira, B. S. (2015). Biowaste biorefinery in Europe: Opportunities and research & development needs. *New Biotechnology*, 32(1), 100–108. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2013.11.003>
- Guarda, E. C., Oliveira, A. C., Antunes, S., Freitas, F., Castro, P. M. L., Duque, A. F., & Reis, M. A. M. (2021). A two-stage process for conversion of brewer's spent grain into volatile fatty acids through acidogenic fermentation. *Applied Sciences (Switzerland)*, 11(7). <https://doi.org/10.3390/app11073222>
- Han, W., He, P., Shao, L., & Lü, F. (2018). Metabolic interactions of a chain elongation microbiome. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(22). <https://doi.org/10.1128/AEM.01614-18/FORMAT/EPUB>
- Hejna, A. (2022). More than just a beer—the potential applications of by-products from beer manufacturing in polymer technology. In *Emergent Materials* (Vol. 5, Number 3, pp. 765–783). Springer Nature. <https://doi.org/10.1007/s42247-021-00304-4>
- Jin, B., Wang, S., Xing, L., Li, B., & Peng, Y. (2016). The effect of salinity on waste activated sludge alkaline fermentation and kinetic analysis. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 43, 80–90. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2015.10.011>
- Jin, T., Hu, J., Song, X., Liu, Y., Zhang, J., Zhao, J., Wang, F., Yan, G., Xiao, L., & Zhang, H. (2026). Rapid production of volatile fatty acids (VFAs) through the co-fermentation of mixed vegetable waste liquid. *Bioresource Technology Reports*, 33. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2026.102552>
- Khan, M. A., Ngo, H. H., Guo, W. S., Liu, Y., Nghiem, L. D., Hai, F. I., Deng, L. J., Wang, J., & Wu, Y. (2016). Optimization of process parameters for production of volatile fatty acid, biohydrogen and methane from anaerobic digestion. In *Bioresource Technology* (Vol. 219, pp. 738–748). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.08.073>
- Lee, W. S., Chua, A. S. M., Yeoh, H. K., & Ngoh, G. C. (2014). A review of the production and applications of waste-derived volatile fatty acids. *Chemical Engineering Journal*, 235, 83–99. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2013.09.002>

- Li, Y., Park, S. Y., & Zhu, J. (2011). Solid-state anaerobic digestion for methane production from organic waste. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15(1), 821–826. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2010.07.042>
- Meegoda, J. N., Li, B., Patel, K., & Wang, L. B. (2018). A Review of the Processes, Parameters, and Optimization of Anaerobic Digestion. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2018, Vol. 15, Page 2224, 15(10), 2224. <https://doi.org/10.3390/IJERPH15102224>
- Olajire, A. A. (2020). The brewing industry and environmental challenges. *Journal of Cleaner Production*, 256. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2012.03.003>
- ONU. (2024). *Global-Resource-Outlook*.
- Pandey, A. K., Pilli, S., Bhunia, P., Tyagi, R. D., Surampalli, R. Y., Zhang, T. C., Kim, S. H., & Pandey, A. (2022). Dark fermentation: Production and utilization of volatile fatty acid from different wastes- A review. *Chemosphere*, 288. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132444>
- Pappalettera, F. (2024). *Valorizzazione di scarti dell'industria agroalimentare per la produzione di biogas e biofertilizzanti e valutazione degli effetti agronomici*.
- Rachwał, K., Waśko, A., Gustaw, K., & Polak-Berecka, M. (2020). Utilization of brewery wastes in food industry. *PeerJ*, 8. <https://doi.org/10.7717/peerj.9427>
- Ramos-Suarez, M., Zhang, Y., & Outram, V. (2021). Current perspectives on acidogenic fermentation to produce volatile fatty acids from waste. In *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* (Vol. 20, Number 2, pp. 439–478). Springer Science and Business Media B.V. <https://doi.org/10.1007/s11157-021-09566-0>
- Sarkar, O., Kiran Katari, J., Chatterjee, S., & Venkata Mohan, S. (2020). Salinity induced acidogenic fermentation of food waste regulates biohydrogen production and volatile fatty acids profile. *Fuel*, 276. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.117794>
- Sarkar, O., Rova, U., Christakopoulos, P., & Matsakas, L. (2026). Acidogenic valorization of agricultural residues and industrial waste streams: substrate composition regulating the microbial community and metabolites. *Environmental Science Advances*, 5(2), 470–484. <https://doi.org/10.1039/D5VA00345H>

- Scarpa, A. (2025). *Valorizzazione di sottoprodotti della filiera agroalimentare: effetto dei pretrattamenti sulla fermentazione acidogenica in regime mesofilo e termofilo*.
- Shawky, E., Gibbons, S., & Selim, D. A. (2025). Bio-sourcing from byproducts: A comprehensive review of bioactive molecules in Agri-Food Waste (AFW) streams for valorization and sustainable applications. In *Bioresource Technology* (Vol. 431). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2025.132640>
- Spani, R. (2020). *The New Circular Economy Action Plan*.
- Spirito, C. M., Richter, H., Rabaey, K., Stams, A. J. M., & Angenent, L. T. (2014). Chain elongation in anaerobic reactor microbiomes to recover resources from waste. In *Current Opinion in Biotechnology* (Vol. 27, pp. 115–122). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.01.003>
- Varghese, V. K., Poddar, B. J., Shah, M. P., Purohit, H. J., & Khardenavis, A. A. (2022). A comprehensive review on current status and future perspectives of microbial volatile fatty acids production as platform chemicals. *Science of The Total Environment*, 815, 152500. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2021.152500>
- World Commission on Environment and Development (WCED). (1987). *Report of the World Commission on Environment and Development*.
- Zalunardo, M. (2017). *Economia Circolare: come lo spreco può diventare una risorsa*
- Zamel, D., Etman, A. E., Ammar, M. M., Elsabagh, N. M., & Elmasry, D. M. A. (2026). Harnessing energy from food waste via anaerobic digestion: A comprehensive review. *Applied Food Research*, 6(1), 101914. <https://doi.org/10.1016/J.AFRES.2026.101914>
- Zhai, S., Li, M., Xiong, Y., Wang, D., & Fu, S. (2020). Dual resource utilization for tannery sludge: Effects of sludge biochars (BCs) on volatile fatty acids (VFAs) production from sludge anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 316. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123903>
- Zheng, D., Wang, Y., Zhang, W., Xu, H., Zheng, E., Wang, T., Shi, Y., & Wu, M. (2023). Mechanisms of biochar-mediated promotion of acidogenic fermentation in waste

activated sludge and propionic acid production pathways. *Chemical Engineering Journal*, 470. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2023.144230>

Zhou, M., Yan, B., Wong, J. W. C., & Zhang, Y. (2018). Enhanced volatile fatty acids production from anaerobic fermentation of food waste: A mini-review focusing on acidogenic metabolic pathways. In *Bioresource Technology* (Vol. 248, pp. 68–78). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.121>

Sitografia

- www.mase.gov.it
- commission.europa.eu/index_it
- www.europarl.europa.eu/portal/it