



**UNIVERSITÀ
DI TORINO**

Università degli Studi di Torino

Corso di Laurea "Chimica dell'Ambiente"

**Precipitazione di struvite da biomasse di scarto:
un approccio circolare al recupero di nutrienti**
Tesi di Laurea Magistrale

Relatrice

Prof.ssa Luisella Roberta Celi

Correlatrice

Dott.ssa Alice Boarino

Controrelatrice

Prof.ssa Mery Malandrino

Candidato

Giovanni Barbera

Matricola 864861

Anno Accademico 2023/2024

Sommario

Sommario	3
1. Introduzione	5
1.1. Produzione di fertilizzanti a partire da biomasse di scarto, una gestione delle risorse in un'ottica di economia circolare.	7
1.2. La frazione organica del rifiuto solido urbano (FORSU).....	10
1.3. I rifiuti zootecnici.....	13
1.4. La digestione anaerobica (DA)	16
1.4.1. Pretrattamenti sul substrato	20
1.5. La struvite.....	23
1.5.1. La precipitazione della struvite.....	24
1.5.2. Normativa sui fertilizzanti e l'utilizzo della Struvite	28
1.6. Obiettivi della tesi.....	30
2. Materiali e metodi	32
2.1. Materiali.....	32
2.2. Metodi.....	33
2.2.1. <i>Determinazione del pH</i>	33
2.2.2. <i>Analisi elementare</i>	33
2.2.3. <i>Spettroscopia ultravioletta/visibile (UV-VIS)</i>	34
2.2.4. <i>Spettroscopia di emissione atomica (ICP-OES)</i>	34
2.2.5. <i>Spettroscopia ad assorbimento atomico (AAS)</i>	35
2.2.6. <i>Spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FT-IR)</i>	36
2.1.8. <i>Diffrattometria a raggi X</i>	36
2.1.9. <i>Microscopia elettronico a scansione (SEM)</i>	37
2.2.7. <i>Determinazione dell'umidità percentuale</i>	37
2.2.8. <i>Determinazione dei solidi totali, dei solidi volatili e delle ceneri</i>	38
2.2.9. <i>Determinazione dell'azoto con metodo Kjeldahl</i>	38
2.2.10. <i>Determinazione del fosforo per via colorimetrica</i>	39
2.3. Prove di pretrattamento	41
2.3.1. <i>Cavitazione idrodinamica</i>	41
2.3.2. <i>Test attività enzimatica della fosfatasi acida e basica</i>	42
2.3.3. <i>Test attività enzimatica delle fitasi</i>	43
2.4. Precipitazione di struvite	44
2.5. Prove di rilascio di fosforo da parte della struvite	46
3. Risultati	47
3.1. Caratterizzazione della biomassa.....	47
3.2. Pretrattamenti	50

3.2.1	<i>Effetto dei pretrattamenti enzimatici sulla solubilizzazione di P</i>	52
3.2.2.	<i>Pretrattamento di idrocavitazione</i>	53
3.3.	Pretrattamento combinato di idrocavitazione ed idrolisi enzimi	54
4.2.	Precipitazione di struvite	55
3.4.1.	<i>Ottimizzazione del processo di precipitazione</i>	55
3.4.2.	<i>Caratterizzazione della struvite</i>	57
3.5.	Cinetica di rilascio di P della struvite.....	64
4.	Discussione dei risultati	66
5.	Conclusioni e sviluppi futuri	70
	Riferimenti bibliografici	73

1. Introduzione

La popolazione mondiale è destinata a crescere dagli 8 miliardi attuali a circa 10 miliardi nel 2050. Questo necessiterà di un incremento della produzione agraria del 60-70% rispetto a quella odierna, avendo però a disposizione una frazione di suolo molto inferiore a quella attuale. Infatti, studi recenti della FAO, *Food and Agriculture Organization*, prevedono che nel 2050 il 90 % dei suoli potrebbero essere a rischio degradazione (CLAUDIO CIAVATTA, GIOVANNI GIGLIOTTI, TEODORO MIANO, FULVIA TAMBONE, 2022). Questo scenario prevede un tasso di crescita del 1,9% annuo nell'utilizzo di fertilizzanti, già prodotti in enorme quantità (275 milioni di tonnellate all'anno) (SHERWOOD, 2020), figura 1. La produzione di fertilizzanti rappresenta la più grande fonte antropica di azoto (N) e fosforo (P), ed è necessario ripensare alla loro produzione considerando gli attuali scenari geopolitici (CLRTAP, 2020). Un altro dei problemi correlati all'aumento demografico e all'urbanizzazione riguarda la gestione e lo smaltimento dei rifiuti prodotti in quantità crescente.

In questa tesi si propone un approccio circolare alla gestione di scarti e risorse, promuovendo la transizione verso un utilizzo più sostenibile di azoto e fosforo. L'obiettivo è quello di recuperare N e P da biomasse di scarto tramite la precipitazione di struvite, un fertilizzante inorganico a lento rilascio.

Una serie di pretrattamenti viene testata in questo lavoro al fine di aumentare la solubilizzazione del fosforo nel digestato in modo da ri-bilanciare il rapporto N/P.

Questo approccio è stato applicato a due tipi di biomassa di scarto di grande rilevanza, la frazione organica del rifiuto solido urbano e i rifiuti zootecnici, che verranno descritti nei capitoli seguenti.

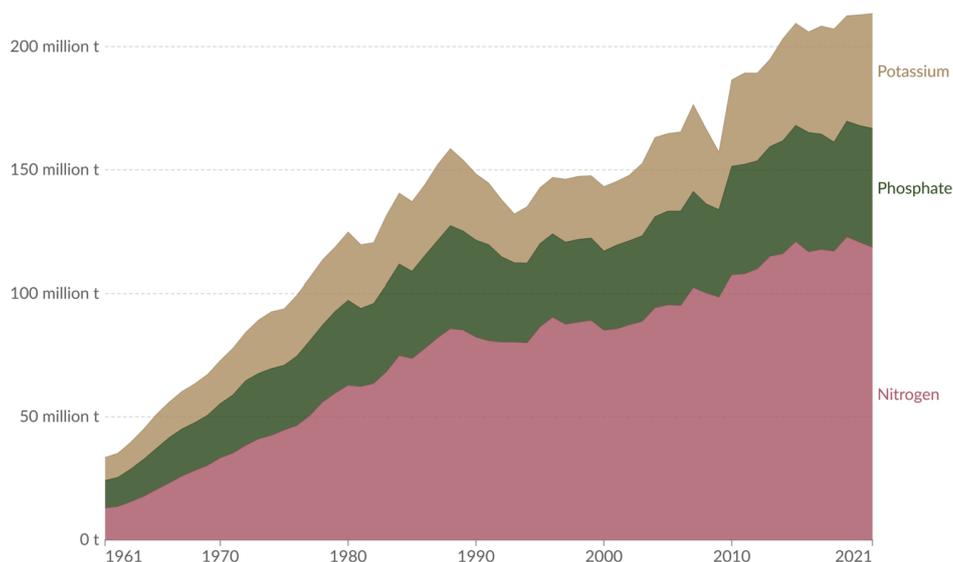


Figura 1: variazione temporale (1960-2021) della quantità di fertilizzanti utilizzati nel mondo, divisa per nutrienti.
Fonte: Our World in Data

L'attenzione sul consumo di risorse da parte dell'uomo è estremamente attuale e di dimensioni globali. Infatti, nel 2015 sono stati redatti i 17 Obiettivi per lo Sviluppo Sostenibile (gli SDGs, Sustainable Development Goals) dai 193 Paesi membri dell'ONU, che sono impegnati a raggiungerli entro il 2030. Questi obiettivi, riportati in

Figura 2, sono volti a ridurre la pressione sull'ambiente e ad abbattere le discriminazioni socioeconomiche (FRACCARO). In particolare, i punti "consumo e produzione responsabile" e "sconfiggere la fame" sono tematiche su cui ci incentra questo lavoro di tesi. Inoltre, la tesi indirettamente risponde anche ai punti 6,7,11,13 e 15.

Questa tesi presenta una possibile soluzione per garantire un equilibrato e corretto rapporto tra uomo e ambiente, considerando l'ambiente come dimensione essenziale dello sviluppo socioeconomico senza mai perdere di vista il tema della responsabilità intergenerazionale per la gestione e conservazione delle risorse naturali.



Figura 2: obiettivi per lo sviluppo sostenibile, Agenda 2030 (UNITED NATIONS, 2023).

1.1. Produzione di fertilizzanti a partire da biomasse di scarto, una gestione delle risorse in un'ottica di economia circolare.

Il parlamento europeo ha messo in vigore una serie di direttive del “*pacchetto economia circolare*”, recepito in Italia con il D.Lgs. 116/2020. I principi dell'economia circolare contrastano i retrogradi modelli di economia lineare (estrarre, produrre, utilizzare e gettare), con l'obiettivo di rigenerare i flussi di materia partendo dagli scarti (BRUZZONITI). Nell'ottica dell'economia circolare che si basa su un approccio produttivo-rigenerativo possiamo introdurre il concetto di “*end of waste*”, ovvero il processo attraverso il quale un rifiuto cessa di essere tale e per mezzo di processi di recupero, acquisisce lo status di prodotto (CLAUDIO CIAVATTA, GIOVANNI GIGLIOTTI, TEODORO MIANO, FULVIA TAMBONE, 2022).

In quest'ottica le biomasse sono prodotti a tutti gli effetti con un mercato e rientrano nelle normative sui fertilizzanti (cfr. Reg. (UE) 2019/1009, Art. 19) aprendo così un indotto economico.

Le biomasse da smaltire includono rifiuti agricoli, rifiuti zootecnici, rifiuti di legno, rifiuti alimentari, rifiuti solidi urbani (RSU) e rifiuti derivanti dai fanghi di depurazione. La loro produzione è inevitabile perché sono generati direttamente o indirettamente da processi necessari alla società umana (ANTAR et al., 2021).

La cattiva gestione delle biomasse causa emissioni di gas serra, di sostanze inquinanti e di odori sgradevoli, con impatti ambientali significativi. Le principali tecnologie per trattare le biomasse sono il compostaggio, la digestione anaerobica (DA) e i trattamenti termici (incenerimento/termovalorizzazione/pirolisi). Al momento però, nessun processo di lavorazione delle biomasse si è dimostrato del tutto privo di problematiche. Ad esempio, i processi biologici sono caratterizzati da una bassa resa del prodotto, mancanza di stabilità e lunghi tempi di lavorazione; i processi di conversione termica sono costosi e comportano un rischio a causa dei requisiti di temperatura elevata e la produzione di composti della combustione; i processi termochimici generano prodotti difficili da smaltire. Recenti studi affermano però che le criticità di ciascun metodo potrebbero essere mitigate attraverso un approccio integrato (OKOLIE et al., 2022).

Attualmente anche l'industria dei fertilizzanti è tenuta ad attuare il D.Lgs. 116/2020 relativo all'economia circolare e dovrebbe sfruttare, dove possibile, il concetto di “*end of waste*”, considerando che negli anni a venire dovremo convivere con una scarsità di risorse e materie prime.

La situazione di azoto e fosforo è particolarmente critica: l'interferenza antropogenica con i cicli di questi due elementi essenziali per la vita ha superato i livelli di sostenibilità delle risorse (ROCKSTRÖM et al., 2023).

Oltre a causare la perdita di elementi essenziali, l'utilizzo di fertilizzanti in quantità abbondanti e in modo inefficiente è una delle principali cause di inquinamento delle acque, di formazione di gas serra e del deterioramento del suolo.

Basti pensare che la maggior parte della produzione dei fertilizzanti si basa sull'estrazione di risorse minerali, in particolare delle rocce fosfatiche accumulate durante i processi geologici. I seguenti grafici in figura 2a) e 2b) riportano come è cambiata negli anni la fonte di approvvigionamento del fosforo e come si stia raggiungendo in questi anni il picco di massima disponibilità della risorsa.

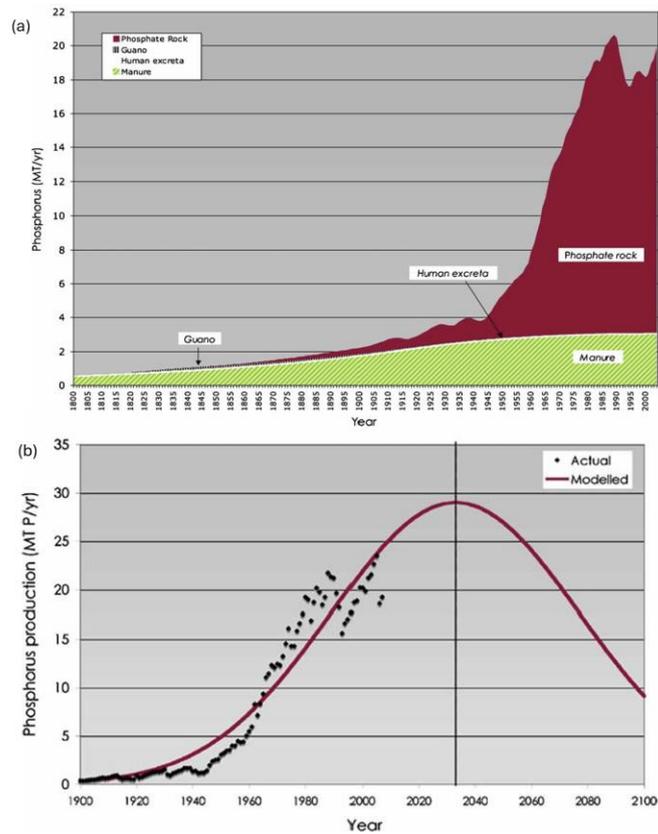


Figura 3: a) distribuzione delle principali fonti di fosforo utilizzate negli anni. b) Picco del fosforo legato all'estrazione e disponibilità dell'elemento (CORDELL; DRANGERT; WHITE, 2009).

Il fosforo e potassio presenti nei fertilizzanti possono essere ritenuti dalle particelle del suolo e con esse essere trasferiti alle acque. Si stima che il 50-75% dei fertilizzanti venga lisciviato o subisca run-off, e, finendo nei corsi d'acqua, causi danni ambientali come, per esempio, l'eutrofizzazione (figura 4) (WBG, 2015), (LUCAS et al., 2023).

Si calcola che 20 milioni di tonnellate di fosforo vengano estratte ogni anno e circa 10 milioni di tonnellate siano trasferiti negli oceani, dove vengono immobilizzati (questo valore è circa 8 volte il tasso naturale di afflusso)(ROCKSTRÖM et al., 2023).

Inoltre, l'azoto biologicamente disponibile, ovvero, nitrico ed ammoniacale è particolarmente labile e che questo causa la perdita nel suolo ed in atmosfera, figura 5.

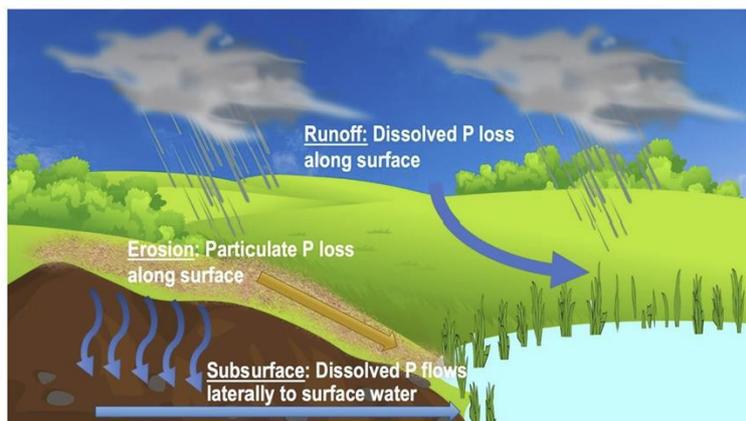


Figura 4: semplice rappresentazione delle perdite di fosforo nel suolo (LUCAS et al., 2023)

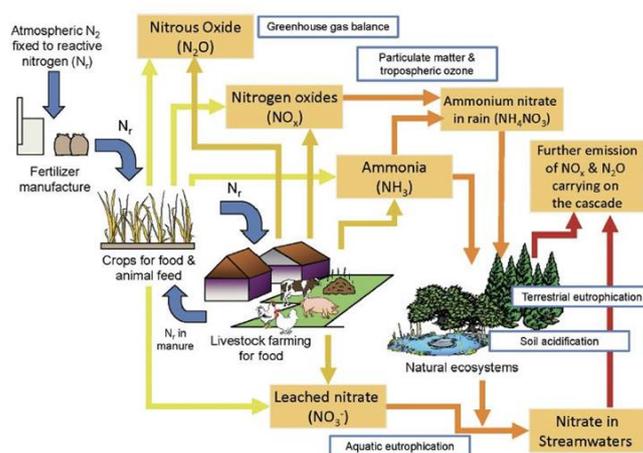


Figura 5: rappresentazione dei flussi di azoto nel comparto agricolo (CLRTAP, 2020).

Molti progetti di ricerca europei hanno come obiettivo il recupero dei nutrienti dalle biomasse di scarto per produrre fertilizzanti come il compost, il biochar e il digestato.

Javier Brañas, coordinatore del progetto europeo “NEWFERT” e Direttore R&S di *Fertiberia*, spiega che, ad oggi, questo ha portato alla produzione di fertilizzanti minerali con il 15% di nutrienti provenienti dal riciclo di rifiuti organici e prevede che l’implementazione della tecnologia a livello europeo ridurrà la dipendenza dalle materie prime (COMMISSIONE EUROPEA, 2015).

Il lavoro di questa tesi si inserisce in un progetto europeo Horizon Europe intitolato “ECONUTRI” e un progetto nazionale-regionale chiamato Nord Ovest Digitale e Sostenibile “NODES” che è finanziato dai fondi del PNRR. Tali progetti si propongono di applicare il concetto di “end of waste” alle biomasse al fine di recuperare N e P attraverso la precipitazione di fertilizzanti come la struvite.

Il processo di DA, presentato al paragrafo 1.4, genera come sottoprodotto il digestato; attuando il recupero di nutrienti esso può diventare materia prima dalla quale è possibile ottenere nuovi prodotti (SHERWOOD, 2020).

Solitamente, il digestato prodotto dai processi di DA subisce una separazione meccanica in modo da ottenere una frazione solida e una liquida più semplici da gestire dal punto di vista di trasporto e stoccaggio, ma ha lo svantaggio di sbilanciare il contenuto dei nutrienti al loro interno. La frazione solida, che normalmente si

stabilizza tramite compostaggio o essiccazione per poi essere commercializzata come fertilizzante organico, ha un'alta percentuale di fosforo organico legato a composti poco solubili come i fitati. Il fosforo inorganico (ortofosfato), tende a precipitare insieme a ferro, calcio e magnesio inglobandosi in questa frazione.

La frazione liquida è invece formata dai composti più solubili, in prevalenza azoto in forma ammoniacale (70-90% dell'azoto totale), che può essere disperso in atmosfera come NH_3 determinando, oltre all'inquinamento dell'aria, elevate perdite di nutriente (AL., [s.d.]; CLRTAP, 2020; CRPA, 2012; LUCAS et al., 2023). Questa frazione viene smaltita come refluo, implementando la perdita di nutrienti e la contaminazione di corsi d'acqua.

1.2. La frazione organica del rifiuto solido urbano (FORSU)

Con il termine FORSU si intende la Frazione Organica del Rifiuto Solido Urbano, cioè il materiale scartato attraverso la raccolta differenziata comunemente chiamato umido (BRUZZONITI, [s.d.]). In Italia la FORSU rientra nella gestione dei rifiuti solidi urbani (RSU) contribuendo per il 30 - 40% in peso sul totale e la situazione è controllata dall'ISPRA (Istituto Superiore per la Protezione e Ricerca Ambientale).

Attualmente i livelli di produzione di FORSU si attestano a circa 1,3 miliardi di tonnellate annue (circa 1,2 kg / pro capite al giorno) corrispondenti all'incirca ad un terzo dell'intera produzione di cibo mondiale. Di queste 35 milioni di tonnellate sono prodotte da USA, 82 milioni dalla Cina e 58 milioni dall'Unione Europea. L'indice delle perdite alimentari della FAO stima che a livello globale circa il 14% di tutto il cibo prodotto venga perso dalla fase post-raccolta fino alla fase di vendita al dettaglio (COMMISSIONE EUROPEA, 2015).

Questo dato è in crescita e si stima che potrà arrivare a 2,2 miliardi nel giro di qualche anno (KUMAR; SAMADDER, 2020; TRINCHIERI; TRIDELLO; E, 2023).

Lo spreco alimentare rappresenta un grave problema dal lato economico, sociale, politico ed ambientale, con un costo sull'economia globale di circa 990 miliardi di dollari all'anno. Inoltre, dal punto di vista ambientale, lo spreco alimentare consuma circa un quarto di tutta l'acqua utilizzata per scopi agricoli, ed è responsabile di circa l'8 % delle emissioni globali di gas serra (3.3 miliardi di tonnellate di CO_2 equivalente) (DEMICHELIS; PIOVANO; FIORE, 2019), contribuendo alla perdita di suolo e di biodiversità (BRAGUGLIA et al., 2018).

La composizione merceologica della FORSU varia in modo considerevole a livello internazionale, figura 6. Ad esempio, negli Stati Uniti la FORSU, è l'insieme di cibo, carta e rifiuti da giardino, nell'Unione Europea invece è l'insieme dei rifiuti provenienti dai parchi, giardini e cucine (CAMPUZANO; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, 2016).

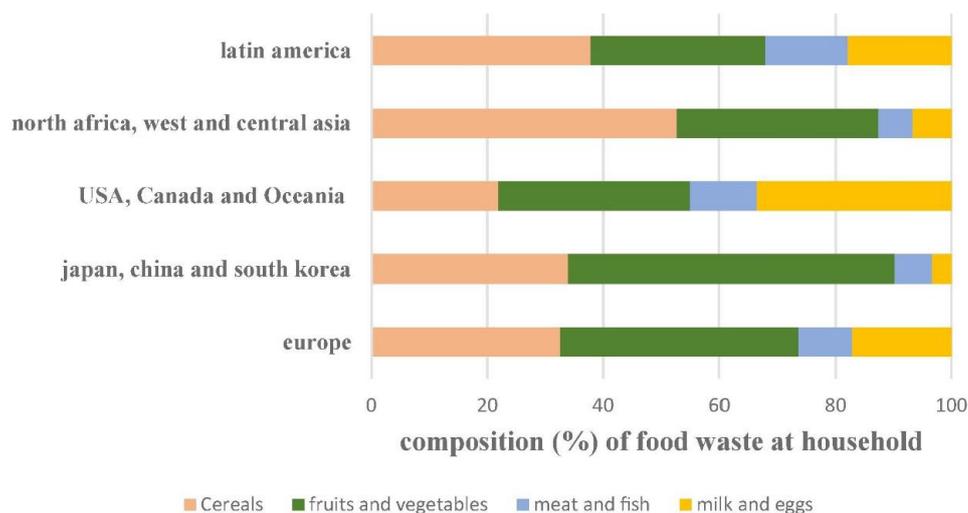


Figura 6: composizione degli scarti alimentare nei diversi paesi del mondo (BRAGUGLIA et al., 2018).

La composizione della FORSU cambia non solo in base al luogo ma anche al periodo in cui essa viene prodotta. In tabella 1, è possibile vedere l'eterogeneità della composizione della FORSU campionata in un impianto di DA nei pressi di Padova nell'arco di un anno (ALIBARDI; COSSU, 2015).

Fraction	February	May	July	October	November
Meat-fish-cheese	10.2	6.8	0.3	3.4	12.0
Fruit	24.8	18.9	28.7	12.7	16.3
Vegetables	18.2	32.4	33.2	42.3	28.7
Pasta-bread	12.3	7.7	1.3	8.0	4.4
Undersieve	13.0	15.0	17.5	16.6	16.4
Rejected materials	21.5	19.2	19.0	17.0	22.2
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

Tabella 1: differenze di composizione della FORSU nel corso delle stagioni (ALIBARDI; COSSU, 2015).

Accanto alla variabilità della sua composizione durante l'anno, nella FORSU sono presenti materiali e sostanze che la rendono disomogenea (sacchetti di plastica, gusci di uova, semi e i rifiuti da giardino).

Per il trattamento dalla FORSU, sono di particolare importanza alcune caratteristiche chimico-fisiche come la reologia, in particolare la densità, che varia da 328 a 1052 kg/m³. Il pH, i solidi volatili e totali e l'umidità sono fattori che governano l'attività enzimatica nella digestione anaerobica e quindi la produzione di metano. La tabella 2 riporta le caratteristiche della FORSU proveniente da impianti diversi del territorio nazionale. Il pH varia tra 4 e 6, mentre l'umidità, i solidi volatili e i solidi totali hanno valori abbastanza simili.

Country	City	pH	Humidity (%)	TS (%)	VS (%)	VS/TS (%)	KN (g/kg)	TP (g/kg)	Methane (NL/kgVS)
Italy	Padova	-	69.5	30.5	28.1	92.0	7.7	1.16	490
	Lacchiarella	4.32	77.7	22.3	19.7	88.3	4.0	-	336
	Udine	-	70.0	30.0	27.5	92.0	7.2	0.63	365
	Perugia	-	81.1	18.9	15.8	84.0	-	-	0
	Milan	4.38	75.8	24.2	22.2	91.6	5.0	0.5	410
	Verona	-	71.2	28.8	22.8	79.0	28.0	2.4	-
	Treviso	6.2	72.5	27.5	23.6	86.6	7.0	1.0	-

Tabella 2: caratteristiche chimico-fisiche di FORSU campionata in città italiane diverse (CAMPUZANO; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, 2016).

Considerando che la FORSU proviene principalmente da cibo, è possibile descriverla attraverso le caratteristiche bromatologiche: carboidrati, proteine, grassi e oli; dalle macromolecole di lignocellulosa, di emicellulosa e di cellulosa dipenderà la produzione di biogas.

La composizione chimica percentuale in termini di C, H, N e S della FORSU sono riportate in tabella 3. Inoltre, è stata riportato il valore di COD (domanda di ossigeno chimico) di due differenti tipi di FORSU (CAMPUZANO; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, 2016).

Country	City	Composition			
		C (%)	H (%)	N (%)	S (%)
Italy	Lacchiarella	49.0	-	-	-
	Udine	37.6	5.6	2.8	-
	Treviso	47.2	-	2.6	-

City/Country	COD (g/kg)
Padova/Italy	575
Verona/Italy	347

Tabella 3: caratteristiche bromatologiche di FORSU campionata in alcune città italiane (CAMPUZANO; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, 2016).

Storicamente lo smaltimento dei RSU tra cui la FORSU avveniva tramite le discariche, causando una serie di problematiche ambientali. Proprio per questo la Direttiva UE sulle discariche (99-31-CE) proibisce lo smaltimento in discarica di materiale organico putrescibile se non opportunamente stabilizzato.

Nell'ottica dell'economia circolare la FORSU può essere trattata in diverse maniere, tra cui l'utilizzo per la produzione di biogas e compost di qualità (TYAGI et al., 2018).

1.3. I rifiuti zootecnici

La gestione dei reflui zootecnici è la fase finale dell'allevamento animale da cui deriva la produzione di latte, carne, uova (PROVOLO, [s.d.]).

Questa tematica è molto importante per l'Unione Europea: nel periodo 2016-2019 sono stati prodotti 1,4 miliardi di tonnellate annue di letame e liquame provenienti da animali d'allevamento. Nel 2021 si sono calcolate 350 milioni di tonnellate di rifiuto zootecnico in EU (KÖNINGER et al., 2021), vedi figura 7. Il 68% del letame totale è prodotto solamente da sei grandi paesi europei (DE, ES, FR, IT, PL e UK). Oltre il 75% del letame prodotto deriva da bovini, mentre suini e polli sono responsabili del 12% ciascuno; tuttavia, il valore è in continuo aumento (tra il 2010 e il 2018, rispettivamente +25% e +3%).

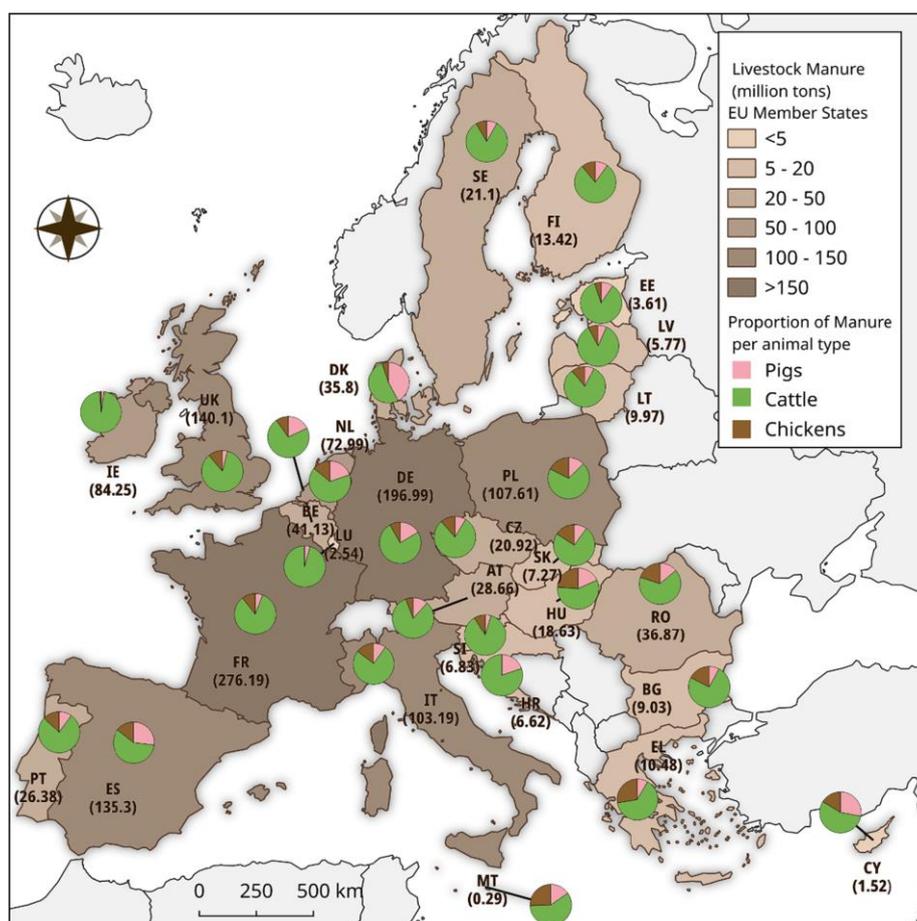


Figura 7: produzione annuale di letame (milioni di tonnellate) nell'Unione Europea e distribuzione in base alle principali tipologie di animali (Periodo: 2016–2019)(KÖNINGER et al., 2021).

Il patrimonio zootecnico italiano (redatto in occasione del sesto Censimento generale dell'agricoltura) conta 167 milioni di avicoli, 9 milioni di suini, 7 milioni di ovi-caprini e 5 milioni di bovini per una produzione di 150 milioni di tonnellate di deiezioni anno (BALSARI; DINUCCIO, [s.d.]).

Quando la massa secca supera il 20%, il letame è considerato solido, mentre i liquami hanno una massa secca compresa tra il 4% e il 20% (HUANG et al., 2017).

Le caratteristiche chimiche dei rifiuti zootecnici prodotte da diversi animali sono riportate in tabella 4.

Sample	pH	C(g kg ⁻¹)	N(g kg ⁻¹)	C/N	NH ₄ ⁺ -N (g kg ⁻¹)	NO ₃ ⁻ -N (g kg ⁻¹)
swine manure	6.63	374.6	46.8	8.0	0.09	4.9
cattle manure	7.86	308.2	28.7	10.7	0.02	0.7
chicken manure	7.73	270.2	53.0	5.1	0.10	2.7

Tabella 4: caratteristiche chimiche di letame proveniente da diversi animali.

L'incremento dell'uso di fertilizzanti chimici, in particolare di azoto in forma minerale ha portato ad un aumento della produttività agricola. L'azoto è senza dubbio essenziale per la crescita delle piante, ma ad elevate concentrazioni può risultare nocivo per l'ambiente. Infatti, la lisciviazione dei nitrati è la principale causa di inquinamento delle acque superficiali e sotterranee. Elevate concentrazioni di nitrati nelle acque sono riconducibili all'uso di fertilizzanti azotati minerali, ma derivano soprattutto dall'impiego agricolo di reflui zootecnici (CLAUDIO CIAVATTA, GIOVANNI GIGLIOTTI, TEODORO MIANO, FULVIA TAMBONE, 2022).

Lo spargimento di letame e liquame per concimare i pascoli è una tecnica molto utilizzata che, se svolta in modo eccessivo, rappresenta un esempio di scorretta gestione del refluo. In figura 5 è infatti possibile notare come viene disperso il flusso di azoto in una azienda agricola (BALSARI; DINUCCIO, [s.d.]). È interessante notare che solamente il 12-42% del N è effettivamente a disposizione della pianta.

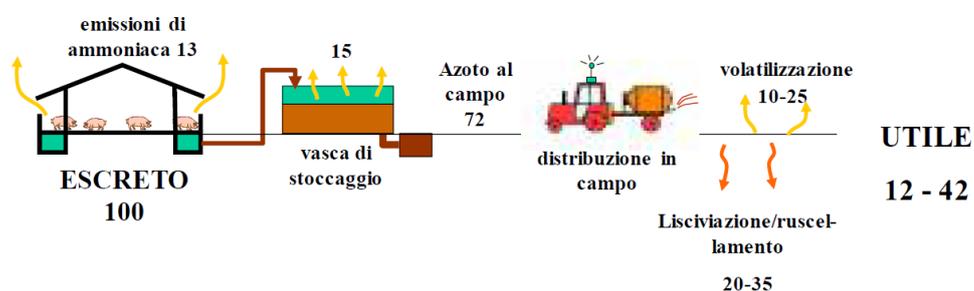


Figura 8: flusso di azoto in percentuale in un'azienda agricola. Si può vedere solamente il 12-40% è effettivamente a disposizione della pianta. Al fenomeno di lisciviaggio e ruscellamento si può considerare anche il P (BALSARI; DINUCCIO, [s.d.]).

Per contrastare l'inquinamento delle acque sotterranee e superficiali causato dai nitrati di origine agricola l'Unione Europea ha emanato la Direttiva 91/676/CEE, nota come "Direttiva Nitrati". La Direttiva stabilisce che gli stati membri devono presentare informazioni sui codici di buona pratica agricola, sulle zone designate come vulnerabili ai nitrati e sui risultati del monitoraggio dell'acqua.

Con zone vulnerabili si intendono le aree che drenano verso corsi d'acqua che possono essere inquinate da nitrati (concentrazioni di nitrati superiori a 50 mg/L nelle acque sotterranee) portando ad eutrofizzazione.

In tali aree, è previsto un limite massimo annuo di apporto di azoto di origine zootecnica pari a 170 kg/ha/anno, mentre nelle zone non vulnerabili il limite massimo di spandimento è di 340 kg/ha/anno.

Come strumento le aziende situate nelle zone vulnerabili ai nitrati utilizzano il Piano di Utilizzazione Agronomica (PUA) degli effluenti zootecnici.

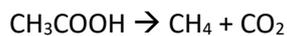
La sua redazione deve considerare diversi aspetti: la quantificazione dell'azoto di origine zootecnica (descrizione dei ricoveri, stoccaggi, consistenza dell'allevamento, tipologia di stabulazione); la descrizione dei terreni disponibili per lo spandimento e delle colture presenti; l'impiego di effluenti nel rispetto dei vincoli di legge e dei fabbisogni delle colture (CLAUDIO CIAVATTA, GIOVANNI GIGLIOTTI, TEODORO MIANO, FULVIA TAMBONE, 2022).

Questa normativa ha portato ad una particolare attenzione sulla corretta gestione del refluo zootecnico incrementando i trattamenti da effettuare al refluo al fine di migliorarne le caratteristiche. In particolare, in quasi tutte le aziende agricole sono attuati processi di trattamento, stoccaggio, DA, compostaggio e sistemi innovativi per la corretta gestione. In risposta a questa normativa nasce l'impianto di DA di Vipiteno, Biogas Wipptal BiWi Srl, presentato in questa tesi.

1.4. La digestione anaerobica (DA)

La DA è un processo bio-chimico che sfrutta microorganismi anaerobici per il trattamento e la stabilizzazione dei rifiuti organici, ottenendo il biogas, una miscela di CH₄ e CO₂, e il digestato (CECCHI et al., 2005).

La reazione di degradazione anaerobica di un substrato organico puro e semplice può essere rappresentata dalla digestione anaerobica del glucosio.



Equazione 1: reazione di degradazione del glucosio (CAMPELO, 2010).

Durante il processo degradativo di altri substrati organici più complessi si ottengono altri prodotti, tra cui l'ammoniaca che deriva dalla demolizione delle proteine.

I vantaggi della DA sono molteplici, tra cui il fatto che è semplice dal punto di vista impiantistico e permette di ottenere il biometano come fonte di energia verde.

Tra gli svantaggi troviamo i costi di gestione di questi impianti, le emissioni che possono creare cattivi odori oltre al rilascio di gas ad effetto serra; a tale proposito, una buona parte dell'impianto si occupa di trattare i gas prodotti attraverso biofiltri, scrubber, ecc (TORINO, 2023).

L'attività biologica anaerobica avviene in un ampio intervallo di temperatura, ovvero tra i - 5 e i + 70 °C ed in base all'intervallo termico di crescita dei microorganismi è possibile identificare tempistiche di digestione differenti. In particolare, se viene condotta in regime psicrofilo a temperature inferiori a 20 °C (molto raramente si lavora a questa temperatura), le tempistiche richiedono dai 60 ai 120 giorni. In condizioni mesofile (temperature tra 20 e 40 °C) la DA richiede dai 15 ai 50 giorni. Se si lavora a temperature superiori ai 45 °C, quindi in condizioni termofile, il processo richiede dai 14 ai 16 giorni (CECCHI et al., 2005; CLAUDIO CIAVATTA, GIOVANNI GIGLIOTTI, TEODORO MIANO, FULVIA TAMBONE, 2022).

Esistono diverse soluzioni impiantistiche per condurre la DA:

1. La digestione anaerobica di tipo wet: il substrato ha tenore di sostanze secche (SS) inferiore o pari al 15%, quindi la biomassa deve andare incontro a una diluizione spinta. Questa tecnica è stata la prima ad essere utilizzata (simile al trattamento dei fanghi attivi) e viene solitamente usata per i rifiuti zootecnici e la FORSU. Lo schema dell'impianto è riportato in figura 9.
2. La digestione anaerobica di tipo semidry: questo processo opera con una percentuale di SS tra il 12 ed il 18%; questo permette di diluire meno la biomassa e di produrre più biogas. Queste condizioni di lavoro permettono di operare con un substrato omogeneo ed evitano cortocircuitazioni, riducono la formazione di schiume e fasi separate dentro al bioreattore e, infine, diminuiscono la quantità di acqua reflua.
3. La digestione anaerobica di tipo dry: quest'ultima tratta substrati con circa il 30-40% di SS e di conseguenza vi è un aumento notevole della produzione di biogas; di contro questa tecnica richiede

soluzioni impiantistiche più complicate e dispendiose (agitazione continua, pompabilità della biomassa).

Infine, esistono processi in batch e a secco che al momento sono oggetto di particolare interesse ingegneristico.

Il reattore a serbatoio con agitazione continua (CSTR), è quello maggiormente usato per la DA, perché è in grado di garantire l'uniformità dei parametri di processo come la miscelazione, la temperatura, il pH e la concentrazione del substrato (LIBERTI et al., 2019). Inoltre, è possibile lavorare in modalità monostadio o bistadio e, in base a come vengono miscelate le matrici, in modalità continua o discontinua (CLAUDIO CIAVATTA, GIOVANNI GIGLIOTTI, TEODORO MIANO, FULVIA TAMBONE, 2022).

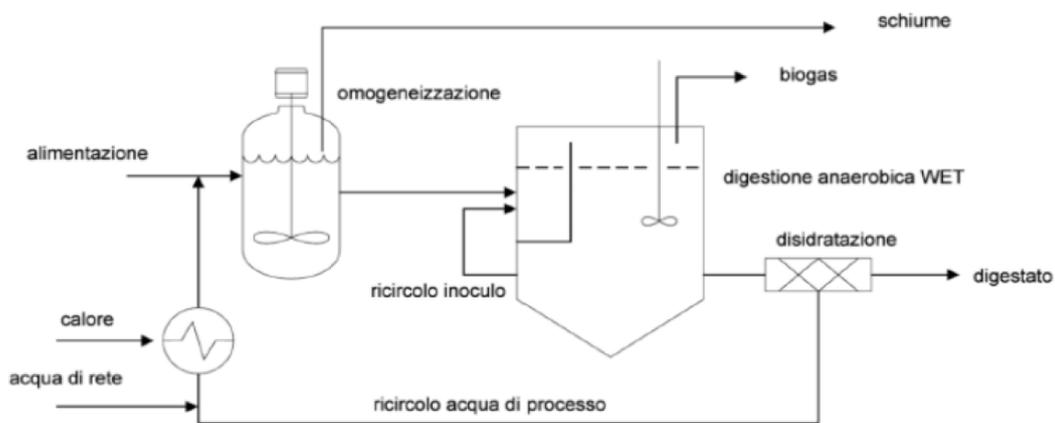


Figura 9: schema di impianto di digestione anaerobica di tipo Wet (BRUZZONITI, [s.d.]).

Il processo di DA può essere diviso in 4 fasi che interagiscono tra loro. La prima fase è l'idrolisi, in cui i polimeri organici come le proteine, i lipidi ed i carboidrati subiscono una depolimerizzazione ad opera di enzimi idrolitici extracellulari, con la formazione dei relativi monomeri (acidi grassi, zuccheri ed amminoacidi) (CAMPELO, 2010). L'idrolisi è la reazione più lenta tra le quattro, ed è spesso la fase limitante nel contesto della DA.

Successivamente avviene il processo di acidogenesi che porta alla trasformazione dei monomeri in acidi grassi volatili come l'acido butirrico, isobutirrico, proprionico, valerico, isovalerico, esanoico, acido acetico, CO₂ e H₂. La fase di acidogenesi è una fase rapida che avviene ad opera di batteri acidogeni che sono strettamente anaerobici. In questa fase si ha quindi una netta diminuzione del pH.

La terza fase prende il nome di acetogenesi e prevede la conversione degli acidi grassi e degli altri composti organici in acido acetico, anidride carbonica e idrogeno ad opera dei batteri acetogenici ed omoacetogeni. Questi microorganismi hanno crescita lenta, e la reazione può essere termodinamicamente limitata dalla presenza dell'idrogeno, che, se non viene smaltito nelle altre fasi della digestione, comporta un accumulo di acido propionico e butirrico (CAMPELO, 2010).

L'ultima fase detta metanogenesi permette di ottenere metano. Anche questa può essere considerata una fase limitante nel processo di digestione. La metanogenesi vede l'azione di due famiglie di batteri

metanogeni: i microorganismi metanogeni acetoclastici e i metanogeni idrogenotrofici (TRINCHIERI; TRIDELLO; E, 2023).



Equazione 2: L'analisi pubblicata da Wid et al. (2018) mostra che dall'attività di questi due gruppi si ricava una percentuale di metano rispettivamente del 70-75% per i primi, che degradano l'acido acetico, e del 25-30% per i secondi, che invece utilizzano l'idrogeno e l'anidride carbonica (vedi reazione successiva) (TRINCHIERI; TRIDELLO; E, 2023).

I batteri acetoclastici hanno crescita lenta ed insieme agli idrogenotrofici, sono specificatamente sensibili a fluttuazioni di pH, temperatura, alla mancanza di nutrienti e alla presenza di possibili composti a loro nocivi (CAMPELO, 2010).

In base alla separazione delle fasi, è possibile distinguere due tipologie di processo per la DA: il processo monostadio prevede un unico reattore per tutte le fasi della DA, il processo bistadio invece separa idrolisi, acidogenesi e acetogenesi in un primo reattore e la fase di metanogenesi in un secondo reattore (CLAUDIO CIAVATTA, GIOVANNI GIGLIOTTI, TEODORO MIANO, FULVIA TAMBONE, 2022).

Nel seguente schema (figura 10) vengono riassunte tutte le fasi della DA.

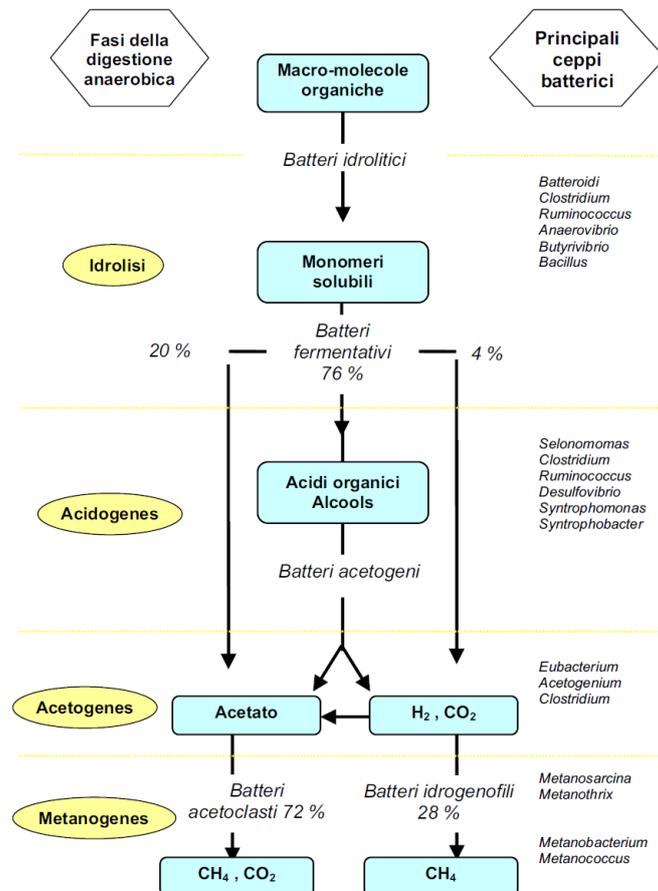


Figura 10: schema delle fasi che avvengono nel processo di digestione anaerobica (CECCHI et al., 2005).

La DA è data da interazioni complesse tra componenti biotiche e abiotiche che dipendono da diversi fattori:

- Temperatura: questo è uno dei parametri più importanti che può influenzare l'attività enzimatica, la resa in metano e la qualità del digestato. Studi affermano che le prestazioni della digestione migliorano con la temperatura, aumenta la velocità di crescita dei batteri e le rese in biogas (EL-MASHAD et al., 2004).
- VFA (volatile fatty acids): i VFA sono i prodotti dell'acidogenesi che verranno a loro volta convertiti in biogas. Essendo composti acidi, il loro accumulo può causare una variazione del pH.
- pH: la crescita dei batteri è influenzata da pH, e i batteri metanogeni, da cui deriva la produzione di biogas, sono particolarmente sensibili. I valori di pH tra 7 e 8 sono indice di stabilità (KUMAR; SAMADDER, 2020).

Un altro parametro correlato al pH è la concentrazione di carbonato di calcio, ovvero l'alcalinità. Questo fattore è importante perché permette di neutralizzare l'abbassamento del pH (3000-5000mg/L di CaCO_3) (CLAUDIO CIAVATTA, GIOVANNI GIGLIOTTI, TEODORO MIANO, FULVIA TAMBONE, 2022).

- Rapporto C/N: questi due elementi (carbonio e azoto) costituiscono la fonte di energia e i nutrienti essenziali per la crescita dei microrganismi. Un rapporto C/N pari a 20-30 è efficace per il processo di degradazione anaerobica (KUMAR; SAMADDER, 2020).

Altri rapporti sono fondamentali come ad esempio C:P che deve essere tra 120 e 160 e il rapporto C:K che deve essere tra 45 e 100.

- Contenuto di solidi totali (TS): come riportato precedentemente la digestione anaerobica può essere condotta con un contenuto di TS compreso tra il 5 % wt e il 35 % wt.
- Dimensioni delle particelle: anche questa caratteristica può influire sulla trasformazione chimico-biologica dei rifiuti, oltre ad imporre soluzioni impiantistiche differenti. Dimensioni grandi delle particelle, ritardano notevolmente la decomposizione; da qui la necessità di ridurre la dimensione media. Diminuendo la dimensione delle particelle, aumenta la superficie totale in cui operano i microrganismi e quindi l'efficienza del processo (HILKIAH IGONI et al., 2008).
- Produzione e composizione del biogas: oltre ad essere fondamentale al fine di ottenere un buon prodotto, il monitoraggio del biogas è fondamentale per individuare una stabilità del sistema. In particolare, una composizione del biogas del 30-40% di CO_2 è ideale per lavorare in condizioni ottimali (CLAUDIO CIAVATTA, GIOVANNI GIGLIOTTI, TEODORO MIANO, FULVIA TAMBONE, 2022).

Vi sono altri fattori che possono influenzare la DA come il tempo di residenza idraulico, il carico organico, la miscelazione ed il rapporto I/S (inoculo/substrato) e la presenza di fattori inibitori come i metalli, i VFA e azoto ammoniacale (CHEN et al., 2020; MIRMOHAMADSADEGHI et al., 2019).

1.4.1. Pretrattamenti sul substrato

Una serie di pretrattamenti può essere applicata al substrato prima della digestione anaerobica, al fine di migliorare il tasso di idrolisi della frazione organica e ottenere una resa maggiore in metano e prodotti più stabilizzati. (LUSTE; HEINONEN-TANSKI; LUOSTARINEN, 2012)

Un pretrattamento efficace dovrebbe:

- Favorire la formazione di sostanze che favoriscono la fase di idrolisi;
- Evitare la formazione di composti tossici o inibitori;
- Essere sostenibile dal punto di vista ambientale;
- Essere economicamente realizzabile; (PANIGRAHI; DUBEY, 2019)

In letteratura sono riportate le diverse tecniche di pretrattamento, come è schematizzato nella figura 11, tra le quali troviamo quelle fisiche, chimiche, biologiche e combinate.

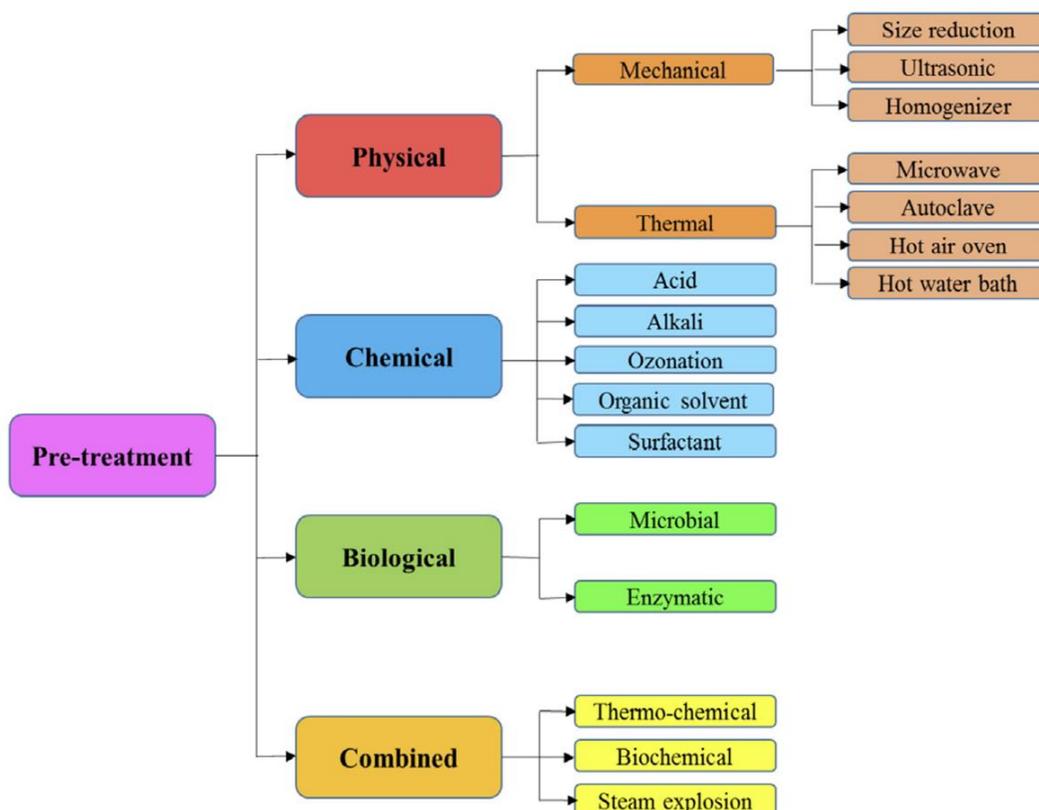


Figura 11: schema dei principali processi di pretrattamento della FORSU.

In particolare, questa tesi focalizza l'attenzione su due tipologie di pretrattamento: il pretrattamento biologico che sfrutta l'attività di alcuni enzimi ed il pretrattamento fisico meccanico che utilizza l'idrocavitazione. La scelta di utilizzare questi pretrattamenti è basata sul fatto che sono i più promettenti dal punto di vista ambientale; infatti, non richiedono l'uso di sostanze chimiche, non necessitano di grandi quantità di energia o calore e non richiedono particolari investimenti economici. (KAINTHOLA; KALAMDHAD; GOUD, 2019)

Il pretrattamento biologico si può applicare a diversi substrati. L'obiettivo è di migliorare la degradabilità, aumentando la superficie specifica della matrice organica e rompendo i legami covalenti e le forze non covalenti tra emicellulosa e lignina, così da aumentare le rese di biogas (PANIGRAHI; DUBEY, 2019).

I pretrattamenti biologici utilizzano funghi o enzimi. Il pretrattamento enzimatico richiede una limitata quantità di energia, a scapito però dei lunghi tempi di ritenzione (WEIDE et al., 2020) (CARRERE et al., 2016).

L'impiego di enzimi necessita il controllo di parametri quali pH, agitazione, temperatura e dosaggio.

I processi di pretrattamento applicati alla biomassa prima di sottoporla a digestione anaerobica potrebbero semplificare la sostanza organica e migliorarne la biodegradabilità, ma anche di solubilizzare il fosforo così che possa essere successivamente recuperato con la precipitazione di struvite (ASTALS et al., 2021).

Per fare questo la miscela enzimatica denominata USC4 commercializzata da Biopract ABT® contenente un mix di cellulasi, emicellulasi, peptinasi, proteasi e altri fattori enzimatici va ad agire sulla materia organica migliorando i processi di digestione anaerobica confermando un aumento della produzione di biogas.

Un altro pretrattamento enzimatico non ancora testato potrebbe essere fatto con fosfatasi e fitasi.

Al fine di aumentare la solubilizzazione del fosforo la fosfatasi catalizza la scissione di esteri fosforici e rilasciare il fosfato inorganico (idrolisi di un nucleotide con formazione di un nucleoside e uno ione fosfato), vedi figura 9. In funzione del pH del substrato è possibile usare la fosfatasi acida o la fosfatasi basica (vedi paragrafo risultati).

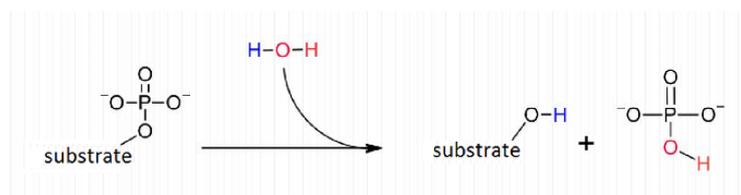


Figura 12: reazione di rimozione di un gruppo fosfato

Le fitasi sono enzimi molto stereospecifici e regiospecifici che agiscono solamente sull'acido fitico o inositolo esakisfosfato.

Questa molecola è molto importante nei tessuti vegetali perché è la principale forma di deposito di fosforo. Questo enzima viene spesso aggiunto ai mangimi di suini e polli, che contrariamente ai bovini non hanno enzimi capaci di idrolizzare l'acido fitico.

I pretrattamenti fisici possono essere termici o meccanici. In un'ottica di sostenibilità, il pretrattamento termico richiede più energia, per questo si preferiscono i pretrattamenti meccanici.

In generale, questi pretrattamenti agiscono sul substrato determinando un incremento della superficie specifica, della densità e della porosità, creando così un substrato che ha una migliore interazione con i batteri della DA (ATELGE et al., 2020).

La cavitazione idrodinamica genera alte pressioni dovute alla formazione di bolle micrometriche. Le bolle crescono per poi collassare causando un elevato rilascio di energia in piccole aree, il tutto in un intervallo di tempo dell'ordine dei microsecondi (ATELGE et al., 2020).

Il cavitatore idrodinamico indirizza il flusso ad alta pressione verso una costrizione e il passaggio attraverso l'orifizio causa una caduta di pressione (Figura 8). In questo modo la pressione locale scende al di sotto della tensione di vapore del liquido e si generano della cavità, o bolle di vapore.

Con l'aumentare dell'area di flusso, a valle della costrizione, avviene il recupero della pressione che porta alla crescita della cavità e ad una violenta implosione.

Si generano così intense onde d'urto che portano alla formazione di hotspot localizzati in cui la temperatura è compresa tra i 1000 e i 15000 K e la pressione tra 500 e 5000 bar (figura 13).

L'intensità della formazione delle bolle, il numero e l'intensità di collasso delle cavità dipendono dal tipo di costrizione e dalle condizioni del flusso (DULAR et al., 2016; PARTHIBA KARTHIKEYAN et al., 2018).

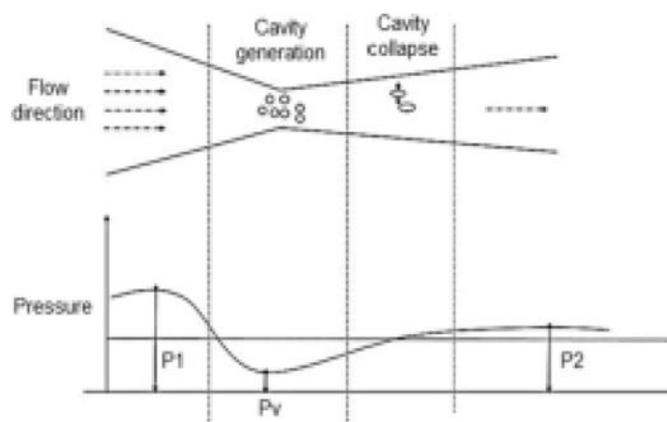


Figura 13: formazione e collasso delle cavità formate durante la cavitazione idrodinamica in funzione della pressione (ATELGE et al., 2020).

I pretrattamenti di idrocavitazione possono incrementare la produzione di biogas del 30% (HABASHI et al., 2016).

Al fine di ottenere il massimo vantaggio e minimizzare gli svantaggi dei pretrattamenti, una delle migliori opzioni potrebbe consistere nell'applicare i processi in combinazione (PANIGRAHI; DUBEY, 2019), anche se non esistono ancora studi a riguardo.

1.5. La struvite

L'ammonio magnesio fosfato esaidrato, chiamato anche struvite, è un minerale avente formula chimica $MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$.

Il cristallo di struvite è simile alla mica ed è di colore giallino tendente al bianco; la struttura cristallina è ortorombica (prismi a base rettangolare) con degli ortottaedri di PO_4^{3-} e ottaedri obliqui di $Mg \cdot (H_2O)_6^{2+}$ (figura 14a). Le dimensioni dei cristalli possono variare da $15 \mu m$ a $3mm$, come riportato nelle seguenti immagini registrate al SEM (figura 14b).

La struvite è un minerale con durezza Mohs compresa tra 1,5 e 2. La sua pK_s è di 13,26 ed è scarsamente solubile in condizioni neutre ed alcaline, è facilmente solubile in acido ma non è solubile in alcol.

La struvite pura è generalmente presente sotto forma di polvere, ma può anche esistere sotto forma di materiale monocristallino, cagliata o gel in basse ai diversi utilizzi. (WIKIPEDIA, [s.d.], [s.d.]

Questo minerale ha diverse applicazioni come fertilizzante e come elemento adsorbente (GUAN et al., 2023; WIKIPEDIA, [s.d.], [s.d.]).

La struvite viene commercializzata come fertilizzante in diversi modi: può essere presente come materiale granulare, sottoforma di pellet oppure insieme ad altre sostanze come nanoparticelle di idrossiapatite, urea e amido termoplastico, al fine di garantire un corretto rilascio e gestione del fertilizzante (VALLE et al., 2022).

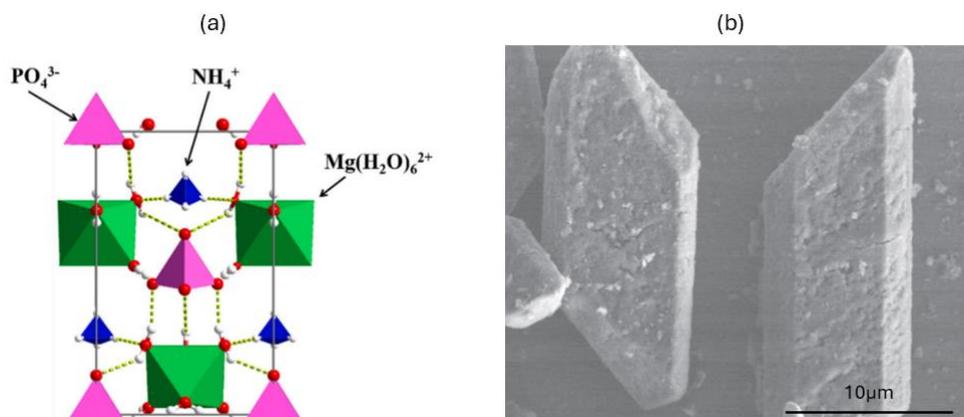
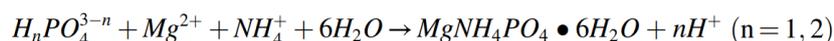


Figura 14: a) struttura del cristallo di struvite (GUAN et al., 2023) e b) cristallo di struvite visto con il microscopio ottico a scansione (SEM) (RAHMAN et al., 2014).

La struvite si forma per precipitazione dello ione ammonio, secondo una reazione che sfrutta lo ione Mg^{2+} e PO_4^{3-} . La reazione è la seguente:



Equazione 3: reazione di precipitazione della struvite (GUAN et al., 2023).

La reazione è governata da equilibri chimici complessi ed è caratterizzata da un elevato numero di reazioni di precipitazione in competizione tra loro.

Con questa reazione si può ottenere il recupero di fosforo e di azoto dalle acque reflue, dai rifiuti zootecnici, agricoli ed urbani (CORONA et al., 2021).

Uno studio condotto da Muys et al. nel 2021 ha esaminato 24 impianti Europei in cui viene recuperato P attraverso la precipitazione di struvite. Il recupero è stato eseguito partendo da fanghi di supero post DA, dalla frazione liquida del refluo dopo la separazione solido-liquido post DA, dalle acque provenienti dai rifiuti agroalimentari (MUYS et al., 2021).

Altri studi hanno analizzato la possibilità di recuperare struvite all'interno della rete fognaria municipale o attraverso le deiezioni dei suini (AMANN et al., 2017; ASTALS et al., 2021).

La struvite ottenuta in questi studi è di ottima qualità ed adatta alle attuali normative (vedi capitolo 1.5.2). I precedenti lavori hanno concluso che la qualità della struvite prodotta è influenzata in primo luogo dal substrato di partenza, dalle condizioni di lavoro e dai reagenti chimici addizionati. Questa reazione avviene anche spontaneamente nelle tubature industriali, portando a problemi di incrostazioni ([HTTPS://WWW.GRUPPOIREN.IT/IT/I-NOSTRI-SERVIZI/AMBIENTE/IMPIANTI-E-CICLO-DEI-RIFIUTI/RECUPERO-MATERIA.HTML?TAB=9](https://www.gruppoiren.it/it/i-nostri-servizi/ambiente/impianti-e-ciclo-dei-rifiuti/recupero-materia.html?tab=9), [s.d.]; IREN, 1967).

Altri studi condotti in laboratorio hanno utilizzato altre tecniche di precipitazione della struvite. È stato possibile cristallizzare usando ultrasuoni, microonde e sistemi elettrochimici (GUAN et al., 2023).

1.5.1. La precipitazione della struvite

Questo paragrafo pone in risalto alcuni concetti fondamentali della precipitazione per poi approfondire i parametri teorici che governano la cristallizzazione e la precipitazione.

Per prima cosa è bene definire brevemente i processi di cristallizzazione. La cristallizzazione si sviluppa attraverso due fasi: nucleazione e crescita (GUAN et al., 2023); queste due fasi hanno bisogno di una forza motrice che è data dalla sovrasaturazione della soluzione. In generale una soluzione si dice satura ad una certa temperatura, quando soluto e solvente sono in equilibrio, cioè il soluto non riesce più a sciogliersi nel solvente.

La sovrasaturazione è uno dei parametri utilizzati per descrivere il potenziale di formazione di un cristallo in soluzione. In una soluzione contenente quantità variabile di soluto, è possibile avere uno stato sottosaturo, uno metastabile e uno sovrasaturo. La sovrasaturazione è dipendente dal pH e dalla concentrazione di ioni in soluzione.

Con sovrasaturazione si intende la condizione di instabilità del sistema, che tende però a ristabilire le condizioni di equilibrio portando ad una cristallizzazione della soluzione.

Il premio nobel per la chimica, *Wilhelm Ostwald* sul finire dell'800 cercò di classificare le condizioni delle soluzioni sovrasature introducendo i termini: stabile, ovvero non satura, in cui la cristallizzazione è impossibile. Metastabile (sovrasatura) dove la cristallizzazione è improbabile o è della presenza di un cristallo già presente nella soluzione. Labile o instabile (sovrasatura) in cui si ha cristallizzazione spontanea. (MULLIN J. W., 2001).

Definiamo ora le due fasi di cristallizzazione:

- La nucleazione si può definire come la formazione di una fase solida, formata da aggregati di atomi, ioni o molecole all'interno della soluzione sovrasatura, al fine di ristabilire le condizioni di equilibrio. La nucleazione si può dividere in nucleazione omogenea spontanea (avviene in soluzioni pure o sovrasature) e in nucleazione eterogenea (in soluzioni con delle particelle di impurità).
Il processo di nucleazione della struvite a livello industriale inizia in uno stato di sovrasaturazione elevato, dove i nuclei si formano rapidamente grazie a superfici estranee appositamente aggiunte alla soluzione (semi) o impurità. Tuttavia, è bene specificare che una sovrasaturazione più elevata può portare ad una nucleazione incontrollata, con conseguente formazione di cristalli fini. Un altro tipo di nucleazione è la nucleazione a contatto. In questo caso, la crescita dei cristalli avviene in condizioni di agitazione della soluzione, durante la quale i cristalli si scontrano con oggetti esterni formando un gran numero di frammenti, e quelli di dimensioni maggiori diventeranno i nuovi nuclei. La nucleazione a contatto è considerata la via più semplice per ottenere nuclei nel processo di cristallizzazione industriale a causa della bassa energia richiesta e alla possibilità di lavorare in condizioni di bassa saturazione. Quando la dimensione di un nucleo raggiunge quella critica, inizia la fase di crescita dello stesso, portando un aumento della sua dimensione nel tempo. (ERDEMIR; LEE; MYERSON, 2009)
- La crescita dei cristalli è un processo molto importante perché andrà ad influenzarne la qualità e le dimensioni. La teoria più accreditata è la teoria dello strato di diffusione, secondo cui le molecole del soluto raggiungono la superficie del cristallo per diffusione attraverso lo strato liquido stazionario e vengono poi incorporati nella superficie del cristallo con l'aiuto della differenza di concentrazione, formando una struttura reticolare regolare mediante riarrangiamento all'interno del cristallo.

La sovrasaturazione, la nucleazione e la crescita sono essenziali per lo studio della cinetica di cristallizzazione. In genere sono processi indipendenti l'uno dall'altro ma che avvengono contemporaneamente. Questi processi sono importanti per definire la dimensione e la struttura morfologica dei cristalli, che determina la qualità del prodotto finale e le caratteristiche strutturali che deve avere il reattore di cristallizzazione. (GUAN et al., 2023)

Il prodotto finale deriva dal rapporto tra le velocità di nucleazione e crescita. Infatti, se la velocità del primo stadio è maggiore del secondo si otterranno tanti cristalli aventi dimensioni ridotte. Se invece la velocità di nucleazione è minore della velocità di crescita, si ottengono pochi cristalli ma di dimensione maggiore. (MULLIN J. W., 2001)

Verranno ora approfonditi i parametri che influenzano la cristallizzazione, tra questi il pH della soluzione, la sovrasaturazione, la temperatura, la presenza di ioni estranei, la fonte di magnesio e il rapporto molare tra ciascuna sostanza. (E., 1964; TORINO, 2019)

Di seguito vengono riportati i principali parametri teorici di cristallizzazione e precipitazione della struvite presentati in un importante articolo di *Guan et al.* nel 2023.

- **pH:** I principali approcci per aumentare la sovrasaturazione sono l'aumento della concentrazione di ioni o di pH. Tra i due è più conveniente incrementare il pH. La cristallizzazione della struvite avviene in un ampio range di pH: da 7,0 a 11,5, con un pH ottimale compreso tra 8,5 e 9,5. Lo studio ha evidenziato che il pH influisce sulla qualità del prodotto principalmente perché la sovrasaturazione della soluzione è maggiore con un aumento del pH. È bene sottolineare che soprattutto i digestati e le acque reflue sono ricchi di ammonio ed il pH esercita un'influenza importante sulla conversione di NH_4^+ a NH_3 in soluzione (GUAN et al., 2023).
- **Rapporto molare:** La concentrazione degli ioni reagenti è un fattore importantissimo per determinare la sovrasaturazione e quindi il processo di cristallizzazione della struvite. Sono stati condotti numerosi studi per valutare l'effetto ed i rapporti di Mg^{2+} , NH_4^+ e PO_4^{3-} , anche in questo lavoro di tesi nel capitolo successivo verranno approfonditi gli studi effettuati per determinare i rapporti molari migliori al fine di ottenere struvite di qualità.

In generale un rapporto molare di Mg: N: P di 1:1:1 è sufficiente per ottenere una struvite ideale. Inoltre, si è visto che anche il rapporto molare Mg:P influenza la dimensione media dei cristalli. (GUAN et al., 2023; LIU et al., 2020; SAERENS; GEERTS; WEEMAES, 2021)

- **Ioni interferenti:** utilizzando acque reflue, digestati o rifiuti zootecnici come substrato per la precipitazione bisogna considerare una varietà di anioni o cationi che possono influenzare il processo di cristallizzazione. Lo ione Ca^{2+} può influenzare la cristallizzazione della struvite dato che tende a competere con Mg^{2+} producendo fosfato di calcio, idrossiapatiti ed altri composti che portano alla diminuzione della purezza della struvite. Può quindi essere necessario eliminare l'influenza del contenuto di calcio nel processo di pretrattamento. I metalli pesanti possono essere contaminanti comuni in vari ambienti e possono anche essi influenzare la precipitazione della struvite. È importante quindi considerare la concentrazione delle specie ma soprattutto il loro stato di ossidazione per capire la loro speciazione e mobilizzazione.

I metalli pesanti possono aderire alla superficie attraverso complessazione, adsorbimento elettrostatico, coprecipitazione e reazioni competitive, vedi figura 15 a). Teoricamente, meccanismi di interazione tra metalli pesanti, ioni e struvite sono dati dall'adsorbimento superficiale, occupazione interstiziale dello ione e sostituzione di ioni figura 15 b) (GUAN et al., 2023).

A basse concentrazioni, gli ioni dei metalli pesanti possono essere catturati dalla struvite tramite legami idrogeno, attrazione elettrostatica, e legame di coordinazione.

Quando la concentrazione di metalli pesanti è elevata, Mg^{2+} , NH_4^+ e PO_4^{3-} della struvite sono facilmente sostituibili dagli ioni di metalli pesanti, causando le variazioni del prodotto finale (GUAN et al., 2023).

Per quanto riguarda gli anioni presenti in soluzione, come la CO_3^{2-} , Cl^- , SO_4^{2-} , questi portano ad una modifica del tempo di induzione e dell'efficienza di rimozione, ma lo fanno senza ostacolare il processo di formazione dei cristalli di struvite.

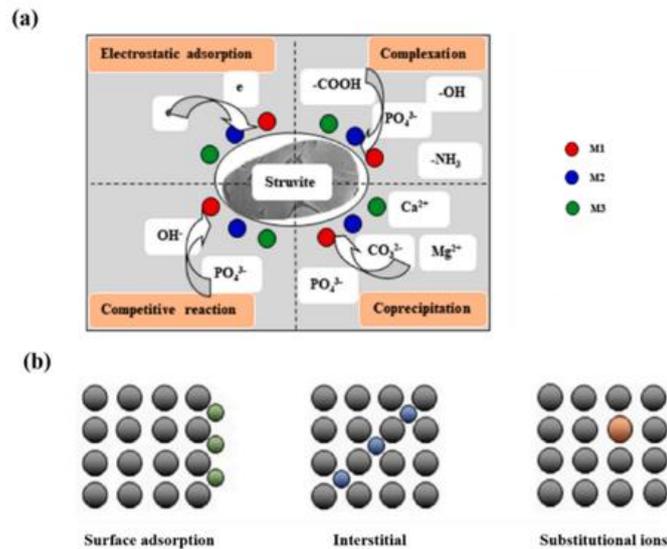


Figura 15: effetto dei metalli pesanti sulla cristallizzazione della struvite. (a) I potenziali meccanismi tra ioni di metalli pesanti e struvite. Dove M1, M2 e M3 rappresentano vari ioni di metalli pesanti. (b) Possibile meccanismo di adsorbimento di ioni di metalli pesanti sulla superficie dei cristalli di struvite (GUAN et al., 2023).

- **Materia organica:** essa può influenzare la cristallizzazione della struvite per via della complessazione delle sostanze organiche aventi carica negativa. nel caso in cui questa si attacchi ai cristalli di struvite durante la precipitazione. Bisogna però considerare che i prodotti di struvite generati con la materia organica sono applicati come fertilizzanti ed è strettamente necessario tenere sotto controllo le componenti microbiologicamente patogene. (GUAN et al., 2023).

1.5.2. Normativa sui fertilizzanti e l'utilizzo della Struvite

Il Regolamento (UE) 2019/1009 approvato dal Parlamento Europeo il 5 giugno 2019, rappresenta un passo avanti significativo per garantire che i prodotti fertilizzanti nell'UE siano sicuri, efficaci e sostenibili.

Questo modifica i regolamenti precedenti per armonizzare le normative sui fertilizzanti in tutta l'Unione Europea. Il Regolamento introduce una serie di categorie per i prodotti fertilizzanti, tra cui fertilizzanti inorganici, organici, organo-minerali, ammendanti del suolo, substrati di coltivazione, inibitori e biostimolanti. Viene stabilito un quadro normativo per garantire che i prodotti fertilizzanti immessi sul mercato siano sicuri per la salute umana, animale e per l'ambiente. Ciò include limiti per i contaminanti come metalli pesanti, ad esempio cadmio, e norme sui livelli di patogeni ed impurità. Il regolamento stabilisce requisiti dettagliati per l'etichettatura e la valutazione di conformità che deve essere eseguito dai produttori.

Inoltre, il regolamento promuove l'uso di materiali di recupero e riciclo come fonte di nutrienti, contribuendo così alla sostenibilità e alla riduzione dei rifiuti.

In Europa, l'uso della struvite come fertilizzante è regolato principalmente dal Regolamento (UE) 2019/1009. La struvite rientra nella categoria dei fertilizzanti riciclati ad alta purezza e come tale deve rispettare determinate caratteristiche chimico-fisiche e biologiche.

In particolare, i valori di legge prevedono un contenuto minimo di P all'interno della struvite pari al 7%. Il carbonio organico totale deve essere inferiore al limite di legge stabilito del 3%. Per quanto riguarda azoto e magnesio non vi è un valore minimo o massimo ma devono essere confrontabili con il valore teorico del 5,7% per N e 9,8% per Mg (EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL, 2019; MUYS et al., 2021). Le concentrazioni di metalli pesanti nella struvite devono rientrare nel limite legale, solitamente sotto al limite di rilevabilità.

Essendo la struvite un fertilizzante inorganico solido a base di macroelementi, è facile da maneggiare e privo di requisiti specifici di stoccaggio. La dose tipica di applicazione è di 0,1 t/ha, ma può variare in base al tipo di suolo, alla stagione e alle necessità colturali.

Non contenendo ammoniaca o acido fosforico liberi, è ideale come fertilizzante "starter", non interferisce con la germinazione dei semi e non provoca bruciatura delle radici. Può essere applicata in copertura, miscelata con altri fertilizzanti solidi o disciolta in una soluzione leggermente acida. È adatta per prati permanenti, cereali da granella e colture da tubero, e viene distribuita con un normale spargi concime, preferibilmente prima della semina o del trapianto.

La struvite fornisce un apporto di nutrienti lento e costante, riducendo il deflusso dei nutrienti e soddisfacendo le esigenze nutrizionali delle colture ("Nutrient Management and Nutrient Recovery Thematic Network www.nutriman.net TRAINING MATERIAL TEMATICO Nutrient Management and Nutrient Recovery Thematic Network www.nutriman.net", 2020).

Per l'utilizzo efficace della struvite come fertilizzante è importante che i granuli ottenuti dai processi di precipitazione da biomasse abbiano forma e dimensione adeguate all'impiego nelle moderne attrezzature

agricole. Granuli molto piccoli ed eterogenei sono più indicati per la produzione di altri fertilizzanti, vista la loro facile lavorazione (EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL, 2019)

1.6. Obiettivi della tesi

In questo lavoro si cerca di ottimizzare il recupero di azoto e fosforo attraverso la precipitazione di struvite partendo dal digestato prodotto negli impianti di digestione anaerobica di due differenti biomasse. L'obiettivo è quindi quello di garantire il ricircolo di risorse ed evitare perdite incontrollate per questi due elementi fondamentali importanti per l'agricoltura.

Lo studio ha visto la collaborazione di due importanti aziende. La prima è IREN Spa, presso cui ho svolto un periodo di stage curriculare nei mesi di settembre ed ottobre 2024. Durante questo stage ho avuto l'occasione di conoscere l'impianto di compostaggio di Cairo-Montenotte e le criticità legate ad esso. Il primo problema è dovuto alle alte concentrazioni di ammoniaca presenti nelle fasi del processo, in particolare nello scarico (circa 1600 mg NH_4^+ /L). Attualmente l'impianto sfrutta delle deroghe e può scaricare la frazione liquida del digestato pagando una tassa supplementare. A livello ambientale però l'azienda scarica nella rete fognaria elevate quantità di ammonio che possono essere recuperate o abbattute portando a benefici ambientali ed economici all'azienda, impegnando l'azienda a diminuire il suo impatto ambientale.

L'altra problematica è relativa alla formazione di incrostazioni da struvite: essa si deposita nelle tubazioni e nelle pompe causando problematiche impiantistiche. Di seguito sono riportate alcune immagini delle tubature incrostate (Figura 12).



Figura 16: Incrostazioni da struvite.

La precipitazione controllata di struvite rappresenterebbe un grande vantaggio per questo impianto in quanto permetterebbe da un lato di ridurre il tenore di ammonio nel digestato e dall'altro evitare la formazione incontrollata delle incrostazioni.

La seconda azienda che ha collaborato allo studio è stata Biogas Wipptal BiWi Srl. Questa azienda effettua la DA di reflui zootecnici provenienti dalla Valle Isarco (BZ). Il digestato ottenuto viene separato in una frazione solida e una liquida che sono poi commercializzate come fertilizzanti. La problematica di questo impianto è lo squilibrio di nutrienti tra la frazione solida (rapporto N/P molto basso) e liquida (rapporto N/P molto alto). In particolare, la precipitazione di struvite permetterebbe non solo di recuperare i nutrienti in un ulteriore prodotto commercializzabile, ma anche di migliorare la qualità delle frazioni solida e liquida, riequilibrando il rapporto N/P.

Le biomasse in entrata al digestore sono state campionate dai due impianti e caratterizzate dal punto di vista chimico-fisico. Sono poi stati testati i pretrattamenti (fisici ed enzimatici) sulle biomasse, al fine di aumentare

il P solubile nel digestato e arricchirne la frazione liquida, permettendo così di recuperarlo tramite precipitazione di struvite.

I processi di precipitazione della struvite sono poi stati ottimizzati in funzione delle biomasse di partenza. La struvite ottenuta è poi stata caratterizzata. Particolarmente interessante è stato il confronto tra le struviti ottenute dalle due biomasse e lo studio della loro cinetica di rilascio del P.

L'elaborato si sviluppa su cinque capitoli:

- Il primo ha carattere introduttivo e mira a spiegare e definire concetti base per comprendere il lavoro svolto.
- Nel secondo capitolo verranno elencati i materiali e i metodi utilizzati per svolgere il lavoro di tesi. In particolare, verranno introdotte le strumentazioni e le metodiche analitiche utilizzate.
- Nel terzo capitolo sono invece presentati e discussi tutti i risultati sperimentali ottenuti dalle prove di laboratorio.
- Il quarto capitolo ha il compito di discutere i risultati ottenuti, in particolare effettuando un confronto tra le biomasse usate ed i risultati di pretrattamento e il prodotto ottenuto in funzione della biomassa.
- Nel quinto ed ultimo capitolo sono infine esposte le conclusioni tratte dalle considerazioni effettuate nei capitoli precedenti e vengono presentati i possibili sviluppi futuri.

2. Materiali e metodi

Le analisi e le prove sperimentali sono state svolte presso il laboratorio del dipartimento di Chimica Agraria dell'Università degli Studi di Torino.

Tutti i reagenti e i materiali necessari per svolgere questo studio sono stati acquistati e forniti dal laboratorio del dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari (DISAFA) dell'Università Degli Studi di Torino.

2.1. Materiali

La FORSU usata in questa tesi è stata campionata nel mese di ottobre 2023 presso l'impianto di digestione anaerobica di IREN Spa situato a Cairo-Montenotte (Savona). IREN Spa è una società per azioni italiana che opera principalmente nel settore dei servizi pubblici e dell'energia offrendo una vasta gamma di servizi. IREN Spa si occupa della produzione e distribuzione di energia elettrica, dei servizi di teleriscaldamento, della gestione di rifiuti, dei servizi idrici integrati e dei servizi ambientali e tecnologici.

Nella seguente figura (figura 17) sono riportati alcune parti dell'impianto.



Figura 17: Stabilimento IREN, Cairo Montenotte, SV. Nella figura a) è possibile vedere il bioreattore e il serbatoio del biogas prodotto. Nella figura b) le biocelle per la stabilizzazione del compost e la figura c) rappresenta l'impianto di purificazione del biogas.

Questo impianto presenta un biodigestore di tipo wet che opera nel regime mesofilo ed è in grado di produrre annualmente 6 milioni di metri cubi di biometano puro al 97,5% che immettere nei metanodotti nazionali. Il digestato prodotto nel processo di DA, viene successivamente trattato per produrre compost di alta qualità ([HTTPS://WWW.GRUPPOIREN.IT/IT/I-NOSTRI-SERVIZI/AMBIENTE/IMPIANTI-E-CICLO-DEI-RIFIUTI/RECUPERO-MATERIA.HTML?TAB=9](https://www.gruppoiren.it/it/i-nostri-servizi/ambiente/impianti-e-ciclo-dei-rifiuti/recupero-materia.html?tab=9), [s.d.]; IREN, 1967, [s.d.]; IREN CORPORATE, [s.d.]; WIKIPEDIA, [s.d.]).

I reflui zootecnici sono stati campionati nello stabilimento di Vipiteno di proprietà di *Biogas Wipptal BiWi Srl*, nel mese di ottobre 2023, vedi immagine figura 18. L'impianto situato in alta Val d'Isarco è un moderno impianto di DA che tratta circa 15000 tonnellate annue (t/a) di letame-liquame bovino miscelati con paglia e scarti della lavorazione di mele. L'impianto produce circa 4000 t/a di biometano usato come carburante di diversi autoveicoli in particolare per i camion che trasportano le biomasse da tutta la valle all'impianto). Oltre a produrre biogas l'impianto è in grado di riciclare integralmente tutte le sostanze prodotte. In particolare, dopo la DA si separa la frazione liquida da quella solida. la frazione solida viene essiccata e pellettizzata producendo 5000 t/a di pellet. La frazione liquida subisce osmosi inversa producendo e 30000 t/a di concentrato e circa 50000L annui di H₂O che viene rilascia nel corso d'acqua locale.

Il pellet e il concentrato vengono commercializzati come fertilizzanti di ottima qualità. Oltre al sistema di purificazione del biogas a metano, l'impianto è dotato di un sistema di purificazione della CO₂, in grado di purificarla ad un tenore adeguato all'industria alimentare. L'impianto produce circa 7000t/a di CO₂.



Figura 18: Stabilimento Biogas Wipptal srl di Vipiteno. (BIWI, [s.d.])

2.2. Metodi

In questo paragrafo vengono descritti i vari strumenti che sono stati utilizzati in questo lavoro di tesi.

2.2.1. Determinazione del pH

Il monitoraggio del pH delle diverse soluzioni è stato eseguito con un pH-metro da banco digitale inoLab® pH 7110, dotato di un elettrodo di vetro che viene immerso all'interno della soluzione per diversi secondi fino ad ottenere un valore stabile nel tempo.

2.2.2. Analisi elementare

Per valutare la composizione elementare in carbonio, idrogeno, azoto e zolfo è stato utilizzato un analizzatore elementare Elementar® UNICUBE. Per l'analisi il campione viene lasciato per circa 2 giorni in stufa a 60°C e macinato a 0,5mm utilizzando un mortaio in agata.

L'analizzatore elementare è formato da una colonna dove avviene il processo di combustione del campione a 1200-1800°C, in modo da convertire gli elementi in composti ossidati come H₂O per l'idrogeno, CO₂ per il carbonio, NO_x per l'azoto e SO₂ per lo zolfo. Segue poi la riduzione degli ossidi di azoto ad azoto molecolare. Successivamente è presente una colonna di trapping TPD (Temperature Programmed Desorption) che permette di separare il gas combusto e mandarlo all'analizzatore. L'analizzatore è un detector TCD (thermal conductivity detector) che produce un segnale rivelabile in funzione della concentrazione dell'analita.

Il carbonio organico disciolto (COD) è stato determinato tramite *Vario TOC cube* fornito da Elementar®, ha composto da un rivelatore a raggi infrarossi non dispersivo, NDIR, che genera un segnale elettrico proporzionale alla CO₂ che lo attraversa, quindi al COD.

2.2.3. Spettroscopia ultravioletta/visibile (UV-VIS)

La spettroscopia UV-VIS è una tecnica analitica che permette di ricavare informazioni quantitative e qualitative attraverso lo studio dell'interazione dell'onda elettromagnetica con il campione.

La tecnica analitica permette di identificare campioni incogniti in soluzione e/o determinare la concentrazione delle sostanze note. Questo avviene grazie all'assorbimento di un fotone da parte della molecola, che passa da uno stato elettronico fondamentale ad uno eccitato.

La spettrometria di assorbimento lavora nel campo del visibile e dell'ultravioletto. In particolare, tra 100-200 nm si ha la regione del lontano UV ed è necessario che il campione sia sottovuoto, così da non avere interferenze di altre sostanze al di fuori di quella esaminata. Tra 200-350 nm si ha la regione del vicino UV ed il campione è inserito in cuvette di quarzo. Tra 350-800 nm si ha la regione del visibile e in questo caso il campione è messo in cuvette di un materiale che non assorbe alla lunghezza d'onda in cui si lavora.

Uno spettrometro UV-visibile è costituito da una sorgente di radiazioni, rappresentata da una lampada ad incandescenza per il visibile o al deuterio per l'ultravioletto. È poi presente un monocromatore formato da specchi concavi e da reticoli in riflessione che isola la radiazione policromatica in bande monocromatiche.

Le bande monocromatiche vengono inviate contemporaneamente al campione e al riferimento (H₂O) che sono posti in cuvette.

Infine, lo strumento è dotato di un rivelatore in grado di convertire l'intensità della radiazione trasmessa in un segnale elettrico proporzionale all'intensità della radiazione.

Si ottiene quindi un diagramma che riporta l'intensità di assorbimento in funzione della lunghezza d'onda oppure l'assorbanza specifica ad una determinata lunghezza d'onda. L'assorbanza (A) indica la radiazione assorbita ed è definita come segue:

$$A = -\log_{10} \frac{I}{I_0}$$

Equazione 4: Formula per il calcolo dell'assorbanza, dove I è l'intensità del raggio dopo che è passato dalla cuvetta, I₀ è l'intensità del raggio incidente

Per effettuare un'analisi quantitativa di una soluzione diluita si applica la legge di Lambert-Beer.

$$A = \epsilon \times d \times c$$

Equazione 5: Legge di Lambert-Beer, dove ε indica il coefficiente di estinzione molare che è specifico per ogni sostanza, d indica il cammino ottico in cm e c è la concentrazione della soluzione in mol/L

In questo lavoro, è stato utilizzato lo strumento Shimadzu® *spectrometer 500 UV-visible*, nello spettro del visibile, utilizzando cuvette in plastica aventi un cammino ottico pari a 1cm.

2.2.4. Spettroscopia di emissione atomica (ICP-OES)

L'Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) è una tecnica spettroscopica che permette di effettuare un'analisi qualitativa e quantitativa di quasi tutti gli elementi, attraverso l'emissione

ottica prodotta dall'elemento. Con questa tecnica, è stata determinata la concentrazione dei seguenti elementi: P, Ca, K, Mg, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn.

Per l'analisi il campione è trattato con una digestione acida. I campioni vengono riscaldati per 4 ore a 450°C in muffola e poi digeriti in 10mL di HCl 1M e 0,5 mL di HNO₃ 1M e si lasciano su piastra riscaldante per 2ore.

Il campione liquido viene poi filtrato e introdotto attraverso una pompa peristaltica all'interno del nebulizzatore; si ottiene un aerosol che viene poi mandato all'atomizzatore. In questo caso l'atomizzazione o la ionizzazione avviene grazie a una torcia al plasma di argon accoppiato induttivamente e gli atomi o gli ioni subiscono un processo di eccitazione seguito dall'emissione di radiazioni caratteristiche. La lunghezza d'onda emessa è convertita in un segnale elettrico per opera di un sensore CCD (dispositivo ad accoppiamento di carica), così da risalire alla specie incognita; l'intensità dell'emissione permette di ottenere informazioni quantitative applicando la legge di Lambert-Beer attraverso la costruzione di una retta di taratura.

Lo spettrofotometro utilizzato (*OPTIMA 2000 ICP-OES*) è stato fornito da PerkinElmer®.

2.2.5. Spettroscopia ad assorbimento atomico (AAS)

La Spettroscopia ad Assorbimento Atomico è una tecnica analitica che permette di effettuare una determinazione qualitativa e quantitativa di atomi o ioni metallici; in particolare è stata utilizzata per determinare la concentrazione di Mg e K nella struvite.

Per effettuare questa analisi il campione viene sottoposto alla digestione acida, descritta precedentemente (paragrafo 2.2.4.).

La spettroscopia ad assorbimento atomico si basa sul fatto che ogni atomo ha un suo spettro di assorbimento caratteristico per cui avviene una transizione elettronica con emissione di una specifica lunghezza d'onda.

La misura dell'intensità della radiazione monocromatica assorbita nel passaggio degli atomi dallo stato fondamentale allo stato eccitato permette di effettuare una misura quantitativa. La quantità di luce assorbita dal campione ad una data frequenza è proporzionale alla quantità di analita presente e segue una legge analoga a quella di Lambert-Beer descritta per l'assorbimento molecolare.

Lo strumento si basa quindi sull'atomizzazione del campione tramite l'utilizzo di una fiamma (aria-acetilene), in grado di portare le specie inorganiche presenti ad uno stato monoatomico neutro.

Nel frattempo, il campione atomizzato viene irraggiato con una luce monocromatica, ad una specifica lunghezza d'onda e ad una frequenza precisa. Per fare questo si utilizza una lampada a catodo cavo. Queste lampade sono selettive per ciascun metallo e si devono cambiare in base all'elemento che si vuole analizzare. Infine, vi è il monocromatore seguito dal rivelatore (fotomoltiplicatore o fotoelettrodo) che rivela ed elabora la quantità di luce transitata nel sistema di atomizzazione.

Le analisi sono state effettuate con uno spettrofotometro AAnalyst 400 prodotto da PerkinElmer®.

2.2.6. Spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FT-IR)

La spettroscopia ad infrarossi (IR) è una tecnica che permette di investigare la struttura superficiale del campione e di determinare la presenza di gruppi caratteristici.

È una tecnica non distruttiva e che può essere usata su campioni solidi, liquidi o gassosi.

Quando un fotone infrarosso, avente una certa lunghezza d'onda, viene assorbito dalle molecole presenti nel campione, provoca un cambiamento del momento di dipolo e, di conseguenza, si ha una transizione da uno stato energetico vibrazionale fondamentale ad uno stato vibrazionale eccitato.

Le vibrazioni possono essere di due tipi: stiramento del legame chimico (stretching) e deformazione dell'angolo di legame (bending).

Nello spettro è possibile distinguere due zone: una prima zona (3800 a 1300 cm^{-1}), che comprende bande dovute a stiramenti e deformazioni di gruppi funzionali; e una seconda zona *fingerprint* (1300 a 650 cm^{-1}), che deve il suo nome alla presenza di bande caratteristiche delle molecole poiché le vibrazioni sono generate dall'intero scheletro molecolare.

In particolare, la spettroscopia IR a trasformata di Fourier (FT-IR) è dotata di un interferometro di Michelson: uno specchio che spostandosi crea una differenza di cammino ottico generando un'interferenza costruttiva ed una distruttiva, scansionando così le frequenze della radiazione IR prodotta dalla sorgente. Quello che si ottiene è un interferogramma delle intensità nel dominio del tempo che viene poi convertito nel dominio della frequenza, tramite l'applicazione della trasformata di Fourier.

In particolare, abbiamo utilizzato uno spettrofotometro FT-IR Alpha II di BRUKER®, questo strumento permette di posizionare il campione di struvite direttamente nella porta campione e di analizzarlo ottenendo così degli spettri.

2.1.8. Difrattometria a raggi X

La diffrattometria a raggi X (XRD) è una tecnica analitica che permette di studiare la composizione chimica e le fasi cristalline di un campione solido. La tecnica è basata sull'interazione dei fotoni della radiazione X incidente con gli atomi del campione da studiare.

I raggi X sono onde elettromagnetiche altamente penetranti con una λ compresa tra 10 nm e 0,01 nm, ovvero lo stesso ordine di grandezza della distanza dei piani atomici di un cristallo.

Quando il fascio di raggi X colpisce il campione cristallino (atomi disposti in ordine su un reticolo), scansionandolo ad un intervallo 2θ , si ha il fenomeno della diffrazione o scattering elastico.

Tale fenomeno avviene quando è soddisfatta la legge di Bragg riportata di seguito; questa legge permette di identificare la fase cristallina del campione e determinare la dimensione d .

$$n \lambda = 2 d \sin \vartheta$$

Equazione 6: d è la distanza tra i piani atomici del cristallo, λ è la lunghezza d'onda del raggio incidente, n indica l'ordine di diffrazione, ϑ è l'angolo di incidenza tra il fascio di raggi x ed il detector.

Una volta avvenuta l'interazione con il campione, un detector rileva il fascio di raggi X e si ottiene uno spettro di diffrazione, in cui l'intensità dei raggi X è riportata in funzione di 2θ .

Generalmente, gli spazi d vengono confrontati con i modelli di riferimento standard.

L'XRD è costituito da tre componenti principali: un tubo a raggi catodici che produce gli elettroni che vengono poi accelerati verso il campione; un supporto per il campione in cui viene posto il campione preventivamente macinato in modo omogeneo; un rivelatore di raggi X.

Lo strumento utilizzato è il diffrattometro Aeris XRD Malvern Panalytical®. L'emissione di raggi X avviene da un anodo in rame con lunghezza d'onda $\lambda=1,5406 \text{ \AA}$, si opera con una tensione di 40 kV e una corrente di 40 mA ed un angolo di incidenza 2θ da 10 a 80. Standard fatto con silicio.

2.1.9. Microscopia elettronico a scansione (SEM)

La struvite precipitata è stata analizzata al SEM presso l'istituto nazionale di ricerca metrologica INRiM di Torino utilizzando *Inspect F* prodotto da FEI®.

Questa analisi permette di studiare la morfologia del campione conservandone l'integrità e ottenendo delle immagini 3D ingrandite fino a 10000 volte rispetto ad un microscopio ottico. A differenza dei microscopici ottici che sfruttano i fotoni per ingrandire le immagini, il SEM utilizza elettroni (che rispetto ai fotoni hanno una λ inferiore) così da ottenere immagini con un limite risolutivo estremamente superiore, nell'ordine dei nanometri, 10-100 nm.

Lo strumento è formato da una colonna sotto alto vuoto in cui è presente un emettitore di elettroni (cristallo di esaboruro di lantanio), il fascio di elettroni generato viene accelerato da un anodo presente all'estremità della colonna. La differenza di potenziale è impostata a 30 [KV] e l'intensità a 30 [mA]. Il fascio elettronico viene poi collimato da delle lenti magnetiche e da dei condensatori fino a colpire una piccola area del campione. Un rivelatore a stato solido o un detector BSE seguito da un software permette di ottenere un'immagine dell'area in scale di grigio.

Quando un materiale è colpito da un fascio elettronico, si generano elettroni secondari, che vengono emessi dal campione, ed elettroni retrodiffusi, ossia gli elettroni incidenti rinviati indietro perchè non assorbiti dal campione.

2.2.7. Determinazione dell'umidità percentuale

I campioni (circa 10g per le biomasse e 2g per la struvite) vengono pesati con una bilancia analitica e messi ad asciugare in stufa a 105 °C per due giorni. Dopodichè si lasciano raffreddare per 30 minuti in essiccatore, e si procede a pesarli nuovamente sulla bilancia analitica. L'umidità percentuale e la F1 si ricavano con le seguenti formule:

$$\text{Umidità\%:} \left(\frac{\text{grammi di campione umido} - \text{grammi campione secco}}{\text{grammi campione umido}} \right) \times 100$$

$$F1: \frac{100}{100 - \text{Umidità \%}}$$

Equazione 7: Calcolo dell'umidità percentuale e F1

Per determinare l'umidità residua si pesa con una bilancia analitica circa 1g di campione, e lo si lascia in stufa a 105°C per 24 ore. Successivamente si trasferisce in un essiccatore e si ripesa sulla bilancia analitica.

L'umidità percentuale residua e la F2 si calcolano con le seguenti formule:

$$\text{Umidità residua \%} : \left(\frac{\text{grammi di campione secco } 60^{\circ}\text{C} - \text{grammi campione secco } 105^{\circ}\text{C}}{\text{grammi campione secco } 60^{\circ}\text{C}} \right) \times 100$$

$$F2: \frac{100}{100 - \text{Umidità residua \%}}$$

Equazione 8: Calcolo dell'umidità residua percentuale e F2

Si specifica che F1 ed F2 sono due valori correttivi; in particolare F2 viene utilizzato per riportare sulla sostanza secca il valore analitico ottenuto sul campione seccato a 60°C (CHNS e ICP-AES), mentre la F1 viene usata per riportare sulla sostanza secca il dato analitico ottenuto sul campione fresco (N totale e N-NH₄⁺). (DI.VA.P.R.A. - I.P.L.A., [s.d.]

2.2.8. Determinazione dei solidi totali, dei solidi volatili e delle ceneri.

Si pesano alla bilancia analitica 10 g di campione macinato e si mettono in un crogiolo in ceramica. Successivamente si mettono in muffola per almeno 4 ore a 650°C. Dopodiché si prelevano e si ripesano alla bilancia analitica dopo averli lasciati raffreddare in un essiccatore.

Le ceneri saranno i solidi rimanenti dopo che il campione è stato in muffola, i solidi volatili invece sono dati dalla differenza di massa tra il campione e le ceneri, mentre i solidi totali sono la somma di solidi volatili e ceneri.

2.2.9. Determinazione dell'azoto con metodo Kjeldahl

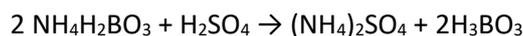
Il metodo Kjeldahl permette di determinare le concentrazioni di azoto totale ed azoto ammoniacale all'interno di un campione fresco. Il metodo è composto principalmente da tre operazioni che includono la digestione, la distillazione e la determinazione quantitativa, quest'ultima attraverso una titolazione acido-base.

Lo strumento utilizzato è un distillatore automatico *Kjel Line* fornito da BUCHI®.

Per determinare l'azoto totale e l'azoto ammoniacale, l'ammoniaca che si ottiene dai processi di distillazione viene fatta condensare e finisce in una soluzione di acido borico all'1% in cui è presente l'indicatore (verde bromocresolo e rosso metile in etanolo).

Si procede effettuando una titolazione acido-base con acido forte (H₂SO₄ 0,02 N o 0,2 N) utilizzando una buretta graduata. Il punto di fine titolazione è indicato dal viraggio della soluzione da azzurro a rosa/trasparente. Man mano che l'ammoniaca viene gorgogliata nella soluzione di acido borico (acido debole) porta alla formazione di borato di ammonio (base forte), a sua volta quantificato tramite retro-titolazione con acido solforico (acido forte). Avviene la seguente reazione:





Equazione 9: Reazione per la determinazione ammonio con metodo Kjendahl

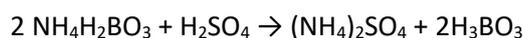
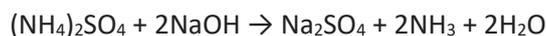
2.2.9.1. Determinazione dell'azoto ammoniacale

Per effettuare la determinazione N-NH₄⁺ con metodo Kjendahl, 1-10 g di campione vengono pesati nel tubo Kjeldahl, insieme a 1 g di MgO che agisce da catalizzatore favorendo il rilascio di ammonio successivamente distillato con il vapor d'acqua. L'ammoniaca viene poi distillata e fatta condensare in una beuta con acido borico. Si procede poi con la titolazione con acido solforico, facendo attenzione a determinare il punto esatto del viraggio.

2.2.9.2. Determinazione dell'azoto totale

Per determinare l'azoto totale, il campione deve essere mineralizzato con 20 mL di H₂SO₄ concentrato e 0,5 g di miscela selenica a 400°C per 3 ore.

Questo processo permette l'ossidazione e carbonizzazione dei composti organici, con formazione di solfato d'ammonio, secondo la seguente reazione.



Equazione 10: Reazione di alcalinizzazione seguita dalla reazione per la determinazione dell'ammonio viste precedentemente nell'equazione 7.

Dopo la digestione lo strumento procede con la neutralizzazione con NaOH (30-50% P/V) e con la distillazione e titolazione descritte precedentemente.

2.2.10. Determinazione del fosforo per via colorimetrica

La determinazione del fosforo attraverso la reazione di complessazione colorimetrica può essere fatta con il blu di molibdeno, che permette di rivelare concentrazioni di P tra 0,05 e 1 mg/L, oppure con il metodo colorimetrico del verde malachite, qualora si volessero determinare concentrazioni di P tra 0.01 e 0.5 mg/L.

In questo lavoro è stato necessario procedere con il metodo del blu di molibdeno.

2.2.10.1. Determinazione del fosforo inorganico solubile:

Per prima cosa è fondamentale estrarre dai campioni macinati a 0,5 mm il P inorganico solubile. Per fare ciò si pesano 0,250g di campione, si aggiungono 25mL di acqua deionizzata e si lasciano in agitazione per 1 ora; al termine dell'agitazione si centrifuga la soluzione e si preleva 10mL di surnatante.

lo ione molibdato complessa lo ione fosfato dando origine a un complesso fosfo-molibdico avente colorazione blu, di intensità maggiore all'aumentare degli ioni ortofosfato in soluzione.

La soluzione complessante di ammonio molibdato contiene acido ascorbico come agente riducente, acido solforico H₂SO₄ per creare un ambiente acido e potassio antimonititartrato come catalizzatore.

I reattivi colorimetrici si preparano attraverso una soluzione chiamata *A Olsen* contenente 4 g di $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ in 120 mL di acqua deionizzata e 0,125 g di $[\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}]$ in 50 mL di acqua deionizzata. Le due soluzioni si addizionano lentamente a 400 mL di H_2SO_4 5N freddo contenuto in un matraccio da 1 litro.

Successivamente si prepara la soluzione *B Olsen* mettendo 1 g di acido ascorbico ogni 250 mL di soluzione *A Olsen*. La soluzione *B Olsen* non è stabile e deve essere utilizzata entro 12 ore dalla preparazione.

È necessario preparare una curva di calibrazione partendo da una soluzione standard di P 10 mg/L.

Infine, attraverso uno spettrofotometro a $\lambda = 650$ nm si determina l'assorbanza e successivamente la concentrazione di P. Si precisa che bisogna attendere 30 minuti dopo aver miscelato il campione con la soluzione *B Olsen* ed eventualmente diluito con acqua prima di effettuare la lettura, e che la soluzione rimane stabile fino per circa 2 ore.

2.2.10.2. *Determinazione del fosforo totale*

Il fosforo totale si determina facendo un'estrazione acida del campione. Si pesano 10 mg di campione in matraccio da 50 mL. Sotto cappa si aggiungono 12,5 mL di H_2SO_4 concentrato e 2,5 mL di HClO_4 concentrato e si lasciano per 24 ore a subire un primo attacco acido a temperatura ambiente.

Successivamente, si dispongono i matracci su una piastra riscaldante a circa 200°C, sempre sotto cappa, così da portare ad ebollizione l'acido perclorico. Facendo questa operazione si noterà la formazione di una colorazione gialla che scomparirà dopo circa 20 minuti e saranno ben visibili i vapori dei HClO_4 che escono dai matracci.

Infine, si spegne la piastra e si lasciano raffreddare i matracci a temperatura ambiente prima di portarli a volume con acqua deionizzata.

Per l'analisi colorimetrica, si procede preparando una soluzione di molibdato non acida sciogliendo in 1L di H_2O 14,4g di ammonio molibdato eptaidrato e 0,5g di potassio antimonil tartrato. A differenza della soluzione *A-Olsen*, non essendo acida, questa soluzione non è stabile e deve essere preparata al momento della misura.

La soluzione riducente si prepara pesando 1,6 g di acido ascorbico in 100 mL di H_2O

Per la preparazione degli standard per costruire la retta di taratura, si aggiunge un volume variabile di soluzione madre di P a 10 mg/L.

Per fare avvenire la reazione colorimetrica si aggiunge in ogni provetta da 10 mL, 0,1mL di estratto acido, ovvero il campione, 0,5 mL di H_2SO_4 8N e, 5 mL di soluzione di molibdato non acida e 0,5 mL di soluzione riducente; si agita bene e si attende 30 minuti per far avvenire la reazione. I campioni si leggono con spettrofotometro UV-VIS impostato ad una lunghezza d'onda pari a 650 nm. (MURPHY, J. AND RILEY, 1962; OHNO, T., ZIBILSKE, 1991; OLSENE et al., 1982)

2.3. Prove di pretrattamento

Tutte le prove sono state effettuate in stufa a 37°C dentro a delle provette di plastica con tappo, ad intervalli di tempo stabiliti (solitamente 1 e 4 giorni).

Dopo aver scongelato i substrati, si sono preparate le provette di reazione. In questa fase è importante fare particolare attenzione alla rappresentatività del liquido. Le provette sono state riempite con 8 g di substrato, per il letame-liquame messi con un rapporto 40:60, come accade nel digestore di Biogas Wipptal.

Successivamente è stata aggiunta la quantità di enzima prevista e sono stati preparati dei bianchi e dei campioni di controllo senza enzimi.

Le soluzioni enzimatiche sono state preparate nel seguente modo:

USC4 è stato aggiunto come indicato dal produttore, ovvero, 2 mL di enzima per ogni 100 g di solidi totali di substrato.

Fitasi e fosfatasi sono state aggiunte al substrato calcolando che, in base alla loro attività al pH del substrato, fossero in grado di idrolizzare tutto il fosfato organico in un tempo di 2 ore. Considerando che le biomasse scelte sono substrati molto più complessi rispetto alle molecole su cui è stata determinata l'attività enzimatica, abbiamo valutato l'effetto dell'enzima per tempi più lunghi: 1 e 4 giorni.

Questo studio mira a ipotizzare l'andamento dell'azione enzimatica durante la DA.

Per procedere all'analisi di P e C solubili bisogna effettuare una centrifuga per 10 minuti a 3000rpm in modo da separare surnatante e precipitato. Il surnatante viene prelevato ed analizzato previa diluizione.

2.3.1. Cavitazione idrodinamica

Come visto al capitolo precedente, l'idrocavitazione permette di effettuare semplificazione della materia organica presente nella biomassa di scarto.

Il pretrattamento è stato condotto per 13 minuti a 3000 rpm, la temperatura raggiunta è stata di 40°C, erogando una potenza di 2,5 kW. Lo strumento utilizzato consiste in un *ROTOCAV hydrodynamic cavitator* prodotto da E_PIC® Srl, Mongrando, Italia (Fig. 15). La cavitazione idrodinamica è stata svolta presso il Dipartimento di Scienze e Tecnologie del Farmaco DSTF dell'Università degli Studi di Torino, via P. Giuria 9 a Torino.

Lo strumento è composto da un serbatoio con una capienza massima di 25L contenente il campione che viene aspirato tramite una pompa che lo invia tramite un tubo ad un motore contenente uno statore ed un rotore (vedi figura 19), dove avviene il fenomeno della cavitazione (vedi paragrafo 1.3.1.). Un ulteriore tubo collega il liquido cavitato al serbatoio di partenza. Il ciclo si ripete innumerevoli volte in base ai tempi prestabiliti.

La FORSU è stata trattata tal quale senza subire diluizione.

Il letame-liquame è stato invece diluito 1:7.

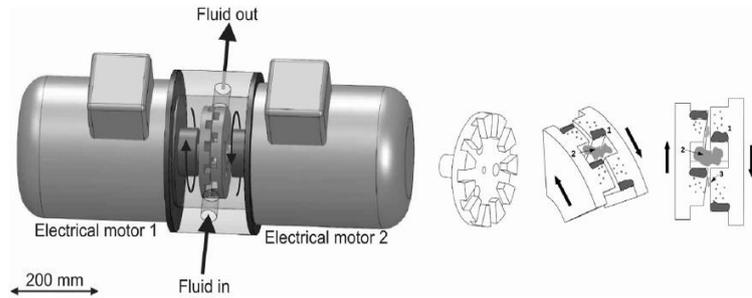


Figura 19: Cavizzatore idrodinamico installato presso il Dipartimento di Scienze e Tecnologie del Farmaco DSTF, UNITO. L'immagine a destra rappresenta il motore (statore e rotore) dell'idrocavizzatore

2.3.2. Test attività enzimatica della fosfatasi acida e basica

È stata studiata l'attività enzimatica delle fosfatasi a differenti pH (da 4 a 11) e a temperatura diverse, ovvero a temperatura ambiente, 24°C e a 37°C in stufa.

Per prima cosa è stato necessario preparare delle soluzioni a pH noto: sono stati preparati 10mL di soluzione tampone come riportato qui di seguito. Tutte le soluzioni sono state controllate con pHmetro.

<u>Tampone pH 4</u>	5,9 mL Acido citrico 0,1M	+	4,1 mL Trisodio citrato diidrato 0,1M	+	
<u>Tampone pH 5</u>	3,5 mL Acido citrico 0,1M	+	6,5 mL Trisodio citrato diidrato 0,1M	+	
<u>Tampone pH 6</u>	1,1 mL Acido citrico 0,1M	+	8,9 mL Trisodio citrato diidrato 0,1M	+	
<u>Tampone pH 7</u>	2,5 mL Imidazolo 0,2M	+	1,2 mL HCl 0,2M	+	6,3 mL H ₂ O
<u>Tampone pH 8</u>	2,5 mL Imidazolo 0,2M	+	0,3 mL HCl 0,2M	+	7,2 mL H ₂ O
<u>Tampone pH 9</u>	1 mL di Sodio Carbonato 0,1M	+	9 mL di Sodio Bicarbonato decaidrato 0,1M	+	
<u>Tampone pH 10</u>	Sodio Carbonato 0,1M	+	NaOH		
<u>Tampone pH 11</u>	Sodio Carbonato 0,1M	+	NaOH		

Tabella 5: preparazione di soluzioni tampone.

Per determinare l'attività enzimatica delle fosfatasi acide si è usato il p-nitrofosfato (pNPP), facendo avvenire la seguente reazione, figura 16:



Figura 20: reazione di rimozione di defosforilazione di pNPP e formazione di acido fosforico.

Si disperde 1,1 mg di enzima in 2mL di acqua deionizzata.

Si prepara una soluzione di pNPP 15mM sciogliendo 28,2mg di pNPP in 5mL in ciascuna soluzione tampone.

Successivamente si testa l'attività enzimatica preparando le provette come è riportato di seguito.

	Provetta Test	Provetta Bianco
Soluzione tampone	500µL	500µL
Soluzione pNPP	500µL	500µL
Soluzione enzimatica	100µL	-

Dopo 10m minuti esatti, si procede a bloccare la reazione enzimatica aggiungendo NaOH:

	Provetta Test	Provetta Bianco
NaOH 0,1M	4mL	4mL
Soluzione enzimatica	-	100µL

Bloccata la reazione enzimatica, è possibile determinare l'assorbanza del paranitrofenolo formato a 410nm con spettroscopia UV-VIS (vedi paragrafo).

Infine, si calcolare l'attività enzimatica con la seguente formula.

$$U/mL = \frac{(A_{\text{test}} - A_{\text{blank}}) \times 5.1}{10 \times 18.3 \times 0.1}$$

Equazione 13: 5.1 = volume totale (in mL) della soluzione, 10 = tempo sperimentale (in minuti), 18.3 = coefficiente di estinzione millimolare di pNPP at 410 nm (in mL mmol⁻¹ cm⁻¹), 0.1 = volume (in mL) di enzima usato.

2.3.3. Test attività enzimatica delle fitasi

È stata studiata l'attività enzimatica delle fitasi analizzando la quantità di fosfato idrolizzata da una molecola di acido fitico, rappresentata in figura 21. Abbiamo studiato l'attività a differenti pH (da 5 a 8) e a temperatura diversa, ovvero a temperatura ambiente, 24°C e a 37°C in stufa.

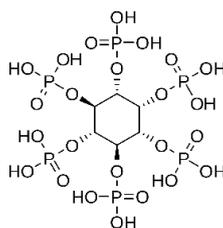


Figura 21: molecola acido fitico.

Si preparano delle soluzioni tampone a pH nota base di EDTA bisodico 0,01M e NaCl 0,01M, portando al pH desiderato con HCl 1M e NaOH 1M.

Si prepara una soluzione di acido fitico a 700 ppm e una soluzione di enzima con 20 mg di enzima in 2 mL di acqua deionizzata.

Preparare una provetta di test e una di bianco, contenenti:

	Test	Bianco
Soluzione acido fitico 700ppm	0,5 mL	0,5 mL
Soluzione tampone	2,4 mL	2,5 mL
Soluzione enzima	100 µL	-

Dopo 30 minuti esatti, aggiungere anche i seguenti reagenti:

	Test	Bianco
NaOH 1M	0,5 mL	0,5 mL
H ₂ SO ₄ 0,5M	0,5 mL	0,5 mL

Si preleva 0,4 mL di soluzione, aggiungere 3.6 mL di H₂O e 1 mL di B Olsen (vedi 2.2.10). Aspettare 30 minuti e misurare l'assorbanza a 650 nm, considerare $\Delta A_{650nm} = A_{560nm} \text{ test} - A_{650nm} \text{ Bianco}$

Calcolare l'attività enzimatica con la seguente formula:

$$U/mL = \frac{(\mu\text{moli di fosfato rilasciate}) \times 5}{30 \times 0,1}$$

Equazione 114: dove 5 è il volume totale (in mL) della soluzione, 30 il tempo sperimentale (in minuti), 0.1 il volume (in mL) di enzima usato.

Per determinare le unità di enzima in un milligrammo, effettuiamo una conversione passando da mL a mg.

Lo stesso è ripetuto in stufa a 40°C.

2.4. Precipitazione di struvite

Ciascuna prova di precipitazione è stata eseguita in duplicato. Si specifica inoltre che la matrice di partenza è stata scongelata e filtrata con filtro di carta per la FORSU e centrifugata per il letame e liquame.

Attraverso le analisi di caratterizzazione del digestato è stato possibile determinare la concentrazione di P, N e Mg così da poter aggiungere i sali necessari per ottenere il rapporto stechiometrico più efficiente per la precipitazione della struvite. Inizialmente come possibili fonti di magnesio sono stati valutati l'ossido di magnesio, l'idrossido di magnesio e il cloruro di magnesio esaidrato; la fonte di P è stata KH₂PO₄.

Dopo aver aggiunto i Sali, è stato necessario portare le soluzioni a pH 9 con NaOH 4 M.

Nei contenitori di reazione viene aggiunta un'ancoretta magnetica e questi vengono lasciati in agitazione. Si procede poi con la filtrazione a vuoto della struvite precipitata. Il precipitato rimasto sul filtro viene lavato accuratamente ed il surnatante viene recuperato e portato a volume in matracci da 500mL, così da poterlo analizzare. In figura 22 e 23 sono riportate alcune fasi del processo di precipitazione e filtrazione.

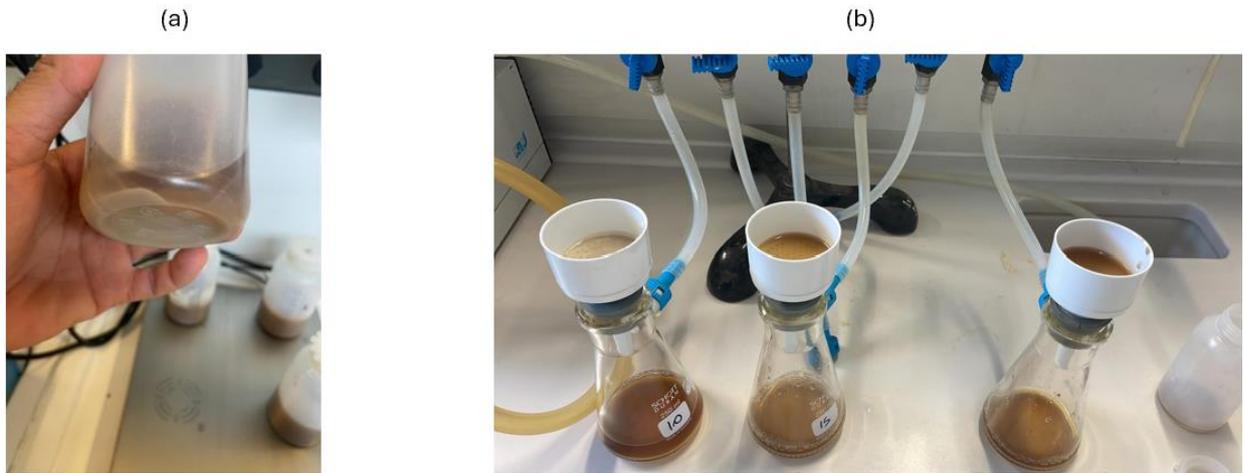


Figura 22: fasi di precipitazione della struvite, a) formazione di struvite durante la precipitazione, b) sistema di filtrazione a vuoto

Il precipitato bianco presente sul filtro, ovvero la struvite, viene poi pesato e posto in essiccatore con dei sali anidri per circa 3 giorni, controllando che il peso raggiunga un valore stabile nel tempo.

Di seguito sono riportate alcune immagini della struvite precipitata.

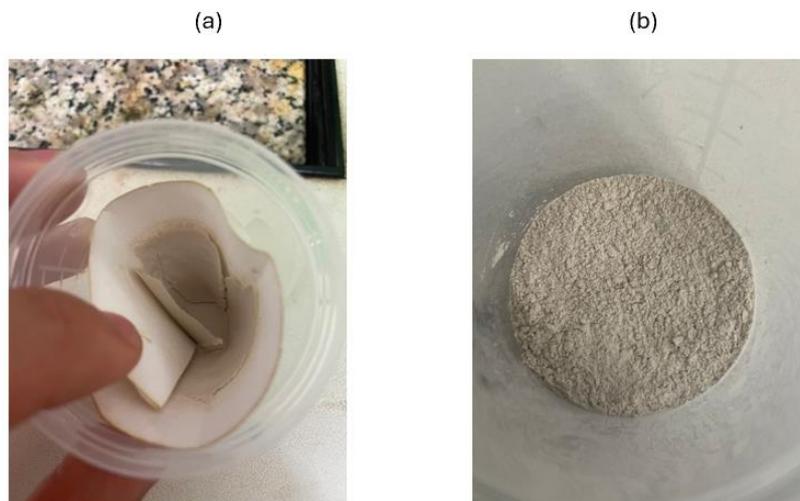


Figura 23: struvite ottenuta da FORSU. a) struvite umida su filtro di carta, b) struvite essiccata.

2.5. Prove di rilascio di fosforo da parte della struvite

Si preparano delle membrane per dialisi Spectra/Por®4, 45x28,6mm, tagliandole a strisce da circa 10cm e mettendole a bagno 30 minuti in acqua deionizzata in modo che si attivino.

Si pesano 300 mg di struvite da FORSU, 300 mg di struvite da refluo zootecnico, 127 mg di $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (un fertilizzante inorganico a rapido rilascio usato come controllo negativo) e 750 mg di Osmocote Pro® (un fertilizzante commerciale a lento rilascio usato come controllo positivo) e si mettono in circa 15mL di H_2O .

Successivamente si riempiono i tubi per dialisi con le soluzioni da monitorare e si chiudono con pinze in plastica ed elastici. Dopodiché si posizionano i campioni all'interno di becher, portando ad un volume finale di 500mL con acqua deionizzata e si chiudono con Parafilm®.

I campionamenti sono stati eseguiti al giorno 0, giorno 1, giorno 5 e poi settimanalmente per 4 settimane, prelevando 0,4mL di liquido dal becher e congelandolo. Al termine del campionamento i prelievi sono stati analizzati determinando il fosforo solubile inorganico come riportato precedentemente (paragrafo 2.2.4.1.).

La seguente immagine (figura 24) mostra il sistema di monitoraggio del rilascio di P.

La stessa prova è stata eseguita simulando il pH del suolo. Per fare ciò si sono preparate diverse soluzioni acquose a pH 5, 6, 7 e 8. Per tamponare il pH delle soluzioni abbiamo usato EDTA bisodico 0,01M e NaCl 0,01M portando a pH desiderato con HCl 1M e NaOH 1M (TALBOYS et al., 2016; VALLE et al., 2022).

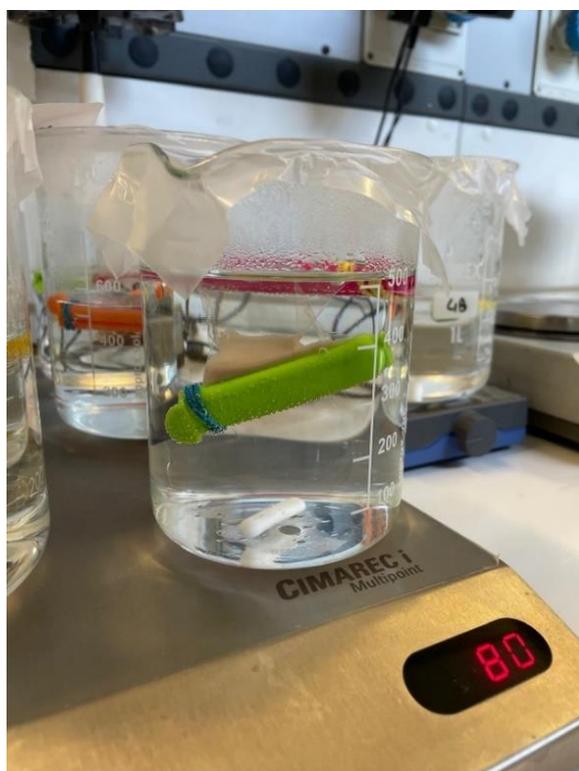


Figura 24: sistema di monitoraggio rilascio P in H_2O

3. Risultati

In questo capitolo verranno presentati i risultati sperimentali ottenuti dalle prove svolte in laboratorio. In particolare, si provvederà ad esaminare e valutare i valori ottenuti dalla caratterizzazione delle differenti biomasse, dai processi di pretrattamento effettuati, dalle prove di ottimizzazione della precipitazione di struvite e dalla caratterizzazione della struvite attraverso le analisi chimico-fisiche ed i test presentati nel capitolo precedente.

3.1. Caratterizzazione della biomassa

Di seguito vengono riportate le tabelle con i risultati ottenuti dalle analisi di caratterizzazione delle biomasse provenienti dai digestati di FORSU e di letame-liquame prelevati dagli impianti di IREN a Cairo-Montenotte e di Biogas Wipptal a Vipiteno.

Come già indicato nei capitoli precedenti, il pH delle biomasse può variare in modo considerevole. In questo caso la FORSU presenta un pH leggermente più basso della miscela letame-liquame. Come previsto, in entrambe le biomasse è possibile notare un aumento del pH dopo la DA. La DA determina anche una diminuzione di sostanza secca (SS) e dei solidi volatili (SV) e ad un aumento delle ceneri rispetto alla biomassa di partenza. Questo è dovuto alla diminuzione di materia organica durante il processo anaerobico, con formazione di CH₄ e CO₂. I valori di pH e di materia organica ed inorganica sono confrontabili con quelli presenti in letteratura riportati nei paragrafi 1.2 e 1.3.

Campione	pH	SS (%TQ)	st. dev.	Ceneri (% SS)	st. dev.	SV (%SS)	st. dev.
FORSU	5,9	6,7	0,2	24,3	1,3	75,7	1,5
Digestato FORSU	8,2	2,7	0,0	43,2	0,6	56,8	0,7
Fraz. Liquida dig. FORSU	8,5	0,6	0,0	66,9	0,9	33,1	0,9
Letame	6,8	20	0,1	17,0	1,1	83,0	1,0
Liquame	7,8	7,2	0,2	21,4	0,4	78,6	0,5
Liquame 60% Letame40%	7,4	12	0,1	19,6	0,7	80,4	0,9
Digestato letame liquame	8,5	6,5	0,0	28,6	0,4	71,4	0,4
Fraz. Liquida dig. Letame-liquame	8,4	5,0	0,0	33,9	0,2	66,1	0,5

Tabella 6: Caratterizzazione delle biomasse utilizzate.

La tabella 7 riporta la composizione percentuale di carbonio, azoto, fosforo e potassio presenti nelle due biomasse analizzate, macroelementi necessari alla crescita delle piante. In media, tutti gli elementi rispecchiano i valori presenti in letteratura (ALIBARDI; COSSU, 2015; CAMPUZANO; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, 2016; HUANG et al., 2017; KÖNINGER et al., 2021), fatta eccezione per una maggior quantità di azoto (28% SS) all'interno della frazione liquida del digestato di FORSU. Inoltre, nello scarico di FORSU si è determinata una concentrazione di NH₄⁺ pari a 1600 mg/L, superiore ai limiti di legge.

È possibile notare che la biomassa zootecnica è molto più ricca di carbonio rispetto alla FORSU (Tabella 7 e 6). Il rapporto C/N indica che entrambe le biomasse sono adatte per la digestione anaerobica; il rapporto diminuisce nel digestato, come spiegato nel paragrafo 1.4.

Per un corretto apporto di nutrienti, le piante necessitano di un rapporto N/P pari a 6:1. Dall'analisi della biomassa zootecnica, è risultato un rapporto N/P molto simile a quello ideale, soprattutto per il digestato. Dopo la separazione solido-liquida si viene però a creare uno sbilanciamento, come si nota dall'elevato rapporto N/P della frazione liquida del digestato di FORSU.

Inoltre, è possibile vedere come in tutti i campioni il P solubile sia solo una minima frazione del P tot.

La presenza di S è poco rilevante e non desta problemi per quanto riguarda la possibile inibizione della digestione anaerobica.

Campione	C tot (%SS)	st. dev.	N tot (%SS)	st. dev.	P tot (%SS)	st. dev.	K tot (%SS)	st. dev.	S (%SS)	st. dev.	N-NH4+ (%SS)	st. dev.	P solubile (%SS)	st. dev.	C/N	N/P
FORSU	46,9	0,4	6,0	0,0	0,5	0,0	2,1	0,0	0,5	0,0	2,6	0,0	0,1	0,0	7,9	11,0
Digestato FORSU	28,6	0,4	13,8	0,0	0,7	0,0	4,7	0,1	/	/	9,5	0,0	0,2	0,0	2,1	18,8
Fraz. Liquida dig. FORSU	12,5	0,2	28,5	0,2	0,0	0,0	1,1	0,0	0,9	0,0	29,9	0,2	0,0	0,0	0,4	1650,0
Letame	44,6	0,3	2,9	0,1	0,7	0,0	3,3	0,0	0,3	0,0	0,5	0,0	0,2	0,0	15,4	4,0
Liquame	39,7	1,0	3,6	0,0	0,8	0,1	5,6	0,0	0,5	0,0	1,9	0,0	0,1	0,0	10,9	4,4
Liquame 60% Letame40%	41,7	0,8	3,1	0,0	0,8	0,0	4,4	0,0	0,4	0,0	1,1	0,0	0,1	0,0	13,4	4,1
Digestato letame liquame	38,2	0,4	6,6	0,0	1,1	0,0	7,1	0,0	0,6	0,0	4,2	0,0	0,4	0,0	5,8	6,1
Fraz. Liquida dig. Letame-liquame	36,7	0,2	8,4	0,0	1,0	0,0	8,2	0,0	0,2	0,6	5,3	0,0	0,3	0,0	4,4	13,0

Tabella 7: Caratterizzazione delle biomasse utilizzate. Analisi dei macroelementi.

Per quanto riguarda la presenza anche dei mesoelementi essenziali per la pianta (Tabella 8), l'analisi all'ICP ottico ha riscontrato valori al di fuori dei limiti di legge o tossici per la pianta. I valori rispecchiano quelli presenti in letteratura (ALIBARDI; COSSU, 2015; CAMPUZANO; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, 2016; HUANG et al., 2017; KÖNINGER et al., 2021).

Campione	Ca (%SS)	Mg (%SS)	Cu(mg/kg SS)	Mn (mg/kg SS)	Zn (mg/kg SS)
FORSU	16785,5	5541,6	0,0	0,0	0,0
Digestato FORSU	34880,2	4450,1	132,6	104,0	416,2
Fraz. Liquida dig. FORSU	2746,5	3820,9	8,2	4,1	19,8
Letame	15487,1	5114,1	26,8	158,5	634,5
Liquame	14578,7	6101,1	40,1	202,0	808,3
Liquame 60% Letame40%	14942,0	5706,3	34,8	184,6	738,8
Digestato letame liquame	22927,2	7808,3	219,0	295,6	600,8
Fraz. Liquida dig. Letame-liquame	25202,5	8740,3	79,7	329,2	1175,2

Inoltre, la presenza di questi elementi potrebbe portare a problemi di precipitazione della struvite competendo con i reagenti, oltre a causare una minore purezza del cristallo. La concentrazione di magnesio per entrambe le biomasse non è sufficiente ad ottenere un rapporto molare adatto alla precipitazione di struvite, e per questo è stato necessario aggiungere dei reagenti.

L'analisi effettuata alle biomasse per determinare i metalli pesanti ha portato ai seguenti risultati (tabella 9).

Campione	Cd (mg/kg SS)	Cr (mg/kg SS)	Ni (mg/kg SS)	Pb (mg/kg SS)
FORSU	0,0	0,0	0,0	0,0
Digestato FORSU	0,0	25,9	7,2	52,3
Fraz. Liquida dig. FORSU	0,0	4,5	2,1	5,6
Letame	0,0	21,7	86,8	6,0
Liquame	0,0	15,9	63,4	71,5
Liquame 60% Letame40%	0,0	18,2	72,8	45,3
Digestato letame liquame	0,0	5,0	51,7	117,1
Fraz. Liquida dig. Letame- liquame	0,0	18,2	67,4	7,3

Tabella 8: Caratterizzazione delle biomasse utilizzate. Analisi dei metalli pesanti.

Dalle analisi svolte, non sono stati rivelati valori sopra al limite di legge. Nel letame-liquame sono presenti concentrazioni di metalli pesanti potenzialmente inquinanti più elevate rispetto alla FORSU. Questo è dovuto al fatto che nei mangimi vengono aggiunti alcuni metalli (micronutrienti essenziali) a scopo nutrizionale. Ad esempio, il rame viene addizionato per migliorare la qualità degli zoccoli delle vacche. La presenza di metalli più tossici, come il piombo, è riconducibile ai minori controlli fatti sui mangimi animali. La presenza di metalli pesanti è un problema qualora si utilizzasse il letame e il liquame come fertilizzante. Inoltre, i metalli potrebbero competere con la precipitazione della struvite e diminuire la purezza del prodotto.

Infine, la non rivelabilità di Cd è un punto a favore del fertilizzante, in quanto l'attuale normativa UE (2019/1009) prevede che non vi debba essere alcuna contaminazione da parte di questo metallo.

3.2. Pretrattamenti

Attività enzimatica delle fosfatasi

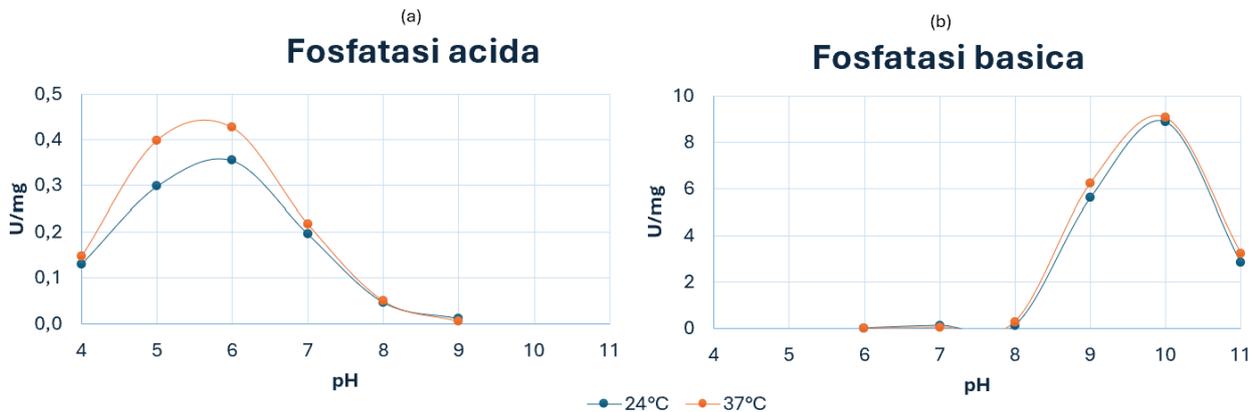


Figura 25: attività enzimatica delle fosfatasi acide e basiche in funzione del pH e della temperatura.

L'attività enzimatica U, cioè la quantità di enzima che catalizza l'idrolisi di una micromole di substrato in un minuto, varia in funzione del pH. Le fosfatasi acide presentano il picco di attività intorno a pH 6, quelle basiche intorno a pH 10, (figura 25). Si noti come variano le curve per la fosfatasi acida in funzione della temperatura, confermando un aumento di attività a 37°C. Questo indica che all'interno dei reattori anaerobici dei due impianti in esame, dove la temperatura è 37°C per IREN e 40°C per Biogas Wipptal, l'attività di questi enzimi potrebbe essere più alta rispetto alle condizioni esterne.

Si noti che l'attività enzimatica della fosfatasi basica è nettamente maggiore rispetto a quella della fosfatasi acida.

Attività enzimatica delle fitasi

Dal grafico in figura 26 si osserva che la fitasi è particolarmente attiva a pH 5-6, mentre la sua attività diminuisce a valori di pH superiori. Come nel caso delle fosfatasi, l'attività delle fitasi aumenta con l'aumentare della temperatura da 25°C a 40°C.

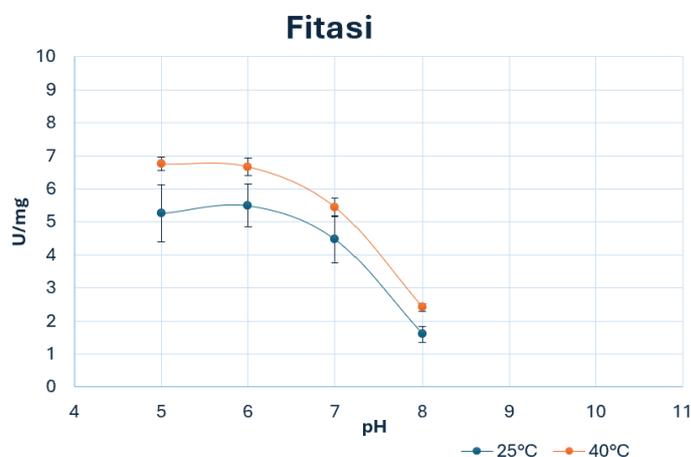


Figura 26: attività enzimatica delle fitasi a diverse condizioni di pH e di temperatura.

Prova enzimatica di USC4

L'attività di questa miscela enzimatica è stata testata determinando il carbonio organico disciolto nel campione prima e dopo l'incubazione con USC4. Il test è stato condotto per 2 ore (tempo consigliato dal fornitore) e per 4 giorni, per studiare l'effetto su un tempo più lungo. Per entrambi i substrati in esame, un campione è stato incubato alla stessa temperatura ma in assenza di enzima, come controllo (figura 27).

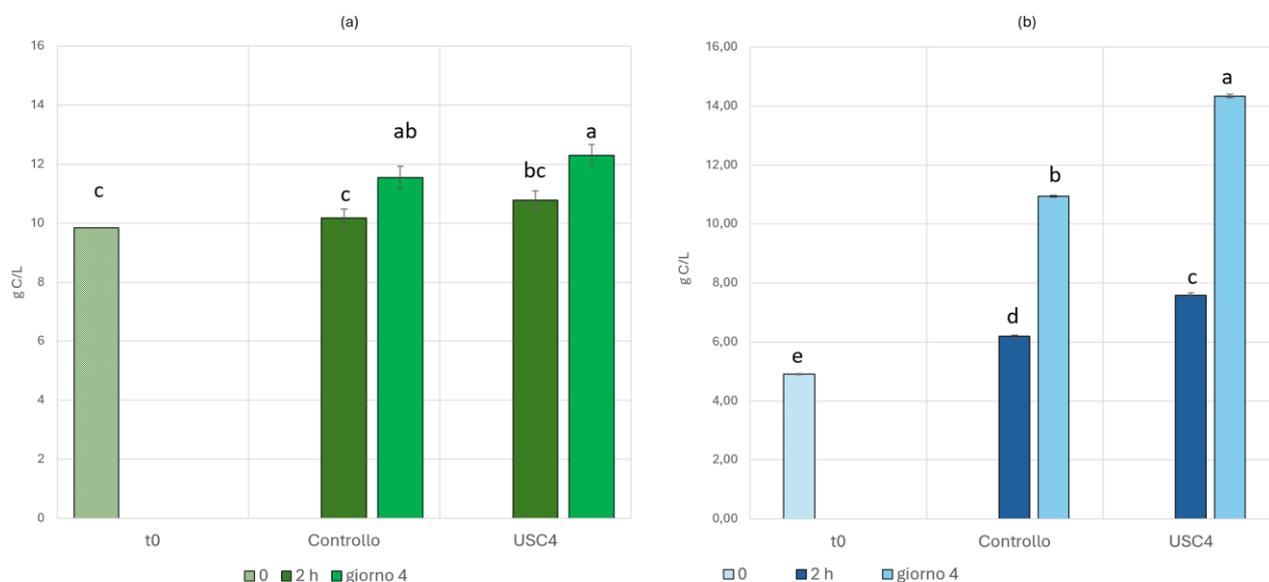


Figura 27: analisi TOC di a) FORSU tal quale (al tempo 0) e dopo incubazione a 37°C in assenza e in presenza di enzima USC4 per 2 ore o 4 giorni; e b) miscela letame-liquame tal quale (al tempo 0) e dopo incubazione a 37°C in assenza e in presenza di enzima USC4 per 2 ore o 4 giorni. I dati riportati sono le medie di due repliche analitiche e le barre di errore corrispondono alle loro deviazioni standard. L'analisi delle varianze è stata eseguita con un modello di regressione lineare multipla e poi effettuando un test T tra controllo e substrato cavitato.

Il grafico in figura 27 mostra un lieve aumento di C solubile nella FORSU incubata con USC4 già dopo due sole ore di incubazione con la miscela enzimatica, e una crescita più pronunciata dopo quattro giorni. Un effetto ancora più marcato è visibile per la miscela letame-liquame, sulla quale la miscela enzimatica risulta più efficace (figura 27b). La tendenza dei risultati indica chiaramente l'efficacia del pretrattamento nel degradare la parte organica di entrambi i substrati, in particolare si ottiene significatività statistica per i pretrattamenti sul letame. Per FORSU l'eterogeneità del campione non permette di distinguere differenze significative tra i dati ottenuti, anche se è visibile un aumento rispetto al controllo.

3.2.1 Effetto dei pretrattamenti enzimatici sulla solubilizzazione di P

Per valutare l'efficacia del pretrattamento enzimatico abbiamo determinato il P inorganico solubile presente nel substrato dopo aver lasciato agire gli enzimi per 1 e 4 giorni (figura 28).

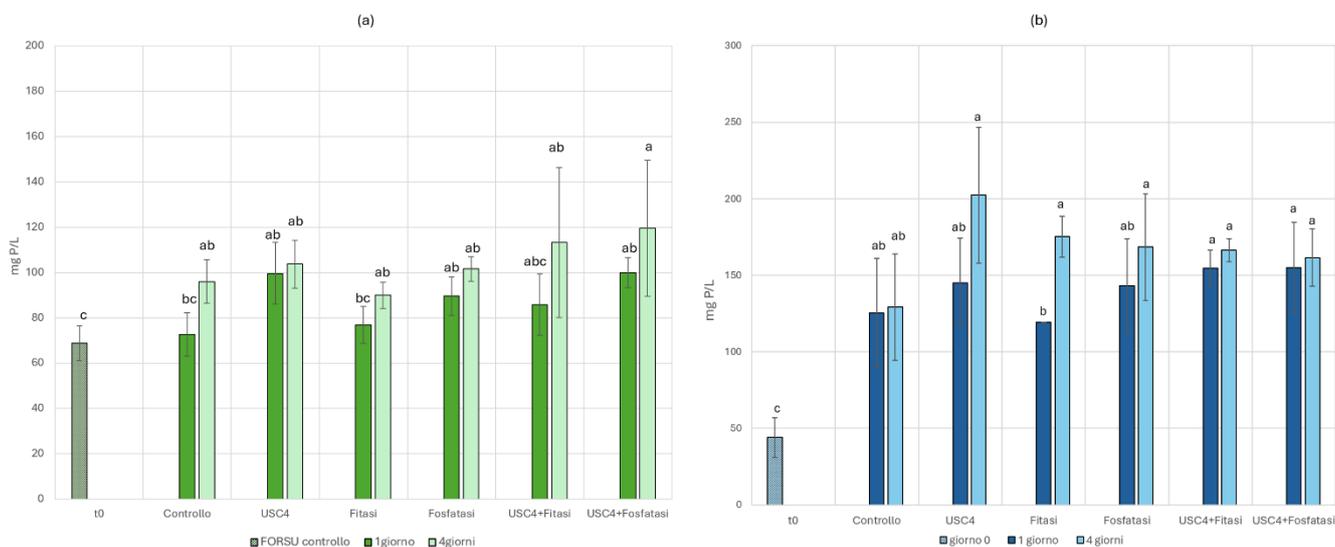


Figura 28: Analisi del P inorganico solubile in a) FORSU e b) letame-liquame dopo pretrattamento enzimatico di durata 1 e 4 giorni. I dati riportati sono le medie di due repliche analitiche e le barre di errore rappresentate sono date dalle loro deviazioni standard. L'analisi delle varianze è stata eseguita con un modello di regressione lineare multipla e poi effettuando un ttest T tra controllo e substrato cavitato.

Per entrambi i substrati, si osserva un aumento del P solubile dopo l'incubazione a 37°C e con l'aggiunta di enzimi. Il pretrattamento più efficace è l'aggiunta della miscela enzimatica USC4. La combinazione con USC4 risulta aumentare l'effetto di fitasi e fosfatasi. L'analisi statistica ha evidenziato significatività tra il controllo e il substrato trattato con USC4 per entrambe le biomasse. Ha anche evidenziato significatività statistica tra controllo e i pretrattamenti con fitasi o fosfatasi e con le miscele enzimatiche USC4-fitasi e USC4-fosfatasi.

3.2.2. Pretrattamento di idrocavitazione

L'analisi del carbonio totale organico disciolto nei campioni trattati con cavitazione idrodinamica (figura 29) ha confermato che questo processo è in grado di frammentare la matrice organica in modo efficace in entrambi i tipi di biomassa. Dal grafico in figura 29 si osserva infatti una differenza significativa tra i substrati tal quali e quelli idrocavitati.

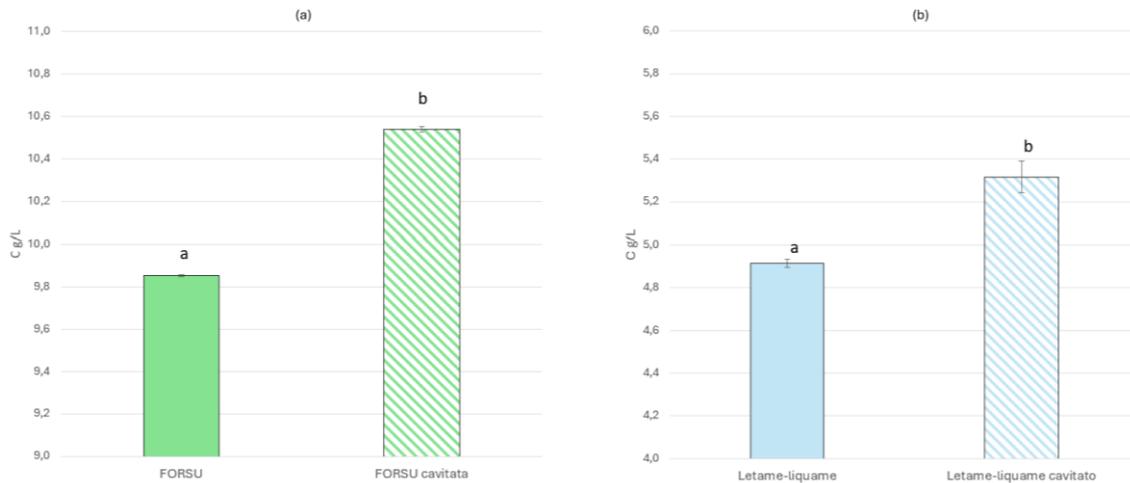


Figura 29: analisi TOC a) FORSU e FORSU cavitata e b) Letame-liquame e letame-liquame cavitato. I dati riportati sono le medie di due repliche analitiche e le barre di errore rappresentate sono date dalle loro deviazioni standard. L'analisi delle varianze è stata eseguita facendo un test T tra controllo e substrato cavitato.

Si è misurato il P solubilizzato con il pretrattamento di idrocavitazione, sempre facendo un controllo con la biomassa non cavitata (figura 30). Da questa analisi possiamo concludere che il pretrattamento è in grado di solubilizzare il fosforo, in modo più pronunciato nella miscela letame-liquame rispetto alla FORSU.

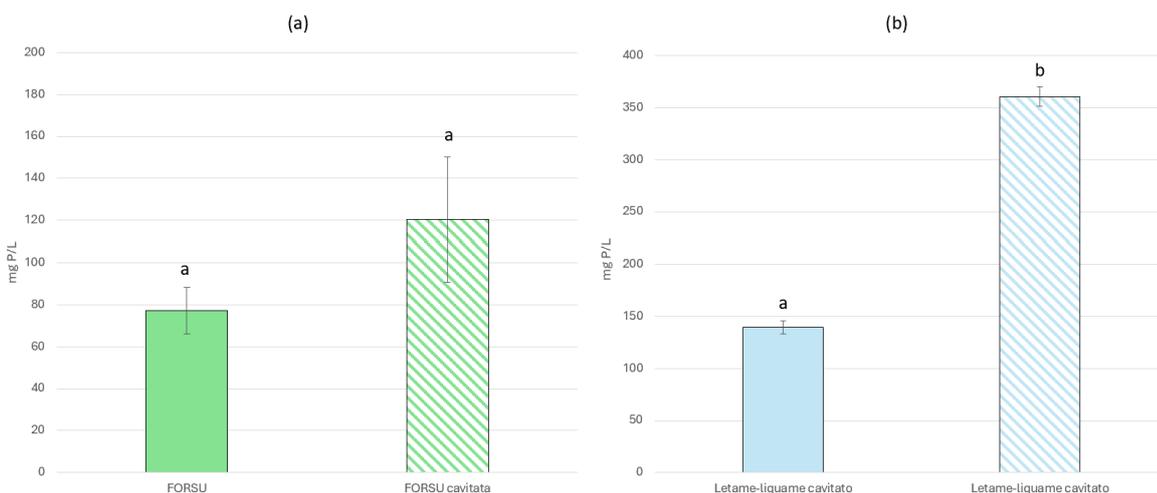


Figura 30: determinazione del P solubile dopo idrocavitazione a) FORSU e FORSU cavitata e b) Letame-liquame e letame-liquame cavitato. I dati riportati sono le medie di due repliche biologiche e due repliche analitiche. Le barre di errore di errore rappresentano le loro deviazioni standard. L'analisi delle varianze è stata eseguita facendo un test T tra controllo e substrato cavitato.

Anche il rilascio di fosforo solubile, da parte della biomassa dopo aver effettuato il pretrattamento di idrocavitazione è aumentato in modo significativo.

3.3. Pretrattamento combinato di idrocavitazione ed idrolisi enzimi

4. La combinazione di pretrattamento fisico ed enzimatica ha determinato un incremento della concentrazione di P in soluzione, con una significatività statistica tra controllo e USC4, USC4-fitasi e USC4-fosfatasi per entrambe le biomasse. Nel grafico (figura 31) è possibile osservare la combinazione di pretrattamento fisico ed enzimatico.

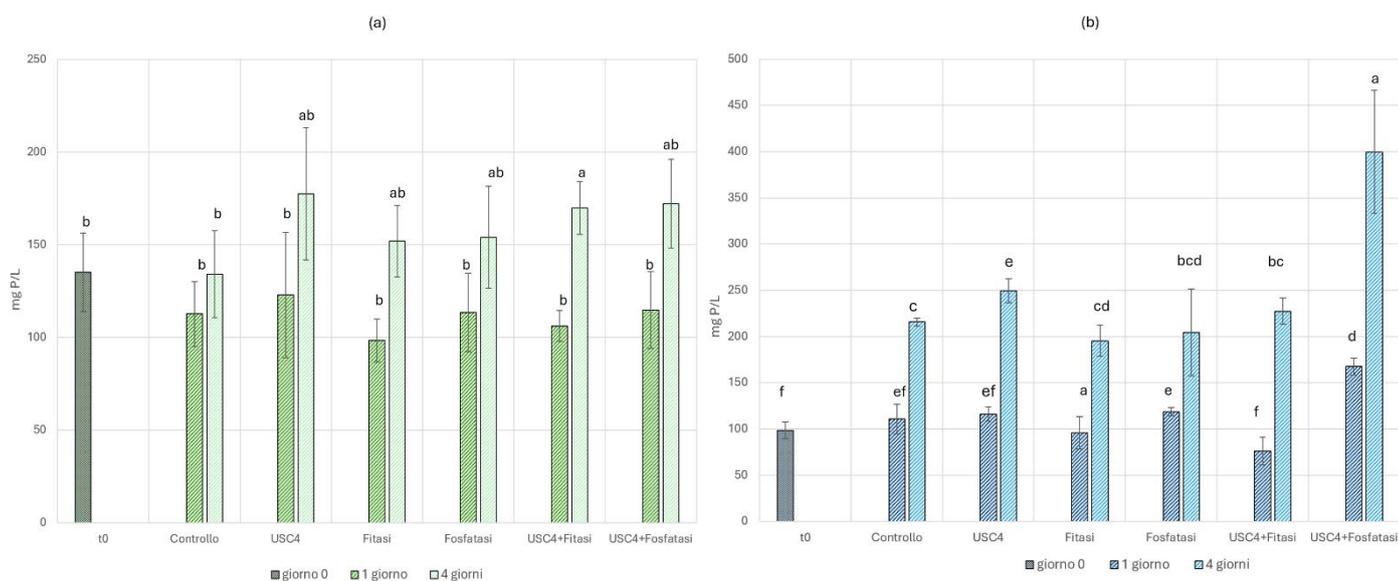


Figura 31: determinazione del P solubile dopo idrocavitazione a) caso FORSU cavitato con aggiunta di enzimi e b) caso Letame-liquame cavitato con aggiunta di enzimi. I dati riportati sono le medie di due repliche biologiche e due repliche analitiche. Le barre di errore rappresentate sono date dalle loro deviazioni standard. L'analisi delle varianze è stata eseguita con un modello di regressione lineare multipla e poi effettuando un test T tra controllo e substrato cavitato.

Dagli istogrammi è possibile notare un deciso aumento del fosforo solubile dopo pretrattamento a 4 giorni. Ottimi risultati sembrerebbero ottenersi per il letame cavitato pretrattato con USC4 e fosfatasi, con i quali la concentrazione di P in soluzione è quadruplicata rispetto al tempo zero ed al controllo, per letame-liquame.

4.2. Precipitazione di struvite

Il processo di precipitazione della struvite è stato ottimizzato sulla frazione liquida del digestato di FORSU e poi adeguato alla frazione liquida del digestato da reflui zootecnici. I parametri di precipitazione sono scelti sulla base di precedenti studi (LIU et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2016; SAERENS; GEERTS; WEEMAES, 2021) e modificati in funzione dei risultati ottenuti. Le prove di precipitazione sono state svolte sulle frazioni liquide provenienti dai digestati di FORSU e di letame-liquame senza pretrattamenti.

3.4.1. Ottimizzazione del processo di precipitazione

Il processo di precipitazione è stato ottimizzato in base alla massa ottenuta e alla rimozione di ammonio dalla frazione liquida del digestato.

Per prima cosa sono state selezionate le fonti di magnesio e fosforo, privilegiando fonti economicamente sostenibili. Come fonte di P è stato utilizzato il KH_2PO_4 , già testato in altri articoli, il cui utilizzo risulta vantaggioso anche perché fornisce potassio, un nutriente essenziale per la pianta.

Le fonti di magnesio testate sono ossido di magnesio, cloruro di magnesio ed idrossido di magnesio.

Il rapporto molare tra gli elementi inizialmente è stato 1:1:1 (N:P:Mg). Il pH dopo l'aggiunta dei reagenti è stato portato a 9 (LIU et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2016; SAERENS; GEERTS; WEEMAES, 2021).

Dai grafici riportati in figura 32 si evince che la fonte migliore in termini di resa e rimozione di NH_4^+ è il cloruro di magnesio MgCl_2 , tuttavia libera una grande quantità di cloruri. Considerando le normative attuali (All. 5, P. Terza, D.Lgs n. 152 del 03.04.06) il valore limite di cloruri è pari a 3000 ppm. Utilizzando cloruro di magnesio si è calcolata una concentrazione pari a 3070ppm.

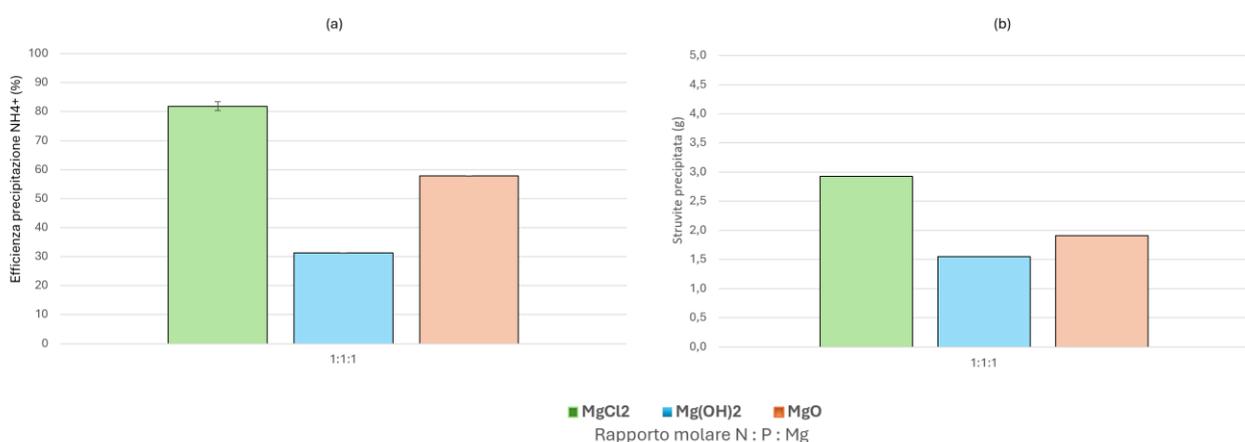


Figura 32: (a) Efficienza di precipitazione di ammonio, (b) grammi di struvite ottenuta da 100 mL di digestato, confrontando 3 differenti fonti di magnesio.

I dati riportati sono le medie di due repliche analitiche e le barre di errore rappresentano le loro deviazioni standard.

Abbiamo quindi proceduto ad ottimizzare la precipitazione della struvite utilizzando ossido di magnesio, che permette di ottenere buone rese oltre ad una rimozione di ammonio maggiore del 50%.

Successivamente si è valutato il migliore rapporto molare di ammonio tenendo fisso quello di Mg e P (1:1).

I risultati confermano che il rapporto molare migliore è quello 1:1:1, vedi figura 33.

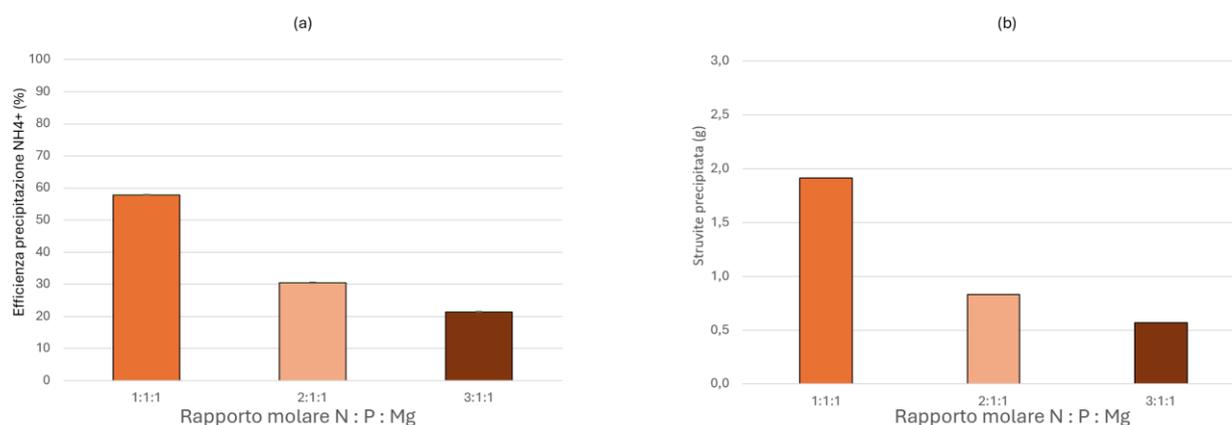


Figura 33: (a) Efficienza di precipitazione di ammonio, (b) grammi di struvite ottenuta da 100 mL di digestato, confrontando 3 differenti rapporti molar tra N, P e Mg. I dati riportati sono le medie di due repliche analitiche e le barre di errore rappresentano le loro deviazioni standard.

Un altro parametro testato è stato il tempo di precipitazione, per valutare se dopo 1 ora la struvite fosse già precipitata del tutto, o se aumentare il tempo potesse aumentare la resa del processo (figura 34). È possibile notare che il tempo di precipitazione non ha influenzato i grammi ottenuti e la rimozione di NH₄⁺. Per i test successivi abbiamo quindi mantenuto la tempistica di 1 ora di precipitazione.

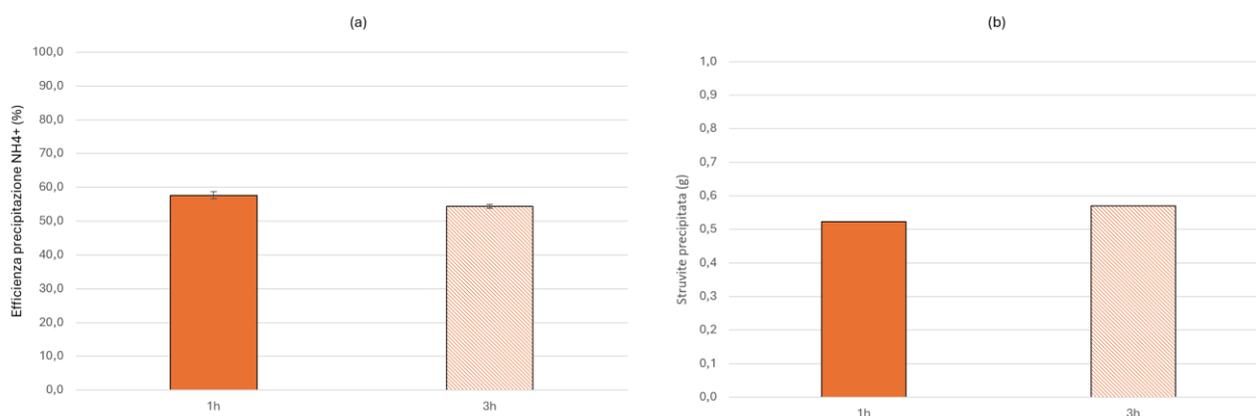


Figura 34: (a) Efficienza di precipitazione di NH₄⁺ (b) grammi di struvite ottenuta da 50 mL di digestato in funzione dei tempi di precipitazione. I dati riportati sono le medie di due repliche analitiche e le barre di errore rappresentano le loro deviazioni standard.

Infine, è stato variato il rapporto molare di Mg rispetto a N e P (figura 35) osservando un aumento in grammi di struvite ottenuta ed una maggiore efficienza di precipitazione di NH₄⁺ per il rapporto 1:1:2.

In conclusione, l'ottimizzazione del processo di precipitazione della struvite ha portato che le condizioni migliori di lavoro sono: 1h a pH 9 con rapporto 1:1:2 di N:P:Mg.

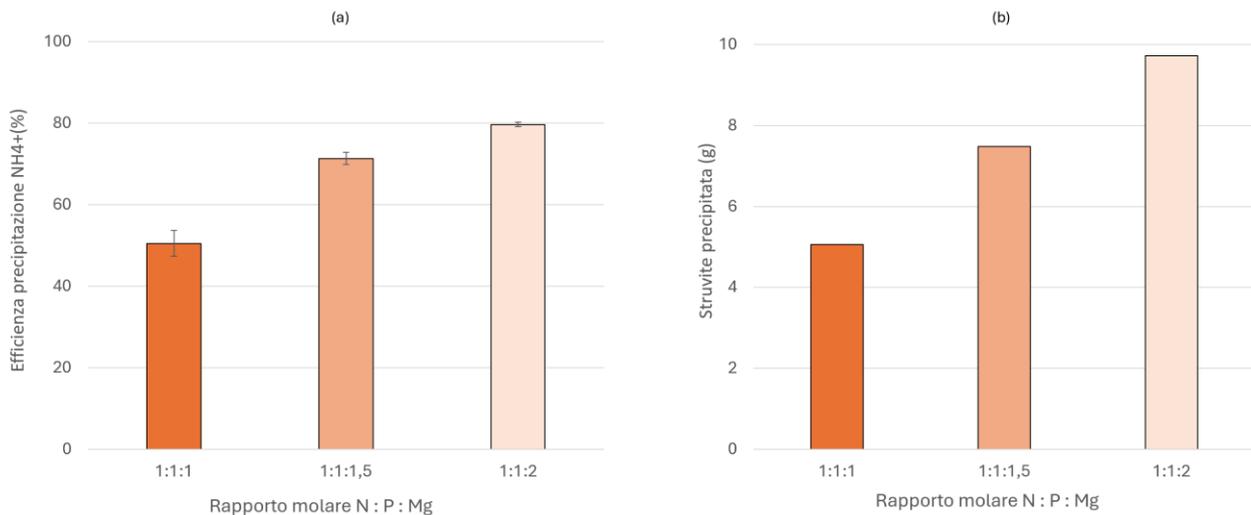


Figura 35: Efficienza di precipitazione di NH_4^+ e massa di struvite ottenuta da 250 mL di digestato in funzione del diverso rapporto molare: N:P:Mg.

I dati riportati sono le medie di due repliche analitiche e le barre di errore rappresenta le deviazioni standard.

3.4.2. Caratterizzazione della struvite

Sono state analizzate sia le struviti ottenute dai due substrati in esame, sia le frazioni liquide post precipitazione in modo da valutare l'efficienza del recupero di nutrienti.

La struvite ottenuta presenta caratteristiche simili a quella ottenuta dagli studi di Ha et al. [73] e di Sciarra et al. [74]. Si è quindi proceduto a verificare che la struvite abbia le caratteristiche chimico-fisiche per essere commercializzata come fertilizzante derivante da biomasse di scarto, secondo il Regolamento (UE) 2019/1009.

Struvite da FORSU

Il contenuto in nutrienti (C, P, N, K ed Mg) nella struvite ottenuta dal digestato da FORSU è riportato nel grafico in figura 36. In particolare, è possibile notare che tutte le struviti ottenute sono paragonabili con i valori teorici di elementi presenti nella struvite pura. La struvite 1:1:2, risulta essere quella con rapporti più simili ai valori teorici, per tutte le struviti.

Si può notare dal grafico che la % di Mg è leggermente più alta rispetto la struvite teorica; al contrario il valore % di P è leggermente inferiore rispetto alla struvite teorica.

Inoltre, la struvite ottenuta con la precipitazione dal digestato di FORSU e letame-liquame ha una percentuale inferiore al 2% di K. La presenza è dovuta al reagente KH_2PO_4 , addizionato come fonte di P

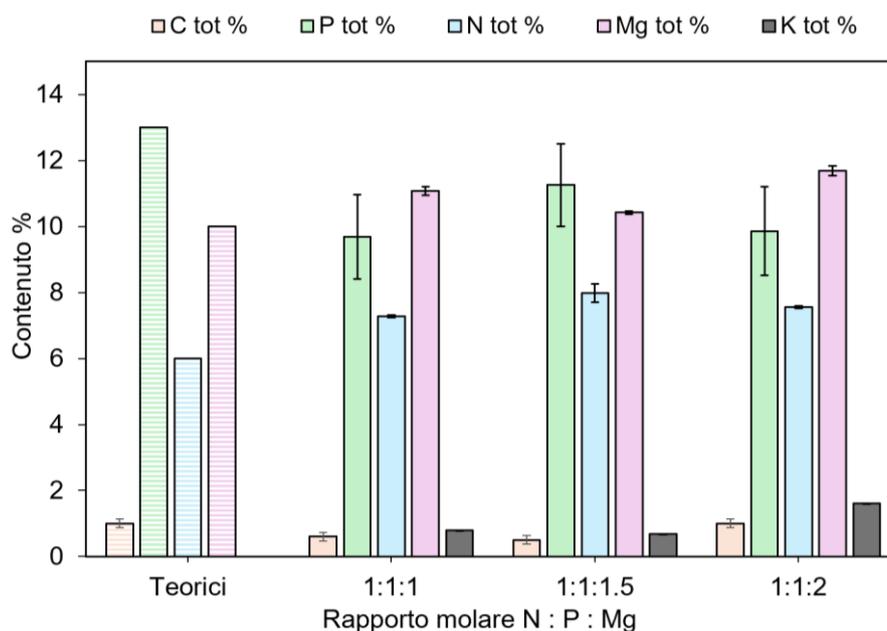


Figura 36: percentuale di nutrienti nella struvite precipitata da FORSU. I valori sono paragonabili alla struvite teorica (istogrammi a sinistra).

Per quanto riguarda la caratterizzazione chimico-fisica sono state fatte le seguenti analisi: SEM (figura 37), XRD e FT-IR (figura 38). Tutte le immagini ottenute sono paragonabili a quelle riportate in letteratura. Le immagini ottenute al SEM hanno confermato la formazione di cristalli ortorombici, di dimensioni adeguate pari a 15-20 μm . L'immagine a 50 μm conferma la qualità della struvite ottenuta, con corretta omogeneità nella disposizione dei cristalli.

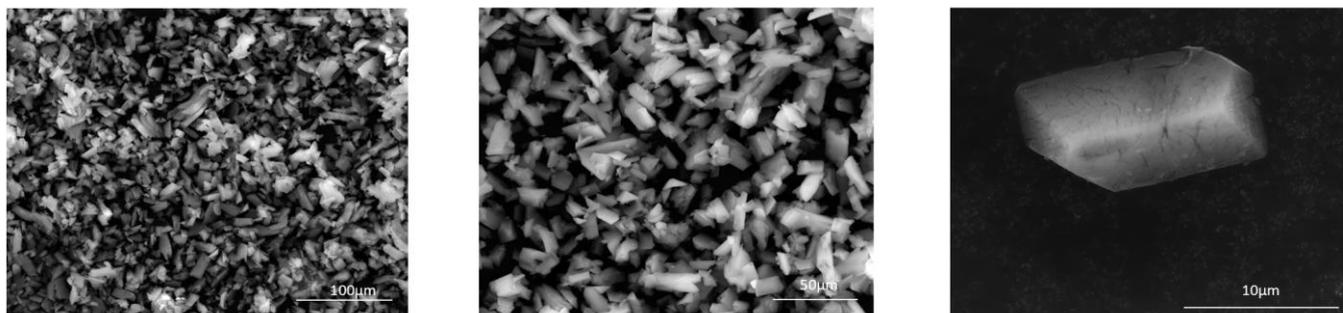


Figura 37: Immagini al SEM della struvite precipitata da FORSU.

Le analisi spettroscopiche hanno confermato la presenza dei segnali riconducibili alla struvite teorica, vedi figura 38. I picchi relativi all'assorbimento dei diversi gruppi sono corretti e hanno le stesse lunghezze d'onda dei picchi di assorbimento della struvite teorica (presenti nella tabella in figura 38 b).

La figura 38 a) riporta gli spettri IR ottenuti dall'analisi della struvite precipitata con i diversi rapporti 1:1:1, 1:1:1.5 e 1:1:2 di N:P:Mg.

Per il fosfato è possibile identificare il segnale del bending simmetrico a 983 cm^{-1} e il bending asimmetrico a 563 cm^{-1} . Sempre legato al gruppo fosfato è presente il segnale dello stretching simmetrico a 443 cm^{-1} e lo stretching asimmetrico a 1242 cm^{-1} . Per quanto riguarda l'ammonio è stato possibile identificare il segnale di

bending asimmetrico a 1430 cm^{-1} , lo stretching simmetrico a 2879 cm^{-1} e lo stretching asimmetrico a 3238 cm^{-1} . A 1678 cm^{-1} e 2316 cm^{-1} è possibile assegnare il segnale di bending e di stretching dell' H_2O , ovvero l'acqua di cristallizzazione presente all'interno del cristallo.

Infine, sono stati individuati i segnali del legame idrogeno $\text{H}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}$ e $\text{NH}_3-\text{H}_2\text{O}$ a 746 cm^{-1} e 883 cm^{-1} .

L'analisi XRD mostrata con il grafico presente nella figura 38 c) riporta i pattern di diffrazione della struvite ottenuta dalla precipitazione confrontata con quella standard.

Tutti i campioni analizzati delle struviti ottenute da FORSU mostrano che i picchi principali si trovano alle stesse posizioni angolari (2θ) per tutti i campioni, suggerendo che la struttura cristallina della struvite è mantenuta indipendentemente dalle proporzioni N:P:Mg. Inoltre, la similarità nei pattern di diffrazione conferma che i campioni sintetizzati sono conformi alla struttura cristallina della struvite.

L'intensità dei picchi varia leggermente tra i diversi campioni, il che potrebbe riflettere differenze nella cristallinità o nell'ordine a lungo raggio dei cristalli formati.

Questi segnali indicano quindi che è stato possibile ottenere struvite di qualità dai digestati di FORSU.

Infine, è stata analizzata la composizione chimica del digestato post precipitazione della struvite.

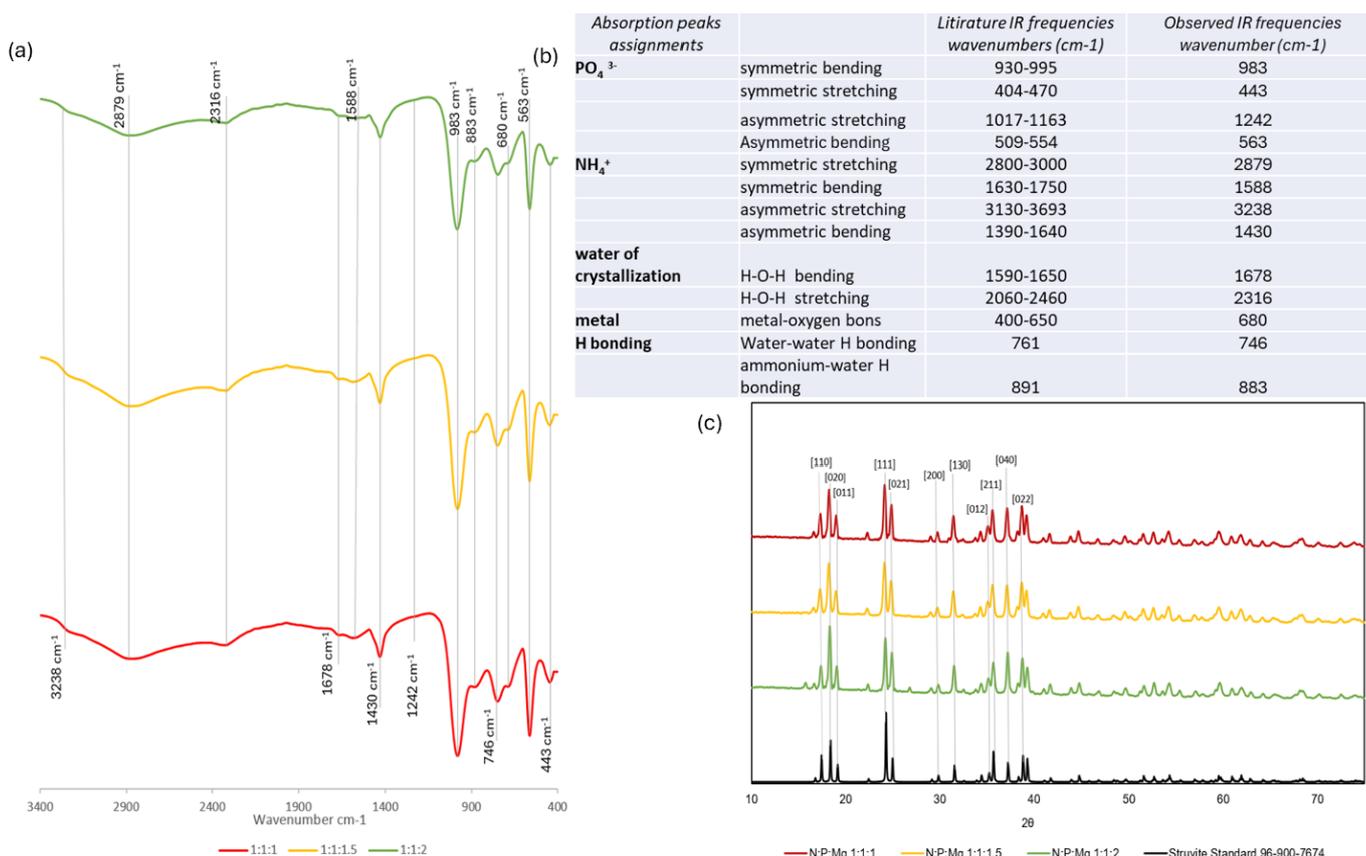


Figura 38: Analisi fatte con la spettroscopia XRD e FT-IR. Lo spettro in figura a) riporta l'assorbimento specifico della struvite in funzione della lunghezza d'onda, nella tabella b) è possibile identificare i principali picchi d'assorbimento caratteristici della struvite. La figura c) rappresenta i segnali dei piani cristallini riconducibili alla struvite ottenuti attraverso analisi XRD.

Il grafico in figura 39 riporta le analisi chimiche effettuate alla frazione liquida del digestato, svolte dopo la precipitazione di struvite tenendo conto dei reagenti usati. In particolare, è possibile vedere come l'efficienza di recupero di P, NH_4^+ e Mg sia migliore con struviti di rapporto 1:1:2. Si ottengono comunque buoni risultati anche dagli altri rapporti.

Questa prova è stata particolarmente importante per controllare che non ci fossero perdite di nutrienti all'interno del digestato. La struvite precipitata è stata in grado di far precipitare gli elementi aggiunti. L'analisi ha anche permesso di monitorare la frazione liquida del digestato e di garantire che non vi fossero valori al di sopra dei limiti di legge.

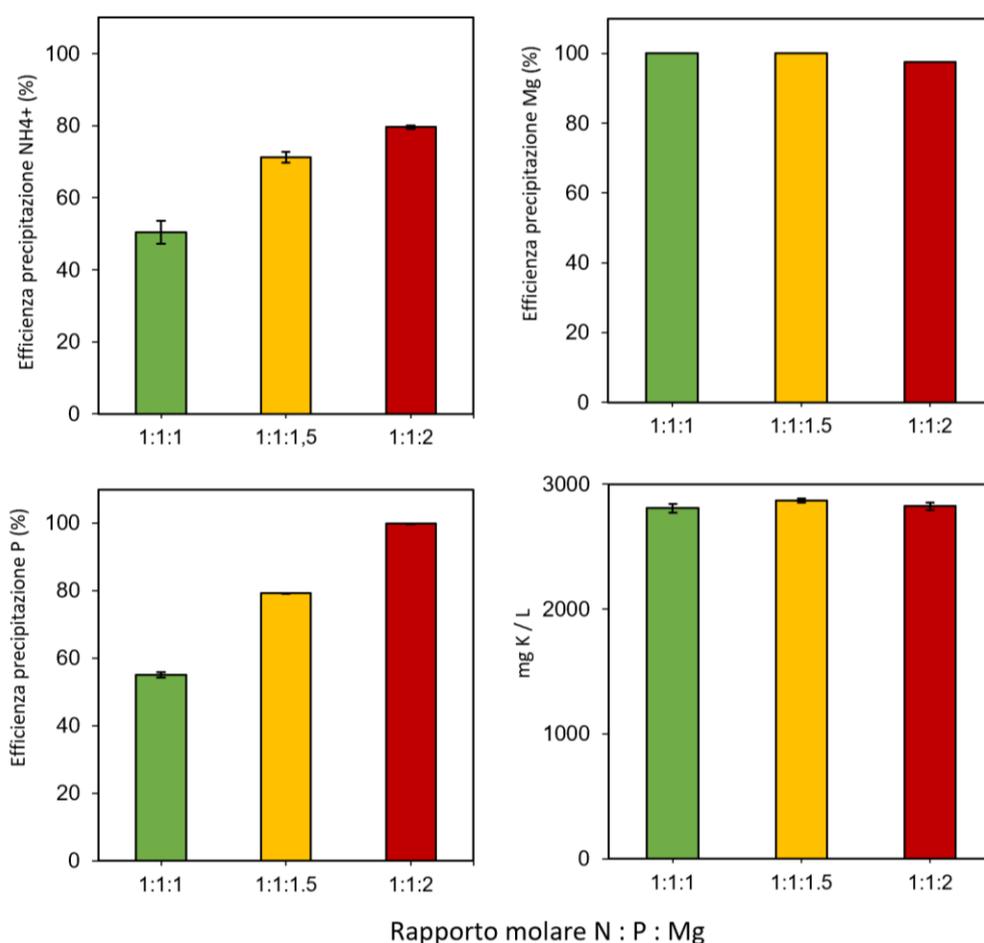


Figura 39: Analisi effettuate sulla frazione liquida del digestato dopo precipitazione di struvite.

Struvite da letame-liquame

Vengono ora presentati i risultati delle prove di caratterizzazione della struvite e le analisi del digestato proveniente dal liquame e letame. Si fa presente che essendo un substrato diverso rispetto alla FORSU, abbiamo provato ad effettuare la precipitazione anche a un tempo di 3 ore per il rapporto 1:1:1, e modificando le quantità di Mg e di P, grafico 18.

Anche in questo caso come riporta la figura 40, possiamo confermare di aver ottenuto struvite con valori di nutrienti simili a quelli teorici. Particolare importanza viene fatta alla % di C, che è decisamente maggiore rispetto a quella teorica. Gli altri elementi hanno però un andamento adeguato. Molto interessante è vedere come cambia la composizione tra struvite ottenuta in 1h e 3h, soprattutto per quanto riguarda il valore di C e Mg e K.

Essendo un refluo totalmente diverso dalla FORSU è corretto e curioso vedere come variano le concentrazioni dei nutrienti.

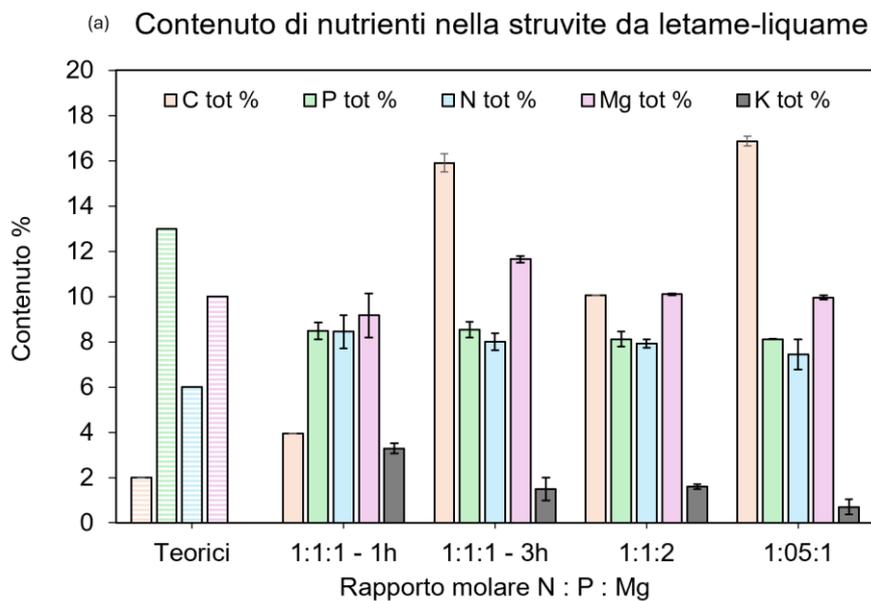


Figura 40: Nella figura a) è riportato il contenuto % in nutrienti (C, P, N, Mg e K) della struvite precipitata.

Di seguito le immagini al SEM e gli spettri XRD e FT-IR della struvite ottenuta (figura 41).

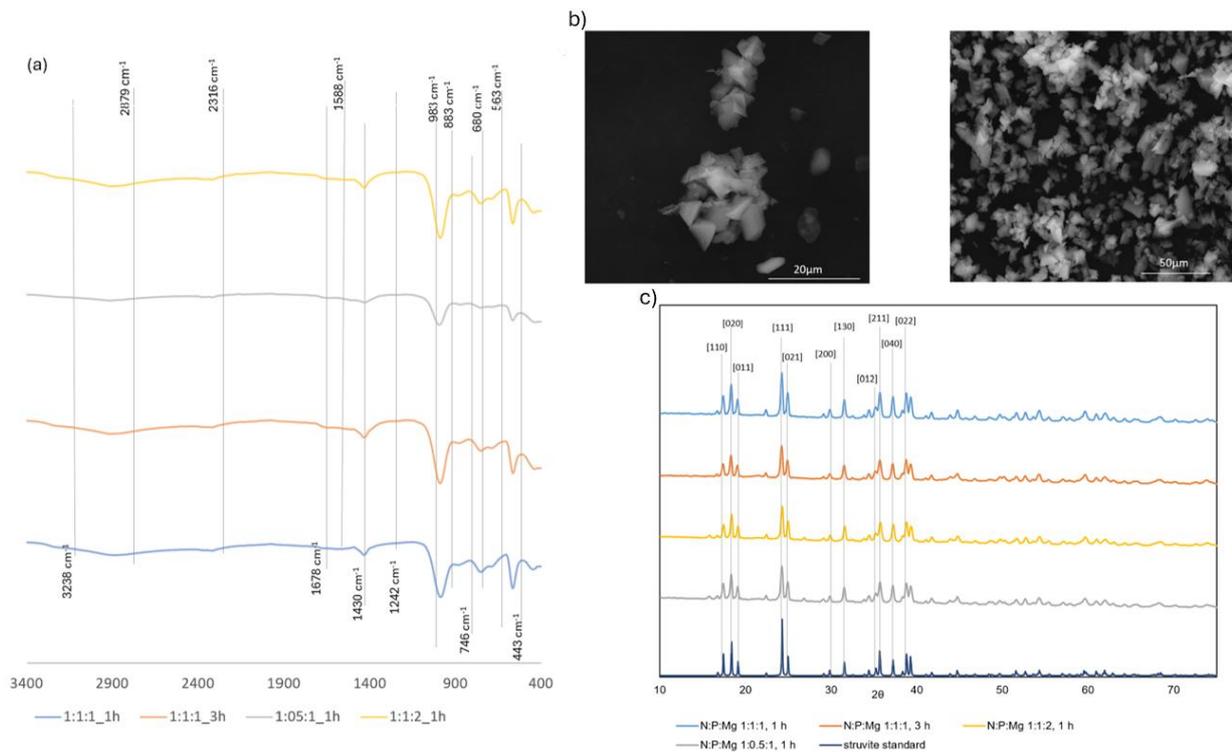


Figura 41: caratterizzazione strutturale della struvite da letame-liquame. Lo spettro in figura a) riporta l'assorbimento specifico della struvite in funzione della lunghezza d'onda. Nella figura b) sono riportate le immagini al SEM della struvite precipitata. La figura c) rappresenta i segnali dei piani cristallini riconducibili alla struvite ottenuti attraverso analisi XRD.

Lo spettro a) in figura 41 riporta l'assorbimento specifico della struvite in funzione della lunghezza d'onda; è possibile identificare i principali picchi d'assorbimento caratteristici della struvite, in particolare le lunghezze d'onda dei picchi che sono riconducibili alle lunghezze d'onda dei gruppi PO_4^{3-} e NH_4^+ e dell'acqua (vedi tabella in figura 38 b).

Per il PO_4^{3-} è possibile identificare il segnale del δ_s a 983 cm^{-1} e il δ_a a 563 cm^{-1} . Sempre legato al PO_4^{3-} è presente il segnale vs a 443 cm^{-1} e v as a 1242 cm^{-1} . Per quanto riguarda NH_4^+ è stato possibile identificare il segnale δ_a a 1430 cm^{-1} , vs a 2879 cm^{-1} e vs 3238 cm^{-1} . A 1678 cm^{-1} e 2316 cm^{-1} è presente il segnale di bending e di stretching dell' H_2O , ovvero l'acqua di cristallizzazione presente all'interno del cristallo.

Infine, sono stati individuati i segnali del legame idrogeno $\text{H}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}$ e $\text{NH}_3-\text{H}_2\text{O}$ a 746 cm^{-1} e 883 cm^{-1} .

L'analisi XRD mostrata con il grafico presente nella figura 38 c) riporta i pattern di diffrazione della struvite ottenuta dalla precipitazione confrontata con quella standard.

Tutti i campioni analizzati delle struviti ottenute da FORSU mostrano che i picchi principali si trovano alle stesse posizioni angolari (2θ) per tutti i campioni, suggerendo che la struttura cristallina della struvite è mantenuta indipendentemente dalle proporzioni N:P:Mg. Inoltre, la similarità nei pattern di diffrazione conferma che i campioni sintetizzati sono conformi alla struttura cristallina della struvite.

La figura 41 c) rappresenta i segnali dei piani cristallini riconducibili alla struvite ottenuti attraverso analisi XRD. In particolare, rispetto alle immagini della struvite da FORSU si vede che i cristalli sono più disomogenei e non hanno una struttura cristallina ben precisa. La figura 41 c) riporta i piani cristallini della struvite ottenuta

e si può vedere che sono simili a quelli presenti nella struvite standard. I due spettri confermano quindi che il precipitato è struvite.

Anche per la frazione liquida del digestato di letame-liquame si è provveduto ad analizzare la rimozione di NH_4^+ , P, Mg e la concentrazione di K come mostrato in figura 42. In generale vi è stato un totale recupero di Mg. Buone percentuali di recupero di nutrienti si sono ottenute con struvite precipitata con rapporto 1:1:2. La struvite ottenuta con rapporti 1:1:1 per 3 ore ha riportato elevate quantità di K all'interno della frazione liquida.

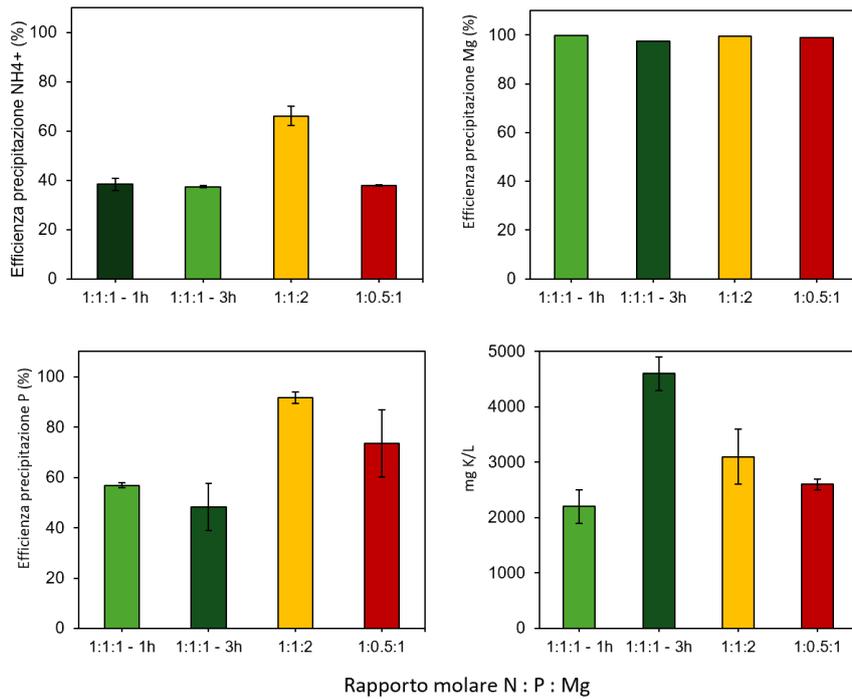


Figura 42: analisi effettuate sul digestato liquido dopo precipitazione di struvite.

3.5. Cinetica di rilascio di fosforo della struvite

Prove di rilascio di P in ambiente acquoso

La cinetica di rilascio di P è stata confrontata con quella di un fertilizzante a lento rilascio (Osmocote) e uno a rapido rilascio $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$. Dal seguente grafico (figura 43) è possibile vedere come la struvite da FORSU segua un andamento simile al fertilizzante minerale $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ a rapido rilascio, mentre la struvite da letame ha un andamento riconducibile ad un fertilizzante a lento rilascio di P, come OSMOCOTE.

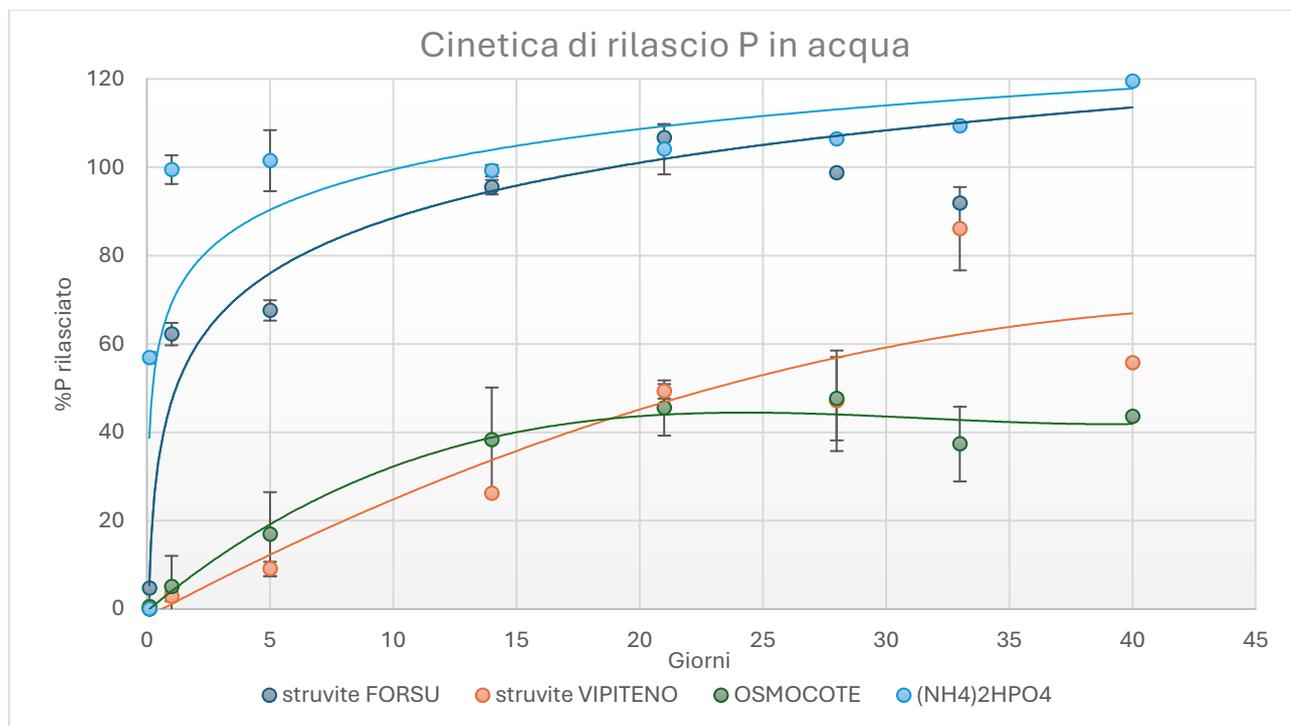


Figura 43: rilascio di P nel tempo.

Controllando il pH al termine delle prove di rilascio di P si è vista una differenza tra il pH della struvite da FORSU e quella da letame-liquame. Questo ci ha portato a testare uno studio di rilascio di P a diverse condizioni di pH.

Prove di rilascio di P a diversi pH

L'obiettivo è quello di valutare la differenza di solubilizzazione della struvite a differenti pH. Le soluzioni sono state tamponate a pH 5, 6, 7 e 8 in quanto i suoli hanno un pH che solitamente varia da 5 a 8 (TALBOYS et al., 2016; VALLE et al., 2022).

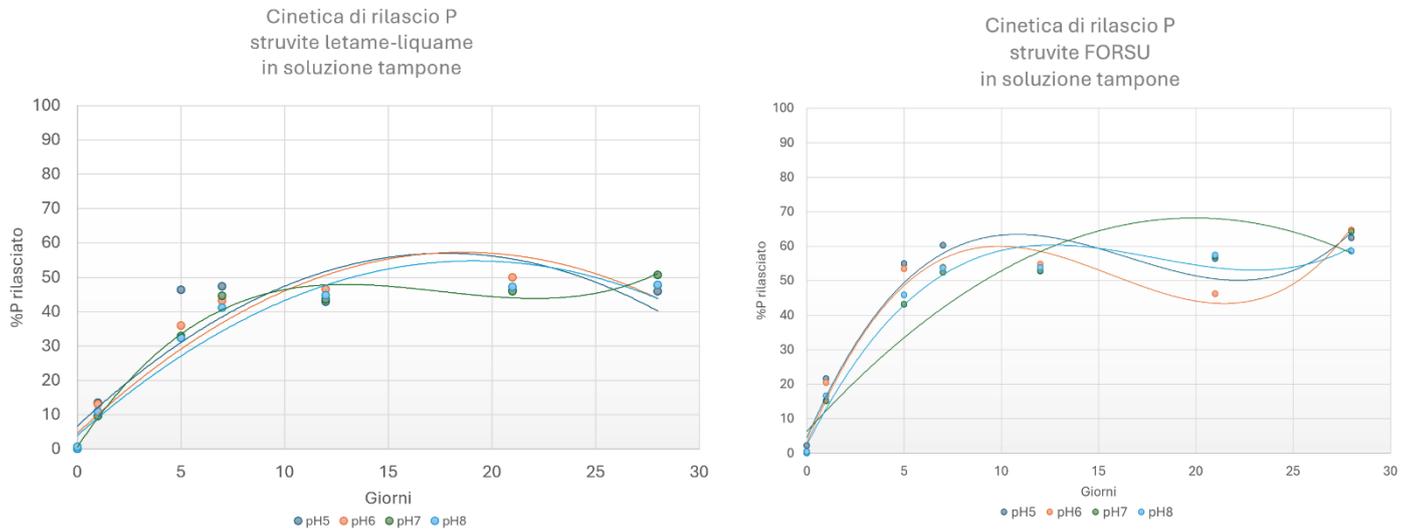


Figura 44: rilascio di P nel tempo.

Il grafico in figura 43 dimostra che la cinetica di rilascio di P dalla struvite è comparabile a quella di un fertilizzante a lento rilascio (Osmocote). Le prove di rilascio a diverso pH hanno confermato la variabilità della solubilità della struvite. Il rilascio di P è più rapido in ambiente acido e rallenta all'aumentare del valore di pH. Come riportato nella figura 45, è corretto osservare una maggiore solubilizzazione della struvite a pH acidi (vedi figura 44). È possibile vedere dal grafico come cambiano gli ioni in soluzione in base al pH.

NH_4^+ diminuisce all'aumentare del pH, mentre la frazione di PO_4^{3-} aumenta con il pH. Mg^{2+} ha una frazione di dissociazione relativamente costante su un ampio intervallo di valori di pH prima di diminuire a pH più elevati.

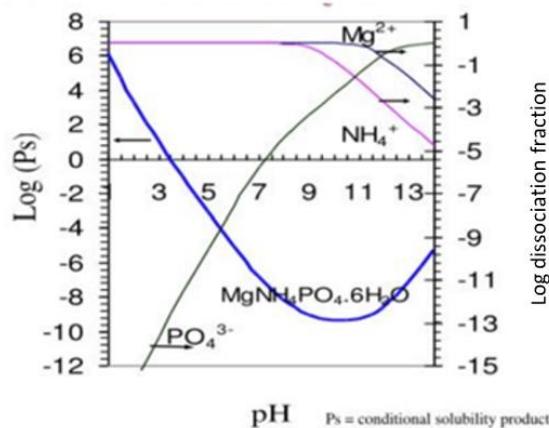


Figura 45: curve logaritmiche del prodotto di solubilità della struvite a differenti valori di pH. che riportano la solubilizzazione della struvite. Inoltre, sono riportati i diversi in soluzione (Mg^{2+} , NH_4^+ e PO_4^{3-}) nell'intervallo di pH.

4. Discussione dei risultati

Confrontando i pretrattamenti effettuati per ridurre il contenuto di P nella frazione solida e trasferirlo alla fase liquida, si evidenzia una maggiore efficacia della cavitazione e della miscela commerciale USC4 rispetto all'azione enzimatica della fitasi e della fosfatasi, figura 46.

L'USC4 potrebbe aver idrolizzato la componente polimerica delle matrici organiche rendendo più accessibili i legami fosfoesterei per l'idrolisi da parte di fitasi e fosfatasi. La cavitazione idrodinamica, attraverso le microcavitazioni locali, ha portato all'aumento della superficie di contatto, oltre a scindere i principali legami C-C e C-P, frammentando così la struttura organica di partenza e idrolizzando i polimeri che costituiscono le due biomasse. Anche il fattore tempo influisce statisticamente sulla solubilizzazione di P dalla frazione solida a quella liquida. Questo fatto è positivo considerando le tempistiche della DA, nella quale la materia organica subisce degradazione e può portare ad un aumento del fosforo solubile.

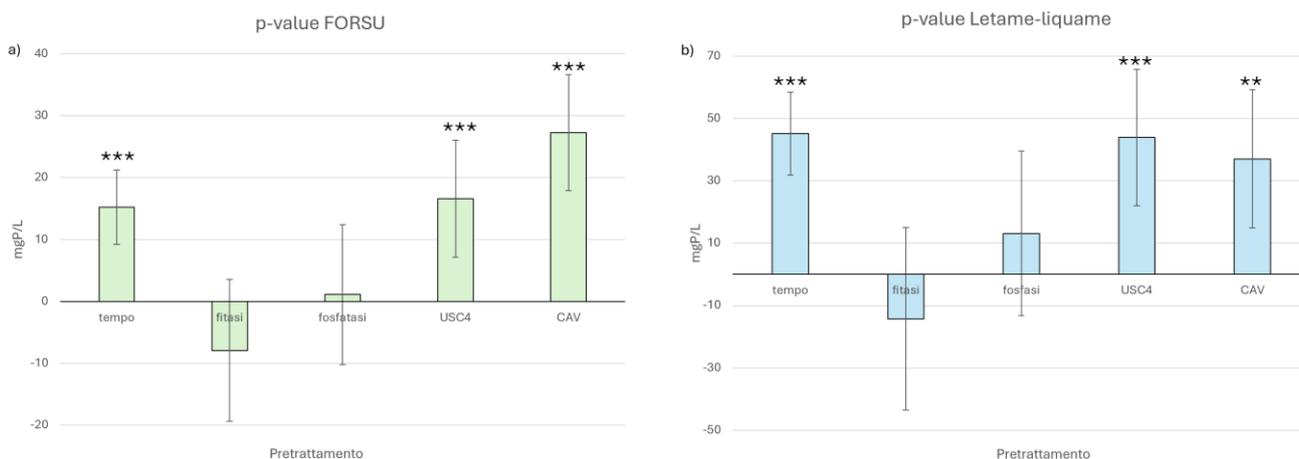


Figura 46: analisi ANOVA pretrattamenti di cavitazione a) FORSU b) letame-liquame.

La differenza tra gli effetti di fitasi e fosfatasi non è risultata statisticamente significativa anche se è possibile vedere una tendenza nei risultati sperimentali. È possibile notare come al giorno 4 per entrambe le biomasse

i pretrattamenti con combinazione di enzimi hanno decisamente implementato il rilascio di P rispetto ai trattamenti singoli (figura 28 e 31). Il pretrattamento fosfatasi e USC4 risulta particolarmente efficace sulla miscela letame-liquame cavitata. Ulteriori esperimenti saranno condotti per consolidare questo eccellente risultato.

Le analisi di caratterizzazione delle biomasse di partenza confermano le caratteristiche chimico-fisiche presenti in letteratura (CAMPUZANO; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, 2016; HUANG et al., 2017).

Per quanto riguarda il rapporto N/P possiamo affermare che la biomassa di partenza ha un rapporto abbastanza bilanciato per la corretta assimilazione di N e P da parte della pianta, quindi circa 6:1 (N:P). Il problema nasce con la separazione solido-liquido che crea uno squilibrio tra le 2 frazioni, rendendo il rapporto inadatto all'assimilazione da parte della pianta. In particolare, per la FORSU il rapporto molare N:P è pari a 1650:1; questo comporta l'aggiunta di P in maniera molto consistente per precipitare struvite. La percentuale di TS è pari a 0,6%, quindi idoneo a precipitare struvite pura.

Il letame-liquame ha un rapporto molare N:P pari a 13:1, quindi è necessario aggiungere meno P per precipitare struvite. La frazione liquida però presenta un valore di TS pari a 4,7 %, che comporta la formazione di struvite con più carbonio.

Le prove di precipitazione di struvite hanno permesso di selezionare un rapporto molare N:P:Mg 1:1:2, pH 9 e 1 ora di agitazione come condizioni ottimali.

Il seguente grafico (figura 48a) riporta i risultati dell'analisi elementare della struvite da FORSU e da letame a confronto con la struvite teorica. La quantità di P, N e Mg è paragonabile a quella della struvite teorica per entrambi i prodotti. La struvite da letame presenta un più alto contenuto di K. Questo è sicuramente un valore aggiunto al fertilizzante ottenuto, essendo K un elemento essenziale per la pianta.

La principale differenza composizionale tra struvite da FORSU e struvite da letame è data dal tenore di carbonio. La struvite da FORSU rientra nella classificazione dei fertilizzanti minerali, avendo un contenuto di carbonio inferiore al 3%. La struvite da letame può invece essere considerata un fertilizzante organo-minerale, per cui i limiti di legge vanno da 7,5 a 20% di C.

Il fatto che la struvite da letame contenga più carbonio, rispetto alla struvite da FORSU è dovuto al diverso contenuto di materia organica nel substrato di partenza. La frazione liquida del digestato di letame è infatti più ricca di sostanza organica, che può precipitare insieme al fosforo in forma di struvite.

La problematica principale dell'avere più carbonio riguarda il rischio di avere un materiale putrescibile. La struvite da letame ha comunque mostrato buona stabilità nel tempo e non ha rilasciato odori sgradevoli.

La percentuale elevata di materia organica può inoltre influenzare lo studio della cinetica di rilascio di P dalla struvite (figura 48). Essendo parte del P legato a molecole organiche di varia dimensione, la loro cinetica di passaggio attraverso la membrana di dialisi potrebbe variare. Inoltre, l'analisi colorimetrica quantifica l'ortofosfato, ma non altre molecole organiche contenenti P. Sarebbe quindi interessante analizzare il P rilasciato con ICP previa digestione acida, per quantificare non solo il P inorganico ma anche quello organico.

Per quanto riguarda le fonti aggiunte (MgO e KH_2PO_4), per ottenere il corretto rapporto molare, possiamo confermare che si ha avuto un recupero efficace per entrambe le struviti nelle condizioni 1:1:2.

Le immagini SEM (48 a e b) mostrano cristalli di dimensione omogenea per entrambe le struviti prodotte. I cristalli di struvite da FORSU hanno dimensione maggiore (15-20 μm) rispetto a quelli di struvite da letame (5-10 μm). Queste immagini SEM sono state confrontate con presenti in letteratura (HA et al., 2023; OLIVEIRA et al., 2016; RAHMAN et al., 2014).

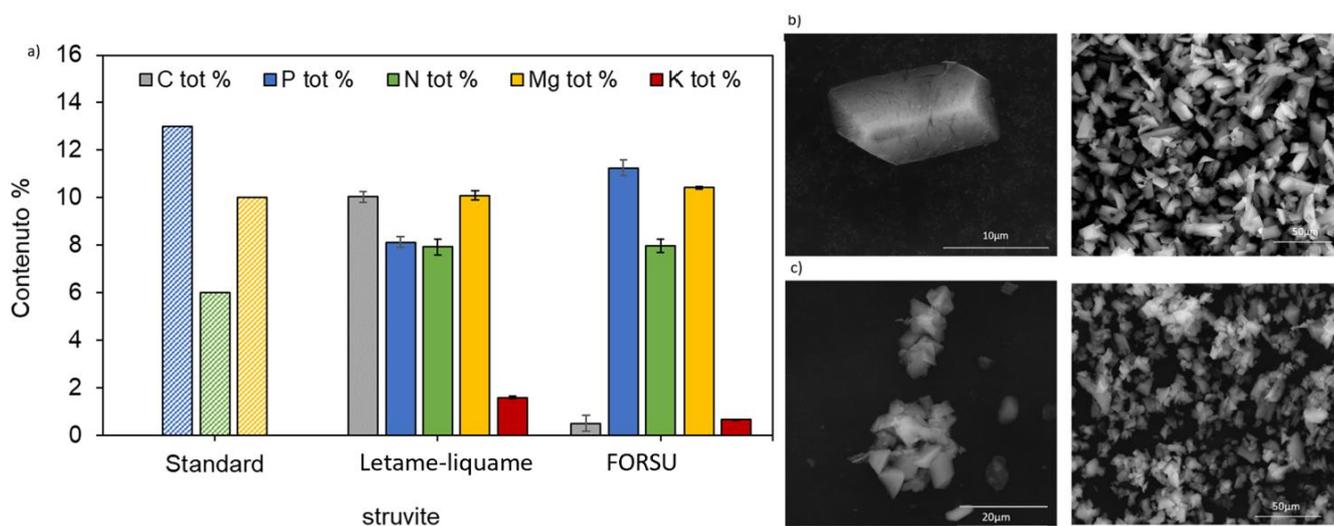


Figura 47: a) confronto tra struvite teorica, struvite FORSU e struvite letame-liquame. b) immagini SEM struvite FORSU, c) Immagine SEM struvite letame-liquame e c) confronto della composizione elementare di diverse struviti.

A livello strutturale è possibile notare, negli spettri della figura 25, che l'analisi con XRD riporta i segnali dei piani cristallini riconducibili alla struvite standard. Naturalmente hanno intensità differenti in funzione della purezza del cristallo ottenuto. Gli spettri XRD ottenuti sono confrontabili con quelli presenti in articoli di ricerca simili (HA et al., 2023; PEPÈ SCIARRIA et al., 2023) risultando coerenti.

Per quanto riguarda invece l'analisi FT-IR (fig 25b) sono presenti le principali lunghezze d'onda della struvite teorica in funzione dei principali gruppi funzionali presenti. Questo conferma l'alta purezza della struvite

ottenuta da entrambe le biomasse. Inoltre, questi spettri sono confrontabili con altri spettri presenti studi simili (LI et al., 2015; SIDORCZUK et al., 2020) ed è stata confermata la qualità della struvite ottenuta.

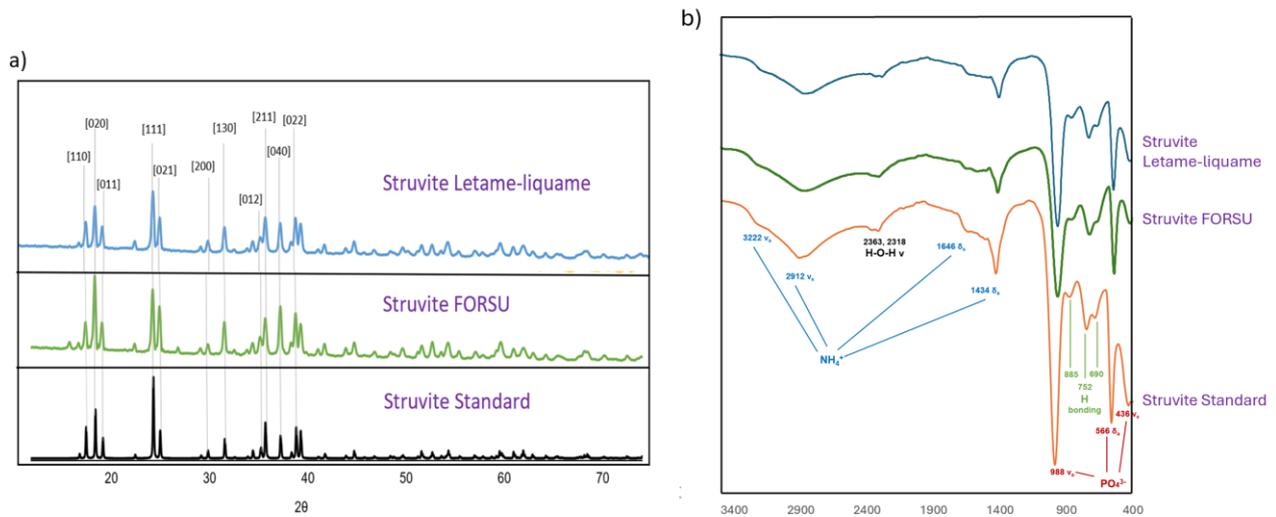


Figura 48: a) analisi XRD e b) FT-IR di struvite da FORSU, da letame e teorica.

Analizzando il grafico 24, che mostra il rilascio di P in acqua nell'arco di 4 settimane della struvite da FORSU e da letame-liquame, possiamo confermare che è a lento rilascio. In particolare, la struvite da letame è molto più simile al fertilizzante commerciale inorganico a lento rilascio e richiede più di 1 mese a rilasciare tutto il fosforo. La struvite da FORSU invece rilascia tutto il P presente in una settimana. Misurando il pH dell'acqua alla fine dell'esperimento, nella soluzione contenente la struvite da FORSU il pH era 7,5 mentre il pH della soluzione con struvite da letame era 8,5. Questo può aver influenzato la cinetica di rilascio di P dai due materiali. Per escludere l'effetto della variazione di pH, l'esperimento è stato replicato in soluzioni a pH tamponato (grafico 44). Questo secondo esperimento ha confermato che il rilascio di P cambia in base al pH.

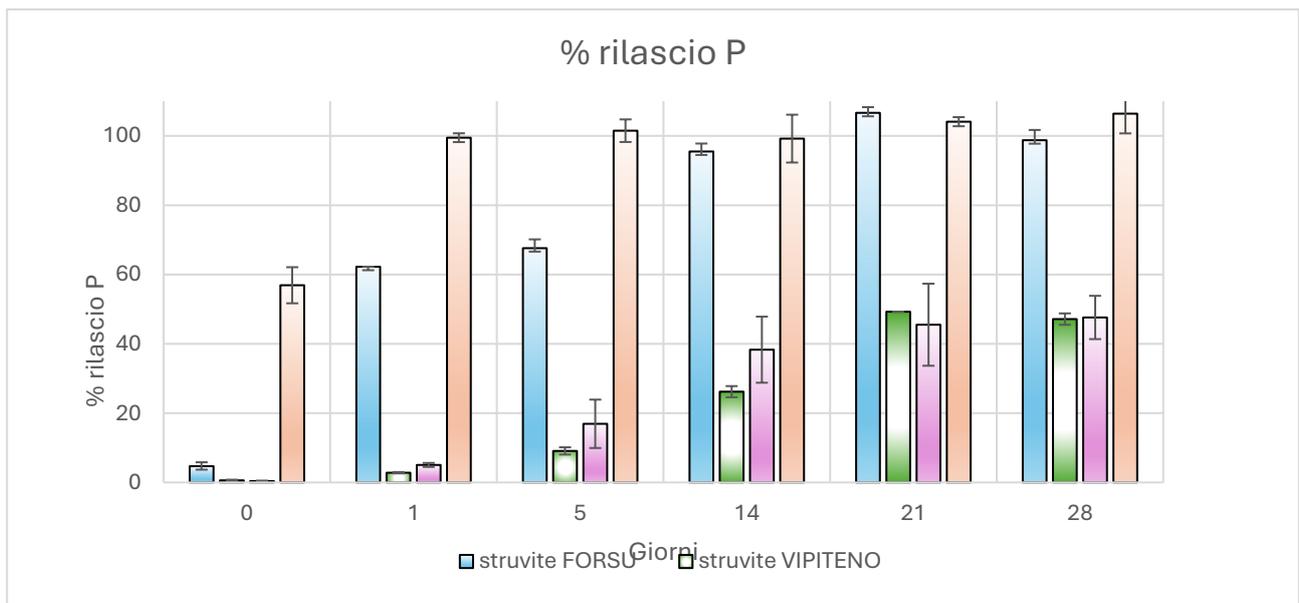


Figura 49: rilascio percentuale di P in acqua da struvite e da due fertilizzanti commerciali (osmocote a lento rilascio di P).

5. Conclusioni e sviluppi futuri

Il recupero di nutrienti attraverso la precipitazione di struvite da biomasse di scarto, FORSU e reflui zootecnici, ha permesso di ottenere una struvite con ottime caratteristiche chimico-fisiche, paragonabile a quelle ottenute da altri reflui ma soprattutto confrontabile con le caratteristiche della struvite teorica.

Interessante è stato il fatto che in base alla biomassa usata si sono ottenute due struviti differenti, in particolare è stato possibile ottenere un prodotto riconducibile alle caratteristiche di un fertilizzante minerale (struvite ottenuta da FORSU) e di un fertilizzante organo-minerale (struvite ottenuta da letame-liquame).

La struvite ottenuta è a lento rilascio di fosforo, un aspetto importante per ottimizzare l'assorbimento da parte delle piante e ridurre le perdite di nutriente nell'ambiente. La precipitazione ha permesso un efficiente recupero di nutrienti. La rimozione di più del 50% di ammonio dalla frazione liquida del digestato di FORSU. Questo potrebbe incentivare le aziende che si occupano del trattamento di acque reflue e di gestione delle biomasse ad adottare il processo per diminuire il tenore d'ammonio nel refluo garantendo un corretto recupero dei nutrienti ed evitando la costruzione di ulteriori impianti di trattamento.

Nell'ottica dell'economia circolare, si potrebbero valutare nuove fonti di magnesio e fosforo come additivi per la precipitazione. Lavori futuri potrebbero testare come sorgente la magnesite, il bittern marino (sottoprodotto della produzione del sale marino) o l'ossido di magnesio a basso grado di purezza (LGMgO), un sottoprodotto industriale della calcinazione della magnesite. Anche le ceneri dei fanghi di depurazione, particolarmente ricche di P e Mg, possono essere promettenti candidati come fonti alternative.

L'alternativa qui proposta, cioè l'applicazione di pretrattamenti per la solubilizzazione del P, si è rivelata promettente per ridurre l'uso di additivi chimici anche se le fosfatasi hanno un prezzo di mercato che è per ora estremamente elevato, rendendo questo pretrattamento, attualmente, poco sostenibile dal punto di vista economico. Al contrario invece le fitasi hanno un prezzo di mercato molto più accessibile e vengono già utilizzate come additivo alimentare per suini, per cui potrebbero essere introdotte negli impianti di trattamento. Sicuramente è però necessario effettuare un'analisi dei costi (CCA) per verificarne la sostenibilità anche dal punto di vista economico.

Per i pretrattamenti fisici, è importante ottimizzare la cavitazione del letame, cercando di evitare la diluizione della miscela liquame-letame o effettuando la cavitazione solo su una componente. In alternativa, anche il pretrattamento di ultra-sonicazione potrebbe essere preso in considerazione, essendo semplice ed economico.

Questa tesi ha quindi permesso di valutare l'efficacia dei pretrattamenti al fine di aumentare il P disponibile nella frazione liquida e di effettuare una prima ottimizzazione del processo di precipitazione della struvite.

La fase successiva del lavoro svolto in questi mesi prevede di effettuare prove di digestione anaerobica al fine di valutare l'effettiva efficacia dei pretrattamenti sulla composizione del digestato. Le prove di digestione

anaerobica verranno svolte nei mesi di luglio ed agosto 2024 presso il laboratorio del Politecnico di Torino per la FORSU e per il letame-liquame presso il laboratorio DISAFA.

Queste prove permetteranno di valutare l'influenza dei pretrattamenti sulla produzione e qualità del biogas. Sui digestati ottenuti in queste prove verranno condotti esperimenti di precipitazione della struvite.

Per quanto riguarda il processo di precipitazione, sarebbe interessante valutare il passaggio da processo in batch a processo in continuo, tramite un apposito cristallizzatore mostrato in figura 52. Questa transizione è necessaria per ipotizzare la realizzazione di un impianto pilota per la precipitazione di struvite in combinazione a un impianto di digestione anaerobica.

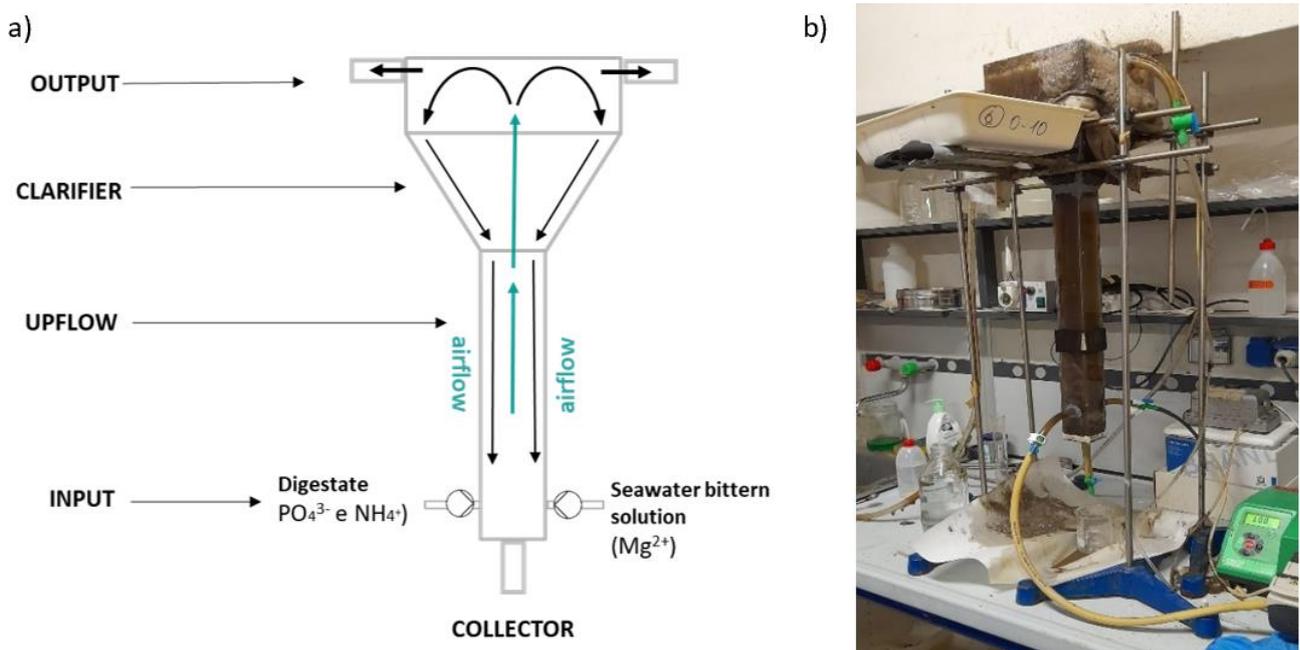


Figura 50: a) schema cristallizzatore in continuo, b) cristallizzatore Università degli studi di Milano

Un altro obiettivo futuro sarebbe quello di testare l'efficacia della struvite come fertilizzante, cercando di valutare anche la capacità biostimolante del prodotto. Per fare questo è necessario effettuare prove in vaso. Importante è anche eseguire test microbiologici sulla struvite ottenuta, considerando che la matrice di partenza è ricca di batteri. Inoltre, sarebbe necessario procedere analizzando il contenuto di metalli pesanti nella struvite precipitata.

Correlato all'utilizzo della struvite, sarà necessario studiare un sistema di pellettizzazione, integrando anche altre sostanze potenzialmente fertilizzanti che permettono di apportare benefici al suolo garantendo una corretta gestione del prodotto (VALLE et al., 2022).

Particolarmente interessante sarebbe effettuare analisi di mercato per la commercializzazione e l'utilizzo della struvite ottenuta. Altrettanto importante, nell'ottica dei principi dell'economia circolare, è condurre un'analisi LCA (Life Cycle Assessment) per valutare l'effettiva ecocompatibilità del processo.

Concludiamo riportando che nel 2020, nell'UE, sono state stimate tra le 990 e le 1250 tonnellate di fosforo recuperato sotto forma di struvite (“Nutrient Management and Nutrient Recovery Thematic Network www.nutriman.net TRAINING MATERIAL TEMATICO Nutrient Management and Nutrient Recovery Thematic Network www.nutriman.net”, 2020). Questi numeri potrebbero aumentare significativamente grazie all'impatto positivo sull'economia circolare e all'interesse da parte di agricoltori e politici. Questa tesi rappresenta un punto di partenza per incrementare il recupero di nutrienti attraverso le biomasse. Inoltre, permette di sviluppare e presentare soluzioni innovative e funzionali alle due aziende con le quali si è collaborato, rispondendo così alle loro esigenze e a quelle globali.

Riferimenti bibliografici

- [1] C. Z. Claudio Ciavatta, Giovanni Gigliotti, Teodoro Miano, Fulvia Tambone, *Biomasse in agricoltura, caratterizzazione e utilizzo sostenibile*, 1st ed. 2022.
- [2] J. Sherwood, "The significance of biomass in a circular economy," *Bioresour Technol*, vol. 300, no. November 2019, 2020, doi: 10.1016/j.biortech.2020.122755.
- [3] CLRTPA, "Assessment Report on Ammonia – 2020," no. November, pp. 1–29, 2020. Available: <https://doi.org/10.1038/s43016-020-0113-y>
- [4] E. Fraccaro, "Agenda 2030, COP27 e COP15: sfide e obiettivi agenda 2030 COP excursus biodiversità Agenda 2030, COP27 e COP15: sfide e obiettivi," *3Bee a world with bees, blog*. Available: <https://blog.3bee.com/agenda-2030-cop27-cop15-sfide-e-obiettivi/>
- [5] United nations, "Department of Economic and Social Affairs Sustainable Development: THE 17 GOALS," 2023. Available: <https://sdgs.un.org/>
- [6] Appunti corso Trattamento dei Reflui e dei Rifiuti. Università degli Studi di Torino. Professoressa Bruzzoniti. Anno accademico 2023/2024
- [7] M. Antar, D. Lyu, M. Nazari, A. Shah, X. Zhou, and D. L. Smith, "Biomass for a sustainable bioeconomy: An overview of world biomass production and utilization," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 139, no. April 2020, p. 110691, 2021, doi: 10.1016/j.rser.2020.110691.
- [8] J. A. Okolie *et al.*, "Waste biomass valorization for the production of biofuels and value-added products: A comprehensive review of thermochemical, biological and integrated processes," *Process Safety and Environmental Protection*, vol. 159, pp. 323–344, 2022, doi: 10.1016/j.psep.2021.12.049.
- [9] J. ROCKSTRÖM, W. STEFFEN, K. NOONE, and S. OWENS, "'A Safe Operating Space for Humanity' (2009)," *The Future of Nature*, vol. 461, no. September, pp. 491–505, 2023, doi: 10.2307/j.ctt5vm5bn.53.
- [10] D. Cordell, J. O. Drangert, and S. White, "The story of phosphorus: Global food security and food for thought," *Global Environmental Change*, vol. 19, no. 2, pp. 292–305, 2009, doi: 10.1016/j.gloenvcha.2008.10.009.
- [11] WBG, "Agricultural Pollution Fertilizer," *World Bank Group*, 2015.
- [12] E. Lucas, B. Kennedy, T. Roswall, C. Burgis, and G. S. Toor, "Climate Change Effects on Phosphorus Loss from Agricultural Land to Water: A Review," *Curr Pollut Rep*, vol. 9, no. 4, pp. 623–645, 2023, doi: 10.1007/s40726-023-00282-7.
- [13] Commissione Europea, "Nutrient recovery from biobased Waste for Fertilizer production," Horizon 2020. Accessed: May 03, 2024. [Online]. Available: <https://cordis.europa.eu/article/id/240120-nutrient-recovery-from-biowaste-for-mineral-fertiliser-production/it>
- [14] CRPA, "Il digestato, un utile sottoprodotto del biogas," *Conoscere per Competere*, vol. 1, pp. 3–6, 2012.
- [15] G. M. et Al., "Effluenti e digestati, la sostenibilità è possibile," *terra è vita*. [Online]. Available: <https://terraevita.edagricole.it/allevamento-zootecnica/effluenti-e-digestati-la-sostenibilita-e-possibile/>
- [16] I. Trinchieri, A. Tridello, "la frazione organica del rifiuto solido urbano, caratterizzazione e gestione" Politecnico di Torino. October, 2023.
- [17] A. Kumar and S. R. Samadder, "Performance evaluation of anaerobic digestion technology for energy recovery from organic fraction of municipal solid waste: A review," *Energy*, vol. 197, p. 117253, 2020, doi: 10.1016/j.energy.2020.117253.
- [18] F. Demichelis, F. Piovano, and S. Fiore, "Biowaste management in Italy: Challenges and perspectives," *Sustainability (Switzerland)*, vol. 11, no. 15, Aug. 2019, doi: 10.3390/su11154213.
- [19] C. M. Braguglia, A. Gallipoli, A. Gianico, and P. Pagliaccia, "Anaerobic bioconversion of food waste into energy: A critical review," *Bioresour Technol*, vol. 248, pp. 37–56, 2018, doi: 10.1016/j.biortech.2017.06.145.
- [20] R. Campuzano and S. González-Martínez, "Characteristics of the organic fraction of municipal solid waste and methane production: A review," *Waste Management*, vol. 54. Elsevier Ltd, pp. 3–12, Aug. 01, 2016. doi: 10.1016/j.wasman.2016.05.016.
- [21] L. Alibardi and R. Cossu, "Composition variability of the organic fraction of municipal solid waste and effects on hydrogen and methane production potentials," *Waste Management*, vol. 36, pp. 147–155, Feb. 2015, doi: 10.1016/j.wasman.2014.11.019.
- [22] V. K. Tyagi, L. A. Fdez-Güelfo, Y. Zhou, C. J. Álvarez-Gallego, L. I. R. Garcia, and W. J. Ng, "Anaerobic co-digestion of organic fraction of municipal solid waste (OFMSW): Progress and challenges," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 93, no. May, pp. 380–399, 2018, doi: 10.1016/j.rser.2018.05.051.

- [23] G. Provolò, "GESTIONE SOSTENIBILE ED EFFICIENTE DEGLI EFFLUENTI DI ALLEVAMENTO PER LA FERTILIZZAZIONE DELLE COLTURE," Fondo Europeo per lo sviluppo Rurale (2014-2020). [Online]. Available: <https://costruzionirurali.unimi.it/geseffe/>
- [24] J. Köninger, E. Lugato, P. Panagos, M. Kochupillai, A. Orgiazzi, and M. J. I. Briones, "Manure management and soil biodiversity: Towards more sustainable food systems in the EU," *Agric Syst*, vol. 194, no. July, 2021, doi: 10.1016/j.agry.2021.103251.
- [25] P. Balsari and E. Dinuccio, "Gestione e valorizzazione dei reflui zootecnici".
- [26] J. Huang *et al.*, "Chemical structures and characteristics of animal manures and composts during composting and assessment of maturity indices," *PLoS One*, vol. 12, no. 6, pp. 1–16, 2017, doi: 10.1371/journal.pone.0178110.
- [27] F. Cecchi, P. Battistoni, P. Pavan, D. Bolzanella, and L. Innocenti, "Digestione anaerobica della frazione organica dei rifiuti solidi," *APAT: Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici*, p. 178, 2005.
- [28] J. Campelo, "Handbook of Biofuels Production: Processes and Technologies," *Rafael Luque, and James, Sr. Clark, Elsevier Science & Technology*, 2010.
- [29] Politecnico di Torino, "Life Cycle Assessment della bioraffineria sequenziale: digestione anaerobica e pirólisi" Savarino Dalila Maria, Tommasi Tonia, Demichelis Francesca, Deorsola Fabio Alessandro. Ottobre, 2023.
- [30] F. Liberti *et al.*, "An incubation system to enhance biogas and methane production: A case study of an existing biogas plant in Umbria, Italy," *Processes*, vol. 7, no. 12, 2019, doi: 10.3390/PR7120925.
- [31] H. M. El-Mashad, G. Zeeman, W. K. P. Van Loon, G. P. A. Bot, and G. Lettinga, "Effect of temperature and temperature fluctuation on thermophilic anaerobic digestion of cattle manure," *Bioresour Technol*, vol. 95, no. 2, pp. 191–201, 2004, doi: 10.1016/j.biortech.2003.07.013.
- [32] A. Hilkiyah Igoni, M. J. Ayotamuno, C. L. Eze, S. O. T. Ogaji, and S. D. Probert, "Designs of anaerobic digesters for producing biogas from municipal solid-waste," *Appl Energy*, vol. 85, no. 6, pp. 430–438, 2008, doi: 10.1016/j.apenergy.2007.07.013.
- [33] S. Mirmohamadsadeghi, K. Karimi, M. Tabatabaei, and M. Aghbashlo, "Biogas production from food wastes: A review on recent developments and future perspectives," *Bioresour Technol Rep*, vol. 7, no. March, p. 100202, 2019, doi: 10.1016/j.biteb.2019.100202.
- [34] H. Chen, H. Yi, H. Li, X. Guo, and B. Xiao, "Effects of thermal and thermal-alkaline pretreatments on continuous anaerobic sludge digestion: Performance, energy balance and, enhancement mechanism," *Renew Energy*, vol. 147, pp. 2409–2416, 2020, doi: 10.1016/j.renene.2019.10.051.
- [35] S. Luste, H. Heinonen-Tanski, and S. Luostarinen, "Co-digestion of dairy cattle slurry and industrial meat-processing by-products - Effect of ultrasound and hygienization pre-treatments," *Bioresour Technol*, vol. 104, pp. 195–201, 2012, doi: 10.1016/j.biortech.2011.11.003.
- [36] S. Panigrahi and B. K. Dubey, "A critical review on operating parameters and strategies to improve the biogas yield from anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste," *Renew Energy*, vol. 143, pp. 779–797, 2019, doi: 10.1016/j.renene.2019.05.040.
- [37] J. Kainthola, A. S. Kalamdhad, and V. V. Goud, "A review on enhanced biogas production from anaerobic digestion of lignocellulosic biomass by different enhancement techniques," *Process Biochemistry*, vol. 84, no. May, pp. 81–90, 2019, doi: 10.1016/j.procbio.2019.05.023.
- [38] T. Weide, C. D. Baquero, M. Schomaker, E. Brüggling, and C. Wetter, "Effects of enzyme addition on biogas and methane yields in the batch anaerobic digestion of agricultural waste (silage, straw, and animal manure)," *Biomass Bioenergy*, vol. 132, no. November 2019, 2020, doi: 10.1016/j.biombioe.2019.105442.
- [39] H. Carrere *et al.*, "Review of feedstock pretreatment strategies for improved anaerobic digestion: From lab-scale research to full-scale application," *Bioresour Technol*, vol. 199, pp. 386–397, 2016, doi: 10.1016/j.biortech.2015.09.007.
- [40] S. Astals, M. Martínez-Martorell, S. Huete-Hernández, V. B. Aguilar-Pozo, J. Dosta, and J. M. Chimenos, "Nitrogen recovery from pig slurry by struvite precipitation using a low-cost magnesium oxide," *Science of the Total Environment*, vol. 768, 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.144284.
- [41] M. R. Atelge *et al.*, "A critical review of pretreatment technologies to enhance anaerobic digestion and energy recovery," *Fuel*, vol. 270, no. March, p. 117494, 2020, doi: 10.1016/j.fuel.2020.117494.
- [42] M. Dular *et al.*, "Use of hydrodynamic cavitation in (waste)water treatment," *Ultrason Sonochem*, vol. 29, pp. 577–588, 2016, doi: 10.1016/j.ultsonch.2015.10.010.
- [43] O. Parthiba Karthikeyan, E. Trabaly, S. Mehariya, N. Bernet, J. W. C. Wong, and H. Carrere, "Pretreatment of food waste for methane and hydrogen recovery: A review," *Bioresour Technol*, vol. 249, pp. 1025–1039, Feb. 2018, doi: 10.1016/j.biortech.2017.09.105.

- [44] N. Habashi, N. Mehrdadi, A. Mennerich, A. Alighardashi, and A. Torabian, "Hydrodynamic cavitation as a novel approach for pretreatment of oily wastewater for anaerobic co-digestion with waste activated sludge," *Ultrason Sonochem*, vol. 31, pp. 362–370, 2016, doi: 10.1016/j.ultsonch.2016.01.022.
- [45] Wikipedia Contributors, "Struvite", Wikipedia, The Free Encyclopedia. Available: <https://en.wikipedia.org/wiki/Struvite> (april 2024)
- [46] Contributor di Wikipedia, "Struvite", Wikipedia, L'enciclopedia libera. Available: <https://it.wikipedia.org/w/index.php?title=Struvite&oldid=134319986> (aprile 2024).
- [47] Q. Guan *et al.*, "A review of struvite crystallization for nutrient source recovery from wastewater," *J Environ Manage*, vol. 344, no. June, p. 118383, 2023, doi: 10.1016/j.jenvman.2023.118383.
- [48] S. F. Valle, A. S. Giroto, V. Dombinov, A. A. Robles-Aguilar, N. D. Jablonowski, and C. Ribeiro, "Struvite-based composites for slow-release fertilization: a case study in sand," *Sci Rep*, vol. 12, no. 1, pp. 1–14, 2022, doi: 10.1038/s41598-022-18214-8.
- [49] M. M. Rahman, M. A. M. Salleh, U. Rashid, A. Ahsan, M. M. Hossain, and C. S. Ra, "Production of slow release crystal fertilizer from wastewaters through struvite crystallization - A review," *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 7, no. 1, pp. 139–155, 2014, doi: 10.1016/j.arabjc.2013.10.007.
- [50] F. Corona, D. Hidalgo, J. M. Martín-Marroquín, and E. Meers, "Study of pig manure digestate pre-treatment for subsequent valorisation by struvite," *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 28, no. 19, pp. 24731–24743, 2021, doi: 10.1007/s11356-020-10918-6.
- [51] M. Muys *et al.*, "A systematic comparison of commercially produced struvite: Quantities, qualities and soil-maize phosphorus availability," *Science of the Total Environment*, vol. 756, p. 143726, 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.143726.
- [52] A. Amann, O. Zoboli, J. Krampe, H. Rechberger, M. Zessner, and L. Egle, "Risorse, conservazione e riciclaggio," 2017.
- [53] IREN Spa "Impianto di compostaggio anaerobico di Cairo Montenotte, Savona" Available: <https://www.gruppoiren.it/it/i-nostri-servizi/ambiente/impianti-e-ciclo-dei-rifiuti/recupero-materia.html?tab=9>,
- [54] IREN, "relazione tecnica gestione impianto Cairo Montenotte" Mario Lo Pinto, Luca Poletti.
- [55] Mullin J. W., *crystallization*, 4th editio. 2001.
- [56] D. Erdemir, A. Y. Lee, and A. S. Myerson, "Nucleation of crystals from solution: classical and two-step models.," *Acc Chem Res*, vol. 42, no. 5, pp. 621–629, May 2009, doi: 10.1021/ar800217x.
- [57] Politecnico di Torino, "Sintesi di superfici eteronucleanti per la cristallizzazione di farmaci" Alexandre Yuri Kitamukai, Roberto Pisano, Fiora Artusio. Ottobre, 2019.
- [58] N. A. E., *Kinetics of Precipitation*. 1964.
- [59] X. Liu *et al.*, "A comparison on phosphorus release and struvite recovery from waste activated sludge by different treatment methods," *Int Biodeterior Biodegradation*, vol. 148, no. 19, 2020, doi: 10.1016/j.ibiod.2019.104878.
- [60] B. Saerens, S. Geerts, and M. Weemaes, "Phosphorus recovery as struvite from digested sludge – experience from the full scale," *J Environ Manage*, vol. 280, no. November 2020, 2021, doi: 10.1016/j.jenvman.2020.111743.
- [61] European Parliament and of the Council, "Regulation EU 2019/1009," *Official Journal of the European Union*, vol. 170, no. 338, pp. 1–127, 2019.
- [62] "Nutrient Management and Nutrient Recovery Thematic Network www.nutriman.net TRAINING MATERIAL TEMATICO Nutrient Management and Nutrient Recovery Thematic Network www.nutriman.net," no. 818470, pp. 2020–2023, 2020.
- [63] IREN corporate, "Iren e il biometano," 13-03-2022. Accessed: May 27, 2024. Available: <https://www.gruppoiren.it/it/media/comunicati-stampa/2022/iren-e-il-biometano---Una-delle-possibili-fonti-alternative-al-gas-russo.html>
- [64] contributori di Wikipedia, "Iren," Wikipedia, L'enciclopedia libera. Available <https://it.wikipedia.org/wiki/Iren> (marzo2024).
- [65] Iren Spa, "gruppo IREN." Available: <https://www.gruppoiren.it/>
- [66] BiWi, "Biogas Wipptal Srl." Available: <https://www.biwi.it/it/>
- [67] D.I.V.A.P.R.A. - I.P.L.A., *Metodi di analisi dei compost*, 6th ed. Regione Piemonte, assessorato all'ambiente.
- [68] J. P. Murphy, J. and Riley, "A Modified Single Solution Method for the Determination of Phosphate in Natural Waters," *Anal Chim Acta*, vol. 27, 31–36, 1962.

- [69] S. R. Olsene, F. Collins, L. E. Sommers, and W. Lafayette, "Published 1982 24," vol. 9, no. 9, pp. 403–430, 1982.
- [70] L. M. Ohno, T. Zibilske, "Determination of low concentration of phosphorus in soil extracts using malachite green," *Soil Science Society of America Journal*, vol. 55: 892-89, 1991.
- [71] P. J. Talboys, J. Heppell, T. Roose, J. R. Healey, D. L. Jones, and P. J. A. Withers, "Struvite: a slow-release fertiliser for sustainable phosphorus management?" *Plant Soil*, vol. 401, no. 1–2, pp. 109–123, 2016, doi: 10.1007/s11104-015-2747-3.
- [72] V. Oliveira, L. M. Ottosen, J. Labrincha, and C. Dias-Ferreira, "Valorisation of Phosphorus Extracted from Dairy Cattle Slurry and Municipal Solid Wastes Digestates as a Fertilizer," *Waste Biomass Valorization*, vol. 7, no. 4, pp. 861–869, 2016, doi: 10.1007/s12649-015-9466-0.
- [73] T. H. Ha, N. N. N. Mahasti, M. C. Lu, and Y. H. Huang, "Ammonium-nitrogen recovery as struvite from swine wastewater using various magnesium sources," *Sep Purif Technol*, vol. 308, no. December 2022, p. 122870, 2023, doi: 10.1016/j.seppur.2022.122870.
- [74] T. Pepè Sciarria, S. Zangarini, F. Tambone, L. Trombino, S. Puig, and F. Adani, "Phosphorus recovery from high solid content liquid fraction of digestate using seawater bittern as the magnesium source," *Waste Management*, vol. 155, no. November 2022, pp. 252–259, 2023, doi: 10.1016/j.wasman.2022.11.008.