



PAOLO STUFANO^A, DOMENICO CENTRONE^A, MARIA LÓPEZ-ABELAIRAS^B, VITO EMANUELE CAROFIGLIO^A
^AEGGPLANT SRL, POLIGNANO A MARE (BA)
^BIDENER, SEVILLA (ES)
PAOLO@EGGPLANT.IT

ACQUE DI SCARTO COME MATERIA PRIMA PER UNA BIO-ECONOMIA EUROPEA

Un progetto quadriennale con 15 partner coinvolti provenienti da 7 Paesi europei e un budget di 4 M€, co-finanziato dalla Comunità Europea e il consorzio Industriale BIC (Bio-Based Industries Consortium) nel programma H2020-BBI JU (Bio-Based Industries Joint Undertaking), AFTERLIFE mira al completo recupero di valore da acque di scarto della filiera agro-alimentare, attraverso l'isolamento di molecole e additivi naturali e la produzione di bio-plastica, 100% biodegradabile e compostabile.



L'agenda strategica dell'Europa per un posizionamento nel mercato globale coinvolge sempre più frequentemente le tematiche della bio-economia e dell'economia circolare. In questo panorama fioriscono iniziative sinergiche di ricerca privata e pubblica per lo sviluppo e l'adozione su larga scala di soluzioni e tecnologie innovative per la minimizzazione dell'impatto ambientale.

Un esempio virtuoso di tale sinergia è rappresentato dal programma BBI JU (Bio-Based Industries Joint Undertaking), operante nel programma quadro europeo Horizon 2020. L'investimento complessivo dal 2014 al 2020 è di 3,7 miliardi di euro, co-finanziato dalla Comunità Europea per il 27% e per il restante 73% dal BIC (Bio-Based Industries Consortium), un consorzio che conta più di 200 membri, di cui 92 tra grandi, medie e piccole imprese, leader e player chiave nel sistema produttivo europeo [1].

In questo programma l'Italia vanta una forte presenza e partecipazione attiva, di cui è un concreto esempio il progetto AFTERLIFE (*Advanced Filtration TEchnologies for the Recovery and Later conversion of relevant Fractions from wastEwater*) [2]. Il progetto quadriennale, ufficialmente avviato a fine 2017, vede coinvolti 15 partner, 10 piccole-medie imprese e 5 organismi di ricerca, provenienti da 7 diversi Paesi europei (Belgio, Croazia, Finlandia, Germania, Italia, Portogallo e Spagna), con un budget complessivo di circa 4 milioni di euro. Il coordinamento è affidato alla startup pugliese EggPlant Srl, che ha sviluppato e brevettato il processo alla base dell'intero progetto [3].

In Fig. 1 è schematizzato il processo oggetto di AFTERLIFE che sarà applicato ad una gamma diversificata di acque reflue del settore agro-alimentare.

Il processo mira alla massimizzazione del recupero di valore dalla frazione organica delle acque reflue attraverso (i) l'estrazione e la purificazione di molecole target ad alto valore aggiunto (es. antiossidanti, componente proteica), per il loro utilizzo come additivi naturali in diversi settori, e (ii) la produzione di bio-plastica 100% naturale, nello specifico PHA (poli-idrossialcanoati).

Il trattamento iniziale prevede una fase di filtrazione tangenziale a membrana del refluo in input, attraverso step consecutivi di micro-, ultra- e nano-filtrazione/

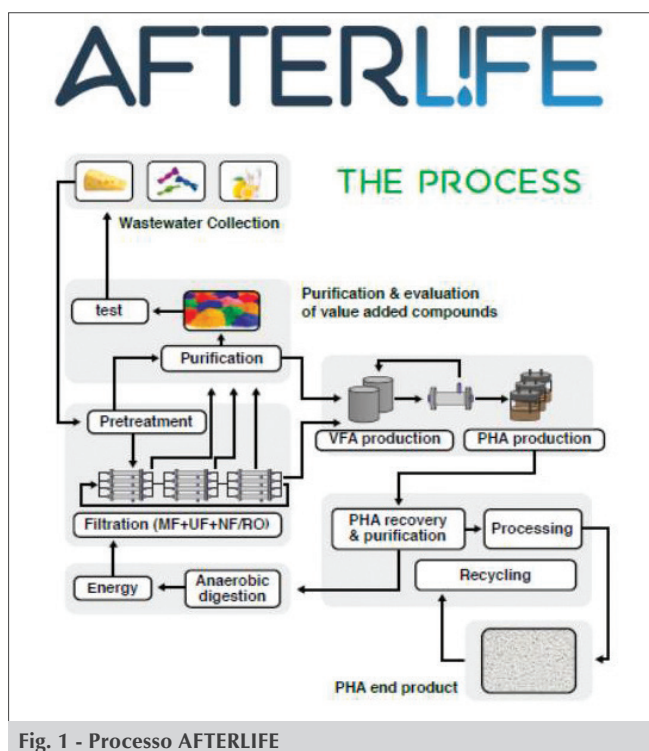


Fig. 1 - Processo AFTERLIFE

osmosi inversa, per il recupero di concentrati di interesse, destinati in parte al recupero di additivi naturali per l'industria alimentare, cosmetica, nutraceutica e cosmeceutica. I concentrati composti prevalentemente da zuccheri, con un peso molecolare relativamente basso, e quindi separati nelle frazioni finali del sistema di filtrazione, vengono utilizzati come materia prima per la produzione di poli-idrossialcanoati (PHA) attraverso una fermentazione batterica.

In un approccio di economia circolare, per un processo idealmente a rifiuti zero, tutta la materia organica intermedia non direttamente valorizzabile secondo le predette strategie, è destinata a digestione anaerobica per la produzione di bio-gas e, in generale, per la generazione di energia utile al processo.

Il progetto AFTERLIFE intende dimostrare efficacemente tale processo attraverso una completa validazione dei risultati su scala laboratorio ed un test pilota per l'ottimizzazione di un design esecutivo di impianto, con una dettagliata valutazione tecno-economica (TEA) e del ciclo di vita dell'intero processo (LCA).

L'ambizione di un processo integrato per la creazione di una nuova catena del valore ha richiesto un approccio multidisciplinare attraverso il coinvolgimento atti-

vo di tutti gli attori interessati ad implementare la nuova filiera produttiva. Di seguito sono forniti maggiori dettagli sulle diverse fasi del processo, oggetto delle diverse attività di progetto, evidenziando l'importanza strategica delle esperienze dei singoli partner, i risultati attesi e l'impatto degli stessi nel contesto economico di riferimento.

Il processo è applicato ad acque di scarto del settore *food & beverage*, terzo per maggior consumo di acqua nei settori manifatturiero-industriali Europei, con circa 5 m³/abitante-anno consumati e più di 3700 milioni di m³ di acque reflue prodotte all'anno (media Eurostat 2003-2011). Il 40% degli investimenti totali in trattamento acque nel settore *food & beverage* è sostenuto dai settori caseario, trasformazione frutta e vegetali e dolciario. Per questa ragione AFTERLIFE utilizza gli scarti prodotti da tre PMI, Heritage 1466, Citromil e Jake, rappresentanti rispettivamente i suddetti settori. Il processo è stato dimostrato con successo in un primo caso-studio partendo da acque di vegetazione, scarto del processo di produzione dell'olio di oliva [4].

Le tecnologie di filtrazione a membrana sono considerate la soluzione più promettente in termini di costo/beneficio per il trattamento primario di reflui liquidi [5]. Il recupero di acqua ultrapura (TOC <50 µg/L; conducibilità <0,055 µS/cm; nitrati <0,2 ppm, carica batterica <10 CFU/100 mL) con un KPI (key performance indicator) target del 70% rappresenta uno degli obiettivi del progetto. Nell'ottimizzazione dei parametri (pressione, flusso, temperatura etc.) e dei materiali (ceramici vs. polimerici, dimensione dei pori, coating anti-fouling etc.) utilizzati nel sistema di filtrazione a membrana, nonché nel pretrattamento dei reflui in input, sono principalmente impegnati il gruppo guidato dalla dott. Kyllonen del centro di ricerca finlandese VTT e il centro tecnologico spagnolo Lurederra. Come le altre, questa prima fase di processo è accompagnata da una puntuale caratterizzazione analitica chimico-fisica sia dei reflui in input che dei concentrati intermedi, che risulta di cruciale importanza per l'intero progetto, soprattutto per l'interazione e lo scambio di informazioni e materiale tra i diversi partner.

Gli intermedi concentrati generati da questa prima fase, simulando i concetti di sistemi a cascata, sono utilizzati come input per le fasi centrali del progetto AFTERLIFE: il recupero di prodotti ad alto valore ag-

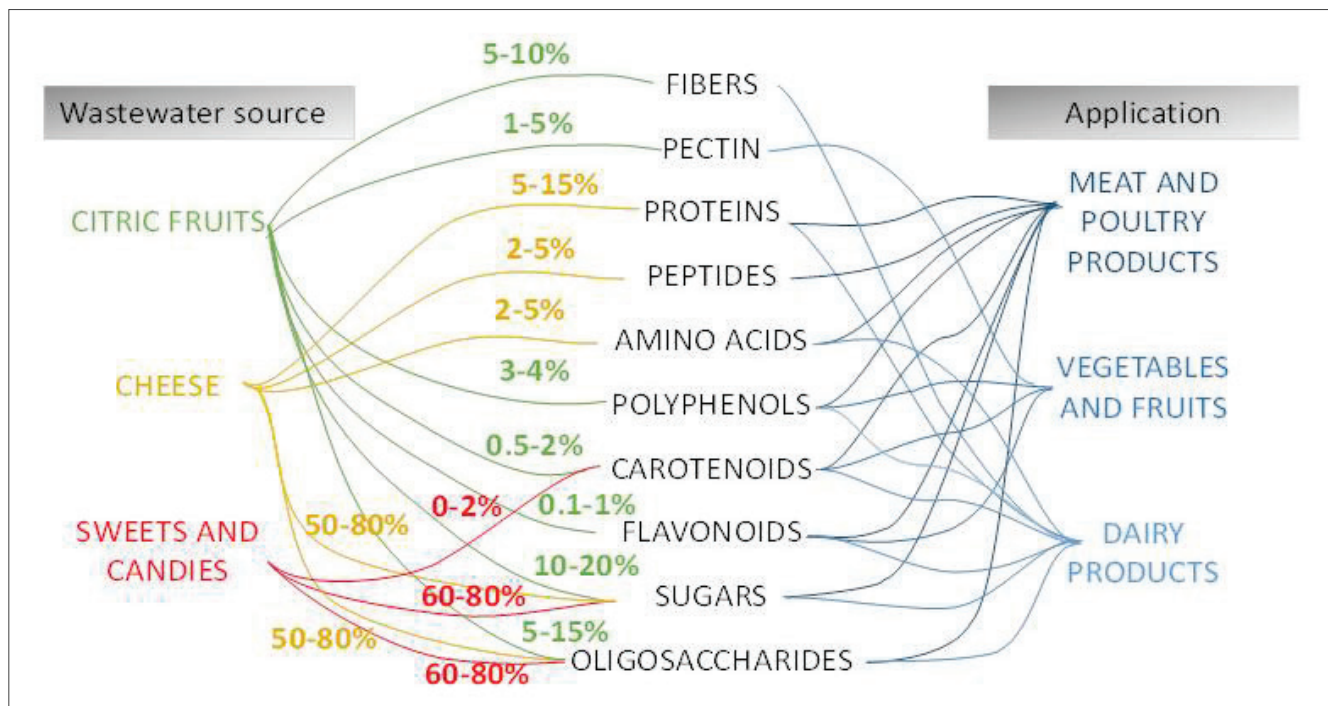


Fig. 2 - Additivi naturali derivati da acque reflue e relative applicazioni

giunto. La prima strategia prevede l'isolamento e la purificazione di molecole di interesse nutraceutico dai concentrati di cui sopra. Il coordinamento e l'impegno principale in tali attività sono affidati alla ventennale esperienza nel settore agro-food della PMI belga Celabor, nel dipartimento "Food Technologies-Extraction", da tempo focalizzato sull'implementazione di tecniche estrattive green per il recupero di molecole e principi attivi naturali. Accanto agli approcci tradizionali, l'estrazione con fluidi supercritici e acqua in condizioni sub-critiche sarà ottimizzata al fine di minimizzare interventi più costosi su larga scala legati all'impiego di resine e tecniche cromatografiche [6, 7]. L'ottimizzazione dei processi estrattivi e la caratterizzazione completa degli estratti naturali è propedeutica ai test *in vitro* e *in vivo* delle proprietà dei prodotti target (es. attività antiossidante e antimicrobica). Questa attività è a cura del centro tecnologico spagnolo CTC, allo scopo di valorizzare le applicazioni degli additivi recuperati soprattutto in ambito alimentare, grazie alla consolidata expertise nel trasferimento tecnologico e nella gestione dell'innovazione nel settore agro-food. I KPI target per l'attività di recupero delle molecole target ad alto valore aggiunto sono un recupero maggiore del 50% con una purezza non inferiore al 90%. Nella

Fig. 2 sono riassunte le potenzialità dei reflui oggetto del progetto AFTERLIFE come materie prime per il recupero di additivi naturali, evidenziando la natura di tali sostanze e la loro applicazione. I composti target possono essere raggruppati nelle macro-categorie di conservanti, antiossidanti come polifenoli e flavonoidi, coloranti, prevalentemente carotenoidi, dolcificanti e integratori alimentari come fibre, proteine, oligo-peptidi e amminoacidi. Le concentrazioni nei reflui di interesse possono essere estremamente variabili, tra 0,1 e 80% in peso [5-7].

A differenza delle altre componenti la strategia di valorizzazione della frazione zuccherina è destinata alla produzione di biopolimeri termoplastici completamente naturali, *i.e.* poli-idrossialcanoati (PHA).

I PHA sono una classe di polimeri naturali accumulati come riserva energetica interna da una moltitudine di specie microbiche. Nel panorama della bio-economia sono considerati un materiale di importanza strategica per la sostituzione delle plastiche più comuni derivate da carbonio fossile, come ad esempio poli-etilene (PE), poli-propilene (PP) e poli-etilentereftalato (PET), sia in applicazioni di massa (es. packaging) che di nicchia (es. bio-medicale, health-care). La prima scoperta dell'accumulo di PHA in alcuni ceppi batterici risa-

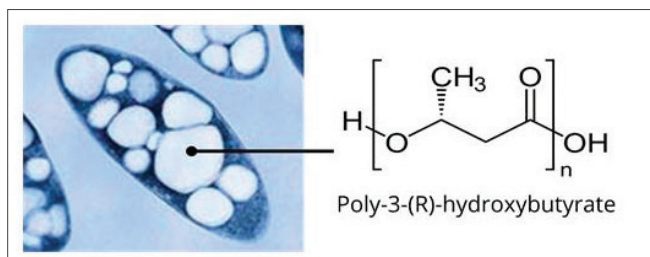


Fig. 3 - Granuli di PHA intracellulare e struttura chimica di PHB

le al lontano 1925 ad opera di Lemoigne, anche se i primi approcci ad una produzione industriale sono iniziati negli anni Ottanta con Imperial Chemical Industries (ICI). Oggi globalmente più di 30 compagnie sono impegnate nello sviluppo di produzione e nella commercializzazione di PHA.

I PHA sono classificabili sotto il profilo chimico come poliesteri costituiti da unità monomeriche di idrossiacidi organici e le specie più comunemente studiate e isolate appartengono alla famiglia di poliesteri lineari di 3-(R)-idrossiacidi, il cui capostipite è il poli-3-idrossibutirrato (PHB - Fig. 3). A seconda della lunghezza della catena laterale i PHA possono essere ulteriormente suddivisi in *short-, medium- e long-chain length (scl, mcl, lcl)*. Attualmente in commercio i più comuni PHA sono "co-polimeri" a corta e media catena con unità di idrossivalerato (PHBHV), idrossiesanoato (PHBHH) e idrossiottanoato (PHBHO) nel range di 1-20% mol/mol. Evidentemente la struttura della catena laterale determina le proprietà termomeccaniche del PHA; all'aumentare della catena, ad esempio, generalmente diminuisce la temperatura di fusione mentre aumentano la componente amorfa e la tensione a rottura. Il PHB è altamente cristallino, con una temperatura di fusione attorno ai 175 °C, e un'alta resistenza a trazione (30-40 MPa). Il peso molecolare medio può variare molto, a seconda delle tecnologie di produzione ed estrazione adoperate, da 10⁴ a 10⁶ Da. Questa è una delle caratteristiche fondamentali per la lavorabilità del materiale (compounding e termo-formatura). Le caratteristiche intrinseche dei PHA li rendono degli interessantissimi potenziali sostituti delle controparti plastiche derivate da fonti fossili, addirittura migliorativi in alcune proprietà di interesse come le proprietà barriera (*oxygen-OTR* e *water vapour transmission rate - WVTR*) [8-10]. Tuttavia, nonostante il grande interesse industriale e i vantaggi competitivi dei PHA, che, uniti alla loro "naturalità", 100% bio-derivati e bio-degradabili, ne fan-

no un materiale di primaria importanza nel panorama della bio-economia, le barriere dovute agli alti costi di produzione sono il principale ostacolo alla larga diffusione e adozione nel mercato. Inoltre la stretta collaborazione tra produttori della materia prima e miscelatori è fondamentale per il fine tuning delle proprietà dei PHA prodotti per garantirne una lavorabilità ottimale e l'applicabilità nella produzione di oggetti finiti. Il progetto AFTERLIFE mira ad abbattere tali barriere. Un primo approccio, già evidenziato, è l'utilizzo di una materia prima a costo-zero. Ciò permetterebbe di abbattere il 23% dei costi unitari di produzione di PHA associabili alla materia prima [8-10]. Inoltre, nelle fasi post-progetto di exploitation dei risultati, si mirerà all'adozione di un modello di business ibrido che preveda la fornitura di servizi di smaltimento delle acque reflue oggetto del progetto, prospettando così un'ulteriore diminuzione dei costi ("costo-negativo" della materia prima). Un secondo approccio è chiaramente legato all'ottimizzazione delle rese e dei volumi di fermentazione per la riduzione dei costi operativi (OPEX) di produzione, secondo le strategie di seguito descritte.

I concentrati zuccherini derivanti dai trattamenti di filtrazione sono utilizzati in AFTERLIFE per la produzione batterica di PHA attraverso due strategie, al fine di individuare l'approccio vincente sotto il profilo tecnico-economico per uno scale up industriale. I partner maggiormente impegnati in questa fase core del progetto sono lo spin-off italiano Innoven, quello portoghese Nova-ID-FCT guidato dalla prof. Maria Reis e il gruppo della dott. Auxiliadora Prieto del centro nazionale di ricerca spagnolo CSIC-CIB.

La massimizzazione della resa di produzione di PHA è in molti casi promossa da una fase di fermentazione anaerobica di acido-genesi in cui un'alta percentuale della materia organica viene convertita in acidi grassi volatili (VFA). Il progetto mira ad una conversione superiore al 25%, con un contenuto in acido acetico superiore a 50 meq/L. Sono quindi due le strategie comparate per la produzione di PHA dagli stream arricchiti in VFA: produzione da "coltura pura", adoperando quindi una singola specie batterica per l'accumulo di PHA, e produzione da "coltura mista", che procede alla selezione di una o più specie che massimizzano l'accumulo di PHA a partire da un "pool" di colture microbiche, attraverso degli stadi di privazio-

ne e abbondanza di alcuni nutrienti (regime di “feast and famine”). Il primo approccio ha il vantaggio di produrre solitamente un materiale da composizione chimica e proprietà ben definite dipendenti prevalentemente dalla specie batterica e dalla natura della materia prima utilizzata. Tuttavia in termini di costi di fermentazione presenta lo svantaggio di dover adoperare condizioni di controllo della sterilità del sistema. Al contrario la produzione da coltura mista presenta una maggiore flessibilità dei processi fermentativi ma richiede maggiori sforzi di ottimizzazione e controllo multi-parametrico del processo per l’ottenimento di un materiale con composizione chimica e proprietà altamente riproducibili. In entrambi i casi l’obiettivo è comunque la massimizzazione della resa in PHA dal refluo di interesse e dell’accumulo rispetto al peso della biomassa cellulare generata (>65%). Infine un aspetto importante a cui sono destinate attività e risorse è l’ottimizzazione di un protocollo di estrazione del PHA intracellulare accumulato, finalizzata soprattutto ad implementare alternative scalabili agli step di lisi cellulare, estrazione con solvente e asciugatura del PHA recuperato.

Al contempo i rifiuti solidi e semisolidi derivanti da scarti iniziali e dai residui di fermentazione sono destinati alla valorizzazione per digestione anaerobica al fine di ottimizzare le risorse energetiche interne in un ciclo ideale a rifiuti-zero.

Tutti i risultati ottenuti da AFTERLIFE nella fase di sviluppo e ottimizzazione delle tecnologie su scala laboratorio in una seconda fase del progetto sono alla base dello sviluppo multidisciplinare di un modello matematico olistico parametrizzato e ottimizzato da IDENER. Tale modello è alla base di ingegnerizzazione, design e dimostrazione pilota (input acque reflue > 1m³/giorno) del processo effettuata negli impianti de Bio-Base Europe Pilot Plant (BBEPP) in Belgio e alla base delle analisi tecno-economiche e di ciclo di vita effettuate dal partner tedesco Nova-Institut. L’output finale del progetto è completato dalla preparazione di miscele termoplastiche a base di PHA prodotti nelle dimostrazioni pilota e dalla preparazione di oggetti finiti (es. food-packaging), con lo studio delle relative proprietà di riciclo, bio-degradabilità e compostabilità, in cui sarà determinante la pluriennale esperienza dell’impresa croata Mi-Plast. La coordinazione delle azioni di comunicazione e dis-

seminazione dei risultati, nonché l’analisi degli aspetti socio-economici del progetto, come l’accettazione da parte del consumatore finale, è affidata all’esperienza di Nova-Institut.

In conclusione AFTERLIFE rappresenta lo sforzo di integrazione multidisciplinare di competenze consolidate in un progetto dal carattere industriale di cooperazione trans-nazionale pubblico-privata, per la creazione di una nuova catena del valore nella bio-economia europea. La risposta concreta ai bisogni del mercato si fonda sul coinvolgimento attivo nello sviluppo del processo innovativo di tutti gli attori della filiera, dai produttori di acque reflue del comparto agro-alimentare, non più scarto ma materia prima, ai fornitori di tecnologia, agli utilizzatori finali dei prodotti generati. Il progetto AFTERLIFE è stato finanziato da Bio Based Industries Joint Undertaking nel programma di ricerca e innovazione dell’Unione Europea Horizon 2020 secondo il grant agreement No. 745737.

BIBLIOGRAFIA

- [1] www.bbi-europe.eu
- [2] afterlife-project.eu
- [3] P. Stufano *et al.*, Pat. App. n. WO/2016/050570.
- [4] V.E. Carofiglio *et al.*, *J. Life Sci.*, 2015, **9**, 481.
- [5] M. Xie *et al.*, *Water Res.*, 2016, **89**, 210.
- [6] E. Ibañez *et al.*, *Encyclopedia of Food and Health*, Elsevier, 2016, 227.
- [7] B. Pavlic *et al.*, *J. Supercrit. Fluid*, 2016, **116**, 36.
- [8] M. Koller *et al.*, *Food Technol. Biotechnol.*, 2010, **48**, 255.
- [9] E. Bagnicourt *et al.*, *Polymer Lett.*, 2014, **11**, 791.
- [10] G.-Y.A. Tan *et al.*, *Polymers*, 2014, **6**, 706.

Wastewater as Raw Material for a European Bio-economy

A four-year 4 M€ project with 15 partners involved coming from 7 Countries, co-funded by the EU Commission and the industry consortium BIC (Bio-Based Industries Consortium) under the H2020-BBI JU (Bio-Based Industries Joint Undertaking) program, AFTERLIFE aims to completely recover the value from agro-food wastewater, by extracting and purifying natural molecules and additives and by producing a 100% bio-degradable and compostable bio-plastic.

