

# BIOTECNOLOGIE DEL FUTURO: I MICRORGANISMI PER LA PRODUZIONE DI IDROGENO<sup>1</sup>

ROBERTO DE PHILIPPIS

*Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agroalimentari e dell'Ambiente (DISPAA),  
Università degli Studi di Firenze*

## 1. Introduzione

Il consumo di energia primaria nel nostro Pianeta ha raggiunto, nel corso del 2011, un valore pari a circa 13 GTep (miliardi di tonnellate di petrolio equivalente). Più dell'80% di questa energia è stata ottenuta dalla combustione di fonti fossili di energia (carbone, petrolio e gas naturale; IEA, 2013). È stato stimato che entro il 2035 i consumi di energia cresceranno di circa il 30%, superando quindi i 17 GTep, mantenendo al tempo stesso una netta dipendenza dalle fonti fossili che continueranno a rappresentare circa l'80% di quelle utilizzate per produrre energia. Il dibattito su quanti anni occorreranno prima di raggiungere l'esaurimento delle riserve di fonti fossili di energia è ampio e articolato, ma è indubbio che esse, per il fatto stesso di essere non rinnovabili, andranno incontro ad esaurimento nel corso dei prossimi decenni.

Le proiezioni dei consumi di energia primaria derivata da fonti fossili per i prossimi dieci anni indicano un ulteriore incremento dei consumi, con il conseguente aumento quasi proporzionale delle emissioni annue di anidride carbonica, che in tal modo passerebbero dai circa 20 miliardi di tonnellate del 1990 ai circa 32 miliardi di tonnellate del 2020 [6]. Le conseguenze di queste scelte di politica energetica sarebbero quindi da un lato la riduzione delle riserve di fonti energetiche non rinnovabili e dall'altro l'emissione in atmosfera di grandi quantità di gas ad effetto serra, quali l'anidride carbonica, con il conseguente aumento della temperatura del pianeta.

Ai possibili danni all'ambiente che sarebbero conseguenza di queste scelte di politica energetica occorre poi aggiungere le problematiche di natura politica legate alla necessità, sempre più vincolante per la stabilità politico-economica delle singole Nazioni, di avere accesso a fonti energetiche sicure, la cui disponibilità a prezzi sostenibili dai diversi sistemi economici non sia legata né a fattori fisici (esaurimento delle fonti stesse,

---

<sup>1</sup> Lezione tenuta mercoledì 12 febbraio 2014, ore 11 - ITI Ferrari, Piazza Bersaglieri n. 1, Borgo a Mozzano (LU), martedì 19 novembre 2013, ore 11 - Istituto Statale Superiore Russell-Newton, Via F. De Andrè n. 6, Scandicci (FI), giovedì 21 novembre 2013, ore 11 - ISIS Simoni, Via 20 aprile n. 12, Castelnuovo di Garfagnana (LU), lunedì 2 dicembre 2013, ore 11 - ITIS G. Galilei, Via Dino Menci n. 1, Arezzo

interruzioni nella produzione etc.) né a fattori economici (variabilità dei prezzi, pressioni speculative etc.) [2, 3, 10].

Una delle principali sfide per l'umanità nel prossimo futuro è quindi legata alla risoluzione dei problemi della disponibilità di risorse di energia pulita e rinnovabile e la riduzione delle emissioni di gas serra nell'atmosfera. In conseguenza di questo, è necessario individuare nuove fonti di energia non inquinanti, rinnovabili e che al tempo stesso siano economicamente sostenibili. Tenendo conto di tutte queste considerazioni, nel corso degli ultimi venti anni si è sviluppato un notevole interesse nei confronti dell'uso dell'idrogeno come vettore energetico. Questo gas infatti non solo può essere utilizzato per produrre energia senza la contemporanea emissione di sostanze inquinanti nell'atmosfera ma potrebbe anche essere prodotto utilizzando fonti rinnovabili di energia in alternativa alle tecnologie produttive fino ad ora utilizzate. Al momento, infatti, la produzione di idrogeno su scala industriale viene condotta a partire da metano o da altri idrocarburi derivati dal petrolio attraverso trattamenti ad alta temperatura e pressione. Recentemente, però, si è sviluppato un notevole interesse scientifico verso la produzione di idrogeno per via biologica, sfruttando specifici processi metabolici di alcuni gruppi microbici che portano alla produzione di idrogeno gassoso. A questo proposito, va sottolineato come nel metabolismo microbico l'idrogeno sia molto frequentemente presente come prodotto finale di processi che producono l'energia necessaria alla crescita microbica oppure venga utilizzato come substrato per la crescita stessa. Negli ambienti naturali privi di ossigeno, ad esempio, l'idrogeno svolge un ruolo fondamentale per la stabilità della comunità microbica: molti batteri anaerobi, infatti, fermentano molecole organiche, producendo  $H_2$ ,  $CO_2$ , acidi ed alcoli a basso peso molecolare, tutti composti che possono essere a loro volta utilizzati da altri membri della comunità microbica per le loro attività metaboliche. In particolare, i microrganismi consumatori di  $H_2$  evitano che questo gas si accumuli a livelli tali da inibire i microrganismi produttori, contribuendo così in modo determinante alla stabilità dell'ecosistema.

La possibilità di ottenere  $H_2$  per via fermentativa attraverso la conversione di fonti rinnovabili è stata ampiamente studiata in questi ultimi anni e sono ormai note numerose specie batteriche capaci di fermentare un'ampia gamma di substrati naturali, semplici o complessi, per la produzione di idrogeno.

Alla luce di queste conoscenze, lo sfruttamento di risorse energetiche rinnovabili, quali ad esempio quelle derivabili dal sistema agroindustriale, potrebbe assumere una notevole importanza, sia dal punto di vista economico che dal punto di vista ambientale. Infatti, i vari processi che consentono di ottenere energia dalle biomasse vegetali e dai residui del sistema agroindustriale permetterebbero lo sfruttamento di fonti energetiche ampiamente disponibili e rinnovabili in processi che possono essere considerati a bilancio zero per quanto riguarda la fissazione e l'emissione di anidride carbonica. In questa direzione si sono quindi orientate molte delle ricerche attualmente in corso sia a livello nazionale che internazionale, indirizzate ad individuare e a sperimentare processi

che portino al recupero efficiente dell'energia contenuta nei diversi tipi di residui vegetali derivanti dalle attività agroindustriali e forestali. Va inoltre evidenziato come l'utilizzo dei residui vegetali per produrre energia possa allo stesso tempo ridurre il costo da sostenere per un loro smaltimento economicamente ed ambientalmente sostenibile.

## **2. La produzione d'idrogeno per via biologica**

La produzione d'idrogeno per via biologica può avvenire attraverso i seguenti processi: (i) per biofotolisi dell'acqua, tramite l'impiego di microrganismi fotosintetici ossigenici (cianobatteri e microalghe), (ii) per fotodegradazione di composti organici a basso peso molecolare, tramite l'impiego di batteri fotosintetici anossigenici, (iii) per fermentazione di substrati organici, tramite l'impiego di batteri chemoeterotrofi anaerobi, (iv) tramite sistemi integrati, che utilizzano una prima fase di fermentazione, condotta da batteri chemoeterotrofi anaerobi ed una seconda fase con batteri fotosintetici anossigenici che utilizzano gli acidi prodotti nella fase precedente [1, 8, 9].

### **2.1 Produzione di idrogeno tramite biofotolisi diretta dell'acqua.**

I microrganismi fotosintetici ossigenici assorbono l'energia luminosa della radiazione solare attraverso due fotosistemi operanti in serie: il fotosistema II, che sottrae elettroni dall'acqua liberando  $O_2$ , ed il fotosistema I, che genera il potere riducente necessario per la riduzione di  $CO_2$  nel ciclo di Calvin. A questo flusso di elettroni generato dall'assorbimento di fotoni dalla radiazione solare è associato un flusso di protoni che determina la formazione di un gradiente elettrochimico trans-membrana dal quale dipende la sintesi di ATP. Se gli elettroni così generatisi vengono indirizzati verso gli enzimi che catalizzano la reazione di idrogeno (idrogenasi nelle microalghe, nitrogenasi nei cianobatteri) si può avere sintesi di  $H_2$ . Occorre però sottolineare che, affinché questo avvenga, è necessario operare in condizioni particolari, dettate dalla necessità di preservare gli enzimi dal contatto con l'ossigeno prodotto fotosinteticamente.

### **2.2 Produzione di idrogeno da microrganismi a fotosintesi anossigenica (fotofermentazione)**

Nel caso della fotosintesi anossigenica attuata dai batteri rossi non-solfurei, l'energia luminosa della radiazione solare viene assorbita dall'unico fotosistema presente, concettualmente analogo al fotosistema I dei microrganismi a fotosintesi ossigenica, con generazione di ATP attraverso un flusso ciclico di elettroni. A causa della presenza di un solo fotosistema, i batteri rossi non-solfurei non possono utilizzare come donatore di elettroni l'acqua, ma utilizzano sostanze organiche a basso peso molecolare, specialmente acidi organici quali acido malico, succinico, acetico, lattico etc. L'ATP prodotto nel processo fotosintetico viene utilizzato dalla cellula batterica, oltre che per le reazioni di biosintesi, per indirizzare una parte del flusso di elettroni alla riduzione della ferredossina e per consentire il funzionamento dell'enzima nitrogenasi. In condizioni di luce e carenza di azoto, la nitrogenasi riduce i protoni ad  $H_2$ , contribuendo in tal modo a realizzare la completa fotodecomposizione dei substrati organici ad  $H_2$  e  $CO_2$ . Nei

batteri rossi non-solfurei, la reazione foto-dipendente sopra descritta, generalmente definita fotofermentazione, procede senza inibizione della nitrogenasi da parte dell' $O_2$  dell'aria dal momento che questi microrganismi vivono in ambienti anaerobi e nel loro processo fotosintetico non si ha rilascio di ossigeno.

### 2.3 Produzione di idrogeno da microrganismi chemoeterotrofi.

Molti batteri chemoeterotrofi sono capaci di produrre idrogeno in condizioni anaerobiche tramite la fermentazione di sostanze organiche di varia natura, in un processo che viene definito fermentazione al buio per distinguerla dalla fotofermentazione sopra descritta.

La produzione di idrogeno nella fermentazione al buio è dovuta alla necessità dei batteri chemoeterotrofi di liberarsi dell'eccesso di potere riducente generatosi nel corso dell'ossidazione dei substrati organici. Il potere riducente quindi viene indirizzato verso l'idrogenasi, l'enzima che catalizza la reazione di formazione dell'idrogeno nei batteri chemoeterotrofi, consentendo così ai batteri di liberarsene producendo al tempo stesso  $H_2$ . Se il substrato organico utilizzato dai batteri chemoeterotrofi è costituito da residui agricoli, residui derivanti da prodotti vegetali dell'industria alimentare o di altra origine, l'idrogeno così ottenuto si può considerare rinnovabile in quanto la biomassa vegetale è stata originariamente generata dal processo fotosintetico. Va però sottolineato come i batteri chemoeterotrofi siano in grado di utilizzare anche altri composti per liberarsi dell'eccesso di potere riducente, con il conseguente rilascio di composti ridotti quali acetato, butirato, lattato, etanolo etc, a seconda delle vie metaboliche presenti.

### 2.4 Sistemi integrati di produzione di idrogeno

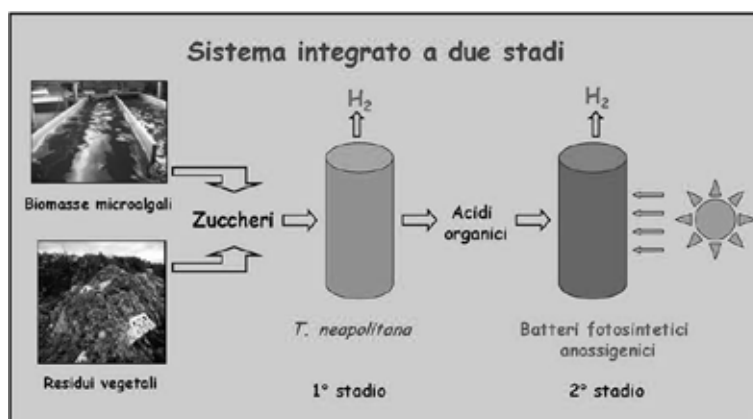


Figura 1. Esempio di sistema integrato a due stadi che utilizza il batterio chemoeterotrofo termofilo *Thermotoga neapolitana* e il batterio fotosintetico anossigenico *Rhodospseudomonas palustris* per la produzione di idrogeno a partire da biomasse di microalghe e da residui vegetali (Progetto PIRODE, condotto in collaborazione con l'Istituto di Chimica Biomolecolare (ICB) del CNR di Pozzuoli (NA) e con l'Istituto di Chimica dei Composti Organometallici (ICCOM) del CNR di Sesto fiorentino (FI), e finanziato dal Ministero dell'Ambiente).

La fermentazione al buio, come sopra riportato, comporta la produzione di idrogeno e di altri composti ridotti che non possono essere ulteriormente utilizzati dai batteri chemoeterotrofi come donatori di elettroni per la produzione del gas in quanto la loro

ossidazione richiede energia. Quando però questi composti vengono utilizzati come donatori di elettroni dai batteri fotosintetici anossigenici, queste reazioni possono utilizzare l'energia della luce solare assorbita da questi ultimi e portare quindi alla completa ossidazione dei composti rilasciati dai batteri chemoeterotrofi, con produzione di ulteriori quantità di idrogeno. Partendo da queste considerazioni, molti gruppi di ricerca hanno avviato studi per la messa a punto di sistemi integrati di produzione di idrogeno a due stadi, nei quali ad un primo stadio condotto dai batteri chemoeterotrofi viene fatto seguire un secondo, condotto dai batteri fotosintetici anossigenici che sfruttano i composti rilasciati nel corso del primo stadio (Figura 1).

Occorre sottolineare come la biofotolisi dell'acqua, pur essendo molto interessante dal punto di vista scientifico, appare al momento molto lontana da una possibile applicazione a livello industriale, mentre gli altri tre processi appaiono più vicini ad una reale utilizzazione tecnologica a patto che vengano risolti alcuni aspetti sia di natura biologica che impiantistica che ne limitano ancora le prestazioni.

Processo	Microrganismi	Vantaggi	Svantaggi
Biofotolisi dell' acqua	Microalghe; cianobatteri	-Produzione da H <sub>2</sub> O e luce solare	- Enzimi connessi alla produzione di H <sub>2</sub> sensibili a O <sub>2</sub> -Bassi tassi di produzione di H <sub>2</sub>
Fermentazione al buio	Batteri fermentativi chemoeterotrofi (vari generi)	- Processo anaerobico - Può utilizzare substrati rinnovabili contenenti carboidrati fermentescibili (scarti vegetali, residui agricoli etc) - Non è influenzato dai cicli luce/buio, a differenza dei microrganismi fotosintetici - Alti tassi di produzione di H <sub>2</sub>	- Incompleta ossidazione dei substrati - Influenzato negativamente dall'aumento della pressione parziale di H <sub>2</sub> -Produce CO <sub>2</sub> , che deve essere separata da H <sub>2</sub>
Fotofermentazione	Batteri fotosintetici anossigenici (batteri rossi non sulfurei)	- Uso di composti contenuti in acque reflue industriali o derivanti dalla fermentazione dei batteri chemoeterotrofi - Usa l'energia di un'ampia gamma di lunghezze d'onda della luce	- La nitrogenasi (enzima che catalizza la reazione di produzione di H <sub>2</sub> ) consuma grandi quantità di ATP - La nitrogenasi è sensibile a NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> - Bassa efficienza di conversione dell'energia della luce in H <sub>2</sub>

Tabella 1. I processi di produzione biologica di idrogeno tramite l'impiego di microrganismi e i loro vantaggi e svantaggi [4]

Numerosi studi hanno messo in evidenza vantaggi e svantaggi dei vari processi (Tabella 1; da [4]), individuando in particolare la fermentazione operata con batteri chemoeterotrofi come il processo capace di produrre idrogeno con i tassi maggiori.

Come detto, grande attenzione è attualmente rivolta all'uso di processi microbici integrati a due stadi, con i quali è teoricamente possibile giungere alla conversione completa in idrogeno di composti organici fermentescibili contenuti in biomasse vegetali (scarti vegetali oppure residui di biomasse microalgali derivanti dall'estrazione di biodiesel), non realizzabile con i soli batteri chemoeterotrofi a causa di vincoli di natura termodinamica.

### **3. Conclusioni**

Nonostante i notevoli risultati ottenuti dalla ricerca nel corso degli ultimi decenni nello studio della produzione biologica di idrogeno, restano ancora un certo numero di ostacoli da superare prima che questo processo possa essere sfruttato industrialmente in maniera economicamente sostenibile. In particolare, occorre aumentare ulteriormente le rese di conversione dei substrati e della luce in idrogeno, ottimizzando il processo sia da un punto di vista biologico che tecnologico, in un percorso che richiede una intensa attività di studio per la soluzione dei problemi ancora presenti.

Per concludere questa breve rassegna, vale però la pena citare quanto scritto di recente da uno dei massimi esperti di produzione biologica di idrogeno, Patrick C. Hallenbeck, dell'Università di Montreal, Canada, che ha affermato che i tassi di produzione di idrogeno ottenuti con la fermentazione al buio a partire da residui lignocellulosici rendono questo processo già adesso confrontabile con quello di produzione biologica di etanolo, attualmente in via di utilizzazione a livello industriale [5].

## BIBLIOGRAFIA

- [1] Adessi, A., De Philippis, R., Hallenbeck, P.C. (2012) Combined systems for maximum substrate conversion. In: Hallenbeck, P.C. (ed) *Microbial Technologies in Advanced Biofuels Production*. Springer, New York; pp 107-126.
- [2] Demirbas, A. (2009) Politics, economic and environmental impacts of biofuels: A review. *Applied Energy*; 108: 1-17.
- [3] Dunn, S. (2002) Hydrogen futures: toward a sustainable energy system. *International Journal of Hydrogen Energy*; 27: 235-64.
- [4] Hallenbeck, P.C. (2014) Bioenergy from Micro-organisms: an overview. In: Zannoni, D., De Philippis, R. (eds) *Microbial BioEnergy: Hydrogen Production*. Springer, Dordrecht; pp 3-21.
- [5] Hallenbeck, P.C., Ghosh, D. (2009) Advances in fermentative biohydrogen production: the way forward? *Trends in Biotechnology*; 27: 287-297.
- [6] IEA (International Energy Agency): *World Energy Outlook 2006* <http://www.worldenergyoutlook.org/>
- [7] IEA (International Energy Agency): *World Energy Outlook 2013* <http://www.worldenergyoutlook.org/>
- [8] Redwood, M.D., Paterson-Beedle, M., Macaskie, L.E. (2009) Integrating dark and light bio-hydrogen production strategies: towards the hydrogen economy. *Reviews Environmental Sciences and Biotechnology*; 8: 149-85.
- [9] Rupprecht, J., Hankamer, B., Mussgnug, J.H., Ananyev, G., Dismukes, C., Kruse, O. (2006) Perspectives and advances of biological H<sub>2</sub> production in microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*; 72: 442-449.
- [10] Yergin, D. (1991) *The prize: the epic quest for oil, money, and power*. Simon and Schuster, New York.