



Borsa di studio attivata ai sensi di quanto disposto dal D.M. n. 1061 del 10/08/2021

Titolo del progetto: Conversione dei rifiuti plastici in biopolimeri

La borsa sarà attivata sul seguente corso di dottorato accreditato per il XXXVII ciclo:
PROCESSI CHIMICI PER L'INDUSTRIA E PER L'AMBIENTE

Responsabile scientifico: Mauro Majone

Area per la quale si presenta la richiesta: GREEN

Numero di mensilità da svolgere in azienda: 6

Numero di mensilità da svolgere all'estero: 6 presso IATA-CSIC (Institute of Agrochemistry and food technology of the Spanish Council for Scientific Research)

Azienda: NextChem SpA

Il Dipartimento è disponibile a cofinanziare per un importo pari a euro: 10000

Dipartimento finanziatore: DIPARTIMENTO DI CHIMICA con delibera del 20-09-2021

Progetto di ricerca:

Le materie plastiche giocano un ruolo fondamentale nella vita di tutti i giorni e la loro produzione mondiale ammonta ad oltre 360 milioni di tonnellate all'anno, generando un'enorme quantità di rifiuti non biodegradabili da smaltire, che causano gravi e ben noti problemi ambientali. Per questo motivo, l'interesse per lo sviluppo delle bioplastiche come promettente alternativa alle plastiche convenzionali sta attirando considerevole attenzione. Al giorno d'oggi, il mercato delle bioplastiche rappresenta solo circa l'uno per cento della produzione globale di plastica, ma la loro domanda è in continua crescita e diversificazione (<https://www.european-bioplastics.org/market/>). Più in dettaglio, una bioplastica è un materiale biobased o biodegradabile o un materiale plastico con entrambe le caratteristiche. Il termine biobased significa che la plastica deriva da risorse rinnovabili, mentre biodegradabile indica la proprietà di un materiale di essere completamente degradato in sostanze naturali (come acqua, anidride carbonica, metano e compost) per mezzo di microrganismi presenti nell'ambiente. Questa proprietà dipende strettamente dalla struttura chimica della plastica e non è legata alla materia prima di partenza, per cui un materiale completamente biobased può essere non biodegradabile mentre una plastica biodegradabile può essere anche di origine fossile. Tra le bioplastiche, i poliidrossialcanoati (PHA) sono particolarmente interessanti in quanto sono sia biobased che biodegradabili e, inoltre, sono sintetizzati biologicamente, risultando di fatto "3 volte bio". Infatti, sono state attualmente identificate oltre 300 diverse specie di microrganismi che sintetizzano PHA accumulandoli sotto forma di granuli insolubili all'interno del citoplasma cellulare, che funzionano come riserva interna di carbonio ed energia per il metabolismo microbico (Valentino et al. 2017, *New Biotechnol* 37:9-23). In particolare, con il termine PHA non si indica un singolo polimero, ma una famiglia di copolimeri che presentano una vasta gamma di proprietà fisiche e meccaniche dipendenti dalla lunghezza e della composizione delle catene laterali. Per esempio, il copolimero poli(idrossibutirrato-idrossivalerato), P(HB-HV), ha proprietà simili al polipropilene ma, a differenza di quest'ultimo, è completamente biodegradabile nell'ambiente sia in condizioni aerobiche che anaerobiche. Queste caratteristiche rendono possibile l'impiego dei PHA per un ampio spettro di applicazioni di mercato, incluso il settore dell'imballaggio, la produzione di adesivi termosensibili o utensili usa e getta, film agricoli, contenitori plastici vari, così come applicazioni in campo medico come la somministrazione a lento rilascio di farmaci. Tuttavia, nonostante le loro peculiari ed interessanti proprietà, la commercializzazione su larga scala dei PHA è attualmente limitata dall'elevato costo di produzione (a partire da 4 euro al kg) che è sostanzialmente superiore al costo di produzione delle plastiche di origine fossile (inferiore ad 1 euro al kg). Ciò è dovuto principalmente al fatto che gli attuali processi industriali di produzione si basano sull'uso di colture

pure (ovvero che impiegano un singolo ceppo microbico selezionato, tipicamente *Cupravidus necator*), che a sua volta richiedono l'utilizzo di substrati ben definiti (ad esempio il glucosio) e che rappresentano circa il 40% del costo complessivo del processo, oltre all'elevata domanda di energia (ad esempio associata alla sterilizzazione del substrato e delle attrezzature, al trasferimento dell'ossigeno e alla agitazione dei bioreattori). Per superare queste limitazioni, è crescente l'interesse verso lo sviluppo e l'implementazione di tecnologie innovative basate sull'impiego di colture microbiche miste (MMC). Il minor fabbisogno energetico, la possibilità di utilizzare materie prime a basso costo o senza costo e di regolare la composizione del copolimero P(HB/HV) sono tra i principali vantaggi derivanti dai processi basati su MMC, che si prevede possano contribuire ad un rapido aumento del mercato dei PHA nel prossimo futuro.

In linea di principio, una vasta gamma di substrati organici, tra cui rifiuti e reflui industriali e agricoli, rifiuti alimentari, rifiuti animali e melassa, possono essere convertiti in PHA da parte di MMC, a condizione che venga eseguita una fase preliminare di fermentazione acidogenica della materia prima di partenza (Reis et al. 2011, *Comprehensive Biotechnology* 6: 669-683). La fermentazione acidogenica permette la conversione del carbonio di scarto in acidi grassi volatili (substrati ideali per la produzione di PHA da MMC), che vengono alimentati alle fasi successive del processo, tra cui la selezione e l'arricchimento a partire da un fango attivo di microrganismi in grado di accumulare PHA, e la massimizzazione del contenuto intracellulare del polimero. Infine, il PHA prodotto è sottoposto alle fasi di estrazione e purificazione che dovrebbero garantire un alto livello di recupero del polimero con elevato grado di purezza. In questo contesto, l'interesse scientifico è rivolto allo sviluppo di nuovi e sostenibili metodi di estrazione, in grado di sostituire gli approcci attuali basati sull'impiego di grandi quantità di solventi tossici e volatili (come il cloroformio), con conseguenze ambientali negative e un aumento sostanziale del costo totale di produzione. In base a tali premesse, il principale obiettivo della presente ricerca è quello di adattare il processo multistadio precedentemente descritto per la produzione di PHA con colture microbiche miste al fine di dare una nuova vita ai rifiuti plastici, includendo adeguati pretrattamenti chimico-fisici. Questo approccio avanzato permetterebbe di gestire e contemporaneamente valorizzare i rifiuti plastici, completamente in accordo con il concetto di economia circolare. A tal fine, particolare attenzione sarà data a rifiuti plastici che sono tipicamente difficili da riciclare, cioè miscele residue derivanti da trattamenti convenzionali utilizzati per il riciclaggio meccanico della plastica, come: miscele a base di poliolefine, miscele a base di polistirene, miscele a base di poliestere. Più in dettaglio, per raggiungere l'obiettivo principale sarà sviluppato un processo integrato chimico-fisico e biologico, in cui lo stadio chimico-fisico (consistente in processi di pirolisi e/o ossidazione chimica) è necessario per convertire i rifiuti plastici in fonti di carbonio adatte alla produzione di PHA da MMC. Questo pretrattamento ha lo scopo principale di ridurre il peso molecolare dei rifiuti plastici ed aumentare la loro solubilità in acqua. Ciò sarà effettuato attraverso una fase di degradazione termica seguita da una fase di ossidazione chimica e sarà anche studiata la possibilità di operare contemporaneamente questi trattamenti, con l'intento di identificare le condizioni operative ottimali che permettono di minimizzare la quantità di residuo solido (i.e., char). La frazione condensabile (oli e cere) sarà analizzata in termini di componenti principali, anche al fine di valutarne il potenziale di conversione in PHA. A tal fine, saranno inizialmente condotte prove respirometriche batch finalizzate a verificare l'eventuale presenza di composti recalcitranti e/o tossici che possono inibire l'attività biologica. Una volta verificata la degradabilità biologica dei composti organici contenuti nella matrice derivante dal trattamento chimico-fisico proposto, la possibilità di convertirli in PHA sarà indagata attraverso esperimenti di accumulo in batch eseguiti con MMC selezionate e arricchite in microrganismi produttori di PHA in reattori in scala di laboratorio (ad esempio, reattori sequenziali discontinui). Sulla base dei risultati ottenuti, sarà considerata la possibilità di realizzare un processo continuo per la produzione di PHA in cui sia la fase di selezione di MMC che la fase di accumulo di PHA potrebbero essere alimentate con la corrente derivante dal pretrattamento chimico-fisico dei rifiuti plastici.

Nel contesto della presente proposta, parte dell'attività sarà svolta presso NextChem, una società italiana che opera nel campo della chimica verde e delle tecnologie per la transizione energetica. La missione principale dell'azienda è quella di creare nuovi prodotti da materie prime rinnovabili con un'impronta non fossile, dando un contributo allo sviluppo sostenibile. L'idea è quella di sfruttare l'esperienza di NextChem nella creazione di nuove tecnologie, per sviluppare modelli ingegneristici utili per effettuare il passaggio di scala del processo studiato. Inoltre, una volta

prodotto a partire dai rifiuti plastici, il PHA sarà caratterizzato e processato per ottenere materiali a base di PHA per applicazioni specifiche. In questo contesto, l'idea è di impiegare tecniche innovative ed efficaci, quali ad esempio l'elettrofilatura. Il know-how di questa tecnologia sarà acquisito durante un soggiorno di 6 mesi presso l'Istituto "Agrochemistry and food technology of the Spanish Council for Scientific Research (IATA-CSIC)", nel gruppo di ricerca del Dr. José María Lagaron Cabello, con il quale è stata stabilita una consolidata e fruttuosa collaborazione negli ultimi anni nell'ambito di progetti europei internazionali che si occupano di produzione e caratterizzazione di PHA.

Titolo del progetto (inglese): Conversion of plastic waste into bioplastics

Progetto di ricerca (inglese):

Plastic materials play a pivotal role in the everyday life and their worldwide production accounts for over 360 million tons per year generating an enormous quantity of non-biodegradable wastes to be disposed of, that cause serious and well recognized environmental problems. For this reason, the interest into the development of bioplastics as a promising alternative to conventional plastics is attracting considerable attention. Nowadays, the bioplastic market represents only about one per cent of the total plastic production, but their demand is continuously growing and diversifying (<https://www.european-bioplastics.org/market/>). More in detail, a bioplastic is a biobased or a biodegradable material or a plastic material with both features. The term biobased means that plastics are derived from renewable resources whereas biodegradable indicates the property of a material to be degraded into natural substances (such as water, carbon dioxide, methane and compost) by means of microorganisms available in the environment. This property strictly depends on the chemical structure of plastics, and it is not related to the source feedstock whereby a completely biobased material may be non-biodegradable whereas a biodegradable plastic can be of fossil origin. Among bioplastics, polyhydroxyalkanoates (PHA) are particularly interesting since they are both biobased and biodegradable and, additionally, are biologically synthesized being considered 3-times bio. Indeed, over 300 different species of microorganisms have been identified to synthesize PHA as insoluble granules in the cell cytoplasm which function as an internal source of carbon and energy for microbial metabolism (Valentino et al. 2017, *New Biotechnol* 37:9-23). In particular, PHA is not a single polymer, but a family of copolymers which feature a wide array of tuneable physical and mechanical properties depending on the length and composition of the side chains. As an example, the copolymer poly(hydroxybutyrate-hydroxyvalerate), P(HB-HV), has properties similar to polypropylene but it is completely biodegradable in the environment under both aerobic and anaerobic conditions. This makes it possible to use PHA for a broad portfolio of market applications, including packaging, heat sensitive adhesives, disposable utensils, agricultural films, bulk commodity plastics, as well as medical applications such as drug delivery. Besides of their considerable properties, a large commercialization of PHA is presently limited by their production cost (starting from 4 euros per kg) that is substantially higher than the production cost of fossil-based plastics (lower than 1 euro per kg). This is mainly due to the fact that current industrial processes are based on the use of axenic cultures of a single selected strain (most often *Cupravidus necator*), that in turn requires ad-hoc designed substrates (e.g., glucose often coming from food crops), representing about 40% of the overall cost, and high energy demand (e.g., substrate and equipment sterilization, high cell density, i.e. oxygen transfer rates and stirring in the bioreactors). To overcome these limitations, the development and implementation of innovative and robust technologies that imply mixed microbial cultures (MMC) is increasingly attracting the research attention. The lower energy requirement, the possibility to use low-cost feedstock and to easily tune the P(HB/HV) copolymer composition are among the main benefits deriving from MMC-based processes which are expected to facilitate a rapid increase in the PHA market in the next future. In principle, a large range of available organic substrates, including industrial and agricultural wastes, food waste, animal waste, and molasses, may be converted into PHA provided that a preliminary acidogenic fermentation step is performed (Reis et al. 2011, *Comprehensive Biotechnology* 6: 669-683). The latter allows the conversion of waste carbon into volatile fatty acids (suitable substrates for MMC-PHA production), which are fed to the following stages aimed at the selection and enrichment, starting from an activated sludge, of PHA storing microorganisms and at the maximization of polymer intracellular content. Finally, the produced PHA is subjected to the

extraction and purification steps which should guarantee a high recovery level of polymer with high purity. In this context, the scientific interest is focused on the development of novel and green methods able to replace common established techniques which require large amounts of toxic and volatile solvents (such as chloroform), with adverse environmental consequences as well as a substantial increase of the total production cost.

Based on these considerations, here, the idea is to adapt the multi-stage described process for MMC-PHA production to give a new life to plastic wastes after the application of appropriate physical-chemical pre-treatments. This advanced approach would allow to manage and simultaneously valorise plastic wastes, hence perfectly fitting with the concept of circular economy. Particular attention will be paid at exploring plastic wastes that are typically difficult to recycle, i.e. residual mixtures from conventional treatments for plastic mechanical recycling, such as: polyolefin-based mixture, polystyrene-based mixture (namely PS), polyester-based mixture. More in detail, to accomplish the main objective a sustainable integrated process (physical-chemical and biological) will be developed with the physical-chemical step (e.g., pyrolysis and/or chemical oxidation) functioning as a tool to convert plastic wastes into carbon sources suitable for MMC-PHA production. This step mainly aims at reducing the molecular weight of plastic waste and increasing their water solubility. At this scope, a thermal degradation step followed by a chemical oxidation step will be applied and the possibility to simultaneously operate these treatments will be also investigated, with the intent to identify the optimal operating conditions that allow to minimize the amount of char. The condensable fraction (oil and waxes) will be analysed in terms of main components and their possible conversion into PHA. This will be initially assessed through the operation of respirometry batch experiments to verify the possible presence of recalcitrant and/or toxic compounds which can inhibit the biological activity. Once the biological degradation of the organic compounds deriving from the proposed physical-chemical treatment is verified, the possibility to convert them into PHA will be investigated by means of batch accumulation experiments performed with MMC selected and enriched in PHA-producing microorganisms in bench-scale reactors (e.g., sequencing batch reactors). Based on the obtained outcomes, the possibility to set up a continuous process for PHA production whereby both the MMC selection stage and the PHA accumulation stage could be fed with the carbon sources deriving from the plastic waste pretreatment will be considered.

In the context of the present proposal, part of the activity will be performed at NextChem, an Italian company operating in the field of green chemistry and technologies for energy transition. A main mission of the company is to create new products from renewable feedstock with a non-fossil footprint, giving a contribution to sustainable development. The idea is to exploit the NextChem expertise in the establishment of new technologies, to develop engineering models to be used for scaling up from laboratory operation the studied process.

Additionally, once produced from plastic wastes, PHA will be characterized and processed in order to obtain PHA-based materials for specific applications. In this context, the idea is to employ innovative and effective techniques, i.e. electrospinning. The know-how of this technology will be acquired during a 6-month stay at the Institute of Agrochemistry and food technology of the Spanish Council for Scientific Research (IATA-CSIC), in the research group of Dr. José Maria Lagaron Cabello, with whom a consolidated and fruitful collaboration has been established during the last years in the frame of international European projects dealing with PHA production and characterization.