

Requisiti per la misura e validazione del potenziale biochimico metanigeno (BMP)*

Christof Holliger, Hélène Fruteau de Laclos, Sasha D. Hafner,
Konrad Koch, Sören Weinrich, Sergi Astals,
Madalena Alves, Diana Andrade, Irini Angelidaki,
Lise Appels, Samet Azman, Alexandre Bagnoud
Urs Baier, Yadira Bajon Fernandez, Jan Bartacek,
Federico Battista, David Bolzonella, Claire Bougrier,
Camilla Braguglia, Pierre Buffière, Marta Carballa,
Arianna Catenacci, Vasilis Dandikas, Fabian de Wilde,
Sylvanus Ekwe, Elena Ficara, Ioannis Fotidis,
Jean-Claude Frigon, Agata Gallipoli, Jörn Heerenklage,
Pavel Jenicek, Judith Krautwald, Ralph Lindeboom,
Jing Liu, Javier Lizasoain, Rosa Marchetti,
Florian Monlau, Mihaela Nistor, Hans Oechsner,
João Vítor Oliveira, André Pauss, Sébastien Pommier,
Francisco Raposo, Thierry Ribeiro, Christian Schaum,
Els Schuman, Sebastian Schwede, Mariangela Soldano,
Anton Taboada, Michel Torrijos, Miriam van Eekert,
Jules van Lier, Isabella Wierinck

February 2, 2021

*Documento #100. Versione del file 1.8. Questo documento è
tratto dalla raccolta dei metodi di BMP standard.* [†]

*citare come: Holliger, C.; Fruteau de Laclos, H.; Hafner, S.D.; Koch, K.; Weinrich, S.; Astals, S.; et al. Requirements for measurement and validation of biochemical methane potential (BMP). Standard BMP Methods document 100, version 1.8. Available online: <https://www.dbfz.de/en/BMP> (accessed on October 7, 2020).

Oppure visitare <https://www.dbfz.de/en/BMP> per un file BibTeX che può essere importato nel software di gestione citazioni.

[†]per maggiori informazioni e per altri documenti, visitare la pagina <https://www.dbfz.de/en/BMP>. Per la cronologia delle versioni e/o proporre delle modifiche visitare la pagina <https://github.com/sashahafner/BMP-methods>.

1 Introduzione

Questo documento riporta i requisiti minimi richiesti per la misura e la validazione del potenziale biochimico metanigeno (BMP) valutato mediante prova in batch, ed esprime il consenso di più di 40 ricercatori esperti di biogas e digestione anaerobica. La lista dei requisiti si basa su quella proposta in [Holliger et al. \[2016\]](#), con alcune recenti modifiche per quanto concerne i criteri di validazione come descritto [Hafner et al. \[2020c\]](#) e dettagli aggiuntivi sulla standardizzazione dei calcoli. Per ulteriori dettagli e raccomandazioni si rimanda alle seguenti pubblicazioni [[Holliger et al., 2016](#), [Hafner et al., 2020c](#)].

2 Requisiti per la misura del BMP

2.1 Analisi del substrato e dell'inoculo

La misura della concentrazione dei solidi volatili (SV) dell'inoculo e del substrato è necessaria sia per poter determinare le rispettive quantità da utilizzare per un fissato rapporto substrato/inoculo, sia per poter calcolare il valore del (BMP). Per ulteriori dettagli sulla misura di ST e SV consultare [EPA \[2001\]](#), as well as [Strach \[2016\]](#) and [Baird et al. \[2017\]](#).

1. Solidi totali (ST). Analisi in triplicato sia per l'inoculo che per il substrato, condotta essiccando i campioni in stufa a 105°C. La misura degli ST è necessaria per poter determinare il contenuto dei solidi volatili (SV).
2. Solidi volatili (SV). Analisi, in triplicato, sia per l'inoculo che per il substrato, condotta per calcinazione a 550°C dei campioni essiccati in precedenza. Il contenuto dei solidi volatili viene determinato dalla perdita di peso.

2.2 Setup del test e durata

1. Campioni. Ogni test BMP deve comprendere tre condizioni: bianco (solo inoculo), controllo positivo (cellulosa microcristallina¹, ed inoculo), e substrato di prova (substrato ed inoculo).
2. Repliche. Ogni test BMP deve includere almeno 3 repliche per ogni condizione². Il numero minimo di reattori batch usati per il test BMP di un substrato è pertanto 9 (3 bianchi, 3 controlli positivi, e 3 substrati di prova).

¹In futuro si potranno usare anche altri controlli positivi [[Koch et al., 2020](#)] ma al momento solo la cellulosa è stata sottoposta ad un ampio set di prove che ha permesso poi di sviluppare i criteri di validazione descritti nella sezione 4 [[Hafner et al., 2020c](#)].

²If a bottle is lost through, e.g., breakage, resulting in $n = 2$ for any condition, results cannot be validated. Therefore it is prudent to include 4 replicates, especially for blanks. Outliers can be eliminated if there is good reason to suspect there was an error in measurement (e.g., leakage) but the remaining number of replicates must be at least 3.

3. Durata. Il test BMP va interrotto solo quando, per ogni singolo reattore, la produzione giornaliera di metano accumulato, per tre giorni consecutivi, è minore dell'1% del volume netto (volume prodotto dal substrato meno il volume medio prodotto dai bianchi) (criterio di fine prova). Per misurazioni manuali o per misurazioni che non vengono eseguite ogni giorno, il test può essere interrotto alla fine del primo intervallo di misure di almeno 3 giorni durante il quale il tasso di produzione è minore dell'1% (oppure 2 o più intervalli di tempo che combinati insieme arrivano almeno a 3 giorni, tutti con tasso minore dell'1%). Se vengono testati diversi substrati contemporaneamente, ogni substrato può essere interrotto quando la più lenta delle 3 repliche soddisfa il criterio di fine prova. I bianchi devono continuare fino a quando il più lento (o l'ultimo) reattore batch con il substrato non soddisfa i criteri di fine prova. Proseguire la prova oltre la durata così determinata è comunque accettabile e può aiutare a garantire che i criteri di validazione siano raggiunti (vedi sezione 4).

3 Calcoli

1. Elaborazione dei dati. Il volume normale di CH_4 (gas secco, 0°C , 101.325 kPa) viene calcolato dai dati di laboratorio usando i metodi standardizzati.³
2. Unità di misura del BMP. Il BMP è espresso pertanto in volume normale di CH_4 per unità di massa di sostanza organica del substrato aggiunta (solitamente quantificata in termini di SV ma a volte anche in termini di COD, domanda chimica di ossigeno); spesso definito come $\text{NmL}_{\text{CH}_4} \text{gsv}^{-1}$.
3. Calcolo del BMP. Il BMP del substrato (così come quello della cellulosa) viene calcolato sottraendo dalla produzione totale del reattore batch con substrato la produzione di metano dell'inoculo (determinata dai bianchi), e normalizzando rispetto alla quantità di SV del substrato. I calcoli devono comunque tenere conto delle eventuali differenze nella quantità di inoculo e di substrato tra i diversi reattori batch. I calcoli devono seguire un approccio standardizzato⁴.
4. Calcolo della deviazione standard del valore di BMP. La deviazione standard, associata ad ogni valore medio ($n \geq 3$) di BMP, deve comprendere la variabilità sia dei bianchi che dei reattori con substrato, insieme all'incertezza della misura dei SV aggiunti⁵.

³Una descrizione dettagliata dei calcoli è disponibile per ogni metodo di misura del metano nella raccolta di metodi standard dei BMP alla pagina (<https://www.dbfz.de/en/BMP>): volumetrico (documento 201) [Hafner et al., 2020f], manometrico (documento 202) [Hafner et al., 2020a], gravimetrico (documento 203) [Hafner et al., 2020g], e tramite densità del gas (documento 204) [Hafner et al., 2020d].

⁴I calcoli per determinare il BMP sono descritti dettagliatamente nel documento 200 [Hafner et al., 2020b].

⁵Vedi documento 200 [Hafner et al., 2020b].

4 Criteri di validazione

I risultati dei BMP che soddisfano tutti i seguenti criteri possono essere considerati “validati”.⁶ Altrimenti i risultati non sono validati, e le prove vanno ripetute.

1. Tutti i requisiti richiesti dal protocollo di misura elencati precedentemente (Sezione 2) sono soddisfatti (incluso la durata) ed i calcoli sono stati eseguiti come descritto nella Sezione 3.
2. Il BMP medio della cellulosa risulta compreso tra 340 and 395 NmL_{CH₄}_{gSV⁻¹}.
3. Il coefficiente di variazione del BMP della cellulosa (inteso come il rapporto tra la deviazione standard, valutata come descritto al punto 3.4, ed il valore medio del BMP) non deve essere maggiore del 6%.

References

- R. B. Baird, A. D. Eaton, and E. W. Rice. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Water Works Association, 2017. ISBN 978-1-62576-240-5.
- EPA. Method 1684 Total, Fixed, and Volatile Solids in Water, Solids, and Biosolids. Technical Report EPA-821-R-01-015, U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Office of Science and Technology Engineering and Analysis Division (4303), Washington DC, 2001. URL https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-10/documents/method_1684_draft_2001.pdf.
- S. D. Hafner, S. Astals, P. Buffiere, N. Løjborg, C. Holliger, K. Koch, and S. Weinrich. Calculation of Methane Production from Manometric Measurements. Standard BMP Methods document 202, version 2.6., 2020a. URL <https://www.dbfz.de/en/BMP>.
- S. D. Hafner, S. Astals, C. Holliger, K. Koch, and S. Weinrich. Calculation of Biochemical Methane Potential (BMP). Standard BMP Methods document 200, version 1.6., 2020b. URL <https://www.dbfz.de/en/BMP>.
- S. D. Hafner, H. Fruteau de Laclos, K. Koch, and C. Holliger. Improving Inter-Laboratory Reproducibility in Measurement of Biochemical Methane Potential (BMP). *Water*, 12(6):1752, June 2020c. doi: 10.3390/w12061752. URL <https://www.mdpi.com/2073-4441/12/6/1752>.

⁶I criteri elencati sopra sono duplicati nel documento 101 [Hafner et al., 2020e], creato appositamente per reperire i criteri richiesti più facilmente.

- S. D. Hafner, C. Justesen, R. Thorsen, S. Astals, C. Holliger, K. Koch, and S. Weinrich. Calculation of Methane Production from Gas Density-Based Measurements. Standard BMP Methods document 204, version 1.6., 2020d. URL <https://www.dbfz.de/en/BMP>.
- S. D. Hafner, K. Koch, H. Fruteau de Laclos, and C. Holliger. Validation criteria for measurement of biochemical methane potential (BMP). Standard BMP Methods document 101, version 1.0., 2020e. URL <https://www.dbfz.de/en/BMP>.
- S. D. Hafner, N. Løjborg, S. Astals, C. Holliger, K. Koch, and S. Weinrich. Calculation of Methane Production from Volumetric Measurements. Standard BMP Methods document 201, version 1.9., 2020f. URL <https://www.dbfz.de/en/BMP>.
- S. D. Hafner, B. K. Richards, S. Astals, C. Holliger, K. Koch, and S. Weinrich. Calculation of Methane Production from Gravimetric Measurements. Standard BMP Methods document 203, version 1.1., 2020g. URL <https://www.dbfz.de/en/BMP>.
- C. Holliger, M. Alves, D. Andrade, I. Angelidaki, S. Astals, U. Baier, C. Bougrier, P. Buffière, M. Carballa, V. de Wilde, F. Ebertseder, B. Fernández, E. Ficara, I. Fotidis, J.-C. Frigon, H. Fruteau de Laclos, D. S. M. Ghasimi, G. Hack, M. Hartel, J. Heerenklage, I. Sarvari Horvath, P. Jenicek, K. Koch, J. Krautwald, J. Lizasoain, J. Liu, L. Mosberger, M. Nistor, H. Oechsner, J. V. Oliveira, M. Paterson, A. Pauss, S. Pommier, I. Porqueddu, F. Raposo, T. Ribeiro, F. Rüsch Pfund, S. Strömberg, M. Torrijos, M. van Eekert, J. van Lier, H. Wedwitschka, and I. Wierinck. Towards a standardization of biomethane potential tests. *Water Science and Technology*, 74(11):2515–2522, 2016. doi: 10.2166/wst.2016.336.
- K. Koch, S. D. Hafner, S. Astals, and S. Weinrich. Evaluation of Common Supermarket Products as Positive Controls in Biochemical Methane Potential (BMP) Tests. *Water*, 12(5):1223, May 2020. doi: 10.3390/w12051223. URL <https://www.mdpi.com/2073-4441/12/5/1223>.
- K. Strach. Determination of total solids (dry matter) and volatile solids (organic dry matter). In J. Liebetrau, D. Pfeiffer, and D. Thrän, editors, *Collection of Methods for Biogas*. DBFZ, Leipzig, Germany, 2016. URL <https://www.dbfz.de/projektseiten/chinares/downloads/>.