



## Ricerca di Sistema elettrico

# Sistemi per la produzione di microalghe a fini di riciclo di digestato e fornitura di biomassa per biogas

*F. Barbato, M. De Mei, S. Orlandini, V. Pignatelli*

## SISTEMI PER LA PRODUZIONE DI MICROALGHE A FINI DI RICICLO DI DIGESTATO E FORNITURA DI BIOMASSA PER BIOGAS

Barbato F., De Mei M., Orlandini S., Pignatelli V. (ENEA)

Settembre 2013

Report Ricerca di Sistema Elettrico

Accordo di Programma Ministero dello Sviluppo Economico - ENEA

Piano Annuale di Realizzazione 2012

Area: Produzione di energia elettrica e protezione dell'ambiente

Progetto: Sviluppo di sistemi per la produzione di energia elettrica da biomasse e l'upgrading dei biocombustibili

Obiettivo: Sviluppo dei sistemi di produzione di biocombustibili

Responsabile del Progetto: Vito Pignatelli, ENEA

Si ringraziano i colleghi Euro Cogliani per le informazioni sui dati meteo del sito, Marinella Broglia per le prove preliminari di produzione di biogas da parte della biomassa microalgale effettuate in laboratorio e Antonio Lioi per la registrazione delle temperature nelle colture.

## Indice

SOMMARIO.....	4
1 INTRODUZIONE.....	5
1.1 PRODUZIONE DEL BIOGAS, CENNI.....	5
1.2 INFORMAZIONI DI BASE SULLE MICROALGHE.....	6
2 DESCRIZIONE DELLE ATTIVITÀ SVOLTE E RISULTATI.....	8
2.1 APPROCCIO TEORICO.....	8
2.1.1 Selezione del ceppo microalgale utilizzato.....	9
2.1.2 Selezione delle tecnologie colturali.....	9
2.2 APPROCCIO PRATICO.....	9
2.2.1 Descrizione dell'apparato sperimentale.....	9
2.2.2 Descrizione delle tecniche di coltivazione all'aperto.....	9
2.2.3 Analisi chimiche varie.....	11
2.3 RISULTATI.....	11
3 CONCLUSIONI.....	17
RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI.....	18

## Sommario

Nel presente documento vengono descritti studi e attività sperimentali riguardanti la coltivazione di microalghe avente come fine il riciclo di digestato liquido proveniente da un impianto a biogas, nonché la produzione di biomassa algale semiliquida utile ad essere anch'essa impiegata per la produzione di biogas. L'impianto di biogas da cui è originato il digestato impiegato è situato all'interno di una fattoria (Palombini) dedicata alla produzione di latte di mucca, nel territorio di Nepi (Vt). La sperimentazione è avvenuta, tramite l'utilizzo di contenitori e tecniche colturali di vario tipo, all'interno del C.R. ENEA della Casaccia.

Gli obiettivi del presente lavoro sono così riassumibili:

- Studi per definire lo stato dell'arte delle ricerche sulla produzione di biogas tramite microalghe.
- Utilizzo di digestato liquido, proveniente da processi di digestione anaerobica per la produzione di biogas, come fertilizzante per la crescita di microalghe. La biomassa microalgale ottenuta, oltre a riciclare elementi nutrienti contenuti nel digestato, può essere a sua volta impiegata per alimentare il digestore anaerobico e così contribuire alla produzione di ulteriore biogas.
- Utilizzo di sistemi di produzione microalgale "low cost", ovvero che impieghino materiali di ridotto valore economico e possibilmente riciclabili o riusabili, nonché processi produttivi a basso consumo energetico.

# 1 Introduzione

Appare opportuno, ai fini di introdurre i temi del lavoro descritto in queste note, riportare alcuni cenni relativi ai processi per la produzione di biogas, nonché alcune informazioni di base sulle microalghe, propedeutiche alle considerazioni introduttive vere e proprie sul lavoro svolto.

## 1.1 Produzione del biogas, cenni

Il processo di digestione anaerobica per la produzione di biogas avviene in grossi contenitori a tenuta, chiamati digestori, che vengono continuamente rimescolati e generalmente riscaldati per velocizzare il processo produttivo. Una volta posta la biomassa all'interno dei digestori, questa viene attaccata da batteri anaerobici che ne determinano la trasformazione in biogas e residui secondo un processo che può essere suddiviso in 4 fasi. Nella prima fase, detta di idrolisi, i batteri spezzano le grandi macromolecole di cui è costituita la biomassa e le trasformano in composti organici semplici; successivamente si ha la fase dell'acidogenesi nella quale si ha la produzione di acidi grassi volatili e alcol; nella fase dell'acetogenesi, poi, tali composti sono convertiti dai batteri in acido acetico, con una parallela produzione di idrogeno; da ultimo vi è la fase della metanogenesi, nella quale l'acido acetico viene convertito in metano.

In Figura 1 è rappresentata una schematizzazione dell'intero processo di digestione anaerobica sulla quale sono specificati anche i prodotti di reazione intermedi.

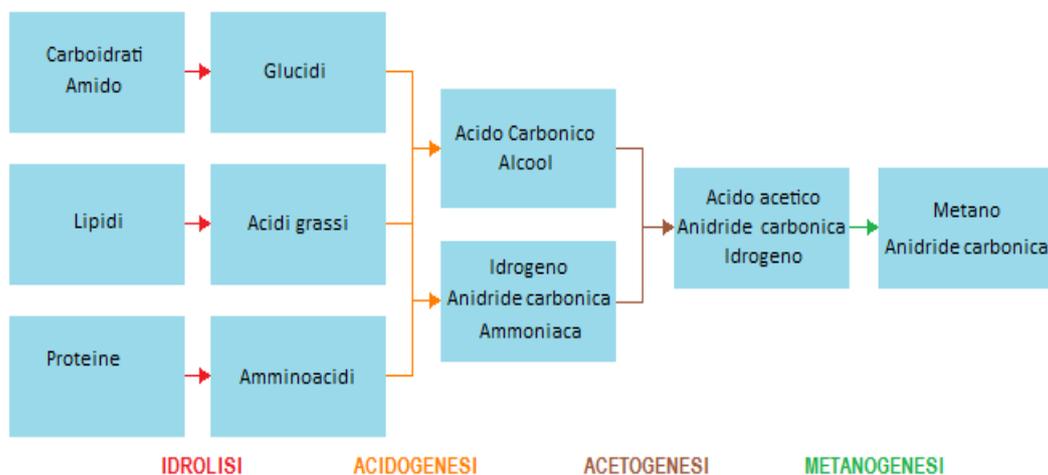


Figura 1. Schematizzazione delle fasi del processo di digestione anaerobica

Nella fase di idrolisi gli enzimi prodotti dai microorganismi anaerobici spezzano le grandi catene componenti la biomassa in composti semplici secondo tre reazioni principali:

- Lipidi Acidi grassi, glicerolo
- Polisaccaridi (amido, cellulosa) Monosaccaridi
- Proteine Amminoacidi

La velocità dell'intero processo di decomposizione è determinata dalla fase più lenta della catena, che generalmente è proprio la fase di idrolisi.

## 1.2 Informazioni di base sulle microalghe

Nel panorama mondiale delle innovazioni più promettenti per il settore delle fonti rinnovabili di energia, un ruolo di primo piano è ricoperto dalla valorizzazione a fini energetici delle microalghe, con numerosi gruppi di ricerca pubblici e privati, impegnati a migliorare i processi produttivi connessi alla coltivazione di questa categoria di microorganismi acquatici e al loro impiego per la produzione di energia e/o biocombustibili.

Le microalghe, note anche come fitoplancton, sono organismi microscopici unicellulari acquatici. Le loro dimensioni possono variare da alcuni micrometri ad alcune centinaia di micrometri. Si possono presentare sia singolarmente sia aggregate in varie forme.

Fra le caratteristiche di interesse delle microalghe, la più importante è l'elevatissima efficienza di produzione, dovuta al fatto che ogni singola cellula microalgale è fotosinteticamente attiva, contrariamente a quanto accade per le piante vascolari, nelle quali solo una parte delle cellule è adibita alla fotosintesi. Inoltre, le alghe sono direttamente a contatto con i nutrienti presenti nel mezzo acquoso in cui crescono, mentre nelle piante vascolari questi debbono essere trasportati attraverso steli e radici con conseguente impiego di tempo ed energia. Si stima che la produttività delle alghe per anno e per ettaro sia dalle 5 alle 30 volte superiore a quella delle piante terrestri [1].

Le loro molto interessanti prerogative purtroppo si accompagnano a diverse problematiche che hanno a tutt'oggi impedito uno sfruttamento adeguato del loro potenziale, nonostante diversi decenni di ricerca e sviluppo e la relativa pubblicazione di migliaia di lavori scientifici.

Esistono infatti ancora diversi punti critici da affrontare prima di poter realizzare produzioni energetiche economiche che vadano oltre stime più o meno ottimistiche ottenute da esperienze realizzate su scala limitata o, peggio, solo da calcoli teorici basati su estrapolazioni di risultati di laboratorio. Su questi aspetti di ampliamento della scala operativa si attendono ancora risultati consolidati da parte del mondo della ricerca, anche in termini di definizione dei prodotti energetici maggiormente convenienti.

Tra tutti i possibili biocombustibili che possono essere ricavati dalle microalghe si è dunque scelto di studiare il biogas, in quanto questo rappresenta un prodotto energetico già piuttosto diffuso in Italia, di relativamente facile produzione, flessibile e che non richiede impianti complessi quali le raffinerie, necessarie per la produzione, ad esempio, di biodiesel. Inoltre, previa opportune purificazioni, può rappresentare un sostituto del gas metano naturale, prendendo il nome di biometano ed essere impiegato anche a fini di autotrazione. Le microalghe risultano adatte per essere sottoposte a digestione anaerobica a causa dell'assenza di lignina, che è un composto organico difficile da digerire molto spesso presente in matrici vegetali di origine terrestre [1, 2].

Nel presente lavoro le microalghe sono state in parte fertilizzate ricorrendo al digestato liquido, ovvero un sottoprodotto della digestione anaerobica, che contiene elementi fertilizzanti maggiori e minori, oltre a un particolato organico di dimensioni microscopiche. In questo modo si tende ad effettuare un riciclo di nutrienti che consente da un lato la riduzione dello spargimento del digestato su suoli agricoli, mezzo di utilizzazione attualmente più diffuso, dall'altro di creare nuova biomassa per alimentare il digestore e produrre nuovo biogas.

Vi sono tuttavia, come già accennato, aspetti che risultano essere ancora problematici nell'ambito di una coltivazione di microalghe su scala commerciale. In particolare, la difficoltà di penetrazione nel mercato energetico è determinata sia dalla spesa energetica necessaria in ogni singola fase del processo produttivo: coltivazione, raccolta, pretrattamento (separazione dal mezzo di coltura e concentrazione), sia dal costo delle infrastrutture dedicate relative al processo di produzione di energia. Un ulteriore problema si riscontra nella difficoltà di ottenere una coltura monospecifica che non sia contaminata da specie estranee concorrenti oppure consumata da organismi animali che se ne alimentano. Quest'ultimo problema appare largamente sottovalutato, soprattutto per realizzazioni in climi temperati all'aperto.

A questo proposito, un aspetto favorevole del biogas ottenuto da microalghe riguarda il fatto che il processo produttivo può essere attuato anche con una biomassa non particolarmente pura. Infatti, può essere sottoposta a digestione anaerobica anche una coltura microalgale che sia stata esposta ad un certo grado di contaminazione; in questo caso potranno variare, non necessariamente in peggio, le rese in metano, ma la produzione non risulterebbe irrimediabilmente persa. Ne consegue che la coltivazione della

biomassa microalgale ai fini della digestione anaerobica può essere effettuata con successo anche in vasche all'aperto, da cui deriverebbe un possibile importante risparmio nei costi di produzione. Inoltre le strutture necessarie all'ottenimento del biogas (digestori anaerobici, motori a combustione) sono in genere già piuttosto diffusi sul territorio nazionale in impianti di taglia relativamente piccola, spesso collegati ad aziende agro-zootecniche o del ciclo dei rifiuti.

In Tabella 1 vengono presentati alcuni dati di letteratura riguardanti prove di produzione di biogas in laboratorio a partire da differenti matrici microalgali.

**Tabella 1. Biogas da differenti matrici microalgali**

Substrato	T (°C)	HRT <sup>22</sup> (day)	Loading rate (g <sub>dry</sub> /Lday)	Resa <sub>CH<sub>4</sub></sub> L <sub>CH<sub>4</sub></sub> /g <sub>dry</sub>	CH <sub>4</sub> (%)
Fango di Chlorella sc.	35-50	30	1.44-2.89	0.17-0.32	64
Spirulina	35	28	1	0.42	72
Dunaliella	35	28	0.91	0.32	
Tetraselmis	35	14	2	0.31	72
Tetraselmis (dry)	35	14	2	0.26	72-74
Tetraselmis (dry)+NaCl 35g/l	35	14	2	0.25	72-74
Chlorella vulg.	28-31	64		0.31-0.35	68-75
Spirulina max.	35	33	0.97	0.26	68-72
Chlorella-Scenesmus	35	10	2-6	0.09-0.136	69

Fonte: [3]

Specie	CH <sub>4</sub> S1 <sup>24</sup> (kJ/g)	CH <sub>4</sub> S2 <sup>25</sup> (kJ/g)	Lipidi S2 (kJ/g)	Energia tot S2 (kJ/g)	S2-S1 (kJ/g)
C.vulgaris	23.0	20.1	6.6	26.7	3.7
C. v. LOW N <sup>26</sup>	24.9	17.2	14.7	32.0	7.1
C. emersonii	26.4	22.4	10.7	33.1	6.6
C. em. LOW N	33.1	27.6	23.2	50.8	17.7
C. protothecoides	23.4	21.8	4.1	25.8	2.4
C. prot. LOW N	25.5	22.2	8.5	30.7	5.2

Fonte: [4]

I concetti alla base delle prove sperimentali realizzate nell'ambito del presente lavoro sono:

- La localizzazione prevalentemente in campo, ovvero all'aperto, delle colture microalgali. Con il corollario della vicinanza alle supposte condizioni produttive reali, piuttosto che a quelle "artificiali" di laboratorio, improponibili per impianti commerciali.
- L'utilizzo di volumi di coltura significativi, a partire dalle decine di litri per arrivare ai metri cubi.
- L'utilizzo di tecnologie produttive "low cost" e di riutilizzo e riciclo di materiali e sottoprodotti di cicli produttivi associati. Es. bottiglie di PET, sacchi di polietilene, piscine fuori terra in plastica, azoto, fosforo e nutrienti minori derivati dal digestato liquido di impianti a biogas.

## 2 Descrizione delle attività svolte e risultati

### 2.1 Approccio teorico

Nel presente ambito di sperimentazione sono stati effettuati una serie di studi su pubblicazioni attinenti le tematiche di interesse e si è così giunti a evidenziare alcune considerazioni teoriche che hanno fornito i presupposti su cui basare la successiva sequenza di prove sperimentali. Naturalmente, oltre agli studi, hanno contribuito alla realizzazione di queste ultime le esperienze maturate nel corso degli anni presso i laboratori ENEA in cui è proseguita la pratica delle coltivazioni microalgali.

Nell'ambito di recenti progetti di ricerca attinenti le tematiche qui trattate, è da segnalare il progetto europeo Biowalk4Biofuels, in fieri, che tratta dell'utilizzo di macroalghe marine per la produzione di biometano. Di tale progetto non sono ancora disponibili risultati operativi e comunque la matrice utilizzata comporta problematiche piuttosto diverse da quella impiegata nel presente lavoro.

Dall'esame della letteratura più recente, emerge che può verificarsi qualche difficoltà nella degradazione fermentativa della intera biomassa microalgale, soprattutto per alcune specie, quali *Scenedesmus obliquus* [5] e *Chlorella vulgaris* [6]; in tali lavori peraltro l'HRT, Hydraulic Retention Time, ovvero il tempo di ritenzione idraulica all'interno del digestore, pare sottostimato rispetto a quanto verificato nella gestione reale di impianti produttivi. Occorre comunque considerare sia condizioni di sviluppo produttivo, sia eventuali pretrattamenti a monte della digestione anaerobica, atti ad ottimizzare le rese in biogas, nel caso ci sia evidenza di tassi di degradazione troppo contenuti. Collet et al. [7] hanno realizzato uno studio di LCA sulla produzione di energia per motori a combustione interna (biometano) e calore da biogas ottenuto mediante biomassa microalgale. In Figura 2 se ne riporta uno schema di flusso con i principali sotto processi e alcuni dati quantitativi associati.

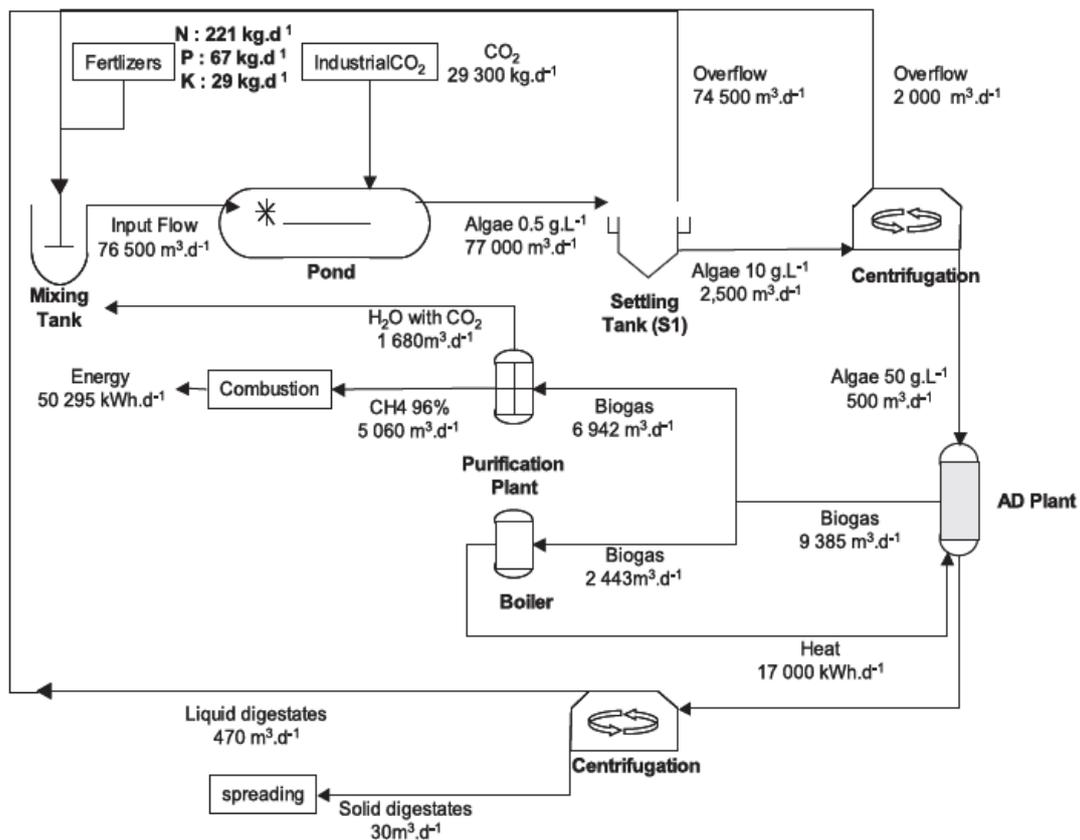


Figura 2. Schema di flusso di produzione energia elettrica e calore da biogas ottenuto con microalghe [7]

Tale lavoro è basato su raccolte di dati teorici, essendo, come del resto ben evidenziato nel testo, un LCA di prospettiva, relativo ad un processo ancora non esistente nella realtà produttiva. Tuttavia, anche con dati immessi verosimilmente conservativi, il processo risulta competitivo sotto molti aspetti rispetto alla produzione di biodiesel da microalghe.

### 2.1.1 Selezione del ceppo microalgale utilizzato

Lo *Scenedesmus dimorphus*, UTEX 1237, specie microalgale utilizzata per le prove sperimentali, è cosmopolita di acqua dolce, dalla forma a fuso, spesso unita in quartetti attaccati per la parte centrale del fuso stesso. Ha caratteristiche di buona produttività, robustezza e facilità di coltura, risentendo relativamente poco delle contaminazioni di altre specie microalgali e sopravvivendo a range di temperatura piuttosto estesi. Lo *Scenedesmus* è stato scelto proprio per le succitate caratteristiche, individuate e verificate nel corso di alcuni anni di esperienza di coltivazione presso i laboratori del C.R. ENEA Casaccia, caratteristiche per le quali si è dimostrato superiore a tutti gli altri ceppi di acqua dolce testati [8]. Per contro, specie dello stesso genere, quali il già citato *Scenedesmus obliquus*, hanno evidenziato problemi nella degradazione fermentativa anaerobica rispetto ad altre specie microalgali dalle pareti meno robuste [5]. Tali proprietà dovranno essere investigate per la specie testata.

### 2.1.2 Selezione delle tecnologie colturali

Lo studio preliminare ha contemplato l'esame di svariate pubblicazioni di autori quali Tredici [9], Chisti [10], Rodolfi [11], Sheehan [12], Benemann [13], Becker [14], Schenk [1] , Torzillo [15], Sialve [16], solo per citarne alcuni tra i più preminenti. L'esperienza realizzata nel corso di circa trent'anni di uso delle microalghe nel team operativo, ha poi contribuito alla definizione finale delle realizzazioni pratiche.

## 2.2 Approccio pratico

### 2.2.1 Descrizione dell'apparato sperimentale

Le colture microalgali sono state realizzate in contenitori di crescente volume, come raccomandato in tutte le procedure più diffuse. Il contenitore di laboratorio di partenza è la provetta sterile di plastica trasparente monouso, dotata di tappo e fondo conico, da 30 ml, ospitante una coltura di ca 20 ml in condizioni statiche, posta su un bancone illuminato da luce al neon e a temperatura ambiente. Segue una bottiglia di plastica PET da 1 l, tipicamente utilizzata per il latte, debitamente pulita e sterilizzata, riempita dapprima per 1/3 – 1/2, munita di areazione tramite una cannucchia sterile infilata attraverso il coperchio, in cui si pratica anche un piccolo foro di sfiato. Segue ancora una bottiglia PET da 2l, tipicamente utilizzata per acqua minerale, anch'essa con areazione ottenuta come in precedenza e posta su bancone illuminato; un ulteriore volume è costituito da contenitori in PET da 5 l, tipicamente utilizzati per il vino e adattati con gli stessi accorgimenti di cui sopra. Ai fini del presente lavoro verranno tuttavia trattate solo le colture realizzate all'aperto, che comprendono i volumi più elevati, descritte di seguito.

### 2.2.2 Descrizione delle tecniche di coltivazione all'aperto

Le coltivazioni all'aperto, oggetto del presente lavoro, sono state realizzate principalmente in sacchi trasparenti di polietilene a bassa densità. Tali sacchi possono avere diametri e lunghezze diversi, con conseguenti volumi utili diversi. Vengono generalmente appesi in verticale, tramite una cordicella che fa presa su un nodo semplice realizzato con la parte apicale del sacco, da un qualsiasi supporto in grado di

sostenerne il peso, previa saldatura termica sul fondo o con l'eventuale variante di un ripiegamento a forma di V per aumentare il volume ed evitare la saldatura. L'aerazione/agitazione è assicurata da tubicini/cannucce che portano l'aria nella zona inferiore del sacco, da cui questa si propaga velocemente sotto forma di bolle fino alla superficie del mezzo di coltura, agitando ed omogeneizzando la stessa, oltre a provvedere agli scambi gassosi. Tale agitazione consente inoltre una esposizione relativamente omogenea alla luce solare delle singole cellule fotosintetiche della coltura. L'aria immessa, proveniente da un aeratore posto al riparo della luce solare diretta, consente di evitare aumenti localizzati di temperatura che altrimenti avverrebbero in condizioni di stagnazione. I flussi d'aria utilizzati per ciascun sacco erano di 0,17 - 0,2 l/sec. Sulla cima del sacco, nella zona sopra la lama d'acqua, viene effettuato un piccolo taglio richiudibile mediante nastro adesivo, per garantire l'immissione e l'emissione di aria, oltre alla possibilità di effettuare misurazioni e di prelevare campioni. I sacchi della serie 5 e 8 avevano diametro di 12,7 cm, tutti gli altri di 22 cm.

I mezzi di coltura erano composti di:

- Acqua dolce da condotta di centro, sterilizzata chimicamente mediante l'impiego di ipoclorito di sodio allo 0,4<sup>0</sup>/<sub>00</sub>, tamponato dopo qualche ora con lo stesso quantitativo di una soluzione madre di tiosolfato di sodio disciolto a 125 g/l in acqua distillata.
- Concime liquido commerciale per piante ornamentali con un rapporto 7:5:6 di NPK e con nutrienti minori ed EDTA per chelare i metalli, utilizzato normalmente, quando unica fertilizzazione, all'1<sup>0</sup>/<sub>00</sub> in volume.
- Concentrazioni variabili tra il 2 e il 15<sup>0</sup>/<sub>00</sub> di digestato liquido, conservato a temperatura ambiente non ermeticamente per via dell'ulteriore produzione di gas che mette in pressione il recipiente. In alcuni casi la fertilizzazione era a base di solo digestato, in altri si integrava con lo 0,5<sup>0</sup>/<sub>00</sub> di concime liquido commerciale.

Gli inoculi utilizzati consistevano in colture mature di *S. dimorphus*, a concentrazioni intorno a 1 g/l di sostanza secca. Si sono utilizzati rapporti di ca 1/10 tra inoculo e mezzo di coltura nuovo.

Una ulteriore prova è stata realizzata utilizzando una piscina fuori terra di dimensioni 3x2x0,66m (Lu, La, Al). Tale contenitore è stato attrezzato con pannello divisore interno in carbonato che consentiva il realizzarsi di un movimento a circuito della coltura e di sostenere un telo di plastica trasparente di copertura. Per attivare la movimentazione della coltura si è fatto uso di un air lift a pannello obliquo autocostruito in perspex trasparente, alimentato da un aeratore da 30 W.

La lama d'acqua di partenza era di 27 cm, pari a un volume di coltura di 1620 litri. L'inoculo è stato effettuato mediante 3 sacchi da 30 litri, per un totale di ca 90l di coltura matura di *Scenedesmus dimorphus*. La fertilizzazione è consistita in concime liquido commerciale allo 0,5<sup>0</sup>/<sub>00</sub> e in 5,5 litri di digestato liquido, pari al 3,4<sup>0</sup>/<sub>00</sub> del volume di coltura.

Da rilevare che nelle sperimentazioni qui descritte non si è fatto uso di CO<sub>2</sub> aggiunta, ovvero la CO<sub>2</sub> disponibile alle colture era quella atmosferica immessa dal sistema di aereazione, pari allo 0,03% in volume di aria.

I parametri misurati sono stati: temperatura giornaliera dell'aria minima, massima e media, radiazione solare in forma di flusso fotonico fotosinteticamente attivo giornaliero medio (PPF), temperatura del mezzo di coltura con medie giornaliere basate su rilevazioni ogni 15 minuti mediante sonda e data logger Tinytag, pH, Ossigeno disciolto, Conducibilità, Solidi Totali Disciolti. Gli ultimi 4 parametri con rilevazioni spot effettuate mediante sonda portatile multiparametrica mod. Hanna HI929828. I dati meteorologici provenivano dalla centralina ENEA posta presso il C.R. Casaccia in area Capanna, distante ca 100 m dall'installazione delle prove con le microalghe.

Le rese sono state determinate mediante l'ottenimento del dato di sostanza secca totale, effettuato aggiungendo la resa del decantato e quella delle acque di risulta dopo decantazione. Il volume di riferimento è stato quello finale, in genere leggermente più basso di quello iniziale per via dell'evaporazione.

### 2.2.3 Analisi chimiche varie

Si rimanda per questi aspetti alla relazione specifica dell'unità del prof. Bianco dell'Università La Sapienza di Roma. Si accenna in questa sede che i dati principali hanno compreso composizione della biomassa microalgale (proteine, lipidi, carboidrati, solidi volatili e ceneri), composizione delle acque di risulta (nutrienti NPK) e composizione del digestato (nutrienti NPK, solidi volatili, ceneri). Tali analisi risultano utili a comprendere le capacità depurative delle microalghe e i migliori tassi di diluizione e gli eventuali mix tra fertilizzanti.

Prove preliminari di produzione di biogas da parte della biomassa microalgale sono state effettuate presso il C.R. ENEA Casaccia.

## 2.3 Risultati

I dati riferiti ai campioni analizzati indicati in Tabella 2, ed i cui risultati sono riportati in Figura 3 e Figura 4, mostrano rese diverse in rapporto a periodi temporali diversi, oltre che a mezzi di coltura e contenitori diversi. Standardizzando per rese giornaliere (Figura 4), le differenze risultano meno accentuate.

Tali rese peraltro, risultano in linea con quanto ottenuto nelle prove di laboratorio recentemente svolte da Li Xin et al. [17] con *Scenedesmus sp.* per definire rapporti ottimali tra N e P in funzione delle rese produttive. L'alta resa giornaliera del sacco 8A può essere spiegata sia per il ridotto diametro del sacco, che favorisce una migliore penetrazione del flusso fotonico all'interno della coltura, sia per la maggiore media di flusso fotonico beneficiata tra tutti i periodi considerati.

Dai dati riportati in Figura 7 infatti, il fattore PPF, ovvero il flusso fotonico fotosintetico medio giornaliero, sembrerebbe molto importante per uno sviluppo soddisfacente della coltura, come del resto già ben evidenziato ad es. in [9]. Per contro, le temperature mediamente più alte registrate nei mesi di luglio e agosto (Figura 5 e Figura 6) non sembrerebbero favorire la produttività delle colture. I limiti superiori di tolleranza alle temperature delle colture nelle condizioni sperimentate, oltre le quali le colture di *Scenedesmus dimorphus* testate muoiono, sono risultate attorno ai 42 °C.

**Tabella 2. Prospetto dei contenitori analizzati**

PROSPETTO CONTENITORI ANALIZZATI										
ID CONTEN.	TIPO	DIGESTATO	INIZIO	FINE	DURATA	LITRI INI	LITRI FIN	RESA	RESA TOT	RESA/DIE
	CONTENITORE	per mille			giorni	l	l	g/l	g	g/l
	diam. - misure con/senza integr.									
8A	sacco 12,7cm	2 con	07-giu	20-giu	13	8	7	0,78	5,47	0,0600
25A	sacco 22cm	0	20-giu	12-lug	22	25	8	1,29	10,32	0,0586
25B	sacco 22cm	2 con	20-giu	08-lug	18	25	24	0,96	23,05	0,0533
25C	sacco 22cm	5 con	20-giu	08-lug	18	25	24	0,65	15,63	0,0361
35A	sacco 22cm	0	10-lug	19-lug	9	32	31	0,21	6,7	0,0233
35C	sacco 22cm	10 senza	10-lug	19-lug	9	33	32	0,18	5,82	0,0200
35D	sacco 22cm	15 senza	10-lug	19-lug	9	33	32	0,22	7,14	0,0244
26A	sacco 22cm	0	19-lug	30-lug	11	29	28	0,39	10,37	0,0355
26B	sacco 22cm	5 con	19-lug	30-lug	11	29	28	0,36	10	0,0327
26C	sacco 22cm	10 con	19-lug	30-lug	11	30	29	0,42	12,64	0,0382
PISC1	pisc.3x2x0,6m	3,4 con	23-ago	06-set	14	1620	2070	0,31	646,1	0,0221

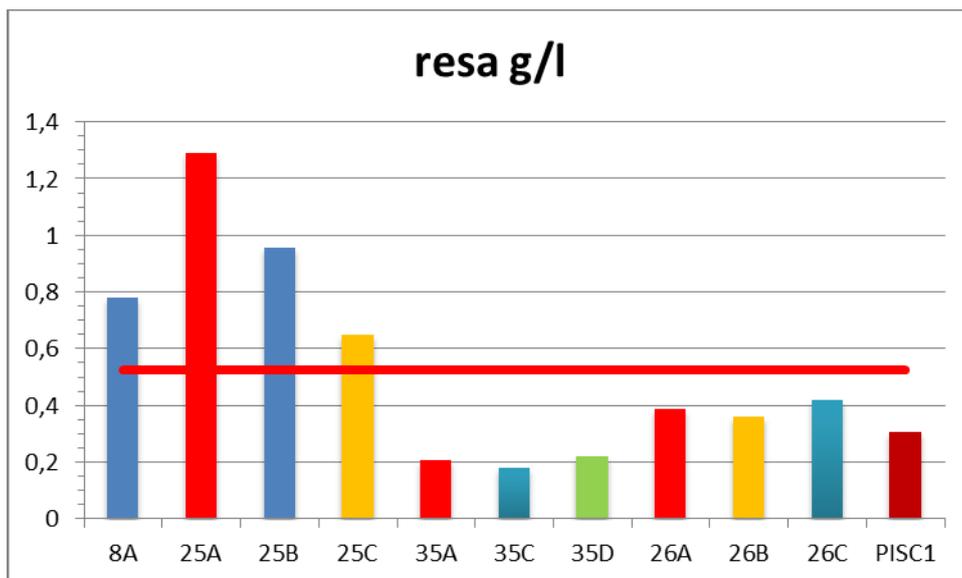


Figura 3. Rese dei contenitori in g/l; media linea in rosso

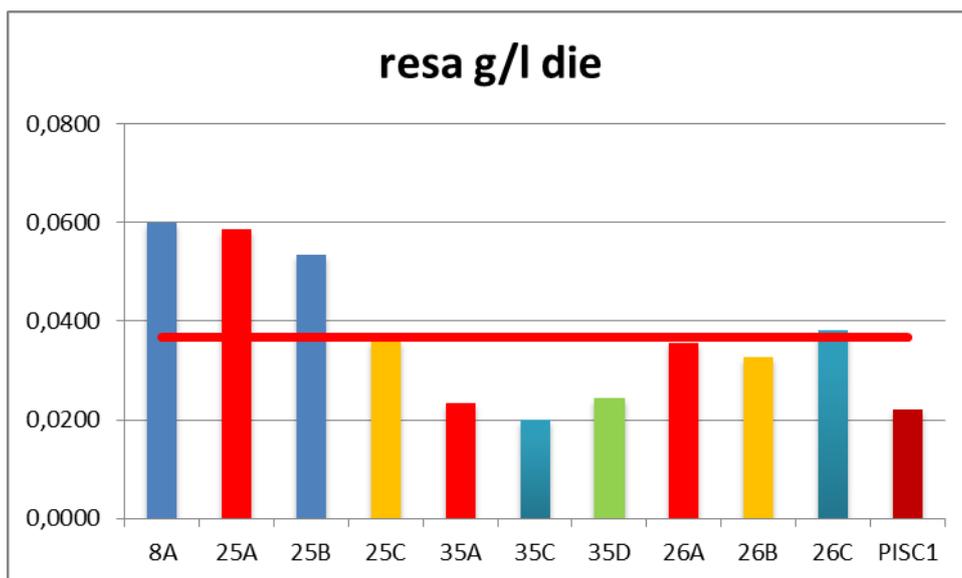


Figura 4. Rese dei contenitori giornaliera, in g/l; media linea in rosso

Riguardo alle fertilizzazioni, sembra che le integrazioni del digestato con lo 0,5<sup>0</sup>/<sub>00</sub> di concime liquido commerciale abbiano determinato nel complesso rese migliori rispetto al digestato somministrato da solo, anche per concentrazioni elevate di quest'ultimo, come 10 e 15<sup>0</sup>/<sub>00</sub>. In effetti a tali concentrazioni, il mezzo di coltura acquista colorazioni molto scure, che incidono evidentemente in maniera negativa sulla trasmissione della luce attraverso la coltura, per cui occorre trovare il miglior equilibrio tra disponibilità di nutrienti, alti tassi di depurazione e propagazione della luce. Occorre comunque sottolineare che la specie testata non ha mai, nemmeno alle concentrazioni più elevate, apparentemente risentito di effetti tossici da parte del digestato liquido. Come già accennato, la ridotta produttività sembrerebbe maggiormente ascrivibile alla ridotta propagazione della luce.

La piscina (Pisc1) è stata inoculata il 23 agosto e raccolta il 6 settembre, dopo 14 giorni di coltura. Il volume interno è aumentato in relazione a immissioni di acqua piovana durante concomitanti condizioni ventose che hanno parzialmente e temporaneamente spostato la copertura. Il volume finale è risultato essere di 2070 litri, con un incremento del 22% rispetto ai valori iniziali, di cui sono stati raccolti 85 litri di decantato e

1985 litri di acqua di risulta. Ovviamente le rese hanno risentito negativamente di questa eventualità, pur mantenendosi su valori accettabili, comparabili coi valori più contenuti ottenuti coi sacchi.

La decantazione, effettuata dal 4 al 6 settembre, ha ottenuto una ottima separazione della biomassa dall'acqua di risulta, probabilmente anche in relazione ad una certa sedimentazione già avvenuta nel corso della coltura, grazie all'agitazione continua di bassa intensità.

Da rilevare che la biomassa ottenuta con la decantazione, conservata a temperatura ambiente per ca 10 giorni in bidoni di plastica con tappo appoggiato, ha dato luogo a fermentazione anaerobica nella parte inferiore dei bidoni, con sviluppo del classico odore del digestato. Un campione di tale biomassa è stato utilizzato per analisi sulla produzione di biogas. Esami microscopici della biomassa hanno mostrato la presenza preponderante di Scenedesmus, con elementi mobili vari (protozoi) e molta massa decomposta attaccata da abbondanti batteri. Macroscopicamente, erano presenti, oltre a residui di insetti vari, anche vermi di colore rosso, per ora non identificati.

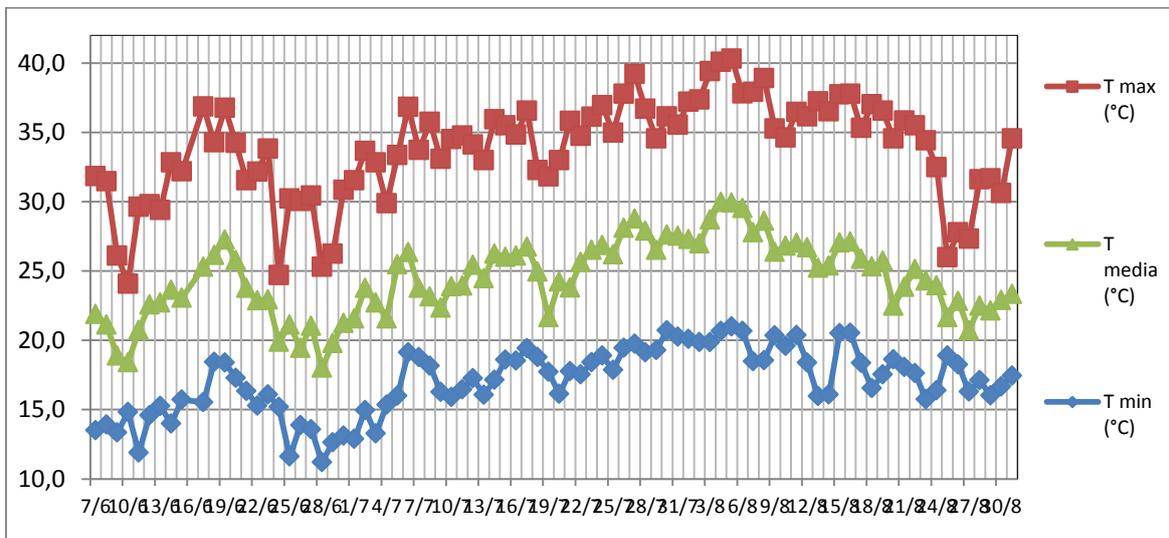


Figura 5. Temperature dell'aria

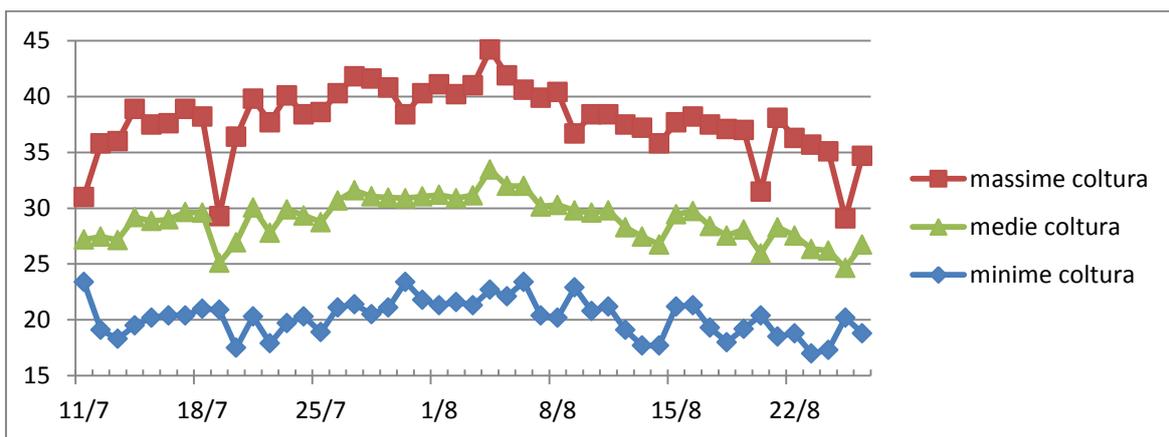


Figura 6. Temperature delle colture

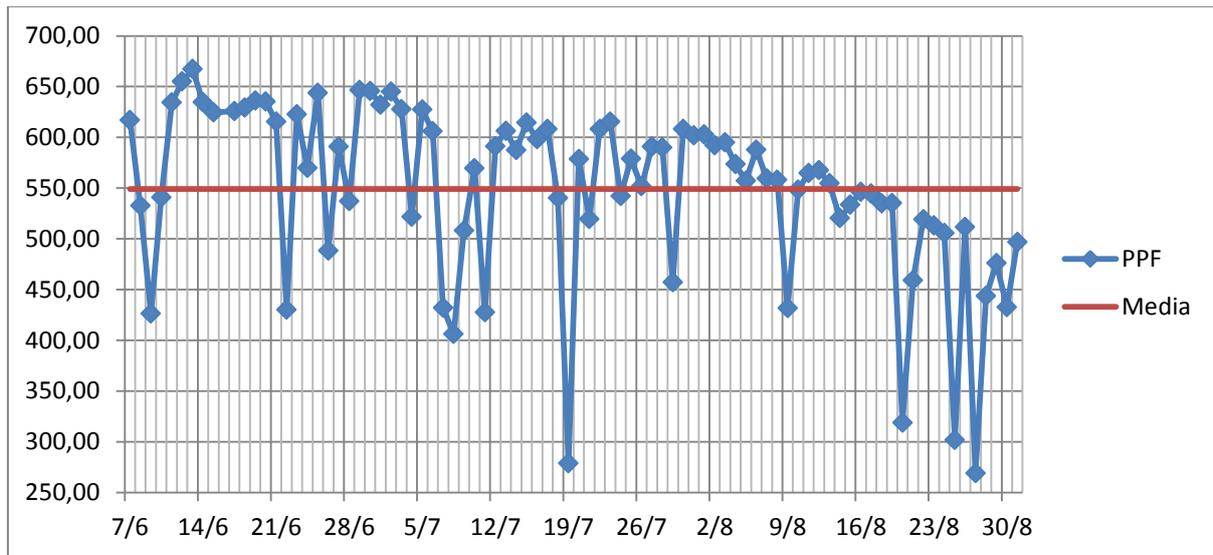


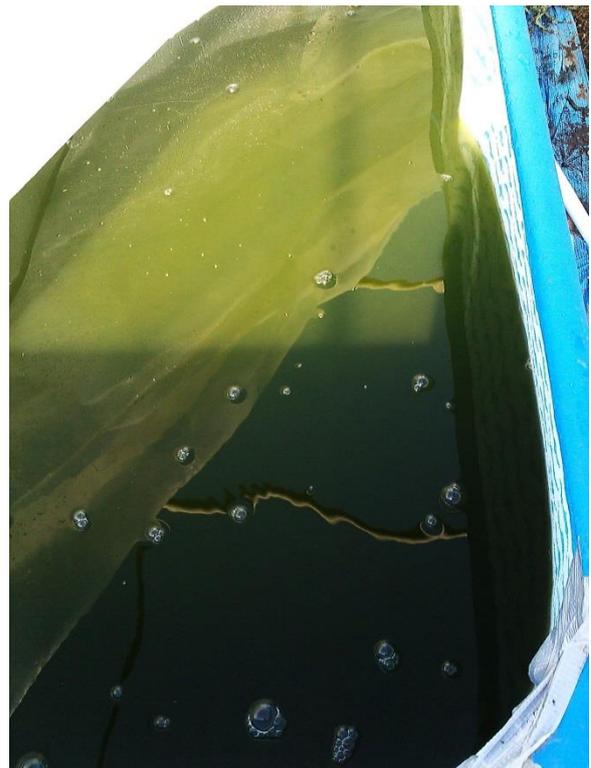
Figura 7. PPF – flusso fotonico fotosinteticamente attivo giornaliero medio ( $\mu\text{M fotoni m}^{-2} \text{sec}^{-1}$ )



Figura 8. Sacchi in coltura, a Sx uno nel formato in diametro minore, a Dx tre nel diametro maggiore



**Figura 9. Piscina fuori terra**



**Figura 10. Interno piscina dall'inoculo (a sx) a distanza di 3 giorni (a dx)**



Figura 10. Decantato dalla piscina

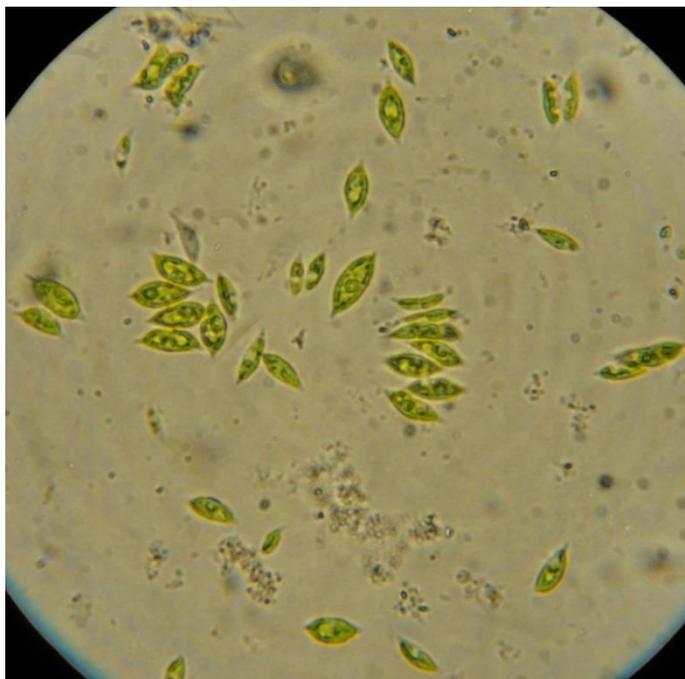


Figura 11. *Scenedesmus dimorphus* nel decantato di PISC1

### 3 Conclusioni

La prova con i sacchi in polietilene ha condotto alla realizzazione di un sistema semplice e affidabile di sospensione dei sacchi e di allestimento degli stessi per la coltura microalgale all'aperto, mediante fori richiudibili per l'immissione di aria e per campionamenti, nonché mediante l'utilizzo di tubicini rigidi in plastica per far arrivare l'aria sul fondo dei sacchi. La forma e lo spessore (180 micron) del polietilene dei sacchi sono risultati in generale soddisfacenti, così come la tenuta delle saldature di fabbrica. L'effetto importante della penetrazione della luce solare all'interno della coltura è stato confermato dai buoni risultati del sacco con diametro minore, d'altro canto penalizzante in termini volumetrici. I tre sacchi con le rese minori sono stati anche quelli con la durata minore e questo può spiegare in buona parte la loro prestazione non brillante.

La prova effettuata con la piscina fuori terra indica una sostanziale riuscita del contenitore proposto, anche in termini di economicità dello stesso, con lo sviluppo di una biomassa microalgale soddisfacente, pur con alcuni danneggiamenti della copertura, registrati in occasione di una forte perturbazione con pioggia e vento che hanno comportato una diluizione della coltura. Il sistema di movimentazione dell'acqua, progettato *in house*, si è rivelato efficace e robusto, senza aver mai dato problemi. Da migliorare invece il sistema di copertura, sia per la qualità del telo plastico, risultato a volte strappato, sia per la tipologia degli ancoraggi.

L'utilizzo del digestato impiegato in queste prove ha confermato la piena compatibilità dello stesso con la specie microalgale testata, non causando nessun problema tossicologico apparente. Le microalghe sono infatti cresciute anche con il solo digestato liquido, testato fino al 15 ‰. In questi casi però la coltura ha inizialmente un colore molto scuro che verosimilmente ritarda lo sviluppo microalgale per scarsa disponibilità di luce.

Qualche evidenza visiva/olfattiva induce a pensare che la biomassa ottenuta dalla piscina risulti in grado, già dopo pochi giorni di deposito in contenitori chiusi a temperatura ambiente, di produrre spontaneamente biogas.

Si riportano di seguito alcune considerazioni su punti di forza e criticità emersi dal lavoro svolto.

#### Punti di forza:

- Avvicinamento alle modalità produttive più probabili presso impianti reali, ovvero utilizzando condizioni climatiche, materiali e reagenti significativamente vicini a quelli che si riscontrerebbero in aziende interessate a mettere in pratica le idee qui descritte.
- Tecniche produttive "low cost"
- Riciclaggio e riuso di materiali ed elementi nutrienti .

#### Criticità:

- L'allontanamento da condizioni controllate di laboratorio procura una serie di inconvenienti e di aleatorietà che in parte è possibile prevedere, in parte costituiscono imprevisti cui occorre trovare soluzioni operative efficaci. Es.: resistenza dei materiali a temporali, ventate, temperature elevate, interferenze di animali ecc.
- Trattandosi di prove che utilizzano tecnologie "non mature" sono da mettere in conto errori e approssimazioni che devono essere considerati come stimoli per trovare e testare nuove soluzioni e percorsi tecnologici alternativi. Ciò rientra in una metodologia, utilizzata anche nei sistemi di gestione ambientale, conosciuta come ciclo di Deming, ovvero: Pianifica, Realizza, Controlla, Agisci per migliorare e così via di nuovo.
- Il periodo temporale limitato offerto dalla opportunità dell'Accordo di programma, che pone vincoli legati, fra l'altro, anche alla particolare stagionalità disponibile, ovvero quella estiva.

I dati riportati nel presente rapporto sono preliminari e da integrare con una serie di analisi effettuate da altre unità operative, in primis quella del Prof. Bianco dell'Università La Sapienza di Roma. Ci si riserva pertanto di integrare successivamente la presente relazione.

## Riferimenti bibliografici

1. Schenk, P.M., Thomas-Hall, S.R., Stephens, E., Marx, U.C., Mussgnug, J.H., Posten, C., Kruse, O., Hankamer, B., 2008. Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. *BioEnergy Research* 1, 20–43.
2. C. Ryan, 2009. *Cultivating Clean Energy: The Promise of Algae Biofuels*. Report of Natural Resources Defense Council (NRDC), pp 81.
3. B. Sialve, N. Bernet, and O. Bernard. Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable. *Biotechnology Advances*, 27(4):409–416, 2009.
4. AM Illman, AH Scragg, and SW Shales, 2000. Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium. *Enzyme and microbial technology*, 27(8):631–635.
5. J.H. Mussgnug, V. Klassen, A. Schlüter, O. Kruse, 2010. Microalgae as substrates for fermentative biogas production in a combined biorefinery concept . *Journal of Biotechnology* 150 : 51–56
6. M. Ras, L. Lardon, B. Sialve, N. Bernet, J.P. Steyer, 2011. Experimental study on a coupled process of production and anaerobic digestion of *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology* 102 (2011) 200–206
7. Collet, P., Hélias, A., Lardon, L., Ras, M., Goy, R-A., Steyer, J-P., 2010. Life cycle assessment of microalgae culture coupled to biogas production. *Biores. Technol.* 102, 207–214.
8. Barbato F. Tomei G., Di Gioia V., Pignatelli V. , 2009. Experiences of microalgae cultivation at lab-small scale. 2° Convegno della Società Italiana Bioenergia e Agroindustria, 4-5 maggio 2009, Roma
9. Mario R. Tredici, Graziella Chini Zittelli, 1998. Efficiency of Sunlight Utilization: Tubular Versus Flat Photobioreactors. *Biotechnology And Bioengineering*, Vol. 57, No. 2, January 20, 1998
10. Chisti, Y., 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances* 25, 294–306.
11. Rodolfi, L.; Zittelli, G. C.; Bassi, N.; Padovani, G.; Biondi, N.; Bonini, G.; Tredici, M. R. Microalgae for Oil: Strain Selection, Induction of Lipid Synthesis and Outdoor Mass Cultivation in a Low-Cost Photobioreactor. *Biotechnol. Bioeng.* 2009, 102, 100–112.
12. Sheehan, J.; Dunahay, T.; Benemann, J.; Roessler, P. A look back at the US department of energy's aquatic species program - biodiesel from algae; National Renewable Energy Laboratory (NREL), 1998.
13. Benemann, J.R., J.C. Van Olst, M.J. Massingill, J.C. Weissman and D.E. Brune (2003). "The controlled eutrophication process: using microalgae for CO2 utilization and agricultural fertilizer recycling.". *Greenhouse Gas Control Technologies*, Volume II J. Gale and Y. Kaya (Eds.) Elsevier: 1433-1438
14. Becker W., 2004. Microalgae in human and animal nutrition p312-351 in Richmond A. (ed), *Handbook of microalgae culture*. Blackwell, Oxford., 312-351
15. Torzillo G, Pushparaj B, Masojidek J, Vonshak A (2003) Biological constraints in algal biotechnology. *Biotechnol Bioprocess Eng.* 8:338–348
16. Sialve, B., N. Bernet, and O. Bernard (2009). "Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable," *Biotechnology Advances*, 27, pp. 409–416.
17. Li Xin, Hu Hong-ying, Gan Ke , Sun Ying-xue. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp.. *Bioresource Technology* 101 (2010) 5494–5500.