

POLITECNICO DI MILANO

Facoltà di Ingegneria

Scuola di Ingegneria Civile, Ambientale e Territoriale



**Depurazione del digestato con consorzi alghe/batteri:
risultati di una sperimentazione pilota in campo**

Relatore:

Ing. Elena FICARA

Correlatore:

Ing. Davide SCAGLIONE

Tesi di Laurea Magistrale di:

Andrea PIZZERA

Matr. 818650

Anno Accademico 2016 – 2017

"Un viaggio di mille miglia deve cominciare con un solo passo."
(Lao Tzu)

Ringraziamenti

Desidero ringraziare tutti coloro che mi hanno aiutato nella stesura della tesi con suggerimenti, critiche ed osservazioni.

Ringrazio anzitutto la Prof.ssa Ing. Elena Ficara e l'Ing. Davide Scaglione, per il loro supporto e la loro guida sapiente e paziente durante la produzione della presente tesi di laurea magistrale.

Un sentito ringraziamento va anche alla Società Agricola Cortegrande S.r.l., in particolare all'Ing. Giorgio Tornotti, al Dottor Mario Drago, a Paolo e Antonio, per la disponibilità e il sostegno costante in questi mesi.

Un grande ringraziamento va poi a SEAM engineering S.r.l. nella persona dell'Ing. Domiziano Basilico, per il sostegno durante la fase di progettazione.

Per i consigli e l'aiuto nell'attività di laboratorio e di campo ringrazio la Dott.ssa Nadia Margariti, l'Ing. Arianna Catenacci, l'Ing. Francesca Marazzi, l'Ing. Simone Rossi, la Dott.ssa Micol Zambotto e l'Ing. Bruno Bonamini.

Per l'ospitalità, la disponibilità e la professionalità desidero ringraziare tutto l'Istituto Sperimentale Lazzaro Spallanzani, in particolar modo, la Dott.ssa Katia Parati, i Dott. Luciano Foglio, Federico Castillo, Lorenzo Proietti, Roberto Puglisi e la Dott.ssa Roberta Vanni. Grazie anche ad Angelo e José per la compagnia e la simpatia.

Vorrei infine ringraziare le persone a me più care che in questi anni con la loro vicinanza e il loro sostegno hanno permesso il raggiungimento di questo importante obiettivo: tutti i miei amici, i miei genitori e le mie famiglie. Un grande ringraziamento alla mia compagna, cui questo lavoro è dedicato.

Sommario

Recentemente si è verificata una forte diffusione degli impianti di digestione anaerobica, questo implica che grandi quantità di digestato devono essere trattate o smaltite. Una soluzione interessante per questo problema può essere il trattamento con impianti basati sulla crescita di biomassa algale. Il presente elaborato si propone di approfondire le nozioni note sull'argomento, affrontare la progettazione di massima e il monitoraggio di un impianto di trattamento di digestato con microalghe a scala pilota, verificando che il processo sia funzionale allo scopo. Nello specifico si valuta la rimozione del carico di azoto, la crescita della popolazione algale in consorzio con le popolazioni batteriche, l'impegno gestionale e applicabilità nel contesto climatico della pianura padana.

L'impianto pilota è situato presso un'azienda agricola del cremonese, è costituito da due reattori, un raceway (880 L, HRT = 10 - 20,6 d, con dosaggio di CO₂ pura) e una colonna (74,5 L, HRT = 8,5 - 20,6 d), tratta il digestato proveniente dall'impianto a biogas aziendale. Il monitoraggio ha coperto 200 giorni per il raceway, un anno per la colonna.

Le prestazioni ottenute dai due reattori sono state molto variabili. I rendimenti medi di rimozione dell'azoto sono stati: 20±25% (massimo 80%) per il raceway, 22±29% (massimo 71%) per la colonna. Una frazione importante del carico di azoto in ingresso è stata nitrificata: mediamente il 61±23% per il raceway e 52±30% per la colonna. Le produttività algali medie sono state 29,9±33,4 mg_{SST}/(L·d) (7,6±8,4 g_{SST}/(m²·d)) per il raceway e 25,6±29,7 mg_{SST}/(L·d) per la colonna. L'efficienza fotosintetica calcolata su base mensile è oscillata tra 0,98% (agosto) e 2,42% (settembre). L'attività microalgale nel raceway è stata particolarmente ridotta nel mese di agosto, a causa di un telo ombreggiante che aveva la funzione di ridurre la fotoinibizione prevista per irradiazioni molto elevate. Se si escludono i dati relativi al periodo appena descritto si ottiene: 21,5±25,6% di rimozione dell'azoto e 33,5±34 mg SST/(L·d) (8,5±8,6 g_{SST}/(m²·d)).

Recently anaerobic digestion has been a strong diffusion, which means that large amounts of digestate should be treated or disposed of. An interesting solution to this problem may be treatment with plants based on the growth of algal biomass.

The purpose of this paper is to deepen the notion of this subject, to address the design and monitoring a microalga-based digestate treatment system at a pilot-scale, verifying that the process is functional for the purpose. Specifically, the removal of the nitrogen load, the growth of the algal population in consortium with bacterial populations, management commitment and applicability in the climate of the Po Valley are evaluated.

The pilot plant is located at a farm near Cremona, consisting of two reactors, a raceway (880 L, HRT = 10 - 20.6 d, with pure CO₂ dosing) and a column (74.5 L, HRT = 8.5 - 20.6 d), treats digestate from the biogas

plant. The monitoring covered 200 days for the raceway, one year for the column. The performance of the two reactors was very variable. Average nitrogen yields were $20 \pm 25\%$ (maximum 80%) for the raceway, $22 \pm 29\%$ (maximum 71%) for the column. A considerable fraction of the input nitrogen load was nitrified: on average $61 \pm 23\%$ for the raceway and $52 \pm 30\%$ for the column. Average algal productivity was $29.9 \pm 33.4 \text{ mg}_{\text{SST}}/(\text{L}\cdot\text{d})$ ($7.6 \pm 8.4 \text{ g}_{\text{SST}}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$) for the raceway and $25.6 \pm 29.7 \text{ mg}_{\text{SST}}/(\text{L}\cdot\text{d})$ for the column. The photosynthetic efficiency calculated on a monthly basis oscillated between 0.98% (August) and 2.42% (September). The microalgal activity in the raceway was particularly weak in August because of a shading sheet, that had the function of reducing the photoinhibition expected in case of very high irradiance. If the data for the period described above are excluded: $21.5 \pm 25.6\%$ nitrogen removal and $33.5 \pm 34 \text{ mg}_{\text{SST}}/(\text{L}\cdot\text{d})$ ($8.5 \pm 8.6 \text{ g}_{\text{SST}}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$).

Indice

1	Introduzione	17
1.1	Inquadramento	17
1.2	Scopo del lavoro	18
2	Revisione bibliografica	19
2.1	Digestione Anaerobica e digestato	19
2.1.1	Processo di digestione anaerobica	19
2.1.2	Biogas	21
2.1.3	Digestato	21
2.2	Microalghe	23
2.2.1	Utilizzo dell'energia luminosa	25
2.2.2	Temperatura, pH e Ossigeno disciolto	25
2.2.3	Nutrienti	26
2.2.4	Crescita microalghe con digestato come substrato	27
2.2.5	Nitrificazione e consorzio microalghe batteri nitrificanti	29
2.2.6	Applicazioni commerciali e altri utilizzi	33
2.3	Impianti di crescita di microalghe	34
2.3.1	Fotobioreattori - PBR	36
2.3.2	Pond e Raceway Pond	37
3	Materiali e Metodi	44
3.1	Configurazione Impianto	44
3.1.1	Colonna	44
3.1.2	Raceway	45
3.2	Piano Sperimentale	46
3.2.1	Avvio	46
3.2.2	Gestione	47
3.2.3	Piano di monitoraggio	49
3.2.4	Metodi Analitici	51
4	Progettazione Raceway	53
4.1	Corpo principale del raceway	53

4.2	Dimensioni pozzetto di dosaggio	54
4.3	Perdite di carico, pompe e consumi idraulici:	55
4.4	Perdite per evaporazione	56
4.5	Bilancio Termico	57
4.6	Produttività e fabbisogno CO ₂	59
5	Risultati Monitoraggio	62
5.1	Monitoraggio Raceway	62
5.1.1	Caratterizzazione Alimento	62
5.1.2	Condizioni meteo e condizioni della sospensione	65
5.1.3	Bilancio Idrico	67
5.1.4	Effluente	68
5.1.5	Rimozione dei nutrienti nel Raceway	76
5.1.6	Bilancio di massa per l'azoto	81
5.1.7	Relazione tra indici di biomassa algale per il Raceway	83
5.1.8	Analisi Assorbanza	86
5.1.9	Crescita della biomassa algale per il Raceway	89
5.1.10	Bilancio dell'ossigeno	94
5.1.11	Confronto per Produttività ed Efficienza fotosintetica con le stime	96
5.2	Monitoraggio Colonna	98
5.2.1	Caratterizzazione Alimento	98
5.2.2	Condizioni meteo e condizioni della sospensione	98
5.2.3	Effluente	101
5.2.4	Rimozione dei nutrienti	108
5.2.5	Analisi Assorbanza	112
5.2.6	Crescita della biomassa algale	113
5.3	Confronto	114
5.3.1	Confronto prestazioni	114
5.3.2	Confronto popolazioni algali	115
6	Conclusioni	116
7	Prospettive future	117
	Bibliografia	118

Sitografia

125

Appendice

126

Indice delle Figure

Figura 2.1 Esempri di <i>Chlorella vulgaris</i> (http://botany.natur.cuni.cz) e <i>Scenedesmus</i> spp. (http://www.photomacrography.net)	24
Figura 2.2 Rateo di crescita delle microalghe e contestuale rimozione dei nutrienti (Mata et al., 2010)	24
Figura 2.3 Interazione alghe batteri in processi di rimozione della materia organica (Muñoz e Guieysse, 2006).	31
Figura 2.4 Effetti positivi (linee tratteggiate) e negativi (linee continue) del consorzio tra microalghe e batteri (Muñoz e Guieysse, 2006).	31
Figura 2.5 Raceway pond (http://www.aban.com)	34
Figura 2.6 Esempi di fotobioreattore, a sinistra un PBR a lastra piana (https://scubla.it), a destra un reattore tubolare (Torzillo e Chini, 2015)	35
Figura 2.7 Tipi di fotobioreattore (Morweiser et al., 2010)	36
Figura 2.8 Raceway pond a scala pilota Seambiotic (Kunjapur e Eldridge, 2010)	38
Figura 2.9 Esempio di campo di velocità in un raceway dotato di paratie di accompagnamento del flusso (Hadiyanto et al., 2013).	38
Figura 2.10 Esempio di raceway con pozzetto di dosaggio della CO ₂ (sump) (Pawlowski et al. 2014)	39
Figura 2.11 Sump senza diaframma (a) e con il baffle (b) (Mendoza et al. 2013)	39
Figura 3.1 Schema d'impianto della colonna	44
Figura 3.2 Schema d'impianto del raceway	45
Figura 4.1 Rappresentazione schematica del raceway con dimensioni geometriche	54
Figura 5.1 Concentrazione di ammonio e diluizione dell'alimento per il raceway	63
Figura 5.2 Rapporto NH ₄ -N/TKN e rapporto N/P dell'alimento	64
Figura 5.3 Assorbanza media alimento con deviazione standard	64
Figura 5.4 Condizioni meteo nel periodo di funzionamento dell'impianto (giorno 0 raceway = 20 maggio 2016)	65
Figura 5.5 Confronto tra la temperatura media ambientale e la temperatura media all'interno del raceway	66
Figura 5.6 Andamento medio giornaliero del pH e dell'ossigeno disciolto nel raceway	66
Figura 5.7 Stime di evaporazione per il raceway	68
Figura 5.8 Concentrazioni di azoto ammoniacale in ingresso e uscita dal raceway	69
Figura 5.9 Concentrazioni di azoto nitrico in ingresso e in uscita e di azoto nitroso in uscita dal raceway	69
Figura 5.10 Concentrazioni di ortofosfato misurate sul filtrato in ingresso e uscita dal raceway	70
Figura 5.11 COD sul tal quale e sul filtrato in ingresso ed uscita dal raceway	71
Figura 5.12 Conte algali al microscopio dalla sospensione nel raceway	72
Figura 5.13 Parametri indice di crescita di biomassa algale per il raceway	73

Figura 5.14 Composizione della popolazione algale suddivisa per generi nel raceway. N.I.: genere non identificato; Chlorellaceae N.I.: genere non identificato appartenente alla famiglia delle Chlorellaceae; Scenedesmaceae N.I.: genere non identificato appartenente alla famiglia delle Scenedesmaceae	75
Figura 5.15 Rendimenti di rimozione dell'ammonio e dell'azoto totale espresso come somma di ammonio nitrito e nitrato nel raceway	76
Figura 5.16 Rateo di produzione dell'azoto ammoniacale e dell'azoto totale all'interno del raceway. Un rateo negativo indica rimozione	78
Figura 5.17 Ratei di produzione* di azoto nitroso e azoto nitrico nel raceway. *Un rateo positivo indica produzione	79
Figura 5.18 Correlazione tra rendimento di rimozione dell'azoto totale e rateo di produzione degli NOx	81
Figura 5.19 Correlazione tra rendimento di rimozione dell'azoto totale e pH della sospensione	81
Figura 5.20 Ripartizione dell'azoto in uscita (nelle fasi batch iniziale e finale mancano i dati) dal raceway	82
Figura 5.21 Regressione lineare Conte algali - Assorbanza a 680 nm, per la sospensione nel raceway	84
Figura 5.22 Regressione lineare Conte algali - Assorbanza 680 nm, con eliminazione dei valori anomali, per la sospensione nel raceway	84
Figura 5.23 Regressione lineare SST - Torbidità per la sospensione algale nel raceway	85
Figura 5.24 Regressione lineare SST - Assorbanza a 680 nm per la sospensione algale nel raceway	85
Figura 5.25 Regressione lineare Assorbanza a 680 nm - SST, con eliminazione dei valori anomali, per la sospensione nel raceway	86
Figura 5.26 Spettri d'assorbanza netta della sospensione in uscita dal raceway	86
Figura 5.27 Andamento nel tempo degli spettri d'assorbanza netta della sospensione in uscita dal raceway	87
Figura 5.28 Assorbanza massima locale vicino ai 680nm (ricerca massimo nell'intervallo 600-770nm)	87
Figura 5.29 Lunghezza d'onda relativa al massimo locale (ricerca massimo nel range 600-770nm)	88
Figura 5.30 Rateo di produzione degli SST (stima della produttività algale) nel periodo di gestione del raceway	90
Figura 5.31 Correlazione tra rateo di crescita delle microalghe e l'attività nitrificante	93
Figura 5.33 Correlazione tra rateo di crescita delle microalghe e precipitazioni cumulate nei 3 giorni precedenti e nel giorno della relativo alla stima del rateo	94
Figura 5.34 Concentrazione di ammonio e diluizione dell'alimento per la colonna	98
Figura 5.35 Condizioni meteo nel periodo di funzionamento dell'impianto (giorno 0 colonna = 17 marzo 2016)	99
Figura 5.36 Confronto tra la temperatura media ambientale e la temperatura nella colonna. *=(misurata circa a mezzogiorno)	100
Figura 5.37 Misure istantanee di pH e OD lungo l'arco delle sperimentazione. *Mancano diverse misure a causa dell'indisponibilità dello strumento di misura	100

Figura 5.38 Concentrazioni di azoto ammoniacale in ingresso e uscita dalla colonna	102
Figura 5.39 Concentrazioni di azoto nitrico in ingresso e uscita e nitroso in uscita dalla colonna	102
Figura 5.40 Concentrazioni di ortofosfato in forma solubile in ingresso e uscita dalla colonna	103
Figura 5.41 Concentrazioni di COD sul tal quale e sul filtrato in ingresso ed uscita dalla colonna	104
Figura 5.42 Conte algali al microscopio dalla sospensione nella colonna	105
Figura 5.43 Parametri indice di crescita di biomassa algale per la colonna	105
Figura 5.44 Composizione della popolazione algale suddivisa per generi nella colonna. Chlorellaceae N.I.: genere non identificato appartenente alla famiglia delle Chlorellaceae; Scenedesmaceae N.I.: genere non identificato appartenente alla famiglia delle Scenedesmaceae	107
Figura 5.45 Rendimenti di rimozione dell'ammonio e dell'azoto totale espresso come somma di ammonio nitrito e nitrato nella colonna. I dati mancanti corrispondono a momenti in cui la pompa di alimentazione era fuori uso	108
Figura 5.46 Rateo di produzione* dell'azoto ammoniacale all'interno della colonna. *Un rateo negativo indica rimozione	109
Figura 5.47 Ratei di produzione* di azoto nitrico e azoto nitroso nel raceway. *Un rateo positivo indica produzione	110
Figura 5.48 Ripartizione dell'azoto in uscita dalla colonna. Non è riportata la fase batch iniziale. Dove ci sono le interruzioni la pompa di alimentazione era fuori uso	111
Figura 5.49 Andamento nel tempo degli spettri d'assorbanza netta della sospensione in uscita dalla colonna	112
Figura 5.50 Andamento nel tempo degli spettri d'assorbanza netta della sospensione in uscita dalla colonna. I dati non comprendono FC0 e FC1.	112
Figura 5.51 Rateo di produzione degli SST (stima della produttività algale) nel periodo di gestione della colonna	113

Indice delle tabelle

Tabella 2.1 Caratteristiche medie della frazione liquida di digestati Xia e Murphy 2016	23
Tabella 2.2 Esempi di crescita di microalghe con digestato come substrato a scala di laboratorio	27
Tabella 2.3 Esempi di crescita di microalghe con digestato come substrato di crescita a scala pilota.	29
Tabella 2.4 Confronto tra reattori aperti e chiusi (Mata et al., 2010, Kumar et al., 2015)	35
Tabella 2.5 Raccolta di casi studio di crescita di biomassa in pond e raceway pond	41
Tabella 3.1 caratteristiche iniziali della sospensione nella colonna	46
Tabella 3.2 caratteristiche iniziali sospensione nel raceway	47
Tabella 3.3 Fasi di gestione della colonna	47
Tabella 3.4 Andamento dei principali parametri di gestione durante la fasi di gestione della colonna	48
Tabella 3.5 Fasi di gestione del raceway	48
Tabella 3.6 Andamento dei principali parametri di gestione durante la fasi di gestione del raceway	49
Tabella 3.7 Analisi realizzate sui campioni di alimento	50
Tabella 3.8 Analisi realizzate sui campioni di sospensione algale da raceway e colonna	50
Tabella 3.9 kit utilizzati per le analisi, con relativi intervalli di misura	51
Tabella 4.1 Principali parametri geometrici e idraulici	53
Tabella 4.2 Parametri geometrici e idraulici del pozzetto di dosaggio della CO ₂	54
Tabella 4.3 Perdite di carico, parametri connessi	56
Tabella 4.4 Potenze, potenze specifiche e consumi specifici	56
Tabella 4.5 Valori dei coefficienti di trasmissione del calore (Bonomo, 2014, per la vetroresina https://fiberline.com)	58
Tabella 4.6 Potenze e consumi per il riscaldamento assoluti e riferiti all'unità di superficie o di volume	58
Tabella 4.7 Parametri per il calcolo delle efficienze fotosintetiche	60
Tabella 4.8 Efficienze fotosintetiche (η_{ph})	60
Tabella 4.9 Produttività specifiche e produttività medie e massime mensili	60
Tabella 4.10 Durata del giorno media mensile	60
Tabella 4.11 Fabbisogni massimi di CO ₂	60
Tabella 4.12 Dose e portate massime di CO ₂ e gas esausto	61
Tabella 4.13 Grandezze dimensionamento pozzetto per il trasferimento della CO ₂	61
Tabella 5.1 Caratteristiche medie della frazione liquida del digestato misurate regolarmente durante la sperimentazione	62
Tabella 5.2 Caratteristiche medie della frazione liquida del digestato misurate in sperimentazioni precedenti	63
Tabella 5.3 Concentrazioni di ammonio nell'alimento per il raceway	63
Tabella 5.4 Rapporto N/P per l'alimento dopo l'aggiunta di sali di fosforo	64

Tabella 5.5 Medie e deviazioni standard per temperatura ambiente, irradianza e precipitazioni nelle fasi di gestione del raceway	65
Tabella 5.6 Medie e deviazioni standard per temperatura nel raceway, pH e Ossigeno disciolto nelle fasi di gestione del raceway	67
Tabella 5.7 Concentrazioni medie di azoto ammoniacale nitrico e nitroso in uscita nelle fasi di gestione del raceway	69
Tabella 5.8 Concentrazioni medie di ortofosfato in ingresso ed uscita nelle fasi di gestione del raceway	71
Tabella 5.9 Concentrazioni medie di COD sul tal quale e sul filtrato in ingresso ed uscita nelle fasi di gestione del raceway	71
Tabella 5.10 Valori medi e deviazioni standard per le conte totali sulla sospensione del raceway	73
Tabella 5.11 Valori medi e deviazioni standard per Assorbanza a 680 nm, Torbidità e Solidi Sospesi Totali	74
Tabella 5.12 Valori medi e dev.st dei rendimenti di rimozione dell'ammonio e dell'azoto nelle fasi di gestione del raceway	76
Tabella 5.13 Valori medi e deviazioni standard dei ratei dell'azoto ammoniacale e totale nelle fasi di gestione del raceway	79
Tabella 5.14 Valori medi e deviazioni standard dei ratei di produzione dell'azoto nitroso e nitrico nelle fasi di gestione del raceway	80
Tabella 5.15 Valori medi e deviazioni standard dell'azoto suddiviso nelle diverse forme in uscita dal raceway	83
Tabella 5.16 Valori medi delle irradianze percepite per le fasi di gestione del raceway	89
Tabella 5.17 Valori medi e deviazioni standard per il rateo di produzione di biomassa algale rispetto al volume e all'area nelle fasi di gestione del raceway	90
Tabella 5.18 Valori medi e deviazioni standard per le produttività volumetrica per il raceway	91
Tabella 5.19 Valori medi e deviazioni standard per le produttività volumetrica per le fasi di gestione del raceway esclusa FR4	91
Tabella 5.20 Produttività areale per raceway funzionanti in continuo con relative località, latitudini e irradianze.* In questo caso il dato è misurato sulla PAR	92
Tabella 5.21 Valori medi e deviazioni standard per la produzione e rateo di produzione (OPR) di ossigeno da parte delle alghe nelle fasi di gestione del raceway	95
Tabella 5.22 Valori medi e deviazioni standard per il consumo e rateo di consumo (OCR) di ossigeno da parte dei batteri nitrificanti nelle fasi di gestione del raceway	95
Tabella 5.23 Valori medi e deviazioni standard per il bilancio tra produzione e consumo e tra il rateo di produzione (OPR) e il rateo di consumo (OCR) di ossigeno da parte delle alghe e dei batteri nitrificanti nelle fasi di gestione del raceway	96
Tabella 5.24 Confronto tra produttività misurate e stimate	96

Tabella 5.25 Irradianze medie mensili nell'anno usato per la stima della produttività e nell'anno della sperimentazione	97
Tabella 5.26 Valori medi mensili di efficienza fotosintetica reale ed ipotizzata per il raceway	97
Tabella 5.27 Concentrazioni di ammonio nell'alimento per la colonna	98
Tabella 5.28 Medie e deviazioni standard per temperatura ambiente, irradianza e precipitazioni nelle fasi di gestione della colonna	99
Tabella 5.30 Medie e deviazioni standard per temperatura nella colonna, pH e Ossigeno disciolto nelle fasi di gestione della colonna	101
Tabella 5.31 Concentrazioni medie di azoto ammoniacale nitrico e nitroso in uscita nelle fasi di gestione della colonna	102
Tabella 5.32 Concentrazioni medie di ortofosfato in ingresso e uscita nelle fasi di gestione della colonna	103
Tabella 5.33 Concentrazioni medie di COD sul tal quale e sul filtrato in ingresso ed uscita nelle fasi di gestione della colonna	104
Tabella 5.34 Valori medi per le conte algali al microscopio dalla sospensione nella colonna	105
Tabella 5.35 Valori medi e deviazioni standard per Assorbanza a 680 nm, Torbidità e Solidi Sospesi Totali nella Colonna	106
Tabella 5.36 Valori medi e dev.st dei rendimenti di rimozione dell'ammonio e dell'azoto nelle fasi di gestione della colonna	108
Tabella 5.37 Valori medi e deviazioni standard dei ratei dell'azoto ammoniacale e totale nelle fasi di gestione della colonna	109
Tabella 5.38 Valori medi e deviazioni standard dei ratei dell'azoto nitrico e nitroso nelle fasi di gestione della colonna	110
Tabella 5.39 Valori medi e deviazioni standard dell'azoto suddiviso nelle diverse forme in uscita dalla colonna	111
Tabella 5.40 Valori medi e deviazioni standard per il rateo di produzione di biomassa algale r nelle fasi di gestione della colonna	113
Tabella 5.41 Media deviazione standard minimo e massimo dell'efficienza di rimozione dell'azoto totale per il Raceway e per la colonna	114
Tabella 5.42 Media deviazione standard minimo e massimo e 1°, 3° quartile del rateo di produzione di SST per il Raceway e per la colonna	114
Tabella 5.43 Media deviazione standard minimo e massimo e 1°, 3° quartile del rateo di produzione di SST per il Raceway e per la colonna sull'orizzonte temporale 31/05/2016-25/07/2016 e 25/08/2016-15/11/2016	115

1 Introduzione

A causa della crescente preoccupazione per il riscaldamento globale e della grande richiesta di energia rinnovabile, si stanno sviluppando moltissime strategie per la produzione di energia di origine non fossile e per la riduzione delle emissioni di anidride carbonica e gas serra.

Inoltre la gestione delle risorse idriche è diventata una questione importante per gli effetti antropogenici causati dalla crescita della popolazione e dalle attività agricole e industriali che influenzano sia la quantità che la qualità delle acque poco profonde e profonde.

Una tecnologia di trattamento delle acque che ha riscosso particolare successo è la digestione anaerobica, perché permette di trattare reflui putrescibili ricavandone energia rinnovabile. A partire dagli anni 2000 c'è stata una forte diffusione degli impianti di digestione anaerobica in particolar modo nella pianura padana, perché permettono di trattare efficacemente, non solo reflui civili, ma anche scarti di lavorazione agricola e reflui di origine zootecnica producendo biogas. Un ulteriore fattore che ha favorito la diffusione degli impianti di digestione anaerobica è l'incentivazione da parte dello Stato. Ad tutto il 2012 solo in Lombardia si contavano circa 300 impianti di digestione anaerobica (Elenco degli impianti sottoposti ad Autorizzazione Unica 387). Nel 2014 sono stati operativi complessivamente 10 020 impianti di biogas, generando oltre 144.000 TJ di energia, il biogas ha prodotto il 4,7% dell'elettricità e l'1% della domanda di calore in Germania (Xia e Murphy, 2016).

Tale sviluppo ha reso necessaria la ricerca di soluzioni per il trattamento del digestato, prodotto secondario della digestione anaerobica. Può essere riutilizzato come fertilizzante o ammendante, ma è richiesto che le concentrazioni di azoto e fosforo siano contenute per prevenire fenomeni di inquinamento legati al suo utilizzo.

1.1 Inquadramento

Una possibile soluzione a basso costo è il trattamento di questi digestati con impianti di depurazione basati sulla crescita di biomassa algale che rimuove gran parte del carico d'ammonio presente in questi reflui, fornendo al contempo la possibilità di separare la stessa biomassa algale (Bjornsson et al., 2013).

Esistono numerose specie microalgali, tra cui diverse che hanno un valore di mercato non trascurabile. Alcuni tipi di alghe sono utilizzati nell'industria chimica, per l'estrazione di molecole di pregio, nella produzione di mangimi o per l'industria dei biocombustibili attraverso processi di bioraffineria (Teli et al., 2014).

Si prospetta quindi la possibilità di ottenere contestualmente alla depurazione di uno scarto quale è il digestato, una produzione di capitale o energia. Tuttavia questa tecnologia ad oggi non è ancora completamente matura, soprattutto per quanto concerne la produzione di biocarburanti, poiché i costi

derivanti dal trattamento del refluo, dalla separazione delle alghe e dai processi chimici di trasformazione della biomassa sono ancora troppo elevati perché questa opzione sia economicamente vantaggiosa.

1.2 Scopo del lavoro

Il presente elaborato di tesi ha come scopo:

- l'approfondimento delle nozioni note riguardo al trattamento di digestati con microalghe, attraverso una ricerca bibliografica;
- la progettazione di un impianto di trattamento del digestato con microalghe a scala pilota;
- il monitoraggio del funzionamento di un impianto pilota;
- la verifica che il processo sia funzionale allo scopo:
 - sufficiente rimozione dei carichi di azoto e fosforo;
 - adeguata crescita della popolazione algale in consorzio con le popolazioni batteriche;
 - costi e impegno gestionale non eccessivamente onerosi;
 - applicabilità nel contesto climatico della pianura padana.

2 Revisione bibliografica

Si è scritto in precedenza della forte diffusione degli impianti di digestione anaerobica e della correlazione che c'è tra essi e lo sviluppo della tecnologia di crescita delle microalghe, pertanto si riporta a seguire quanto noto da letteratura riguardo il processo di digestione anaerobica, successivamente riguardo le microalghe e le tipologie di impianto per la crescita delle microalghe.

2.1 Digestione Anaerobica e digestato

Il processo di digestione anaerobica, è un normalmente utilizzato negli impianti di trattamento di reflui di origine municipale, zootecnica o industriale, al fine di stabilizzare i fanghi putrescibili prodotti lungo la linea di trattamento producendo energia sotto forma di biogas.

Questa unità di trattamento si basa su un processo biologico di tipo anaerobico; i processi anaerobici avvengono in assenza di elementi ossidanti, ovvero di ossigeno molecolare, o legato ad altri elementi, come nel caso dell'azoto nitrico.

Il substrato organico si comporta sia da riducente che da ossidante, e in presenza di microorganismi adatti e delle adeguate condizioni operative, viene degradato con una serie di reazioni, fino a ottenere carbonio sotto forma di anidride carbonica CO_2 e metano CH_4 .

La digestione anaerobica trasforma la sostanza organica in un prodotto principale che è il biogas, e un sottoprodotto in forma di sospensione, il digestato (Bonomo, 2014).

2.1.1 Processo di digestione anaerobica

Il processo di degradazione anaerobica è complesso e delicato; esso può essere schematizzato in quattro fasi (Bonomo, 2014):

1. Idrolisi: I composti originari: polimeri, carboidrati, e molecole complesse, proteine, grassi, sono degradati a monomeri, monosaccaridi, od a molecole più semplici, aminoacidi, acidi grassi a lunga catena.
2. Acidogenesi: i batteri acidogeni degradano le sostanze organiche prodotte dall'idrolisi ad acido acetico, idrogeno e anidride carbonica, oppure si fermano a una forma intermedia (acidi grassi volatili), il pH tende ad abbassarsi.
3. Acetogenesi: gli acidi grassi volatili prodotti dall'acidogenesi sono degradati dai batteri acetogeni ad acido acetico, idrogeno, anidride carbonica e, in minor quantità, in acido formico. L'idrogeno può diventare inibente e far accumulare acido butirrico e propionico a scapito dell'acetico.
4. Metanogenesi: la produzione del metano può avvenire attraverso due vie:
 - a. Metanogenesi acetoclasica (al 70%): dismutazione anaerobica dell'acido acetico con formazione di metano e anidride carbonica;

b. Metanogenesi idrogenotrofa (al 30%): i batteri idrogenotrofi operano l'ossidazione anaerobica dell'idrogeno, con conseguente produzione di metano e acqua.

La metanogenesi idrogenotrofa, consuma idrogeno, quattro moli per mole di metano prodotta, impedendo l'accumulo di idrogeno e l'inibizione del processo di acetogenesi.

I batteri metanigeni sono anaerobi obbligati e piuttosto sensibili alle variazioni delle condizioni ambientali, ma soprattutto sono quelli con il tasso di crescita inferiore, dunque la fase di metanogenesi costituisce la fase cinematicamente limitante per l'intero processo degradativo (Bonomo, 2014).

I metanigeni sono particolarmente sensibili al pH che deve rimanere all'incirca neutro; se l'alcalinità presente non è sufficiente a tamponare l'abbassamento del pH dovuto alla produzione di acidi nelle fasi precedenti, si può verificare una "crisi acida", che comporta lunghi tempi di recupero per l'attività metanigena (Bonomo, 2014).

Il processo può essere anche compromesso dalla presenza di inibenti, quali:

- ammoniaca libera: che si genera in concentrazioni sufficientemente elevate da portare a inibizione, per reflui zootecnici e scarichi ad elevato contenuto proteico;
- idrogeno solforato: si forma per riduzione dei solfati, da parte dei batteri solfato-riduttori i quali competono con acetogeni e metanigeni.

La crescita dei batteri anaerobi è contenuta, perciò la necessità di nutrienti è limitata rispetto ai processi aerobici; in particolare, il rapporto COD/N/P deve essere circa 350:5:1 (Bonomo, 2014). Sono anche necessarie adeguate disponibilità di micronutrienti (Fe, Ca, Ni, Zn, ...) perché la crescita batterica sia ben sostenuta e quindi si abbia una maggiore produzione di biogas.

Il processo è influenzato anche dalla temperatura, che determina i ceppi di batteri operanti. All'aumentare della temperatura, si riscontra un aumento della cinetica complessiva del processo, la diminuzione delle costanti di semisaturazione e un maggiore decadimento batterico. Il range di temperatura più stabile risulta essere quello mesofilo (20 – 40 °C), con valore ottimale a 35 °C. In alternativa, il range termofilo (45 – 70 °C) sortisce anche un effetto di igienizzazione dalla carica patogena del refluo (Bonomo, 2014).

Infine due parametri fondamentali per il funzionamento sono il carico organico volumetrico e il tempo di residenza idraulico applicati al digestore. Se il primo è eccessivamente alto si ottiene accumulo di acidi grassi volatili, il pH tende a diventare acido con conseguente blocco dei metanigeni se invece è basso il digestore è sottoalimentato, il carico può essere aumentato e così la produzione di biogas. I valori più comuni per digestori di fanghi, FORSU, liquami suini e colture energetiche sono nell'intervallo 1 – 5 kgSV/(m³d).

Per quanto riguarda il tempo di residenza se fosse basso si avrebbe degradazione non completa, e rischio di

dilavamento della biomassa, se fosse alto, si avrebbe degradazione completa e massima produzione di biogas, ma i volumi del digestore sono però molto elevati. I valori tipici sono: 2 – 7 giorni per reflui rapidamente biodegradabili, reflui agroindustriali, 15 – 30 giorni: fanghi depurazione, reflui zootecnici, 60 – 90 giorni: biomasse da colture energetiche (Bonomo, 2014; Monlau et al., 2015).

2.1.2 Biogas

Il principale prodotto della digestione anaerobica è il biogas, che è costituito principalmente da metano (55 - 60 %) e anidride carbonica (35 - 40 %) e, in parte minore, da vapore acqueo (2 - 7 %), anidride solforosa (< 2 %) e tracce di ossigeno e idrogeno gas (Bonomo, 2014), la composizione del biogas dipende dalla composizione chimica delle sostanze contenute nel substrato.

La produzione massima teorica di biometano pari a $0,35 \text{ m}^3_{@0^\circ\text{C},1\text{Atm}} \text{ CH}_4/\text{kgCOD}_{\text{degradato}}$. Generalmente, la resa effettiva di metano prodotto è pari a $0,32 - 0,34 \text{ m}^3_{@0^\circ\text{C},1\text{Atm}} \text{ CH}_4/\text{kgCOD}_{\text{degradato}}$; questa quantità tiene conto del fatto che non tutto il COD presente viene degradato per produrre metano, in quanto può anche essere consumato da altri batteri in competizione per la stessa risorsa, essere trasformato in nuova biomassa e/o rimanere in parte non degradato nel digestato (Bonomo, 2014).

Substrati ottimali per la produzione di un biogas ricco di metano sono le colture energetiche (ad esempio mais), gli scarti organici agroindustriali o di macellazione e la frazione organica dei rifiuti urbani. L'utilizzo di scarti e rifiuti al posto di colture energetiche ha anche il pregio di essere più sostenibile e meno impattante sull'ambiente (Bacenetti et al., 2016).

L'interesse nei confronti della produzione di biogas così prodotto deriva dalla possibilità di ricavare energia tramite il suo utilizzo nei sistemi di cogenerazione (Al Seadi, 2001).

2.1.3 Digestato

Il prodotto di scarto della digestione anaerobica è il digestato, che consiste nel residuo del substrato in entrata al digestore. Il digestato presenta un contenuto di solidi, una putrescibilità, e un carico organico inferiori rispetto al refluo originale e migliori caratteristiche igieniche (Schievano et al., 2009; Tambone et al., 2009; Bonomo, 2014). La composizione del digestato è molto varia e dipende fortemente dal refluo in ingresso al digestore, dalle modalità di processo e dai post trattamenti (Nkoa, 2014). Nel caso dei reflui zootecnici, le caratteristiche dipendono anche dalla dieta e dal sistema digestivo degli animali (Lukehurst et al., 2010).

Tipicamente il digestato ha un'alta concentrazione di nutrienti, che non vengono consumati dal metabolismo dei batteri anaerobi (Al Seadi, 2001; Bonomo, 2014); inoltre, essi sono in forma più bioaccessibile rispetto a quelli nel refluo tal quale perché la digestione anaerobica trasforma l'azoto ed il fosforo da organici a minerali (Schievano et al., 2009). In particolare, è importante l'impatto positivo che la digestione anaerobica ha sul fosforo: le riserve di questo nutriente sono in declino e, tramite la sua concentrazione nel digestato, questo processo dà la possibilità di recuperarlo (European Biogas Association,

7/2015) e quindi di non disperderlo nella biosfera, evitando di conseguenza i problemi legati all'eutrofizzazione.

Per via del contenuto di nutrienti, il digestato può essere utilizzato come ammendante o fertilizzante organico, sostituendo i fertilizzanti minerali (Schievano et al., 2009; Tambone et al., 2009; Lukehurst et al., 2010; Nkoa, 2014). Questa sostituzione permette non solo agli imprenditori un risparmio economico, ma comporta una riduzione delle emissioni di gas-serra, associati al processo di sintesi dei fertilizzanti minerali ed al loro trasporto fino al luogo d'uso. Inoltre, il riutilizzo del digestato evita la necessità di gestirlo come rifiuto e, insieme alla digestione anaerobica nel complesso, s'inserisce in un contesto di produzione di combustibili e fertilizzanti rinnovabili a basso impatto ambientale (Al Seadi, 2001; European Biogas Association, 7/2015).

Una gestione inappropriata del digestato può portare a fenomeni d'inquinamento atmosferico legati alle emissioni di ammoniaca NH_3 o di monossido di diazoto N_2O .

Proprio per via dell'elevata concentrazione di nutrienti, l'utilizzo del digestato come ammendante può portare alla contaminazione dei terreni, delle acque superficiali e sotterranee ed eutrofizzazione dei bacini, tramite dilavamento e deflusso. Con il tempo si è quindi reso indispensabile un controllo per l'utilizzo del digestato come sostitutivo dei fertilizzanti, in particolare con la "direttiva nitrati" (Dir. 91/676/EEC) e i suoi recepimenti in forma di decreti n.152/1999 e n.152/2006. Tale direttiva fissa il limite di azoto derivante dagli effluenti zootecnici trasferibile al terreno agricolo; per le zone classificate come sensibili questo limite è pari a 170 kg annui per ettaro. Questo vincolo spesso impone una disponibilità di terreni agricoli superiore a quella aziendale, viene quindi a generarsi la necessità di ridurre la concentrazione di azoto del digestato (Teli et al., 2014).

La gestione del digestato nel rispetto della normativa vigente può richiederne il trattamento allo scopo di ridurre il contenuto di azoto e il volume e facendo in modo che questo sia facilmente spandibile. Esso viene sottoposto ad un pretrattamento di separazione solido-liquido in modo da ottenere una frazione ispessita ad elevato contenuto di sostanza secca e di azoto organico e una frazione liquida chiarificata con ridotto contenuto di sostanza secca ed elevate concentrazioni di azoto ammoniacale. La fase di trattamento che mira alla riduzione del contenuto di azoto può essere eseguita con numerose soluzioni impiantistiche, queste possono essere suddivise in tre gruppi:

- processi di tipo fisico: separazione solido-liquido, trattamenti di evaporazione, essiccamento e pirolisi;
- processi di tipo chimico-fisico: trattamenti di separazione a membrana o elettrodialisi, di stripping e la precipitazione;
- processi di tipo biologico: processi basati sullo sfruttamento dell'attività metabolica di microrganismi, come i processi classici di nitrificazione/denitrificazione, i processi innovativi di rimozione dell'azoto e il compostaggio (Teli et al., 2014).

Il presente elaborato si concentra sul trattamento della frazione chiarificata, più impegnativa (Xia e Murphy, 2016), a valle della separazione solido-liquido.

Xia e Murphy (2016) riportano le caratteristiche medie della frazione liquida del digestato, separata per trattamento fisico (Tabella 2.1):

Tabella 2.1 Caratteristiche medie della frazione liquida di digestati Xia e Murphy 2016

Caratteristica	Range
pH	6,7–9,2
COD mg/l	210–6900
TN mg/L	139–3456
NH ₄ ⁺ -N/TN %	65–98%
TP	7–381
PO ₄ ³⁻ -P/TN %	82–90%

I tradizionali trattamenti relativi alla frazione liquida del digestato sono altamente energivori, dunque economicamente gravosi (Xia e Murphy, 2016). Questi possono essere sostituiti da un processo in cui si utilizza la frazione liquida del digestato come mezzo di crescita per microalghe (Xia e Murphy; 2016, Cheng et al., 2015; Monlau et al., 2015). Tale processo permette di contenere i costi anche grazie alla produzione di biomassa algale che può generare un ritorno economico (Kumar et al. 2010). Alle caratteristiche delle microalghe è dedicato il paragrafo successivo.

2.2 Microalghe

Le microalghe sono organismi unicellulari autotrofi fotosintetici eucarioti. Esse hanno dimensioni comprese tra 3 e 30 µm e possono vivere singolarmente o aggregate in colonie, in acqua dolce o salata. Alcune di esse possiedono dei flagelli che ne permettono il movimento. Inoltre le colonie sono aggregati di individui e possono essere in forma amorfa o definita, e in alcuni casi inglobate in mucillagine o guaine comuni. (Ficara et al., 2015). A titolo di esempio, alcune sono riportate due immagini relative alla *Chlorella vulgaris* a sinistra e alla *Scenedesmus sp.* a destra in **Errore. L'origine riferimento non è stata trovata.**

In generale sono microorganismi fotosintetici che utilizzano energia da luce per estrarre elettroni e protoni dall'acqua e ridurre la CO₂ a composti organici. Tuttavia, molte specie microalgali usano substrati organici in condizioni di luce o di buio (crescita mixotrofica e eterotrofica). Per esempio, *Chlorella vulgaris*, *Arthrospira platensis* e *Haematococcus pluvialis* possono impiegare modalità di crescita fototrofica, mixotrofica e eterotrofica (Xia e Murphy, 2016).



Figura 2.1 Esempi di *Chlorella vulgaris* (<http://botany.natur.cuni.cz>) e *Scenedesmus* spp. (<http://www.photomacrography.net>)

Il ciclo di crescita delle microalghe può essere suddiviso in cinque fasi come mostrato in Figura 2.2 (linea continua), contestualmente avviene la rimozione dei nutrienti (linea tratteggiata).

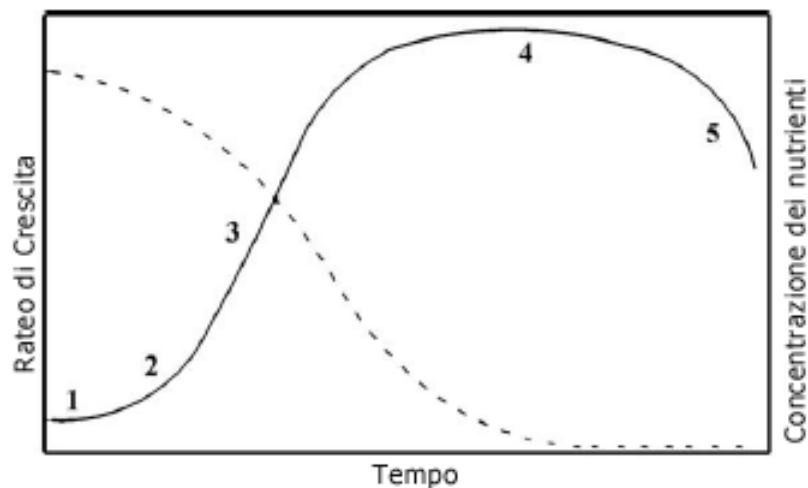


Figura 2.2 Rateo di crescita delle microalghe e contestuale rimozione dei nutrienti (Mata et al., 2010)

Le fasi sono le seguenti: 1) fase di acclimatazione, 2) fase di crescita esponenziale, in cui viene raggiunto il massimo rateo di crescita, 3) fase di crescita lineare, 4) fase stazionaria e 5) declino.

I principali fattori che influenzano la crescita delle microalghe sono:

- fattori chimico-fisici: luce (quantità e qualità), temperatura, concentrazione dei nutrienti e dei prodotti di reazione, pH, salinità, presenza di composti tossici;
- fattori biotici: presenza di patogeni, organismi competitori, predatori o altre alghe;
- parametri operativi: turbolenza generata dalla miscelazione, la diluizione dei nutrienti, la tipologia dell'impianto e la frequenza di raccolta (Muñoz e Guieysse, 2006; Moheimani e Borowitzka, 2007; Mata et al., 2010; Chanakya et al., 2012).

2.2.1 Utilizzo dell'energia luminosa

In assenza di limitazioni nutrizionali, la richiesta di intensità luminosa delle microalghe tipicamente è relativamente bassa, rispetto a quella delle piante superiori. L'attività microalgale aumenta al crescere della radiazione incidente fino ad un'intensità luminosa massima di $400 \mu\text{mol}_{\text{FOTONI}}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ (Muñoz e Guieysse, 2006; Kumar et al. 2010). Tale limite rappresenta il punto di saturazione della luce, oltre tale intensità luminosa si ha un effetto di fotoinibizione per cui c'è un danneggiamento dei recettori della luce che provoca una diminuzione della resa fotosintetica (Park et al., 2011). Questo limite è specifico per ogni specie microalgale, ad esempio Kumar et al. (2010) riportano per *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus sp.* un'intensità limite di $200 \mu\text{mol}_{\text{FOTONI}}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, che corrispondono a circa $35 \text{ W}/\text{m}^2$, in termini di radiazione complessiva. Tale valore limite equivale a circa il 10% dell'irradianza media e al 3 - 5% dell'irradianza massima giornaliera nei giorni di forte insolazione estiva (Torzillo et al., 2003; Muñoz e Guieysse, 2006).

Per ridurre l'effetto di fotoinibizione si può raggiungere una concentrazione algale sufficientemente elevata da generare un effetto "self-shading", ovvero le alghe si fanno parzialmente ombra tra di loro, prevenendo l'eccessiva esposizione alla luce (Eustance et al., 2016; Park et al., 2011; Moheimani e Borowitzka, 2007). Tale effetto di attenuazione dell'intensità luminosa, per concentrazioni elevate riduce lo strato fotosinteticamente attivo abbassando la velocità di crescita della biomassa (Suh e Lee, 2003; Morweiser et al., 2010; Moheimani e Borowitzka, 2007). Al fine di evitare la fotoinibizione e contemporaneamente la foto-limitazione si ricorre a sistemi di miscelazione che mantengono la sospensione in movimento evitando la sedimentazione, ma anche facendo in modo che ci siano moti verticali, pertanto le microalghe non rimangono mai costantemente nello strato superiore dove l'intensità luminosa è elevata, né nello strato inferiore dove, invece, è molto ridotta, se non nulla.

Un importante parametro di paragone che può fornire indicazioni sull'ottimizzazione del processo di crescita della biomassa algale è l'efficienza fotosintetica. L'efficienza fotosintetica rappresenta il rapporto tra l'energia entrante nel sistema come irradianza e l'energia convertita in biomassa algale (Equazione 1) (Park et al., 2011):

$$\eta_{\text{pho}} [\%] = E_{\text{alghe}}[\text{MJ}/\text{m}^2]/E_{\text{irradianza}}[\text{MJ}/\text{m}^2] \text{ (Equazione 1)}$$

dove l'energia convertita a biomassa E_{alghe} può essere calcolata a partire dalla produttività areale e dal potere calorifico inferiore relativo alle microalghe, mentre l'energia che il reattore riceve $E_{\text{irradianza}}$ è espressa come radiazione solare incidente. Per maggiori dettagli relativamente a questo parametro si rimanda al paragrafo 4.6.

2.2.2 Temperatura, pH e Ossigeno disciolto

Ogni specie ha un proprio set di condizioni ambientali ottimali, tra: l'irradianza, di cui si è discusso nel paragrafo precedente, la temperatura, il pH e l'ossigeno disciolto (Park et al., 2011). In genere la temperatura ottimale è compresa tra $25 - 35 \text{ }^\circ\text{C}$ (Park et al., 2011; Zeng et al., 2011), ma esistono anche

specie la cui temperatura ottimale è al di fuori di questo intervallo. I range ottimali di temperatura non sono necessariamente stringenti, alcune specie di microalghe mostrano capacità di adattamento a temperature diverse da quella ottimale, se coltivate a tali temperature in fase di produzione dell'inoculo (Park et al., 2011; Ras et al., 2013), sia per basse temperature (es: acclimatazione di *Chlorella vulgaris* a 5°C) sia per alte temperature (es: *Scenedesmus intermedius* lento meccanismo di adattamento generazionale che ha permesso di spostare la temperatura ottimale da 22 °C a 40 °C in 135 generazioni) (Huertas et al., 2011; Maxwell et al., 1994).

In generale è bene che siano evitate variazioni di temperatura repentine, perché possono causare shock termici e compromettere la crescita della biomassa algale (Park et al., 2011). Temperature ampiamente al di sotto dell'ottimo inibiscono la crescita algale, soprattutto se la biomassa non ha il tempo di acclimatarsi, come nei casi riscontrati da Moheimani e Borowitzka (2007), che hanno subito la perdita della coltura di *P. carterae* quando la temperatura ambientale è scesa sotto i 3 °C, e di Delgadillo-Mirquez et al. (2016), che non hanno osservato né crescita né rimozioni di nutrienti da parte di una coltura di *Chlorella vulgaris* a 5°C. Molte microalghe possono facilmente tollerare temperature fino a 15 °C inferiori rispetto al loro ottimale, ma superare la temperatura ottimale solo di 2 - 4 °C può portare alla perdita totale della coltura (Mata et al. 2010), ad esempio *Phaeodactylum tricornutum* annulla il proprio tasso di crescita appena 3°C oltre l'ottimo (Ras et al., 2013).

Il pH ottimale per la crescita di microalghe è attorno alla neutralità (7-8) (de Godos et al., 2014; Park et al., 2011), anche se esistono specie che crescono con pH acidi (*Chlorococcum littorale* a pH 4) e altre a pH basici (*Spirulina platensis* a pH 9). Il pH tende ad alzarsi in conseguenza della fotosintesi (Delgadillo-Mirquez et al., 2016; Kumar et al. 2010). Si deve considerare che il pH del medium di coltura influisce sui processi biologici e sugli equilibri chimici associati alla crescita algale e può influire su di essa. Ad esempio il pH basico favorisce la volatilizzazione dell'ammonio e la precipitazione del fosforo in forma di fosfati inoltre sposta l'equilibrio di dissociazione ammonio aumentando la concentrazione di ammoniaca libera che è inibente ad alte concentrazioni (Park et al., 2011; Xia e Murphy, 2016).

Concentrazioni di ossigeno disciolto molto elevate possono generare danni foto-ossidativi sulle cellule microalgali e diminuire l'efficienza del trattamento; ad esempio Moheimani e Borowitzka (2007) riferiscono di una forte inibizione per *Pleurochrysis carterae* ad elevate concentrazioni di ossigeno (26-32 mg/L) indipendentemente dall'irradianza e il grado di inibizione aumentata all'aumento della temperatura; Muñoz e Guieysse (2006) riportano forte inibizione dell'attività algale per concentrazioni superiori a 29 mg/L, Kunjapur e Eldridge (2010) propongono come buona pratica di rimanere al di sotto di concentrazioni di 36 mg/L.

2.2.3 Nutrienti

Le microalghe necessitano principalmente di carbonio, in forma inorganica, azoto e fosforo, in misura minore di calcio, magnesio, sodio, zolfo, potassio e cloro e di micronutrienti in tracce (ferro, manganese,

piombo, rame, boro, cobalto, vanadio, molibdeno, nickel, silicio e selenio) (Wang et al., 2008; Suh e Lee, 2003; Kunjapur e Eldridge, 2010; Bjornsson et al., 2013).

Le microalghe hanno la necessità di fissare la CO₂ per eseguire la fotosintesi come le piante superiori, ma ne hanno una maggiore capacità di utilizzo (Kumar et al. 2010). Le fonti abituali di diossido di carbonio per microalghe sono: anidride carbonica atmosferica, gas di scarico industriali e CO₂ fissata chimicamente sotto forma di carbonati o bicarbonati solubili (ad esempio NaHCO₃ e Na₂CO₃). La tolleranza di varie specie microalgali alla concentrazione di CO₂ è variabile, tuttavia, la concentrazione in fase gassosa non riflette necessariamente la concentrazione a cui la microalga è esposta in sospensione (Kumar et al. 2010).

Oltre al carbonio, l'azoto è l'elemento più importante per la nutrizione microalgale e, in quanto componente degli acidi nucleici e delle proteine, è quindi direttamente associato al metabolismo primario delle microalghe. Le microalghe tendenzialmente preferiscono l'ammonio piuttosto che il nitrato come fonte di azoto primario, perché è la forma di azoto più facilmente assimilabile dalle microalghe e non necessita di reazioni intermedie, come la riduzione necessaria per l'utilizzo del nitrato (Wang et al., 2008; Krustok et al., 2016; Kumar et al. 2010; Xia e Murphy, 2016). Se in condizioni di carenza di azoto, le microalghe crescono più lentamente, ma producono notevolmente più lipidi (Kumar et al. 2010; Xia e Murphy, 2016).

Il fosforo è la terza sostanza nutritiva più importante per la crescita microalgale e dovrebbe essere fornita in eccesso sotto forma di fosfati perché non tutti i composti del fosforo sono biodisponibili (ad esempio quelli combinati con ioni metallici non lo sono) (Wang et al., 2008; Kumar et al. 2010).

2.2.4 Crescita microalghe con digestato come substrato

Numerosissimi sono gli esempi di crescita di popolazioni microalgali con digestati di varie origini come substrato (tabelle 2.2 e 2.3), ciò è dovuto alla particolare composizione del digestato (tabella 2.1).

Il digestato liquido ha normalmente un pH all'interno della gamma ottimale per microalghe d'acqua dolce 7-8 e microalghe alcalofile 8.5-10. Il digestato liquido contiene abbondanti quantità di azoto, per lo più in forma ammoniacale, e fosforo, quasi completamente in forma di fosfati. Questi sono i nutrienti primari necessari per la crescita microalgale.

Si riporta una raccolta di casi di trattamento di digestato con microalghe, in Tabella 2.2 le configurazioni a scala di laboratorio, in Tabella 2.3 in impianti a scala pilota.

Tabella 2.2 Esempi di crescita di microalghe con digestato come substrato a scala di laboratorio

Specie	Origine del digestato	Pretrattamenti sul digestato	Tipo di reattore	Produzione di biomassa	Efficienze di rimozione	Riferimento
C. vulgaris, S. obliquus, e N.oleoabundans	Deiezioni animali	Filtrazione Trattamento UV	Batch (7 giorni) con biogas nello spazio di testa	n.d.	TN = 76,0% TP = 63,2% COD=63,1% CO ₂ = 62%	Zhao et al. 2015

Chlorella sorokiniana e batteri aerobici	Deiezioni suine	Coagulazione-flocculazione sedimentazione Nitrificazione Denitrificazione	Continuo Fotobioreattore (indoor, HRT =10 giorni)	26,3 mg/(L·d)	TN = 82% TP = 58% COD = 58%	Hernández et al. 2013
Chlorella spp.	Fanghi da acque reflue di origine civile	Miscelazione con effluente di impianto di trattamento reflui civili	batch	2,11 g/L 0,45 g/(L·d)	TN = 83,7 % TP = 94,2% COD =86,6%	Akerstorm et al. 2014
Chlorella vulgaris	Scarti caseari	Diluizione	Semicontinuo con 2% di CO ₂	n.d.	TN = 93,6 % TP = 89,2% COD =55,4%	Wang et al. 2010
Chlorella vulgaris	Scarti caseari	Diluizione	Semicontinuo (30 d) con flussaggio CO ₂ 2%	n.d.	TN = 93,6% NH ₄ ⁺ -N = 100% TP = 89,2% COD=55,4%	Wang et al. 2010
Cyanobacterium Phormidium bohneri	Scarti caseari	Sedimentazione	batch (16 giorni) fotobioreattori a sacca 5L	n.d.	NH ₄ ⁺ -N = 71% PO ₄ ³⁻ -P = 42%	Blier et al. 1996
Desmodesmus sp.	Deiezioni suine	Diluizione Filtrazione	Batch (10 d)	0,385 g/l	TN = 75,6% NH ₄ ⁺ -N = 92,7% PO ₄ ³⁻ -P = 100%	Ji et al. 2015
Desmodesmus sp.	Deiezioni suine	Diluizione Filtrazione	Fed-batch (40 d)	1,039 g/l	TN = 94,2% NH ₄ ⁺ -N = 91,1% PO ₄ ³⁻ -P = 88,7%	Ji et al. 2015
Scenedesmus obliquus	Scarti d'allevamento	Filtrazione Autoclavazione Diluizione	Batch (7 giorni) con biogas nello spazio di testa	n.d.	TN = 74,6 % TP = 88,8% COD = 75,3%	Xia e Murphy 2016
Scenedesmus sp. Chlorella sp	Deiezioni animali	Centrifugazione Diluizione	Semicontinuo 6 fotobioreattori tubolari 2,5L	0,78 l/d	TN = 43% TP = 90%	Marcilhac et al. 2015
Scenedesmus spp.	Deiezioni suine	Autoclavazione e Miscelazione con effluente di impianto di trattamento reflui civili	Batch, poi semicontinuo con diffusione di aria	n.d.	NH ₄ ⁺ -N > 95% PO ₄ ³⁻ -P > 97%	Xia e Murphy 2016
Scenedesmus spp.	Deiezioni suine, bovine, microalghe	Filtrazione Diluizione	batch bottiglie 1L	0,27 g/L	TN =100% PO ₄ ³⁻ -P=99,8%	Bjornsson et al. 2013
Scenedesmus spp. (principale) ed altre	Fanghi da acque reflue di origine civile	Diluizione	Batch (7 giorni)	2,6 g/L	n.d.	Uggetti et al. 2014
Scenedesmus Synechocystis	Scarti caseari	Coagulazione-flocculazione-sedimentazione Diluizione	Semicontinuo Raceway Pond 20L	n.d.	TN = 72% TP = 58%	Chen et al. 2012
Spirulina maxima	Deiezioni suine	Diluizione	Continuo Raceway Pond 20L Indoor	n.d.	NH ₄ ⁺ -N = 100% TN = 76% PO ₄ ³⁻ -P =	Olguin et al. 1994

						80%
Tetraselmis sp.	Tetraselmis sp.	Diluizione	batch fotobioreattori a sacca 5L	0,5 10 ⁶ 1/mL	n.d.	Erkelens et al. 2014

Nota: biomassa algale espressa in g di sostanza secca se non specificato diversamente

I casi di sperimentazione a scala pilota sono in numero minore rispetto a quelli a scala di laboratorio, ma stanno diventando sempre più frequenti.

Tabella 2.3 Esempi di crescita di microalghe con digestato come substrato di crescita a scala pilota.

Specie	Origine del digestato	Pretrattamenti sul digestato	Tipo di reattore	Produzione di biomassa	Efficienze di rimozione	Riferimento
C. pyrenoidosa	Refluo dalla lavorazione dell'amido	Precipitazione Filtrazione	Outdoor batch Fotobioreattore 820L flussato con 5–9% CO ₂	0,37 g/(L·d) 2,05 g/L	TN = 83,1% TP = 97% COD = 66%	Tan et al. 2014
C. vulgaris, batteri nitrificanti e denitrificanti da fanghi attivi	Refluo dalla lavorazione dello zucchero	Diluizione	Continuo Fotobioreattore 180L con flussaggio di biogas sintetico	11,8 g/(m ² ·d) 0,6 g/l	TN = 37 % TP = 71% COD = 51% CO ₂ = 80%	Xia e Murphy 2016
Cultura mista	Fanghi da acque reflue di origine civile		Semicontinuo Reattore aperto 60L	204 mg/(L·d)	NH ₄ ⁺ -N > 99% PO ₄ ³⁻ -P > 99%	Woertz et al. 2009
Cultura mista	Scarti caseari	Diluizione	Semicontinuo Reattore aperto 40L	17 mg/(L·d) ^A	NH ₄ ⁺ -N = 96% PO ₄ ³⁻ -P > 99%	Woertz et al. 2009
Nannochloropsis salina	Fanghi da acque reflue di origine civile	Centrifugazione	Raceway Pond Continuo 1m ³	5,2±1,3 g/(m ² ·d)	n.d.	Sheets et al. 2014
Oocystis sp., Chlorella sp., Protoderma sp.	Deiezioni suine	Centrifugazione Diluizione	Continuo Raceway ponds	3,07 g/(m ² ·d)	TN = 96% COD = 49%	González-Fernández et al. 2010

Nota: biomassa algale espressa in g di sostanza secca se non specificato diversamente. ^A Produzione di biomassa algale espressa in mg di lipidi

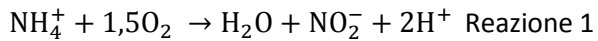
Sia per le configurazioni batch che per quelle pilota si possono osservare efficienze di rimozione dell'azoto e del fosforo elevate, quasi sempre superiori all'80%. Si tenga presente che per reattori aperti quali sono buona parte di quelli a scala pilota vi è un effetto di strippaggio dell'ammonio. La rimozione del COD è nell'ordine del 50% ciò è ascrivibile alla presenza di composti organici refrattari che sono difficilmente degradabili dalle biomasse algali o batteriche.

2.2.5 Nitrificazione e consorzio microalghe batteri nitrificanti

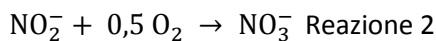
La nitrificazione è un processo di ossidazione biologica eseguito da popolazioni di batteri autotrofi aerobi. È costituito da due reazioni in serie che portano l'azoto ammoniacale prima a nitrito e poi a nitrato. L'ammoniaca presente può derivare dall'ammonificazione dell'azoto organico e dell'urea; tale processo

consiste in un insieme di reazioni enzimatiche svolte da batteri eterotrofi che idrolizzano proteine, azoto organico ed urea producendo ammoniaca e alcalinità. Le due reazioni di nitrificazione sono eseguite da due gruppi batterici diversi (Bonomo, 2014):

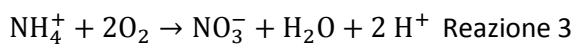
1. batteri "AOB" (Ammonia Oxidising Bacteria, ad esempio *Nitrosospira* e *Nitrosomonas* (Choi et al., 2010)): ossidano l'ammonio in nitrito ;



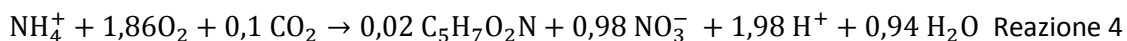
2. batteri "NOB" (Nitrite Oxidising Bacteria, ad esempio *Nitrospira* e *Nitrobacter* (Choi et al., 2010)): ossidano il nitrito in nitrato ;



La reazione complessiva di nitrificazione è quindi:



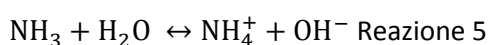
Se si considera anche la reazione anabolica di sintesi di nuova biomassa batterica, assunta di composizione $\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$, per cui viene utilizzato carbonio inorganico come anidride carbonica, il processo di nitrificazione può essere rappresentato con la reazione 4 (Bonomo, 2014):



La sintesi di nuova biomassa da parte di questi batteri è limitata, mentre i consumi di ossigeno sono molto elevati; infatti, secondo i rapporti stechiometrici, vengono prodotti 0,16 g di nuove cellule e consumati 4,2 gO₂ per grammo di azoto ammoniacale ossidato. Dalla reazione di nitrificazione complessiva (reazione 4) si può osservare che, per ogni mole di NH₄⁺ ossidato, vengono prodotte circa 2 mol di H⁺: la reazione produce acidità e, pertanto, si ha una significativa richiesta di alcalinità (7,14 gCaCO₃ per gN ossidato). Posto che la nitrificazione ha un pH ottimale leggermente basico (pH ottimo: 7,2 – 8), se l'effetto tampone non fosse sufficiente, ne conseguirebbe un abbassamento di pH nel range dell'acidità che porterebbe a una sensibile riduzione della cinetica di nitrificazione.

Per quanto riguarda la cinetica delle singole popolazioni batteriche, in condizioni ottimali, gli NOB hanno una cinetica più veloce rispetto agli AOB: ne consegue che di norma non si verificano accumuli di nitrito perché prontamente consumato dai NOB nel secondo stadio di reazione (Bonomo, 2014).

Temperatura e pH influenzano anche la produzione di un inibente alla nitrificazione: l'ammoniaca libera NH₃ (Kim et al., 2005; Kim et al., 2006), un gas solubile che si trova in acqua in equilibrio con lo ione ammonio NH₄⁺ (reazione 8). Alte temperature e pH basici portano la reazione a favorire la produzione di NH₃ (Bonomo, 2014).



Gli NOB sono ben più sensibili all'ammoniaca libera rispetto agli AOB, infatti gli NOB sono inibiti a concentrazioni di 0,1 – 10 mgNH₃-N/L, mentre gli AOB lo sono per concentrazioni di 10 – 150 mgNH₃-N/L (Kim et al., 2005; Kim et al., 2006). Concentrazioni sotto i 10 mgNH₃-N/L possono perciò portare all'inibizione dei soli NOB, con conseguente accumulo di nitriti; aumentando progressivamente la

concentrazione di ammoniaca libera, l'effetto inibente aumenta anche per i batteri AOB (Kim et al., 2005; Kim et al., 2006).

Alte concentrazioni di ammonio (Kim et al., 2005), alte temperature (Kim et al., 2006) e alti pH, possono quindi influire in maniera indiretta sul malfunzionamento del processo di nitrificazione, tramite la produzione di ammoniaca libera.

Per temperature elevate la cinetica degli NOB diventa quella limitante e, pertanto, va garantito un tempo di residenza cellulare (SRT) minimo perché questi batteri non vengano dilavati, nel caso in cui questa condizione non sia rispettata, la popolazione di AOB diventerebbe preponderante e produrrebbe più nitriti di quanto possano essere consumati, provocandone l'accumulo nel sistema (Hellings et al., 1998).

Come le microalghe, anche i batteri nitrificanti possono essere fotoinibiti se esposti ad alti valori di radiazioni ($> 500 \mu\text{mol}_{\text{FOTONI}}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$); in particolare, i batteri NOB sono significativamente più fotosensibili rispetto ai AOB (Kim et al., 2006).

La relazione microalghe batteri è semplice nei termini in cui le microalghe forniscono l'ossigeno necessario per i batteri aerobici a biodegradare gli inquinanti organici, consumando a loro volta il CO_2 rilasciata dalla respirazione batterica (Figura 2.3). Nel caso dei nitrificanti vi è anche una parziale competizione per la CO_2 .

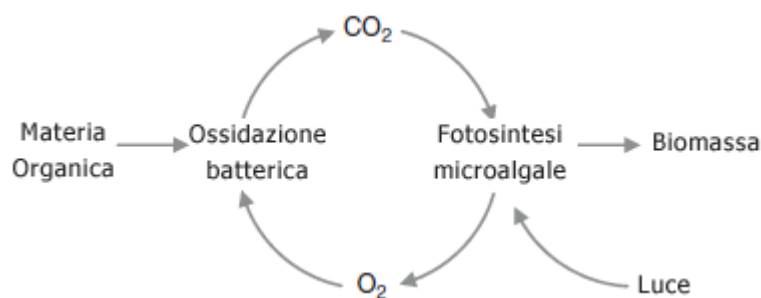


Figura 2.3 Interazione alghe batteri in processi di rimozione della materia organica (Muñoz e Guieysse, 2006).

Tuttavia, microalghe e i batteri non limitano le loro interazioni a un semplice scambio di $\text{CO}_2 - \text{O}_2$ (Errore. L'origine riferimento non è stata trovata.) (Muñoz e Guieysse, 2006).

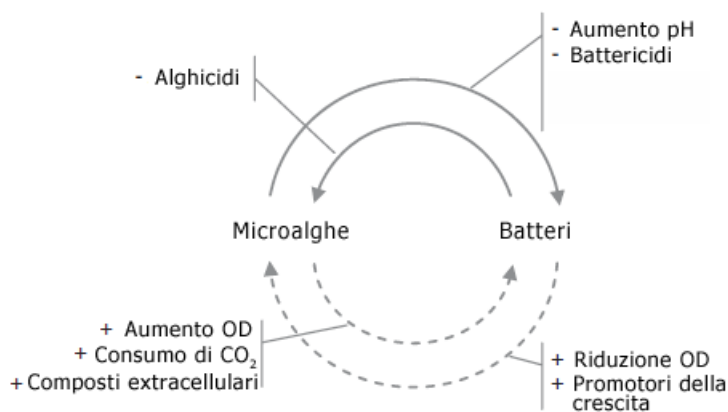


Figura 2.4 Effetti positivi (linee tratteggiate) e negativi (linee continue) del consorzio tra microalghe e batteri (Muñoz e Guieysse, 2006).

Le microalghe possono avere un effetto dannoso sull'attività batterica aumentando il pH, la concentrazione di ossigeno disciolto del brodo di coltivazione, oppure secernendo metaboliti inibitori, oppure possono migliorare l'attività batterica liberando composti extracellulari (Muñoz e Guieysse, 2006). Allo stesso modo, la crescita batterica può migliorare il metabolismo del microalgale rilasciando sostanze che promuovono la crescita (Gonzalez e Bashan, 2000, Hodson et al., 2007) o riducendo la concentrazione di ossigeno nel mezzo di crescita (Mouget et al., 1995). Ad esempio De-Bashan et al. (2002) riferiscono che la presenza di *Azospirillum brasilense* rafforza la rimozione di ammonio e di fosforo da parte di *Chlorella vulgaris*, e Hodson et al. (2007) riportano che le alghe possono ottenere la vitamina B12 attraverso una relazione simbiotica. I batteri possono anche inibire microalghe producendo metaboliti extracellulari algicidi (Muñoz e Guieysse, 2006).

Nello specifico dei batteri nitrificanti, questo supporto vicendevole è confermato dai risultati di Uggetti et al. (2014), specialmente in presenza di alte concentrazioni di microalghe che possono produrre complessivamente una maggiore quantità di ossigeno che può stimolare l'attività batterica.

Sebbene le interazioni tra microalghe e batteri nitrificanti non siano ancora del tutto chiare e l'argomento necessita di ulteriori studi da parte della comunità scientifica, studi dimostrano che microalghe e batteri nitrificanti possono convivere all'interno di fotoreattori, ottenendo un maggiore consumo di ammonio (Vargas et al., 2016; Vergara et al., 2016) e permettendo un'ulteriore via di rimozione dell'azoto dall'acqua tramite un successivo trattamento di denitrificazione (Vergara et al., 2016).

Inoltre, se l'obiettivo è anche la nitrificazione dell'azoto, la produzione di ossigeno da parte delle microalghe permette un risparmio di aerazione e quindi di costi di gestione (Vargas et al., 2016; Mezzari et al., 2013).

Le interazioni tra microalghe e nitrificanti possono perciò essere sfruttate in reattori adibiti a una spinta rimozione dell'ammonio e anche di altri nutrienti, come nel caso del trattamento di digestati agricoli (Mezzari et al., 2013).

Un esempio di interazione positiva delle microalghe nei confronti dei nitrificanti è stato osservato da Vergara et al. (2016): esponendo un consorzio, composto al 95 % da *Chlorella sorokiniana* e al 5 % da batteri nitrificanti con concentrazione di solidi variabile tra 500 - 3.000 g_{TSS}/m³, a un flusso radiante di 1500 μmol_{FOTONI}/(m²·s) (maggiore della "soglia di fotoinibizione" dei nitrificanti), è stato rilevato che maggiore è la concentrazione delle microalghe, maggiore è la mitigazione della fotoinibizione dei batteri nitrificanti.

In altri studi invece, sono state riportate interazioni tra microalghe e batteri nitrificanti negative. Sia Choi et al. (2010) che Huang et al. (2015) hanno riscontrato che la presenza di microalghe e batteri nitrificanti nello stesso reattore ha provocato una inibizione della crescita dei nitrificanti. Entrambi gli studi hanno concluso che questo comportamento sia dovuto al fatto che le alghe competono per l'ammonio in maniera più

efficiente rispetto ai batteri; Choi et al. (2010) hanno anche ipotizzato una competizione per l'anidride carbonica come fonte di carbonio.

Huang et al. (2015) hanno inoltre registrato una diminuzione delle efficienze di rimozione di azoto e fosforo, mentre Choi et al. (2010) non hanno rilevato un peggioramento delle prestazioni di rimozione dell'azoto, sebbene la velocità massima di nitrificazione sia diminuita di un fattore pari a 4.

I risultati ottenuti da de Godos et al. (2014b) invece hanno confermato l'ipotesi di Choi et al. (2010) di competizione per l'anidride carbonica. Il consorzio cianobatteri-batteri nitrificanti, in condizioni di O_2 , NH_4^+ ed SRT ottimali per la crescita di batteri nitrificanti, ha ottenuto risultati migliori di rimozione dell'ammonio con l'aggiunta di $NaHCO_3$ come ulteriore fonte di carbonio inorganico (l'efficienza di rimozione è passata da $\approx 37\%$ a $> 90\%$); in particolare, è aumentata sensibilmente la nitrificazione.

A differenza dei risultati precedentemente esposti, Marchilhac et al. (2015) hanno collegato la riduzione del rateo di nitrificazione alla limitazione del fosforo: in condizioni limitanti di questo nutriente, rapporto N/P impostato a 76 gN/gP, la nitrificazione è stata molto contenuta, l'azoto ossidato a nitrato o nitrito è rimasto nell'ordine dell'1%. In condizioni non limitanti, rapporto N/P fissato a 26 gN/gP, 9 gN/gP e 3 gN/gP sono state rilevate concentrazioni di NO_x rispettivamente pari all'8%, al 12% e al 23% dell'azoto ammoniacale in ingresso. Questi risultati implicano che la competizione tra nitrificanti e microalghe per il fosforo sia vinta da queste ultime.

2.2.6 Applicazioni commerciali e altri utilizzi

Le microalghe trovano numerosi utilizzi, si riportano brevemente quelli di maggiore interesse distinguendo tra applicazioni convenzionali, consolidate a livello industriale, e in fase di sviluppo.

Le applicazioni convenzionali consistono nell'estrazione di molecole di pregio dalla biomassa microalgale. Tali estratti sono utilizzati nell'industria farmaceutica, nutraceutica, mangimistica e nell'acquacultura. A seconda della specie coltivata i composti chimici estraibili sono differenti: pigmenti, antiossidanti, β -caroteni, polisaccaridi, trigliceridi, acidi grassi e vitamine (Ficara et al., 2015, Spolaore et al., 2006; Mata et al., 2010).

Esistono altre applicazioni per le microalghe che sono però ancora in fase di sviluppo, le principali sono:

- la produzione di carburanti rinnovabili (biodiesel, biogas e bioidrogeno);
- la biofissazione dell'anidride carbonica;
- l'acquacultura
- applicazioni in campo agricolo;
- l'impiego nel biorisanamento (phycoremediation) di acque ed aree contaminate, in particolare per la rimozione di nutrienti, metalli pesanti e xenobiotici.

Tra queste ultime si può includere l'integrazione della produzione di microalghe all'interno degli impianti di gestione anaerobica, utilizzando il digestato come fonte di nutrienti (Ficara et al., 2015).

Particolarmente interessante è la produzione di biocarburanti che però non è ancora economicamente sostenibile principalmente per gli elevati costi correlati alla separazione della biomassa algale dalla sospensione di coltura.

Alcune di queste applicazioni possono essere anche contestuali, ad esempio Xia e Murphy (2016) riportano un caso di studio sull'integrazione del trattamento del digestato liquido e la coltivazione microalgale in cui prevedono oltre alla rimozione dei nutrienti dal digestato, anche l'upgrading del biogas in uscita dal digestore, la conversione dei lipidi estratti dalla biomassa in biodiesel e l'estrazione di molecole di pregio. Sono tuttavia ancora necessari approfondimenti per rendere economicamente convenienti progetti come quello proposto da Xia e Murphy che sono particolarmente interessanti per via dei molti benefici che producono.

2.3 Impianti di crescita di microalghe

La coltivazione di microalghe può essere eseguita in sistemi di coltura a cielo aperto come piccoli laghi o pond e in sistemi di coltura chiusa altamente controllati chiamati fotobioreattori (PBR). I pond utilizzati per la crescita delle microalghe, per lo più raceway pond, sono vasche poco profonde normalmente costituite da due lunghi canali separati da un setto e raccordati da inversioni di forma semicircolare (Figura 2.5).

Un fotobioreattore è un reattore nel quale vengono coltivati o utilizzati fototrofi (batteri, alghe o cellule vegetali) per effettuare una reazione fotobiologica (Mata et al., 2010). Questa definizione può essere applicata sia ai sistemi chiusi che a quelli aperti, ai fini di questo lavoro di tesi si fa riferimento ai sistemi aperti.

I sistemi di coltura aperti sono normalmente meno costosi e più semplici da costruire e gestire. Sono però più suscettibili alle variazioni delle condizioni atmosferiche, rendono difficoltoso il controllo della temperatura dell'acqua, dell'evaporazione e dell'illuminazione ed alla contaminazione di altre microalghe o batteri. Inoltre, possono produrre grandi quantità di microalghe, ma occupano un'area più estesa (Mata et al., 2010; Ugwu et al., 2008; Kunjapur e Eldridge, 2010; Chanakya et al., 2012).



Figura 2.5 Raceway pond (<http://www.aban.com>)

I fotobioreattori (Figura 2.6) (PBRs Photobioreactors) sono sistemi maggiormente flessibili che possono essere ottimizzati in base alle caratteristiche biologiche e fisiologiche della specie algale coltivata. In funzione della forma e del design i PBR hanno alcuni vantaggi rispetto ai pond: permettono un migliore controllo delle condizioni di crescita (pH, temperatura, miscelazione, CO₂ e ossigeno disciolto), prevengono l'evaporazione, riducono le emissioni di CO₂, permettono di raggiungere concentrazioni e produttività di biomassa algale più elevate, e offrono un ambiente di crescita più protetto prevenendo contaminazioni da parte di microrganismi in competizione (Mata et al., 2010; Ugwu et al., 2008; Muñoz e Guieysse, 2006).



Figura 2.6 Esempi di fotobioreattore, a sinistra un PBR a lastra piana (<https://scubla.it>), a destra un reattore tubolare (Torzillo e Chini, 2015)

Nonostante i loro vantaggi, i PBR soffrono ancora di numerosi inconvenienti che devono essere considerati e risolti, prima che possano essere utilizzati a piena scala. Le loro limitazioni principali sono: surriscaldamento, bio-fouling, accumulo di ossigeno, difficoltà nell'aumento di scala, elevati costi di costruzione, di funzionamento e di coltivazione della biomassa algale. Il costo della produzione nei PBR può essere un ordine di grandezza superiore a quello dei pond (Kumar et al., 2015).

In alcuni casi, per alcune specie e applicazioni microalgali i costi possono essere abbastanza bassi da rendere il sistema attraente per l'uso in acquacoltura, in altri casi la concentrazione cellulare più alta e la maggiore produttività raggiunta non compensano i maggiori costi (Mata et al., 2010; Ugwu et al., 2008; Muñoz e Guieysse, 2006).

Si riporta una tabella di confronto tra reattori aperti e chiusi (Mata et al., 2010; Kumar et al., 2015)(Tabella 2.4).

Tabella 2.4 Confronto tra reattori aperti e chiusi (Mata et al., 2010, Kumar et al., 2015)

Aspetti operativi	Reattori chiusi PBR	Reattori aperti pond
Rischio di contaminazione	basso	elevato
Controllo parametri	facile	moderatamente complesso
Controllo popolazione	facile	difficile
Miscelazione	uniforme	parzialmente efficace

Ingombro	in base a produttività richiesta	in base a produttività richiesta
Rapporto Area/Volume	elevato 20 - 200 m ² /m ³	basso 5 - 10 m ² /m ³
Concentrazione biomassa	elevata 2 - 9 g/L	ridotta 0,5 - 1 g/L
Costi d'investimento/gestione	elevato	3 - 10 volte inferiore rispetto ai PBR
Efficienza fotosintetica	elevata ~5%	ridotta ~1,5%
Controllo della temperatura	più efficace	difficile
Produttività	elevata: 0,2 - 3,8 g/(L·d)	contenuta: 0,12 - 0,48 g/(L·d)
Stress idrodinamico sulle alghe	basso - alto in base al design	molto basso
Evaporazione	bassa o nulla	elevata in particolare in estate
Trasferimento della CO ₂	elevato	ridotto
Inibizione da O.D.	maggiori problemi	minori problemi
Aumento di scala	fino a ~100 m ²	fino a ~10.000 m ²
Costo complessivo di produzione della biomassa	~7,32 \$/kg	~2,66 \$/kg

È possibile concludere che i reattori aperti sono maggiormente adatti per una sperimentazione pilota che si pone come obiettivo l'ottimizzazione del processo di trattamento del digestato e la produzione di biomassa algale e che possa portare ad impianti a scala reale.

Seguono due brevi paragrafi di approfondimento sulle due tipologie impiantistiche introdotte, con maggiore attenzione per i reattori aperti.

2.3.1 Fotobioreattori - PBR

Il principio di progettazione principale per fotobioreattori efficienti è un rapporto area volume favorevole come requisito per elevati valori di efficienza fotosintetica. Tre sono le più importanti configurazioni geometriche: reattore a lastra piana (a), reattore a colonna o anulare (b), reattore tubolare (c) (Figura 2.7).

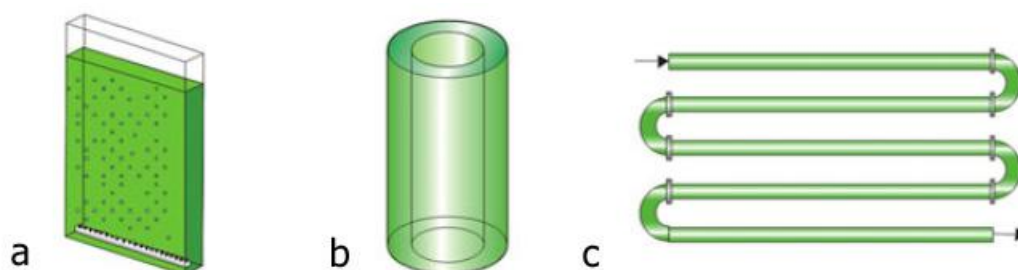


Figura 2.7 Tipi di fotobioreattore (Morweiser et al., 2010)

I reattori a lastra piana (a) e a colonna (b) sono normalmente miscelati con attraverso l'insufflazione di gas, in questo tipo di reattori combinano così l'aerazione e la miscelazione. In generale, la portata di aerazione viene alimentata dal fondo. L'integrazione di una regione di discesa del flusso può permettere l'instaurarsi di un regime a pistone, che migliora la dispersione assiale. Per raggiungere un elevato rapporto

area/volume, questi reattori hanno un'impronta a terra limitata e si sviluppano verticalmente o inclinati. I reattori anulari, sono un particolare tipo di PBR a colonna (b) hanno un volume ridotto con una superficie interna aggiuntiva, evitando così zone oscure a bassa produttività. I reattori a lastra piana (a) sono la tipologia più comune, in quanto uniscono un elevato rapporto area/volume con una configurazione semplice, ma non permettono di raggiungere efficienze fotosintetiche elevate rispetto alle altre configurazioni, inoltre la miscelazione con insufflazione d'aria risulta essere piuttosto costosa (Morweiser et al., 2010; Kunjapur e Eldridge, 2010).

I reattori tubolari sono costituiti da lunghi tubi trasparenti di piccolo diametro, montati in modo che siano disposti parallelamente e spesso uniti da raccordi. Il profilo circolare dei tubi porta ad un effetto di concentrazione della luce controbilanciando l'ombreggiatura reciproca dei tratti di tubo. Il rapporto area/volume può superare i $100 \text{ m}^2/\text{m}^3$. Ciò si traduce in concentrazioni di biomassa molto elevate fino a 6 g/L. Tuttavia la grande superficie interna porta ad un'elevata domanda di energia per vincere l'attrito, da 500 a $2000 \text{ W}/\text{m}^3$. Pertanto si può dire che questo tipo di reattore è abbastanza efficace; sono di questa tipologia i più grandi fotobioreattori chiusi al mondo (700 m^3) situati a Klötze vicino a Wolfsburg, ma l'impianto, la cui produzione è destinata alla commercializzazione di integratori alimentari, è troppo costoso e ha bisogno di troppi sistemi ausiliari per sostenere la produzione di biocarburanti (Morweiser et al., 2010; Kunjapur e Eldridge, 2010; Ugwu et al., 2008; Guccione et al., 2014).

In presenza di un'elevata intensità luminosa, i reattori verticali incontrano meno problemi di fotoinibizione e, in condizioni di bassa intensità luminosa, un orientamento verticale cattura più luce riflessa. Questo tipo di reattore verticale ha anche un'impronta a terra inferiore. Tuttavia i fotobioreattori a colonna hanno una ridotta applicabilità a scala commerciale per via della diminuzione della superficie illuminata al crescere della taglia (Morweiser et al., 2010; Kunjapur e Eldridge, 2010; Ugwu et al., 2008).

Concludendo, ognuno dei tipi di reattore più comuni presenta delle scelte di compromesso tra i parametri chiave di progettazione. I reattori verticali presentano generalmente il minimo uso del terreno tra i tre tipi di reattori chiusi ed efficienza fotosintetica elevata, almeno per scale ridotte più spesso descritte in letteratura (Morweiser et al., 2010; Kunjapur e Eldridge, 2010; Ugwu et al., 2008). Escludendo i costi, questi due parametri sono i più importanti per selezionare la configurazione del reattore. Infine, i reattori verticali sono più difficilmente scalabili, rendendo così difficile determinare il tipo di reattore preferibile tra queste scelte per applicazioni alla scala commerciale (Morweiser et al., 2010; Kunjapur e Eldridge, 2010; Ugwu et al., 2008).

2.3.2 Pond e Raceway Pond

I reattori aperti e in particolar modo i raceway pond sono la configurazione più utilizzata e più studiata per la crescita microalgale a scala pilota, in Tabella 2.3 sono citati alcuni impianti pilota in cui la biomassa microalgale è cresciuta con digestato come alimento.

Come detto i pond hanno il grosso vantaggio di avere costi contenuti pertanto sono più adatti al trattamento di reflui o alla produzione di beni che non abbiano un valore aggiunto particolarmente elevato (Mendoza et al., 2013a; Chiaramonti et al., 2013).



Figura 2.8 Raceway pond a scala pilota Seambiotic (Kunjapur e Eldridge, 2010)

La tipica struttura del raceway pond consiste in due canali raccordati da inversioni semicircolari. La miscelazione è importante per tenere la biomassa in sospensione, per

avere omogeneità nell'interazione tra la biomassa e i nutrienti. Il regime idraulico deve essere sufficientemente turbolento da garantire la miscelazione e il ciclo luce-buio alle microalghe, favorito dal rimescolamento verticale, ma contenendo i costi per la miscelazione. Normalmente si provvede a miscelare con uno o più paddlewheel (rotore dotato di 6 - 8 pale, ben visibile in Figura 2.5) e si mantiene una velocità nell'intervallo 15 - 30 cm/s, valore ottimale 20 cm/s (Mendoza et al., 2013b). I consumi crescono con il cubo della velocità di miscelazione (Hadiyanto et al. 2013; Park et al., 2011; Chiaramonti et al., 2013).

Il rapporto superficie-volume non è particolarmente elevato rispetto ai PBR: 5-10 m²/m³, per non far crescere eccessivamente il consumo di suolo, diminuire la produttività per unità di superficie e per non ridurre molto la spessore della sospensione. La profondità è compresa tra 10 e 30 cm per evitare variazioni di temperatura troppo elevate e repentine, mantenendo uno spessore che permetta di avere l'effetto di self-shading quindi di evitare la fotoinibizione dell'intero brodo di coltura, senza però avere una frazione di volume non illuminato troppo elevata (Park et al., 2011; Mendoza et al., 2013a; Chiaramonti et al., 2013; Kunjapur e Eldridge, 2010). Moheimani e Borowitzka (2007) hanno ottenuto benefici in termini di aumento di produttività adattando il battente alle stagioni, spessore elevato nei periodi di forte insolazione e temperature elevate, viceversa profondità contenuta quando l'irradianza è ridotta.

La geometria del pond influenza la dispersione dei nutrienti, la resistenza al flusso, il volume delle zone morte e l'efficienza della circolazione. Un parametro particolarmente rilevante per il design del raceway è il rapporto tra la lunghezza e la

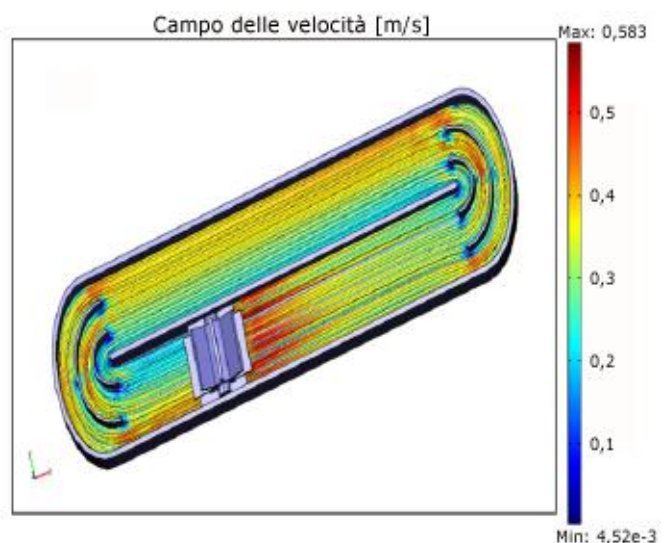


Figura 2.9 Esempio di campo di velocità in un raceway dotato di paratie di accompagnamento del flusso (Hadiyanto et al., 2013).

larghezza dei canali del pond (L/W). Tale rapporto deve essere superiore a 10 m/m per minimizzare i consumi dovute alle perdite di carico e contenere le zone morte. Per ridurle ulteriormente il design spesso prevede delle paratie di accompagnamento del flusso in corrispondenza della inversioni (Hadiyanto et al., 2013), se ne può osservare un esempio in Figura 2.9.

Un ulteriore aspetto importante per questo tipo di reattori è il dosaggio di carbonio inorganico necessario alla fotosintesi, dal momento che la solubilizzazione di anidride carbonica dall'atmosfera è insufficiente. Normalmente il carbonio organico è fornito come anidride carbonica pura o gas combusti che ne contengono una percentuale nell'ordine del 5 - 10% (Van den Hende et al., 2012).

Per ottimizzare il trasferimento della CO₂, il dosaggio avviene all'interno di appositi pozzetti, anche detti sump (Figura 2.10), che permettono di aumentare il

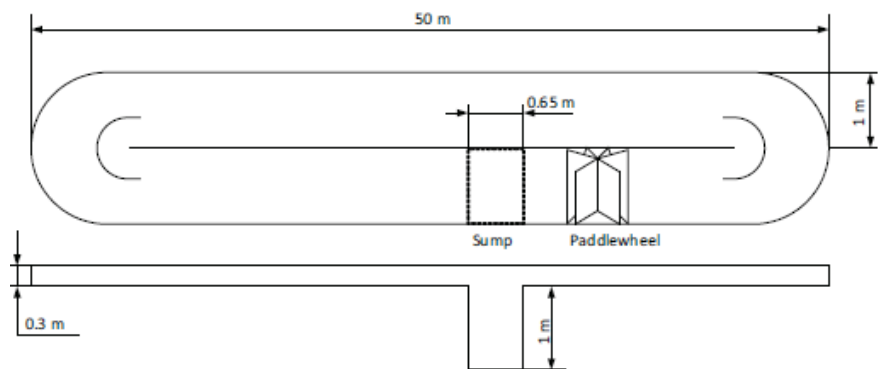


Figura 2.10 Esempio di raceway con pozzetto di dosaggio della CO₂ (sump) (Pawlowski et al. 2014)

tempo di contatto gas-sospensione. Altri parametri che migliorano l'efficienza di trasferimento sono il pH, la velocità assiale del liquido e/o la portata di gas e la dimensione delle bolle (Van Den Hende et al., 2012; de Godos et al., 2014a; Shuwen et al., 2013; Mendoza et al., 2013a; Kumar et al., 2015).

Per massimizzare l'efficienza di fissazione della CO₂ (cioè la quota di CO₂ insufflata che è effettivamente utilizzata dalle alghe), si può prevedere una insufflazione di flue gas ad intermittenza, così da non trasferire nella fase liquida più anidride carbonica del necessario, alternandola con insufflazione di aria, in modo da aiutare la rimozione dell'ossigeno dalla fase liquida (Mendoza et al., 2013a; Shuwen et al., 2013).

L'insufflazione di flue gas solo quando serve permette anche la riduzione delle emissioni di CO₂ in atmosfera e un miglior controllo del pH, (l'insufflazione di CO₂ fa diminuire il pH); Pawlowki et al. (2014) a questo proposito hanno dimostrato che l'insufflazione discontinua in funzione del pH, permette di fornire la quantità adeguata di anidride carbonica tenendo il pH intorno al valore ottimale e ha un impatto positivo nei confronti della crescita delle microalghe.

Per aumentare ulteriormente il contatto gas/liquido e la turbolenza, all'interno del pozzetto può essere posizionato un diaframma ("baffle") (Figura 2.11) (Kumar et al., 2015). Questa configurazione non è però efficiente perché fa aumentare

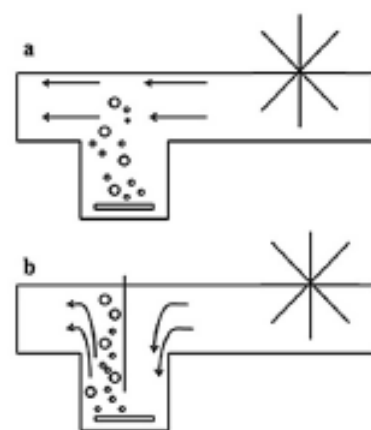


Figura 2.11 Sump senza diaframma (a) e con il baffle (b) (Mendoza et al. 2013)

eccessivamente le perdite di carico e di conseguenza i consumi energetici, mentre il trasferimento della CO₂ migliora marginalmente (Mendoza et al., 2013b; de Godos et al., 2014a; Kumar et al., 2015); ad esempio, de Godos et al. (2014a), hanno registrato un consumo di energia della configurazione con diaframma 6 volte maggiore rispetto alla configurazione senza diaframma, a parità di velocità di circolazione del liquido.

Un ulteriore parametro che influenza in modo rilevante la crescita della biomassa per i pond, ma anche per i PBR, è il tempo di ritenzione idraulica (Hydraulic Retention Time, HRT). Il tempo di ritenzione deve essere sufficientemente elevato da evitare che la biomassa venga dilavata dal reattore portando alla perdita della coltura, per far ciò si richiede che: $HRT > 1/\mu$ ovvero che il tempo di ritenzione idraulica sia maggiore dell'inverso della velocità di duplicazione μ [1/d] della biomassa algale. Considerando i tipici valori di duplicazione delle popolazioni microalgali si giunge alla condizione $HRT > 3 [d]$ (Bechet et al., 2016). Per HRT bassi anche le efficienze di rimozione dei nutrienti risultano contenute. Per tempi di ritenzione troppo elevati cala la produttività e il volume di refluo trattato si riduce drasticamente (Bechet et al., 2016). Per i raceway pond il tempo di ritenzione idraulica ottimale è 4 - 10 d in funzione del clima, della specie algale e delle caratteristiche del refluo (García et al., 2000).

Si riporta a seguire una raccolta di casi di studio per quanto concerne la crescita algale in pond e raceway pond (Tabella 2.5):

Tabella 2.5 Raccolta di casi studio di crescita di biomassa in pond e raceway pond

Specie	volume	area	profondità	velocità mixing	produttività areale media	produttività volumetrica media	HRT	Efficienze di rimozione	luogo	CO ₂	substrato	irradianza media	Riferimento
	[m ³]	[m ²]	[cm]	[cm/s]	[g/(m ² ·d)]	[g/(L·d)]	[d]	[%]				[MJ/(m ² ·d)]	
<i>Chlorella vulgaris</i>	0,04	0,71	6	15	n.d.	0,01 - 0,03	fasi batch multiple (10 d)	NH ₄ ⁺ -N = 44% PO ₄ ³⁻ -P = 33% COD = 38%	Kuala Lumpur, Malesia	n.d.	refluo di origine tessile	1,02 - 12,92	Lim et al., 2010
Consorzio	0,075	0,43	17	31	4,4 - 10,7	n.d.	10 - 15	NH ₄ ⁺ -N = 71 - 80% PO ₄ ³⁻ -P = 57 - 91% COD = 86 - 92%	Valladolid, Spagna	n.d.	refluo da macello	40.000 ± 7.500 lux (illuminazione artificiale)	Hernandez et al., 2013
<i>Haematococcus pluvialis</i> WZ	20	100	20	15 - 120	n.d.	0,107	15 - batch	n.d.	n.d.	n.d.	medium BG - 11 modificato	0,15 - 2,66 (illuminazione artificiale)	Zhang et al., 2009
<i>Haematococcus pluvialis</i> 26	20	100	20	15 - 25	n.d.	0,122	15 - batch	n.d.	n.d.	n.d.	medium BG - 11 modificato	0,15 - 2,66 (illuminazione artificiale)	Zhang et al., 2009
<i>Mucidosphaerium pulchellum</i> >90%	8	31,8	30	20	13,8 ± 2,6 (gVSS/(m ² ·d))	n.d.	4 - 8	NH ₄ ⁺ -N = 75±21% PO ₄ ³⁻ -P = 58±29%	Hamilton, Nuova Zelanda	CO ₂ pura	refluo civile	n.d.	Sutherland et al., 2014
<i>Nannochloropsis salina</i>	1	n.d.	n.d.	n.d.	5,2±1,3	n.d.	n.d.	n.d.	Ohio, USA	n.d.	n.d.	65,9 - 263,5 W/m ²	Sheets et al. 2014
<i>Nannochloropsis</i> sp. F&M-M24	3 - 4	20	15 - 20	15 - 25	14,6	n.d.	6 - batch	n.d.	Firenze, Italia	n.d.	n.d.	16 - 22,5	Chiaromonti et al., 2013
<i>Nannochloropsis</i> sp. F&M-M25	0,25	5	5	5 - 25	10,44	n.d.	6 - batch	n.d.	Firenze, Italia	n.d.	n.d.	16 - 22,5	Chiaromonti et al., 2013
<i>Oocystis</i> sp., <i>Chlorella</i> sp., <i>Protoderma</i> sp.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	3,07 g/(m ² ·d)	n.d.	n.d.	TN = 96% COD = 49%	n.d.	CO ₂ pura	digestato da refluo suino	13,4	González-Fernández et al. 2010
<i>Pleurochrysis carterae</i>	0,16	1	16	20	9,12	n.d.	n.d.	n.d.	Australia	n.d.	medium f/2 modificato	n.d.	Moheimani e

														Borowitzka 2007
Pleurochrysis carterae	0,13 - 0,21	1	13 - 21	20	10,09	n.d.	n.d.	n.d.	Australia	n.d.	medium f/2 modificato	n.d.		Moheimani e Borowitzka 2007
Scenedesmus acutus	2,7 - 7,3	30,37	9 - 24	25	2,3 - 5,9	0,013 - 0,07	n.d.	n.d.	Mesa, (AZ) USA	CO ₂ pura 5 L/min	medium BG - 11 modificato	15,8±1,1 (ottobre) - 9,0±2,5 (gennaio)		Eustance et al., 2015
Scenedesmus obliquus	0,53	1,93	30	20 - 30	8,26 ± 1,43	n.d.	7 - 10	TN = 55,75 - 77,02% TP = 51,4 - 64,3%	Arcos de frontera, Spagna	n.d.	refluo civile con pretrattamento	20 - 270 W/m ²		Arbib et al., 2013
Scenedesmus sp.	20	100	20	22	17	n.d.	n.d.	n.d.	Almeria, Spagna	gas di scarico	n.d.	n.d.		De Godos et al., 2014a
Scenedesmus sp	20	100	20	22	n.d.	0,33	5 - batch	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		Kumar et al. 2015
Spirulina platensis	135	450	30	30	8,2 (max 13,95)	0,027	n.d.	n.d.	Malaga, Spagna	n.d.	medium di Zarrouk	4 (inv) - 15 (est) ^A		Jimenez et al., 2003
Tetraselmissuecica F&MM33	3 - 4	20	15 - 20	15 - 25	8,37	n.d.	6 - batch	n.d.	Firenze, Italia	n.d.	n.d.	16 - 22,5		Chiaromonti et al., 2013
Tetraselmissuecica F&MM34	0,25	5	5	5 - 25	8,9	n.d.	6 - batch	n.d.	Firenze, Italia	n.d.	n.d.	16 - 22,5		Chiaromonti et al., 2013

Nota: biomassa algale espressa in g di sostanza secca se non specificato diversamente. ^A Irradianza come frazione fotosinteticamente attiva (PAR).

Dalla raccolta di casi di studio di crescita di biomassa in pond riportata in tabella 2.5 e dai dati delle tabelle 2.2 e 2.3, si possono trarre le seguenti conclusioni:

Il design e le caratteristiche geometriche sono piuttosto assodate, anche se ci sono ancora spunti per il miglioramento delle prestazioni idrauliche. Ad esempio Chiaramonti et al. (2013) propongono un IRAP (Innovative Raceway Pond) in cui sostituiscono una pompa centrifuga al paddlewheel e riducono lo spessore della sospensione a diminuendo i consumi del 60%, tuttavia questa configurazione è soggetta a problemi di evaporazione, sbalzi di temperatura e fotoinibizione.

I casi di coltivazione di microalghe con digestato come fonte di nutrienti a scala pilota sono ancora in numero ridotto, sono da approfondire aspetti quali: la relazione tra HRT, efficienze di rimozione e produttività algali, rilevanza di comunità batteriche in simbiosi con le popolazioni algali alla scala pilota e la correlazione con le condizioni metereologiche.

Un ulteriore aspetto da approfondire è la stabilità delle concentrazioni in uscita delle specie normate e in particolare di ammonio, nitrato e nitrito, in previsione di applicazioni che garantiscano il rispetto dei limiti imposti dalla direttiva nitrati e più in generale dalla normativa vigente per il riutilizzo agricolo.

Concludendo, per quanto siano i casi presentati siano molto vari in termini di posizione geografica e altre condizioni, si possono trarre dei riferimenti: per quanto concerne le produttività volumetriche la il valor medio risulta $108 \pm 117 \text{ mg}_{\text{TSS}}/(\text{L} \cdot \text{d})$, che si riduce a $34 \pm 10 \text{ mg}_{\text{TSS}}/(\text{L} \cdot \text{d})$ escludendo i dati relativi alla modalità batch, per le produttività areali il valor medio risulta $9,3 \pm 4,0 \text{ g}_{\text{TSS}}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$, senza i dati relativi agli impianti che hanno lavorato in batch diventa $8,8 \pm 4,5 \text{ g}_{\text{TSS}}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$.

3 Materiali e Metodi

3.1 Configurazione Impianto

L'impianto pilota per la coltivazione delle microalghe è situato presso la Società Agricola Cortegrande srl, ed è costituito da due reattori, Raceway e Colonna e tratta il digestato proveniente dall'impianto a biogas aziendale.

Questo impianto riceve cruschetto, pollina, trinciato di mais ed i fanghi provenienti dalla linea acque dell'impianto di trattamento dei liquami dei reflui suinicoli dell'azienda ed è costituito da 3 digestori anaerobici ($V = 3000 \text{ m}^3$, tempo di residenza idraulico ≈ 30 giorni, $T = 40 \text{ }^\circ\text{C}$). A valle il digestato è trattato da una centrifuga per permettere la separazione solido/liquido.

3.1.1 Colonna

La colonna ha avuto inizialmente la funzione di sviluppare la biomassa algale da inoculare nel raceway; successivamente essa è stata mantenuta in funzione con funzione di backup in caso di malfunzionamenti del raceway e per effettuare un confronto prestazionale con il raceway stesso.

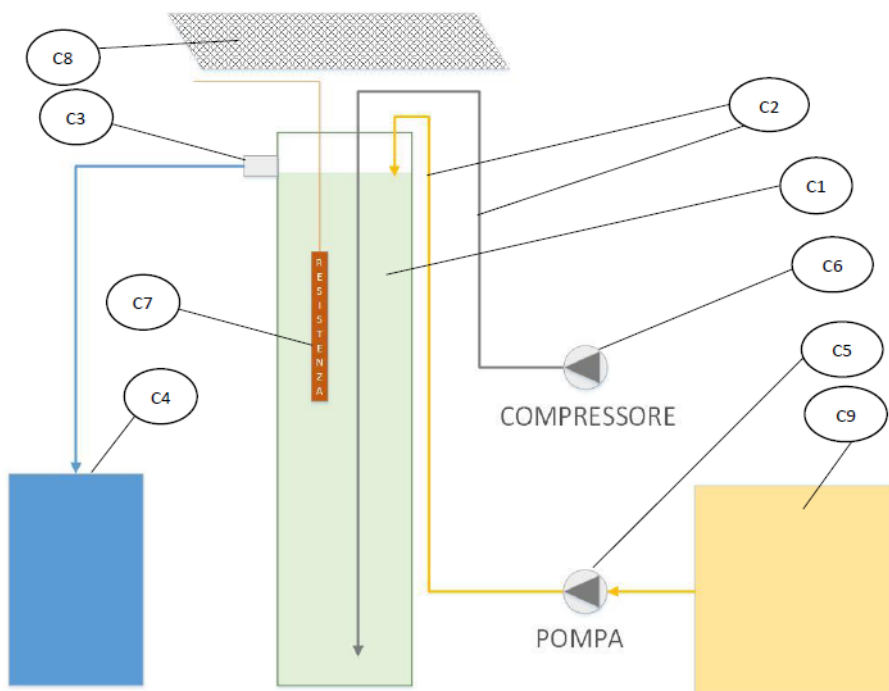


Figura 3.1 Schema d'impianto della colonna

La colonna è costituita (Figura 3.1) da:

- un cilindro in plexiglass (C1) dimensioni altezza $h = 131 \text{ cm}$, superficie $A = 0,6 \text{ m}^2$ e spessore $s = 0,5 \text{ cm}$, incollato a una base e con un coperchio sagomato anch'esso in plexiglass, il volume operativo risulta $74,5 \text{ L}$;
- tubi (C2) per l'alimento e l'insufflazione dell'aria;

- uno scarico di troppo pieno a gravità (C3);
- un volume di accumulo dello scarico costituito da un bidone del volume di 60 L (C4);
- una pompa per l'alimento (C5) Oil-less Rocking Piston Pump, 40RNS, avente una portata massima di 40 L/h, potenza (P) 100 W, impostata con una portata operativa compresa tra 50 e 58 L/d e collegata a un temporizzatore impostato per far in modo che la pompa funzioni 15 minuti ogni 90-180 in base alla fase operativa;
- un compressore (C6) a pistone (Etatron DS, DLX-PH/M, portata massima 5 L/h, P = 230 W) collegato a una pietra porosa;
- una resistenza termica (C7) (Ther Askoll, 100 W), attivato solo nei mesi più freddi come specificato al paragrafo 3.2.2;
- telo ombreggiante in polietilene (colore nero, tessitura raschel, ombreggiatura al 50%), utilizzato solo in presenza di elevata radiazione, come specificato al paragrafo 3.2.2;
- un volume di accumulo dell'alimento (C9) costituito da un bidone da 200 L.

3.1.2 Raceway

Il raceway (Figura 3.2), prodotto da Aqualgae S.L., è costituito da:

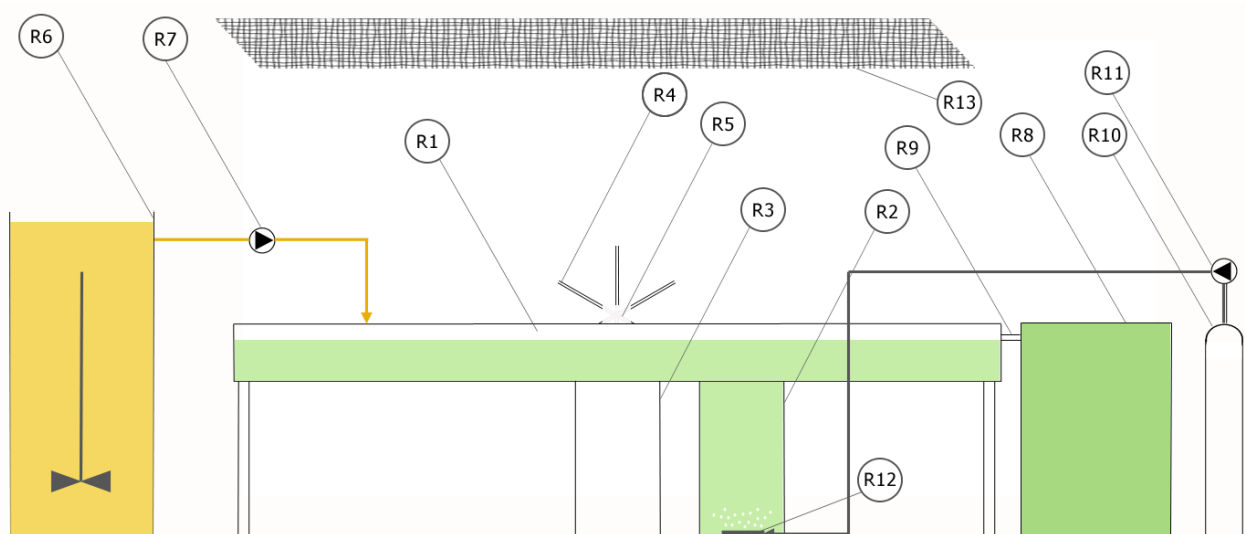


Figura 3.2 Schema d'impianto del raceway

- il corpo (R1) principale del raceway in polipropilene, di lunghezza 4 m, altezza 0,3 m, spessore 5 mm, lunghezza dei canali 3 m, raggio delle inversioni semicirculari 0,5 m, paratie di accompagnamento del flusso a 1/3 del raggio, altezza da terra 0,8 m e con gambe regolabili;
- un cilindro di contatto (R2) (sump) per l'insufflazione della CO₂, altezza 0,8 m, diametro 0,44 m, volume 123 L;
- un pannello di controllo (R3) collegato con due sonde in linea (JUMO), per la misura dell'ossigeno disciolto OD e del pH che misura anche la temperatura;

- un mulino (R4) per la miscelazione (paddlewheel) in acciaio, con motore (ECHTOP Dimostor), P = 180W, frequenza f= 60 Hz, velocità di rotazione 20 giri/min;
- una vasca (R4) del volume di 700L per la preparazione e l'accumulo dell'alimento, dotata di organo di miscelazione;
- una pompa per il dosaggio dell'alimento (R7) Oil-less Rocking Piston Pump, 40RNS, portata massima 40 L/h, P = 100 W, impostata con una portata che è variata tra 40 e 88 L/d a seconda della fase della sperimentazione;
- una vasca del volume di 500L per l'accumulo dell'effluente (R8);
- uno scarico di troppo pieno a gravità (R9);
- una bombola di CO₂ o di gas esausti (R10) periodicamente sostituita;
- una compressore (R11) per l'insufflazione della CO₂ nel pozzetto, con un piatto poroso in ceramica (R12), attivato in funzione di una soglia di pH impostata sul pannello di controllo. Il controllo del pH consisteva nell'attivazione del compressore che insufflava anidride carbonica nel momento in cui:

$$\text{pH}(t) > \text{pH}_{\text{set point}} + \text{isteresi}$$
 per poi arrestarsi una volta raggiunto il pH di set point;
- una rete ombreggiante in polietilene (colore nero, tessitura raschel, ombreggiatura al 50%), utilizzato solo in presenza di elevata irradianza, come specificato al paragrafo 3.2.2.

3.2 Piano Sperimentale

3.2.1 Avvio

La **colonna** è stata avviata in data 17/03/2016.

L'avvio è stato così condotto: la colonna è stata riempita con circa 40 L di digestato chiarito (da qui in avanti si farà riferimento al digestato chiarito chiamandolo semplicemente digestato se non specificato diversamente) proveniente dal digestore anaerobico dell'azienda Cortegrando, 34 L di acqua di rete e 500 mL di una sospensione di microalghe accresciuto presso i laboratori dell'Università di Milano Bicocca; questa sospensione conteneva principalmente microalghe del genere *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus* con concentrazioni rispettivamente di $2,5 \cdot 10^6$ cellule/mL e $1,3 \cdot 10^7$ cellule/mL. Alla sospensione così ottenuta sono stati aggiunti 23 g di NH₄Cl e 2,6 g di KH₂PO₄, allo scopo di ottenere una concentrazione di azoto ammoniacale di 81 mgN/L e di fosforo pari a 8,1 mgP/L.

La sospensione ottenuta, si è presentata con le caratteristiche riportate in Tabella 3.1:

Tabella 3.1 caratteristiche iniziali della sospensione nella colonna

Parametro	Assorbanza	SST	Torbidità	NH ₄ ⁺ -N	PO ₄ ³⁻ -P	N/P
	[-]	[g/L]	[FAU]	[mgN/L]	[mgP/L]	[mgN/mgP]
	0,175	0,03	199	81	5	16

Il **raceway** è stato avviato in data 20/05/2016.

L'avvio è stato così condotto: il raceway è stato riempito con circa 90 L di digestato chiarito dell'azienda Cortegrande (concentrazione azoto ammoniacale: circa 1,3 gN/L), 110 L di sospensione di algale proveniente dalla colonna: *Chlorella* con una concentrazione di $12 \cdot 10^6$ cellule/mL e *Scenedesmus* in tracce $<0,5 \cdot 10^6$ cellule/mL, e 680L di acqua di rete per portare a volume. Alla sospensione così ottenuta sono stati aggiunti 128 g di KH_2PO_4 , allo scopo di ottenere una concentrazione di fosforo come fosfati pari a 29 mgP/L.

La sospensione ottenuta, si è presentata con le caratteristiche riportate in Tabella 3.2:

Tabella 3.2 caratteristiche iniziali sospensione nel raceway

Parametro	Assorbanza	SST	Torbidità	$\text{NH}_4^+\text{-N}$	$\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$	N/P
	[-]	[g/L]	[FAU]	[mgN/L]	[mgP/L]	[mgN/mgP]
	0,394	0,265	369	111,5	37,1	3

3.2.2 Gestione

Il piano sperimentale ha previsto sia per la colonna che per il raceway, una prima fase in batch di sviluppo e acclimatazione della biomassa.

Successivamente, per la colonna, si è tentato di mantenere un carico di azoto ammoniacale e un rapporto N/P in ingresso sufficientemente costanti, cambiando l'HRT, e inserendo una copertura ombreggiante o una riscaldatore per ottimizzare i carichi rimossi in funzione delle condizioni climatiche. L'alimentazione è avvenuta con digestato diluito.

A seguire, in Tabella 3.3, sono individuate le principali fasi di gestione della colonna.

Tabella 3.3 Fasi di gestione della colonna

FASE	Data inizio	Giorno inizio	Data fine	Giorno fine
FC0	17/03/2016	0	19/04/2016	36
FC1	20/04/2016	37	31/05/2016	77
FC2	01/06/2016	78	30/06/2016	108
FC3	01/07/2016	109	28/07/2016	136
FC4	29/07/2016	137	24/08/2016	160
FC5	23/08/2016	161	03/11/2016	235
FC6	04/11/2016	236	17/11/2016	249
FC7	18/11/2016	250	11/01/2017	301
FC8	12/01/2017	302	17/03/2017	365

Le fasi operative sono state contraddistinte dai seguenti parametri: il grado di diluizione dell'alimento, tempo di ritenzione idraulica (HRT), il carico di azoto in ingresso Cv,N (calcolato come somma dei contributi di ammonio e nitrato), il carico di sostanza organica solubile in ingresso Cv,CODsol , il rapporto N/P, ovvero il rapporto tra le concentrazioni di azoto e fosforo in ingresso, e la presenza del riscaldatore o del telo ombreggiante (Tabella 3.4).

Tabella 3.4 Andamento dei principali parametri di gestione durante la fasi di gestione della colonna

FASE	Diluizione alimento	HRT	Cv,N	Cv,CODsol	N/P	Riscaldatore	Copertura con telo
	[L _{ALIM} /L _{DIGEST}]	[d]	[mgN/(L·d)]	[mg/(L·d)]	[mgN/mgP]		
FC0	BATCH	-				NO	NO
FC1	5	11,4	19,0 ± 4,1	38,6 ±	35,0 ± 27,7	NO	NO
FC2	5	8,5	25,4 ± 6,8	28,5 ± 3,1	16,7 ± 2,6	NO	NO
FC3	5	10,3	35,6 ± 4,7	32,5	16,7 ± 0,9	NO	NO
FC4	5	10,3	25,8 ± 2,9	37,3 ± 5,8	24,7 ± 23,3	NO	SI
FC5	5	10,3	29,4 ± 2,2	36,7 ± 8,1	20,8 ± 12,3	NO	NO
FC6	5	10,3	27,3 ± 2,6	40,7 ± 0,5	17,5 ± 3,6	SI	NO
FC7	5	20,6	23,0 ± 5,3	20,7 ± 0,3	14,3	SI	NO
FC8	3	15,5	26,9 ± 9,0	23,4 ± 9,4	23,7 ± 7,1	SI	NO

Le fasi di gestione del raceway sono riportate in Tabella 3.5.

Tabella 3.5 Fasi di gestione del raceway

FASI	Data inizio	Giorno inizio	Data fine	Giorno fine
FR0		0	20/05/2016	6
FR1		7	27/05/2016	13
FR2		14	03/06/2016	26
FR3		27	16/06/2016	54
FR3^A		55	14/07/2016	68
FR4		69	28/07/2016	96
FR5^B		97	25/08/2016	121
FR5		122	19/09/2016	131
FR5^C		132	29/09/2016	143
FR6		144	11/10/2016	171
FR6^D		172	08/11/2016	178
FR6		179	15/11/2016	188
FR7		189	25/11/2016	200

Note: FR3^A è analoga a F3 ma con l'insufflazione di offgas invece che CO₂ pura.

FR5^B si differenzia da FR5 perché l'alimento era preparato con diluizione 1:5, ma con aggiunta di sali d'ammonio (NH₄Cl o NH₄HCO₃) in modo da preparare la biomassa per un alimento più concentrato.

Durante FR5^C non era disponibile una bombola della CO₂ di ricambio.

FR6^D è corrisposta con l'utilizzo di un telo trasparente di LDPE per ridurre le perdite di calore

Le fasi operative sono state contraddistinte dai parametri precedentemente descritti per la colonna con l'aggiunta del dosaggio di CO₂ o di offgas e della configurazione relativa alla regolazione del pH (Tabella 3.6).

Tabella 3.6 Andamento dei principali parametri di gestione durante la fasi di gestione del raceway

FASI	Diluizione	HRT	Cv,N	Cv,CODsol	N/P	Telo	CO ₂	set point pH
	[L _{ALIM} /L _{DIG}]	[d]	[mgN/(L·d)]	[mg/(L·d)]	[mgN/mgP]			
FR0	-	BATCH				NO	NO	-
FR1	5	9,98	23,0	29,1	34,3	NO	NO	-
FR2	5	9,98	24,7 ± 4,2	29,5 ± 0,3	34,3	NO	CO ₂	1
FR3	5	9,98	23,5 ± 2,6	27,2 ± 1,7	22,0 ± 9,2	NO	CO ₂	2
FR3 ^A	5	9,98	27,1 ± 3,2	32,7 ± 4,0	16,8 ± 1,1	NO	OFFGAS	2
FR4	5	9,98	28,1 ± 5,8	31,5 ± 1,2	18,2 ± 0,9	T.O. 50%*	CO ₂	2
FR5 ^B	5 ^B	9,98	37,3 ± 7,3	34,6 ± 2,8	27,8 ± 5,0	NO	CO ₂	2
FR5	3	9,98	37,8 ± 4,6	40,3 ± 13,2	25,8 ± 4,0	NO	CO ₂	2
FR5 ^C	3	9,98	31,3 ± 6,6	47,2 ± 7,3	29,9 ± 13,7	NO	NO	2
FR6	3	20,64±2,6	22,5 ± 4,3	25,9 ± 3,6	41,4 ± 9,0	NO	CO ₂	2
FR6 ^D	3	19,67±0,1	22,2 ± 3,1	30,5 ± 0,1	19,7	T. plast	CO ₂	2
FR6	3	19,1	21,5 ± 1,4	30,1 ± 2,3	21,9 ± 3,8	NO	CO ₂	2
FR7	-	BATCH				NO	NO	2

Note: ° la configurazione set point pH "1" è pH di set point=7 e isteresi=+1, la configurazione "2" è pH=7, isteresi= 0,5.

* Nella fase FR4 è stato posto sul raceway un telo ombreggiante (T.O. 50%), per dettagli si veda il paragrafo 3.1.2.

Per quanto concerne il raceway, dopo la fase di acclimatazione, si è mantenuto un carico di azoto ammoniacale in ingresso pressoché costante fino alla fase FR4, durante la fase 5 è stato aumentato il carico di azoto da rimuovere riducendo la diluizione, nel tentativo di sfruttare le condizioni ambientali favorevoli. Successivamente si è ridotto nuovamente il carico di azoto alzando il tempo di ritenzione idraulica.

Si è tentato di mantenere il rapporto N/P tra 20 e 30 a 1, dosando fosfato di potassio monobasico (KH₂PO₄) o del fosfato di potassi bibasico (K₂HPO₄), per sopperire alla carenza di fosforo nell'alimento. Ci sono state variazioni non trascurabili dall'intervallo obiettivo dovute al fatto che il dosaggio dei sali di fosforo avveniva prima di conoscere l'esatta concentrazione di ortofosfato dell'alimento.

Il dosaggio di anidride carbonica, o gas esausto (CO₂ 10%) fase FR3^A, è stato aggiunto dalla fase FR2 in poi per un maggiore dosaggio di C inorganico permettendo al contempo di controllare il pH.

Il telo ombreggiante è stato posto sul raceway nel mese di agosto al fine di ridurre l'irradianza in ingresso per evitare la fotoinibizione. Il telo trasparente è stato applicato durante la fase FR6^D per ridurre le perdite di calore dal raceway e mantenere temperature interne meno rigide, è stato poi rimosso perché la formazione di condensa nello strato interno del telo riduceva drasticamente la trasmittanza.

3.2.3 Piano di monitoraggio

Durante il monitoraggio, sono stati svolti, circa due volte a settimana, dei sopralluoghi per effettuare campionamenti dell'alimento e della sospensione microalgale. Durante queste visite venivano svolte anche

operazioni di gestione dell'impianto relative alla preparazione dell'alimento, alla verifica del corretto funzionamento delle parti elettromeccaniche, alla calibrazione delle sonde, allo svuotamento del bidone di raccolta dello scarico.

Di seguito sono indicate le analisi svolte sull'alimento, la frequenza ed il luogo in cui sono state realizzate (Tabella 3.7).

Tabella 3.7 Analisi realizzate sui campioni di alimento

Parametro	Frequenza (#/settimana)	Luogo di analisi
PO₄³⁻-P_{SOL}	1	Laboratorio Rozzi
NH₄⁺-N	2	Azienda Cortegrande
TKN	1	Laboratorio Rozzi
TSS	1	Laboratorio Rozzi
TS	1	Laboratorio Rozzi
COD_{SOL}	1	Laboratorio Rozzi
Assorbanza 680nm	2	Azienda Cortegrande
Spettro Assorbanza 380 - 770 nm	1	Laboratorio Rozzi
pH	2	Azienda Cortegrande
torbidità	2	Laboratorio Rozzi
Conducibilità	1	Laboratorio Rozzi

Di seguito vengono indicate le analisi svolte sulla sospensione algale prelevata dalla colonna o dal raceway, la loro frequenza ed il luogo in sono state realizzate (Tabella 3.8).

Tabella 3.8 Analisi realizzate sui campioni di sospensione algale da raceway e colonna

Parametro	Frequenza (#/settimana)	Luogo di analisi
PO₄³⁻-P_{SOL}	1	Laboratorio Rozzi
NH₄⁺-N	2	Azienda Cortegrande
NO₃⁻-N	2	Azienda Cortegrande
NO₂⁻-N	2	Azienda Cortegrande
TKN	1	Laboratorio Rozzi
TKN_{SOL}	1	Laboratorio Rozzi
TSS	1	Laboratorio Rozzi
VSS	1	Laboratorio Rozzi
TS	1	Laboratorio Rozzi
COD_{SOL}	1	Laboratorio Rozzi
Assorbanza 680 nm	2	Azienda Cortegrande
Spettro Assorbanza 380 - 770 nm	1	Laboratorio Rozzi

pH	2	Azienda Cortegrande
Temperatura	2	Azienda Cortegrande
Ossigeno disciolto	2	Azienda Cortegrande
torbidità	2	Laboratorio Rozzi
Conducibilità	1	Laboratorio Rozzi
conta algale	1	Istituto Spallanzani

Periodicamente si è provveduto a scaricare i dati relativi alle sonde di monitoraggio del raceway con l'ausilio del software JUMO PCC e ad ottenere alcuni dati meteorologici dal sito arpa (www.arpalombardia.it). In particolare si sono ricavati temperatura e irradianza netta, medie minime e massima giornaliera, precipitazione cumulata giornaliera, precipitazione minima oraria e massima oraria della stazione meteo più vicina che potesse fornire i suddetti dati (Crema, Via XI Febbraio) distante 9 km in linea d'aria dal sito dell'impianto.

3.2.4 Metodi Analitici

Sui campioni, tal quali, sono state effettuate le seguenti analisi:

- Temperatura, pH, Ossigeno disciolto (DO) e conducibilità, tramite una sonda portatile multiparametro (HQ40d, Hach-Lange);
- assorbanza e torbidità, misurate tramite spettrofotometro (DR 3900, Hach-Lange o DR 1900 Hach-Lange). Nel primo caso è stata utilizzata una cuvetta con cammino ottico di 10 mm, nel secondo una cuvetta con cammino ottico di 4 cm. Nel momento in cui le letture andavano oltre l'intervallo di misura si procedeva a diluire il campione in maniera da rientrarvi.

Per misurare la concentrazione delle forme azotate, il COD solubile ed il fosforo sono stati utilizzati kit della Hach-Lange, dopo aver filtrato il campione con filtri per siringa a 0,45 µm (Tabella 3.9).

Tabella 3.9 kit utilizzati per le analisi, con relativi intervalli di misura

	Codice kit HACH-Lange	Intervalli di misura [mg/L]
NH₄⁺-N	LCK303	2,0 - 47,0
NO₃⁻-N	LCK339	0,2 - 13,5
NO₂⁻-N	LCK342	0,6 - 6,0
CODsolubile	LCK114	150 - 1.000
PO₄³⁻-P	LCK348	0,5 - 5,0

Per misurare il COD solubile ed il fosforo il campione è stato preventivamente sottoposto a trattamento di digestione con un termostato (LT 200, Hach-Lange), impostato a diverse temperature e per il periodo di

tempo richiesto dall'analisi. Le misure sul COD solubile in uscita sono state corrette per eliminare il disturbo su tale misura dovuto alla presenza di nitrito nell'effluente come segue: $COD_{corr} = COD - 1,14 \cdot NO_2 - N$.

Le sospensioni microalgali sono state sottoposte a conte al microscopio (microscopio B350, Optika, Italia) usando una camera di Bürker (Precicolor, HBG, Germania), presso l'Istituto Sperimentale Italiano Lazzaro Spallanzani. I conteggi sono stati effettuati su campioni da 0,1 mL, ottenuti diluendo i campioni tal quali con acqua distillata in rapporto da 1:2 a 1:10. Il numero di microalghe totali e di *Scenedesmus spp.* e *Chlorella spp.* è stato stimato come media del numero di cellule contate in 9 quadrati (ognuno di 1 mm²).

I solidi sospesi totali (SST [g/L]) sono stati misurati filtrando con sistema di filtrazione Millipore un volume noto di sospensione (10 - 30 mL, "V_{campione}") con un filtro (0,45 µm, diametro: 47 mm, materiale: fibra di vetro, Sartorius) preventivamente posto in forno a 105 °C e pesato (P_{filtro}). Il filtro, rimosso dall'apparato di filtrazione, è stato posto in una stufa a 105 °C per almeno due ore in modo da far evaporare l'umidità, fatto raffreddare e ripeso (P_{campione+filtro105°C}). Il valore di concentrazione dei solidi totali è stato quindi calcolato con la seguente formula:

$$SST = (P_{campione+filtro105°C} - P_{filtro})/V_{campione} \text{ (equazione 2)}$$

I solidi sospesi volatili (SSV [g/L]) sono stati misurati ponendo il filtro, uscito dalla stufa e pesato, in muffola a 550 °C per due ore, lasciandolo raffreddare, pesandolo (P_{campione+filtro550°C}) e applicando l'equazione 6:

$$SSV = -(P_{campione+filtro550°C} - P_{campione+filtro105°C})/V_{campione} \text{ (equazione 3)}$$

Per quanto riguarda i solidi volatili (SV) e totali (ST) viene pesato un campione prima (P_{campione}) e dopo aver passato circa 10 ore in forno a 105°C (P_{campione105°C}), la differenza di peso rappresenta la quantità di solidi totali (ST). Dopo questo trattamento, ponendo il campione in muffola a 550°C per due ore (P_{campione+filtro550°C}), la differenza di peso rappresenta la massa di solidi volatili presenti nel campione.

$$ST = (P_{campione105°C} - P_{filtro})/V_{campione} \text{ (equazione 4)}$$

$$SV = -(P_{campione550°C} - P_{campione105°C})/V_{campione} \text{ (equazione 5)}$$

4 Progettazione Raceway

In questo capitolo si descrive l'attività preliminare di dimensionamento del raceway condotta seguendo quanto suggerito dalla letteratura tecnico-scientifica specifica.

Si è scelto di utilizzare un reattore di tipo RWP (Raceway pond), per la maggiore semplicità impiantistica e perché è la configurazione più consolidata, per cui si dispone della letteratura più ampia (Figura 4.1).

4.1 Corpo principale del raceway

Considerando che per ottimizzare il comportamento idraulico il rapporto tra la lunghezza e la larghezza del canale dovrebbe essere nell'ordine di 10:1 o superiore (Hadiyanto et al. 2013), che un'altezza ottimale del battente d'acqua è $h = 10 - 30$ cm (Chiaramonti et al., 2013; Park et al., 2011; Hadiyanto et al. 2013) (altezze basse per temperature basse e viceversa) e che un tempo di ritenzione idraulica tale da consentire un trattamento del digestato sufficientemente spinto è nell'ordine di alcuni giorni (García et al., 2000; Bechet et al., 2016), si sono definiti i seguenti parametri (Tabella 4.1):

Tabella 4.1 Principali parametri geometrici e idraulici

HRT	L_C	$L_{tot C}$	l_C	v	Q_{mix}	h	A	V	Q_{ric}
d	m	M	m	m/s	L/s	m	m^2	L	L/d
10	4	8	0,5	0,2	25	0,25	3,785	946	94,6

dove: HRT = tempo di ritenzione idraulica, L_C = lunghezza del canale, l_C = larghezza del canale, v = velocità di miscelazione, Q_{mix} = portata di miscelazione, h = battente idraulico, A = superficie, V = volume, Q_{ric} = portata di ricambio. La portata di miscelazione rappresenta la portata che transita nel canale del pond, il cui valore è determinato dalle esigenze di miscelazione.. con portata di ricambio si intende la portata di alimentazione, che per funzionamento in continuo corrisponde a quella di scarico.

La superficie e il volume del raceway sono calcolati sulla base dei parametri geometrici appena definiti. L'area è ottenuta come somma dell'area relativa al tratto rettilineo dei canali e quella relativa alle inversioni di forma semicircolare.

$$A = 2 \cdot (L_C - 2 \cdot l_C) \cdot l_C + (\pi \cdot l_C^2); V = A \cdot h; \text{ (equazioni 6 e 7)}$$

Le portate di miscelazione e di ricambio sono calcolate in funzione di parametri idraulici di cui sopra. Fissando una velocità v pari a 0,2 m/s, questa portata è calcolata come segue:

$$Q_{mix} = v \cdot h \cdot l_C \text{ (equazione 8)}$$

Infine, la portata che alimenta in continuo il pond è definita dal valore scelto per il tempo di residenza idraulico:

$$Q_{ric} = V/HRT \text{ (equazione 9)}$$

Per limitare le perdite di carico e facilitare la realizzazione, si è pensato di realizzare il corpo del pond in vetroresina, con 3 mm di spessore.

L'organo di miscelazione più usato è il paddlewheel (rotore a pale), a 6 - 8 pale (Chiaromonti et al., 2013, Chisti, 2016). Le pale non devono essere completamente immerse. Ipotizzando un'altezza della pala pari a 3/2 della profondità del canale, e mantenendo 2,5 cm di distanza dal fondo risulta $h_{pala} = 0,35m$. Considerando un albero con un diametro di 2 cm il diametro complessivo del rotore risulta: $d_{p.w.} = 72 cm$.

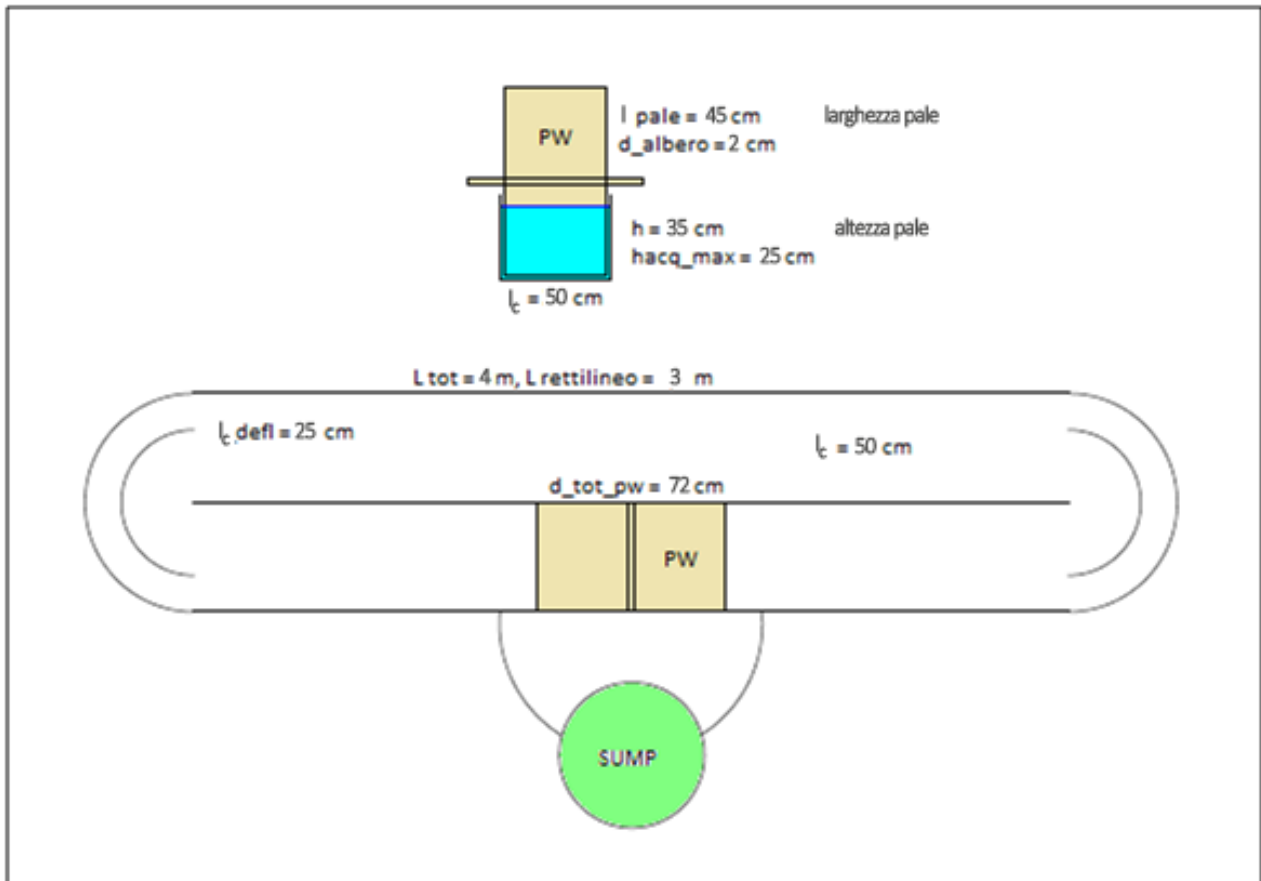


Figura 4.1 Rappresentazione schematica del raceway con dimensioni geometriche

4.2 Dimensioni pozzetto di dosaggio

Per ottimizzare il trasferimento della CO_2 si è scelto di prevedere un pozzetto di dosaggio cilindrico. Ipotizzando un'altezza di circa 1 m, mantenendo un diametro contenuto, e volendo tenere un rapporto tra il volume del pozzetto V_{pozz} e la sua superficie A_{pozz} , $V_{pozz}/A_{pozz} > 0,01 m^3/m^2$ (Godos et al., 2014; Mendoza et al., 2013a), si sono ottenute le seguenti dimensioni (Tabella 4.2):

Tabella 4.2 Parametri geometrici e idraulici del pozzetto di dosaggio della CO_2

h_{pozz}	d_{pozz}	V_{pozz}	V_{pozz}/A_{pozz}	HRT_{pozz}	$t_{funz pozz}$	$t^*_{funz pozz}$
m	m	L	m^3/m^2	min	h/d	h/d
1,1	0,3	77,8	0,021	20,7	10-16	16

dove: h_{pozz} = altezza del pozzetto, d_{pozz} = diametro del pozzetto, V_{pozz} = Volume del pozzetto, A = superficie del pond, HRT_{pozz} = tempo di ritenzione idraulica del pozzetto, calcolato sulla base della portata massima circolante nel pozzetto (ottenuta al paragrafo 4.6), $t_{\text{funz pozz}}$ = tempo di funzionamento del pozzetto durante il giorno (variabile in funzione delle ore di sole), $t^*_{\text{funz pozz}}$ = tempo di funzionamento massimo del pozzetto, usato per calcolare il consumo energetico.

4.3 Perdite di carico, pompe e consumi idraulici:

Si sono calcolate le perdite di carico distribuite, relative ai tratti rettilinei, applicando la formulazione di Colebrook-White (ε (vetroresina) = 0,02 mm (Norsok Standard P001 edizione 5)).

Si sono calcolate le perdite di carico distribuite ΔH_d in funzione delle dimensioni geometriche dei canali e della cadente idraulica J .

$$\Delta H_d = J \cdot (L_c - 2 \cdot l_c) \text{ (equazione 10)}$$

La cadente dipende dalla velocità di del fluido v , dal diametro idraulico D_h e da g che rappresenta la accelerazione gravitazionale e dal coefficiente d'attrito di Darcy λ .

$$J = \lambda \cdot v^2 / (D_h \cdot 2 \cdot g) \text{ (equazione 11)}$$

L'equazione di Colebrook-White (equazione 12) è una formulazione implicita rispetto a λ , quindi si è usato come λ di primo tentativo $\lambda_{1\text{tent}} = 64/Re$, dove Re è il numero di Reynolds, si è poi trovato il valore di λ che mandasse a zero la differenza tra il termine a sinistra e quello a destra dell'uguale.

$$\frac{1}{\sqrt{\lambda}} = -2 \cdot \log \left[\frac{2,51}{Re \cdot \sqrt{\lambda}} + \frac{\varepsilon/D_h}{3,71} \right]$$

(equazione 12)

Il diametro idraulico D_h , il raggio idraulico R_h e il numero di Reynolds Re sono calcolati in funzione dei parametri geometrici del pond della velocità, della densità ρ_{H_2O} e della viscosità dinamica μ del fluido

$$D_h = 4 \cdot R_h; R_h = \frac{l_c \cdot h}{l_c + 2 \cdot h}; Re = \rho_{H_2O} \cdot v \cdot \frac{R_h}{\mu}$$

(equazioni 13, 14 e 15)

La cadente J risulta di $2,68 \cdot 10^{-2}$ cm/m.

Le perdite di carico concentrate ΔH_c sono state calcolate come segue :

$$\Delta H_c = n \cdot k \cdot v^2 / (2 \cdot g) \text{ (equazione 16)}$$

dove n è il numero di inversioni, g rappresenta la accelerazione gravitazionale, e k è un coefficiente che in questo caso (presenza di raccordi) è assunto pari a 2 (Chiaramonti et al., 2013).

$$\Delta H_{\text{tot 1giro}} = \Delta H_c + \Delta H_d \text{ (equazione 17)}$$

Le perdite di carico concentrate contribuiscono per circa l'80% delle perdite di carico totali relative ad un giro completo del pond: $\Delta H_c / \Delta H_{\text{tot 1giro}} = 0,16 \text{ cm} / 0,98 \text{ cm}$.

Nella Tabella 4.3 si riassumono i risultati ottenuti.

Tabella 4.3 Perdite di carico, parametri connessi

Q_{mix}	J	ΔH_d	ΔH_c	ΔH_{1giro}
L/s	cm/m	cm	cm	cm
25	$2,68 \cdot 10^{-2}$	0,16	0,82	0,98

La potenza necessaria al rotore per garantire la miscelazione è calcolata in funzione della portata di miscelazione, della perdita di carico relativa ad un giro di reattore (espressa in metri) e dell'efficienza del rotore stesso, ipotizzata $\eta_{rot} = 25\%$:

$$P_{rot} = Q \cdot \Delta H_{tot\ 1giro} \cdot \rho_{H_2O} \cdot g / \eta_{rot} \text{ (equazione 18)}$$

Analogamente è stata calcolata la potenza della pompa per il ricircolo dal pozzetto di dosaggio della CO_2 , assumendo una resa $\eta_{pompa\ pozz} = 70\%$, la portata Q_{pozz} è calcolata al paragrafo 4.6:

$$P_{pompa\ pozz} = Q_{pozz} \cdot h_{pozz} \cdot \rho_{H_2O} \cdot g / \eta_{pompa\ pozz} \text{ (equazione 19)}$$

L'energia spesa, in termini di miscelazione (primo termine nell'equazione 20) e sollevamento per il pozzetto (secondo termine equazione 20), per unità di volume del pond (pari a 946 L) risulta:

$$E_{spec\ idr\ tot} = [HRT \cdot (24h/d) \cdot P_{rot}/V] + [HRT \cdot (16h/d) \cdot P_{pompa\ pozz}/V] \text{ (equazione 20)}$$

La potenza idraulica totale installata risulta : $P_{tot\ idr} = P_{rot} + P_{pompa\ pozz} = 10,54\ W$.

Sono state calcolate quindi la potenza idraulica per unità di superficie, per unità di volume di reattore e per unità di volume trattato. Le potenze per unità di area, di volume e di volume trattato sono ottenute rapportando la potenza totale all'area, al volume e al volume trattato: P_{tot}/A , P_{tot}/V e P_{tot}/V_{tratt} . Il volume trattato equivale all'intero volume del reattore, 946 L, in un tempo che corrisponde al tempo di ritenzione idraulica, 10 giorni. In questi 10 giorni vengono completati 21.600 giri di reattore. Quindi: $P_{tot}/V_{tratt} = n_{giri\ 10d} \cdot P_{tot}/V$.

In Tabella 4.4 sono riportati la potenza del rotore P_{rot} , della pompa del pozzetto, l'energia consumata per unità di volume.

Tabella 4.4 Potenze, potenze specifiche e consumi specifici

P_{rot}	$P_{pompa\ pozz}$	$E_{spec\ idr\ tot}$	P_{tot}/A	P_{tot}/V	P_{tot}/V_{tratt}
W	W	kWh/m ³	W/m ²	W/m ³	kW/m ³
9,57	0,97	2,59	2,78	11,14	240,57

4.4 Perdite per evaporazione

Le perdite per evaporazione sono stimate con una formulazione semi-empirica, la formula di Shuttleworth (1993) (Shuttleworth, 2007) (equazione 21):

$$E[\text{mm/d}] = \frac{\Delta \cdot I_n + \gamma \cdot 6,43 \cdot (1 + 0,536 \cdot v_2) \cdot P_{v\ sat} \cdot [1 - (u/100)]}{\lambda_v \cdot (\Delta + \gamma)}$$

(equazione 21)

dove:

- 1) $\Delta[\text{kPa}/^\circ\text{C}] = 4098 \cdot P_{v \text{ sat}} / (273,3 + T)^2$ (Allen et al., 1998) è il gradiente di vapor saturo funzione della temperatura ;
- 2) $I_n [\text{MJ}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})]$ è l'irradianza netta
- 3) $\gamma = 0,00163 \cdot P(z) / \lambda_v [\text{kPa}/^\circ\text{C}]$ è la costante psicrometrica (Allen et al., 1998);
- 4) $P(z)$ è la pressione atmosferica alla quota z (Allen et al., 1998), assunta pari a 100,24 kPa ;
- 5) v_2 è la velocità del vento 2 m sopra allo specchio d'acqua;
- 6) $P_{v \text{ sat}}[\text{kPa}] = (611 \cdot 10^{-3}) \cdot \exp [17,27 \cdot T / (273,3 + T)]$ è la pressione di vapor saturo (Allen et al., 1998);
- 7) u è l'umidità relativa;
- 8) $\lambda_v[\text{MJ}/\text{kg}] = 2,501 \cdot (2,361 \cdot 10^{-3})T$ è il calore latente di vaporizzazione (Allen et al., 1998).

Per T , u , I_n e v_2 , si sono usati i dati meteorologici medi orari località Capralba (CR) di ciascun giorno per gli anni 2008 – 2009 ottenuti dal sito arpa (www.arpalombardia.it)

Si sono calcolati valori di evaporazione per ogni ora, per ogni giorno degli anni 2008 e 2009, applicando la formula di cui sopra con un fattore di conversione di 1/24, e si sono sommati i valori orari per ottenere l'evaporazione giornaliera.

L'evaporazione massima giornaliera relativa agli anni 2008 – 2009 risulta: $E_{\text{max}} = 3,1 \text{ mm/d} = 3,1 \text{ L}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$, che corrispondono a 11,8 L/d, corrispondenti al 12% della portata trattata.

4.5 Bilancio Termico

Si è eseguita una stima di bilancio termico, supponendo di voler mantenere la temperatura all'interno del reattore sempre uguale o superiore a $T_{\text{pond,min}} = 18^\circ\text{C}$. Il sistema di riscaldamento è stato dimensionato in modo tale che il calore fornito (calcolo Q_{necess}) consentisse di compensare le perdite di calore calcolate come somma delle perdite per convezione $Q_{\text{perd conv}}$ e per evaporazione $Q_{\text{perd evap}}$, cui è stato sottratta l'energia termica in ingresso dovuto all'irradianza $Q_{\text{forn sole}}$.

$$Q_{\text{necess}} = Q_{\text{perd conv}} + Q_{\text{perd evap}} - Q_{\text{forn sole}} \text{ (equazione 22)}$$

$$Q_{\text{perd conv}} = (k_{t1} \cdot A_1 + k_{t2} \cdot A_2 + k_{t3} \cdot A_3) \cdot (T_{\text{pond,min}} - T_{\text{amb}}) \cdot \text{FS} \text{ (equazione 23)}$$

dove:

- 1) $Q_{\text{perd conv}} = 0$ se $T_{\text{amb},i,j} > T_{\text{pond,min}}$; $T_{\text{amb},i,j}$ è la temperatura media del mese i all'ora j ;
- 2) $k_{t1} = 1 / [(\frac{1}{h_{C \text{ suolo}}} + (\frac{1}{h_{C \text{ acqua}}} + (\frac{s}{k_{C \text{ v.r.}}}))]$ = coefficiente di trasmissione del calore, s = spessore del profilato di vetroresina e A_1 = superficie di contatto tra acqua e vetroresina e tra vetroresina e suolo = A ;

- 3) $k_{t2} = 1/[(\frac{1}{h_{C\text{ aria}}} + (\frac{1}{h_{C\text{ acqua}}} + (\frac{s}{k_{C\text{ v.r.}}}))]$, e $A_2 =$ superficie laterale di contatto tra acqua e vetroresina e tra vetroresina e aria $= 2 \cdot (L_C - 2 \cdot l_C) \cdot h + 2 \cdot \pi \cdot l_C^2 \cdot h$;
- 4) $k_{t3} = 1/[(\frac{1}{h_{C\text{ aria}}} + (\frac{1}{h_{C\text{ acqua}}})]$, e $A_3 =$ superficie di contatto tra acqua e aria $= A$;
- 5) $h_{C\text{ acqua}} = Nu \cdot k_{\text{acqua}}/D_h^*$, con $k_{\text{acqua}} = 0,63 \text{ W/m} \cdot \text{K}$ = conducibilità termica dell'acqua (Pruvost et al., 2016), $D_h^* =$ diametro idraulico della vasca per la convezione (*: si considera l'intera larghezza della vasca non solo la larghezza del canale) $= 4 \cdot \frac{2 \cdot l_C \cdot h}{2 \cdot l_C + 2 \cdot h}$, $Nu =$ numero di Nusselt $= 0,664 \cdot Re^{1/2} \cdot Pr^{1/3}$ (variando il raggio idraulico anche Re varia: $Re = 33.333$), $Pr =$ numero di Prandtl $= \mu \cdot c_s/k_{\text{acqua}}$, $\mu =$ viscosità dell'acqua $= 1 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ e $c_s =$ capacità termica dell'acqua $= 4,186 \text{ kJ}/(\text{kg} \cdot ^\circ\text{C})$, (Rodonò e Volpes, 2011);
- 6) $FS = 1,1$ fattore di sicurezza che tiene conto del fatto che si sono usate temperature medie mensili.

Tabella 4.5 Valori dei coefficienti di trasmissione del calore (Bonomo, 2014, per la vetroresina <https://fiberline.com>)

		acqua	suolo	aria	vetroresina
h_C	$\text{kJ}/(\text{m}^2 \cdot \text{h} \cdot ^\circ\text{C})$	775,3	21	85	-
k_C	$\text{kJ}/(\text{m}^2 \cdot \text{h} \cdot ^\circ\text{C})$	-	-	-	0,79

$$Q_{\text{perd evap}} = E_{\text{med},ij} \cdot \lambda_v(T_{\text{amb}})$$

con: $E_{\text{med},ij}$ = evaporazione media del mese i all'ora j e λ_v = il calore latente di vaporizzazione

$$Q_{\text{forn sole } ij} = I_{n,\text{med } ij} \cdot (1 - \alpha_{i,j}(e_{i,j}))$$

con: $I_{n,\text{med } ij}$ = Irradianza netta media del mese i all'ora j e $\alpha_{i,j}(e_{i,j})$ = albedo media del mese i all'ora j che è funzione dell'elevazione del sole media del mese i all'ora j , i valori medi orari dell'elevazione per la località Casaletto di sopra (CR) per l'anno 2016, sono stati scaricati dal sito (<http://www.sunearthtools.com>), i valori di albedo sono stati tratti da una tabella riportata da Leone, 2004.

Si sono ricavati i valori di calore da fornire per ogni ora media, in termini di temperatura, perdite di calore per evaporazione, irradianza di ogni mese. Sono stati esclusi gennaio, febbraio, novembre e dicembre perché avrebbero richiesto un consumo energetico eccessivo per il riscaldamento o avrebbero portato ad una produttività troppo ridotta (si veda paragrafo successivo). La potenza massima oraria da fornire è risultata: $P_{\text{max}} = 8.138 \text{ kJ/h} = 2,26 \text{ kW}_T$,

ipotizzando un rendimento della macchina termica del 50%, diventa $P'_{\text{max}} = P_{\text{max}}/\eta = 4,52 \text{ kW}_E$.

Tabella 4.6 Potenze e consumi per il riscaldamento assoluti e riferiti all'unità di superficie o di volume

P_{MAX}		$P_{\text{MAX, SPEC}}$	
kW_T	kW_E	kW_T/m^2	kW_E/m^2
2,26	4,52	0,60	1,19

4.6 Produttività e fabbisogno CO₂

Per calcolare il fabbisogno di anidride carbonica sono state preliminarmente calcolate le produttività medie mensili e le produttività massime mensili. Esse sono state calcolate sulla base dei valori d'irradianza giornalieri medi o massimi mensili, delle efficienze fotosintetiche e del potere calorifico della biomassa algale:

$$\text{Prod}_{\text{spec med}} = I_{n,\text{med mese}} \cdot \eta_{\text{pho,stag}} \cdot (1 - l.p.) / \text{PCI}_{\text{alghe}} \text{ (equazione 24, Park et al., 2011)}$$

$$\text{Prod}_{\text{spec max}} = I_{n,\text{max mese}} \cdot \eta_{\text{pho,stag}} \cdot (1 - l.p.) / \text{PCI}_{\text{alghe}} \text{ (equazione 25, Park et al., 2011)}$$

dove:

- 1) $I_{n,\text{med mese}}$ e $I_{n,\text{max mese}}$ [MJ/(m² · d)] sono le irradianze giornaliere, medie e massime mensili per il 2008;
- 2) $\text{PCI}_{\text{alghe}} = 21$ MJ/kg è il potere calorifico inferiore relativo alla biomassa algale (Park et al., 2011);
- 3) $\eta_{\text{ph,stag}} = \eta_{\text{ph,teo,stag}} \cdot f_{\text{sat,stag}}$ è l'efficienza fotosintetica, $\eta_{\text{ph,teo}} = 13 - 15\%$ è l'efficienza fotosintetica teorica delle alghe, $f_{\text{sat,stag}}$ è un fattore di correzione che tiene conto che nei primi strati d'acqua le alghe sono oltre il limite di saturazione alla luce (irradianza troppo elevata) e ciò causa una momentanea inibizione $f_{\text{sat,est}} = 10\%$, $f_{\text{sat,inv}} = 17\%$ (Park et al., 2011);
- 4) $\eta_{\text{ph,teo}} = \eta_{\text{ph}*} \cdot \eta_{\text{par}} \cdot (1 - r.l._{\text{stag}})$ (Park et al., 2011) dove $\eta_{\text{ph}*} = 33,2\%$ è l'efficienza di conversione fotosintetica dell'energia solare, $\eta_{\text{par}} = \sim 48\%$ è la frazione della radiazione che è utilizzabile per la fotosintesi e $r.l. = 5 - 20\%$ è un fattore che esprime le perdite per riflessione (reflection loss);
- 5) i valori di $r.l.$ sono stati stimati sulla base dei valori medi di irradianza per il mese i -esimo, con discretizzazione oraria, ora " j ", $I_{n,\text{med } i,j}$. La stima del calore in ingresso dovuto all'irradianza stessa è eseguita come somma dei contributi orari, in funzione delle irradianze medie orarie $I_{n,\text{med } i,j}$ e dei valori di albedo $\alpha_{i,j}(e_{i,j})$, a loro volta dipendenti dall'elevazione del sole rispetto all'orizzonte $e_{i,j}$ ($\sum_{j=0}^{23} Q_{\text{form sole } i,j} = \sum_{j=0}^{23} [I_{n,\text{med } i,j} \cdot (1 - \alpha_{i,j}(e_{i,j}))]$), quindi per ciascun mese $r.l._i = F.S._\alpha \cdot (\sum_{j=0}^{23} Q_{\text{form sole } i,j}) / (\sum_{j=0}^{23} I_{n,\text{med } i,j})$, mediando i valori dei mesi invernali si è ottenuto $r.l._{\text{inv}} = 17\%$ e mediando i valori dei mesi estivi $r.l._{\text{est}} = 7,1\%$;
- 6) $F.S._\alpha = 0,8$ è un fattore di sicurezza che tiene conto del fatto che i valori di albedo sono affetti da incertezza perché ricavati dalla letteratura e non misurati per il sito specifico, scegliendo il valore i e j se l'angolo di elevazione è superiore a quello $e_{i,j}$, questo è a favore di sicurezza per l'evaporazione (meno energia in ingresso), ma non lo è per il calcolo della produttività, quindi inserisco un fattore di sicurezza che riduce le perdite per riflessione;
- 7) $l.p. = 10\%$ è la perdita di produttività (loss of productivity) dovuta al fatto che una parte dell'energia ricevuta dalle alghe è utilizzata per esigenze di mantenimento.

Nella Tabella 4.7 si riassumono i valori ottenuti.

Tabella 4.7 Parametri per il calcolo delle efficienze fotosintetiche

η_{ph*}	η_{par}	r. l.est	r. l.inv	$\eta_{ph,teo,est}$	$\eta_{ph,teo,inv}$	$f_{sat,est}$	$f_{sat,inv}$
%	%	%	%	%	%	%	%
33%	48%	7,1%	17,0%	14,8%	13,2%	17%	10%

Tabella 4.8 Efficienze fotosintetiche (η_{ph})

Estate	Inverno	Primavera/Autunno
%	%	%
1,48	2,25	1,87

Tabella 4.9 Produttività specifiche e produttività medie e massime mensili

		mar	apr	mag	giu	lug	ago	set	ott
prod spec med	g/(m ² ·d)	10,5	10,7	13,0	11,6	13,0	11,5	10,0	6,0
prod spec max	g/(m ² ·d)	15,7	17,1	17,9	15,4	15,3	13,5	13,6	11,3
prod med	g/d	39,6	40,4	49,1	44,1	49,1	43,5	37,7	22,9
prod max	g/d	59,5	64,9	67,8	58,3	58,1	51,3	51,4	42,6

Il fabbisogno di CO₂ della biomassa algale è stato ricavato anch'esso da letteratura (Pruvost et al., 2016):

$$fab_{max}(CO_2) = prod_{max}(CO_2) \cdot 1,8 \text{ gCO}_2/\text{gbiom} \text{ (equazione 26)}$$

I fabbisogni in g_{CO2}/min sono ottenuti come segue:

$$fab_{max}(CO_2) \text{ gCO}_2/\text{min} = \left[fab_{max}(CO_2) \frac{\text{gCO}_2}{\text{d}} \right] / \left[\left(h \text{ sole}_{\text{mese}} \frac{\text{h}}{\text{d}} \right) \cdot 60 \frac{\text{min}}{\text{h}} \right]$$

(equazione 27)

dove $h \text{ sole}_{\text{mese}}$ è la durata media del giorno per ciascun mese.

Tabella 4.10 Durata del giorno media mensile

mese	mar	apr	mag	giu	lug	ago	set	ott	
h sole	h	12,03	13,62	14,97	15,62	15,22	13,98	12,45	10,87

Ne derivano i seguenti fabbisogni massimi mensili di anidride carbonica (ricavati dalle produttività massime):

Tabella 4.11 Fabbisogni massimi di CO₂

		mar	apr	mag	giu	lug	ago	set	ott
$fab_{max}(CO_2)$	g _{CO2} /d	107	117	122	105	105	92,	92	77
$fab_{max}(CO_2)$	g _{CO2} /min	0,15	0,14	0,14	0,11	0,11	0,11	0,12	0,12

Tali quantità di CO₂, vanno divise per il fattore di fissazione $f_{fiss} = 0,66 \text{ gCO}_2 \text{ utile/gCO}_2$. Tale parametro rappresenta il rapporto tra la quantità di CO₂ utilizzata dalle alghe e quella fornita.

$$fab'(CO_2) = fab_{max}(CO_2) / f_{fiss}$$

Si ottiene una portata di CO₂ massima da fornire alle alghe di:

$$fab'_{\max \text{ anno}}(\text{CO}_2) = 0,225 \text{ gCO}_2/\text{min}$$

Considerando, a favore di sicurezza, un pozzetto di dosaggio poco efficiente, quindi un'efficienza di trasferimento $\eta_{\text{trasf CO}_2} = 50\%$, si ricava la CO_2 da dosare effettivamente:

$$\text{dos}_{\max \text{ anno}}(\text{CO}_2) = 0,450 \text{ gCO}_2/\text{min}$$

Questa equivale a :

$$Q_{\max \text{ anno}}(\text{CO}_2) = \text{dos}_{\max \text{ anno}}(\text{CO}_2) \cdot 22,4 \text{ L}_N/\text{mol}/(44 \text{ g/mol}) = 0,23 \text{ L}_N \text{CO}_2/\text{min}$$

Ipotizzando che la CO_2 sia fornita dosando in gas esausto (g.e.) da un motore cogenerativo con l'8% in volume di CO_2 si avrebbe la seguente portata di gas esausto:

$$Q_{\text{gas esaust}} = \frac{Q_{\max \text{ anno}}(\text{CO}_2)}{0,08} = 2,86 \text{ L}_N \text{ g. e./min}$$

Tabella 4.12 Dose e portate massime di CO_2 e gas esausto

	gCO_2/min	LCO_2/min	$\text{L}_{\text{g.e.}}/\text{min}$
$\text{dos}_{\max \text{ anno}}(\text{CO}_2)$	0,45	0,23	2,86

Si ipotizza che la CO_2 sia fornita in un sistema a pozzetto a cui viene inviata la sospensione algale prelevata dal pond mediante un apposito sistema di ricircolo dotato di pompa di ricircolazione. Si procede con il calcolo della portata di tale pompa di ricircolo (Q_{pozz}) ipotizzando che la sospensione in uscita dal pozzetto sia satura di CO_2 . La concentrazione di CO_2 è quindi stimata in base alla formula di Henry:

$$C_{\text{sat}}(\text{CO}_2) = H \cdot p_{\text{parz}}(\text{CO}_2) \cdot \text{P. M.}(\text{CO}_2) \text{ (equazione 28)}$$

$$Q_{\text{pozz}} = \text{dos}_{\max \text{ anno}}(\text{CO}_2)/C_{\text{sat}}(\text{CO}_2) \text{ (equazione 29)}$$

dove:

- 1) H è la costante di Henry per la CO_2 a 25°C
- 2) $p_{\text{parz}}(\text{CO}_2)$ è la pressione parziale della CO_2 nel gas esausto
- 3) $C_{\text{sat}}(\text{CO}_2)$ è la concentrazione a saturazione della CO_2 nel pozzetto
- 4) Q_{pozz} è la portata da far circolare nel pozzetto per garantire il corretto apporto al pond

Nello stesso modo si calcola anche la portata da far circolare nel pozzetto per garantire il corretto apporto al pond nel caso in cui si disponga di CO_2 pura e non di gas esausto ($Q_{\text{pozz CO}_2 \text{ pura}}$). I valori ottenuti sono riassunti in Tabella 4.13.

Tabella 4.13 Grandezze dimensionamento pozzetto per il trasferimento della CO_2

$Q_{\text{CO}_2 \text{ max}}$	H	$p_{\text{parz}}(\text{CO}_2)$	$\text{P. M.}(\text{CO}_2)$	C_{sat}	$Q_{\text{pozz}}(\text{g. e.})$	$Q_{\text{pozz}}(\text{CO}_2)$
gCO_2/min	$\text{mol}/(\text{atm}\cdot\text{L})$	atm	g/mol	g/L	L/min	L/min
0,45	0,034	0,08	44	0,12	3,76	0,3

5 Risultati Monitoraggio

Nella presentazione ed elaborazione dei risultati si pone maggiormente l'attenzione sulle prestazioni del raceway, dal momento che è una configurazione che contiene i costi di gestione ed è in generale più adatta per realizzare impianti a scala reale, come concluso nel paragrafo 2.3, la colonna sarà trattata in modo più breve.

Il periodo di monitoraggio è stato di 1 anno (17.03.2016 - 17.03.2017) per la colonna e di 200 giorni per il raceway (20.05.2016 - 06.12.2016). Per ciò che concerne la suddivisione in fasi si rimanda al paragrafo 3.2. In questo capitolo si presentano i risultati del monitoraggio degli impianti pilota raceway e colonna descritti nel paragrafo 3.1.

5.1 Monitoraggio Raceway

5.1.1 Caratterizzazione Alimento

Per tutta la durata della sperimentazione il raceway ha trattato la frazione liquida diluita del digestato. Il digestato utilizzato in questa sperimentazione proveniva da un allevamento di maiali situato a Casaleto di sopra (CR), che conta circa 20.000 maiali.

Presso la stessa azienda agricola si trova un impianto di trattamento di reflui a piena scala (grigliatura fine, flottazione, predenitrificazione-nitrificazione convenzionale e sedimentazione secondaria) e tre digestori anaerobico a piena scala ($V = 3000 \text{ m}^3$, tempo di residenza idraulico ≈ 30 giorni, $T = 40 \text{ }^\circ\text{C}$), alimentato da una miscela di cruschetto, pollina, trinciato di mais ed i fanghi provenienti dalla linea acque dell'impianto. L'operazione seguente era una separazione di fase per centrifugazione.

Il surnatante dalla separazione di fase solido-liquido (centrifuga, Perialisi, FP600 2RS/M) era normalmente restituito al trattamento delle acque reflue. L'impianto pilota è stato alimentato su questo surnatante che ha avuto caratteristiche molto variabili (Tabella 5.1 e Tabella 5.2) a causa della variazioni stagionali nella produzione di rifiuti di porcilaia, e nella qualità e quantità dei co-substrati digeriti.

Tabella 5.1 Caratteristiche medie della frazione liquida del digestato misurate regolarmente durante la sperimentazione

Parametro	Unità di misura	Media		dev. st.
TKN	mg/L	1294	±	279
$\text{NH}_4^+\text{-N}$	mg/L	1250	±	266
COD sol	mg/L	1517	±	216
Conducibilità	mS/cm	15,0	±	2,4
TSS	mg/L	0,468	±	0,239

Note: Le misure sono state eseguite sull'alimento (digestato diluito), pertanto si sono ricavati i valori relativi al digestato non diluito moltiplicando per il fattore di diluizione. Gran parte delle misure di PO_4^{3-} sono state eseguite dopo il dosaggio di sali di fosforo, non si riporta un valore medio di PO_4^{3-} per del digestato liquido.

Tabella 5.2 Caratteristiche medie della frazione liquida del digestato misurate in sperimentazioni precedenti

Parametro	Unità di misura	Media		dev. st.
pH	–	8,1	±	0,1
VSS	mg/L	274	±	123
Alcalinità	mgCaCO3/L	6330	±	696
SO ₄ ²⁻	mg/L	76	±	33
PO ₄ ³⁻	mg/L	8,9	±	4
F ⁻	mg/L	<0,1		
Ca ²⁺	mg/L	203	±	47
Mg ²⁺	mg/L	93	±	33
K ⁺	mg/L	985	±	345
Na ⁺	mg/L	706	±	254

La frazione liquida del digestato non diluita ha avuto una concentrazione ammoniacale oltre ad 1 gN/L (Tabella 5.1). Queste concentrazioni possono inibire la crescita algale, pertanto il digestato liquido è stato diluito per tutta la durata della sperimentazione. Quando in seguito si farà riferimento all'alimento ci si riferirà alla frazione liquida del digestato diluita. In Figura 5.1 si possono osservare l'andamento della concentrazione di ammonio e la diluizione.

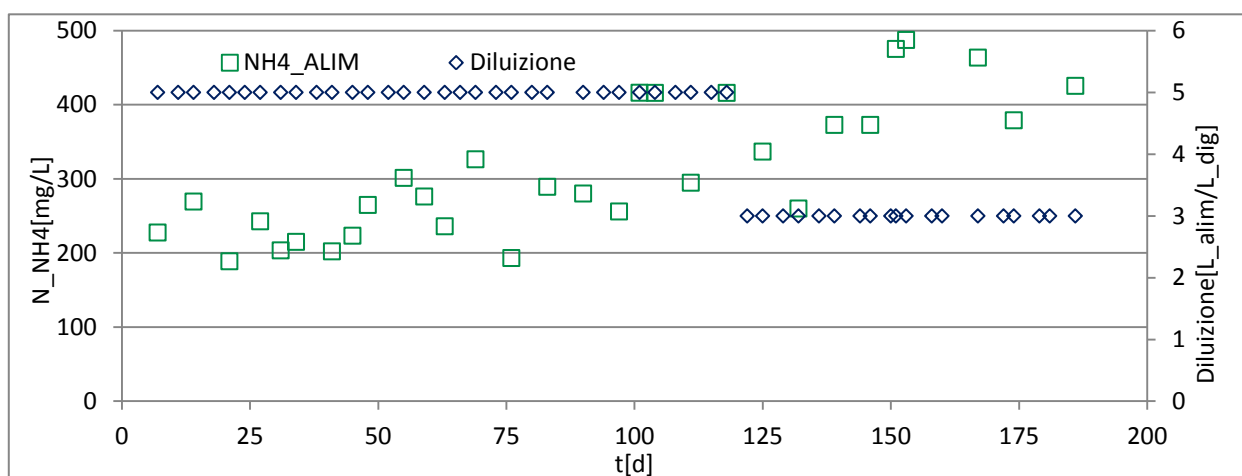


Figura 5.1 Concentrazione di ammonio e diluizione dell'alimento per il raceway

La diluizione è stata mantenuta a 5 a 1 (1 parte digestato liquido, 4 acqua di rete) fino al 24 agosto, giorno 96 (fasi da FR1 a FR4). Dal giorno 97 al 121 (fase FR5^B) la diluizione è rimasta 5:1, ma sono stati aggiunti sali d'ammonio per alzare la concentrazione e preparare la popolazione algale ad un alimento più concentrato. Dal giorno 122 (19 settembre) fino alla fine della sperimentazione (fasi FR5 e FR6), si è alimentato digestato liquido diluito 3:1 per aumentare il carico di ammonio da rimuovere. In Tabella 5.3 si possono osservare le concentrazioni medie per le tre fasi appena descritte.

Tabella 5.3 Concentrazioni di ammonio nell'alimento per il raceway

	FR1 - FR4	FR5 ^B	FR5 - FR6
NH ₄ ⁺ -N med [mgN/L]	246±42	358±73	402±73

Le specie azotate presenti nell'alimento sono state quasi interamente costituite da azoto ammoniacale, se ne ha conferma dalla differenza contenuta col TKN (Tabella 5.1) e dal rapporto $\text{NH}_4^+ \text{-N/TKN}$ in Figura 5.2.

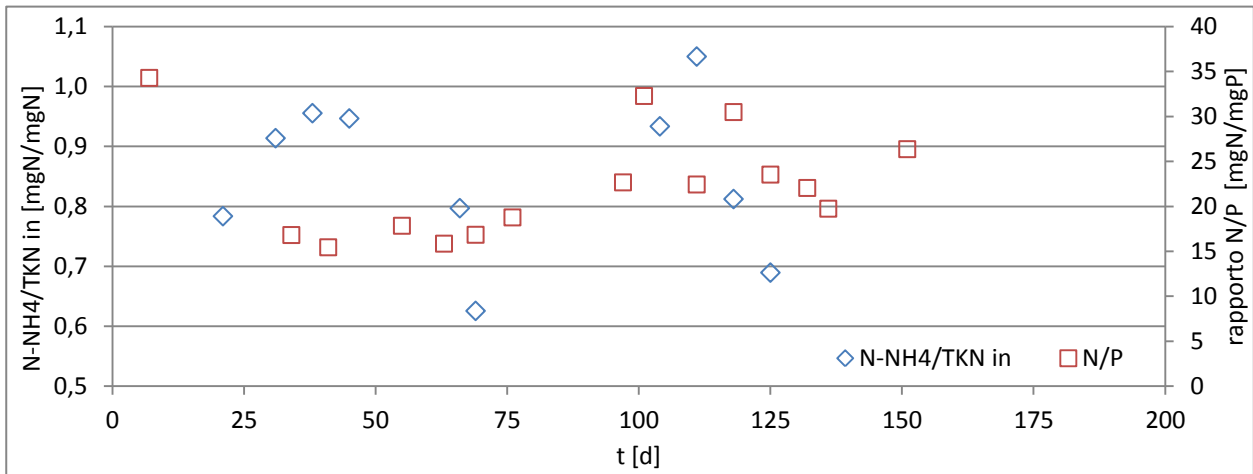


Figura 5.2 Rapporto $\text{NH}_4\text{-N/TKN}$ e rapporto N/P dell'alimento

Tabella 5.4 Rapporto N/P per l'alimento dopo l'aggiunta di sali di fosforo

	FR1 - FR2	FR3 - FR5	FR6
N/P [mgN/mgP]	34,3	21,7±7,1	33,6±12,5

Il rapporto N/P è stato nell'intervallo 20 - 30 a 1 (Figura 5.2 e Tabella 5.4), con qualche eccezione per la modalità di dosaggio del fosforo per maggiori dettagli si veda il paragrafo 3.2.2.

Uno dei parametri importanti per il monitoraggio della crescita algale è l'assorbanza, poiché l'assorbanza dell'alimento costituisce il valore di fondo, sono state eseguite periodiche misure di assorbanza sull'alimento per lunghezze d'onda nell'intervallo 380 - 770 nm, che corrisponde circa allo spettro visibile (390 - 700 nm) e contiene le lunghezze d'onda corrispondenti ai picchi d'assorbimento della clorofilla.

Si osservano in Figura 5.3 gli spettri di assorbanza medi dell'alimento, costituito da digestato diluito 1:3 e 1:5. Si osserva che gran parte dell'assorbimento si ha per lunghezze d'onda "corte".

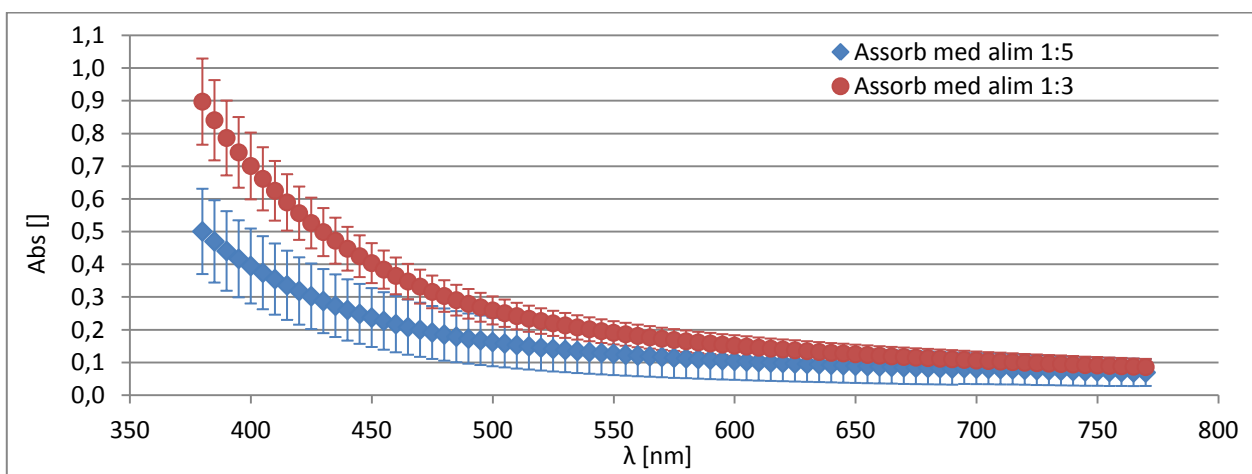


Figura 5.3 Assorbanza media alimento con deviazione standard

Al di sopra dei 600 nm l'alimento 1:3 ha assorbanza inferiore a 0,2 e l'alimento 1:5 ha assorbanza inferiore a 0,1. Si può inoltre osservare che la variabilità dell'assorbanza dell'alimento è stata piuttosto contenuta.

5.1.2 Condizioni meteo e condizioni della sospensione

Questo tipo di trattamento è fortemente dipendente dalle condizioni meteorologiche, si mostrano quindi i valori medi giornalieri di temperatura, irradianza e la precipitazione cumulata giornaliera per il periodo di funzionamento del raceway (Figura 5.4) e le statistiche aggregate per le fasi di gestione (Tabella 5.5).

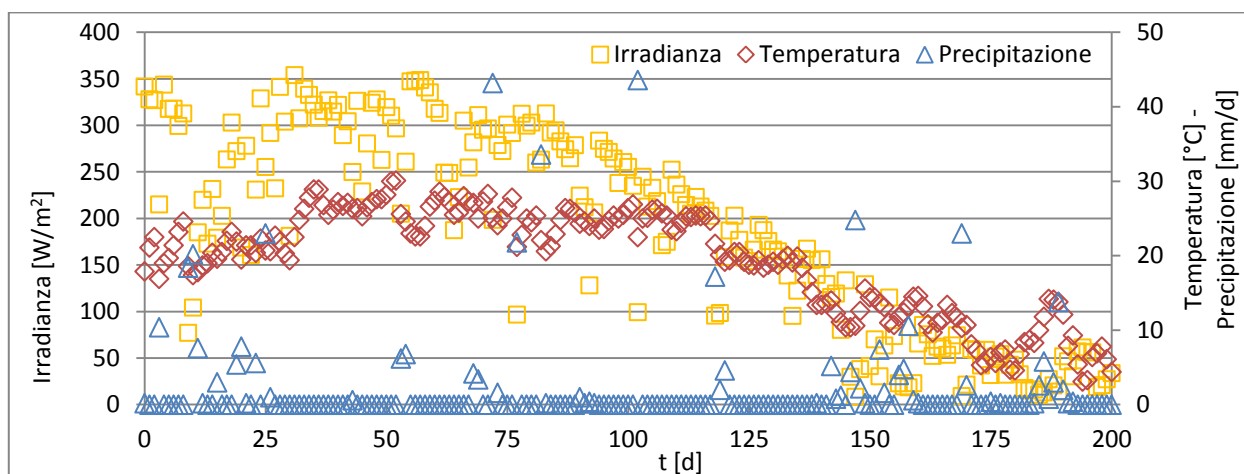


Figura 5.4 Condizioni meteo nel periodo di funzionamento dell'impianto (giorno 0 raceway = 20 maggio 2016)

Tabella 5.5 Medie e deviazioni standard per temperatura ambiente, irradianza e precipitazioni nelle fasi di gestione del raceway

fase	giorni	T _A media giorno [°C]		Irradianza media giornaliera [W/m ²]		Precipitazioni cumulate [mm/d]	
		media	dev.st	media	dev.st	media	dev.st
FR0	0 - 6	19,8	2,0	313,2	44,4	1,5	3,9
FR1	7 - 13	20,0	2,6	200,5	83,9	5,8	8,7
FR2	14 - 26	21,1	1,1	244,7	55,7	3,8	6,6
FR3	27 - 68	26,0	2,6	296,2	43,2	0,5	1,7
FR4	69 - 96	25,0	2,1	273,5	54,0	2,6	8,9
FR5	97 - 143	21,2	4,1	181,6	47,0	1,6	6,8
FR6	144 - 188	10,5	3,0	48,0	30,2	2,2	5,2
FR7	189 - 200	7,2	3,3	39,7	17,2	1,4	4,0

Le precipitazioni durante l'arco della sperimentazione non sono state particolarmente frequenti, corrispondenti a 81 giorni con almeno un evento su 265, se si considerano i giorni con almeno 2mm si scende a 43 giorni, ci sono stati poi 16 giorni in cui sono caduti almeno 10 mm con un massimo di 43,6 mm il giorno 102 (30/08).

L'irradianza media ha avuto un andamento decrescente per via della variazione dell'insolazione stagionale e piuttosto irregolare a causa della nubi nei giorni di cielo coperto. Si può notare che nella fase iniziale, da FR0 a FR4, con l'insolazione più forte, l'irradianza media giornaliera raggiunge anche 350W/m² che è circa un ordine di grandezza maggiore dell'intensità per cui la maggior parte delle specie algali vengono fotoinibite, 35 W/m² = 200 μmol/(m²*s) (Park et al., 2011). Questo effetto inibente è stato limitato dalla

profondità del reattore (l'irradianza che raggiunge le alghe nella parte inferiore è sufficientemente attenuata) e durante FR4 (giorni 69 - 96) dall'utilizzo di una rete ombreggiante, con 50% di area coperta.

La temperatura media ha avuto il tipico andamento stagionale. Per *Chlorella vulgaris* la crescita ottimale si ha a 22 °C (Huertas et al., 2011), per *Scenedesmus Obliquus* invece la temperatura ottimale è 29°C (Hodaifa et al., 2010).

Pertanto si è provveduto a raffreddare la sospensione quando la temperatura dentro il raceway saliva sopra i 30°C mediante circolazione di acqua fredda nel circuito di raffreddamento predisposto sul fondo del raceway. Tuttavia si può notare che la differenza tra la temperatura interna ed esterna non è stata mai negativa (figura 5.5), ciò significa che il raffreddamento è stato inefficace, a causa della differenza di temperatura troppo ridotta tra l'acqua nel circuito di raffreddamento e la sospensione algale e della superficie di scambio anch'essa non sufficientemente elevata.

Le condizioni meteorologiche appena descritte e il controllo del pH attraverso il dosaggio di CO₂ quando il pH superava un valore di set point (8 oppure 7,5, si vedano i paragrafi 3.1.2 e 3.2.2), hanno prodotto la seguente situazione all'interno del pond (Figura 5.5 e Figura 5.6).

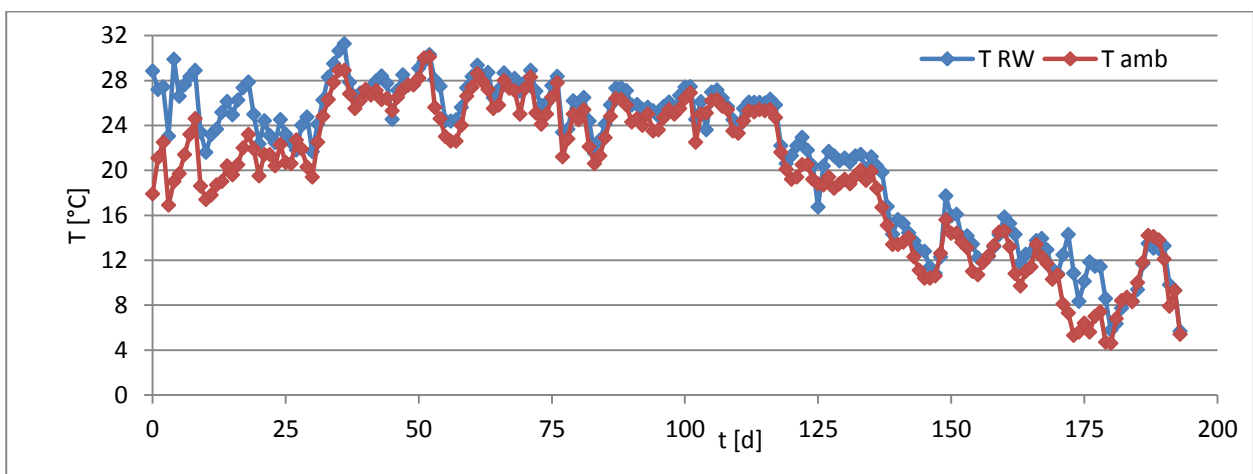


Figura 5.5 Confronto tra la temperatura media ambientale e la temperatura media all'interno del raceway

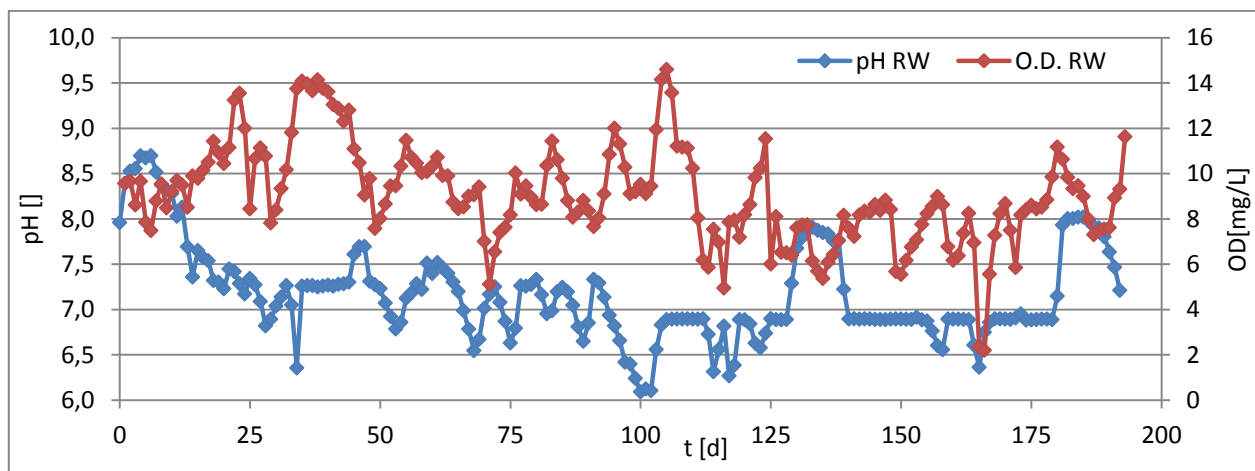


Figura 5.6 Andamento medio giornaliero del pH e dell'ossigeno disciolto nel raceway

Tabella 5.6 Medie e deviazioni standard per temperatura nel raceway, pH e Ossigeno disciolto nelle fasi di gestione del raceway

fase	giorni	T _{rw} [°C]		pH []		OD [mg/L]	
		media	dev.st	media	dev.st	media	dev.st
FR0	0 - 6	27,2	2,2	8,50	0,26	9,1	1,1
FR1	7 - 13	25,0	2,6	8,09	0,39	9,2	0,5
FR2	14 - 26	24,5	1,9	7,38	0,15	11,0	1,4
FR3	27 - 68	27,2	2,4	7,17	0,28	11,1	2,2
FR4	69 - 96	26,3	1,8	7,09	0,26	9,2	1,4
FR5	97 - 143	22,4	3,9	6,93	0,51	8,5	2,3
FR6	144 - 188	12,1	2,6	7,05	0,45	7,7	1,8
FR7	189 - 200	8,2	3,1	6,6	0,8	9,0	1,7

Dalla Figura 5.6 e dalla Tabella 5.6 si nota che il pH non si è sempre mantenuto nell'intervallo ottimale, tra 7 e 8. L'andamento dell'ossigeno disciolto è piuttosto irregolare poiché il bilancio tra produzione da parte delle alghe e consumo batterico è piuttosto instabile. Da figura 5.6 si può osservare che per gran parte della sperimentazione la concentrazione di ossigeno è stata a saturazione o oltre la saturazione. I motivi di questi andamenti, così come l'analisi del bilancio dell'ossigeno saranno analizzati nei paragrafi successivi in riguardanti il bilancio dell'ossigeno (paragrafo 5.1.10), l'attività microalgale (paragrafo 5.1.9) e dei batteri nitrificanti (paragrafo 5.1.5.3).

5.1.3 Bilancio Idrico

Prima di analizzare l'efficienza di rimozione degli inquinanti è necessario quantificare l'effetto di concentrazione o diluizione associati ad evaporazione e precipitazioni.

A partire dal giorno 45 (04/07/2016) si è iniziato a tenere traccia del volume scaricato dal raceway al fine di valutare il bilancio idrico per stimare l'evaporazione che ha interessato il raceway.

La stima di evaporazione si basa sul bilancio tra il volume entrate nel reattore calcolato come $V_{in}(t_i) = Q(t_{i-1}) \cdot (t_i - t_{i-1})$, il volume uscente misurato nel bidone di accumulo $V_{out}(t_i)$ e il volume di pioggia stimato come segue $V_p(t_i) = \sum_{t_{i-1}}^{t_i} p(t)[\text{mm/d}] \cdot A$, sulla base dei dati meteo di cui si è scritto al paragrafo 5.1.2. Era presente un pluviometro, ma le misure non erano affidabili, poiché tra l'evento di pioggia e la lettura spesso trascorrevano molte ore, o anche qualche giorno, in cui una frazione molto rilevante del volume di pioggia raccolto nel pluviometro era già evaporata, quindi si è preferito basare le stime sui dati meteo relativi a Crema via XI febbraio.

Le stime di evaporazione sono state ottenute come segue:

$$\text{Evap}[L/d] = [V_{in}(t_i) - V_{out}(t_i) + V_p(t_i)] / (t_i - t_{i-1})$$

I risultati di queste stime sono mostrati in Figura 5.7.

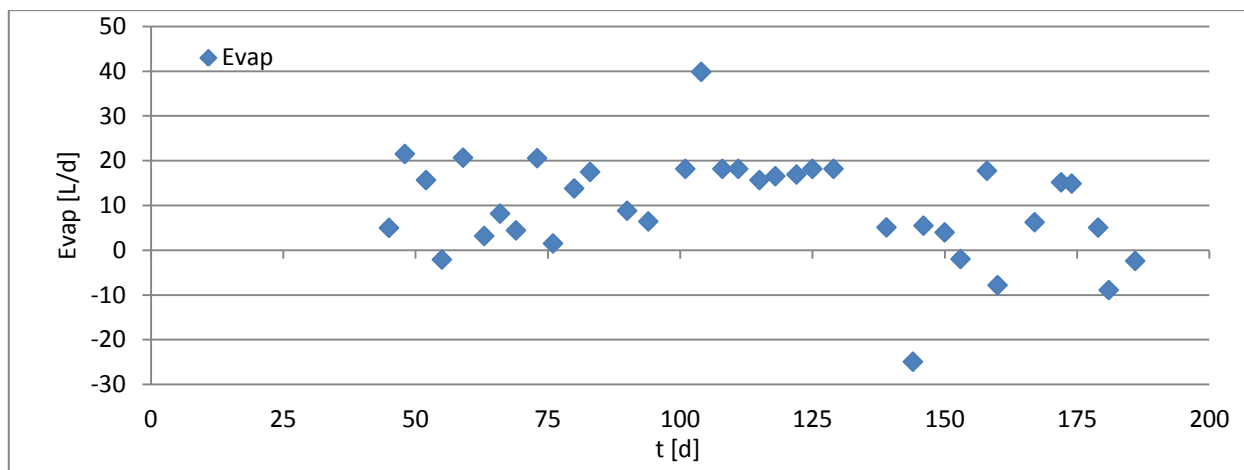


Figura 5.7 Stime di evaporazione per il raceway

Si notano alcuni valori negativi sicuramente dovuti al fatto che la pioggia in località Casaleto di Sopra in quei casi è stata inferiore a quella registrata dalla centralina meteo a Crema falsando le stime. Si osserva anche un valore molto elevato, quasi doppio rispetto agli altri, questo si può spiegare sapendo che in quel caso (giorno 102) le precipitazioni sono state particolarmente intense (43mm, di cui 19 mm in un'ora), quindi molto probabilmente parte del volume sottratto come volume di pioggia in realtà non è entrato nel raceway, ma è traciato sovrastimando l'evaporazione.

Al netto dei casi sopra elencati le stime mostrano un'evaporazione massima nell'ordine di 20 L/d (21,5 L/d valore massimo) con numerosi casi tra 10 e 20 L/d. Se si considera che la portata in ingresso è stata per gran parte della sperimentazione di 88,2 L/d, l'evaporazione ha influito in molti casi per il 20-25% del volume alimentato.

Infine si può confrontare queste stime di evaporazione con quelle ricavate del modello mostrato nel paragrafo 4.4. Si nota che le stime eseguite nel capitolo 4 hanno sottostimato l'evaporazione reale (il valore massimo è circa la metà).

Tuttavia si deve tener presente che anche le stime di evaporazione mostrate in questo paragrafo sono affette da errori non trascurabili, tra cui la misura delle precipitazioni ad alcuni chilometri di distanza dal luogo dell'impianto. Inoltre si deve considerare il fatto che i dati meteo relativi agli anni 2008 e 2009 non sono completi al 100% e le irradianze misurate durante il 2016 sono state mediamente di circa il 20% superiori a quelle del 2008.

Prima di passare all'aspetto microbiologico si analizza la prestazione del raceway in termini di rimozioni nei confronti dei nutrienti e del COD.

5.1.4 Effluente

Nel presente paragrafo si mostrano le caratteristiche dell'effluente, ovvero della sospensione in uscita dal raceway.

5.1.4.1.1 Nutrienti

L'impianto pilota si proponeva di rimuovere gran parte del carico di azoto, per lo più in forma ammoniacale, contenuto del digestato diluito ridurre il tenore di fosforo e sostanza organica come COD.

Si presentano gli andamenti delle concentrazioni di azoto ammoniacale, nitrico e nitroso, in ingresso e uscita dal raceway (Figura 5.8 e Figura 5.9).

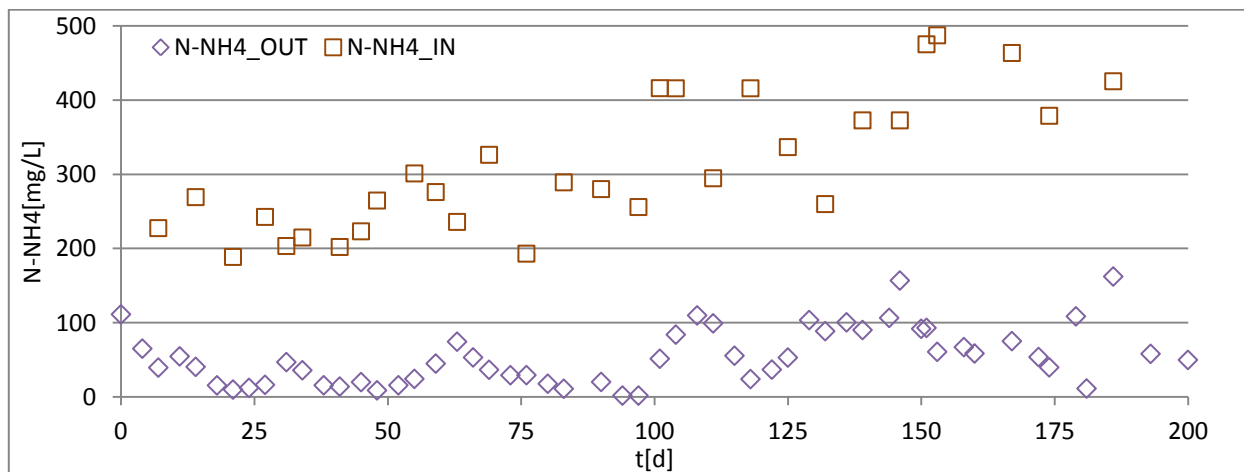


Figura 5.8 Concentrazioni di azoto ammoniacale in ingresso e uscita dal raceway

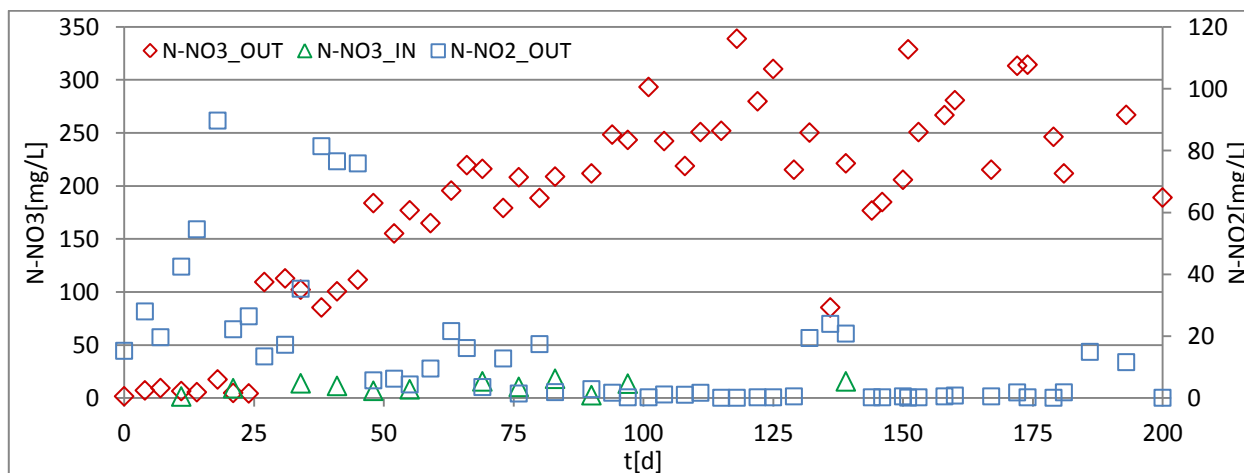


Figura 5.9 Concentrazioni di azoto nitrico in ingresso e in uscita e di azoto nitroso in uscita dal raceway

Tabella 5.7 Concentrazioni medie di azoto ammoniacale nitrico e nitroso in uscita nelle fasi di gestione del raceway

fase	giorni	NH ₄ ⁺ -N out [mg/L]		NO ₃ ⁻ -N out [mg/L]		NO ₂ ⁻ -N out [mg/L]	
		media	dev.st	media	dev.st	media	dev.st
FR0	0 - 6	88,4	32,7	4,6	3,9	21,7	9,0
FR1	7 - 13	47,3	10,7	8,2	2,0	31,1	16,1
FR2	14 - 26	19,7	14,2	8,2	6,3	48,3	31,2
FR3	27 - 68	31,0	20,2	143,4	44,6	30,4	29,9
FR4	69 - 96	21,0	12,0	208,9	22,0	6,0	6,4
FR5	97 - 143	69,3	34,3	246,5	60,8	5,4	9,2
FR6	144 - 188	83,7	43,2	249,8	52,1	1,8	4,0
FR7	189 - 200	54,1	5,8	228,2	55,1	5,9	8,1

Si osserva (Figura 5.8) che fino all'inizio di FR5 l'azoto ammoniacale in uscita è rimasto per gran parte del tempo sotto i 50 mg/L, da FR5 in poi tale concentrazione sale, principalmente per via dell'aumento del carico in ingresso.

Si può aggiungere che l'ammoniaca libera è stimata sulla base di ammonio in uscita, temperatura e pH della sospensione: $\text{NH}_3 - \text{N}_{\text{libera}} = \text{NH}_4^+ - \text{N}_{\text{out}} \cdot 10^{\text{pH}} / (10^{\text{pH}} + e^{6.344/(T+273,15)})$ i valori ottenuti sono stati quasi sempre molto bassi $1,3 \pm 2,8$ mg/L con solo due stime superiori al mg/L se si escludono le prime due settimane (FR0 e FR1) in cui il pH della sospensione era ancora elevato dal momento che non era ancora stato attivato il dosaggio di CO_2 per la regolazione del pH stesso. L'azoto nitrico in ingresso con l'alimento è rimasto sempre molto contenuto ($10,8 \pm 5,2$ mg/L), tuttavia si possono osservare inizialmente (FR0 - FR3) concentrazioni moderatamente elevate di nitrito, cui sono seguiti a partire da FR3 valori molto alti di nitrato (Figura 5.9 e Tabella 5.7).

Le concentrazioni in uscita di nitrito e soprattutto nitrato così elevate sono da attribuirsi ad una forte attività nitrificante che si è sviluppata all'interno del raceway. Questa situazione è comune tipica dei pond, in letteratura sono riportati molti casi di convivenza competitiva (Vargas et al., 2016; Vergara et al., 2016; Uggetti et al., 2014; Mezzari et al., 2013). Si eseguirà un'analisi più approfondita dell'attività algale paragrafo 5.1.9, dell'attività nitrificante paragrafo 5.1.5.3 e si esegue un bilancio dell'azoto al paragrafo 5.1.6.

Si passa ad analizzare il fosforo, in termini di ortofosfato (P-PO_4^{3-}), dal momento che il dosaggio per integrare il fosforo presente nell'alimento ha previsto l'utilizzo di KH_2PO_4 o K_2HPO_4 (si ricorda che le misure presentate sono tutte successive al dosaggio dei sali), e la sostanza organica espressa come COD (Figura 5.10 e Figura 5.11) (si ricorda che le misure di sostanza organica sul solubile sono corrette in funzione delle contestuali misure di concentrazione di nitrito).

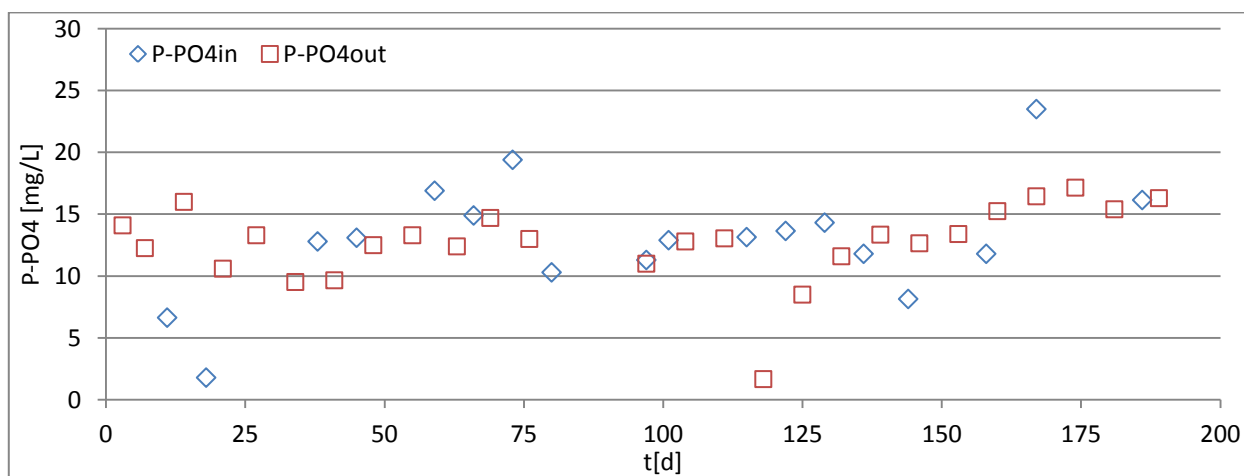


Figura 5.10 Concentrazioni di ortofosfato misurate sul filtrato in ingresso e uscita dal raceway

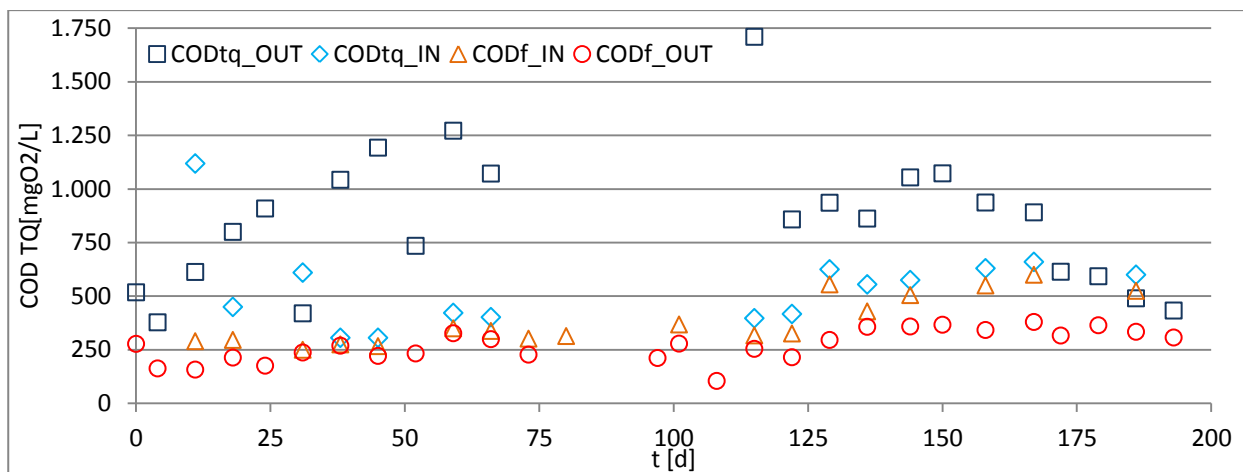


Figura 5.11 COD sul tal quale e sul filtrato in ingresso ed uscita dal raceway

Tabella 5.8 Concentrazioni medie di ortofosfato in ingresso ed uscita nelle fasi di gestione del raceway

fase	giorni	PO ₄ ³⁻ -P f in [mg/L]		PO ₄ ³⁻ -P f out [mg/L]	
		media	dev.st	media	dev.st
FR0	0 - 6			25,6	16,3
FR1	7 - 13	6,6		12,3	
FR2	14 - 26	1,8		13,3	3,8
FR3	27 - 68	14,4	1,9	11,8	1,7
FR4	69 - 96	14,9	6,4	13,9	1,2
FR5	97 - 143	12,9	1,1	9,8	4,3
FR6	144 - 188	14,9	6,6	14,8	1,7
FR7	189 - 200			16,3	

Note: FR0 e FR7 sono fasi batch, non hanno misure in ingresso. Manca la deviazione standard quando è disponibile una sola misura.

Osservando l'andamento del fosforo (Figura 5.10 e Tabella 5.8 Tabella 5.9), al netto di qualche valore anomalo, si nota che il consumo pare essere estremamente contenuto, se ne deduce che probabilmente sarebbe stato possibile lavorare con un rapporto N/P superiore a quello utilizzato. Escludendo le fasi batch, la concentrazione di fosforo in uscita è stata contenuta e costantemente vicina ai 15 mgP/L, con un dosaggio più oculato o con un trattamento non particolarmente spinto può riuscire raggiungere una concentrazione in uscita vicina o inferiore al limite di legge per lo scarico al suolo di 2 mgP/L (D.Lgs 152/2006).

Tabella 5.9 Concentrazioni medie di COD sul tal quale e sul filtrato in ingresso ed uscita nelle fasi di gestione del raceway

fase	giorni	CODtq in [mg/L]		CODtq out [mg/L]		CODf in [mg/L]		CODf out [mg/L]	
		media	dev.st	media	dev.st	media	dev.st	media	dev.st
FR0	0 - 6			448	99			220	81
FR1	7 - 13	1119		613		290		158	
FR2	14 - 26	450		855	77	296		195	27
FR3	27 - 68	409	124	956	320	296	45	265	42
FR4	69 - 96					308	8	227	
FR5	97 - 143	499	110	1092	414	399	98	245	80
FR6	144 - 188	616	37	807	238	545	41	352	22
FR7	189 - 200			433				307	

Note: FR0 e FR7 sono state fasi batch, pertanto non presentano misure in ingresso. Dove mancano sia media che deviazione standard non sono disponibili dati, dove manca solo la deviazione standard è disponibile una sola misura nell'arco di quella fase.

Per quanto riguarda la sostanza organica (Figura 5.11 e Tabella 5.9), i valori di concentrazione totale in uscita sono quasi sempre superiori a quelli in ingresso, mentre riferendosi al filtrato la situazione si inverte. Questo comportamento si spiega poiché la sostanza organica presente nell'alimento è stata parzialmente consumata da batteri eterotrofi e da eventuali alghe mixotrofe, producendo nuova biomassa che costituisce sostanza organica particolata; a questo si aggiunge il fenomeno di fotosintesi microalgale che comporta un incremento del carbonio organico particolato.

La rimozione di sostanza organica solubile è nell'ordine del 30-40%, non particolarmente elevata rispetto ai casi di letteratura (circa 50% mediamente). Parte del COD solubile residuo è probabilmente costituito da sostanza organica lentamente degradabile come accade tipicamente quando si trattano i digestati. Si osserva che facendo un confronto con il limite di legge di 100 mgO₂/L (D.Lgs 152/2006) anche la concentrazione di sostanza organica sul filtrato risulta essere significativamente superiore.

5.1.4.1.2 Concentrazione algale nel Raceway

Per prima cosa si osservano alcuni parametri indice della crescita di biomassa algale all'interno del pond.

Per quantificare la crescita delle popolazioni algali si sono utilizzati sia metodi diretti: come conte al microscopio (Figura 5.12 e Tabella 5.10), sia metodi indiretti (Figura 5.13 e Tabella 5.11), che misurano grandezze legate alla quantità di biomassa presente nella sospensione, come: l'assorbanza a 680 nm (lunghezza d'onda del picco di assorbimento della clorofilla a), la torbidità e il contenuto di SST (solidi sospesi totali).

Nel prosieguo saranno presentate le correlazioni tra tali misure indirette e le misure dirette al fine di valutare l'efficacia di misure più semplici e meno costose rispetto alle conte come quelle presentate.

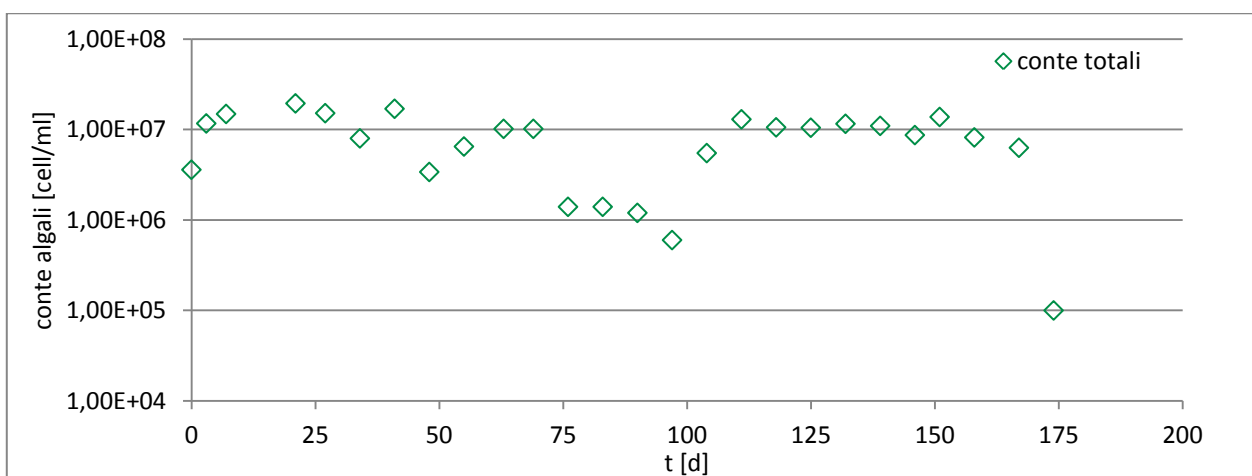


Figura 5.12 Conte algali al microscopio dalla sospensione nel raceway

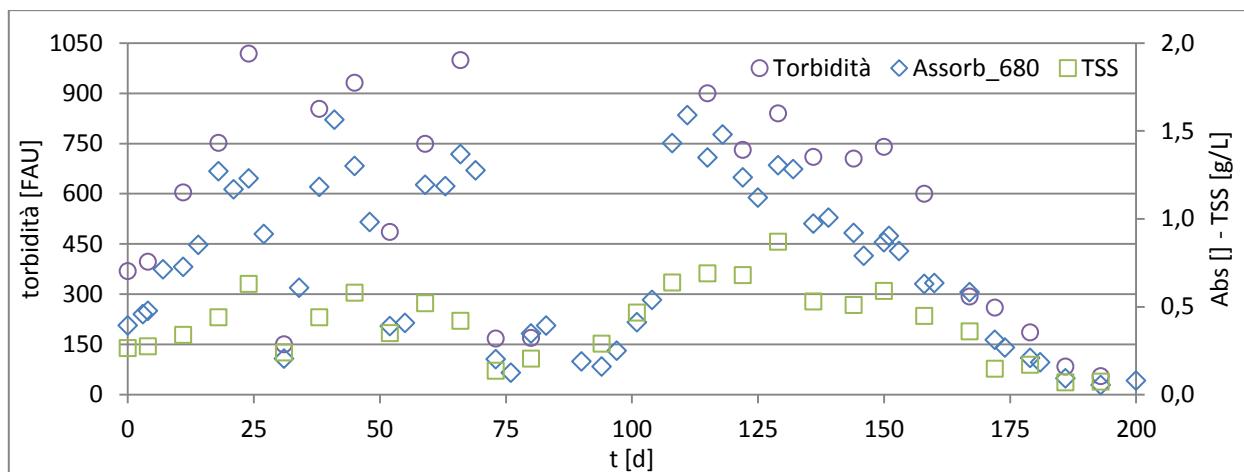


Figura 5.13 Parametri indice di crescita di biomassa algale per il raceway

Tabella 5.10 Valori medi e deviazioni standard per le conte totali sulla sospensione del raceway

fasi	giorni	Conte Totali [cell/ml]	
		media	dev.st
FR0 - FR2	0 - 26	1,24E+07	6,70E+06
FR3	27 - 68	1,01E+07	5,21E+06
FR4	69 - 96	3,55E+06	4,43E+06
FR5	97 - 143	8,97E+06	4,37E+06
FR6	144 - 188	7,42E+06	4,94E+06

Note: FR7 non riportata perché raggiunte concentrazioni $< 0,1 \cdot 10^6$ 1/ml non sono state eseguite altre conte

Le conte algali (Figura 5.12 e Tabella 5.10), durante la fasi fino a FR2 compresa, mostrano una crescita importante con concentrazioni di biomassa complessiva piuttosto elevate, mediamente superiori a $12 \cdot 10^6$ cell/ml. Nella fase FR3 il valor medio è rimasto superiore a $10 \cdot 10^6$ cell/ml, con punte oltre a $15 \cdot 10^6$ cell/ml, nonostante ci siano stati dei momenti in cui la concentrazione algale è scesa in modo netto (giorno 34: $8 \cdot 10^6$ 1/ml, e giorni 48 – 55: $3,4 - 6,5 \cdot 10^6$ cell/ml). Questi periodi di difficoltà delle popolazioni algali si potrebbero attribuire alla competizione per risorse comuni con i batteri nitrificanti, la cui attività era particolarmente intensa in questi periodi, come suggerito dal forte incremento della concentrazione di nitrato. Tuttavia, è anche possibile che la riduzione del tasso di crescita algale sia stata causata da altri fattori (condizioni meteorologiche sfavorevoli, presenza di rotiferi o altri predatori) e che tale riduzione abbia comportato un aumento dei nutrienti a disposizione dei batteri nitrificanti. Va infine osservato che l'intensa attività nitrificante comporta una riduzione del pH, la quale induce una riduzione nell'apporto di CO₂, essendo quest'ultimo regolato dal valore di pH nella sospensione. La riduzione dell'apporto di CO₂ può aver a sua volta influito negativamente sulla crescita microalgale.

Durante FR4 si è verificata una fase prolungata (giorni 69 - 97) di riduzione della concentrazione microalgale con concentrazioni complessive dell'ordine di $1 \cdot 10^6$ cell/ml. Le cause possono essere due: l'utilizzo della copertura ombreggiante durante questa fase o il fatto che ci si sono verificati diversi eventi di pioggia di una certa intensità: giorni 68 - 73 (giorno 72 con 43 mm), giorno 77 (22 mm), giorno 82 (33 mm).

Durante FR5 si è avuta una netta ripresa delle popolazioni algali con concentrazioni nuovamente elevate anche se leggermente inferiori a quelle raggiunte nelle fasi fino ad FR3, anche a causa del susseguirsi alcuni giorni piovosi (giorno 102 43 mm, giorni 118 - 120 24 mm complessivi).

Infine lungo FR6 si nota una costante diminuzione, ciò è probabilmente da imputare alla progressivo peggioramento delle condizioni meteorologiche ed in particolare: riduzione dell'irradianza e della temperatura ambientale (di conseguenza anche quella del pond), eventi di pioggia (giorni 142 - 149 39 mm complessivi, giorni 152 - 153 9 mm totali, giorni 156 - 160 20 mm, giorni 169 -170 26 mm, giorni 184 - 192 29 mm).

Tabella 5.11 Valori medi e deviazioni standard per Assorbanza a 680 nm, Torbidità e Solidi Sospesi Totali

fase	giorni	Assorbanza 680 nm []		Torbidità [FAU]		SST [g/L]	
		media	dev.st	media	dev.st	media	dev.st
FR0	0 - 6	0,443	0,043	383	20	0,270	0,007
FR1	7 - 13	0,720	0,010	604		0,340	
FR2	14 - 26	1,130	0,190	885	188	0,535	0,134
FR3	27 - 68	0,942	0,440	695	321	0,425	0,121
FR4	69 - 96	0,385	0,405	169	1	0,210	0,077
FR5	97 - 143	1,075	0,426	795	90	0,646	0,141
FR6	144 - 188	0,555	0,303	410	266	0,328	0,201
FR7	189 - 200	0,068	0,018	55		0,074	

Note: Dove manca la deviazione standard è disponibile una sola misura nell'arco di quella fase.

Le concentrazioni medie di SST più alte, che come si vedrà sono un buon indice della quantità di biomassa presente nella sospensione, sono state nell'ordine dei 0,5 g/L nelle fasi FR2, FR3 e FR5 con valori puntuali appena inferiori al g/L. Queste concentrazioni sono in linea con quanto riportato in letteratura per questo tipo di impianti (si veda la tabella 2.4).

Un raffronto qualitativo degli andamenti delle conte algali con i metodi di misura indiretti sembra suggerire che ci sia correlazione, visti gli andamenti temporali molto somiglianti. Tale correlazione è approfondita nel seguito.

5.1.4.1.3 Specie microalgali

Si è eseguita una determinazione delle specie presenti all'interno della sospensione con la tecnica della metagenomica. Si mostra l'andamento temporale della composizione della popolazione algale presente nel raceway (Figura 5.14).

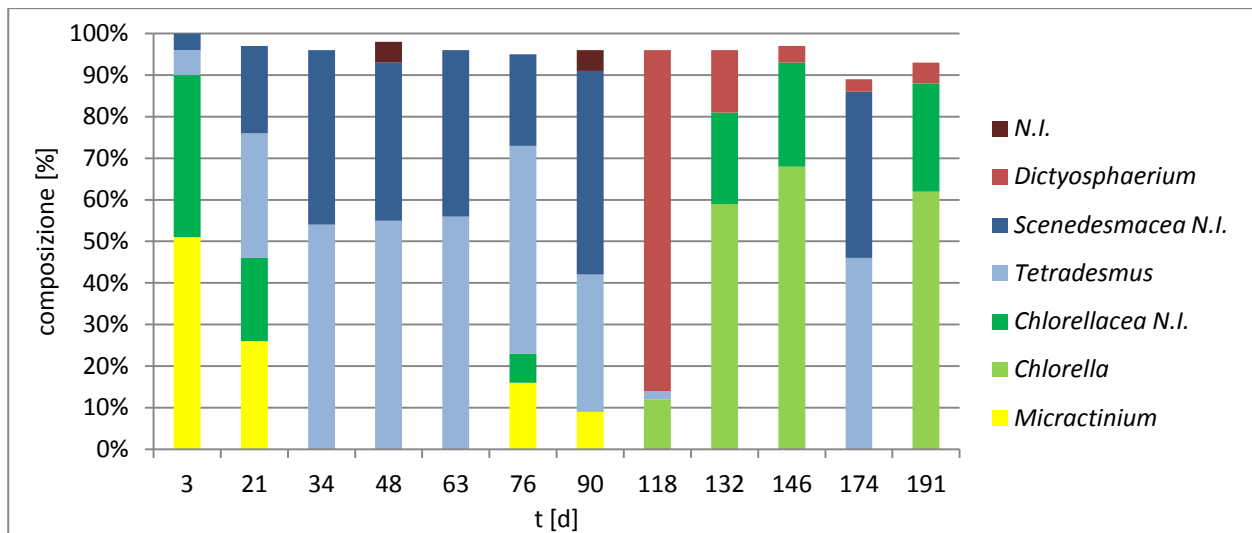


Figura 5.14 Composizione della popolazione algale suddivisa per generi nel raceway. N.I.: genere non identificato; Chlorellaceae N.I.: genere non identificato appartenente alla famiglia delle Chlorellaceae; Scenedesmaceae N.I.: genere non identificato appartenente alla famiglia delle Scenedesmaceae

Le specie algali presenti appartengono tutte al phylum *Chlorophyta*, che sono le più adatte alla crescita all'interno di acque reflue, come da letteratura (McGinn et al, 2012; Abinandan e Shanthakumar, 2013).

I generi osservati si possono suddividere principalmente in due famiglie, *Chlorellaceae* (*Micractinium*, *Chlorella* e *Chlorellaceae N.I.*) e *Scenedesmaceae* (*Tetradesmus* e *Scenedesmaceae N.I.*). Il genere *Dictyosphaerium* è a sé stante, tuttavia Cho et al. (2016) lo inseriscono nel gruppo delle *Chlorellaceae*. Sono state rilevate tracce ($\leq 1\%$) di altre famiglie: *Selenastraceae*, *Chlorodendraceae* e *Vulcanochloris*.

Fatta questa distinzione di massima, si può notare che durante il periodo estivo (giorni 34 - 90, 23 giugno - 18 agosto, FR3 e FR4), in cui si sono verificate le temperature della coltura e le irradiazioni più elevate, la coltura era costituita prevalentemente da microalghe appartenenti al genere delle *scenedesmacee*, più adatte alla crescita in condizioni di temperature elevate. Viceversa durante la fase finale della stagione primaverile e durante l'autunno, a dominare la coltura sono state le *Chlorellaceae*, più adatte alla crescita in condizioni di temperatura miti (vicine ai 20°C) (Huertas et al., 2011; Hodaifa et al., 2010).

Si nota un'eccezione a questo andamento al giorno 174 che corrisponde esattamente ad un momento in cui il reattore è stato coperto con un telo plastico trasparente per ridurre le perdite di calore. Nei fatti la temperatura riscontrata nel raceway (T medie nei tre giorni in cui si è tenuto il telo: 14,3, 10,8 e 8,3 °C) non giustifica questa variazione. Si può dunque ipotizzare che il fattore incidente sia stato un altro, uno dei possibili fattori è la variazione dell'irradianza in ingresso (a livello quantitativo, ma anche qualitativo per esempio con una modifica dello spettro della radiazione incidente).

5.1.5 Rimozione dei nutrienti nel Raceway

5.1.5.1 Efficienze di rimozione azoto e azoto ammoniacale

In questo paragrafo si procede ad eseguire una serie di elaborazioni che sono utili per valutare l'efficacia del trattamento sulle specie azotate.

Un parametro fondamentale è il rendimento di rimozione dell'ammonio e più in generale dell'azoto (Figura 5.15 e Tabella 5.12).

I rendimenti di rimozione sono calcolati come segue:

$$\eta_{\text{RIM NH}_4^+} = [C_{\text{IN}}(\text{N} - \text{NH}_4^+) - C_{\text{OUT}}(\text{N} - \text{NH}_4^+)]/C_{\text{IN}}(\text{N} - \text{NH}_4^+)$$

$$\eta_{\text{RIM n}} = [C_{\text{IN}}(\text{N}_{\text{TOT}}) - C_{\text{OUT}}(\text{N}_{\text{TOT}})]/C_{\text{IN}}(\text{N}_{\text{TOT}})$$

$$C_i(\text{N}_{\text{TOT}}) = C_i(\text{N} - \text{NH}_4^+) + C_i(\text{N} - \text{NO}_3^-) + C_i(\text{N} - \text{NO}_2^-)$$

Si è assunto l'azoto totale uguale alla somma di ammonio, nitrato e nitrito.

$$\text{N}_{\text{TOT}} = \text{N} - \text{NH}_4^+ + \text{N} - \text{NO}_3^- + \text{N} - \text{NO}_2^-$$

In seguito quanto si nominerà l'azoto totale si intenderà quello calcolato con la relazione appena esposta.

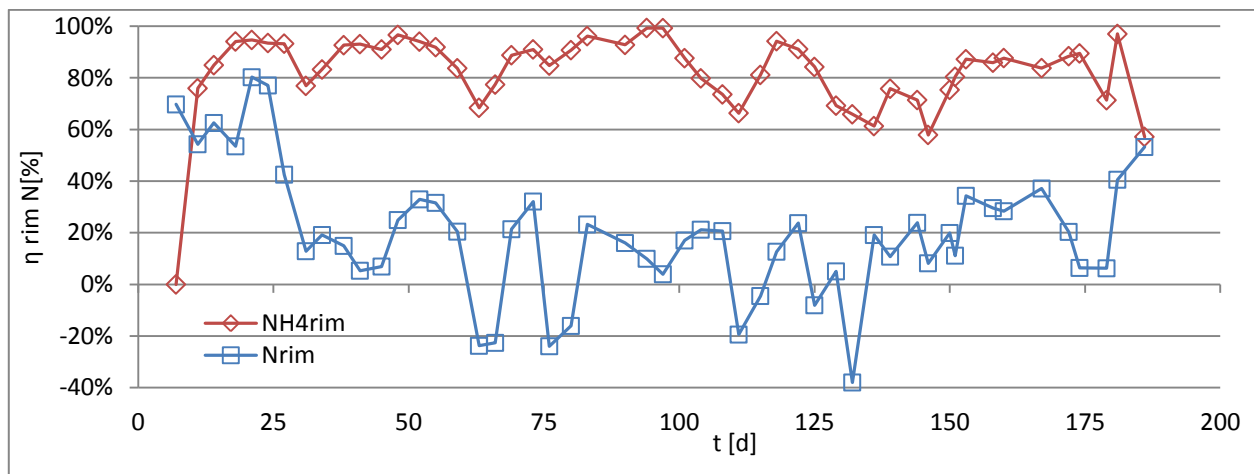


Figura 5.15 Rendimenti di rimozione dell'ammonio e dell'azoto totale espresso come somma di ammonio nitrito e nitrato nel raceway

Tabella 5.12 Valori medi e dev.st dei rendimenti di rimozione dell'ammonio e dell'azoto nelle fasi di gestione del raceway

fase	giorni	η RIM NH_4^+ [%]		η RIM N [%]	
		media	dev.st	media	dev.st
FR0	0 - 6				
FR1	7 - 13	75,9%		62%	11%
FR2	14 - 26	91,8%	4,6%	68%	13%
FR3	27 - 68	86,8%	8,8%	14%	20%
FR4	69 - 96	91,9%	4,8%	8,9%	21,0%
FR5	97 - 143	79,2%	11,8%	4,9%	18,3%
FR6	144 - 188	79,4%	12,2%	24,5%	14,5%
FR7	189 - 200				

Note: FR0 e FR7 sono state fasi batch, pertanto non sono calcolabili i carichi in ingresso o uscita. Dove manca la deviazione standard è disponibile una sola misura nell'arco di quella fase.

Il rendimento di rimozione dell'ammonio è stato costantemente elevato, quasi sempre vicino o superiore all'80%. Il rendimento di rimozione dell'azoto totale è molto inferiore e decisamente meno stabile di quello dell'ammonio. Questo comportamento è dipeso dal fatto che i batteri nitrificanti sfruttavano una larga parte del carico di ammonio in ingresso, ossidandolo a nitrato che è più difficilmente utilizzabile dalle alghe. I crolli nel rendimento di rimozione dell'azoto totale corrispondono con le fasi di difficoltà della biomassa algale. Si notano inoltre sporadicamente del rilascio di azoto, con ogni probabilità a causa dell'idrolisi di biomassa morta.

Come detto, il rendimento di rimozione dell'azoto totale è piuttosto contenuto, ciò è dovuto alla forte attività nitrificante che si è sviluppata all'interno del raceway in particolare a seguito dei momenti in cui la biomassa algale è crollata.

Sarebbe auspicabile riuscire a comprendere meglio la complessa relazione tra microalghe e batteri nitrificanti in modo da poter esercitare un maggior controllo sulle condizioni della coltura, in modo da massimizzare la rimozione dell'azoto e la crescita algale al tempo stesso.

5.1.5.2 Rimozione dell'azoto ammoniacale

L'espressione dei ratei deriva dal bilancio di massa per la concentrazione di una sostanza X in un reattore di tipo completamente miscelato ad alimentazione continua (CFSTR):

$$\left(\frac{\Delta X(t_i)}{\Delta t}\right) = \left[\frac{Q(t_i)}{V_{med}(t_i)}\right] \cdot [X_{in,med}(t_i) - X_{out,med}(t_i)] - \left(\frac{X(t_i)}{V_{med}(t_i)}\right) \cdot \left(\frac{\Delta V(t_i)}{\Delta t}\right) + r(X, t_i)$$

Ovvero la variazione nel tempo della sostanza X nel reattore $\left(\frac{\Delta X(t_i)}{\Delta t}\right)$ dipende da:

- il bilancio tra entrate e uscite rapportate al tempo di residenza idraulico

$$\left[\frac{1}{HRT(t_i)}\right] \cdot [X_{in,med}(t_i) - X_{out,med}(t_i)];$$

- da eventuali variazioni di volume $\left(\frac{X(t_i)}{V_{med}(t_i)}\right) \cdot \left(\frac{\Delta V(t_i)}{\Delta t}\right);$

- da produzioni o consumi che costituiscono il rateo di produzione della sostanza $r(X, t_i)$.

Ne consegue che l'espressione del rateo di produzione di una sostanza, ad esempio l'azoto ammoniacale, ha la seguente formulazione:

$$r(NH_4^+N, t_i) = (\Delta NH_4^+N_{out}(t_i) / \Delta t) + [Q(t_i) / V_{med}(t_i)] \cdot [NH_4^+N_{out,med}(t_i) - NH_4^+N_{in,med}(t_i)] \\ + (NH_4^+N_{out,med}(t_i) / V_{med}(t_i)) \cdot (\Delta V(t_i) / \Delta t)$$

dove:

- NH_4^+N è la concentrazione di azoto ammoniacale,

- $\Delta t = t_i - t_{i-1}$,
- $Q(t_i)$ è la portata in ingresso al reattore al tempo t_i ,
- $V(t_i)$ è il volume del reattore al tempo i ,
- $\Delta \text{NH}_4^+ \text{N}(t_i) = \text{NH}_4^+ \text{N}(t_i) - \text{NH}_4^+ \text{N}(t_{i-1})$,
- $\text{NH}_4^+ \text{N}_{\text{med}} = [\text{NH}_4^+ \text{N}(t_i) + \Delta \text{NH}_4^+ \text{N}(t_{i-1})]/2$

Questa formulazione deriva dal bilancio di massa per la concentrazione di una sostanza X in un reattore di tipo completamente miscelato ad alimentazione continua (CFSTR):

$$\left(\frac{\Delta X(t_i)}{\Delta t} \right) = \left[\frac{Q(t_i)}{V_{\text{med}}(t_i)} \right] \cdot [X_{\text{in,med}}(t_i) - X_{\text{out,med}}(t_i)] - \left(\frac{X(t_i)}{V_{\text{med}}(t_i)} \right) \cdot \left(\frac{\Delta V(t_i)}{\Delta t} \right) + r(X, t_i)$$

Ovvero la variazione nel tempo della sostanza X nel reattore $\left(\frac{X(t_i)}{\Delta t} \right)$ dipende da:

- il bilancio tra entrate e uscite rapportate al tempo di residenza idraulico

$$\left[\frac{1}{\text{HRT}(t_i)} \right] \cdot [X_{\text{in,med}}(t_i) - X_{\text{out,med}}(t_i)] ;$$

- da eventuali variazioni di volume $\left(\frac{X(t_i)}{V_{\text{med}}(t_i)} \right) \cdot \left(\frac{\Delta V(t_i)}{\Delta t} \right)$;

- da produzioni o consumi che costituiscono il rateo di produzione della sostanza $r(X, t_i)$.

Si osservano in Figura 5.16 e Figura 5.17 e in Tabella 5.13 e Tabella 5.14 gli andamenti temporali dei ratei di produzione o rimozione di azoto ammoniacale, nitroso e nitrico.

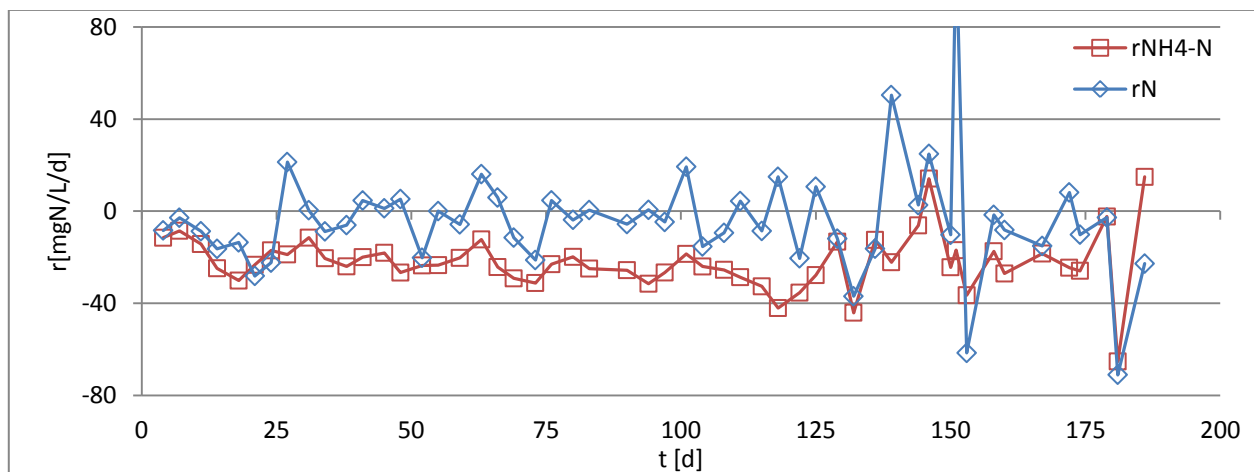


Figura 5.16 Rateo di produzione dell'azoto ammoniacale e dell'azoto totale all'interno del raceway. Un rateo negativo indica rimozione

Tabella 5.13 Valori medi e deviazioni standard dei ratei dell'azoto ammoniacale e totale nelle fasi di gestione del raceway

fase	giorni	r N-NH ₄ ⁺ [mgN/(L·d)]		r N tot [mgN/(L·d)]	
		media	dev.st		
FR0	0 - 6				
FR1	7 - 13	-11,41	4,08	-5,80	4,16
FR2	14 - 26	-23,84	5,40	-20,11	6,49
FR3	27 - 68	-20,29	4,67	1,17	11,04
FR4	69 - 96	-26,50	4,36	-5,20	8,78
FR5	97 - 143	-27,19	9,71	-1,86	22,07
FR6	144 - 188	-18,16	21,04	-4,05	44,40
FR7	189 - 200				

Osservando l'andamento di r N-NH₄⁺ (Figura 5.16 e Tabella 5.13) si nota un comportamento paragonabile a quello appena osservato per il rendimento di rimozione dell'ammonio, ciò non stupisce visto che sono due parametri strettamente connessi. A partire da FR2 i ratei di rimozione sono variati tra 20 e 30 mgN/(L·d) con qualche momento di efficacia ridotta. Durante FR6 ci sono un paio di situazioni anomale in cui il rateo è stato positivo, con rilascio di ammonio (pur rimanendo la concentrazione in uscita era comunque ben inferiore a quella in ingresso) a causa di brevi periodi di scarsa crescita netta e rilascio di N per idrolisi delle cellule algali.

Il rateo relativo all'azoto totale (Figura 5.16 e Tabella 5.13) mostra un andamento meno regolare rispetto a quello dell'ammonio. Si osservano casi ripetuti in cui il rateo è positivo, quindi c'è rilascio di azoto dalla biomassa. I ratei medi relativi alle fasi di gestione però sono quasi sempre negativi, ciò indica che complessivamente si osserva una rimozione seppur non particolarmente intensa.

5.1.5.3 Produzione di NO_x - Attività nitrificante

La popolazione batterica in particolar modo i nitrificanti hanno avuto una forte influenza sull'andamento della sperimentazione (Figura 5.17 e Tabella 5.14).

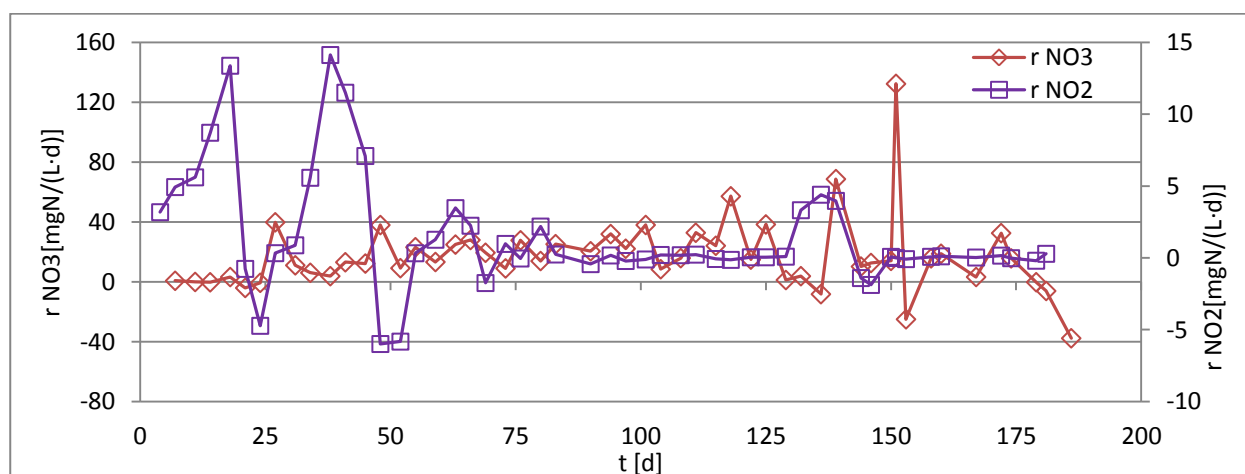


Figura 5.17 Ratei di produzione* di azoto nitroso e azoto nitrico nel raceway. *Un rateo positivo indica produzione

Tabella 5.14 Valori medi e deviazioni standard dei ratei di produzione dell'azoto nitroso e nitrico nelle fasi di gestione del raceway

fase	giorni	r N-NO ₂ ⁻ [mgN/(L·d)]		r N-NO ₃ ⁻ [mgN/(L·d)]	
		media	dev.st	media	dev.st
FR0	0 - 6				
FR1	7 - 13	5,27	0,48	0,34	0,55
FR2	14 - 26	4,15	8,34	-0,43	2,98
FR3	27 - 68	2,91	6,03	18,54	12,03
FR4	69 - 96	0,19	1,21	21,10	7,95
FR5	97 - 143	0,92	1,72	24,41	22,23
FR6	144 - 188	-0,24	0,67	14,33	40,09
FR7	189 - 200				

Inizialmente, fino a FR2, il rateo di produzione dell'azoto nitroso è cospicuo, mentre quello dell'azoto nitrico è molto contenuto ciò si spiega con lo sviluppo della biomassa nitrificante sbilanciato a favore dei nitrosanti (AOB), dal momento che inizialmente il pH di poco superiore alla neutralità ha causato concentrazioni di ammoniaca libera inibenti per i nitritossidanti (NOB). Successivamente (da FR3), con pH più vicini o appena inferiori alla neutralità, è venuta a mancare questa inibizione degli NOB, dunque non c'è stato più accumulo di nitrito, e la reazione di nitrificazione è stata completa. Ciò significa che la produzione di nitrito c'è stata anche quando il rateo risulta basso, questo perché contestualmente alla produzione da parte degli AOB c'è stato il consumo da parte degli NOB. Inoltre si può notare come, da FR3 in poi, il rateo di produzione del nitrato sia di poco inferiore a quello di consumo dell'azoto ammoniacale, questo significa che gran parte del consumo dell'ammonio è avvenuto da parte dei nitrificanti.

Per avere una visione d'insieme più chiara in riferimento alla ripartizione dell'azoto è stato eseguito un bilancio di massa dell'azoto presentato nel paragrafo successivo.

5.1.5.4 Fattori d'influenza sulla rimozione dell'azoto

Si intende individuare i fattori che hanno influenzato maggiormente il rendimento di rimozione dell'azoto totale valutando la correlazione lineare tra ciascun fattore e il rendimento. I dati relativi al periodo di copertura col telo ombreggiante non sono presi in esame, perché riferiti a condizioni operative non confrontabili.

Si presentano i due parametri che hanno dato il maggior riscontro (Figura 5.18 e Figura 5.19).

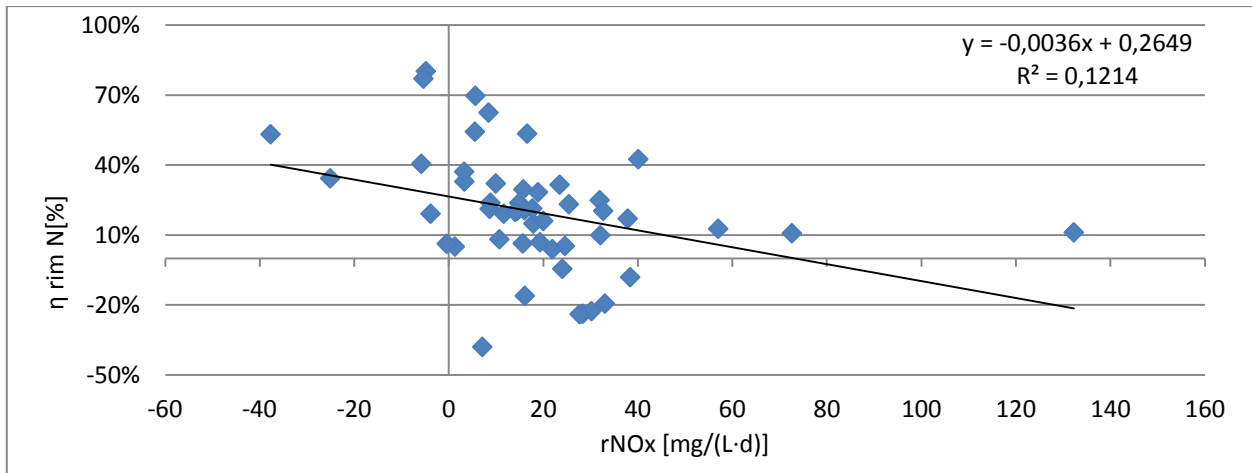


Figura 5.18 Correlazione tra rendimento di rimozione dell'azoto totale e rateo di produzione degli NOx

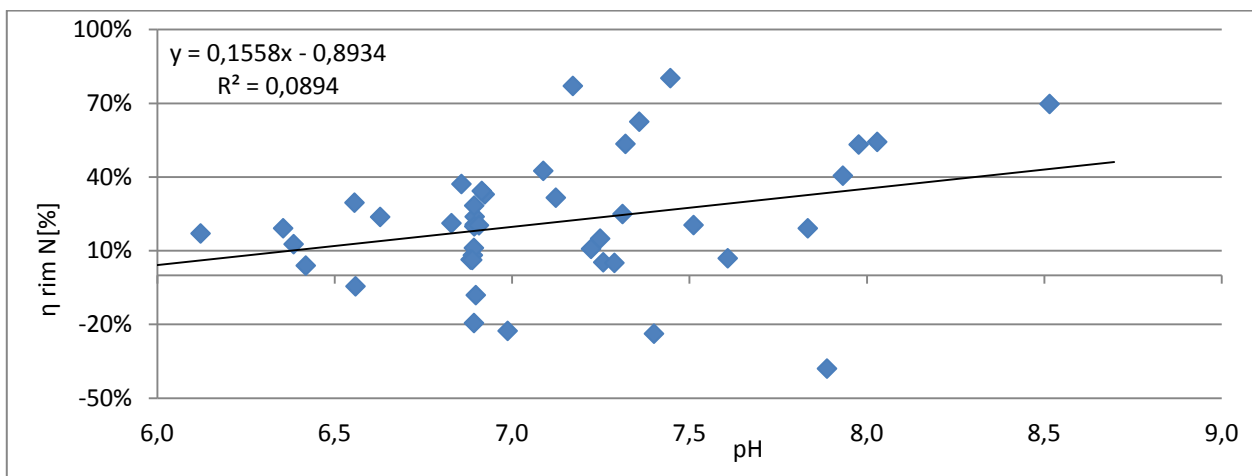


Figura 5.19 Correlazione tra rendimento di rimozione dell'azoto totale e pH della sospensione

Le correlazioni mostrate non sono particolarmente forti, mostrano tuttavia una tendenza del rendimento di rimozione a ridursi all'aumentare dell'attività nitrificante e al decrescere del pH, i due parametri sono peraltro legati tra loro. Si può aggiungere che al crescere del pH aumenta il contributo dello strippaggio, quindi non è detto che la correlazione appena mostrata sia dovuta all'influenza diretta del pH sull'attività algale.

5.1.6 Bilancio di massa per l'azoto

Il bilancio di massa dell'azoto è stato eseguito considerando due contributi entranti:

$$C_{V,N \text{ in}} = C_{V,N-NH_4^+ \text{ in}} + C_{V,N-NO_3^- \text{ in}}$$

il carico di azoto ammoniacale $C_{V,N-NH_4^+ \text{ in}}$ e il carico di azoto nitrico $C_{V,N-NO_3^- \text{ in}}$ associati all'alimento, e quattro contributi uscenti espressi in percentuale rispetto al carico in ingresso:

$$C_{V,N \text{ out}} = C_{V,N-NH_4^+ \text{ out}} + C_{V,N-NO_3^- \text{ out}} + C_{V,N-NO_2^- \text{ out}} + C_{V,N-Biom \text{ out}}$$

la quota del carico in ingresso rimasta in forma di ammonio nell'effluente $C_{V,N-NH_4^+ out}$, quella ossidata a nitrito $C_{V,N-NO_2^- in}$, quella ossidata a nitrato $C_{V,N-NO_3^- in}$, e quella utilizzata dalle alghe per la sintesi di biomassa $C_{V,N-Biom out}$.

Il carico di azoto assimilato dalla biomassa è stato stimato a partire dalle misure di assorbanza come segue:

$$C_{V,N-Biom out} = Q_{out} \cdot N_{biom out}$$

$$N_{biom out} = TSS_{ASS} \cdot 0,064 \text{ gN/gTSS}$$

$$TSS_{netti} = 345 \cdot (Ass_{680,out} - Ass_{680,in}) + 102,5$$

Poiché le misure di TSS, che sono un indice della massa algale non sono sufficientemente fitte rispetto alle altre misure sulle specie dell'azoto, se ne è ricavata una stima a partire dall'assorbanza netta a 680nm, vista la correlazione sufficientemente buona (paragrafo 5.1.7.2, e dall'equazione di regressione lineare che lega i solidi sospesi totali netti (ovvero la differenza tra ingresso e uscita) e la stessa assorbanza netta. Fatto ciò si è assunto che il 6,4% della biomassa espressa come TSS fosse costituito da azoto, da qui il fattore di conversione 0,064 gN/gTS. Si è scelto questo valore poiché in Dalrymple et al. (2013) e Ebeling et al. (2006) riportano come composizione della biomassa algale $C_{106}H_{263}O_{110}N_{16}$, da cui si ottiene che sono presenti 0,064g di azoto per grammo di microalghe. Questa ipotesi è parzialmente sostenuta dal valor medio del rapporto tra TKNp/TSS (dove TKNp è il TKN particolato) determinato sperimentalmente sulla sospensione algale prelevata dal raceway, che risulta 0,074gN/gTSS.

Si mostra in Figura 5.20 e in Tabella 5.15 la ripartizione dei contributi in uscita espressi come percentuale del carico in ingresso. Al fine di rendere più leggibile il grafico e ridurre l'influenza di eventuali errori di misura in figura 5.19 per il giorno t sono mostrate le ripartizioni mediate tra il giorno t-1 e t+1.

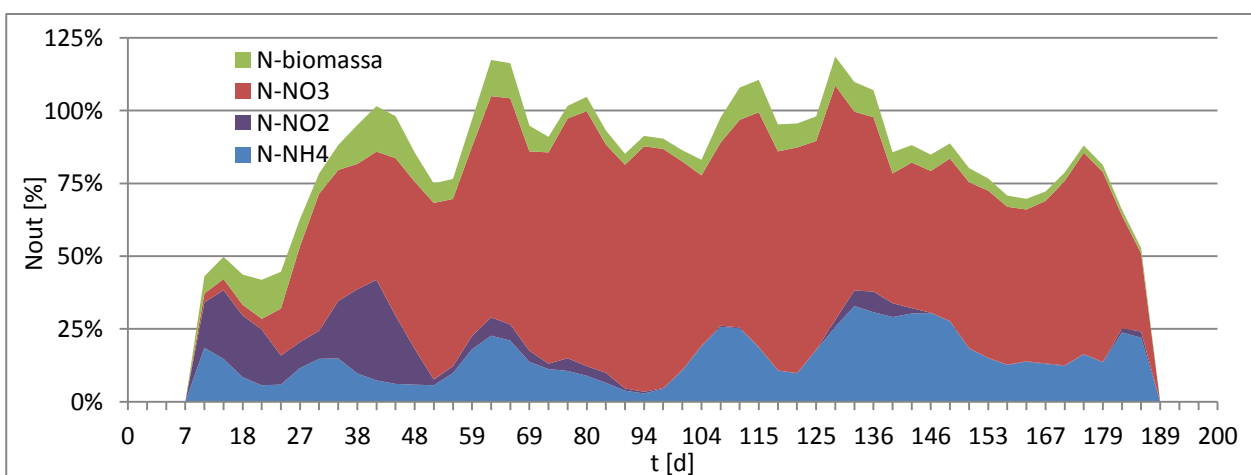


Figura 5.20 Ripartizione dell'azoto in uscita (nelle fasi batch iniziale e finale mancano i dati) dal raceway

Si nota che per gran parte della sperimentazione una quotaparte del carico di azoto in ingresso non è presente nella fase liquida in uscita, questo è da attribuirsi allo strippaggio, che nella fase iniziale è stato

particolarmente intenso, visto che il pH è stato circa 8. Il contributo di strippaggio è dunque calcolato come complemento a uno rispetto all'azoto in ingresso.

Tabella 5.15 Valori medi e deviazioni standard dell'azoto suddiviso nelle diverse forme in uscita dal raceway

fase	giorni	N _{IN} a NH ₄ ⁺		N _{IN} a NO ₂ ⁻		N _{IN} a NO ₃ ⁻		N _{IN} a biom		N _{IN} a strip	
		media	dev.st	media	dev.st	media	dev.st	media	dev.st	media	dev.st
FR0	0 - 6										
FR1	7 - 13	20,6%	4,7%	13,6%	7,0%	3,6%	0,9%	5,9%	0,1%	56,3%	10,9%
FR2	14 - 26	7,9%	4,5%	19,2%	9,7%	3,3%	2,1%	11,5%	4,1%	58,0%	10,1%
FR3	27 - 68	12,6%	8,5%	13,1%	13,5%	57,0%	15,5%	10,4%	4,5%	6,8%	22,3%
FR4	69 - 96	7,7%	4,5%	2,3%	3,0%	77,3%	17,7%	4,8%	2,4%	7,8%	19,9%
FR5	97 - 143	20,0%	11,2%	1,8%	3,1%	69,4%	18,0%	8,2%	3,1%	0,6%	19,1%
FR6	144 - 188	19,8%	11,7%	0,4%	1,0%	52,4%	18,5%	3,7%	1,4%	23,7%	14,4%
FR7	189 - 200										

Si può notare inoltre che in alcuni brevi periodi la somma dei contributi che non considera lo strippaggio è superiore a 1, ciò è da attribuirsi a fasi di difficoltà della biomassa che hanno comportato il rilascio di azoto. Durante FR1 e FR2 (Tabella 5.15) c'è stata nitrificazione incompleta, con produzione di nitrito e il contributo dello strippaggio è stato particolarmente intenso, ma già da durante FR2 c'è stata una cattura dell'azoto sotto forma di biomassa rilevante, nell'ordine del 10%, tale contributo è andato decrescendo con il rafforzarsi della nitrificazione.

Da FR3 in poi il contributo maggiore è quello relativo alla produzione di nitrato, ovvero la nitrificazione ha consumato più della metà dell'azoto in ingresso.

5.1.7 Relazione tra indici di biomassa algale per il Raceway

5.1.7.1 Conte algali - indici indiretti

Senza dubbio le conte algali sono la misura più diretta per le microalghe, ma sono anche una misura complessa e non immediata. Pertanto se la correlazione tra le conte e gli altri parametri è sufficientemente forte si può scegliere uno dei questi come parametro di controllo in linea e fare poche conte come conferma.

Si sono eseguite delle regressioni lineari tra le conte e gli indici indiretti di misura della biomassa, ovvero assorbanza a 680nm, contenuto di solidi sospesi totali e torbidità. Le correlazioni con SST e torbidità sono piuttosto deboli, nel caso degli SST si può considerare che questi ultimi sono una misura della massa algale con può non essere sempre correlata con il numero delle cellule poiché queste, in funzione delle loro condizioni, possono avere dimensioni e massa decisamente variabili.

Una discreta correlazione è stata ottenuta con l'assorbanza misurata a 680 nm (Figura 5.21)

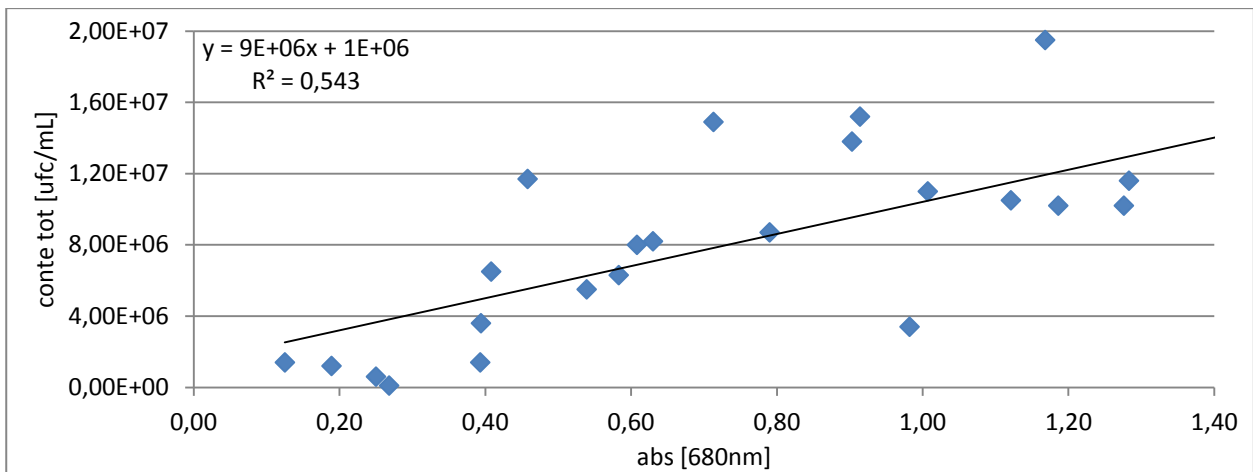


Figura 5.21 Regressione lineare Conte algali - Assorbanza a 680 nm, per la sospensione nel raceway

Si osservano alcuni valori decisamente lontani dal resto della popolazione ciò è da addebitarsi probabilmente a letture di assorbanza affette da errori, ad esempio influenzate da flocculi di alghe aggregate. Si è ripetuta la regressione lineare eliminando manualmente i dati poco significativi e si ottenuta una correlazione decisamente più robusta (Figura 5.22).

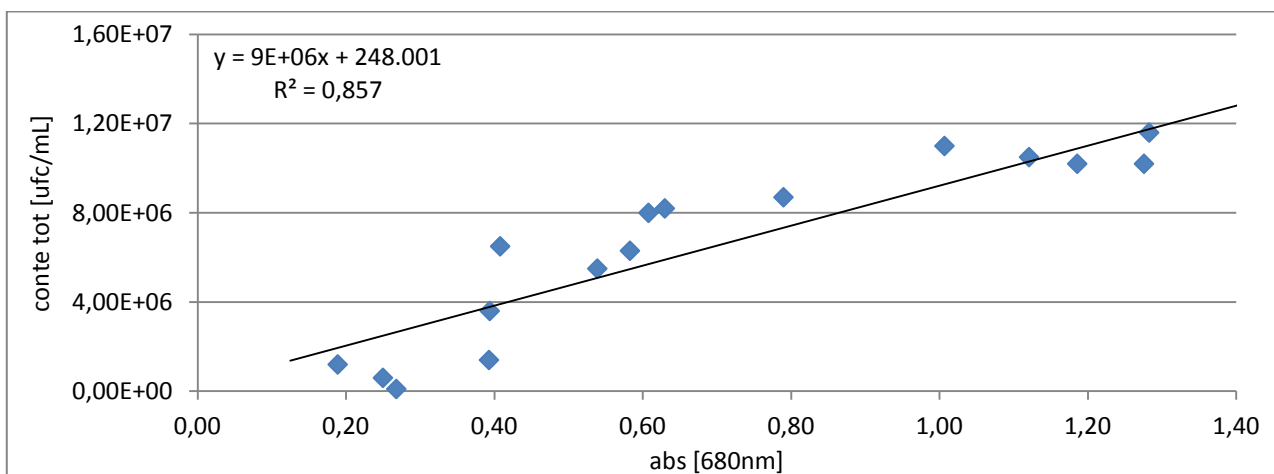


Figura 5.22 Regressione lineare Conte algali - Assorbanza 680 nm, con eliminazione dei valori anomali, per la sospensione nel raceway

Si può concludere che al netto di alcune misure affette da errore la correlazione tra le conte algali e l'assorbanza a 680nm è buona. Si è ripetuta la regressione anche con i valori netti di assorbanza, ovvero $Ass_{680,netta} = Ass_{680,out} - Ass_{680,in}$, si sono ottenute rette di regressione leggermente diverse e con R^2 appena inferiori (0,379 per tutti i dati e 0,822 per i dati puliti).

Segue un'analisi approfondita dell'andamento dell'assorbanza che giustifica la scelta della lunghezza d'onda usata per le misure.

5.1.7.2 Solidi sospesi totali - indici indiretti

Per la misura della massa algale le conte non possono essere prese in considerazione come spiegato in precedenza, quindi si passa alla misura più diretta disponibile i solidi sospesi totali. Analogamente a quanto

alle conte, anche gli SST sono una misura complessa e che richiede tempo, che quindi sarebbe comodo sostituire con un indice indiretto che ne fornisca una buona stima.

Si sono eseguite delle regressioni lineari utilizzando come indici indiretti l'assorbanza a 680 nm e la torbidità. Entrambi gli indici hanno restituito una correlazione buona ma non ottima (Figura 5.23 e Figura 5.24).

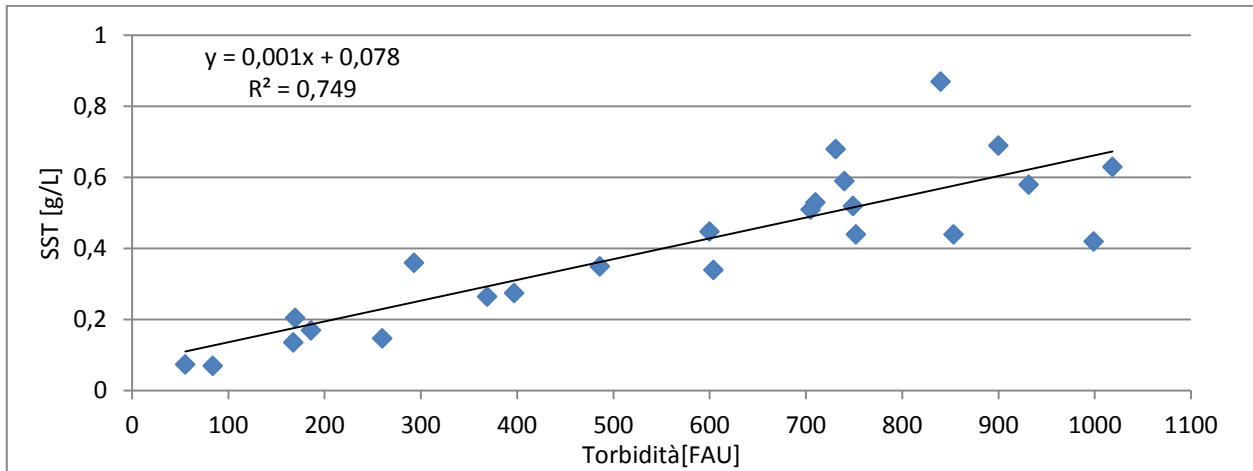


Figura 5.23 Regressione lineare SST - Torbidità per la sospensione algale nel raceway

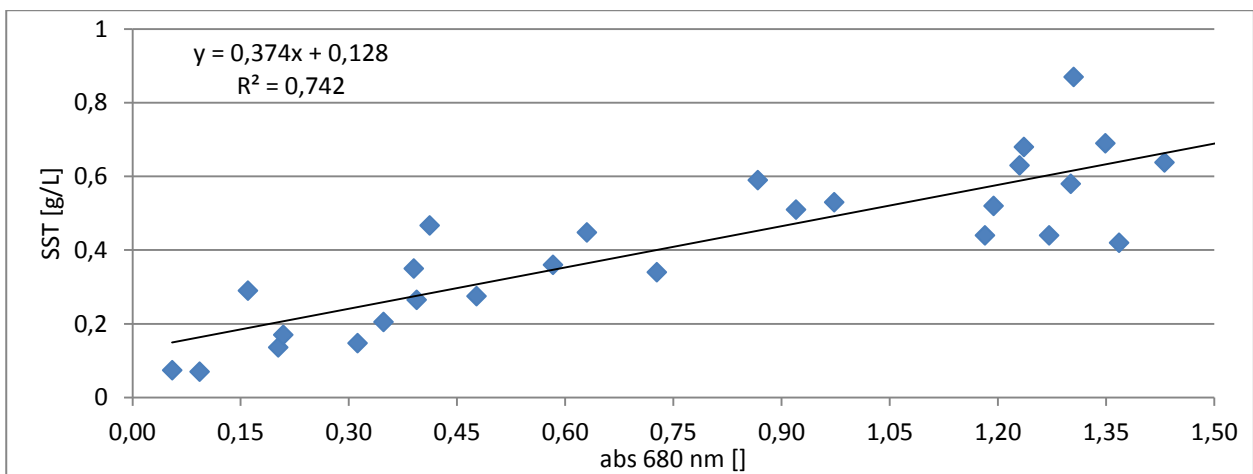


Figura 5.24 Regressione lineare SST - Assorbanza a 680 nm per la sospensione algale nel raceway

Entrambi gli indici indiretti presentano una buona correlazione. L'assorbanza è già stata assunta come indice delle conte algali, si può considerare dunque come un indice completo per il monitoraggio della biomassa.

Giunti a questa conclusione si è effettuata nuovamente la regressione tra SST e Assorbanza a 680nm eliminando anche qui i dati anomali (Figura 5.25).

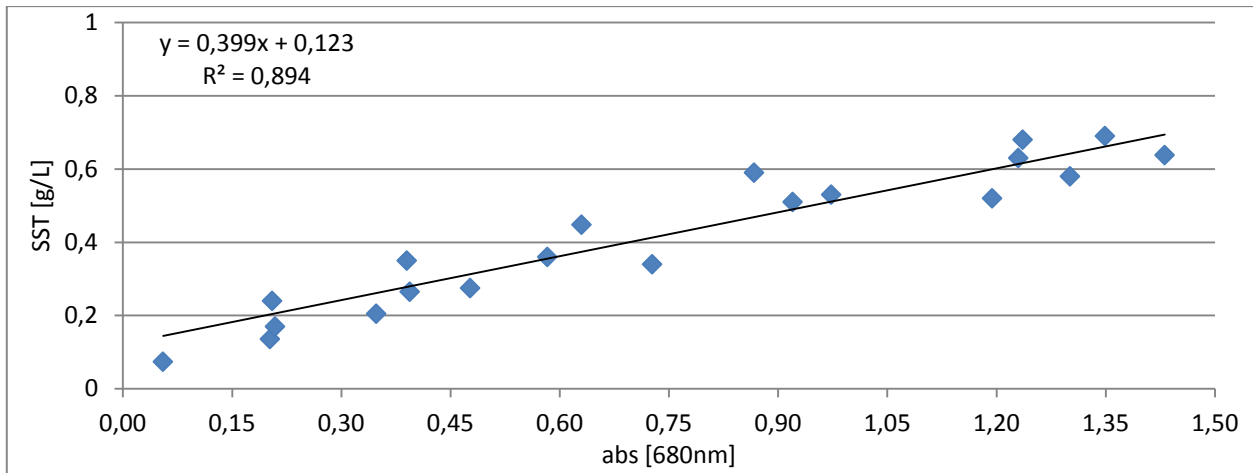


Figura 5.25 Regressione lineare Assorbanza a 680 nm - SST, con eliminazione dei valori anomali, per la sospensione nel raceway

Anche in questo caso si è rifatta la regressione utilizzando SST netti e assorbanza netta, la correlazione è risultata molto simile (0,767 per tutti i dati e 0,876 per i dati puliti). Il modello di regressione lineare ottenuto da SST netti e assorbanza a 680 netta con pulizia dei dati è stato utilizzato per la stima degli SST fatta per il bilancio dell'azoto (paragrafo 5.1.6).

5.1.8 Analisi Assorbanza

5.1.8.1 Assorbanza della sospensione algale

Le misure di assorbanza in campo sono sempre state fatte ad una lunghezza d'onda di 680nm, ma si sono anche eseguite misure in laboratorio per cui le letture erano sullo spettro 380 - 770 nm, con passo 5 nm.

Si mostrano gli spettri di assorbanza netta in Figura 5.26 e Figura 5.27.

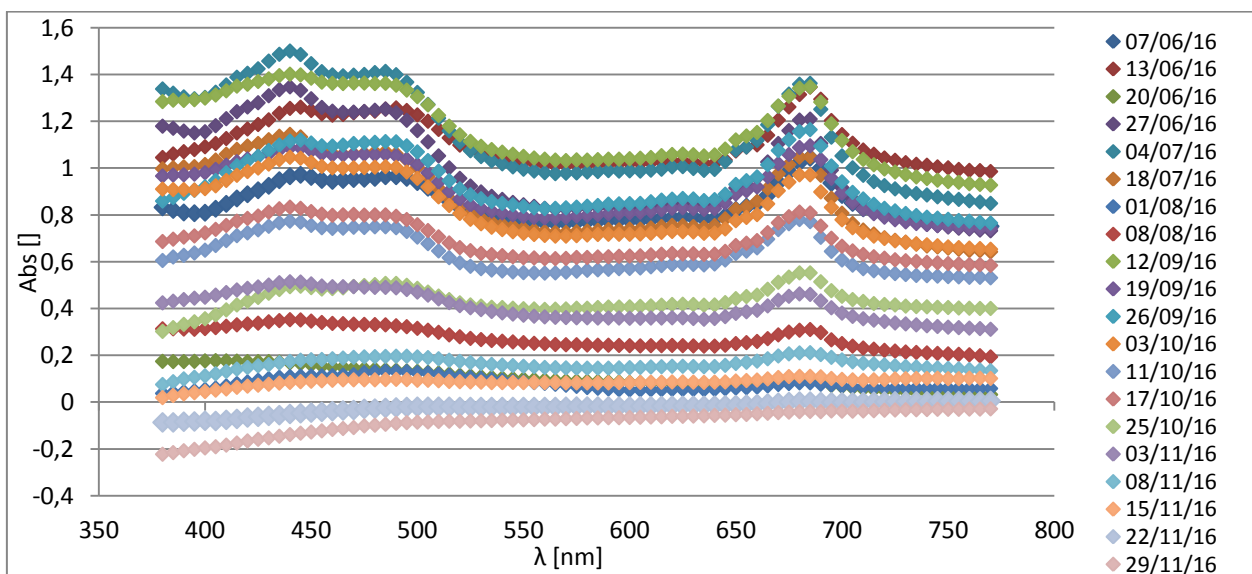


Figura 5.26 Spettri d'assorbanza netta della sospensione in uscita dal raceway

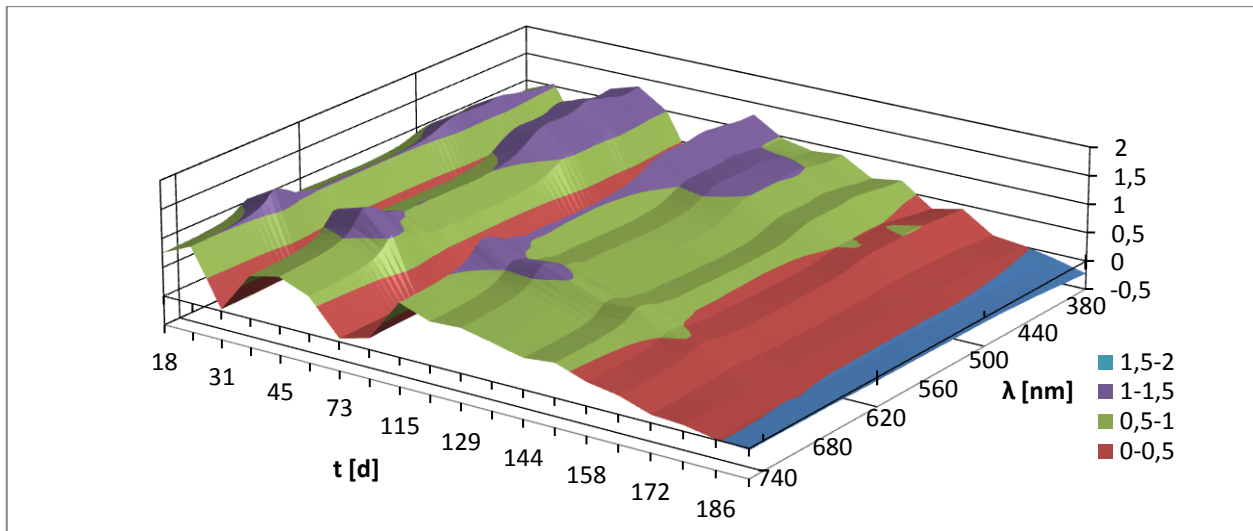


Figura 5.27 Andamento nel tempo degli spettri d'assorbanza netta della sospensione in uscita dal raceway

Quando si hanno assorbanze elevate si possono notare diversi picchi, uno facilmente riconoscibile intorno ai 680nm e altri due meno visibili vicino ai 420nm e ai 480nm. Questi ultimi però sono meno chiari perché molto vicini tra loro.

I picchi a 680nm e 420nm sono quelli relativi alla clorofilla a, mentre quello vicino ai 480nm sembra essere relativo alla clorofilla b, a questo punto osservando con attenzione gli spettri più elevati (in particolare quello del 13/06), si può notare un leggero picco anche intorno ai 650nm che potrebbe essere l'altro massimo della clorofilla b (Sadava et al., 2014).

A seguire è stata fatta un'analisi più approfondita solo per il picco vicino ai 680nm, perché è quello più visibile e per cui sono presenti più dati (Figura 5.28).

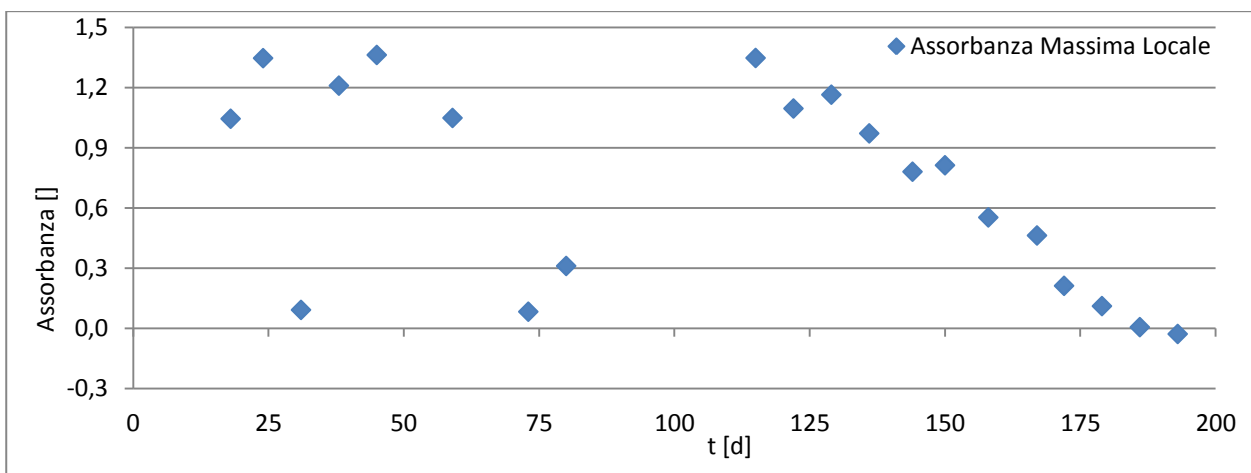


Figura 5.28 Assorbanza massima locale vicino ai 680nm (ricerca massimo nell'intervallo 600-770nm)

I valori massimi dell'assorbanza vicino ai 680 nm hanno un andamento ascrivibile alle variazioni di concentrazione della biomassa algale di cui si è scritto nel paragrafo 5.1.4.1.2(Figura 5.29).

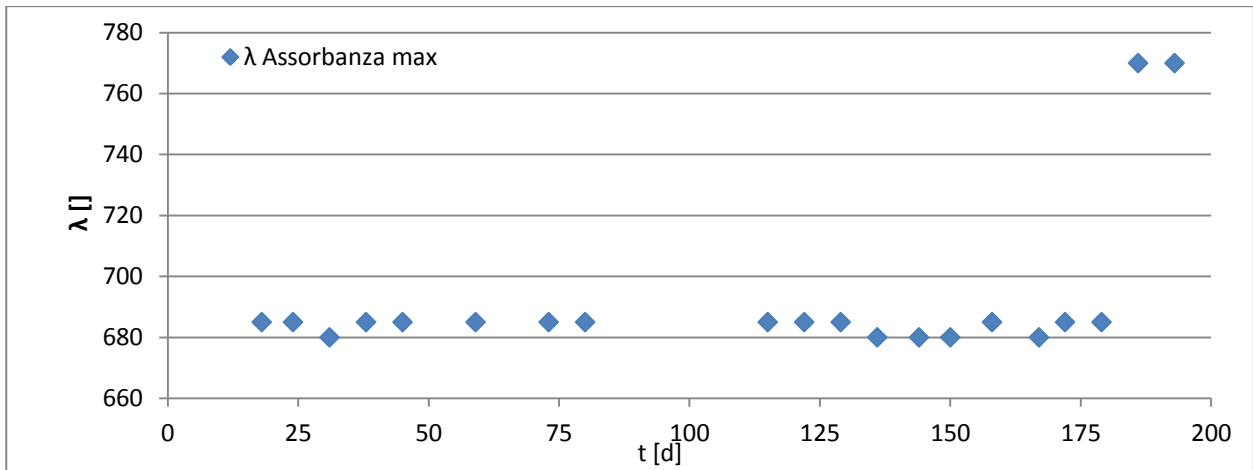


Figura 5.29 Lunghezza d'onda relativa al massimo locale (ricerca massimo nel range 600-770nm)

Le lunghezze d'onda dei massimi sono 680 o 685 nm, tranne negli ultimi tre casi in cui sono a 770nm, nel periodo conclusivo della sperimentazione (giorno 179 15 novembre, giorno 186 22 novembre e giorno 193 29 novembre). In quei giorni la concentrazione di biomassa è stata molto ridotta e l'assorbanza netta è massima dove quella dell'alimento è minima, dal momento che l'assorbimento dovuto alle microalghe era molto contenuto. Quindi il massimo è alla lunghezza d'onda più alta nel range di ricerca (l'assorbanza dell'alimento ha il massimo a lunghezze d'onda basse e poi decresce al crescere della lunghezza d'onda).

5.1.8.2 Penetrazione della radiazione solare nel brodo di coltura

Un altro aspetto interessante legato all'assorbanza è la penetrazione della radiazione solare all'interno del brodo di coltura. In letteratura diversi autori (Molina et al., 1999; Blanken et al., 2016) assumono che l'attenuazione possa essere modellizzata con la legge di Lambert-Beer $I(x)/I(x = 0) = \exp(-\epsilon_{\lambda} \cdot M \cdot x) = \exp(-\text{Assorb} \cdot x)$.

Per il calcolo della penetrazione alla luce si è utilizzata l'assorbanza a 680nm perché è la lunghezza d'onda relativa ad uno dei picchi d'assorbimento della clorofilla e che quindi influenza la fotosintesi algale. La stima dell'irradianza media giornaliera percepita dalla biomassa in sospensione alla profondità x è stata eseguita come segue:

$$I(x, t) = I(0, t) \cdot \exp(-\text{Assorb}_{680}(t) \cdot x)$$

dove $I(x, t)$ è l'irradianza, espressa in W/m^2 , percepita il giorno t alla profondità x ,

$I(0, t)$ è l'irradianza media del giorno t ,

$\text{Assorb}_{680}(t)$ è l'assorbanza misurata a 680 nm della sospensione il giorno t ,

x è la profondità in cm per cui si stima l'irradianza percepita.

Tabella 5.16 Valori medi delle irradianze percepite per le fasi di gestione del raceway

Fase	giorni	Ass680	I(0 cm)	I(2,5 cm)	I(5 cm)	I(7,5 cm)	I(10 cm)	I(15 cm)	I(20 cm)
FR0	0 - 6	0,443	261,0	85,9	28,5	9,5	3,2	0,4	0,0
FR1	7 - 13	0,720	296,5	49,0	8,1	1,3	0,2	0,0	0,0
FR2	14 - 26	1,130	267,5	17,8	1,5	0,1	0,0	0,0	0,0
FR3	27 - 68	0,942	275,1	46,2	16,7	7,9	4,1	1,3	0,4
FR4	69 - 96	0,385	238,0	112,9	66,1	40,9	26,2	11,4	5,3
FR5	97 - 143	1,075	237,0	29,8	9,2	3,8	1,8	0,4	0,1
FR6	144 - 188	0,555	203,3	61,5	27,8	15,4	9,4	4,0	1,9
FR7	189 - 200	0,034	161,8	147,5	135,5	125,5	117,1	104,1	94,9

Osservando i valori medi delle irradianze percepite (Tabella 5.16) si nota che nei momenti in cui la sospensione ha assorbanza elevata i primi 7,5 cm sono stati quelli attivi, viceversa quando l'assorbanza è più bassa lo strato attivo ha raggiunto 15 o addirittura 20cm. Se si considera poi che per irradianze percepite oltre i 35 W/m^2 , si dovrebbe avere fotoinibizione lo spessore di sospensione effettivamente interessato dalla crescita algale è ulteriormente ridotto.

Questo risultati mostrano una delle criticità di questo tipo di reattore, ovvero che il volume che realmente ospita la crescita microalgale è molto ridotto rispetto al totale. Per la maggior parte del tempo lo strato fotico è compreso tra 2,5 e 10 cm o tra 5 e 10 cm, ovvero il volume è variato tra il 25 e il 37,5% del totale. Ciò vale in particolar modo per colture concentrate. Questo difetto può essere in parte mitigato utilizzando un reattore con livello variabile.

5.1.9 Crescita della biomassa algale per il Raceway

Analogamente a quanto visto per i ratei di rimozione o produzione delle specie dell'azoto si è calcolato un rateo di produzione di solidi sospesi totali che come visto sono un indice della biomassa algale.

Il rateo di crescita delle microalghe è un parametro importante perché definisce la produttività di biomassa algale. Se ne presenta l'andamento lungo l'arco della sperimentazione (Figura 5.30 e Tabella 5.17). In tabella 5.18 sono mostrati anche i valori del rateo di produzione algale riferiti all'area ottenuti come segue

$$r(\text{SST}, t_i) [\text{g}_{\text{SST}} / (\text{m}^2 \cdot \text{d})] = r(\text{SST}, t_i) [\text{mg}_{\text{SST}} / (\text{L} \cdot \text{d})] \cdot (V / A_{\text{utile}}) \cdot 10^{-3} \text{g/mg}$$

dove V è il volume del raceway e A_{utile} è l'area del raceway, al netto della superficie occupata dal paddlewheel che non riceve luce.

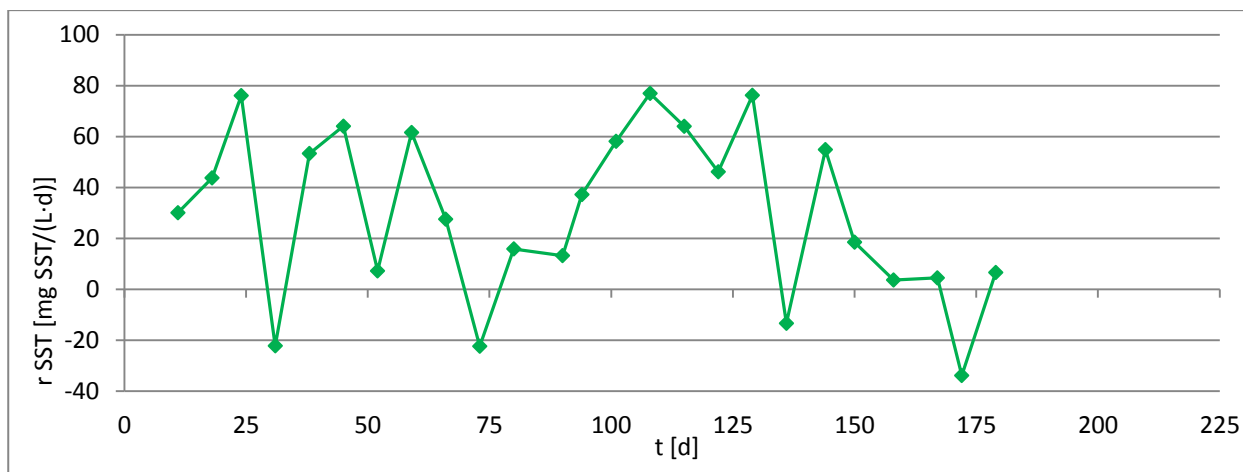


Figura 5.30 Rateo di produzione degli SST (stima della produttività algale) nel periodo di gestione del raceway

Tabella 5.17 Valori medi e deviazioni standard per il rateo di produzione di biomassa algale rispetto al volume e all'area nelle fasi di gestione del raceway

fase	giorni	r SST [mgSST/(L-d)]		r SST [gSST/(m ² ·d)]	
		media	dev.st	media	dev.st
FR0	0 - 6				
FR1	7 - 13	30,1		7,6	
FR2	14 - 26	59,9	22,9	15,1	5,8
FR3	27 - 68	31,9	34,5	8,1	8,7
FR4	69 - 96	11,0	24,7	2,8	6,2
FR5	97 - 143	51,4	33,8	13,0	8,5
FR6	144 - 188	9,0	28,6	2,3	7,2
FR7	189 - 200				

Note: Dove non è presente la deviazione standard è disponibile un unico dato.

Il profilo che si osserva è chiaramente legato a quello della concentrazione di SST, dal momento che il rateo si può assimilare alla variazione di tale concentrazione.

La fase FR1 che è stata una fase di avvio per l'alimentazione in continuo si osserva una crescita rilevante, ma per FR2 la crescita media raddoppia. Nella fase FR3 il valor medio si è ridotto tornando 30 mgSST/(L-d), con punte oltre a 60 mgSST/(L-d), ma anche due momenti di crollo, il secondo dei quali continua accentuandosi all'inizio FR4. Questi periodi di difficoltà delle popolazioni algali, come scritto nel paragrafo 5.1.4.1.2 si potrebbero attribuire a dei momenti in cui il pH è stato più basso del solito, indice di un'attività nitrificante particolarmente intensa. All'inizio di FR4 si osserva un rateo negativo che sostanzialmente corrisponde ad un dilavamento e forse ad una parziale sedimentazione di aggregati di alghe morte. Nella parte restante di FR4 il rateo torna positivo ma molto ridotto, le cause possono essere due: l'utilizzo della copertura ombreggiante durante questa fase o il fatto che ci sono stati diversi eventi di pioggia di una certa intensità durante il crollo e la mancata crescita: giorni 68 - 73 (giorno 72 con 43 mm), giorno 77 (22 mm), giorno 82 (33 mm). Durante FR5 si è avuta una netta ripresa delle popolazione microalgale con ratei nuovamente elevati nell'ordine di 50 mgSST/(L-d), tuttavia anche in questa fase c'è stato un momento in cui il rateo è sceso molto addirittura diventando negativo, in questo caso la motivazione è molto

probabilmente il fatto che è venuta meno la CO₂ fornita dalla bombola. Infine nella prima fase di FR6 c'è una decisa ripresa dovuta alla ripartenza del dosaggio di anidride carbonica. Poi però si osserva una costante diminuzione, ciò è probabilmente da imputare alla progressivo peggioramento delle condizioni meteorologiche: riduzione dell'irradianza e della temperatura ambientale (di conseguenza anche quella del pond), eventi di pioggia.

Questo tipo di indice di crescita è utilizzato in letteratura poiché quantifica la produttività dell'impianto. Nella parte conclusiva del paragrafo 2.3.2 erano stati sintetizzati i valori medi di produttività volumetrica e areale per impianti per la crescita di alghe con reattori di tipo raceway pond. Si riportano qui solo quelli relativi ad impianti che hanno funzionato in continuo: $34 \pm 10 \text{ mg}_{\text{TSS}}/(\text{L}\cdot\text{d})$ $8,8 \pm 4,5 \text{ g}_{\text{TSS}}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$.

Per l'impianto presentato in questo lavoro di tesi le produttività medie sull'intero arco della sperimentazione sono (Tabella 5.18):

Tabella 5.18 Valori medi e deviazioni standard per le produttività volumetrica per il raceway

r SST [mg/(L·d)]		r SST [g/(m ² ·d)]	
media	st.dev	media	st.dev
29,9	33,4	7,6	8,4

Si può dire che i ratei di crescita ottenuti sono, appena inferiori, ma in linea con i dati di letteratura. Se però si escludono i dati relativi alla fase FR4, in cui la coltura è stata particolarmente in difficoltà, anche a causa del telo ombreggiante, si ottiene (Tabella 5.20):

Tabella 5.19 Valori medi e deviazioni standard per le produttività volumetrica per le fasi di gestione del raceway esclusa FR4

r* SST [mg/(L·d)]		r* SST [g/(m ² ·d)]	
media	st.dev	media	st.dev
33,5	34,0	8,5	8,6

Questi valori sono sempre in linea con quanto riportato in letteratura ma un po' superiori. Si fa notare che la variabilità dei valori medi ricavati da letteratura non si possono paragonare a quelle relative al set di dati di questo progetto in quanto la prima deriva dagli scostamenti tra i diversi valori medi presentati nella Tabella 2.5, mentre la seconda è l'effettiva variabilità del rateo di crescita per la sperimentazione qui presentata. Tuttavia, osservando le variabilità presenti nella stessa Tabella 2.5, si nota come queste siano di molto inferiori rispetto a quelle mostrate in Tabella 5.18 e Tabella 5.20. Questa differenza si può ricondurre in parte alle condizioni meteo relativamente instabili presenti in Lombardia rispetto alla Spagna (luogo per cui sono disponibili alcuni dati di produttività corredati di deviazione standard in Tabella 2.5). La grande variabilità è in parte dipesa dalla competizione con la biomassa nitrificante e da condizioni di controllo della coltura non sempre ottimali: difficoltà nel controllo del pH, della temperatura, e dell'irradianza (telo ombreggiante) per il raceway.

Per avere un'idea più precisa del confronto appena fatto, si raccolgono i dati di produttività areale ricavati dalla letteratura relativi a raceway funzionanti in continuo, con le relative località e irradianze dove disponibili (Tabella 5.20).

Tabella 5.20 Produttività areale per raceway funzionanti in continuo con relative località, latitudini e irradianze.* In questo caso il dato è misurato sulla PAR

produttività areale media [g/(m ² ·d)]	Località	Latitudine	Irradianza [MJ/(m ² ·d)]
9,6	Cassaleto di Sopra (CR), Italia	45,43	23,3 - 4,3
7,55	n.d.		n.d.
15,3	Hamilton, Nuova Zelanda	-37,78	n.d.
5,2	n.d.		n.d.
9,12	Australia	da -38 a -11	n.d.
10,09	Australia	da -38 a -11	n.d.
4,1	Mesa (Az)	33,47	15,8±1,1 (ottobre) - 9,0±2,5 (gennaio)
8,26	Arcos de la frontera Spagna	36,75	20 - 270 W/m ²
17	Almeria, Spagna	36,83	n.d.
8,2	Malaga Spagna	36,71	4 (inv) - 15 (est) *

Questi dati rafforzano ulteriormente l'idea che le prestazioni del raceway in termini di produttività state non disprezzabili, anche se presentano margini di miglioramento.

5.1.9.1 Fattori d'influenza sulla produttività algale

Si ripete l'operazione di correlazione, questa volta tra la produttività della biomassa algale.

Per eseguire questa indagine avendo a disposizione un campione sufficientemente ampio si è deciso di utilizzare il rateo di crescita stimato sulla base delle assorbanze a 680nm. I dati relativi al periodo di copertura col telo ombreggiante non sono presi in esame, perché riferiti a condizioni operative non confrontabili.

Le correlazioni sono decisamente deboli, si mostrano comunque le tre più rilevanti (Figura 5.31, Figura 5.32 e Figura 5.33).

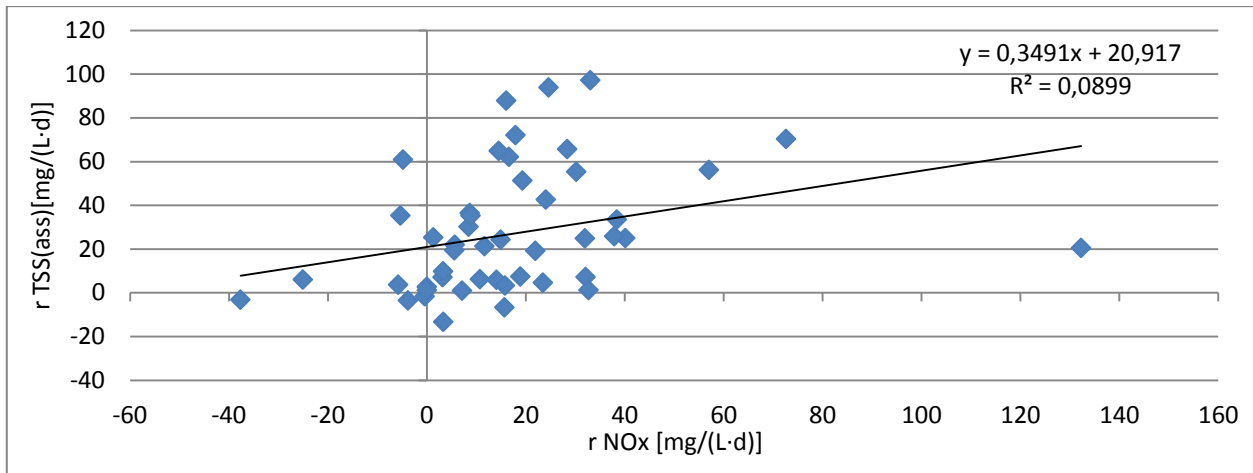


Figura 5.31 Correlazione tra rateo di crescita delle microalghe e l'attività nitrificante

La correlazione pare essere positiva, ma per attività nitrificanti elevate potrebbe esserci un effetto competitivo, ovvero oltre una certa soglia la correlazione potrebbe essere negativa. Tuttavia il numero di dati per cui si è verificata questa situazione è veramente ridotto, quindi questa ipotesi rimane molto debole.

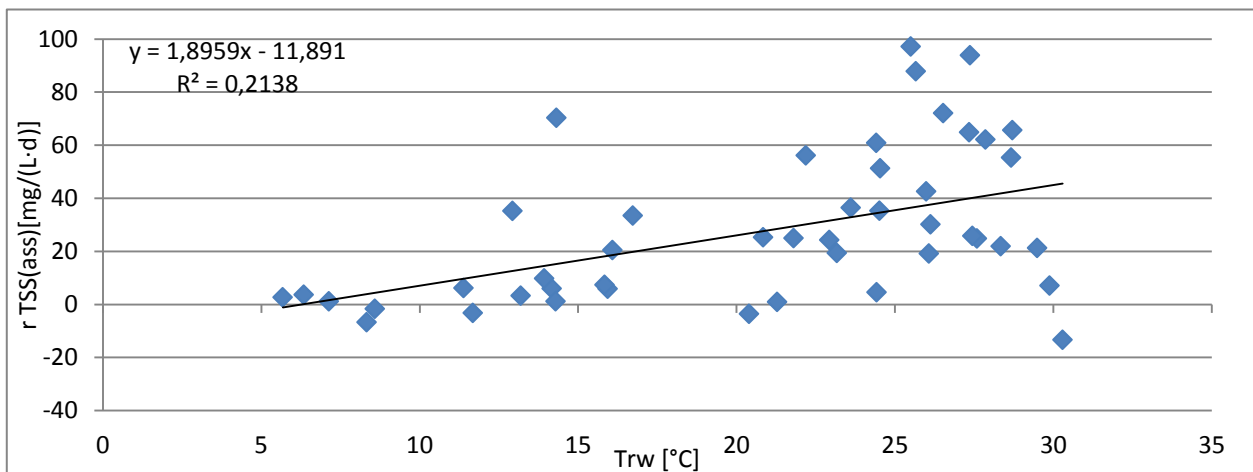


Figura 5.32 Correlazione tra rateo di crescita delle microalghe e temperatura della sospensione

La relazione con la temperatura appare piuttosto forte fino ai 20°C, come è lecito aspettarsi considerate le temperature ottimali di crescita delle microalghe. Oltre i 20°C, i dati si aprono in una nuvola dove probabilmente è qualche altro fattore a diventare preponderante.

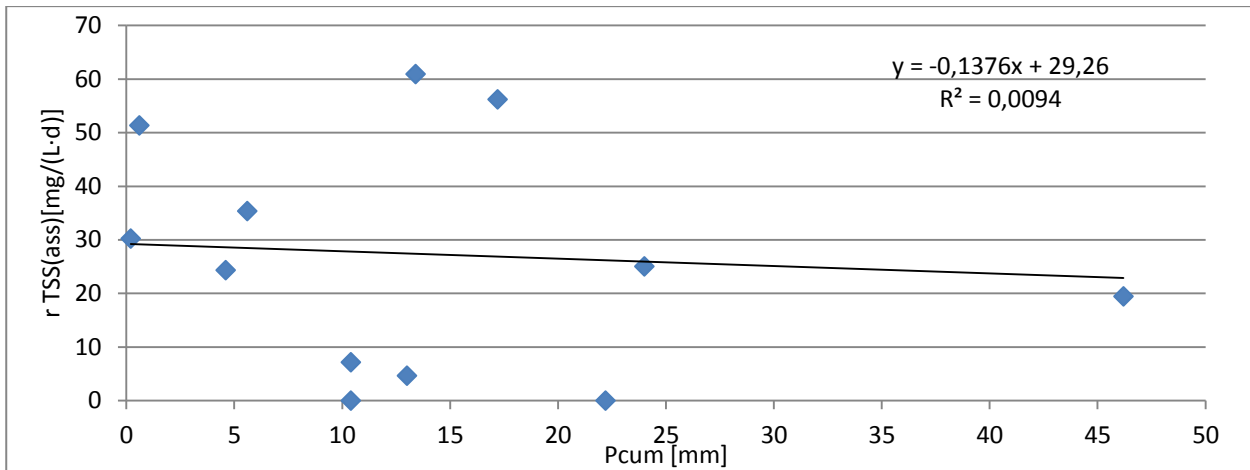


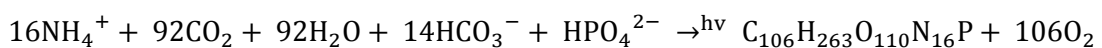
Figura 5.33 Correlazione tra rateo di crescita delle microalghe e precipitazioni cumulate nei 3 giorni precedenti e nel giorno della stima del rateo

Gli eventi di pioggia non sono stati particolarmente numerosi, perciò la quantità di dati è contenuta, tuttavia si può ipotizzare una relazione inversa, ovvero che precipitazioni elevate inducano ad una riduzione della produttività.

5.1.10 Bilancio dell'ossigeno

Si è voluto valutare un ulteriore aspetto della sperimentazione legato alla crescita algale ovvero la produzione di ossigeno, ed il bilancio che si ottiene considerando il consumo da parte dei batteri nitrificanti.

L'ossigeno prodotto dalle microalghe è stimato sulla base del carico di azoto rimosso dalla biomassa $C_{V,N \text{ rim,Alghe}} = C_{V,N \text{ in}} - C_{V,N \text{ out}} - C_{V,N \text{ strip}}$ e dei coefficienti stechiometrici riportati da Dalrymple et al. (2013) e Ebeling et al. (2006):



Il carico di azoto ammoniacale rimosso è stato convertito in moli $C_{V,N \text{ rim,Alghe}}[\text{mmolN/d}] = C_{V,N \text{ rim,Alghe}}[\text{mgN/d}]/\text{PM(N)}$ dove PM(N) è il peso molecolare dell'azoto. Dalla stechiometria si ottiene che si producono 6,625mol di ossigeno molecolare per ogni mole di azoto ammoniacale consumato. L'ossigeno prodotto è convertito in massa $\text{O}_2 \text{ prod,Alghe}[\text{mgO}_2/\text{d}] = \text{O}_2 \text{ prod,Alghe}[\text{mmolO}_2/\text{d}] \cdot \text{PM(O}_2)$, dove PM(O₂) è il peso molecolare dell'ossigeno.

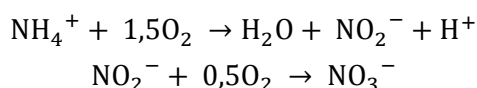
L'andamento della produzione di ossigeno e dell'OPR sono mostrati in Tabella 5.21.

Tabella 5.21 Valori medi e deviazioni standard per la produzione e rateo di produzione (OPR) di ossigeno da parte delle alghe nelle fasi di gestione del raceway

fase	giorni	Prod O ₂ [gO ₂ /d]		OPR [mgO ₂ /(L·d)]	
		media	dev.st	media	dev.st
FR0	0 - 6				
FR1	7 - 13	19	0	22	0
FR2	14 - 26	42	9	48	10
FR3	27 - 68	26	15	29	17
FR4	69 - 96	17	16	19	18
FR5	97 - 143	25	20	29	23
FR6	144 - 188	13	4	15	4
FR7	189 - 200				

L'andamento della produzione di ossigeno ha un trend paragonabile a quello visti per la rimozione dell'azoto totale, al netto della componente dovuta allo strippaggio presente soprattutto nelle prime due fasi. Questa correlazione è logica poiché la stima della produzione di ossigeno è basata sulla rimozione del carico di azoto. In particolare si osserva il massimo della produzione si è avuto durante FR2 quando ancora i batteri nitrificanti erano in fase di acclimatazione e non era fortemente competitivi per il consumo dell'azoto. Successivamente si osservano fasi con produzione elevata ma inferiore a quella di FR2 (FR3 e FR5) e fasi di difficoltà (FR4 e FR6). I motivi di questo tipo di andamento sono stati esposti in precedenza. Per avere un termine di confronto con queste produzioni, si stima a quanto ammonta il consumo da parte della biomassa nitrificante.

L'ossigeno consumato dai batteri nitrificanti è stimato sulla base del carico di nitrato e nitrito prodotti dai nitrificanti $C_{V,NO_3 \text{ Prod,Nitrif}}$ e $C_{V,NO_2 \text{ Prod,Nitrif}}$ dei coefficienti stechiometrici riportati da Bonomo (2014):



I carichi di azoto nitrico e nitroso prodotti sono stati convertiti in moli analogamente a quanto fatto per il carico rimosso dalle alghe. Dalla stechiometria si ottiene che si producono 1,5 mol di ossigeno molecolare per ogni mole di azoto nitroso prodotto e 2 mol di ossigeno molecolare per ogni mole di azoto nitrico prodotto. L'ossigeno consumato è convertito in massa come visto in precedenza per la biomassa algale.

Gli andamenti del consumo di ossigeno e dell'OCR sono mostrati in Tabella 5.22.

Tabella 5.22 Valori medi e deviazioni standard per il consumo e rateo di consumo (OCR) di ossigeno da parte dei batteri nitrificanti nelle fasi di gestione del raceway

fase	giorni	Cons O ₂ [gO ₂ /d]		OCR [mgO ₂ /(L·d)]	
		media	dev.st	media	dev.st
FR0	0 - 6				
FR1	7 - 13	12	4	14	5
FR2	14 - 26	15	11	18	12
FR3	27 - 68	63	14	72	16
FR4	69 - 96	82	9	93	11
FR5	97 - 143	95	23	108	26
FR6	144 - 188	44	17	50	19
FR7	189 - 200				

Anche in questo caso l'andamento è riconducibile a quello della produzione di azoto nitrico e nitroso, a partire da FR3 si osserva un'esplosione dell'attività nitrificante con un consumo di ossigeno molto rilevante e ampiamente superiore alla produzione da parte delle alghe.

Si può ora fare un bilancio tra produzione e consumo (Tabella 5.23).

Tabella 5.23 Valori medi e deviazioni standard per il bilancio tra produzione e consumo e tra il rateo di produzione (OPR) e il rateo di consumo (OCR) di ossigeno da parte delle alghe e dei batteri nitrificanti nelle fasi di gestione del raceway

fase	giorni	ΔO_2 [gO ₂ /d]		OPR-OCR [mgO ₂ /(L·d)]	
		media	dev.st	media	dev.st
FR0	0 - 6				
FR1	7 - 13	7	4	8	5
FR2	14 - 26	27	15	30	17
FR3	27 - 68	-37	25	-42	29
FR4	69 - 96	-65	19	-74	22
FR5	97 - 143	-70	33	-80	37
FR6	144 - 188	-31	17	-35	20
FR7	189 - 200				

Il bilancio netto è positivo solo fino a FR2 ovvero finché i batteri nitrificanti non hanno assunto un ruolo predominante nel consumo del carico di azoto in ingresso. Da FR3 in poi il bilancio è decisamente negativo. Questo si può spiegare supponendo che la quota parte di ossigeno consumata dai batteri che non è stata prodotta dalle alghe sia entrata nel sistema per scambio con l'atmosfera.

Si può concludere che il consorzio alghe-batteri potrebbe avere interessanti applicazioni nel campo della nitrificazione per impianti di trattamento reflui civili, abbattendo parte del carico e riducendo la richiesta di ossigeno da parte della comunità batterica che è uno delle voci di costo più importanti di questo tipo d'impianti.

5.1.11 Confronto per Produttività ed Efficienza fotosintetica con le stime

Nel presente paragrafo si confrontano le produttività areali ottenute con quelle stimate usando il modello presentato nel paragrafo 4.6 con i dati d'irradianza del 2016 e le efficienze fotosintetiche reali con quelle ipotizzate. In Tabella 5.24 si riportano le produttività stimate ed effettive.

Tabella 5.24 Confronto tra produttività misurate e stimate

	giu	lug	ago	set	ott
produttività stimata [g/(m²·d)]	14,76	15,75	13,94	12,84	5,79
produttività effettiva [g/(m²·d)]	9,53	10,13	5,16	16,63	4,02
produttività eff/prod stimata [%]	65%	64%	37%	129%	69%

Note: Il mese di maggio è escluso perché incompleto, novembre invece perché è stato in parte in fase batch

Si osserva che la produttività effettive sono inferiori a quelle stimate in quasi tutti i mesi, questo è probabilmente dovuto alle già citate fasi di difficoltà della biomassa in cui la produttività è stata molto contenuta o addirittura negativa.

Un fattore importante che ha influenzato le produttività effettive e stimate e le efficienze fotosintetiche è l'irradianza. Le produttività sono direttamente dipendenti dall'energia in ingresso sotto forma di radiazione solare (equazione 24, paragrafo 4.6), le efficienze fotosintetiche invece (equazione 1, paragrafo 2.2.1) non lo sono, ma possono essere influenzate da eventuali inibizioni dovute a irradianze particolarmente elevate. Si mostrano (Tabella 5.25) le irradianze medie mensili mensili registrate durante la sperimentazione e il rapporto tra di esse.

Tabella 5.25 Irradianze medie mensili nell'anno usato per la stima della produttività e nell'anno della sperimentazione

	giu	lug	ago	set	ott
I med mens 2016 [MJ/(m²·d)]	23,25	24,82	21,97	16,06	7,24

Dal 28 al 31 luglio e dal 1 agosto al 24 agosto l'irradianza in ingresso nel reattore è stata ridotta del 50% con il telo ombreggiante. Questo implica che l'irradianza media percepita dalla coltura per luglio e agosto diventa $I_{med\ lug\ 2016} = 23,28\ [MJ/(m^2 \cdot d)]$ e $I_{med\ ago\ 2016} = 13,21\ [MJ/(m^2 \cdot d)]$

L'efficienza fotosintetica è un indice robusto che quantifica la crescita delle microalghe, in quanto scorpora l'effetto dell'abbondanza dell'energia in ingresso:

$$\eta_{pho} [\%] = E_{alghe}[MJ/m^2]/E_{irradianza}[MJ/m^2] \text{ (Equazione 1)}$$

dove l'energia convertita a biomassa $E_{alghe} = Prod_{spec\ med} \cdot PCI_{alghe}$.

Si mettono ora a confronto le efficienze fotosintetiche reali con quelle ipotizzate (Tabella 5.26).

Tabella 5.26 Valori medi mensili di efficienza fotosintetica reale ed ipotizzata per il raceway

	giu	lug	ago	set	ott
η fotosint reale [%]	0,96%	1,02%	0,91%	2,42%	1,29%
η fotosint reale ipotizzata [%]	1,48%	1,48%	1,48%	1,87%	1,87%
η ottenuta/η ipotizzata [%]	65%	69%	61%	129%	69%

Si osserva come l'efficienza reale è nell'ordine del 60-70% di quella ipotizzata per gran parte della sperimentazione ad esclusione di settembre in cui è stata di circa il 30% superiore alle ipotesi. Questo comportamento non è di facile interpretazione. Si sottolinea che settembre è pressoché corrispondente alla fase FR5, in questa fase i principali cambiamenti delle condizioni al contorno e ambientali, sono una riduzione parziale dell'irradianza associata a precipitazioni contenute e ad una temperatura della coltura particolarmente vicina alle condizioni ottimali (22,4 °C di media durante FR5).

5.2 Monitoraggio Colonna

Si espone ora più brevemente anche per la colonna gran parte degli aspetti già analizzati nel raceway.

5.2.1 Caratterizzazione Alimento

La colonna è stata alimentata con il medesimo digestato, utilizzato per il raceway. Le diluizioni e le concentrazioni non sempre sono state le stesse. Si riporta in Figura 5.34 l'andamento della concentrazione di azoto ammoniacale e della diluizione.

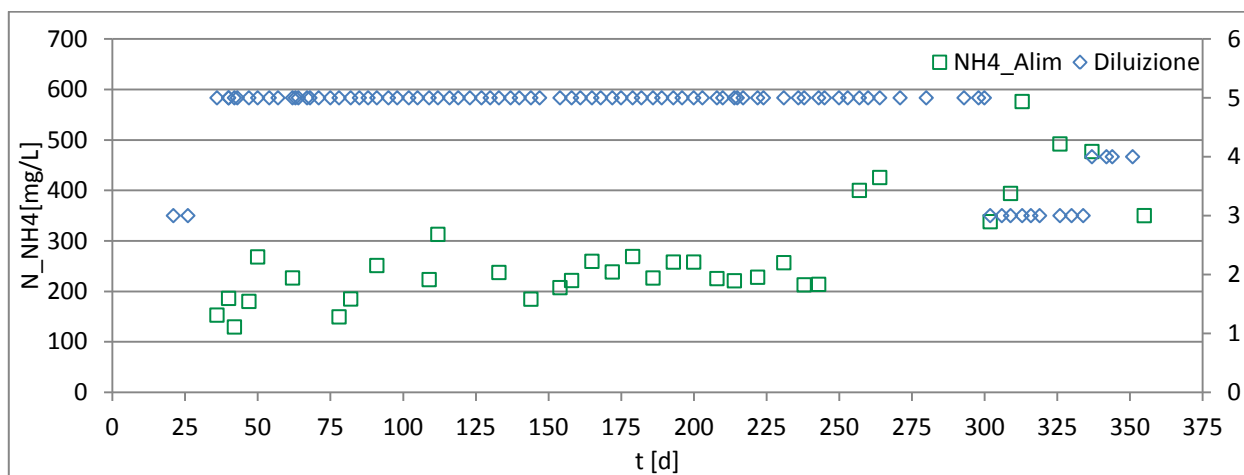


Figura 5.34 Concentrazione di ammonio e diluizione dell'alimento per la colonna

La diluizione è stata mantenuta fissa a 5 a 1 fino al giorno 301 (11 gennaio 2017), dalla fase FC7 si è ridotta la diluizione ad 1 a 3, per far acclimatare la popolazione algale della colonna ad un alimento meno diluito, in previsione di mantenere tale diluizione anche successivamente a FC8 (la colonna è rimasta attiva anche dopo il giorno 365).

Tabella 5.27 Concentrazioni di ammonio nell'alimento per la colonna

	FC0 - FC6	FC7 - FC8
NH₄⁺-N med [mgN/L]	224±38	432±80

Le concentrazioni (Tabella 5.27) riflettono l'andamento della diluizione e sono paragonabili a quelle mostrate in precedenza per il raceway. Anche in questo caso alcuni giorni prima del passaggio da diluizione 1 a 5 ad 1 a 3, si è aumentata la concentrazione dell'alimento aggiungendo bicarbonato d'ammonio.

5.2.2 Condizioni meteo e condizioni della sospensione

Si è scritto in precedenza della forte influenza delle condizioni meteorologiche sull'efficacia di questo tipo di trattamento. Si mostrano ora i valori medi giornalieri di temperatura, irradianza e la precipitazione cumulata giornaliera, questa volta per il periodo di funzionamento della colonna (Figura 5.35 e Tabella 5.28).

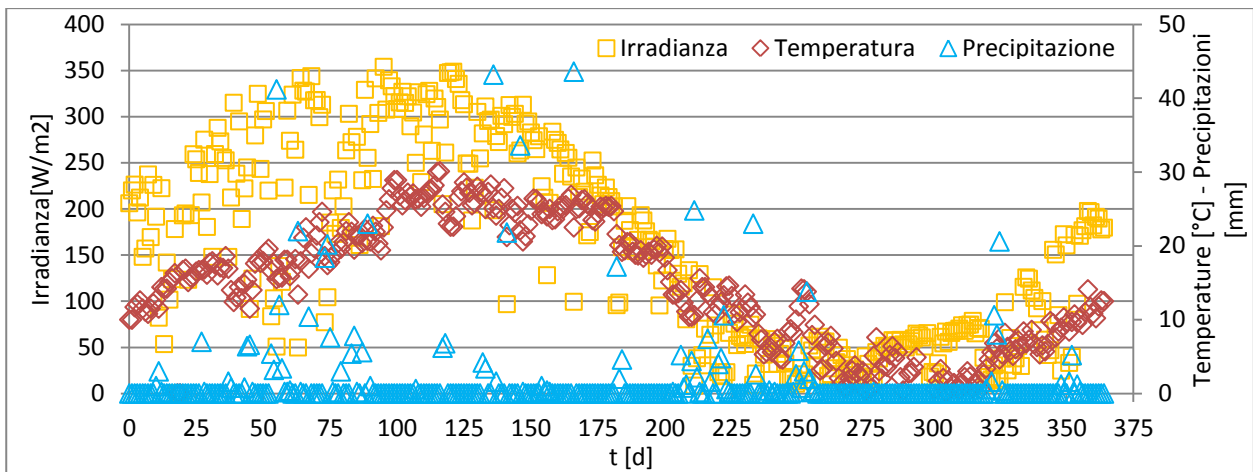


Figura 5.35 Condizioni meteo nel periodo di funzionamento dell'impianto (giorno 0 colonna = 17 marzo 2016)

Tabella 5.28 Medie e deviazioni standard per temperatura ambiente, irradianza e precipitazioni nelle fasi di gestione della colonna

fase	giorni	T _A media giorno [°C]		Irradianza media giorno [W/m ²]		Precipitazioni cumulate [mm/d]	
		media	dev.st	media	dev.st	media	dev.st
FC0	0 - 36	14,6	2,6	198	57	0,3	1,3
FC1	37 - 77	17,3	2,9	226	91	3,9	8,3
FC2	78 - 108	23,5	3,1	279	56	1,5	4,4
FC3	109 - 136	26,5	2,0	287	48	2,3	8,2
FC4	137 - 160	24,3	1,8	262	54	2,5	8,0
FC5	161 - 235	17,8	5,6	135	74	2,1	6,7
FC6	236 - 249	6,9	1,6	37	17	0,2	0,7
FC7	250 - 301	4,0	4,0	40	17	0,5	2,1
FC8	302 - 365	6,4	3,8	90	58	0,8	3,1

Irradianza e temperature hanno i tipici andamenti stagionali, e le precipitazioni sono decisamente meno influenti per la colonna dal momento che il reattore è chiuso.

La colonna è stata monitorata per quanto riguarda temperatura, pH e ossigeno disciolto, ma con un singola misura per ogni sopralluogo in campo e non in continuo come per il raceway (inoltre mancano alcuni dati per l'assenza dello strumento di misura).

Si ricorda inoltre dal giorno 236 al 365 era presente all'interno della colonna un riscaldatore, regolato in modo da mantenere una temperatura della sospensione quando possibile superiore ai 10°C.

Si mostrano le temperature misurate nella colonna confrontate con le temperature medie giornaliere ambientali (Figura 5.36)

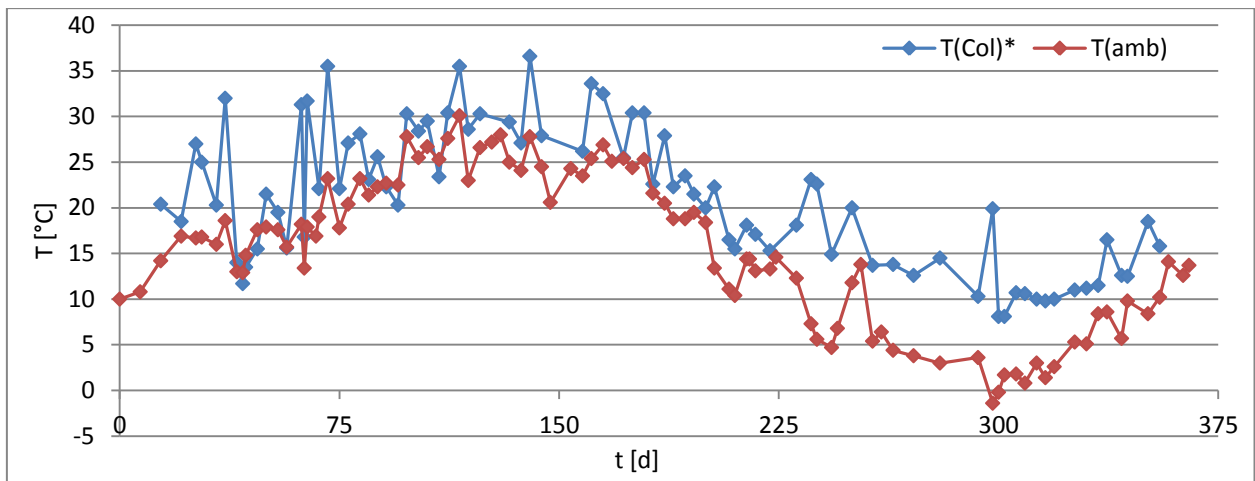


Figura 5.36 Confronto tra la temperatura media ambientale e la temperatura nella colonna. *(misurata circa a mezzogiorno)

Si osserva un andamento molto irregolare e con un delta quasi sempre positivo tra la temperatura ambiente e quella della colonna. Questo comportamento è dovuto al momento in cui le misure venivano effettuate nella colonna e al fatto che la colonna ha uno scambio termico con l'ambiente ridotto rispetto al raceway. Pertanto le temperature nella colonna mostrate sono in parte influenzate dall'irradiazione che non ha sempre un contributo costante.

A differenza del raceway, la colonna non ha avuto controllo del pH, come specificato nel paragrafo 3.1. Si mostrano le misure istantanee di pH e OD lungo l'arco della sperimentazione Figura 5.37.

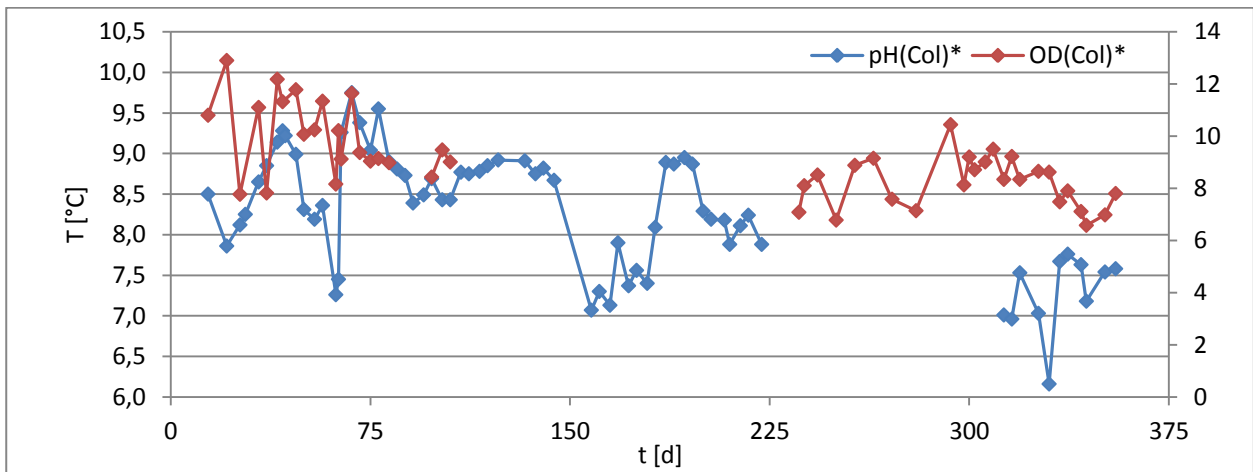


Figura 5.37 Misure istantanee di pH e OD lungo l'arco delle sperimentazione. *Mancano diverse misure a causa dell'indisponibilità dello strumento di misura

Tabella 5.29 Medie e deviazioni standard per temperatura nella colonna, pH e Ossigeno disciolto nelle fasi di gestione della colonna

fase	giorni	T col [°C]		pH []		OD [mg/L]	
		media	dev.st	media	dev.st	media	dev.st
FC0	0 - 36	23,9	5,1	8,4	0,4	10,1	2,2
FC1	37 - 77	20,8	7,7	8,7	0,8	10,4	1,3
FC2	78 - 108	26,1	3,5	8,7	0,4	9,0	0,4
FC3	109 - 136	29,6	3,9	8,8	0,1		
FC4	137 - 160	29,5	4,8	8,3	0,8		
FC5	161 - 235	23,0	5,9	8,1	0,6		
FC6	236 - 249	20,2	4,6			7,9	0,7
FC7	250 - 301	14,1	4,2			8,4	1,2
FC8	302 - 365	12,1	2,9	7,3	0,5	8,2	0,9

I valori di pH sono stati superiori a 7,5 per gran parte della sperimentazione con picchi oltre 9. L'ossigeno disciolto è per la totalità delle misure vicino alla saturazione, in qualche caso leggermente sottosaturo in qualche caso leggermente sovrasaturo. Sia il pH che l'ossigeno disciolto nella colonna sono più stabili rispetto al raceway, ciò è da attribuire alla minor influenza di fattori esterni come pioggia e predatori, ma anche da un'attività nitrificante mediamente più contenuta e più stabile, come sarà mostrato in seguito (paragrafo 5.2.4.2).

5.2.3 Effluente

Nel presente paragrafo si mostrano le caratteristiche dell'effluente, ovvero il digestato diluito a valle del trattamento nel raceway.

5.2.3.1 Nutrienti

La colonna fungeva da backup e da confronto per il raceway, svolgendo un'azione di rimozione dei nutrienti analoga a quella del raceway stesso.

Si presentano gli andamenti delle concentrazioni di azoto ammoniacale, nitrico e nitroso, in ingresso e uscita dalla colonna (Figura 5.38 e Figura 5.39).

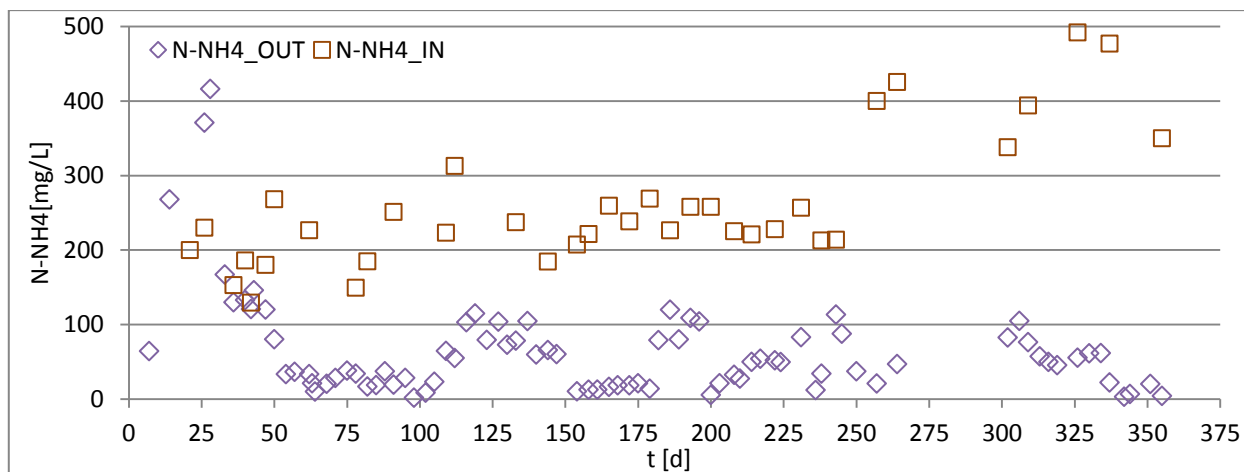


Figura 5.38 Concentrazioni di azoto ammoniacale in ingresso e uscita dalla colonna

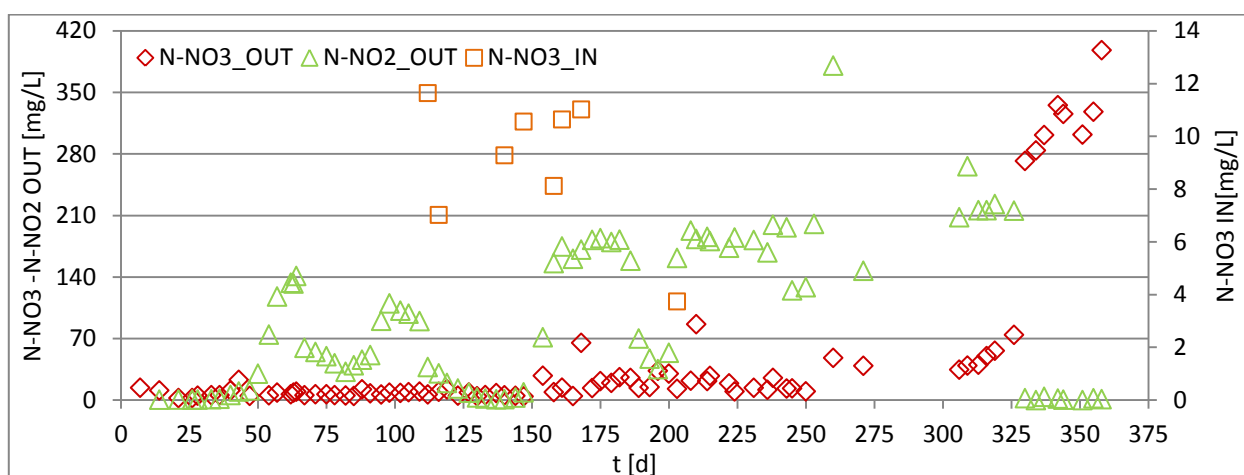


Figura 5.39 Concentrazioni di azoto nitrico in ingresso e uscita e nitroso in uscita dalla colonna

Tabella 5.30 Concentrazioni medie di azoto ammoniacale nitrico e nitroso in uscita nelle fasi di gestione della colonna

fase	giorni	NH ₄ ⁺ -N out [mg/L]		NO ₃ ⁻ -N out [mg/L]		NO ₂ ⁻ -N out [mg/L]	
		media	dev.st	media	dev.st	media	dev.st
FC0	0 - 36	275	164	9	4	1	1
FC1	37 - 77	63	49	8	5	66	50
FC2	78 - 108	21	11	8	2	73	30
FC3	109 - 136	84	21	7	3	14	14
FC4	137 - 160	52	36	11	9	69	79
FC5	161 - 235	49	36	25	19	152	53
FC6	236 - 249	62	47	15	7	162	41
FC7	250 - 301	35	13	44	6	243	122
FC8	302 - 365	47	31	203	141	97	115

La concentrazione di ammonio in uscita (Figura 5.39 e Tabella 5.30) dopo i primi giorni acclimatazione della biomassa è rimasta per quasi tutto l'arco della sperimentazione, con poche eccezioni, al di sotto dei 100 mgN/L e tra FC1 e FC8 è stata mediamente al di sotto o vicina a 50mgN/L tranne in FC3. Queste concentrazioni in uscita di ammonio basse sono dovute solo in parte alla rimozione eseguita dalla biomassa

algale, una quotaparte importante di questa rimozione è dovuta alla nitrificazione e allo stripping dovuto al pH alto.

Come per il raceway anche la colonna ha presentato l'attività di batteri nitrificanti, pertanto ci sono state concentrazioni in uscita di azoto nitrico e nitroso rilevanti. Fino a metà di FC7 la nitrificazione avveniva solo parzialmente fermandosi per lo più a nitrito. Le concentrazioni ridotte di nitrato indicano che i batteri nitritossidanti (NOB) hanno svolto un'attività modesta per via del pH elevato che ne ha causato la parziale inibizione. Da FC8 in poi si osserva invece un'inversione di tendenza dovuta al fatto che il pH durante questa fase è stato intorno alla neutralità permettendo agli NOB di svolgere meglio la loro attività.

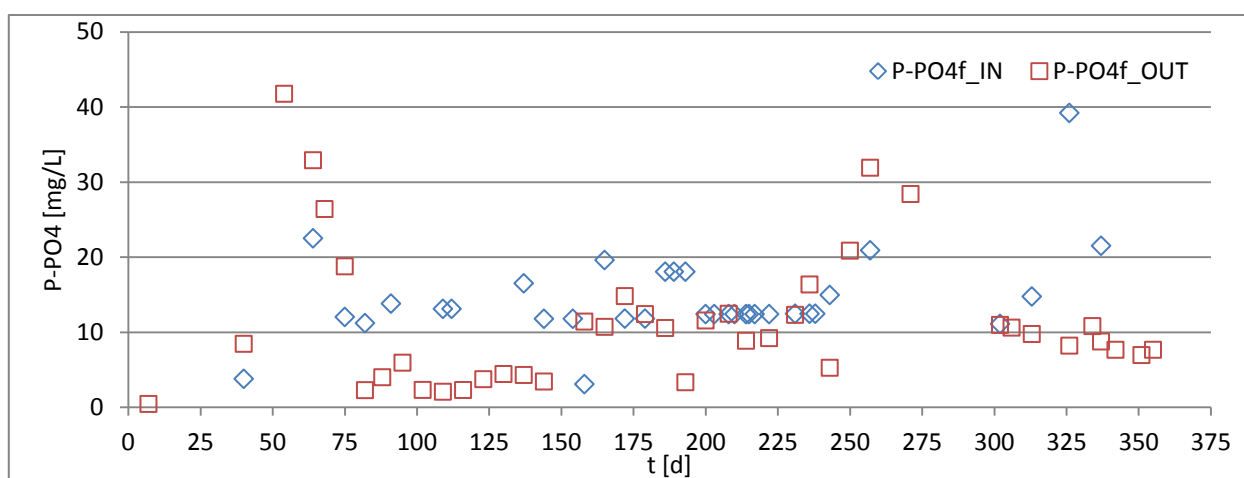


Figura 5.40 Concentrazioni di ortofosfato in forma solubile in ingresso e uscita dalla colonna

Tabella 5.31 Concentrazioni medie di ortofosfato in ingresso e uscita nelle fasi di gestione della colonna

fase	giorni	PO ₄ ³⁻ -P f in [mg/L]		PO ₄ ³⁻ -P f out [mg/L]	
		media	dev.st	media	dev.st
FC0	0 - 36	85	112	14	13
FC1	37 - 77	17	7	30	10
FC2	78 - 108	13	2	4	2
FC3	109 - 136	13	0	3	1
FC4	137 - 160	11	6	6	4
FC5	161 - 235	14	3	11	3
FC6	236 - 249	13	1	11	8
FC7	250 - 301	21		27	6
FC8	302 - 365	22	12	9	2

Osservando l'andamento del fosforo (Figura 5.40 e Tabella 5.31), al netto di qualche valore anomalo, si nota anche per la colonna che il consumo è contenuto, dunque il rapporto N/P sarebbe potuto essere un po' più grande di quello utilizzato. Al netto della fase batch e di FC1 ed FC7, la concentrazione di fosforo in uscita è stata contenuta e costantemente vicina ai 10 mgP/L. Come per il raceway con un rapporto N/P maggiore o con un trattamento non particolarmente spinto è possibile riuscire raggiungere una concentrazione in uscita vicina o inferiore al limite di legge per lo scarico al suolo di 2 mgP/L (D.Lgs 152/2006).

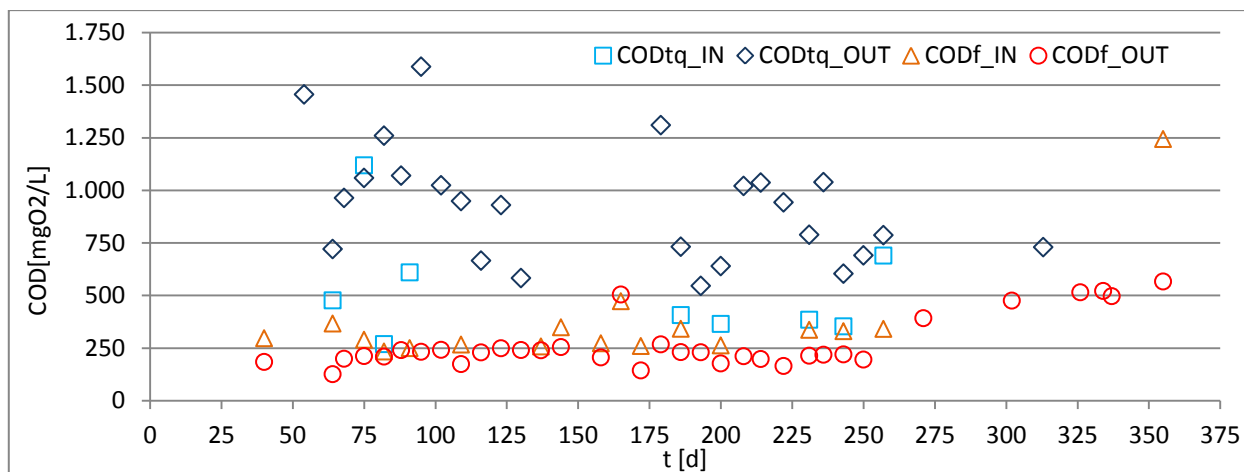


Figura 5.41 Concentrazioni di COD sul tal quale e sul filtrato in ingresso ed uscita dalla colonna

Tabella 5.32 Concentrazioni medie di COD sul tal quale e sul filtrato in ingresso ed uscita nelle fasi di gestione della colonna

fase	giorni	CODtq in [mg/L]		CODf in [mg/L]		CODtq out [mg/L]		CODf out [mg/L]	
		media	dev.st	media	dev.st	media	dev.st	media	dev.st
FC0	0 - 36			757	18			213	51
FC1	37 - 77	798	454	329	54	1050	306	179	46
FC2	78 - 108	440	241	242	11	1236	256	231	15
FC3	109 - 136			267		782	185	224	34
FC4	137 - 160			293	49			234	25
FC5	161 - 235	386	21	335	86	877	249	234	102
FC6	236 - 249	354		331		822	308	219	1
FC7	250 - 301	690		342		739	68	195	197
FC8	302 - 365			1244		730		515	34

Note: FC0 è stata una fase batch, pertanto non presenta misure in ingresso. Dove mancano sia media che deviazione standard non sono disponibili dati, dove manca solo la deviazione standard è disponibile una sola misura nell'arco di quella fase.

Analogamente a quanto visto per il raceway, la concentrazione di sostanza organica (Figura 5.41 e Tabella 5.32) sul tal quale in uscita è superiore all'ingresso, mentre riferendosi al filtrato l'ingresso è superiore all'uscita solo in pochi casi. La sostanza organica presente nell'alimento parzialmente consumata da batteri eterotrofi e da eventuali alghe mixotrofe, producendo nuova biomassa che costituisce sostanza organica particolata.

Come per il raceway l'estrazione della biomassa algale abbatterebbe notevolmente il contenuto di organico tal quale dall'effluente. La rimozione di sostanza organica solubile è nell'ordine del 30-40% anche per la colonna.

5.2.3.2 Concentrazione algale

Si presentano i dati relativi alle conte algali anche per la colonna (Figura 5.42, Figura 5.43 e Tabella 5.33).

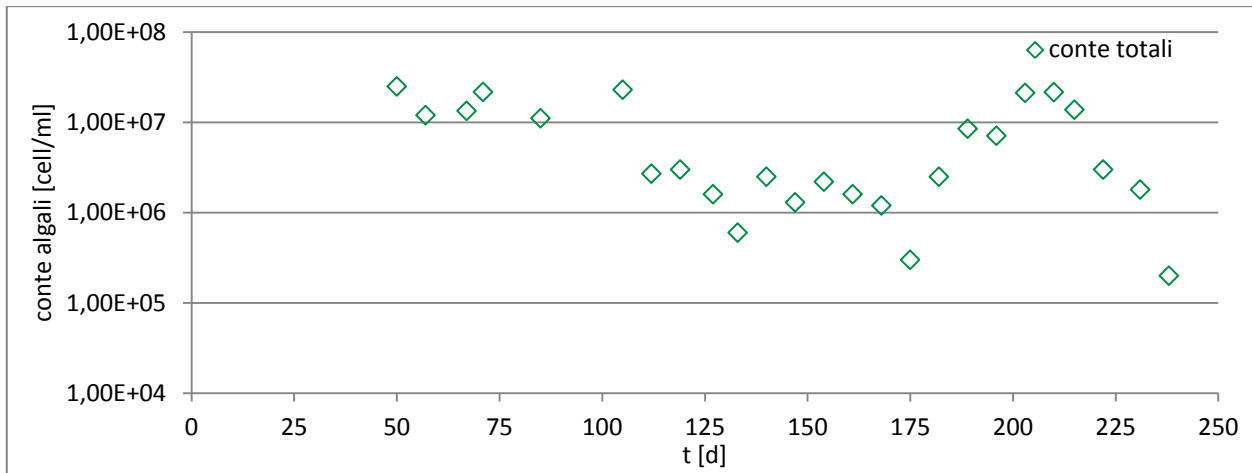


Figura 5.42 Conte algali al microscopio dalla sospensione nella colonna

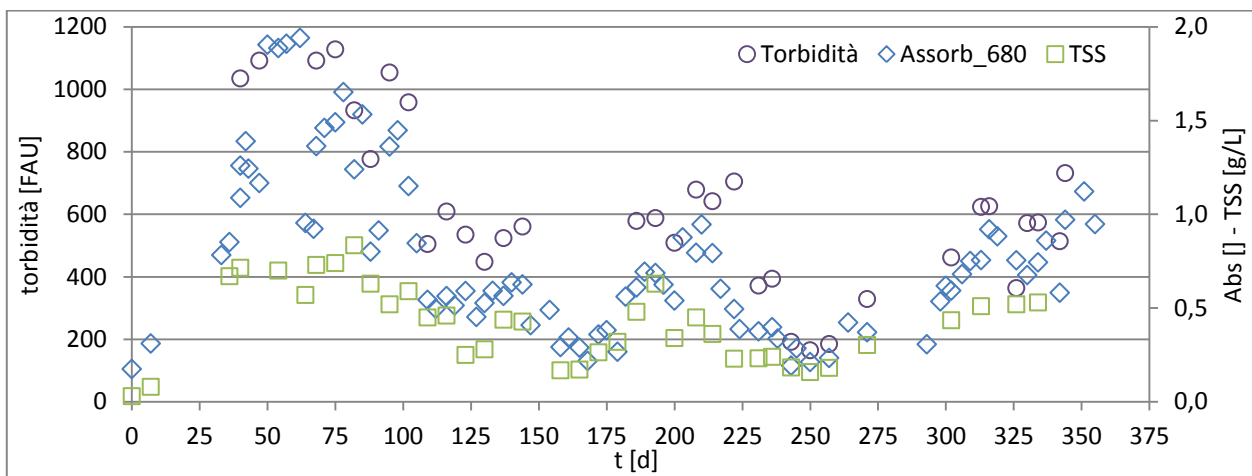


Figura 5.43 Parametri indice di crescita di biomassa algale per la colonna

Tabella 5.33 Valori medi per le conte algali al microscopio dalla sospensione nella colonna

fase	giorni	Conte Totali [cell/ml]	
		media	dev.st
FC0	0 - 36		
FC1	37 - 77	1,80E+07	6,32E+06
FC2	78 - 108	1,71E+07	8,41E+06
FC3	109 - 136	1,98E+06	1,10E+06
FC4	137 - 160	2,00E+06	6,24E+05
FC5	161 - 235	7,51E+06	7,95E+06
FC6	236 - 249	2,00E+05	
FC7	250 - 301		
FC8	302 - 365		

La conte algali totali per la colonna (Figura 5.42 e Tabella 5.33) sono quantitativamente paragonabili a quelle viste in precedenza per il raceway. I valori medi sull'intera sperimentazione sono $8,6 \cdot 10^6$ cell/ml per il raceway e $8,1 \cdot 10^6$ cell/ml per la colonna.

Come per il raceway è visibile una variabilità piuttosto rilevante. La colonna è un tipo di reattore meno incline alle contaminazioni e agli agenti esterni, ma con minor inerzia termica e minor capacità di scambio termico con l'atmosfera. Questi ultimi due aspetti sono quelli che hanno probabilmente causato il lungo periodo compreso tra FC3 e metà di FC5 (giorni 112 -182), in cui le microalghe sono state in numero molto minore rispetto al resto della sperimentazione. A sostegno di questa tesi si può dire che in questo arco di tempo ci sono state le temperature ambientali e nella colonna maggiori (Figura 5.36).

Tabella 5.34 Valori medi e deviazioni standard per Assorbanza a 680 nm, Torbidità e Solidi Sospesi Totali nella Colonna

fase	giorni	Assorbanza 680 nm []		Torbidità [FAU]		SST [g/L]	
		media	dev.st	media	dev.st	media	dev.st
FC0	0 - 36	0,41	0,29	336	291	0,34	0,28
FC1	37 - 77	1,45	0,36	1104	21	0,69	0,08
FC2	78 - 108	1,22	0,31	931	115	0,64	0,14
FC3	109 - 136	0,54	0,05	524	67	0,36	0,11
FC4	137 - 160	0,50	0,13	543	26	0,34	0,15
FC5	161 - 235	0,54	0,21	582	114	0,35	0,14
FC6	236 - 249	0,30	0,09	293	143	0,21	0,04
FC7	250 - 301	0,39	0,15	226	89	0,21	0,08
FC8	302 - 365	0,80	0,15	559	112	0,50	0,04

Si osserva che la concentrazione di solidi è in linea con quella vista per il raceway. Le prestazioni medie migliori durante FC1 ed FC2 sono anch'esse paragonabili o appena superiori. Anche se si considera l'intera sperimentazione, al netto delle fasi batch, le concentrazioni medie sono praticamente identiche: 0,43 g/L per il raceway contro 0,42 g/L per la colonna.

Come per il raceway anche per la colonna le misure indice della biomassa rispecchiano almeno in parte l'andamento delle conte. Come già scritto in precedenza la corrispondenza non può essere perfetta dal momento che le conte non considerano la dimensione delle cellule ma solo il loro numero, cosa che invece i valori indice fanno indirettamente.

5.2.3.2.1 Specie microalgali

La popolazione algale presente nella colonna è stata caratterizzata, come fatto per quella presente nel raceway. Si mostra in Figura 5.44 l'andamento temporale di tale composizione.

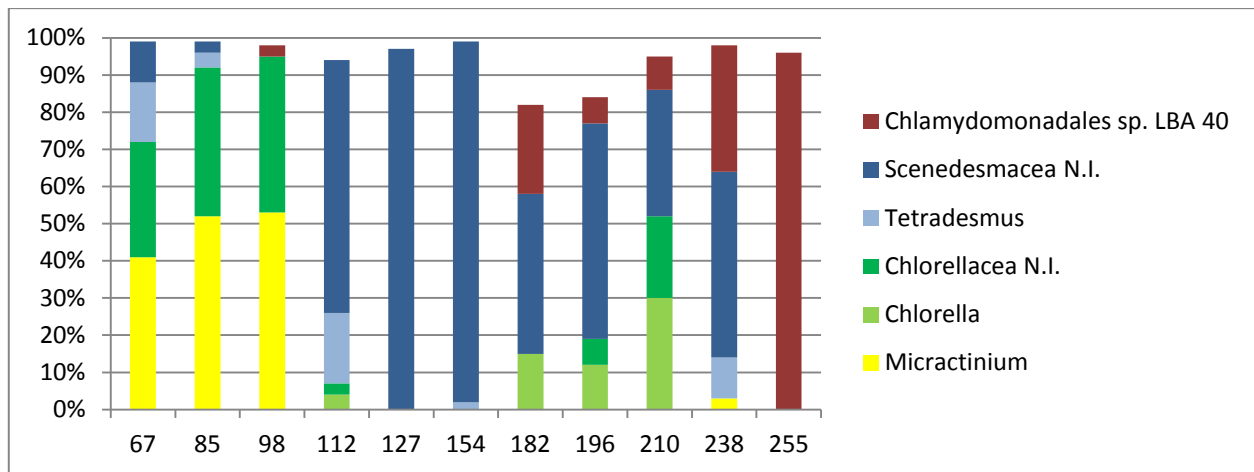


Figura 5.44 Composizione della popolazione algale suddivisa per generi nella colonna. Chlorellaceae N.I.: genere non identificato appartenente alla famiglia delle Chlorellaceae; Scenedesmaceae N.I.: genere non identificato appartenente alla famiglia delle Scenedesmaceae

Anche nel caso della colonna, le specie algali presenti appartengono tutte alla classe delle *Clorofite*, le più adatte alla crescita in acque reflue, come da letteratura (McGinn et al, 2012; Abinandan e Shanthakumar, 2013).

Si ripropone la ripartizione in due principali famiglie: le *Chlorellaceae* (*Micractinium*, *Chlorella* e *Chlorellaceae N.I.*) e le *Scenedesmaceae* (*Tetradesmus* e *Scenedesmaceae N.I.*). Inoltre, è stata identificata con una certa abbondanza anche la famiglia delle *Chlamydomonadales* (principalmente *Chlamydomonadales sp. 40*, tracce di *Chlamydomonas* e *Chlamydomonadales sp. 37*). Sono state rilevate tracce ($\leq 1\%$) di altre famiglie: *Selenastraceae*, *Chlorodendraceae* e *Desmococcus olivaceus*.

Come per il raceway, si osserva che il primo periodo è caratterizzato dalla preponderanza del genere delle *Chlorellaceae*, per via della miglior adattabilità alle condizioni di temperatura primaverili. Dal giorno 112 al 154 (7 luglio - 18 agosto) sono le *Scenedesmaceae* a diventare dominanti, per via di temperature ambientali e della coltura nell'ordine dei 30°C (Huertas et al., 2011; Hodaifa et al., 2010). Dal giorno 182 al giorno 210, ritornano ad essere presenti le *Chlorellaceae*, e compare una porzione rilevante di *Chlamydomonadales*. Temperature e irradiazioni in calo e alcuni eventi piovosi, (giorno 118 7 mm, giorno 132 4 mm e giorno 146 33 mm), quindi irradianza ridotta e una temperatura ulteriormente ridotte hanno favorito questo andamento. Infine nella fase avanzata della sperimentazione (FC6) *Chlamydomonadales* prende il sopravvento sulle altre microalghe. In questa fase le temperature ambientali e l'irradianza sono state particolarmente ridotte $6,9 \pm 1,6$ °C 37 ± 17 W/m², causando una forte variazione della composizione della popolazione microalgale. Si ricorda che a partire da FC6 era attivo il riscaldatore all'interno della colonna, permettendo di mantenere temperature di circa 20°C (misure istantanee alle ore 9 della mattina). Ciò non esclude che la coltura abbia subito uno stress termico non trascurabile.

5.2.4 Rimozione dei nutrienti

5.2.4.1 Efficienze di Rimozione dell'azoto e dell'azoto ammoniacale

Si valuta anche l'efficacia del trattamento avvenuto all'interno della colonna.

L'aspetto centrale rimane il rendimento di rimozione dell'ammonio e più in generale dell'azoto (Figura 5.45 e Tabella 5.35).

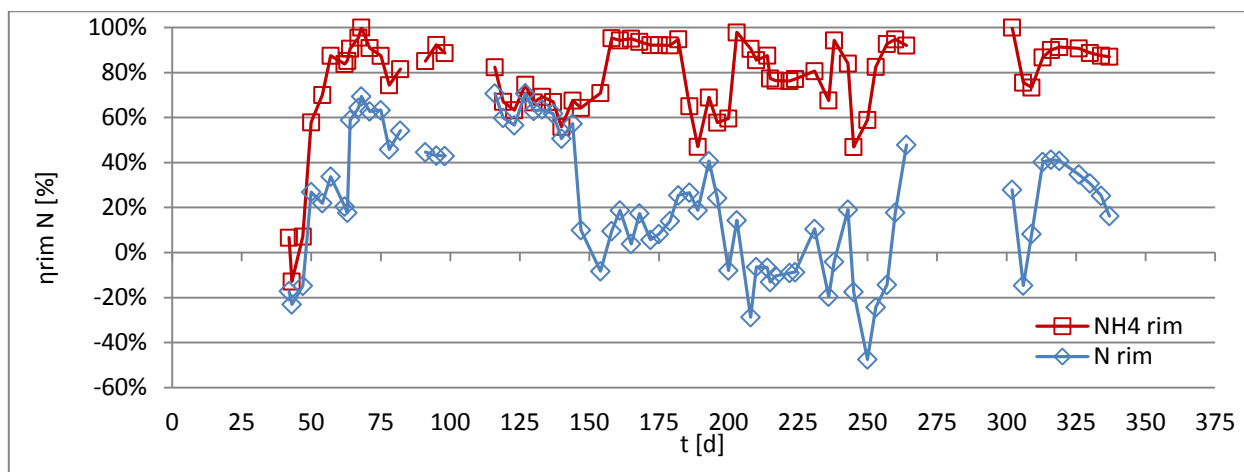


Figura 5.45 Rendimenti di rimozione dell'ammonio e dell'azoto totale espresso come somma di ammonio nitrito e nitrato nella colonna. I dati mancanti corrispondono a momenti in cui la pompa di alimentazione era fuori uso

Tabella 5.35 Valori medi e dev.st dei rendimenti di rimozione dell'ammonio e dell'azoto nelle fasi di gestione della colonna

fase	giorni	η RIM NH ₄ ⁺ [%]		η RIM N [%]	
		media	dev.st	media	dev.st
FC0	0 - 36				
FC1	37 - 77	65%	39%	30%	33%
FC2	78 - 108	84%	7%	46%	5%
FC3	109 - 136	71%	7%	64%	6%
FC4	137 - 160	70%	13%	30%	30%
FC5	161 - 235	81%	14%	7%	17%
FC6	236 - 249	73%	21%	-6%	18%
FC7	250 - 301	84%	15%	-4%	37%
FC8	302 - 365	87%	8%	25%	18%

Sia il rendimento di rimozione dell'ammonio che quello dell'azoto totale (Tabella 5.35) sono in linea con le prestazioni viste in precedenza per il raceway (tabella 5.13). Il rendimento sull'ammonio per la colonna è mediamente leggermente inferiore, raceway 84% e colonna 77%, e non raggiunge le punte di rimozione viste per il raceway. La rimozione dell'azoto totale media è del 22%, anche in questo caso tale valore è influenzato da diversi momenti di rilascio dell'azoto (rendimento negativo), se non si considerano tali momenti il rendimento sale al 37%. Questo rendimento più alto per la colonna che non per il raceway è in gran parte dovuto ad un importante contributo dello strippaggio (si veda il bilancio dell'azoto per la colonna paragrafo 5.2.4.3).

Come per il raceway un miglior controllo delle condizioni di coltura e una minor incidenza dell'attività nitrificante potrebbero migliorare le prestazioni complessive.

Si prende in considerazione anche il rateo di rimozione dell'ammonio (Figura 5.46 e Tabella 5.36).

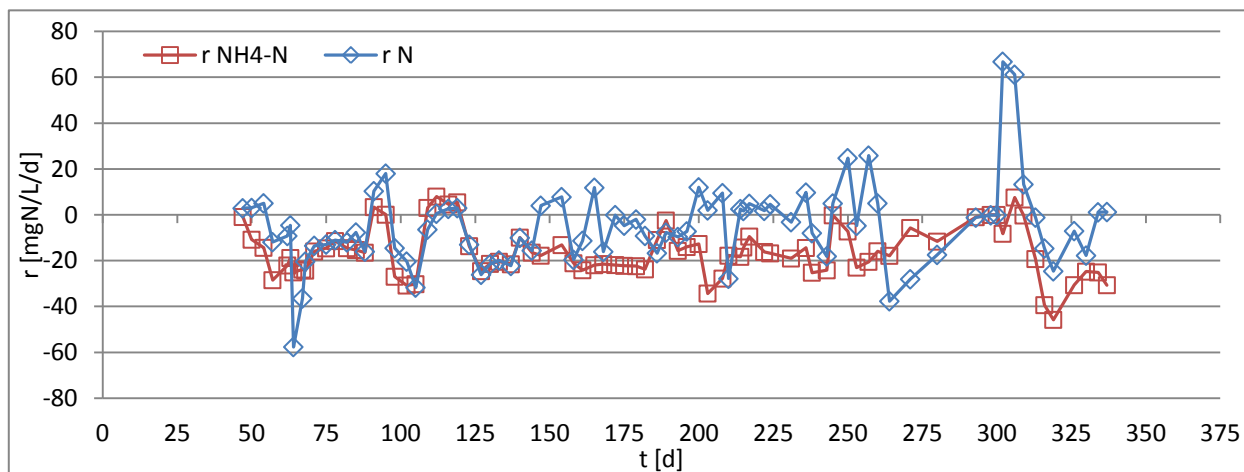


Figura 5.46 Rateo di produzione* dell'azoto ammoniacale all'interno della colonna. *Un rateo negativo indica rimozione

Tabella 5.36 Valori medi e deviazioni standard dei ratei dell'azoto ammoniacale e totale nelle fasi di gestione della colonna

fase	giorni	r N-NH ₄ ⁺ [mgN/(L·d)]		r N tot [mgN/(L·d)]	
		media	dev.st	media	dev.st
FC0	0 - 36				
FC1	37 - 77	-18,10	7,89	-14,14	18,72
FC2	78 - 108	-15,80	12,25	-9,44	15,17
FC3	109 - 136	-7,35	13,90	-10,11	11,65
FC4	137 - 160	-16,65	4,52	-9,28	12,51
FC5	161 - 235	-18,44	6,86	-3,09	10,00
FC6	236 - 249	-15,99	11,61	-2,85	12,62
FC7	250 - 301	-10,27	8,71	-3,39	20,35
FC8	302 - 365	-21,64	16,92	7,84	31,54

5.2.4.2 Produzione di NO_x - Attività nitrificante

La colonna come il raceway ha mostrato lo sviluppo di batteri nitrificanti. Si sono valutati i ratei di produzione di azoto nitroso e nitrico (Figura 5.47 e Tabella 5.36).

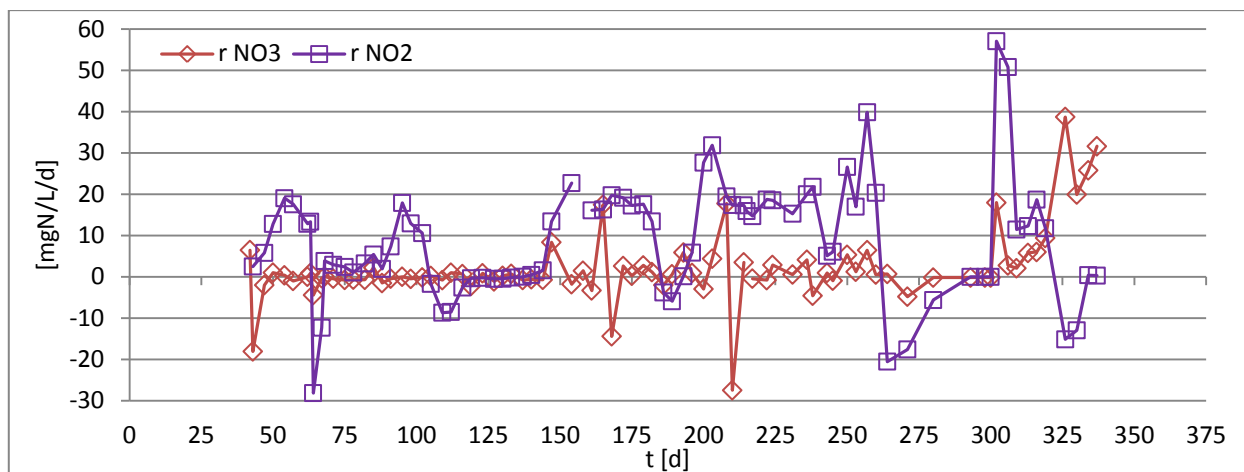


Figura 5.47 Ratei di produzione* di azoto nitrico e azoto nitroso nel raceway. *Un rateo positivo indica produzione

Tabella 5.37 Valori medi e deviazioni standard dei ratei dell'azoto nitrico e nitroso nelle fasi di gestione della colonna

fase	giorni	r N-NO ₂ ⁻ [mgN/(L·d)]		r N-NO ₃ ⁻ [mgN/(L·d)]	
		media	dev.st	media	dev.st
FC0	0 - 36				
FC1	37 - 77	4,39	13,35	-1,40	5,55
FC2	78 - 108	6,53	6,31	-0,17	1,03
FC3	109 - 136	-2,68	3,73	-0,07	1,16
FC4	137 - 160	7,64	10,08	1,00	3,77
FC5	161 - 235	14,90	9,09	0,47	9,44
FC6	236 - 249	13,25	8,88	-0,10	3,64
FC7	250 - 301	6,01	19,43	0,87	3,13
FC8	302 - 365	13,47	24,01	16,00	12,87

I ratei $r\text{ N-NO}_2^-$ e $r\text{ N-NO}_3^-$ mostrano come i batteri nitrificanti siano stati attivi per l'intera durata della sperimentazione nella colonna con intensità variabile. Si nota come il rateo di produzione dell'azoto nitroso sia generalmente molto basso questo è da attribuire al pH della coltura, per gran parte della sperimentazione superiore a 8, ovvero in condizioni che sono inibenti per i nitritossidanti. Complessivamente la nitrificazione nella colonna è stata un po' meno intensa: mediamente 18,6 mgN/(L·d) per il raceway contro 10,8 mgN/(L·d).

5.2.4.3 Bilancio di massa dell'azoto

Il bilancio di massa dell'azoto per la colonna è stato eseguito analogamente a quanto fatto per il raceway.

Si mostra in Figura 5.48 e in Tabella 5.38 la ripartizione dei contributi in uscita espressi come percentuale del carico in ingresso. Al fine di rendere più leggibile il grafico e ridurre l'influenza di eventuali errori di misura in figura 5.17 per il giorno t sono mostrate le ripartizioni mediate tra il giorno $t-1$ e $t+1$.

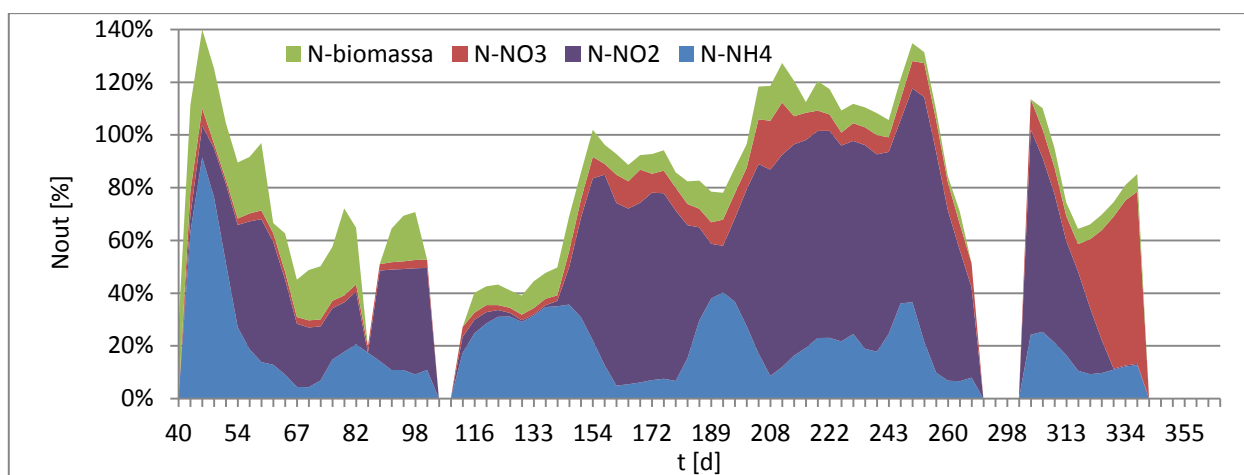


Figura 5.48 Ripartizione dell'azoto in uscita dalla colonna. Non è riportata la fase batch iniziale. Dove ci sono le interruzioni la pompa di alimentazione era fuori uso

Anche per la colonna si nota che una frazione di azoto mancante, associata allo strippaggio piuttosto rilevante. Per la colonna questa porzione è superiore rispetto a quanto visto per il raceway, questa differenza è da attribuire al pH più elevato presente nella colonna che favorisce la volatilizzazione. Si ricorda che il contributo di strippaggio è calcolato come complemento a uno rispetto all'azoto in ingresso.

Tabella 5.38 Valori medi e deviazioni standard dell'azoto suddiviso nelle diverse forme in uscita dalla colonna

fase	giorni	N_{IN} a NH_4^+ [%]		N_{IN} a NO_2^- [%]		N_{IN} a NO_3^- [%]		N_{IN} a biom [%]		N_{IN} a strip [%]	
		media	dev.st	media	dev.st	media	dev.st	media	dev.st	media	dev.st
FC0	0 - 36										
FC1	37 - 77	30%	30%	29%	15%	3%	2%	21%	6%	16%	30%
FC2	78 - 108	14%	4%	33%	9%	3%	0%	19%	5%	36%	10%
FC3	109 - 136	28%	5%	3%	2%	3%	1%	8%	1%	59%	3%
FC4	137 - 160	28%	9%	31%	31%	5%	2%	10%	1%	25%	23%
FC5	161 - 235	19%	11%	62%	20%	10%	4%	9%	2%	0%	16%
FC6	236 - 249	24%	8%	73%	4%	7%	1%	7%	0%	-11%	6%
FC7	250 - 301	15%	12%	68%	22%	11%	1%	4%	1%	2%	33%
FC8	302 - 365	15%	6%	32%	29%	31%	24%	6%	1%	16%	19%

Anche per la colonna sono presenti alcuni brevi periodi per cui la somma dei contributi che non considera lo strippaggio è superiore a 1, ciò è da attribuirsi a fasi di difficoltà della biomassa che hanno comportato il rilascio di azoto.

La ripartizione dell'azoto in ingresso utilizzata dai batteri è fortemente sbilanciata verso l'azoto nitrico per i motivi esposti nel paragrafo precedente. L'aliquota che viene catturata dalla biomassa algale è inizialmente (FC1 e FC2) molto consistente 20%, quindi circa doppia rispetto a quanto visto per il raceway, successivamente scende al 10% circa (FC3 - FC5) per poi calare ulteriormente.

Si conferma che l'attività nitrificante della colonna è stata un po' più blanda, infatti del carico di azoto in ingresso la frazione nitrificata è mediamente il $61 \pm 23\%$ per il raceway e $52 \pm 30\%$ per la colonna.

5.2.5 Analisi Assorbanza

Gli spettri di assorbimento per la colonna sono ricavati con le medesime modalità presentate per il raceway. Sono mostrati in Figura 5.49 e Figura 5.50.

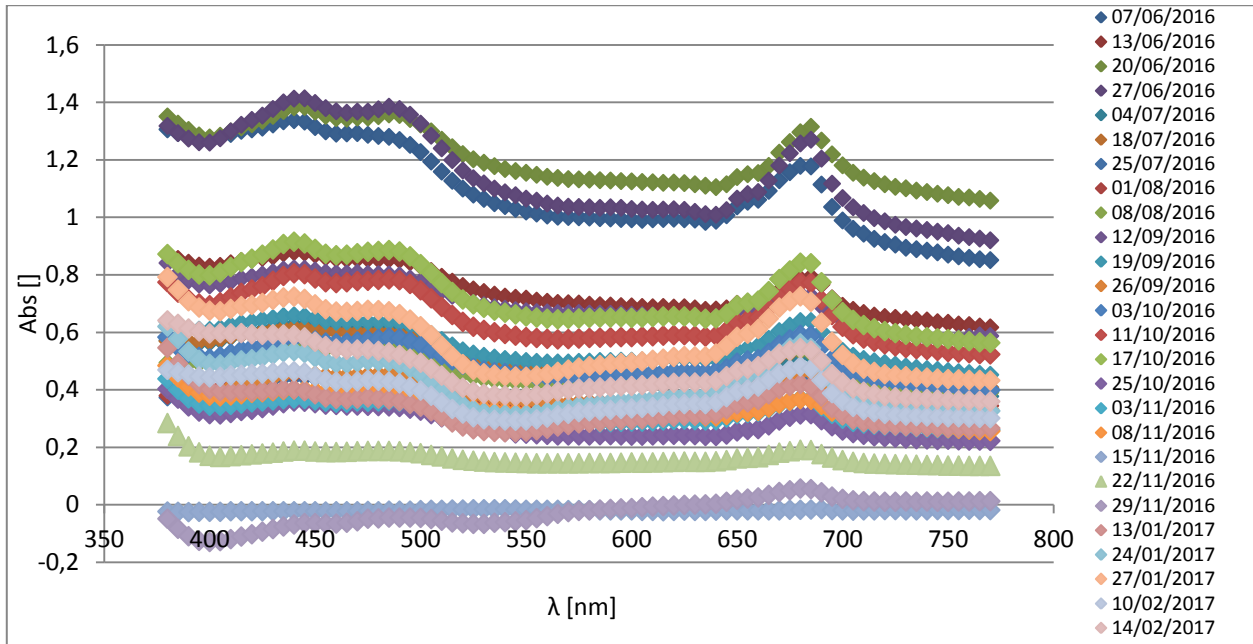


Figura 5.49 Andamento nel tempo degli spettri d'assorbimento netta della sospensione in uscita dalla colonna

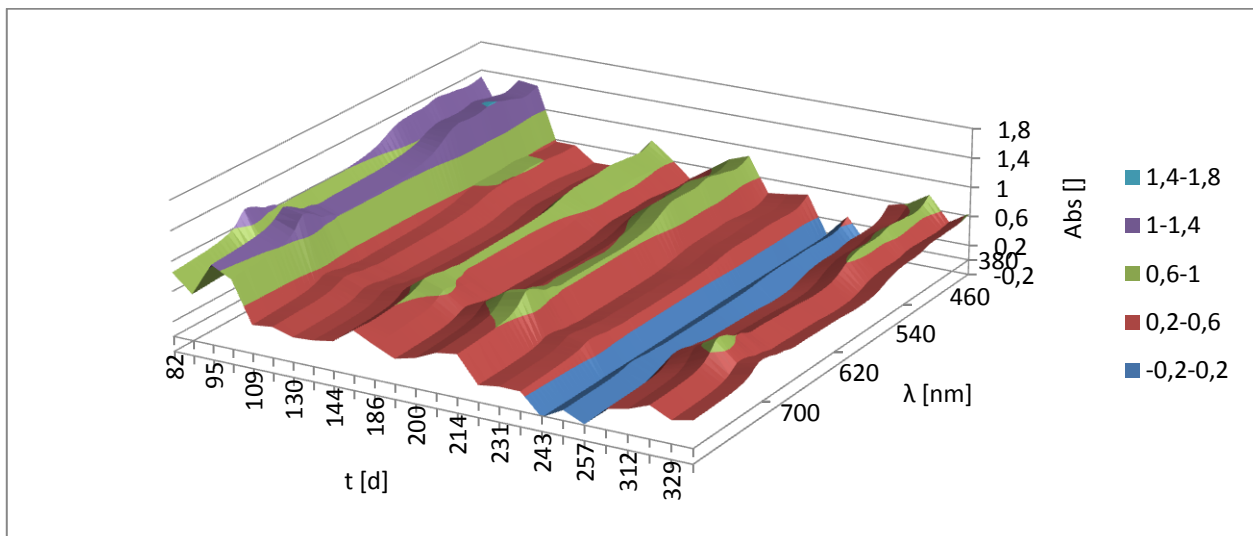


Figura 5.50 Andamento nel tempo degli spettri d'assorbimento netta della sospensione in uscita dalla colonna. I dati non comprendono FC0 e FC1.

Gli spettri d'assorbimento relativi alla colonna sono un po' più uniformi di quelli del raceway, sono presenti anche in questo caso alcuni momenti di crollo ma meno netti. Inoltre ad eccezione della fase iniziale di FC2 (07/06, 20/06 e 27/06) le assorbimenti misurate sono sensibilmente inferiori a quelle del raceway, nonostante il contenuto di solidi non sia così dissimile.

Anche gli spettri d'assorbanza della colonna per valori elevati mostrano i quattro picchi relativi a clorofilla a e b, intorno ai 680nm, due meno visibili vicino ai 420nm e ai 480nm e quello a 650nm appena percettibile.

5.2.6 Crescita della biomassa algale

La crescita della biomassa è ben rappresentata dal rateo di produzione dei solidi sospesi. Si presenta la produttività della colonna (Figura 5.51 e Tabella 5.39). Per la colonna non si prende in considerazione la produttività areale perché per questo tipo fotobioreattore normalmente si fa riferimento alla sola produttività volumetrica.

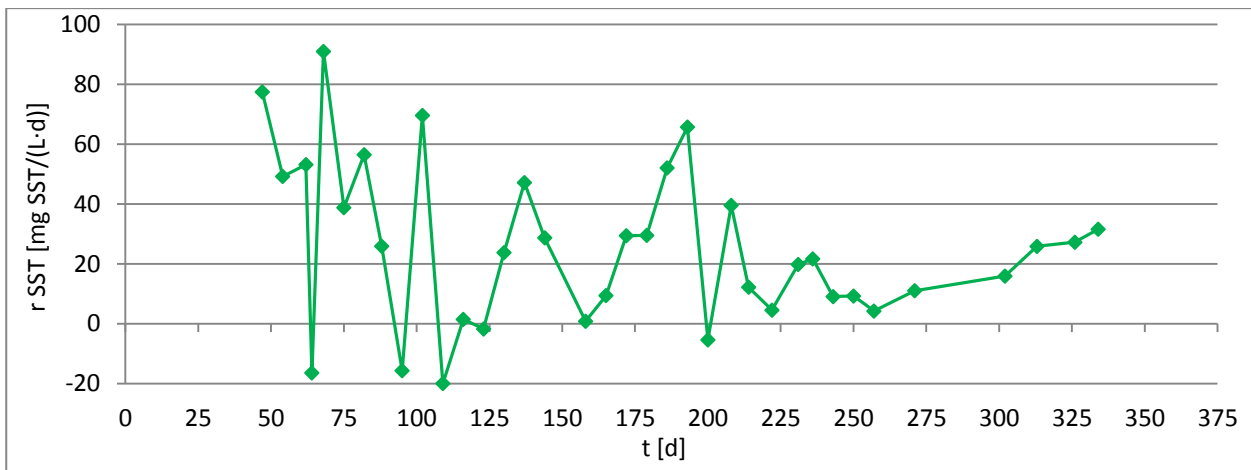


Figura 5.51 Rateo di produzione degli SST (stima della produttività algale) nel periodo di gestione della colonna

Tabella 5.39 Valori medi e deviazioni standard per il rateo di produzione di biomassa algale r nelle fasi di gestione della colonna

fase	giorni	r SST [mgSST/(L·d)]	
		media	dev.st
FC0	0 - 36		
FC1	37 - 77	48,84	37,35
FC2	78 - 108	34,05	37,89
FC3	109 - 136	0,85	17,95
FC4	137 - 160	25,54	23,33
FC5	161 - 235	25,66	22,15
FC6	236 - 249	15,34	8,92
FC7	250 - 301	8,15	3,54
FC8	302 - 365	25,11	6,62

La produttività della colonna è anche più variabile di quella del raceway (Figura 5.51 e Figura 5.30). I valori medi delle fasi sono complessivamente paragonabili, ma le fasi in cui l'attività è stata più intensa presentano produttività inferiori a quelle viste per il raceway (tabelle 5.37 e 5.17). Il paragone tra le produttività medie sull'intero arco della sperimentazione viene presentato nel paragrafo successivo in cui si raccoglie il confronto tra le prestazioni del raceway e della colonna.

5.3 Confronto

5.3.1 Confronto prestazioni

Si prendono in considerazione i principali parametri indice delle prestazioni per l'impianto.

L'obiettivo principale della sperimentazione è stato rimuovere carico di azoto dal refluo in ingresso, si mostrano le prestazioni in tal senso per raceway e colonna (Tabella 5.40).

Tabella 5.40 Media deviazione standard minimo e massimo del l'efficienza di rimozione dell'azoto totale per il Raceway e per la colonna

		media	st.dev	min	1° quartile	3°quartile	max
$\eta_{\text{RIMN RW}}$	[%]	20%	25%	-38%	7%	32%	80%
$\eta_{\text{RIMN Col}}$	[%]	22%	29%	-47%	-6%	44%	71%

Le efficienze di rimozione sono piuttosto contenute in entrambi i casi, va considerato che il rendimento di rimozione dell'azoto del raceway è stato influenzato dalle fasi FR4 e FR5, durante la prima è stato utilizzato il telo ombreggiante e durante cui la rimozione è stata particolarmente ridotta e durante la seconda il pH della coltura è piuttosto basso favorendo la nitrificazione e di conseguenza riducendo il rendimento di rimozione dell'azoto totale.

Si ricorda poi che una frazione importante dell'azoto in ingresso alla colonna è stato rimosso per strippaggio, dal bilancio di massa dell'azoto si ricava che valor medio 16% valore pressoché identico a quello che si ottiene per la colonna, ma per la colonna sono presenti circa il 30% di valori negativi (contro il 22% del raceway), ovvero nel 30% dei casi, c'è stato rilascio di azoto da parte della biomassa della colonna, ciò non esclude che ci possa essere stato ugualmente strippaggio, inoltre il valore negativo dalla frazione associata allo strippaggio bilancia i valori elevati della restante parte dei dati.

Si passa al confronto relativo alla produttività di biomassa algale (Tabella 5.41).

Tabella 5.41 Media deviazione standard minimo e massimo e 1°, 3° quartile del rateo di produzione di SST per il Raceway e per la colonna

		media	st.dev	min	max	1° quartile	3°quartile
$r_{\text{SST Raceway}}$	[mg SST/(L·d)]	29,9	33,4	-33,9	77,0	6,6	58,1
$r_{\text{SST Col}}$	[mg SST/(L·d)]	25,6	29,7	-20	91,0	7,9	41,4

Si può notare che la produttività del raceway è superiore mediamente, si prende in considerazione la produttività in condizioni mediamente buone (3° quartile), ma non per la prestazione massima. Si sottolinea poi che escludendo i dati relativi a FR4 in cui la produttività era limitata dal telo ombreggiante, il rateo medio per il raceway diventa $r(\text{RW})^*_{\text{SST}} = 33,5$ mg SST/(L·d). Prendendo in esame lo stesso orizzonte temporale per cui si è calcolato $r(\text{RW})^*_{\text{SST}}$ il rateo di crescita per la colonna diventa $r(\text{Col})^*_{\text{SST}} = 22,1$ mg SST/(L·d) (Tabella 5.42).

Tabella 5.42 Media deviazione standard minimo e massimo e 1°, 3° quartile del rateo di produzione di SST per il Raceway e per la colonna sull'orizzonte temporale 31/05/2016-25/07/2016 e 25/08/2016-15/11/2016

		media	st.dev	min	max	1° quartile	3°quartile
r(RW)*_{SST}	[mg SST/(L·d)]	33,8	34,9	-33,9	77,0	6,1	62,2
r(Col)*_{SST}	[mg SST/(L·d)]	22,1	25,8	-20,0	69,6	3,7	39,0

Si verifica che i valori medi di $r(\text{RW})^*_{\text{SST}}$ e $r(\text{Col})^*_{\text{SST}}$ sono statisticamente differenti. Per svolgere questa operazione si esegue un t-test per la differenza tra le medie dei due campioni, con l'ausilio del software Rstudio, si riportano in Appendice le righe di comando utilizzate e gli output ottenuti.

E' richiesta un'operazione preliminare, la verifica della normalità dei due campioni.

Il test di Shapiro-Wilk, per come è definito in R, ha come ipotesi nulla la non-normalità del campione. Entrambi i p-value ottenuti: 0,09308 e 0,7625 sono maggiori del livello di significatività (assunto di default $\alpha = 0,05$), ciò porta a rifiutare l'ipotesi nulla e ad accettare la normalità dei campioni.

Si esegue il t-test a due code, scegliendo come ipotesi nulla che la differenza tra le medie sia 0, e per campioni accoppiati con varianze non coincidenti.

Il p-value ottenuto 0,1318 induce a rifiutare nuovamente l'ipotesi nulla, accettando che ci sia una differenza statisticamente significativa tra le medie dei due campioni. Si può affermare con un grado di certezza del 95% che il rateo medio di crescita della biomassa nel raceway è stato differente da quello della colonna per il periodo considerato.

La migliore resa in termini di produzione di biomassa algale da parte del raceway è probabilmente da attribuire al dosaggio della CO_2 . Questa tesi può essere in parte sostenuta dal rateo di crescita della biomassa che è stato osservato durante una fase pienamente stabile in cui è venuto a mancare l'apporto di anidride carbonica. Nei giorni 132 e 136 per il raceway si era esaurita la bombola della CO_2 e in quell'occasione le produttività sono stato molto ridotto -13,4 mgSST/(L·d).

5.3.2 Confronto popolazioni algali

Le popolazioni algali (paragrafi 5.1.4.1.3 e 5.2.3.2.1) mostrano un comportamento simile. Nelle fasi in cui le temperature della coltura sono miti, appena superiori ai 20°C e sbalzi termici contenuti, prevalgono le microalghe della famiglia delle *Chlorellaceae*. Quando le temperature medie si avvicinano a 30°C e le massime vanno oltre tale soglia, sono le *Scenedesmaceae* a diventare dominanti. La sostanziale differenza tra colonna e raceway, è che in quest'ultima, nella fase finale in cui la temperatura ambientale e l'irradianza erano basse, ha mostrato un netto cambiamento nella composizione della popolazione passando ad una preponderanza della famiglia delle *Chlamydomonadales*.

6 Conclusioni

Le nozioni riguardo al trattamento di digestati con microalghe, sono abbondanti in bibliografia, ma una grande parte di esse è riguarda sperimentazione a scala di laboratorio. Recentemente l'ambito della ricerca si sta spostando sulla scala pilota, tuttavia ancora molto c'è da fare per comprendere a pieno il funzionamento di questo tipo di impianti.

La progettazione dell'impianto a scala pilota ha evidenziato che la struttura di massima di questo tipo di impianti è consolidata e non particolarmente complessa, però l'ottimizzazione delle prestazioni, anche in funzione di quale sia l'obiettivo principale (rimozione di nutrienti o crescita di biomassa algale) e l'adattamento dell'impianto alle particolari condizioni di lavoro (le condizioni meteo, la disponibilità di CO₂ o gas esausti a basso costo) non sono così assodati.

Il monitoraggio del funzionamento dell'impianto può risultare oneroso, soprattutto nell'ottica di ampliare ulteriormente la scala. Se si pensa però di ridurre la frequenza di alcune operazioni come la misura dei solidi sospesi assumendo come indice l'assorbanza, e la misura delle specie azotate nel momento in cui il processo è sufficientemente stabile, si può rendere le operazioni di monitoraggio meno dispendiose sia in termini di tempo che di costi.

La sperimentazione di campo aveva come scopo principale la verifica delle capacità di rimozione dei carichi di azoto e fosforo. Le prestazioni sia per la rimozione dell'azoto che del fosforo sono state mediamente discrete.

Per quanto riguarda la rimozione dell'azoto si può dire che la rimozione è stata influenzata dall'attività nitrificante particolarmente intensa. Controllando maggiormente le condizioni della coltura si auspica di riuscire a ridurre l'incidenza di tale processo e contemporaneamente evitare le fasi di forte crisi della biomassa che hanno causato rilascio di parte dell'azoto accumulato controbilanciando la rimozione.

L'applicabilità del processo nel contesto climatico della pianura padana è buona: il raceway ha svolto la sua attività con efficacia da maggio a novembre. La colonna è stata attiva per un anno intero seppur con l'aiuto di un piccolo sistema di riscaldamento per non fare calare troppo le temperature durante l'inverno.

Con qualche accorgimento come l'utilizzo di una serra anche rudimentale si potrebbe pensare di ampliare il periodo di attività del raceway alla quasi totalità dell'anno, riducendo allo stesso tempo l'effetto di fattori esterni come la contaminazione da parte di predatori e l'esposizione a intemperie e variazioni improvvise di temperatura.

7 Prospettive future

Si presentano alcuni spunti per il miglioramento della comprensione delle dinamiche l'affinamento della gestione dell'impianto.

Un aspetto che emerge in modo netto da questa sperimentazione, sul quale si rende necessario migliorare la comprensione, è la relazione-competizione delle microalghe con i batteri nitrificanti. Una limitazione dell'attività nitrificante sembra essere molto importante in particolar modo per la rimozione efficace dell'azoto.

Nel momento in cui dovesse risultare troppo difficoltosa la limitazione dei batteri nitrificanti, si potrebbe pensare ad attivare il processo di denitrificazione, che durante la notte, quando spesso vi è carenza di ossigeno nella sospensione, potrebbe completare il processo di trasformazione dell'azoto ammoniacale.

L'attività della popolazione algale e degli altri microrganismi presenti nella sospensione durante le ore notturne è ancora in gran parte oscura e potrebbe costituire un ambito di ricerca.

Un fattore che potrebbe essere molto rilevante ai fini dell'ottimizzazione dell'attività microalgale è la riduzione della attività di predatori diretti quali sono i rotiferi. Nell'ambito di questa sperimentazione ci si è limitati a verificarne la presenza. Sarebbe interessante predisporre delle prove di laboratorio per valutare l'influenza di questi organismi e le migliori modalità per ridurre al minimo l'attività predatoria.

Un altro aspetto che potrebbe essere oggetto di ricerca per la miglior comprensione del processo è la valutazione dell'incidenza di fattori ambientali come temperatura e irradianza in ingresso facendo in modo di poter valutare singolarmente l'effetto di ciascun fattore. In relazione con questo sviluppo è la determinazione dello spessore ottimale della coltura per ridurre al minimo le zone inattive.

Bibliografia

- [1] S. Abinandan, S. Shanthakumar, 2013, Challenges and opportunities in application of microalgae (Chlorophyta) for wastewater treatment: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 52, 123–132
- [2] Anette M. Åkerstrom, Leiv M. Mortensen, Bjørn Rusten, Hans Ragnar Gislerød, 2014, Biomass production and nutrient removal by *Chlorella* sp. as affected by sludge liquor concentration. *Journal of Environmental Management*, 144, 118-124.
- [3] Al Seadi T., 2001. Good practice in quality management of AD residues from biogas production. Report for the International Energy Agency, Task 24 Energy from Biological Conversion of Organic Waste. IEA Bioenergy and AEA Technology Environment, Oxfordshire, United Kingdom.
- [4] Richard G. Allen, Luis S. Pereira, Dirk Raes, Martin Smith, 1998, Crop evapotranspiration. FAO Irrigation and Drainage Paper No. 56.
- [5] Zouhayr Arbib, Jesús Ruiz, Pablo Álvarez-Díaz, Carmen Garrido-Pérez, Jesus Barragan, José A. Perales, 2013, Long term outdoor operation of a tubular airlift pilot photobioreactor and a high rate algal pond as tertiary treatment of urban wastewater. *Ecological Engineering* 52, 143 – 153.
- [6] Jacopo Bacenetti, Cesare Sala, Alessandra Fusi, Marco Fiala, 2016, Agricultural anaerobic digestion plants: What LCA studies pointed out and what can be done to make them more environmentally sustainable. *Applied Energy* 179, 669–686.
- [7] Quentin Béchet, Andy Shilton and Benoit Guieysse, 2016, Maximizing Productivity and Reducing Environmental Impacts of Full-Scale Algal Production through Optimization of Open Pond Depth and Hydraulic Retention Time. *Environ. Sci. Technol.*, 50 (7), pp 4102–4110.
- [8] William J. Bjornsson, Robert W. Nicol, Kathryn E. Dickinson, Patrick J. McGinn, 2013, Anaerobic digestates are useful nutrient sources for microalgae cultivation: functional coupling of energy and biomass production. *J Appl Phycol*, 25:1523–1528.
- [9] Ward Blanken, P. Richard Postma, Lenneke deWinter, René H. Wijffels, Marcel Janssen, 2016, Predicting microalgae growth. *Algal Research* 14, 28–38.
- [10] R. Blier, G. Laliberté and J. de la Noüe, 1996, Production of the Cyanobacterium *Phormidium bohneri* in Parallel with Eparation of a Dairy Anaerobic Effluent. *Process Biochemistry*, Vol. 31, No. 6, pp. 587-593.
- [11] L. Bonomo, 2014, *Trattamento delle acque reflue*. McGraw-Hill Education (Italy), S.r.l..
- [12] H.N. Chanakya, Durga Madhab Mahapatra, Sarada Ravi, V.S. Chauhan and R. Abitha, 2012, Sustainability of Large-Scale Algal Biofuel Production in India. *Journal of the Indian Institute of Science* VOL 92:1.

- [13] Rui Chen, Rong Li, Lauren Deitz, Yan Liu, R. Jan Stevenson, Wei Liao, 2012, Freshwater algal cultivation with animal waste for nutrient removal and biomass production. *biomass and bioenergy* 39, 128 - 138.
- [14] Jun Cheng, Jiao Xu, Yun Huang, Yuyou Li, Junhu Zhou, Kefa Cen, 2015, Growth optimisation of microalga mutant at high CO₂ concentration to purify undiluted anaerobic digestion effluent of swine manure. *Bioresource Technology* 177, 240–246.
- [15] David Chiaramonti, Matteo Prussi, David Casini, Mario R. Tredici, Liliana Rodolfi, Niccolò Bassi, Graziella Chini Zittelli, Paolo Bondioli, 2013, Review of energy balance in raceway ponds for microalgae cultivation: Re-thinking a traditional system is possible. *Applied Energy* 102, 101–111.
- [16] Dae-Hyun Cho, Jung-Woon Choi, Zion Kang, Byung-Hyuk Kim, Hee-Mock Oh, Hee-sik Kim and Rishiram Ramanan, 2016, Microalgal diversity fosters stable biomass productivity in open ponds treating wastewater. *Nature, Scientific reports* 7: 1979.
- [17] Choi O., Das A., Yu C.P., Hu Z., 2010. Nitrifying bacterial growth inhibition in the presence of Algae and Cyanobacteria. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 107, No. 6.
- [18] Omatoyo K Dalrymple, Trina Halfhide, Innocent Udom, Benjamin Gilles, John Wolan, Qiong Zhang and Sarina Ergas, 2013, Wastewater use in algae production for generation of renewable resources: a review and preliminary results. Dalrymple et al. *Aquatic Biosystems* 2013, 9:2.
- [19] De Godos I., Mendoza J.L., Acién F.G., Molina E., Banks C.J., Heaven S., Rogalla F., 2014a. Evaluation of carbon dioxide mass transfer in raceway reactors for microalgae culture using flue gases. *Bioresource Technology*, Vol. 153, pp. 307-314.
- [20] De Godos I., Vargas V.A., Gurmàn H.O., Soto R., García B., García P.A., Muñoz R., 2014b. Assessing carbon and nitrogen removal in a novel anoxic-anaerobic cyanobacterial-bacterial photobioreactor configuration with enhanced biomass sedimentation. *Water Research*, Vol. 61, pp. 77-85.
- [21] Luz E. de-Bashan, Manuel Moreno, Juan-Pablo Hernandez, Yoav Bashan, 2002, Removal of ammonium and phosphorus ions from synthetic wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* coimmobilized in alginate beads with the microalgae growth-promoting acterium *Azospirillum brasilense*. *Water Research* 36, 2941–2948.
- [22] Liliana Delgadillo-Mirquez, Filipa Lopes, Behnam Taidi, Dominique Pareau, 2016, Nitrogen and phosphate removal from wastewater with a mixed microalgae and bacteria culture. *Biotechnology Reports* 11, 18–26.
- [23] James M. Ebeling, Michael B. Timmons, J.J. Bisogni, 2006, Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia–nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture* 257, 346–358.

- [24] Mason Erkelens, Andrew J. Ward, Andrew S. Ball, David M. Lewis, 2014, Microalgae digestate effluent as a growth medium for *Tetraselmis* sp. in the production of biofuels. *Bioresource Technology* 167, 81–86.
- [25] European Biogas Association, 7/2015. Digestate Factsheet: the value of organic fertilisers for Europe's economy, society and environment.
- [26] Eustance E., Wray J.T., Badvipour S., Sommerfeld M.R., 2016. The effect of cultivation depth, areal density and nutrient level on lipid accumulation of *Scenedesmus acutus* in outdoor ponds. *Journal of Applied Phycology*, Vol. 28, pp. 1459-1469.
- [27] Ficara E., Marazzi F., Mezzanotte V., 2015. Le microalghe e la loro integrazione negli impianti di digestione anaerobica. *La Fabbrica della Bioenergia*.
- [28] J. Garcia , R. Mujeriego and M. Hernandez-Marinè, 2000, High rate algal pond operating strategies for urban wastewater nitrogen removal. *Journal of Applied Phycology* 12: 331–339.
- [29] L. E. Gonzalez and Y. Bashan, 2000, Increased Growth of the Microalga *Chlorella vulgaris* when Coimmobilized and Cocultured in Alginate Beads with the Plant-Growth-Promoting Bacterium *Azospirillum brasilense*. *Applied and Environmental microbiology*, p. 1527–1531.
- [30] González-Fernández, B. Molinuevo-Salces, M. C. García-González, 2010, Open and enclosed photobioreactors comparison in terms of organic matter utilization, biomass chemical profile and photosynthetic efficiency. *Ecological Engineering* 36, 1497–1501.
- [31] Alessia Guccione, Natascia Biondi, Giacomo Sampietro, Liliana Rodolfi, Niccolò Bassi and Mario R Tredici, 2014, *Chlorella* for protein and biofuels: from strain selection to outdoor cultivation in a Green Wall Panel photobioreactor. *Biotechnology for Biofuels*, 7:84.
- [32] H. Hadiyanto, Steven Elmore, Tom Van Gerven, Andrzej Stankiewicz, 2013, Hydrodynamic evaluations in high rate algae pond (HRAP) design. *Chemical Engineering Journal* 217, 231–239.
- [33] Hellinga C., Schellen A.A.J.C., Mulder J.W., van Loosdrecht M.C.M., Heijnen J.J., 1998. The SHARON process: an innovative method for nitrogen removal from ammonium-rich waste water. *Water Science & Technology*, Vol. 5, pp. 133 – 142.
- [34] D. Hernández, B. Riaño, M. Coca, M.C. García-González, 2013, Treatment of agro-industrial wastewater using microalgae–bacteria consortium combined with anaerobic digestion of the produced biomass. *Bioresource Technology* 135, 598–603.
- [35] Hodaifa, G., Martínez, M. E. and Sánchez, S. (2010), Influence of temperature on growth of *Scenedesmus obliquus* in diluted olive mill wastewater as culture medium. *Eng. Life Sci.*, 10: 257–264.
- [36] S. Hodson, E. Deery, M. Warren, M. Croft, A. Smith, 2007, Algae acquire Vitamin B12 through a symbiotic relationship with bacteria. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 146, S215–S223.

- [37] Huang W., Li B., Zhang C., Zhang Z., Lei Z., Lu B., Zhou B., 2015. Effect of algae growth on aerobic granulation and nutrients removal from synthetic wastewater by using sequencing batch reactors. *Bioresource Technology*, Vol. 179, pp. 187-192.
- [38] I. Emma Huertas, Monica Rouco, Victoria Lopez-Rodas, and Eduardo Costas, 2011, Warming will affect phytoplankton differently: evidence through a mechanistic approach. *Proc. R. Soc. B*, 278, 3534–3543.
- [39] Fan Ji, Yuguang Zhou, Aiping Pang, Li Ning, Kibet Rodgers, Ying Liu, Renjie Dong, 2015, Fed-batch cultivation of *Desmodesmus* sp. in anaerobic digestion wastewater for improved nutrient removal and biodiesel production. *Bioresource Technology* 184, 116–122.
- [40] Carlos Jimenez, Belen R. Cossio, F. Xavier Niella, 2003, Relationship between physicochemical variables and productivity in open ponds for the production of *Spirulina*: a predictive model of algal yield. *Aquaculture* 221, 331–345.
- [41] Kim D.J., Ahn D.H., Lee D.I., 2005. Effects of Free Ammonia and Dissolved Oxygen on Nitrification and Nitrite Accumulation in a Biofilm Airlift Reactor. *Korean Journal of Chemical Engineering*, Vol.22 (1), pp. 85 -90.
- [42] Kim D.J., Lee D.I., Keller J., 2006. Effect of temperature and free ammonia on nitrification and nitrite accumulation in landfill leachate and analysis of its nitrifying bacterial community by FISH. *Bioresource Technology*, Vol. 97, pp. 459-468.
- [43] Krustok I., Odlare M., Truu J., Nehrenheim E., 2016. Inhibition of nitrification in municipal wastewatertreating photobioreactors: Effect on algal growth and nutrient uptake. *Bioresource Technology*, Vol. 202, pp. 238-243.
- [44] Amit Kumar, Sarina Ergas, Xin Yuan, Ashish Sahu, Qiong Zhang, Jo Dewulf, F. Xavier Malcata and Herman van Langenhove, 2010, Enhanced CO₂ fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions. *Trends in Biotechnology* 28, 371–380.
- [45] Kumar K., Mishra S.K., Shrivastav A., Park M.S., Yang J.W., 2015, Recent trends in the mass cultivation of algae in raceway ponds. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 51; pp. 875-885.
- [46] Aditya M. Kunjapur and R. Bruce Eldridge, 2010, Photobioreactor Design for Commercial Biofuel Production from Microalgae. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2010, 49, 3516–3526.
- [47] Sing-Lai Lim, Wan-Loy Chu, Siew-Moi Phang, 2010, Use of *Chlorella vulgaris* for bioremediation of textile wastewater. *Bioresource Technology* 101, 7314–7322.
- [48] Lukehurst C., Frost P., Al Sadi T., 2010. Utilisation of digestate from biogas plants as biofertiliser. *IEA Bioenergy*.
- [49] Marcihac C., Sialve B., Pourcher A.M., Ziebal C., Bernet N., Béline F., 2015. Control of nitrogen behaviour by phosphate concentration during microalgal-bacterial cultivation using digestate. *Bioresource Technology*, Vol. 175, pp. 224-230.

- [50] Mata T.M., Martins A.A., Caetano N.S., 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 14, pp. 217-232.
- [51] Denis P. Maxwell, Stefan Falk, Charles C. Trick, and Norman P. A. Huner, 1994, Growth at Low Temperature Mimics High-Light Acclimation in *Chlorella vulgaris*. *Plant Physiol.* 105: 535-543.
- [52] Patrick J. McGinn, Kathryn E. Dickinson, Kyoung C. Park, Crystal G. Whitney, Scott P. MacQuarrie, Frank J. Black, Jean-Claude Frigon, Serge R. Guiot, Stephen J.B. O'Leary, 2012, Assessment of the bioenergy and bioremediation potentials of the microalga *Scenedesmus* sp. AMDD cultivated in municipal wastewater effluent in batch and continuous mode. *Algal Research* 1, 155–165.
- [53] Mendoza J.L., Granados M.R., De Godos I., Acien F.G., Molina E., Heaven S., Banks C.J., 2013a, Oxygen transfer end evolution in microalgal culture in open raceways. *Bioresource Technology*, Vol. 37, pp. 188-195.
- [54] Mendoza J.L., Granados M.R., De Godos I., Acien F.G., Molina E., Banks C.J., Heaven S., 2013b. Fluid dynamics characterization of real-scale raceway reactors for microalgae production. *Biomass and Bioenergy*, Vol. 54, pp. 267-275.
- [55] M. P. Mezzari, M.L.B. da Silva, A. Viancelli, A.M.G. Ibelli, A. Kunz, H.M. Soares, 2013. Bacteria-microalgae interactions during nitrification/denitrification processes in a photobioreactor treating swine wastewater. III Simpósio Internacional Sobre Gerenciamento De Resíduos Agropecuária e Agroindustriais.
- [56] Moheimani N.R, Borowitzka M.A., 2007. Limits to productivity of the Alga *Pleurochrysis carterae* (Haptophyta) grown in outdoor raceway ponds. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 96, No. 1.
- [57] E. Molina Grima, F.G. Acien Fernandez, F. Garcia Camacho, Yusuf Chisti, 1999, Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup. *Journal of Biotechnology* 70, 231–247.
- [58] F. Monlau, Sambusiti, E. Ficara, A. Aboulkas, A. Barakata and H. Carrered, 2015, New opportunities for agricultural digestate valorization: current situation and perspectives. *Energy Environ. Sci.*, 8, 2600-2621.
- [59] Morweiser M., Kruse O., Hankamer B., Posten C., 2010, Developments and perspectives of photobioreactors for biofuel production. *Applied Microbiology and Biotechnology* (2010) 87: 1291-1301.
- [60] Jean-Luc Mouget, Azzeddine Dakhama, Marc C. Lavoie, Joel de la Noüe, 1995 Algal growth enhancement by bacteria: Is consumption of photosynthetic oxygen involved? *FEMS Microbiology Ecology* 18, 35-44.
- [61] Muñoz and Guieysse, 2006. Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review. *Water research*, Vol. 40, pp. 2799-2815.

- [62] Roger Nkoa, 2014, Agricultural benefits and environmental risks of soil fertilization with anaerobic digestates: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, Springer Verlag/EDP Sciences/INRA, 34 (2), pp.473-492.
- [63] NORSOK STANDARD P-001 Edition 5, Sep. 2006
- [64] E.J. Olguin, B. Hernandez, A. Araus, R. Camacho, R. Gonzalez, M.E. Ramirez, S. Galicia and G. Mercado, 1994, Simultaneous high-biomass protein production and nutrient removal using *Spirulina maxima* in sea water supplemented with anaerobic effluents. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 10, 576-578.
- [65] Park J.B.K., Craggs R.J., Shilton A.N., 2011. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresource Technology*, Vol. 102, pp. 35-42.
- [66] Pawlowski A., Mendoza J.L., Guzman J.L., Berenguel M., Ación F.G., Dormido S., 2014. Effective utilization of flue gases in raceway reactor with event-based pH control for microalgae culture. *Bioresource Technology*, Vol. 170, pp. 1-9.
- [67] J. Pruvost, B. Le Gouic, O. Lepine, J. Legrand, F. Le Borgne, 2016, Microalgae culture in building-integrated photobioreactors: Biomass production modelling and energetic analysis. *Chemical Engineering Journal* 284, 850–861.
- [68] Ras M., Steyer J.P., Bernard O., 2013. Temperature effect on microalgae: a crucial factor for outdoor production. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, Springer, Vol. 12 (2), pp.153-164.
- [69] Giuseppe Rodonò, Ruggero Volpes, 2011, *Fisica tecnica vol.2 Termodinamica*. Aracne Editrice.
- [70] David E. Sadava, H. Craig Heller, Gordon H. Orians, William K. Purves, David M. Hillis, 2014, *LIFE: the Science of Biology*. W H Freeman & Co.
- [71] Schievano A., Adani F., Tambone F., D'Imporzano G., Scaglia B., Genevini P., 2009. What is digestate?. *Bioresource Technology* 100, 5777–5782.
- [72] Johnathon P. Sheets, Xumeng Ge, Stephen Y. Park, Yebo Li , 2014, Effect of outdoor conditions on *Nannochloropsis salina* cultivation in artificial seawater using nutrients from anaerobic digestion effluent. *Bioresource Technology* 152, 154–161.
- [73] Shuttleworth, 2007, Putting the 'vap' into evaporation. *Hydrol. Earth Sysst. Sci.*, 11(1), 210-244.
- [74] Shuwen L., Luo S., Guo R., 2013. Efficiency of CO₂ fixation by microalgae in a closed raceway pond. *Bioresource Technology*, Vol. 136, pp. 267-272.
- [75] Spolaore P., Joannis-Cassan C., Duran E., Isambert A., 2006. Commercial Applications of Microalgae – Review. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. Vol. 101, No. 2, pp. 87-96.
- [76] Suh I.S. and Lee C.G., 2003. Photobioreactor Engineering: design and performance. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, Vol. 8, pp. 313-321.

- [77] Donna L. Sutherland, Matthew H. Turnbull, Paul A. Broady, Rupert J. Craggs, 2014, Effects of two different nutrient loads on microalgal production, nutrient removal and photosynthetic efficiency in pilot-scale wastewater high rate algal ponds. *Water research* 66 53-62.
- [78] Tambone F., Genevini P., D'Imporzano G., Adani F., 2009. Assessing amendment properties of digestate by studying the organic composition and the degree of biological stability during the anaerobic digestion of the organic fraction of MSW. *Bioresource Technology*, Vol. 100, pp. 3140-3142.
- [79] Xiaobo Tan, Huaqiang Chu, Yalei Zhang, Libin Yang, Fangchao Zhao, Xuefei Zhou, 2014, *Chlorella pyrenoidosa* cultivation using anaerobic digested starch processing wastewater in an airlift circulation photobioreactor. *Bioresource Technology* 170, 538–548.
- [80] Aronne Teli, Davide Scaglione, Elena Ficara, 2014, Il trattamento del digestato. Alternative tecnologiche per la rimozione dell'azoto, la gestione e la valorizzazione del digestato. *La Fabbrica della Bioenergia*
- [81] G. Torzillo, B. Pushparaj, J. Masojidek, and A.Vonshak, 2003, Biological constrains in algal biotechnology. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 8: 338-348.
- [82] Torzillo and Chini, 2015, Tubular Photobioreactors. *Algal Biorefineries*, pp.187-212.
- [83] Uggetti E., Sialve B., Latrille E., Steyer J.P., 2014. Anaerobic digestate as substrate for microalgae culture: The role of ammonium concentration on the microalgae productivity. *Bioresource Technology*, Vol. 152, pp. 437-443.
- [84] C.U. Ugwu, H. Aoyagi, H. Uchiyama, 2008, Photobioreactors for mass cultivation of algae *Bioresource Technology* 99, 4021–4028.
- [85] Van Den Hende S., Vervaeren H., Boon N., 2012. Flue gas compounds and microalgae: (bio-) chemical interactions leading biotechnological opportunities. *Biotechnology Advances*, Vol. 30, pp. 1405-1424.
- [86] Vargas G., Donoso-Bravo A., Vergara C., Ruiz-Filippi G., 2016. Assessment of microalgae and nitrifiers activity in a consortium in a continuous operation and the effect of oxygen depletion. *Electronic Journal of Biotechnology*, Vol. 23, pp. 63-68.
- [87] Vergara C., Muños R., Campos J.L., Seeger M., Jeison D., 2016. Influence of light intensity on bacterial nitrifying activity in algal-bacterial photobioreactors and its implications for microalgae-based wastewater treatment. *International Biodeterioration & Biodegradation*, Vol. 114, pp. 116-121.
- [88] Wang L., Li Y., Chen P., Min M., Chen Y., Zhu J., Ruan R.R., 2010. Anaerobic digested dairy manure as a nutrient supplement for cultivation of oil-rich green microalgae *Chlorella* sp.. *Bioresource Technology*, Vol. 101, pp. 2623-2628.
- [89] Wang B., Li Y., Wu N., Lan C.Q., 2008. CO₂ bio-mitigation using microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 79, pp. 707-718.

- [90] I. Woertz, A. Feffer; T. Lundquist; and Y. Nelson, 2009, Algae Grown on Dairy and Municipal Wastewater for Simultaneous Nutrient Removal and Lipid Production for Biofuel Feedstock. *J. Environ. Eng.* 2009.135:1115-1122.
- [91] Ao Xia and Jerry D. Murphy, 2016, Microalgal Cultivation in Treating Liquid Digestate from Biogas Systems. *Trends in Biotechnology*, April 2016, Vol. 34, No. 4.
- [92] Xianhai Zeng, Michael K. Danquah, Xiao Dong Chen, Yinghua Lu, 2011, Microalgae bioengineering: From CO₂ fixation to biofuel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 15, 3252– 3260.
- [93] Bao Yu Zhang, Ya Hong Geng, Zhong Kui Li, Hong Jun Hu, Ye Guang Li, 2009, Production of astaxanthin from *Haematococcus* in open pond by two-stage growth one-step process. *Aquaculture* 295, 275–281.
- [94] Yongjun Zhao, Shiqing Sun, Changwei Hu, Hui Zhang, Jie Xu, Lifeng Ping, Performance of three microalgal strains in biogas slurry purification and biogas upgrade in response to various mixed light-emitting diode light wavelengths. *Bioresource Technology* 187, 338–345.

Sitografia

- [1'] <http://botany.natur.cuni.cz>
- [2'] <http://www.photomacrography.net>
- [3'] <http://www.aban.com>
- [4'] <http://www.arpalombardia.it/siti/arpalombardia/meteo/previsionimeteo/meteolombardia/Pagine/default.aspx>
- [5'] <http://www.sunearthtools.com>
- [6'] <https://scubla.it>

Appendice

```
> shapiro.test(rRW)
```

```
Shapiro-wilk normality test
```

```
data: rRW  
W = 0.91859, p-value = 0.09308
```

```
> shapiro.test(rC)
```

```
Shapiro-wilk normality test
```

```
data: rC  
W = 0.97036, p-value = 0.7625
```

```
> t = t.test( rRW, rC, alternative = 'two.sided', mu = 0, paired = TRUE ,  
var.equal = FALSE, conf.level = 0.95)
```

```
> t
```

```
Paired t-test
```

```
data: rRW and rC  
t = 1.575, df = 19, p-value = 0.1318  
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0  
95 percent confidence interval:  
-3.857978 27.314978  
sample estimates:  
mean of the differences  
11.7285
```