

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA INDUSTRIALE

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN INGEGNERIA CHIMICA E DEI PROCESSI INDUSTRIALI

**Tesi di Laurea Magistrale in
Ingegneria Chimica e dei Processi Industriali**

**EFFETTO DEI CICLI GIORNO-NOTTE SUL FUNZIONAMENTO
DI FOTOBIOREATTORI PER LA PRODUZIONE INDUSTRIALE
DI MICROALGHE: SPERIMENTAZIONE E SIMULAZIONE**

Relatore: Prof. ALBERTO BERTUCCO

Correlatrice: Dott.ssa ELEONORA SFORZA

Laureanda: MARIAELENA BERARDI

ANNO ACCADEMICO 2012 – 2013

Indice

CAPITOLO 1 Le microalghe come fonte di biocarburanti	1
1.1. VANTAGGI E SVANTAGGI	2
1.2. SPECIE MICROALGALI	4
1.2.1. Tipologie di metabolismo	4
1.2.2. Crescita delle microalghe	5
1.2.3. <i>Scenedesmus obliquus</i> : caratteristiche	6
1.3. SISTEMI DI COLTIVAZIONE	6
1.3.1. Open ponds e fotobioreattori chiusi	6
1.3.2. Fotobioreattori: operazioni in batch ed in continuo	7
1.4. OPERAZIONI DOWNSTREAM	8
1.4.1. Raccolta e concentrazione delle microalghe	9
1.4.2. Estrazione dei lipidi	9
1.4.3. Transesterificazione e produzione di biodiesel	9
1.5. ENERGIA SOLARE E CRESCITA MICROALGALE	10
1.6. SCOPO DELLA TESI	11
CAPITOLO 2 Materiali e metodi	13
2.1. SCHEMI D'IMPIANTO	13
2.1.1. Reattore batch	13
2.1.2. Reattore in continuo	14
2.1.3. Reattore in continuo con riciclo	15
2.2. LAMPADE COME FONTI LUMINOSE	16
2.3. MISURA DELLA CONCENTRAZIONE CELLULARE	16
2.3.1. Conte cellulari	16
2.3.2. Peso secco	18
2.4. ESTRAZIONE DEI LIPIDI TOTALI	18
2.4.1. Estrattore soxhlet	19
2.4.2. Evaporazione del solvente	20
CAPITOLO 3 Esperimenti in continuo	23
3.1. CON ILLUMINAZIONE COSTANTE	23
3.1.1. Intensità di 150 $\mu\text{E}/(\text{m}^2\text{s})$	23
3.1.2. Intensità di 1000 $\mu\text{E}/(\text{m}^2\text{s})$	29

3.2. CON CICLO GIORNO-NOTTE NELLE DIVERSE STAGIONI	31
3.2.1. Inverno: gennaio	32
3.2.2. Primavera: aprile	35
3.2.2.1. Operazione con riciclo	35
3.2.2.2. Operazione senza riciclo	37
3.2.3. Estate: luglio	39
3.2.4. Autunno: ottobre	41
3.2.4.1. Operazione con riciclo	41
3.2.4.2. Operazione senza riciclo	43

3.3. CON ILLUMINAZIONE PULSATA: 10 Hz	45
---------------------------------------	----

CAPITOLO 4 Modellazione del PBR 48

4.1. MODELLO DI CORNET	48
4.1.1. Distribuzione della luce	48
4.1.1.1. Illuminazione costante	48
4.1.1.2. Illuminazione simulata nelle diverse stagioni	49
4.1.2. Cinetica di crescita: fotosintesi e mantenimento	49
4.2. PARAMETRI DEL MODELLO	51
4.2.1. Coefficienti di assorbimento, <i>scattering</i> e <i>back scattering</i> : E_a , bE_s	52
4.2.2. Massima conversione energetica per la conversione dei fotoni: ρ_m	52
4.2.3. Costante di saturazione per la fotosintesi: K	52
4.2.4. Resa quantica per lo schema-Z della fotosintesi: Φ	52
4.2.5. Mantenimento: μ_e	53
4.3. PRODUTTIVITA' MASSIMA	53
4.3.1. Energia solare totale: E_{sun}	55
4.3.2. Frazione fotosintetica dello spettro: %PAR	55
4.3.3. Energia posseduta da un fotone: E_{fot}	55
4.3.4. Calore di combustione del carboidrato: E_{carb}	55
4.3.5. <i>Quantum requirement</i> : QR	56
4.3.6. Calore di combustione della biomassa: E_{biom}	56
4.3.7. %PAR massima convertibile in biomassa: %PAR _{max}	56
4.4. PRODUTTIVITA' REALE	56
4.4.1. Efficienza di trasmissione dei fotoni: η_{tf}	57
4.4.2. Efficienza di utilizzo dei fotoni: η_{uf}	57
4.4.3. Efficienza di accumulo della biomassa: η_{ab}	57
4.5. EFFICIENZA FOTOSINTETICA	59
4.5.1. Entalpia di formazione <i>S. obliquus</i> : ΔH°_f	59

CAPITOLO 5 Risultati e discussione	63
5.1 . RISULTATI SPERIMENTALI A CONFRONTO	63
5.1.1. Illuminazione costante	63
5.1.2. Illuminazione giorno-notte nelle diverse stagioni	66
5.1.3. Illuminazione pulsata a 10 Hz	70
5.2 SIMULAZIONI	72
5.2.1. Con illuminazione costante	72
5.2.1.1. Programmi di calcolo	72
5.2.1.2. Risultati	73
5.2.2. Con illuminazione giorno-notte nelle diverse stagioni	77
5.2.2.1. Programmi di calcolo	77
5.2.2.2. Risultati	78
CONCLUSIONI	83
NOMENCLATURA	85
BIBLIOGRAFIA	89

Riassunto

In questa tesi si è affrontato il tema della produzione industriale di microalghe dapprima attraverso un approccio sperimentale e, successivamente, con la messa a punto di un modello di simulazione del fotobioreattore. Il reattore realizzato in scala di laboratorio è di tipo *flat-plate* ed ha operato in modalità continua, con riciclo e senza riciclo.

Attraverso gli esperimenti, è stato valutato l'effetto di diverse intensità luminose in regime di illuminazione costante sulla crescita di *Scenedesmus obliquus*. Sono state misurate le prestazioni in termini di produttività ed efficienza di conversione dell'energia luminosa in energia chimica sotto forma di biomassa. Fulcro di questo lavoro di tesi, però, è stata la valutazione dell'influenza dell'alternarsi di cicli giorno-notte sul funzionamento del reattore. Attraverso un lampada a led ed un controller programmabile si sono simulate le intensità luminose che incidono sul territorio di Padova e che sono rappresentative delle quattro stagioni dell'anno. Infine, è stato realizzato un esperimento in luce pulsata in reattore continuo senza riciclo; in questo caso l'alternanza di cicli luce-buio è stata testata per mimare le variazioni di illuminazione dovute al mescolamento della sospensione microalgale.

I programmi di simulazione, scritti in Matlab, hanno permesso di sviluppare ed applicare un modello che, riproducendo l'attenuazione della luce lungo la profondità del reattore, fosse in grado di riprodurre la crescita cellulare nel tempo. I parametri del modello (coefficiente di assorbimento, coefficiente di *back scattering* e costante di mantenimento) sono stati correlati in regimi di illuminazione costante e di cicli giorno-notte nelle diverse stagioni.

Capitolo 1

Le microalghe come fonte di biocarburanti

Negli ultimi decenni la costante richiesta di energia, l'irreversibile esaurimento di fonti di combustibili fossili, l'insostenibilità ambientale legata all'impiego di combustibili tradizionali, hanno portato ad una crisi energetica globale (*Amaro et al., 2011*). Il settore energetico, dei trasporti e dell'agricoltura costituiscono le principali fonti di emissione di gas serra (GHG), toccando, in Europa, valori percentuali rispettivamente del 60%, 20% e 9%. Con la crescita di nuove potenze economiche, come l'India e la Cina, il consumo di energia e l'inquinamento globale è destinato ad aumentare notevolmente nel giro di poco tempo.

A fronte di tale problema, nel corso degli anni l'attenzione mondiale si è focalizzata sullo studio e sull'utilizzo di fonti energetiche alternative. Particolare interesse è stato rivolto ai biocarburanti, derivanti da biomassa di origine forestale o agricola. A differenza delle fonti energetiche rinnovabili derivanti da energia solare, geotermica, marina ed eolica, i biocarburanti permettono una risoluzione dei problemi sopra citati, seppur non totale, a breve termine (*Mata et al., 2009*).

E' possibile suddividere i biocarburanti in tre gruppi, distinguendoli in biocarburanti di prima, seconda e terza generazione (*Brennan e Owende, 2010*).

I biocarburanti di prima generazione derivano da colture alimentari, quali canna da zucchero, barbabietole, mais e olio di palma, oppure da grassi animali. Pur avendo raggiunto livelli di produzione abbastanza economici, essi soffrono di alcuni limiti fondamentali, primo fra tutti quello della competizione nell'uso della terra destinata a coltivazioni alimentari e di fibre. Nelle regioni economicamente più vulnerabili, infatti, il loro impatto sul mercato alimentare è oggetto di forte dibattito in quanto può divenire causa di un eccessivo incremento del prezzo del cibo portando a conseguenze sociali gravi e rilevanti. A tale limite si aggiungono gli ostacoli causati dalle strutture dei mercati locali, l'elevato fabbisogno di fertilizzanti oltre che di acqua per la produzione dei biocarburanti e l'impatto negativo sul mantenimento della biodiversità.

A partire da scarti di processi alimentari ed agricoli e da masse lignocellulosiche, si producono i biocarburanti di seconda generazione. Questi però, nella maggior parte dei casi, possono garantire fette di mercato marginali.

Infine la terza generazione di biocarburanti è ottenuta a partire dalle microalghe, organismi fotosintetici capaci non solo di crescere rapidamente purché siano disponibili la luce e semplici nutrienti quali anidride carbonica, ma anche di sintetizzare grandi quantità di lipidi, proteine e carboidrati in tempo relativamente breve.

Nel corso del capitolo verranno descritti i vantaggi e gli svantaggi nell'utilizzo delle microalghe come fonte di biocarburante, le diverse specie microalgali esistenti e le loro differenze, i sistemi di coltivazione e il processo attraverso il quale è possibile ottenere il biocarburante di maggiore interesse, ovvero il biodiesel.

1.1 Vantaggi e svantaggi

Le microalghe sono microorganismi fotosintetici, procariotici o eucariotici, presenti sia nell'ecosistema acquatico, sia in quello terrestre e quindi capaci di vivere in condizioni ambientali ben diverse tra loro. Attualmente si stima l'esistenza di circa 50 mila specie microalgali, ma solo il 60% di queste è stata studiata e analizzata (Mata et al., 2010).

Il motivo principale per cui l'interesse mondiale negli ultimi anni si è concentrato sulle microalghe è legato alle elevate rese in olio che esse possono raggiungere.

Tabella 1.1 Confronto tra microalghe e altre materie prime per la produzione di biodiesel (Mata et al., 2010).

Materia prima	Contenuto di olio [%]	Resa in olio [$L_{\text{olio}} \text{ ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$]	Area necessaria [$\text{m}^2 \text{ y kg}^{-1}_{\text{biodiesel}}$]	Produttività di biodiesel [$\text{kg}_{\text{biodiesel}} \text{ ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$]
Mais	44	172	66	152
Canapa	33	363	31	321
Soia	18	636	18	562
Colza	41	974	12	862
Girasole	40	1070	11	946
Olio di palma	36	5366	2	4747
Microalghe	30	58700	0,2	51927
Microalghe	50	97800	0,1	86515
Microalghe	70	136900	0,1	121104

Come si evince dalla Tabella 1.1, le microalghe, rispetto ad altre piante utilizzate come materie prime per la produzione di biodiesel, presentano alte rese in olio, e quindi in biodiesel, potenzialmente molto elevate. Infine, non del tutto trascurabile, è l'area necessaria

alla coltivazione delle diverse materie prime: le microalghe richiedono spazi territoriali nettamente inferiori rispetto alle piante superiori.

Ai notevoli vantaggi sopra descritti, si aggiunge che (Mata et al.,2010):

- esse possono crescere anche in acque di scarico o non idonee all'uso da parte dell'uomo e in territori non sfruttabili per l'agricoltura;
- si riproducono attraverso il processo di fotosintesi e crescono utilizzando la luce solare e semplici nutrienti. La crescita può essere poi accelerata aggiungendo specifici nutrienti e un sistema di aerazione;
- il biodiesel da microalghe non contiene zolfo e le emissioni di particolato (CO, idrocarburi, SO_x) sono ridotte rispetto al biodiesel tradizionale;
- utilizzando la CO₂ come nutriente, i fotobioreattori per la crescita di microalghe possono essere utilizzati a valle di un processo industriale per ridurre le emissioni di GHG;
- possono accumulare lipidi, carboidrati e proteine; dai lipidi attraverso transesterificazione si ottiene biodiesel, mediante fermentazione i carboidrati possono essere convertiti in etanolo e tutti e tre, con un processo di digestione anaerobica, vengono trasportati in metano (Ghasemi et al., 2011);
- la biomassa microalgale solida restante può essere utilizzata per generare calore, vapore ed elettricità (Ghasemi et al., 2011).

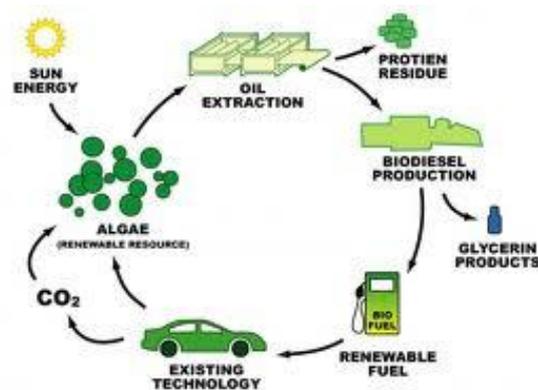


Figura 1.1 Schematizzazione dei prodotti ottenibili dalle microalghe, loro impiego e risorse sfruttabili dalle microalghe.

In Figura 1.1 si riporta schematicamente e ciclicamente quali sono le fonti di crescita e produzione di biomassa per le microalghe (energia solare come risorsa diretta e CO₂ dai fumi di scarico), quali sono il prodotto secondario (glicerina) e quello primario (biodiesel) che si ottengono per transesterificazione dell'olio estratto dalle stesse, e l'utilizzo finale del biodiesel (biocarburante per mezzi di trasporto).

A fronte dei numerosi vantaggi, la realizzazione di impianti su scala industriale, è affetta da molti limiti legati a problemi di base non ancora risolti, come:

- le efficienze fotosintetiche basse, se si impiegano le tecnologie attualmente disponibili;
- il pompaggio di acqua, l'aggiunta di nutrienti e i processi di separazione ed estrazione dell'olio, su scala industriale, si aggiungono al costo energetico totale dell'impianto, dando origine ad un valore negativo del bilancio globale di energia;
- è difficile scegliere la specie microalgale più adatta per bilanciare la produzione di biocarburanti e co-prodotti.

1.2 Specie microalgali

La scelta della specie microalgale più adatta alla produzione di biodiesel non è immediata; il contenuto di olio, la velocità di crescita, la tipologia di nutrienti richiesti, la resistenza a cambiamenti delle condizioni ambientali, i tipi di metabolismo e la facilità di essere impiegati in processi industriali sono tra i principali fattori guida nella scelta della specie migliore (Amaro *et al.*, 2011).

La modificazione genetica dei microorganismi potrebbe essere una soluzione al problema della scelta della specie; si sta lavorando in tal senso con l'obiettivo di modificare la microalga a favore della produttività, del contenuto lipidico finale, ma anche del processo. Per una serie di questioni e obblighi etico-legislativi, a causa di dispendio eccessivo in termini di tempo e di costi, però, la manipolazione genetica dei ceppi non è al momento attuabile (Mata *et al.*, 2010).

1.2.1 Tipologie di metabolismo

I principali metabolismi attraverso i quali è possibile suddividere e descrivere le specie microalgali sono tre (Amaro *et al.*, 2011):

- fototrofico: l'energia solare e il carbonio inorganico sono convertiti in energia chimica attraverso il processo di fotosintesi. Lo scale-up è semplice da realizzare e promettente in quanto le microalghe potrebbero nutrirsi della CO₂ in uscita dagli impianti industriali e convertirla in olio, assicurando un aumento del contenuto lipidico e della produttività di biomassa;
- eterotrofico: le microalghe crescono utilizzando anche carbonio organico. In tal caso la luce non è più un fattore limitante, ma la crescita avviene anche in condizioni di buio. Da queste microalghe ci si attende una maggiore produttività e una maggiore produzione di biomassa. I costi di scale-up sono bassi, ma il costo maggiore è legato al materiale di alimentazione per la fornitura di carbonio organico;

- mixotrofico: i microorganismi sono capaci di vivere in condizioni sia fototrofiche sia eterotrofiche, a seconda dalla quantità di carbonio organico e dalla luce disponibile (Ghasemi et al., 2011).

1.2.2 Crescita delle microalghe

Le microalghe crescono rapidamente se sottoposte a idonee condizioni climatiche e in presenza di un'adeguata quantità e qualità di nutrienti (Mata et al., 2010). In Figura 1.2 è raffigurata schematicamente la curva di crescita delle microalghe in colture batch suddivisa in quattro fasi essenziali:

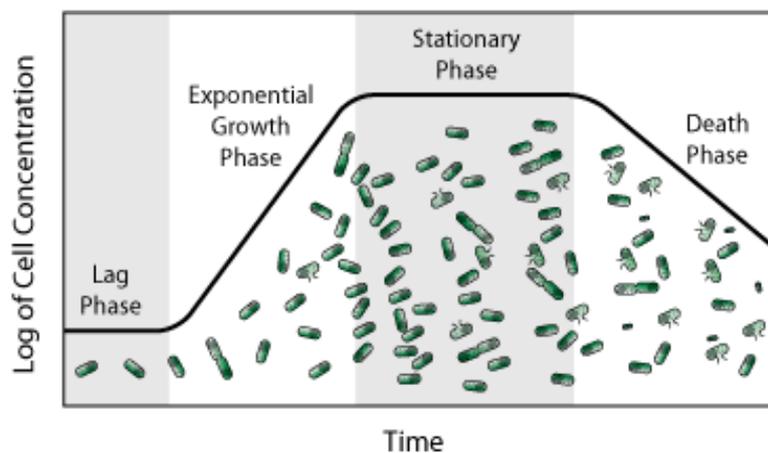


Figura 1.2 Rappresentazione schematica della crescita microalgale in colture batch.

1. fase di latenza (o fase lag): corrisponde all'adattamento da parte della microalga alle condizioni di crescita a cui è sottoposta. Durante questa fase, nonostante la crescita sia ridotta, il consumo dei nutrienti è elevato;
2. fase esponenziale: dopo aver superato la fase di adattamento, le cellule iniziano a moltiplicarsi e a crescere in maniera esponenziale;
3. fase stazionaria: man mano che la disponibilità di nutrienti si riduce, la crescita diminuisce stabilizzandosi (condizione di stazionarietà);
4. fase di morte cellulare: una volta consumati tutti i nutrienti, inizia la morte delle cellule e la concentrazione cellulare decresce velocemente.

I fattori che influenzano e limitano la crescita delle microalghe sono molti e si distinguono essenzialmente in fattori abiotici (intensità luminosa, temperatura, concentrazione dei nutrienti, CO₂, pH, salinità) e fattori biotici (batteri, funghi, virus). Il controllo dei fattori abiotici e biotici è fondamentale se l'obiettivo finale è massimizzare la produzione di biodiesel.

1.2.3 *Scenedesmus obliquus*: caratteristiche

Scenedesmus obliquus 276-7 (*Sammlung von Algenkulturen, Universität Göttingen*) è la microalga scelta per condurre le attività sperimentali svolte in questo lavoro di tesi.

È un'alga verde che cresce in maniera ottimale in acqua dolce e pulita (stagno, lago, fiume), principalmente in Europa ed in Asia. La caratteristica principale ed interessante è la sua consistente capacità di accumulare lipidi e di produrne anche in condizioni in cui è sottoposta a stress.

In Figura 1.3 si riporta una fotografia scattata al microscopio ottico; si può osservare che le cellule di *S. obliquus* presentano generalmente forma ellittica affusolata e crescono, in funzione principalmente del mezzo di coltura, a singole cellule oppure in gruppi di cellule. Il mezzo di coltura utilizzato per *S. obliquus* è il BG11, il quale contiene tutti i micronutrienti necessari per lo svolgimento delle funzioni fisiologiche e di crescita.



Figura 1.3 Fotografia a microscopio ottico di *S. obliquus*.

1.3 Sistemi di coltivazione

La coltivazione delle microalghe può essere condotta sia in sistemi aperti (*open ponds*) sia in sistemi chiusi altamente controllati chiamati fotobioreattori (PBR). La scelta del sistema più adatto influenza il successo a meno di un processo industriale impiegato per la produzione di biodiesel da microalghe.

1.3.1 *Open ponds e fotobioreattori chiusi*

I sistemi aperti, come laghi e stagni, richiedono grandi aree di coltivazione. Nonostante la semplice operabilità e i bassi costi di realizzazione e di consumo di energia, la contaminazione è difficilmente controllabile in questi reattori, così come risulta ugualmente difficile mantenerne stabili le condizioni ambientali.

A fronte di tali inconvenienti, nel tempo ci si è concentrati sulla realizzazione di sistemi chiusi, facilmente controllabili e attraverso i quali è possibile ottenere produttività in

biomassa più elevate migliorando il cammino della luce, che incide sulla superficie del reattore, lungo la sua profondità. Le configurazioni verticali, sia piatte che tubolari, sono quelle maggiormente utilizzate nei laboratori e negli impianti pilota; lo scale-up, però, è il punto debole e limitante per questo tipo di sistemi.

In Tabella 1.2 è riportato un confronto dettagliato tra i due sistemi di coltivazione analizzando aspetti biologici, operativi, ma anche economici, e con riferimento ad applicazioni su larga scala.

Tabella 1.2 *Confronto tra sistemi aperti e sistemi chiusi su larga scala per la coltivazione di microalghe (Mata et al., 2010).*

Parametro	Sistemi chiusi (PBRs)	Sistemi aperti (Ponds)
Controllo della contaminazione	Facile	Difficile
Rischio di contaminazione	Ridotto	Elevato
Sterilità	Realizzabile	Non realizzabile
Controllo del processo	Facile	Difficile
Mixing	Uniforme	Povero
Regime operativo	Batch/semi-continuo	Batch/semi-continuo
Rapporto Area/Volume	Alto (20÷200 m ⁻¹)	Basso (5÷10 m ⁻¹)
Densità cellulare	Alta	Bassa
Investimenti	Elevati	Bassi
Costi operativi	Alti	Bassi
Efficienza nell'utilizzo della luce	Alta	Bassa
Controllo della temperatura	Più uniforme	Difficile
Produttività	3÷5 volte maggiore	Bassa
Evaporazione del mezzo di coltura	Bassa	Alta
Controllo del trasferimento di gas	Alto	Basso
Concentrazione biomassa	3÷5 volte maggiore	Bassa
Scale-up	Difficile	Difficile

Si noti, in definitiva, come i sistemi di coltivazione aperti siano di facile realizzazione, ma difficilmente controllabili e poco produttivi in biomassa rispetto i PBRs; al contrario, realizzare sistemi chiusi richiede notevoli costi sia di realizzazione che di operazione.

1.3.2 Fotobioreattori: operazioni in batch ed in continuo

La maggior parte degli studi svolti nei laboratori vengono condotti in modalità batch. Questi sono sistemi semplici da realizzare, e permettono di raggiungere concentrazioni cellulari

elevate e in tempi brevi. I PBRs in continuo, di contro, presentano maggiori vantaggi (*Mata et al., 2010*):

- il grado di controllo del sistema è più elevato;
- la velocità di crescita cellulare la può essere regolata e mantenuta anche per periodi temporali più estesi;
- un'attenta variazione del grado di diluizione del sistema di coltivazione comporta un controllo diretto sulla concentrazione della biomassa;
- esperimenti condotti per lunghi periodi hanno dimostrato che la produzione di microalghe è molto più alta (*Sauli et al., 2012*);
- in continuo si possono analizzare nuovi sistemi per una possibile realizzazione su scala reale. Infatti si è osservato che modalità continue potrebbero ridurre i costi di produzione del 40% (*Sauli et al., 2012*).

Nonostante ciò, il *wash-out* è uno dei pericoli maggiori e incombenti sui sistemi in continuo. Con *wash-out* si definisce la totale fuoriuscita di biomassa dal sistema, che può verificarsi nel caso in cui la velocità di estrazione di biomassa o è maggiore di quella di alimentazione dei micronutrienti, oppure è maggiore della velocità di produzione di biomassa all'interno del fotobioreattore.

1.4 Operazioni downstream

Il biodiesel si ottiene attraverso un processo di transesterificazione dei lipidi contenuti nella biomassa cellulare, inizialmente presente come sospensione acquosa molto diluita.

In Figura 1.4 sono riportate le fasi salienti nella produzione di biodiesel da microalghe: raccolta e concentrazione della biomassa, estrazione dei lipidi e transesterificazione con conseguente produzione di biodiesel.

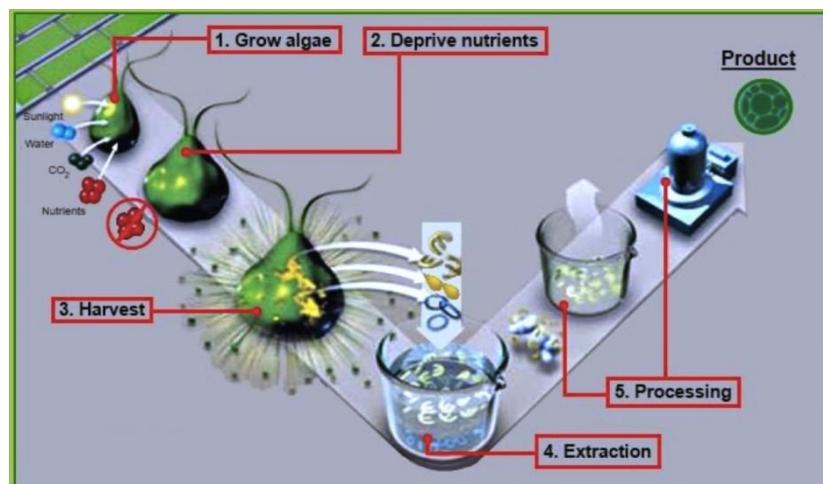


Figura 1.4 Schema di produzione di biodiesel da microalghe.

1.4.1 Raccolta e concentrazione delle microalghe

Una volta accumulati e sintetizzati i lipidi nelle cellule, si procede alla raccolta della biomassa seguita dall'estrazione dei lipidi stessi. Essendo molto diluita la soluzione di partenza, il primo step è costituito dall'eliminazione dell'acqua, con conseguente concentrazione della biomassa. Esistono diverse tecniche come la centrifugazione, la flocculazione, la filtrazione, la sedimentazione, ma tutte hanno costi d'operazione elevati. La scelta è dettata per lo più dalle proprietà della microalga in esame (dimensioni e densità) e dal prodotto finale che si desidera ottenere; al momento la flocculazione è il processo che presenta costi minori.

Un'operazione di essiccazione, infine, permette di eliminare l'acqua intracellulare presente nella biomassa.

1.4.2 Estrazione dei lipidi

Per estrarre lipidi da biomassa microalgale si utilizzano principalmente due mezzi (*Amaro et al., 2011*):

- solventi organici come esano e cloroformio; il primo è meno efficiente del secondo, ma è anche meno tossico e più selettivo verso i lipidi naturali;
- fluidi supercritici come la CO₂: è una nuova e promettente tecnologia, che ha il vantaggio di non usare un solvente tossico, di favorire il trasporto di massa tra fase liquida e fase gas e di produrre un estratto già separato dal solvente. Lo svantaggio maggiore è nel costo di funzionamento (si opera a pressioni elevate).

1.4.3 Transesterificazione e produzione di biodiesel

Il biodiesel si ottiene attraverso un processo di transesterificazione, attraverso cui i trigliceridi (oli estratti dalle microalghe) sono trasformati in glicerina e acidi grassi (biodiesel). Una schematizzazione delle reazioni, dei reagenti e dei prodotti principali si riporta in Figura 1.5.

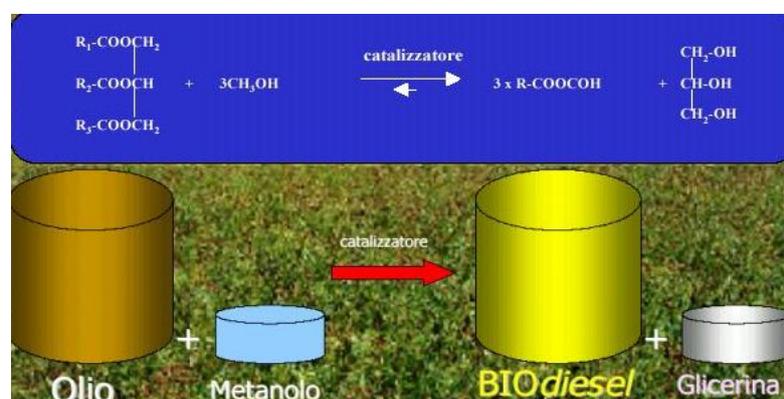


Figura 1.5 Schema della reazione di transesterificazione.

1.5 Energia solare e crescita microalgale

L'energia solare è la fonte primaria di energia sulla Terra. La quantità di energia luminosa che giunge per ogni unità di tempo su ogni unità di superficie esposta direttamente alla radiazione solare è approssimativamente di $1,4 \text{ kW m}^{-2}$. Tuttavia, poiché la luce solare subisce un'attenuazione nell'attraversare l'atmosfera terrestre, alla superficie del nostro pianeta il valore scende a circa $1,0 \text{ kW m}^{-2}$.

La fusione nucleare che avviene all'interno del sole, trasforma la materia in energia; quest'ultima viene emessa nello spazio sotto forma di radiazione elettromagnetica, mantenendo le proprietà sia di un'onda che di una particella. In Figura 1.6 si riporta l'intero spettro elettromagnetico suddiviso in zone.

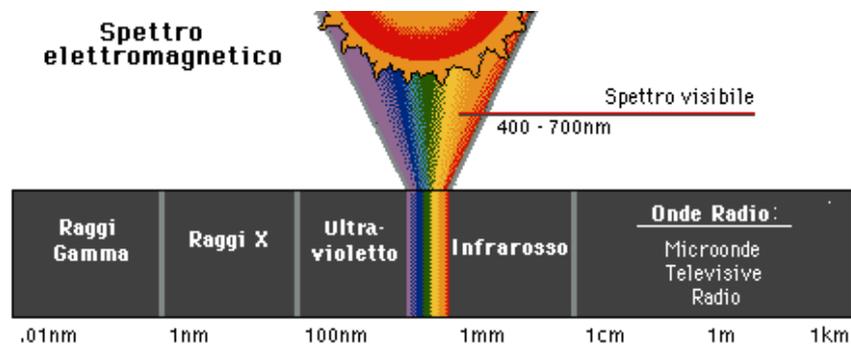


Figura 1.6 Spettro elettromagnetico.

Dell'intero spettro, l'occhio umano è capace di captare solo onde comprese nella zona del visibile, ossia tra i 400 e i 700 nm.

Le alghe possiedono sistemi attraverso i quali captano la luce, selezionando le lunghezze d'onda utilizzabili, all'interno dello spettro visibile, e innescano i processi di reazioni fisico-chimiche; la trasformazione fotosintetica è il processo alla base della fornitura di energia nelle microalghe e rappresenta la maggiore fonte energetica a disposizione per il supporto del metabolismo.

Le radiazioni, tuttavia, possono anche essere dannose se in eccesso perché, provocando l'ossidazione dei fotosistemi, ne fanno cessare l'attività di conversione fotochimica dell'energia. Si può quindi parlare di un valore limite di illuminazione, oltre il quale il processo fotosintetico rallenta e si manifesta un fenomeno chiamato fotoinibizione, la cui riparazione è dispendiosa dal punto di vista energetico, tanto da influenzare, anche pesantemente, la produttività di biomassa. Al contrario, se la quantità di illuminazione è saturante, le microalghe riducono il danno ossidativo innescando un processo di dissipazione dell'energia in eccesso. Ad ogni modo, sia la riparazione del danno ai fotosistemi sia la dissipazione dell'energia, riducono l'efficienza di utilizzo della luce e, conseguentemente, la

produttività. Infatti, è la capacità di accumulo di lipidi il processo che sembra essere più pesantemente influenzato dall'irraggiamento.

1.6 Scopo della tesi

Lo scopo di questa tesi è di analizzare la produzione di *Scenedesmus obliquus* in un fotobioreattore piatto continuo, con e senza riciclo, e sviluppare un modello che simuli il comportamento della coltura microalgale all'interno del sistema a partire da dati sperimentali. Particolare attenzione è stata rivolta a come la microalga in esame risponde a un'illuminazione simulata delle quattro stagioni (inverno, primavera, estate, autunno) sul territorio di Padova, confrontando principalmente concentrazione e produttività di biomassa raggiunte, ed energia convertita in biomassa, nel corso dell'anno.

Capitolo 2

Materiali e metodi

La crescita di *S. obliquus* è stata realizzata in un fotobioreattore operante sempre in condizioni di sterilità. Gli esperimenti sono stati realizzati in continuo ed in continuo con riciclo a due intensità di luce fissa, a luce simulata nelle diverse stagioni, ed a luce pulsata. Di seguito si riporta sia uno schema del fotobioreattore e delle lampade utilizzate per le varie simulazioni, sia la descrizione dei metodi analitici applicati per la quantificazione della crescita cellulare.

2.1 Schemi d'impianto

La geometria del reattore, indicato con l'acronimo PBR, *Photobioreactor*, è stata studiata e realizzata in modo tale da avere bassa profondità ed elevata superficie di esposizione alla luce; la minimizzazione dello spessore del reattore consente di ridurre notevolmente l'effetto di *self shading* delle cellule che si manifesta a concentrazioni cellulari elevate.

I reattori sono stati posizionati in un incubatore (Frigomeccanica Andraeus) la cui temperatura interna è stata fissata a 23 °C per tutti gli esperimenti, sulla base di indicazioni di studi precedenti (Gris, 2012).

2.1.1 Reattore batch

In Figura 2.1 è riportata la geometria del reattore batch, nel quale la crescita microalgale è avvenuta senza apporto di correnti esterne.

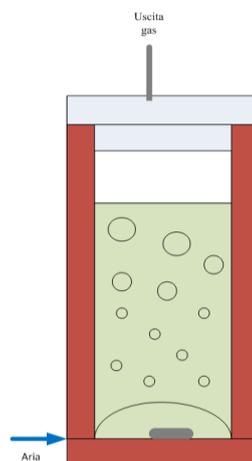


Figura 2.1 Schema di sistema batch realizzato in laboratorio.

Il reattore è costituito da una struttura a “U” in policarbonato; ad esso sono collegate, mediante viti e una guarnizione siliconica, resistente ad alte temperature, due lastre dello spessore di 2 mm, pure in policarbonato.

Le dimensioni reali e utili del reattore sono riassunte in Tabella 2.1.

Tabella 2.1 *Dimensioni del reattore utilizzato per gli esperimenti.*

Dimensione	Unità di misura	Reale	Utile
Altezza	cm	23,4	18,1
Larghezza	cm	14,5	11,5
Spessore	cm	1,2	1,2
Volume	cm ³	408,9	250
Superficie	cm ²	341	208

Il volume utile coincide con quello effettivo della coltura microalgale, 250 mL.

Alla base del PBR è inserito, mediante fori ricavati sui lati verticali della struttura a “U”, un tubo in marprene forato, del diametro di 3 cm, per insufflare una miscela di aria arricchita in CO₂ (Posten, 2009), al 5% di CO₂; tale frazione volumetrica è quella che garantisce la miglior crescita cellulare (Tang et al., 2011). Il gorgogliamento della miscela di aria provoca anche un buon mixing all’interno del sistema, migliorato da un piccolo magnete in movimento nella fase liquida per mezzo di uno *stirrer* esterno posto sotto il reattore. L’uscita del gas, infine, avviene attraverso un foro posto nella parte superiore del sistema.

2.1.2 Reattore in continuo senza riciclo

Le dimensioni e la struttura del reattore utilizzato per esperimenti in continuo sono identiche al reattore batch sopra descritto e riportate in Tabella 2.1. Ciò che differenzia un sistema continuo da un sistema batch è la presenza di un tubo in ingresso e di uno in uscita dal reattore. Si riporta una schematizzazione del sistema in Figura 2.2.

In testa al reattore sono state collegate due bottiglie, l’una contenente terreno di coltura BG11, l’altra contenente sospensione con la biomassa prodotta. L’apporto continuo di micronutrienti avviene mediante tubi, aventi diametri di 0,25 e 0,50 mm in neoprene collegati ad una pompa peristaltica (Watson Marlow Alitea da 10 o 100 rpm), mentre lo scarico di biomassa è realizzato con un tubo in PVC e del diametro di 3 cm posizionato nella parte alta del reattore con funzioni di “troppo pieno”. La bottiglia di accumulo di biomassa, a differenza di quella contenente i micronutrienti, non è sterile.

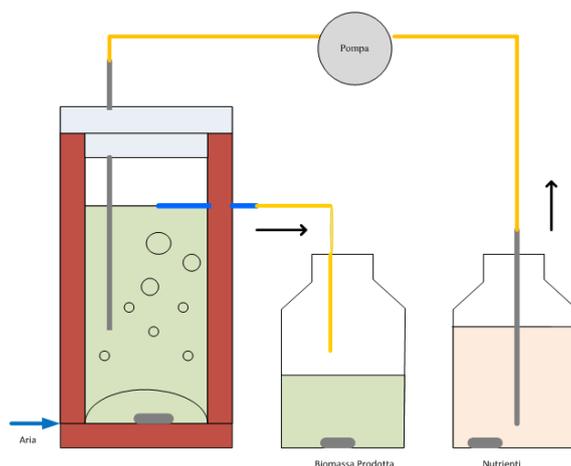


Figura 2.2 Schema di sistema continuo realizzato in laboratorio.

Per evitare un accumulo di micronutrienti e di microalghe sul fondo della bottiglia, è stato posto all'interno di essa un magnete, che aumenta il mescolamento attraverso uno *stirrer* magnetico esterno posto sotto la bottiglia.

2.1.3 Reattore in continuo con riciclo

Nel caso di sistema con riciclo, la sospensione con la biomassa prodotta, accumulata in bottiglia sterile, è stata ri-alimentata al reattore utilizzando la pompa peristaltica già in uso per l'alimentazione dei micronutrienti. La portata totale in ingresso al reattore risulta quindi per metà costituita da micronutrienti e per metà costituita da biomassa. Lo schema del sistema in continuo con riciclo è riportato in Figura 2.3.

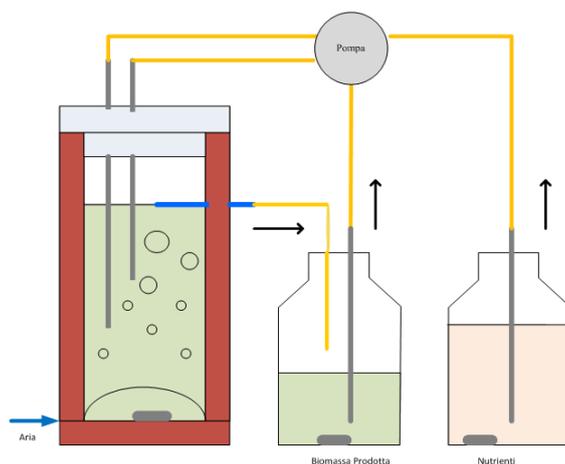


Figura 2.3 Schema di sistema continuo con riciclo realizzato in laboratorio.

Come per la bottiglia dei micronutrienti nel sistema operante in continuo, anche all'interno della bottiglia di accumulo di biomassa è stato inserito un magnete azionato da uno *stirrer* magnetico posto sotto la bottiglia.

2.2 Lampade come fonti luminose

Le fonti luminose utilizzate per gli esperimenti di crescita microalgale sono due:

- lampade neon: forniscono un'intensità luminosa massima di $200 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; sono state impiegate per esperimenti condotti a illuminazione costante di $165 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$;
- lampada led (Led Lamp SN-SL 3500-22) è alimentata da un *power supply* (Led Panel power Supply and Driver SL 3500 W-J) e consente un controllo manuale o automatico (Light Controller LC100) delle funzioni disponibili a intensità luminose anche più elevate delle lampade al neon. È stata utilizzata per un esperimento condotto a illuminazione costante di $1000 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, per gli esperimenti a illuminazione simulata delle diverse stagioni (mediante la funzione *day-night* o *sine*) e per un esperimento in luce pulsata (mediante la funzione *pulse*).

Per gli esperimenti a illuminazione costante, ed in luce pulsata, l'intensità luminosa è stata regolata modulando la distanza del reattore dalla lampada stessa; per poter simulare le diverse stagioni, invece, è stato necessario non solo regolare l'intensità luminosa della lampada, ma anche spostare il reattore in modo da ottenere dati quanto più vicini possibile alla realtà.

2.3 Misura della concentrazione cellulare

La crescita cellulare per i vari esperimenti è stata monitorata effettuando giornalmente conte cellulari al microscopio e misure di peso secco una volta raggiunto lo stato stazionario. Di seguito sono descritte in dettaglio queste due procedure.

2.3.1 Conta cellulare

Attraverso la conta cellulare è stata stimata la concentrazione cellulare di ogni campione (di solito uno al giorno) in milioni di cellule per millilitro di volume di coltura. La procedura si articola come segue:

1. si preleva un campione di soluzione microalgale di 2 mL in BD Falcon Express Pipet-Aid;
2. sul campione viene misurata l'assorbanza versandolo in una cuvetta e inserendolo all'interno dello spettrofotometro a doppio raggio UV-Visibile UV 300 della ditta Spectronic Unicam. La lunghezza d'onda utilizzata è di 750 nm, perché qui la clorofilla non assorbe fotoni, per cui l'attenuazione è unicamente dovuta alla concentrazione delle cellule. Il *range* di validità della misura di assorbanza è tra 0,1 ed 1; nel caso in cui la misura di assorbanza sia maggiore di 1, è necessaria una diluizione del campione prelevato;
3. il campione viene diluito per facilitare la risoluzione e la conta al microscopio.

4. per la conta cellulare si utilizza una camera di Burker, uno speciale vetrino rettangolare, composto da due cellette divise ciascuna in 9 quadrati, ognuno delimitato da una tripla linea. A sua volta ogni quadrato è composto da 16 quadrati più piccoli separati da una doppia linea. Durante la conta vengono contati 3 dei 9 quadrati grandi, solitamente in diagonale, sui quali si calcola una media.

La concentrazione cellulare è direttamente legata all'assorbanza, definita anche densità ottica (OD), attraverso la relazione di Lambert Beer:

$$A_{750} = \varepsilon \cdot l \cdot c \quad (2.1)$$

dove:

A_{750} = assorbanza del campione a $\lambda = 750$ nm, [adim];

ε = coefficiente di estinzione, [$\text{cm}^2/\text{cellule}$];

l = cammino ottico all'interno della cuvetta, $l = 1$ cm;

c = concentrazione cellulare, [cellule mL^{-1}].

Se si riportano in un grafico il valore di OD e la corrispondente concentrazione cellulare in milioni di cellule per millilitro, si ottiene l'andamento riportato il Figura 2.4.

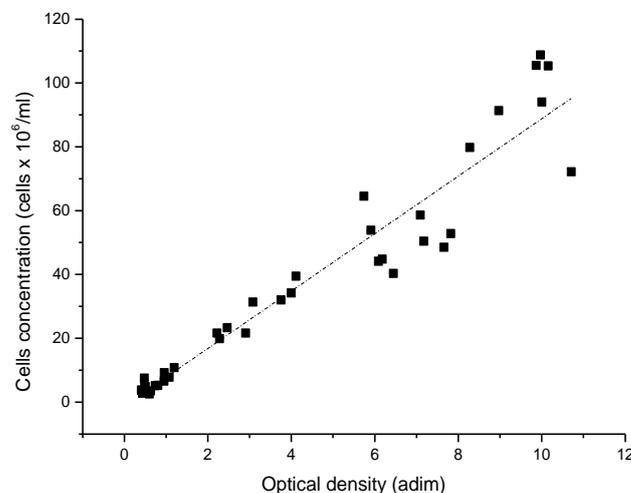


Figura 2.4 Retta di correlazione OD_{750} vs concentrazione cellulare in milioni di cellule per millilitro di coltura microalgale.

Dalla Figura 2.4 si osserva una buona linearità tra le due grandezze fino a valori di OD_{750} di 7-8 e un numero di cellule di circa 60-70 milioni di cellule per millilitro; entro tali intervalli, attraverso l'Equazione 2.2, è possibile quantificare il numero di cellule a partire dalla misura dell' OD_{750} . Oltre tale valore l'errore è elevato e risulta necessaria una conta diretta delle cellule al microscopio.

$$c = 9 \cdot 10^6 \cdot OD - 1 \cdot 10^6 \quad (2.2)$$

Il coefficiente di regressione R^2 è pari a 0,9239.

2.3.2 Peso secco

Una misura più significativa della produttività del PBR va fatta su base massiva. Si è quindi determinato il peso secco della biomassa delle microalghe, per valutare la concentrazione in $g L^{-1}$. A tale scopo, durante ogni esperimento è stata applicata un'ulteriore procedura, riportata di seguito:

1. è stato prelevato un campione di soluzione microalgale di 3÷5 mL;
2. un filtro per biomassa microalgale è stato dapprima posto in forno per circa 10 minuti a 80°C in modo da eliminarne l'umidità, poi è stato pesato utilizzando la microbilancia Atilon Acculab Sartorius Group per valutarne la tara;
3. il filtro è stato posizionato su un sistema di filtraggio, costituito da una beuta da vuoto, composta da una parte superiore in metallo a forma di imbuto, che costituisce la sede nella quale viene posizionato e fissato il filtro;
4. sul filtro è stato versato il campione di soluzione prelevato;
5. il filtro, insieme alla biomassa, è stato posto nuovamente in forno per 2 ore a 80 °C; in tal modo è stato possibile rimuovere l'acqua inter- e intra- cellulare e poter infine procedere alla misura del peso del filtro più biomassa.

Il calcolo finale di peso secco è stato effettuato secondo l'Equazione 2.3:

$$\text{Peso secco} = \frac{\text{massa (filtro + biomassa)} - \text{tara}}{\text{volume prelevato di campione}} = \left[\frac{g}{L} \right] \quad (2.3)$$

A questo punto è possibile determinare una correlazione tra numero di cellule per millilitro e peso secco. A differenza della correlazione precedente tra OD e concentrazione cellulare, però, la correlazione non è univoca, ma è caratteristica di ogni esperimento realizzato. Nel capitolo 3 verranno riportate le singole equazioni misurate per ciascun caso.

2.4 Estrazione dei lipidi totali

Per uno dei campioni (esposto a luce simulata giorno-notte del mese di ottobre), è stata effettuata una prova di estrazione dei lipidi totali. Per la procedura applicata si fa riferimento a *Gris, 2012*.

L'estrazione dei lipidi totali è stata condotta in una miscela di solventi (Cloroformio e Metanolo nel rapporto 1:2) su cellule secche sottoposte ad un trattamento combinato temperatura-pestellatura in mortaio.

La miscela è stata fatta riposare *overnight* per consentire una separazione tra le fasi guidata dalla forza di gravità. Successivamente al recupero della fase lipidica è stato tolto il solvente residuo utilizzando un evaporatore rotante e la quantità di lipidi è stata misurata per via gravimetrica.

E' necessario, prima di procedere con il protocollo, sottoporre il campione secco ad un incubazione a 80°C per almeno 2 ore, in modo da eliminare tutta l'umidità residua dalle cellule: questo passaggio è fondamentale, poiché evita possibili interferenze dell'acqua residua con la separazione di fase dei solventi.

2.4.1 Estrattore Soxhlet

L'estrattore *soxhlet* è uno strumento che permette di estrarre i lipidi da materiale solido utilizzando diversi solventi, puri o in miscela (McNichol *et al.*, 2011). Lo strumento è composto da tre parti principali: un pallone con collo a smeriglio, l'estrattore e il condensatore (Figura 2.5).

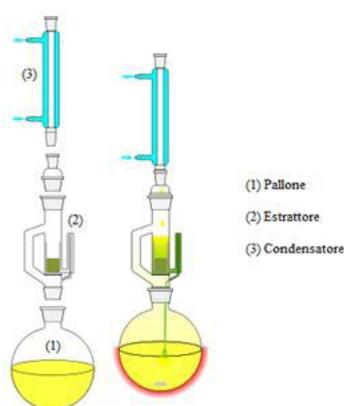


Figura 2.5 Estrattore soxhlet 40.

Il campione solido viene collocato, all'interno di un filtro a ditale in fibra di vetro permeabile ai solventi, dentro la camera di estrazione, posta nella sezione centrale dell'estrattore. L'estrattore è formato da due parti sovrapposte e separate: la parte superiore è la camera di estrazione, e una camera inferiore in continuità con il pallone.

La camera superiore è in comunicazione con la parte inferiore attraverso due condotti, uno per il passaggio del solvente, allo stato di vapore, e un sifone, per lo scarico dell'estratto.

Il pallone, che funge da ribollitore per il solvente, è immerso in un bagno termostatico di olio di silicone mantenuto in agitazione e ad una temperatura controllata, attraverso una sonda di temperatura collegata all'agitatore.

Il collo della camera superiore è collegato al condensatore, che condensa direttamente nella camera di estrazione il solvente che evapora dal pallone, innescando un continuo riciclo di solvente fresco, cioè privo di soluti.

Nella serpentina del condensatore scorre acqua di raffreddamento dal basso verso l'alto, direzione che permette di utilizzare flussi minori, a scapito di uno scambio però meno efficiente.

Dopo aver caricato il ditale contenente il campione nella camera di estrazione, si procede al riempimento della stessa con una quantità di solvente pari a circa il doppio del suo volume.

Dopo aver innescato il sifone il solvente viene raccolto nel pallone, dove viene portato ad ebollizione grazie al riscaldamento dell'olio di silicone nel quale è immerso.

Il solvente che evapora raggiunge l'estrattore, attraverso il condotto precedentemente citato, e quindi il condensatore, e condensa all'interno del ditale contenente il campione. Attraversa poi le pareti del filtro portando con sé il soluto (i lipidi); la camera di estrazione si riempie finché l'aumento di volume di estratto non innesca il sifone, consentendo all'estratto di essere recuperato nel pallone.

Da qui il solvente verrà nuovamente evaporato e si ripeterà quanto descritto in precedenza; questo metodo permette di utilizzare un volume minore di solvente rispetto ad altri estrattori in quanto il solvente stesso viene continuamente ricircolato, e ad ogni ciclo, il campione riceve sempre solvente pulito, minimizzando eventuali fenomeni di saturazione.

Prima di iniziare il processo si provvede ad isolare le varie parti dell'estrattore, per evitare una condensazione precoce del solvente.

L'estrazione viene generalmente condotta *overnight*, e successivamente si procede con l'allontanamento del solvente dalla miscela solvente-soluto attraverso il *rotavapor*.

La temperatura di esercizio dipende dal tipo di solvente utilizzato: nel caso della miscela cloroformio:metanolo si è operato intorno ai 65°C.

Per l'estrazione dei lipidi in *S. obliquus* sono state testate due miscele CHCl₃:MeOH differenti, 1:2 e 3:1.

I risultati delle estrazioni *soxhlet* sono stati confrontati ed è stata scelta la miscela che permetteva l'estrazione della maggiore quantità di lipidi.

2.4.2 Evaporazione del solvente

L'evaporatore rotante è un'apparecchiatura utilizzata per allontanare completamente i solventi da una soluzione di un composto di interesse, che opera sotto vuoto. Il *rotavapor* è costituito da 6 elementi principali:

- il pallone di evaporazione, contenente la soluzione da evaporare (lo stesso in cui viene recuperato l'estratto lipidico dall'estrattore *soxhlet*);

- un bagno termostatico, in cui viene immerso il pallone, e che viene settato ad una temperatura specifica in base alla miscela da evaporare;
- un meccanismo che consente il movimento rotatorio del pallone di evaporazione;
- un condensatore inclinato che permette la condensazione della maggior parte dei vapori generati dai solventi, costituito da una serpentina in cui viene fatta scorrere dell'acqua fredda per agevolare la condensazione;
- un pallone di recupero dei solventi condensati;
- un sistema per il mantenimento del vuoto.

Sia i palloni che il condensatore sono realizzati in vetro e tutti le connessioni tra le varie parti devono garantire una perfetta tenuta del vuoto.

L'evaporazione procede finché tutto il solvente non è stato evaporato: a questo punto sulle pareti interne del pallone si nota una patina verde che costituisce la frazione lipidica estratta dal campione.

Per la quantificazione è necessario pesare il pallone pulito utilizzato per recuperare l'estratto (generalmente prima del *soxhlet*)e, dopo l'evaporazione, pesare il pallone contenente i lipidi. Eliminando la tara del pallone, e conoscendo il peso del campione microalgale secco utilizzato per l'estrazione, è possibile determinare la percentuale lipidica della quale è composto il campione (*Bligh and Dyer, 1959*).

Capitolo 3

Esperimenti in continuo

Nel corso dell'attività di laboratorio sono state realizzate tre tipologie di esperimenti: esperimenti in continuo a illuminazione costante, esperimenti in continuo a illuminazione simulata nelle diverse stagioni e esperimenti in continuo in luce pulsata ad alta frequenza. Tutti gli esperimenti sono stati condotti in continuo: una parte di essi con riciclo e una parte senza riciclo. Di seguito sono riportati i risultati ottenuti in ciascun esperimento, nonché la loro discussione e confronto.

3.1 Con illuminazione costante

Lo scopo dei primi due esperimenti è stato di valutare il comportamento di *S.obliquus* al variare dell'intensità luminosa cui il PBR è sottoposto.

3.1.1 Intensità di $150 \mu E/(m^2 s)$

Nel corso del primo esperimento effettuato, il PBR è stato esposto a un'intensità luminosa continua pari a $150 \mu E m^{-2} s^{-1}$. Tale esperimento è stato ripetuto due volte e in tempi diversi per verificare l'attendibilità e la riproducibilità dei risultati, e confermare la correttezza delle procedure applicate. Si presentano i valori medi delle due prove e se ne riporta la deviazione. Dopo aver inoculato in un volume di 250 mL una coltura cellulare pari a 2,37 milioni di cellule per millilitro, il reattore è stato sottoposto alla fonte luminosa, ed ha lavorato in modalità batch per qualche giorno.

La fase batch del sistema è descritta dal seguente bilancio di massa:

$$\frac{dc_x}{dt} = r_{x,n} \quad (3.1)$$

dove:

c_x = concentrazione di biomassa, $[g L^{-1}]$;

$r_{x,n}$ = velocità netta di produzione di biomassa, $[g L^{-1} d^{-1}]$.

Il termine $r_{x,n}$ contiene due contributi, quello della crescita e quello del mantenimento. Da un punto di vista ingegneristico, però, l'interesse è rivolto a ottenere biomassa nella fase in cui la velocità di produzione è massima, quella esponenziale. A fronte di ciò:

$$r_{x,n} = r_x \quad (3.2)$$

che si può definire come:

$$r_x = k c_x \quad (3.3)$$

dove:

k = velocità di crescita specifica, $[d^{-1}]$.

Risolvendo l'Equazione 3.1, k può essere riscritta come:

$$k = \frac{\ln(c_x^{t_2}) - \ln(c_x^{t_1})}{t_2 - t_1} \quad (3.4)$$

dove:

$c_x^{t_1}$ = concentrazione di biomassa al tempo t_1 , $[g L^{-1}]$;

$c_x^{t_2}$ = concentrazione di biomassa al tempo t_2 , $[g L^{-1}]$.

In particolare, per *S.obliquus* a $150 \mu E m^{-2} s^{-1}$ la costante media di crescita k è di $0,603 d^{-1}$ (Enzo, 2012). La fase batch permette quindi di raggiungere in breve tempo elevate concentrazioni cellulari a partire da colture diluite e precede solitamente la fase continua.

Durante la fase continua al reattore viene alimentato, mediante una pompa peristaltica, terreno di coltura BG11 contenente i micronutrienti necessari a *S. obliquus* per lo svolgimento delle proprie funzioni, sia fisiologiche che di crescita. Se il sistema viene approssimato con un CSTR, date le particolari condizioni di mescolamento, il bilancio di massa si esprime come:

$$V_R \frac{dc_{x,out}}{dt} = \dot{V}_{in} c_{x,in} - \dot{V}_{out} c_{x,out} + V_R r_{x,out} \quad (3.5)$$

dove:

V_R = volume del reattore, $[L]$;

\dot{V}_{in} = portata volumetrica in ingresso al reattore, $[L d^{-1}]$;

\dot{V}_{out} = portata volumetrica in uscita dal reattore, $[L d^{-1}]$;

$c_{x,in}$ = concentrazione di biomassa della corrente in ingresso al reattore, $[g L^{-1}]$;

$c_{x,out}$ = concentrazione di biomassa della corrente in uscita dal reattore, $[g L^{-1}]$;

$r_{x,out}$ = velocità di produzione di biomassa definita come $k c_{x,out}$, [g L⁻¹ d⁻¹].

In condizioni stazionarie, l'Equazione 3.4 si riduce a:

$$0 = -\dot{V}_{out} c_{x,out} + V_R k c_{x,out} \quad (3.6)$$

da cui si ottiene:

$$\tau = \frac{1}{k} = \frac{1}{0,603} = 1,66 \text{ [d]} \quad (3.7)$$

dove τ è il tempo di residenza all'interno del reattore [d], definito come:

$$\tau = \frac{\text{Volume del reattore}}{\text{Portata in uscita dal reattore}} = \frac{V_R}{\dot{V}_{out}} \quad (3.8)$$

Dall'Equazione 3.7 e noto V_R si ottiene così la portata \dot{V}_{out} , pari a sua volta a \dot{V}_{in} , perché il volume nel reattore è costante:

$$\dot{V}_{out} = \frac{V_R}{\tau} = \frac{250}{1,66} = 0,151 \left[\frac{\text{mL}}{\text{d}} \right] \quad (3.9)$$

Il risultato ottenuto indica che il sistema in esame, caratterizzato da una costante di crescita k pari a 0,603 d⁻¹, se alimentato da una portata volumetrica continua di 151 mL d⁻¹, assicura una crescita con velocità $k c_{x,out}$. Si noti che la velocità, nel CSTR, è pari alla produttività di biomassa:

$$P_x = \frac{c_{x,out}}{\tau} = k c_{x,out} \quad (3.10)$$

In Figura 3.1 è riportato l'andamento della crescita cellulare in milioni di cellule per millilitro durante la fase batch e durante la fase continua. Le curve esprimono un *fitting*, mediante OriginLab, dei dati sperimentali.

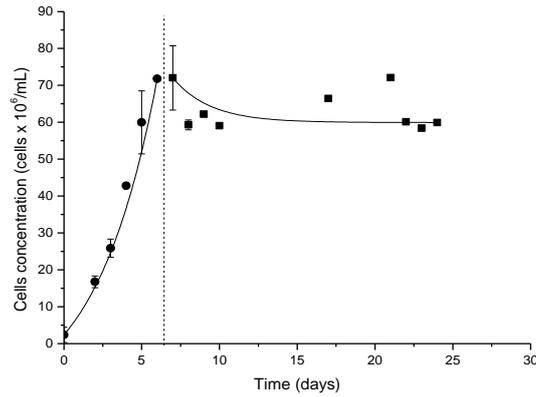


Figura 3.1 Dati sperimentali degli esperimenti condotti in batch e in continuo a $I=150 \mu E/(m^2 s)$. I punti che precedono la retta verticale sono relativi alla fase batch, quelli successivi sono relativi alla fase continua.

Correlando le conte cellulari giornaliere ai pesi secchi misurati saltuariamente, sia in fase batch che in fase continua, è stato possibile determinare una retta di correlazione, Equazione 3.11. La retta di correlazione consente di trasformare la concentrazione di cellule in concentrazione di biomassa per ciascuna concentrazione cellulare calcolata; non è univoca per tutti gli esperimenti, ma è stato necessario determinarla per ognuno di essi.

$$c_x = 2 \cdot 10^{-8}c + 0,0927 \quad (3.11)$$

dove:

c_x = concentrazione di biomassa, $[g L^{-1}]$;

c = concentrazione cellulare, $[milioni \text{ di cellule } L^{-1}]$.

I risultati dei profili di crescita in termini di concentrazione di biomassa sono riportati in Figura 3.2.

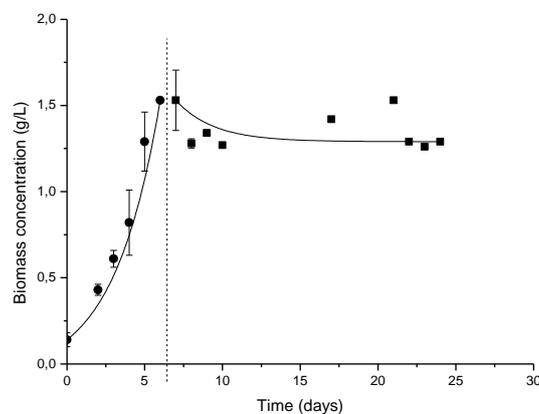


Figura 3.2 Dati correlati mediante l'Equazione 3.11 degli esperimenti condotti in batch e in continuo a $I=150 \mu E m^{-2} s^{-1}$. I punti che precedono la retta verticale sono relativi alla fase batch, quelli successivi sono relativi alla fase continua.

Dalle Figure 3.1 e 3.2 si conclude che *S. obliquus* sottoposta a un'intensità luminosa continua di $150 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ raggiunge condizioni di stazionarietà a una concentrazione cellulare media pari a 75 milioni di cellule per millilitro, che corrispondono ad una concentrazione di biomassa media pari a $1,33 \text{ g L}^{-1}$. In Tabella 3.1 si riassumono i dati e le condizioni operative di questa prova.

Tabella 3.1 Dati relativi al PBR in fase continua a $I=150 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Dato	Simbolo	Unità di misura	Valore
Volume del reattore	V_R	L	0,250
Portata in ingresso	\dot{V}_{in}	L d^{-1}	0,150
Portata in uscita	\dot{V}_{out}	L d^{-1}	0,150
Tempo di permanenza	τ	d	1,66
Concentrazione in stato stazionario	$c_{x,out}$	g L^{-1}	1,33
Produttività di biomassa	P_x	$\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$	0,797
Biomassa prodotta	P_b	g d^{-1}	0,199

La produttività di biomassa P_x , definita come:

$$P_x = \frac{\dot{V}_{in}}{V_R} c_{out} = \left[\frac{\text{g}}{\text{L d}} \right] \quad (3.12)$$

e pari a $0,797 \text{ g L}^{-1} \text{d}^{-1}$. La biomassa prodotta P_b :

$$P_b = \dot{V}_{in} c_{out} = \left[\frac{\text{g}}{\text{d}} \right] \quad (3.13)$$

risulta pari a $0,199 \text{ g d}^{-1}$.

Dopo aver raggiunto condizioni di stazionarietà all'interno del reattore in fase continua si è passati ad analizzare la risposta del sistema quando viene attivato il riciclo. Dalla bottiglia di raccolta di biomassa in uscita dal reattore è stata riciclata al PBR, tramite una pompa peristaltica, una portata di biomassa pari 75 mL d^{-1} . Non si è quindi passati nuovamente attraverso la fase batch, ma si è partiti da una concentrazione cellulare interna al reattore pari a 43 milioni di cellule per millilitro. Mantenendo costante il tempo di permanenza τ , all'interno del PBR, pari a $1,66 \text{ d}$, la portata di micronutrienti alimentata a esso è stata dimezzata e quindi pari a 75 mL d^{-1} . Per il sistema in esame, approssimato a un CSTR, il bilancio di massa sulla biomassa può essere scritto come:

$$V_R \frac{dc_{x,out}}{dt} = \dot{V}_{in,b} c_b - \dot{V}_{out} c_{x,out} + V_R r_{x,out} \quad (3.14)$$

dove:

V_R = volume del reattore, [L];

$\dot{V}_{in,b}$ = portata volumetrica riciclata al reattore, [L d⁻¹];

\dot{V}_{out} = portata volumetrica in uscita dal reattore, [L d⁻¹];

c_b = concentrazione di biomassa della corrente riciclata al reattore, [g L⁻¹];

$c_{x,out}$ = concentrazione di biomassa della corrente in uscita dal reattore, [g L⁻¹];

$r_{x,out}$ = velocità di produzione di biomassa definita come $k c_{x,out}$, [g L⁻¹ d⁻¹].

In condizioni stazionarie questo bilancio si semplifica ottenendo:

$$0 = \dot{V}_{in,b} c_b - \dot{V}_{out} c_{x,out} + V_R k c_{x,out} \quad (3.15)$$

da cui si ricava:

$$k = \frac{1}{\tau} = \frac{\dot{V}_{out} - \dot{V}_{in,b}}{V_R} = 0,302 \text{ d}^{-1} \quad (3.16)$$

La costante di crescita specifica k nel sistema continuo con riciclo risulta metà della costante di crescita specifica ottenuta nel caso senza riciclo; alla luce di tale risultato la portata di micronutrienti alimentata al reattore è stata dimezzata.

Come per il caso senza riciclo, in Figura 3.5 si riportano i risultati sperimentali delle concentrazioni cellulari in milioni di cellule per millilitro nel tempo.

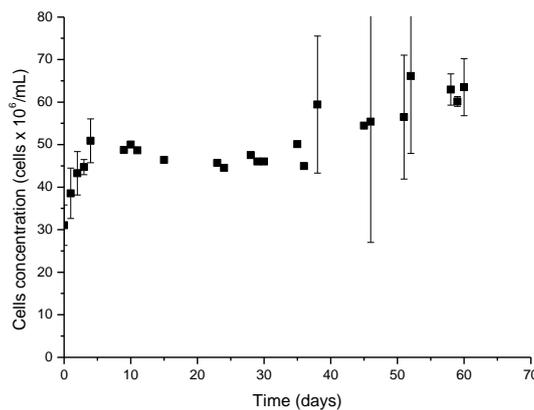


Figura 3.3 Dati sperimentali degli esperimenti condotti in continuo con riciclo a $I=150 \mu E m^{-2} s^{-1}$.

Per il calcolo della concentrazione di biomassa è stata utilizzata nuovamente l'Equazione 3.11.

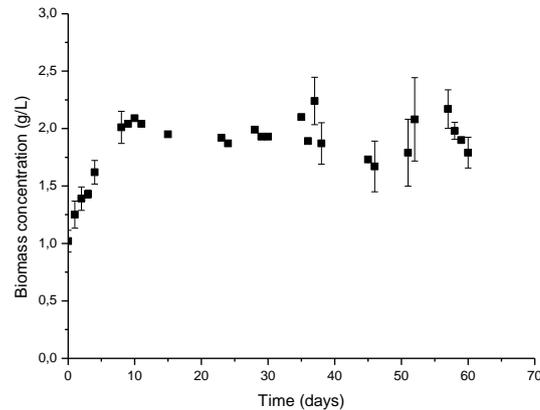


Figura 3.4 Dati correlati mediante l'Equazione 3.11 degli esperimenti condotti in continuo con riciclo a $I=150 \mu E m^{-2} s^{-1}$.

Confrontando i risultati ottenuti dal sistema in continuo con riciclo con i risultati ottenuti dal caso senza riciclo, si osserva che la concentrazione cellulare finale è di 90 milioni di cellule per millilitro, cui corrisponde una concentrazione di biomassa pari a $2,55 g L^{-1}$.

Tabella 3.2 Dati relativi al PBR in fase continua con riciclo a $I=150 \mu E m^{-2} s^{-1}$.

Dato	Simbolo	Unità di misura	Valore
Volume del reattore	V_R	L	0,250
Portata in ingresso	$\dot{V}_{in,b}$	$L d^{-1}$	0,075
Portata in uscita	\dot{V}_{out}	$L d^{-1}$	0,150
Tempo di permanenza	τ	d	1,66
Concentrazione in stato stazionario	$c_{x,out}$	$g L^{-1}$	2,55
Produttività di biomassa	P_x	$g L^{-1} d^{-1}$	0,770
Biomassa prodotta	P_b	$g d^{-1}$	0,191

Dalla Tabella 3.2 si conclude che, nonostante il numero di cellule sia più elevato, la produttività di biomassa P_x e la portata di biomassa prodotta P_b siano inferiori. Pertanto l'impiego del riciclo non apporta benefici al sistema in esame.

3.1.2 Intensità di $1000 \mu E/(m^2 s)$

Come accennato all'inizio del paragrafo, si è scelto di valutare l'effetto di un'intensità luminosa più elevata su *S.obliquus*. Durante tale esperimento si è analizzato solo il caso continuo con riciclo e non si è partiti da una fase batch, bensì da una soluzione microalgale precedentemente esposta a illuminazione simulata giorno notte per la stagione autunnale, in

particolare per il mese di ottobre con riciclo. La concentrazione cellulare all'interno del reattore al giorno 0 era pari a 200 milioni di cellule per millilitro.

Il bilancio di massa che descrive il sistema in esame è espresso attraverso l'Equazione 3.14.

L'esperimento è stato condotto mantenendo le stesse condizioni operative dell'esperimento descritto nel paragrafo 3.1.1, che sono riassunte in Tabella 3.2; inoltre, nell'ipotesi che il sistema si comporti come un CSTR, rimangono valide le equazioni di bilancio di massa e di stato stazionario già riportate e commentate nel paragrafo 3.1.1, Equazioni 3.14 e 3.15.

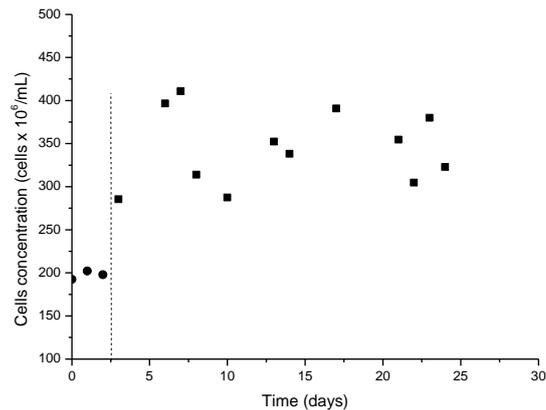


Figura 3.5 *Dati sperimentali dell'esperimento condotto in continuo con riciclo a $I=1000 \mu E m^{-2} s^{-1}$. I punti che precedono la retta verticale sono relativi allo stazionario raggiunto durante l'esperimento precedente (ottobre con riciclo), quelli successivi sono relativi alla fase continua con riciclo.*

Dalla Figura 3.5 si può notare una repentina crescita cellulare a partire dal giorno 1 e un valore medio in stato stazionario di circa 360 milioni di cellule per millilitro. E' da notare l'elevata dispersione dei risultati, causata da un'eccessiva diluizione dei campioni in fase di conta al microscopio e quindi da un elevato errore nella misura stessa.

L'equazione di correlazione tra la concentrazione cellulare e la concentrazione di biomassa, è:

$$c_x = 2 \cdot 10^{-8}c + 1,7 \quad (3.17)$$

Attraverso di essa si ottiene l'andamento nel tempo delle concentrazioni di biomassa espresse in g L⁻¹ (Figura 3.6).

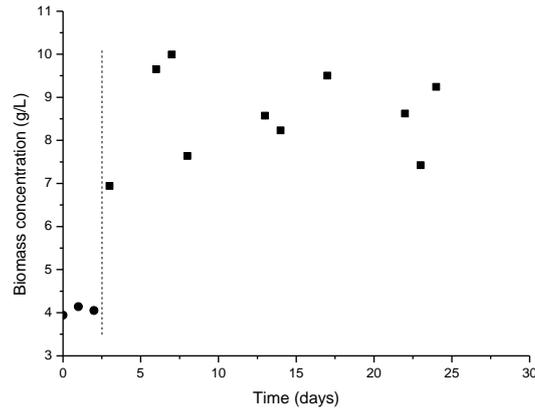


Figura 3.6 Dati correlati mediante l'Equazione 3.17 dell'esperimento condotto in continuo con riciclo a $I=1000 \mu E m^{-2} s^{-1}$. I punti che precedono la retta verticale sono relativi allo stazionario raggiunto durante l'esperimento precedente (ottobre con riciclo); quelli successivi sono relativi alla fase continua con riciclo.

Anche in Figura 3.6 è osservabile una forte dispersione dei risultati; lo stato stazionario è raggiunto dopo circa 20 giorni, di funzionamento in continuo, con un valore medio di $9,66 g L^{-1}$.

Tabella 3.3 Dati relativi al PBR in fase continua con riciclo a $I=1000 \mu E m^{-2} s^{-1}$.

Dato	Simbolo	Unità di misura	Valore
Volume del reattore	V_R	L	0,250
Portata in ingresso	$\dot{V}_{in,b}$	$L d^{-1}$	0,075
Portata in uscita	\dot{V}_{out}	$L d^{-1}$	0,150
Tempo di permanenza	τ	d	1,66
Concentrazione in stato stazionario	$c_{x,out}$	$g L^{-1}$	9,66
Produttività di biomassa	P_x	$g L^{-1} d^{-1}$	2,90
Biomassa prodotta	P_b	$g d^{-1}$	0,72

La Tabella 3.3 riassume i dati e le condizioni operative relative al sistema in esame. La produttività di biomassa P_x calcolata attraverso l'Equazione 3.12 e la quantità di biomassa prodotta P_b calcolata attraverso l'Equazione 3.13 risultano rispettivamente pari a $2,90 g L^{-1} d^{-1}$ e $0,72 g d^{-1}$.

3.2 Con ciclo giorno-notte nelle diverse stagioni

In questa tesi, particolare interesse è stato rivolto a studiare come *S. obliquus*, coltivata in terreno BG11, reagisce se esposta a un ciclo alternato di luce e buio aventi le caratteristiche di

intensità e durata simili a quelle che si registrano nel territorio di Padova. Più in particolare, sono stati simulati all'interno dell'armadio termostato quattro giorni tipici per i quattro mesi che meglio identificano le quattro stagioni annuali utilizzando una lampada a led SN-SL 3500-22, la quale emana luce PAR, e si è analizzata la crescita delle microalghe in reattore continuo con questi regimi di illuminazione.

Di seguito vengono specificate le condizioni operative, i dati, le ore di luce e di giorno e le intensità luminose relative a ciascuno dei quattro esperimenti realizzati; oltre a ciò vengono riportati i risultati ottenuti dalle corrispondenti simulazioni. In tutti i casi il reattore è stato approssimato ad un CSTR. In alcuni esperimenti si è anche esaminato l'effetto del riciclo.

Il modello del sistema è descritto dalle Equazioni 3.5 e 3.6 nel caso senza riciclo, in dinamico ed in stazionario, e delle Equazioni 3.14 e 3.15 per quello con riciclo.

Come fonte dell'irradiazione reale incidente su Padova nelle diverse stagioni si è fatto riferimento a *PVGIS European Communities*, ma si è sempre mantenuto pari a zero l'angolo di luce θ incidente sul reattore essendo la lampada posizionata in modo fisso davanti al fotobioreattore.

3.2.1 Inverno: gennaio

Un tipico giorno invernale di gennaio a Padova presenta 9 ore di luce e 15 ore di buio, ed un'intensità luminosa globale giornaliera di $38,08 \text{ W m}^{-2}$. Si è quindi programmata la lampada a led in modo da riprodurre questi orari e questa intensità.

La radiazione globale giornaliera incidente sul reattore e quindi sul territorio padovano, è stata calcolata come segue:

$$GI = \frac{\int_0^{24} \text{irradianza puntuale}}{24 \text{ ore}} = \frac{\int_0^{24} I(t) dt}{24} = \left[\frac{\text{W}}{\text{m}^2} \right] \quad (3.18)$$

dopo aver misurato l'irradianza puntuale (ogni ora) in uscita dalla lampada a led e incidente sul PBR mediante il fotoradiometro della ditta Delta OHM, modello HD2101.1.

Successivamente si è proceduto alla misura delle radiazioni incidenti sul pannello per verificarne l'effettiva corrispondenza con quelle reali; il confronto è rappresentato in Figura 3.7.

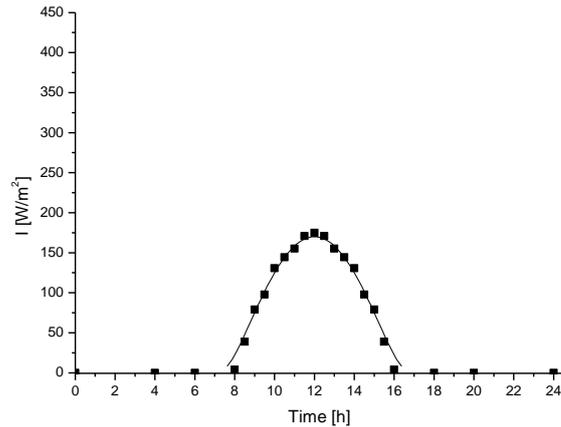


Figura 3.7 Andamento medio della luce diretta (PAR) incidente su Padova in un giorno tipico del mese di gennaio. I punti indicano i dati sperimentali; la curva continua indica l'andamento reale.

Dall'osservazione di Figura 3.7 si conclude che in laboratorio è stato perfettamente simulato un giorno tipico di gennaio. Si è così proceduto alla realizzazione dell'esperimento, in continuo senza riciclo, alimentando al reattore una portata di micronutrienti pari a 142 mL d^{-1} essendo stato scelto un tempo di permanenza τ interno al reattore pari a 1,76 d.

In questo caso non si è partiti dalla fase batch, ma dalla condizione precedente a cui era stato sottoposto il reattore, un ciclo giorno notte che simulava la stagione estiva, nello specifico il mese di luglio. Al giorno 0 la concentrazione delle cellule all'interno del PBR è stata valutata pari a 180 milioni di cellule per millilitro.

Le curve indicano un *fitting*, mediante OriginLab, dei dati sperimentali.

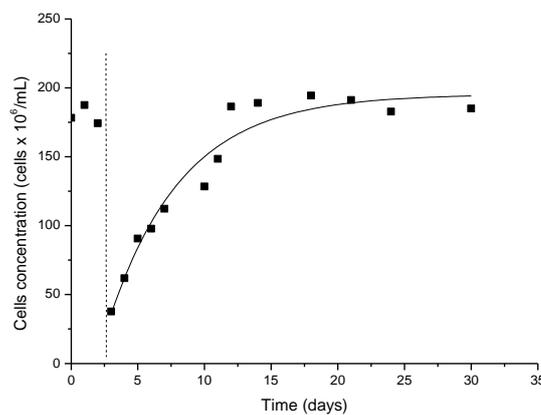


Figura 3.8 Dati sperimentali dell'esperimento condotto in continuo durante il mese di gennaio. I punti che precedono la retta verticale sono relativi allo stazionario raggiunto durante l'esperimento precedente (luglio senza riciclo).

In Figura 3.9 è riportato l'andamento della concentrazione di biomassa nel tempo; in tal caso è stata effettuata una misura giornaliera del peso secco della sospensione.

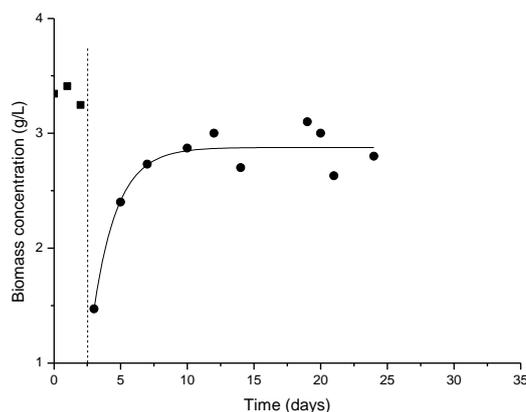


Figura 3.9 Dati sperimentali dell'esperimento condotto in continuo durante il mese di gennaio. I punti che precedono la retta verticale sono relativi allo stazionario raggiunto durante l'esperimento precedente (luglio senza riciclo).

Lo stato stazionario è stato raggiunto ad una concentrazione di circa 200 milioni di cellule per millilitro, cui corrisponde una concentrazione massiva $2,76 \text{ g L}^{-1}$.

Si osservi come inizialmente si sia verificato un brusco calo di concentrazione essendo fortemente diminuita l'intensità media luminosa incidente sul reattore; dopo un brevissimo periodo di adattamento, il numero di cellule è risalito esponenzialmente per poi raggiungere condizioni stazionarie. La Tabella 3.4 riassume le condizioni operative e i dati relativi all'esperimento condotto. Si specifica che la portata in ingresso al reattore è costituita solo da micronutrienti.

Tabella 3.4 Dati relativi al PBR in fase continua durante il mese di gennaio.

Dato	Simbolo	Unità di misura	Valore
Volume del reattore	V_R	L	0,250
Portata in ingresso	\dot{V}_{in}	L d^{-1}	0,142
Portata in uscita	\dot{V}_{out}	L d^{-1}	0,142
Tempo di permanenza	τ	d	1,76
Concentrazione in stato stazionario	$c_{x,out}$	g L^{-1}	2,76
Produttività di biomassa	P_x	$\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$	1,57
Biomassa prodotta	P_b	g d^{-1}	0,392

La produttività di biomassa P_x e la quantità biomassa prodotta P_b sono definite rispettivamente mediante le Equazioni 3.12 e 3.13 e risultano pari a $1,57 \text{ g L}^{-1} \text{d}^{-1}$ e $0,392 \text{ g d}^{-1}$.

Si noti come, nonostante la radiazione totale che incide sul pannello sia bassa, il reattore comunque non è in wash-out e le produttività finali risultano soddisfacenti.

E' interessante notare che, mentre il numero di cellule a stazionario è pressoché lo stesso dell'esperimento precedente, la concentrazione è inferiore; ciò indica che la densità di cellule di gennaio rispetto a luglio è inferiore.

3.2.2 Primavera: aprile

Per la simulazione del mese di aprile si è scelto di confrontare l'effetto del ciclo giorno notte sia con riciclo sia senza riciclo. I due esperimenti non sono stati condotti in parallelo, bensì in tempi successivi.

In Figura 3.10 è riportato il confronto delle radiazioni reali con quelle simulate ed applicate in entrambi gli esperimenti. L'intensità luminosa totale incidente in un tipico giorno di aprile a Padova è di $109,74 \text{ W m}^{-2}$; l'arco di ore di luce è pari a 12 ore.

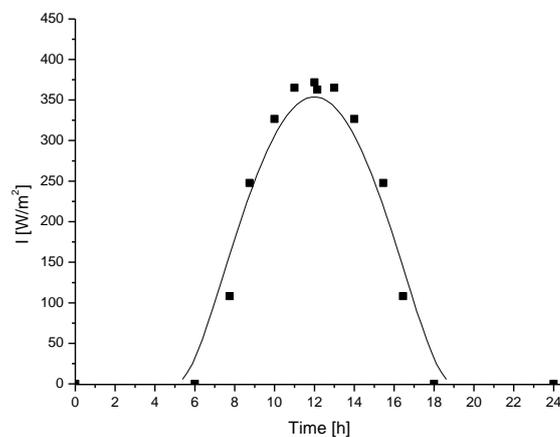


Figura 3.10 Andamento medio della luce diretta (PAR) incidente su Padova in un giorno tipico del mese di aprile. I punti indicano i dati sperimentali; la curva continua indica l'andamento reale.

3.2.2.1 Operazione con riciclo

Il primo esperimento per la simulazione del mese di aprile è stato condotto con riciclo. Il reattore esposto a tale ciclo giorno notte non è partito da una fase batch e una fase continua senza riciclo intermedia, ma ha subito un cambio di intensità luminosa da $150 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ a $661,08 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ partendo così da una concentrazione cellulare pari a 100 milioni di cellule per millilitro. Le condizioni operative sono riassunte in Tabella 3.5. Il tempo di permanenza τ all'interno del reattore è stato mantenuto pari a 1,76 d; ma in questo caso la portata in ingresso al PBR è di 72 mL d^{-1} di micronutrienti e di 72 mL d^{-1} di sospensione di biomassa riciclata dalla bottiglia di accumulo di biomassa. I risultati sperimentali sono riportati in Figura 3.11.

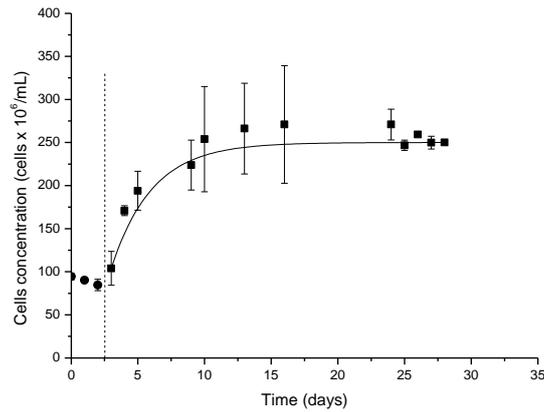


Figura 3.11 Dati sperimentali dell'esperimento condotto in continuo con riciclo durante il mese di aprile. I punti che precedono la retta verticale sono relativi allo stazionario raggiunto durante l'esperimento precedente ($150 \mu E m^{-2} s^{-1}$).

Si osservi che l'esperimento è stato condotto in parallelo con un secondo pannello avente la stessa concentrazione interna al giorno 0 e anch'esso con riciclo; per tale ragione nel grafico sono riportati anche le deviazioni standard tra le misure effettuate sui due reattori.

L'Equazione 3.19 descrive il legame tra la concentrazione cellulare in milioni di cellule per millilitro giorno e il numero di cellule per unità di volume, permettendo quindi di ottenere la Figura 3.14.

$$c_x = 1 \cdot 10^{-8}c + 1,808 \quad (3.19)$$

dove:

c_x = concentrazione di biomassa, [$g L^{-1}$];

c = concentrazione cellulare, [milioni di cellule L^{-1}].

E' stato così possibile costruire il profilo riportato in Figura 3.12.

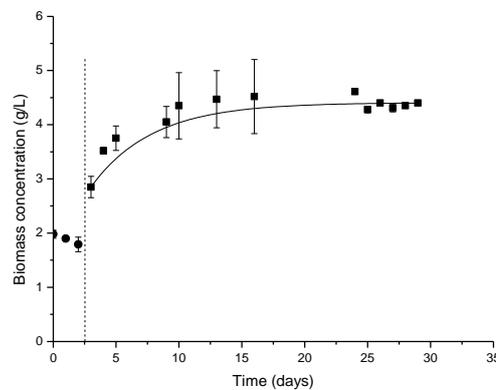


Figura 3.12 Dati correlati mediante l'Equazione 3.19 dell'esperimento condotto in continuo con riciclo durante il mese di aprile. I punti che precedono la retta verticale sono relativi allo stazionario raggiunto durante l'esperimento precedente ($150 \mu E m^{-2} s^{-1}$).

Durante il mese di aprile si osserva un aumento consistente della crescita microalgale che raggiunge valori in stato stazionario di 250 milioni di cellule per millilitro e di 4,65 g L⁻¹. In Tabella 3.5 si riporta un riepilogo dei dati e delle condizioni operative entro le quali opera il sistema in esame.

Tabella 3.5 Dati relativi al PBR in fase continua con riciclo durante il mese di aprile.

Dato	Simbolo	Unità di misura	Valore
Volume del reattore	V_R	L	0,250
Portata in ingresso	$\dot{V}_{in,b}$	L d ⁻¹	0,072
Portata in uscita	\dot{V}_{out}	L d ⁻¹	0,072
Tempo di permanenza	τ	d	1,76
Concentrazione in stato stazionario	$c_{x,out}$	g L ⁻¹	4,56
Produttività di biomassa	P_x	g L ⁻¹ d ⁻¹	1,34
Biomassa prodotta	P_b	g d ⁻¹	0,334

La produttività di biomassa P_x calcolata attraverso l'Equazione 3.12 e la quantità di biomassa prodotta P_b calcolata attraverso l'Equazione 3.13 risultano rispettivamente pari a 1,34 g L⁻¹ d⁻¹ e 0,334 g d⁻¹.

3.2.2.2 Operazione senza riciclo

Per il mese di aprile è stata condotta una seconda simulazione senza riciclo. Il reattore esposto a tale ciclo giorno-notte è partito da una concentrazione cellulare di circa 200 milioni di cellule; al tempo 0 il reattore ha subito un cambio di intensità da 175,17 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (gennaio) a 505,7 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (aprile). Il tempo di permanenza τ all'interno del reattore è stato mantenuto pari a 1,76 d, ma in questo caso la portata in ingresso al PBR è 142 mL d⁻¹. I risultati sperimentali sono riportati in Figura 3.13.

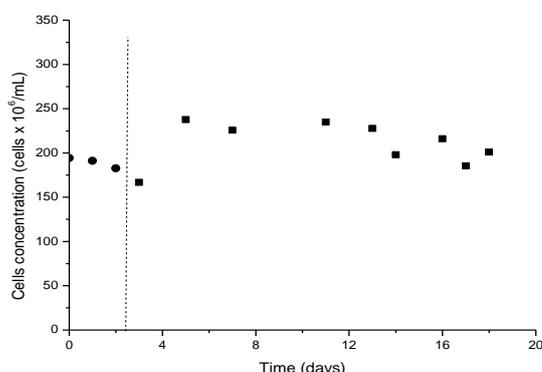


Figura 3.13 Dati sperimentali dell'esperimento condotto in continuo senza riciclo durante il mese di aprile. I punti che precedono la retta verticale sono relativi allo stazionario raggiunto durante l'esperimento precedente (gennaio).

In Figura 3.14 è riportato l'andamento della concentrazione di biomassa nel tempo; in tal caso è stata effettuata una misura giornaliera del peso secco della sospensione.

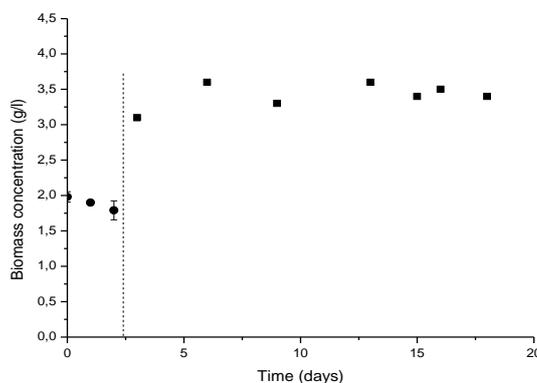


Figura 3.14 Dati sperimentali dell'esperimento condotto in continuo senza riciclo durante il mese di aprile. I punti che precedono la retta verticale sono relativi allo stazionario raggiunto durante l'esperimento precedente (gennaio).

A differenza dell'esperimento condotto con riciclo, la concentrazione finale di cellule e di biomassa sono più bassi e pari, rispettivamente, a 230 milioni di cellule per millilitro e $3,3 \text{ g L}^{-1}$.

Tabella 3.6 Dati relativi al PBR in fase continua senza riciclo durante il mese di aprile.

Dato	Simbolo	Unità di misura	Valore
Volume del reattore	V_R	L	0,250
Portata in ingresso	$\dot{V}_{in,b}$	L d^{-1}	0,142
Portata in uscita	\dot{V}_{out}	L d^{-1}	0,142
Tempo di permanenza	τ	d	1,76
Concentrazione in stato stazionario	$c_{x,out}$	g L^{-1}	3,30
Produttività di biomassa	P_x	$\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$	1,85
Biomassa prodotta	P_b	g d^{-1}	0,462

Confrontando i risultati di Tabella 3.5 e 3.6, si osserva nuovamente che l'assenza della corrente di riciclo influisce positivamente sulla produttività di biomassa e sulla quantità di biomassa. Infatti, la produttività di biomassa P_x calcolata attraverso l'Equazione 3.12 e la quantità di biomassa prodotta P_b calcolata attraverso l'Equazione 3.13 risultano rispettivamente pari a $1,85 \text{ g L}^{-1} \text{d}^{-1}$ e $0,462 \text{ g d}^{-1}$.

3.2.3 Estate: luglio

Le prestazioni del reattore nella stagione estiva sono state studiate senza riciclo. In un giorno tipico di luglio su Padova incide un'intensità luminosa media di $143,71 \text{ W m}^{-2}$, e vi sono 15 ore di luce a fronte di 9 di buio. Come si vede in Figura 3.15, le reali radiazioni incidenti sulla città sono state perfettamente simulate in laboratorio.

Per l'esperimento di luglio si è partiti da una soluzione cellulare di circa 8 milioni di cellule per millilitro. Dopo un primo periodo in fase batch a un'intensità luminosa continua di $150 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$, si è passati alla fase continua senza riciclo esponendo il reattore al ciclo simulato giorno notte.

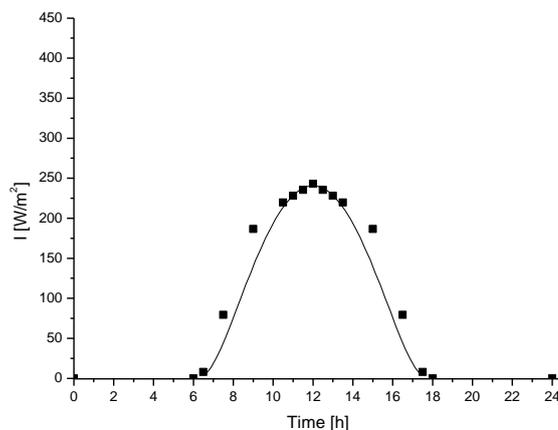


Figura 3.15 Andamento medio della luce diretta (PAR) incidente su Padova in un giorno tipico del mese di luglio. I punti indicano i dati sperimentali; la curva continua indica l'andamento reale dell'irradiazione giornaliera.

Si riportano in Figura 3.16 i risultati della fase batch e della fase continua. Il sistema in esame ha raggiunto condizioni di stazionarietà a un valore di circa 250 milioni di cellule per millilitro.

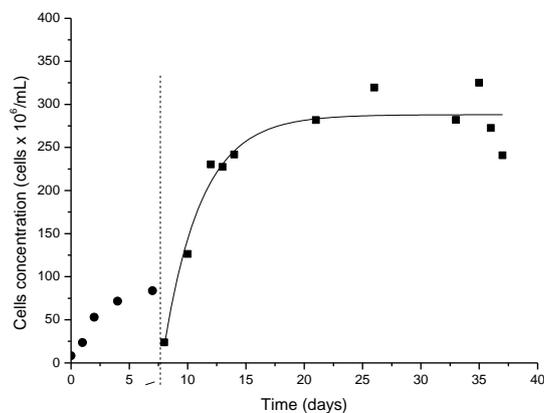


Figura 3.16 Dati sperimentali dell'esperimento condotto in continuo senza riciclo durante il mese di luglio. I punti che precedono la retta verticale sono relativi alla fase batch a $I=150 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Si è passati al calcolo della curva dei risultati sperimentali espressa in numero di cellule per unità di volume utilizzando l'Equazione 3.20.

$$c_x = 2 \cdot 10^{-8}c + 1,274 \quad (3.20)$$

Come si vede in Figura 3.17, lo stato stazionario è caratterizzato da una concentrazione di $4,78 \text{ g L}^{-1}$.

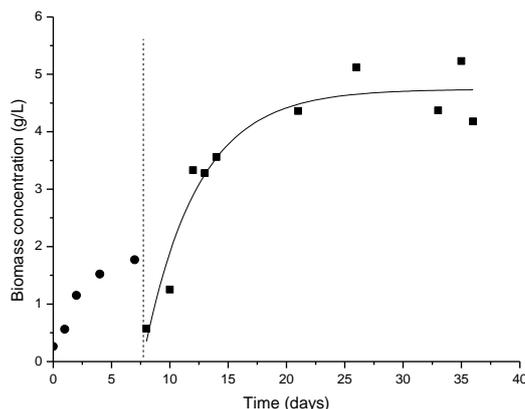


Figura 3.17 Dati correlati tramite l'Equazione 3.20 dell'esperimento condotto in continuo senza riciclo durante il mese di luglio. I punti che precedono la retta verticale sono relativi alla fase batch a $I=150 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Si riporta infine la Tabella 3.7 riassuntiva dei dati e delle condizioni operative realizzate durante tale esperimento.

Tabella 3.7 Dati relativi al PBR in fase continua senza riciclo durante il mese di luglio.

Dato	Simbolo	Unità di misura	Valore
Volume del reattore	V_R	L	0,250
Portata in ingresso	\dot{V}_{in}	L d^{-1}	0,072
Portata in uscita	\dot{V}_{out}	L d^{-1}	0,072
Tempo di permanenza	τ	d	1,76
Concentrazione in stato stazionario	$c_{x,out}$	g L^{-1}	4,78
Produttività di biomassa	P_x	$\text{g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$	2,72
Biomassa prodotta	P_b	g d^{-1}	0,679

La produttività di biomassa P_x calcolata attraverso l'Equazione 3.12 e la quantità di biomassa prodotta P_b calcolata attraverso l'Equazione 3.13 risultano rispettivamente pari a $2,72 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e $0,679 \text{ g d}^{-1}$.

3.2.4 Autunno: ottobre

Per la stagione autunnale è stato simulato un giorno tipico del mese di ottobre. Si è scelto di operare parallelamente con due reattori, l'uno in continuo con riciclo, l'altro in continuo senza riciclo. Entrambi sono stati esposti all'intensità luminosa media incidente su Padova nel mese di aprile pari a $74,75 \text{ W m}^{-2}$ con 12 ore di luce. In Figura 3.18 si riporta il confronto tra la curva delle reali radiazioni incidenti in ottobre sul territorio di Padova e quelle simulate in laboratorio. Anche se la curva simulata dalla lampada è leggermente più alta di quella reale, l'intensità luminosa mediamente fornita è molto vicina, per cui lo scostamento è accettabile.

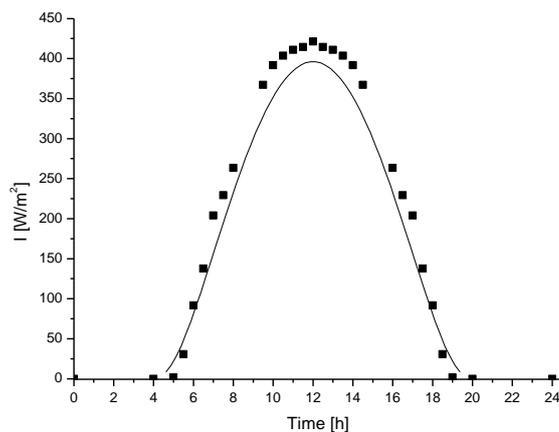


Figura 3.18 Andamento medio della luce diretta (PAR) incidente su Padova in un giorno tipico del mese di ottobre. I punti indicano i dati sperimentali, la curva continua indica l'andamento reale.

Per tali esperimenti sono stati utilizzati i due reattori precedentemente esposti al ciclo giorno notte di aprile con riciclo. In entrambi i PBR si è partiti da una concentrazione cellulare interna al giorno 0 pari a 260 milioni di cellule per millilitro, corrispondente allo stazionario dell'esperimento precedente, ossia aprile con riciclo.

Per il campione microalgale esposto a ciclo giorno-notte nel mese di ottobre, è stata effettuata una prova in doppio di estrazione dei lipidi. Si è misurata una percentuale di lipidi totali nei due campioni rispettivamente di 32,5% e 35,1% (in massa).

3.2.4.1 Operazione con riciclo

Le prestazioni del reattore con riciclo sono rappresentate in Figura 3.19 e 3.20. L'Equazione 3.21 correla i dati di concentrazione cellulare in milioni di cellule per millilitro giorno con quelli di concentrazione massiva.

$$c_x = 2 \cdot 10^{-8}c + 0,0927 \quad (3.21)$$

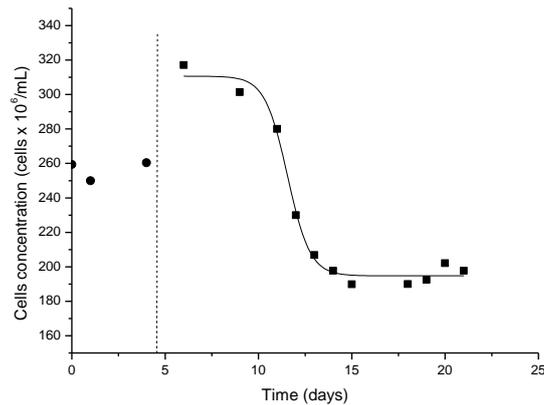


Figura 3.19 Dati sperimentali dell'esperimento condotto in continuo con riciclo durante il mese di ottobre. I punti che precedono la retta verticale sono relativi allo stazionario raggiunto durante l'esperimento precedente (aprile con riciclo).

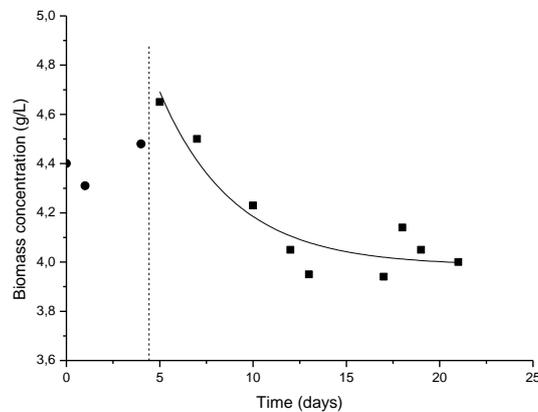


Figura 3.20 Dati correlati tramite l'Equazione 3.21 dell'esperimento condotto in continuo con riciclo durante il mese di ottobre. I punti che precedono la retta verticale sono relativi allo stazionario raggiunto durante l'esperimento precedente (aprile con riciclo).

Dai grafici riportati si noti come, dopo un piccolo aumento iniziale, la concentrazione cellulare si assesta e stabilizza a valori inferiori: 180 milioni di cellule per millilitro, a cui corrisponde una concentrazione su base secca di 4 g L^{-1} . In Tabella 3.8 si riporta un riepilogo dei dati e delle condizioni operative del sistema in esame.

Tabella 3.8 Dati relativi al PBR in fase continua con riciclo durante il mese di ottobre.

Dato	Simbolo	Unità di misura	Valore
Volume del reattore	V_R	L	0,250
Portata in ingresso	$\dot{V}_{in,b}$	L d ⁻¹	0,072
Portata in uscita	\dot{V}_{out}	L d ⁻¹	0,072
Tempo di permanenza	τ	d	1,76
Concentrazione in stato stazionario	$c_{x,out}$	g L ⁻¹	3,78
Produttività di biomassa	P_x	g L ⁻¹ d ⁻¹	1,15
Biomassa prodotta	P_b	g d ⁻¹	0,288

La produttività di biomassa P_x calcolata attraverso l'Equazione 3.12 e la quantità di biomassa prodotta P_b calcolata attraverso l'Equazione 3.13 risultano rispettivamente pari a 1,15 g L⁻¹d⁻¹ e 0,288 g d⁻¹.

3.2.4.2 Operazione senza riciclo

I risultati di questo esperimento sono riportati rispettivamente in Figura 3.21 e, tramite l'Equazione 3.22, in Figura 3.22.

$$c_x = 1 \cdot 10^{-8}c + 1,808 \quad (3.22)$$

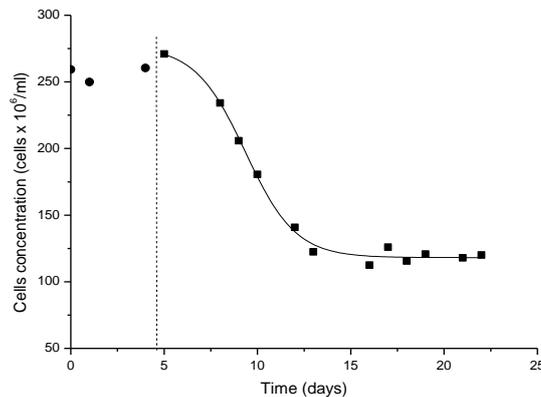


Figura 3.21 Dati sperimentali dell'esperimento condotto in continuo senza riciclo durante il mese di ottobre. I punti che precedono la retta verticale sono relativi allo stazionario raggiunto durante l'esperimento precedente (aprile con riciclo).

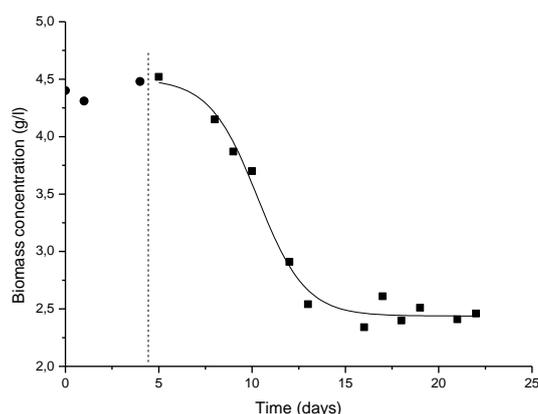


Figura 3.22 Dati correlati tramite l'Equazione 3.22 dell'esperimento condotto in continuo senza riciclo durante il mese di ottobre. I punti che precedono la retta verticale sono relativi allo stazionario raggiunto durante l'esperimento precedente (aprile con riciclo).

In condizioni stazionarie la soluzione cellulare raggiunge valori ben inferiori rispetto al caso con riciclo: 120 milioni di cellule per millilitro e una concentrazione su base secca di $2,7\text{ g L}^{-1}$. Non essendo presente riciclo ed essendo il tempo di permanenza τ pari a 1,76 d, la portata in ingresso al reattore è costituita solo da micronutrienti. Si riassumono in Tabella 3.9 i dati caratteristici del sistema in esame.

Tabella 3.9 Dati relativi al PBR in fase continua senza riciclo durante il mese di ottobre.

Dato	Simbolo	Unità di misura	Valore
Volume del reattore	V_R	L	0,250
Portata in ingresso	\dot{V}_{in}	L d^{-1}	0,142
Portata in uscita	\dot{V}_{out}	L d^{-1}	0,142
Tempo di permanenza	τ	d	1,76
Concentrazione in stato stazionario	$c_{x,out}$	g L^{-1}	2,72
Produttività di biomassa	P_x	$\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$	1,54
Biomassa prodotta	P_b	g d^{-1}	0,386

La produttività di biomassa P_x calcolata attraverso l'Equazione 3.12 e la quantità di biomassa prodotta P_b calcolata attraverso l'Equazione 3.13 risultano rispettivamente pari a $1,54\text{ g L}^{-1} \text{d}^{-1}$ e $0,386\text{ g d}^{-1}$.

Si noti come nuovamente la presenza del riciclo non apporta miglioramenti al sistema, anzi la produttività risulta di circa il 30% maggiore se si opera senza riciclo.

3.3 Esperimenti in continuo a illuminazione simulata a alte frequenze: 10 Hz

La prova in luce pulsata è stata condotta con lo scopo di comprendere variazioni della crescita microalgale in funzione della frequenza e dei cicli luce-buio, ed un'eventuale dipendenza delle alghe da condizioni di illuminazione continua (Flameling and Kromkamp 1997). In questo caso la luce, pur essendo continua, viene percepita dalle alghe come illuminazione intermittente, poiché esse, per effetto del mescolamento, alternano momenti di luce a momenti di buio.

L'esperimento è stato condotto ad una frequenza di 10 Hz, ossia 10 cicli, di luce e buio alternati, al secondo. Ogni ciclo è di 100 millisecondi, distribuiti in 10 ms di luce e 90 ms di buio. La luce continua che viene fornita mediamente è di $150 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, per cui i risultati ottenuti possono essere confrontati con quelli riportati nel paragrafo 3.1.1.

Si è partiti da una fase batch alla quale la concentrazione nel reattore era di circa 15 milioni di cellule per millilitro, per passare poi alla fase continua ed infine alla fase continua con riciclo. L'esperimento è stato condotto in continuo senza riciclo ed i risultati ottenuti sono riportati in Figura 3.23.

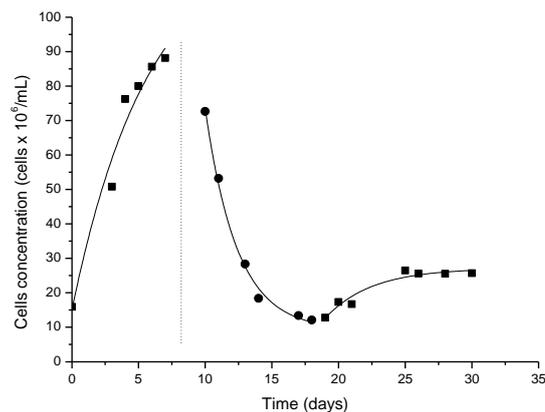


Figura 3.23 Dati sperimentali dell'esperimento condotto in senza riciclo in luce pulsata 10 Hz. I punti che precedono la retta verticale sono relativi alla fase batch.

Dalla Figura 3.23 è evidente che le alghe tendono a diminuire di concentrazione se sottoposte ad una fonte luminosa pulsata dalle caratteristiche selezionate. Nonostante ciò, non si verifica wash-out, anzi man mano che si adattano alle condizioni luminose, tendono a moltiplicarsi. L'esperimento è stato interrotto ad una concentrazione cellulare stazionaria di circa 40 milioni di cellule per millilitro.

Per questo esperimento sono state fatte solo due misure in stazionario di peso secco; la concentrazione di biomassa al trentesimo giorno è di circa $0,8 \text{ g L}^{-1}$.

In Tabella 3.9 si riassumono le condizioni operative del PBR in questione.

Tabella 3.10 *Dati relativi al PBR in fase continua senza riciclo in luce pulsata 10 Hz.*

Dato	Simbolo	Unità di misura	Valore
Volume del reattore	V_R	L	0,250
Portata in ingresso	\dot{V}_{in}	L d ⁻¹	0,142
Portata in uscita	\dot{V}_{out}	L d ⁻¹	0,142
Tempo di permanenza	τ	d	1,66
Concentrazione in stato stazionario	$c_{x,out}$	g L ⁻¹	0,8
Produttività di biomassa	P_x	g L ⁻¹ d ⁻¹	0,48
Biomassa prodotta	P_b	g d ⁻¹	0,120

La produttività di biomassa P_b calcolata attraverso l'Equazione 3.12 e la quantità di biomassa prodotta P_b calcolata attraverso l'Equazione 3.13 risultano rispettivamente pari a 0,48 g L⁻¹ d⁻¹ e 0,120 g d⁻¹.

Confrontando i risultati ottenuti in Tabella 3.10 con quelli riportati in Tabella 3.1 relativi all'esperimento a luce costante di 150 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, si evince chiaramente che la concentrazione si è ora dimezzata. Nonostante ciò, però, le produttività ottenute non sono molto differenti. Si potrebbe quindi ipotizzare che esponendo il PBR alla luce pulsata per qualche giorno in più, si otterrebbero risultati analoghi a quelli di un reattore esposto a luce continua.

Capitolo 4

Modellazione del fotobioreattore

Un fotobioreattore è rappresentabile come un sistema costituito da tre fasi: una fase liquida acquosa che contiene il terreno di coltura BG11 4X, una fase solida in sospensione (microalghe) ed una fase gassosa (miscela di CO₂, azoto ed aria). La fase liquida, così come la gassosa, forniscono i nutrienti necessari per la crescita microalgale; la fase gassosa, inoltre, movimentata le alghe lungo l'altezza e la profondità del fotobioreattore. La crescita dei microrganismi avviene attraverso il processo di fotosintesi; elemento indispensabile perché essa abbia luogo è una fonte di energia luminosa (*Posten, 2009*).

Quando non sussistono condizioni in cui l'apporto dei nutrienti è limitato, la crescita fotosintetica delle microalghe è legata unicamente alla disponibilità e penetrabilità della luce all'interno del PBR. I fenomeni di assorbimento, *scattering* e *self-shading* da parte delle cellule sono le cause principali che determinano una diminuzione della penetrazione dell'intensità luminosa dalla superficie irradiata verso il centro del reattore. All'interno del reattore si creano, quindi, zone ad altissima illuminazione e zone totalmente buie, le quali risultano inadatte per la crescita cellulare a causa, rispettivamente, dei fenomeni di fotoinibizione e fotolimitazione. Il mescolamento, che provoca lo spostamento delle microalghe, rappresenta uno degli elementi chiave nella progettazione di tali sistemi (*Sciortino, 2010*); un aumento della frequenza con cui le microalghe si spostano dalle zone scure alle zone illuminate del PBR (fenomeno del *flashing light effect*), determina infatti un notevole miglioramento della produttività (*Chisti et al., 2007; Grobbelaar et al., 1996; Tichy et al., 1995*).

Questo capitolo si articola in tre parti: nella prima è descritto il modello di Cornet (*Cornet et al., 1995*), generalizzato da Pruvost (*Pruvost et al., 2011*), impiegato per sviluppare un modello capace di rappresentare i risultati sperimentali ottenuti, sia a illuminazione costante sia a illuminazione simulata nelle diverse stagioni. A tale scopo sono richiesti:

- la conoscenza della radiazione fotosinteticamente attiva (PAR) che irradia la superficie del fotobioreattore in funzione del tempo;
- la determinazione del profilo di intensità luminosa lungo la profondità del reattore;
- la determinazione della velocità di crescita della coltura microalgale in funzione della luce lungo la profondità del reattore.

Nella seconda parte si riporta la procedura di calcolo dei parametri del modello, mentre nella terza parte si approfondiscono i concetti di produttività massima/reale di biomassa e di efficienza fotosintetica massima, le quali definiscono le performance del fotobioreattore.

4.1 Modello di Cornet

Le ipotesi di base del modello sviluppato ed implementato in Matlab sono le seguenti:

- il campo di radiazione è considerato isotropo, ossia viene trascurata la distribuzione angolare sia della radiazione incidente sulla parete del reattore, sia della radiazione deviata dalle particelle dentro il reattore;
- la radiazione dispersa dalle particelle è assunta parallela alla direzione principale della radiazione, e tale da assumere verso concorde o discorde con questa;

Il metodo si riferisce a luce artificiale, ma lo si può estendere considerando l'andamento dinamico e naturale della radiazione solare espressa dalla variazione oraria dell'intensità luminosa incidente sul reattore, dalla variazione dell'angolo incidente e del cambiamento, durante il giorno, del rapporto tra luce incidente e luce diffusa.

4.1.1 Distribuzione della luce

4.1.1.1 Illuminazione costante

Il profilo di estinzione della luce diretta I_{dir} e diffusa I_{dif} lungo la profondità z del fotobioreattore è definito attraverso le seguenti equazioni (*Pruvost et al., 2010*):

$$\frac{I_{dir}(z)}{I_{dir}(0)} = \frac{2(1 + \alpha)\exp[-\delta_{dir}(z - h)] - (1 - \alpha)\exp[\delta_{dir}(z - h)]}{\cos\theta(1 + \alpha)^2\exp(\delta_{dir}h) - (1 - \alpha)^2\exp(-\delta_{dir}h)} \quad (4.1)$$

$$\frac{I_{dif}(z)}{I_{dif}(0)} = 4 \frac{(1 + \alpha)\exp[-\delta_{dif}(z - h)] - (1 - \alpha)\exp[\delta_{dif}(z - h)]}{(1 + \alpha)^2\exp(\delta_{dif}h) - (1 - \alpha)^2\exp(-\delta_{dif}h)} \quad (4.2)$$

$$\delta_{dir} = \frac{\alpha c_x}{\cos\theta} (E_a + 2bE_s) \quad (4.3)$$

$$\delta_{dif} = 2\alpha c_x (E_a + 2bE_s) \quad (4.4)$$

$$\alpha = \sqrt{\frac{E_a}{(E_a + 2bE_s)}} \quad (4.5)$$

dove:

$I_{dir}(z)$ = radiazione fotosinteticamente attiva diretta alle profondità z , [$\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$];

$I_{dir}(0)$ = radiazione fotosinteticamente attiva diretta a $z = 0$, [$\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$];

$I_{dif}(z)$ = radiazione fotosinteticamente attiva diffusa alle profondità z , [$\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$];

$I_{dif}(0)$ = radiazione fotosinteticamente attiva diffusa a $z = 0$, [$\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$];

θ = angolo incidente della radiazione rispetto la direzione normale alla superficie del reattore, [rad];

h = profondità del fotobioreattore, [m];

z = dimensione caratteristica lungo la profondità del reattore, [m];

E_a = coefficiente d'assorbimento, [$\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$];

E_s = coefficiente di *back scattering*, [$\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$];

b = frazione di *back scattering*, [adim].

Dalle Equazioni 4.1 e 4.2 si ottiene il profilo di PAR I a ciascuna profondità z del reattore:

$$I(z) = I_{dir}(z) + I_{dif}(z) \quad (4.6)$$

4.1.1.2 Illuminazione giorno-notte nelle diverse stagioni

Mentre per la simulazione del profilo di PAR I in funzione di z so state applicate le Equazioni 4.1, 4.3 e 4.5, il PAR all'ingresso del reattore ($z=0$), è stato ottenuto attraverso un fitting dei dati di irradiazione reale mediante Originlab:

$$I_{dir}(0) = y_0 + \frac{A}{w \sqrt{\frac{\pi}{2}}} \exp \left[-2 \left(\frac{t - x_c}{w} \right)^2 \right] \quad (4.7)$$

dove:

$I_{dir}(0)$ = radiazione fotosinteticamente attiva diretta a $z = 0$, [$\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$];

t = ora alla quale viene calcolata il PAR diretto alla profondità 0 (0÷24), [h];

y_0 = intensità di riferimento, [$\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$];

A [$\mu\text{E m}^{-2}$], w [h], x_c [h] = parametri di *fitting* caratteristici di ciascun profilo di irradiazione giornaliera per le singole stagioni.

4.1.2 Cinetica di produzione e di mantenimento

I modelli matematici che mettono in relazione la cinetica di crescita delle microalghe con l'intensità luminosa sono di due tipologie: statici e dinamici (*Luo e Al-Dahhan, 2003*). Quelli statici si basano sul *fitting* delle curve di crescita in funzione della luce; pur mancando di

generalità, perché ignorano la natura dinamica dei fenomeni che rappresentano, grazie alla semplicità, legata alla anche alla loro natura empirica o semiempirica, sono attualmente i più utilizzati nello studio e progettazione dei fotobioreattori. I modelli dinamici mettono in relazione la fisiologia della fotosintesi e la cinetica di crescita; possiedono, quindi, l'importante vantaggio di essere in grado di rappresentare i diversi fenomeni che possono aver luogo nei fotobioreattori (fotoinibizione, fotolimitazione, etc.).

Il modello utilizzato per lo sviluppo della simulazione in esame è il modello di Cornet (Cornet *et al.*, 1995), come generalizzato da Pruvost (Pruvost *et al.*, 2010); pur essendo un modello statico, è ritenuto uno dei più accurati per rappresentare il comportamento di un PBR.

Per la risoluzione dei bilanci di materia del fotobioreattore è richiesta la conoscenza della velocità di crescita media della biomassa $r_{x,media}$ in funzione della produzione di biomassa $c_{x,out}$; $r_{x,media}$ è media per via della eterogenea distribuzione della luce all'interno del PBR, dovuta a sua volta ai fenomeni di *scattering* e assorbimento (Pruvost *et al.*, 2011). Nel fotobioreattore realizzato in laboratorio, si è ipotizzato un'attenuazione della luce monodimensionale lungo la profondità z del reattore; il valore medio di $r_{x,media}$ si ottiene integrando la velocità di produzione puntuale di biomassa $r_{x,z}$ lungo la profondità del PBR:

$$r_{x,media} = \frac{1}{h} \int_0^h r_{x,z} dz \quad (4.8)$$

La velocità di reazione $r_{x,z}$ è data dalla differenza di due contributi: un termine di crescita della biomassa e un termine di mantenimento (respirazione e morte cellulare):

$$r_{x,z} = r_{x,p} - r_{x,m} \quad (4.9)$$

dove:

$r_{x,p}$ = velocità di crescita legata al processo di fotosintesi, [$\text{kg m}^{-3} \text{s}^{-1}$];

$r_{x,m}$ = velocità legata ai processi di mantenimento, [$\text{kg m}^{-3} \text{s}^{-1}$].

Mediante il modello di Cornet, la velocità $r_{x,p}$ è definita:

$$r_{x,p}(z) = \rho_m \frac{K}{K + I(z)} \Phi E_a I(z) c_x \quad (4.10)$$

dove:

$r_{x,p}(z)$ = velocità di crescita di biomassa alle profondità z , [$\text{kg m}^{-3} \text{s}^{-1}$];

ρ_m = massima resa energetica sulla dissipazione di fotoni nell'antenna, [adim];

K = costante di saturazione per la fotosintesi, [$\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$];

Φ = media spaziale della resa quantica per lo schema-Z della fotosintesi, [$\text{kg } \mu\text{E}^{-1}$];

$I(z)$ = radiazione PAR alle profondità z , [$\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$];

c_x = concentrazione all'interno del reattore, [g L^{-1}];

E_a = parametro di assorbimento, [$\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$];

mentre la velocità $r_{x,m}$:

$$r_{x,m} = \mu_e c_x \quad (4.11)$$

dove:

μ_e = costante di mantenimento, [tempo^{-1}];

c_x = concentrazione all'interno del reattore, [g/L].

Il termine di mantenimento apporta un contributo negativo alla cinetica di crescita, limitandola; parte dell'energia luminosa fornita al PBR viene infatti utilizzata dalle cellule per le funzioni fisiologiche che includono (*Bodegom, 2007*):

- *shifts* nei *pathways* metabolici;
- mobilità delle cellule;
- variazione nel carbonio stoccato in forma polimerica;
- regolazione osmotica;
- consumi extracellulari di componenti non coinvolti nella regolazione osmotica;
- *proofreading*, sintesi e *turnover* di componenti macromolecolari quali enzimi ed RNA;
- difesa dallo stress indotto dall'ossigeno.

Inoltre, nel termine di mantenimento viene incluso il contributo dovuto alla morte delle cellule.

In definitiva, l'Equazione 4.9 la si può riscrivere come:

$$r_{x,z} = \rho_m \frac{K}{K + I(z)} \Phi E_a I(z) c_x - \mu_e c_x \quad (4.12)$$

4.2 Parametri del modello

In questa sezione si riportano le definizioni dei parametri utilizzati all'interno del modello di Cornet, implementato in Matlab per la simulazione delle curve di crescita in funzione dell'intensità luminosa.

4.2.1 Coefficienti di assorbimento, scattering e back scattering: E_a , bE_s

Come descritto all'inizio del capitolo, una coltura microalgale è costituita da una fase in sospensione la quale può in parte assorbire ed in parte diffondere la luce che attraversa la fase acquosa. I fenomeni di assorbimento e di *scattering* sono causati dai pigmenti contenuti microalga (clorofilla e carotenoidi) e dal fatto che le cellule hanno un volume non nullo. Diventa di fondamentale importanza, quindi, conoscere le proprietà ottiche che caratterizza la sospensione algale.

La teoria di Lorenz-Mie può essere impiegata per il calcolo di tali coefficienti, purché siano noti (Pottier et al., 2005):

- tipo e quantità dei singoli pigmenti contenuti nella soluzione;
- distribuzione delle dimensioni della microalga;
- forma della microalga.

Purtroppo allo stato attuale non è ancora disponibile una banca dati contenente le liste di pigmenti e le relative caratteristiche legate alle specie microalgali; anche la letteratura, in merito, è scarsa di informazioni. E' per tale motivo che in questo lavoro i parametri di assorbimento E_a e *scattering* bE_s per *Scenedesmus obliquus* sono stati calcolati mediante il modello di Cornet utilizzando i dati sperimentali di assorbimento luminoso attraverso uno strato di sospensione a concentrazione nota. Si vedrà nel capitolo 5 che i loro valori cambiano al variare delle condizioni operative.

4.2.2 Massima conversione energetica per la conversione dei fotoni: ρ_m

La massima resa energetica sulla dissipazione di fotoni nell'antenna (ρ_m) può essere assunta indipendente dalla dimensione z (Pruvost et al, 2011), e di valore pari a 0.8.

4.2.3 Costante di saturazione per la fotosintesi: K

Questo termine rappresenta la metà del valore dell'intensità luminosa alla quale si raggiunge la massima crescita esponenziale. Nella tesi di Enzo, 2012 è stato assunto $K = 75 \mu E m^{-2} s^{-1}$ per *S. obliquus*.

4.2.4 Resa quantica per lo schema-Z della fotosintesi: Φ

Il parametro Φ è la quantità di biomassa prodotta per mole di fotone catturato dalle cellule e si calcola come:

$$\Phi = \frac{x_{alga} \eta_C}{\eta_{fot}} \quad (4.13)$$

dove:

x_{alga} = peso della biomassa per mole di carbonio, pari a 22,15 g mol_c⁻¹ (Equazione 4.14);
 n_{tot} = moli di fotoni necessari per formare una mole di CH₂O (formaldeide), pari a 8; 1 mole di fotoni ha un contenuto energetico pari ad 1 Einstein;
 n_c = una mole di carbonio, [mol_c];

I termini contenuti nell'Equazione 4.13 sono ricavati a partire dall'analisi elementare di *Scenedesmus obliquus*, riportata in Tabella 4.1, ipotizzando un contenuto di olio pari al 25% (Enzo, 2012).

Tabella 4.1 Analisi elementare di *Scenedesmus obliquus* contenente il 25% di olio.

Elemento	Frazione ponderale [%]	Frazione molare [%]	Frazione molare rispetto ad 1 mole di C
C	52,1	4,34	1
H	8,04	8,04	1,852
N	8,05	0,575	0,132
O	28	1,75	0,403
P	0,35	0,023	~0

Dalla Tabella 4.1, facendo riferimento ad una mole di carbonio, si può riscrivere la stechiometria generale della microalga in esame:



Tenendo conto della stechiometria generale dell'alga e dell'Equazione 4.13, si ottiene un valore di Φ pari a $2,77 \text{ g E}^{-1} = 2,77 \cdot 10^{-9} \text{ kg } \mu\text{E}^{-1}$.

4.2.5 Mantenimento: μ_e

Il valore di μ_e , che varia con l'intensità luminosa cui la coltura microalgale è sottoposta, verrà discusso al capitolo 5.

4.3 Produttività massima

Nell'analisi e nella progettazione dei fotobioreattori la conoscenza del limite termodinamico della produttività di biomassa, intesa come produzione annua per unità di superficie, è fondamentale, in quanto permette un confronto tra i valori di resa ottenuti ed i massimi

ottenibili. Alla base della trattazione che segue vi sono due assunzioni fondamentali (Weyer *et al.*, 2010): la prima è che il sistema fotosintetico riesca a sfruttare tutti i fotoni incidenti sulla superficie; la seconda è che tutta l'energia ricevuta venga utilizzata dal sistema per produrre biomassa. Si fa inoltre riferimento a fotobioreattori di tipo *outdoor*, ossia sistemi nei quali l'unica fonte di energia disponibile per la produzione di biomassa è la radiazione solare. Come ogni processo fisico, la produzione di microalghe non può superare il limite teorico in accordo con la prima legge della termodinamica:

$$\dot{E}_{in,area} \geq \dot{E}_{stored,area} \quad (4.15)$$

dove:

$\dot{E}_{in,area}$ = radiazione solare incidente sull'area di produzione, [W m^{-2}];

$\dot{E}_{stored,area}$ = energia chimica stoccata sotto forma di biomassa, [W m^{-2}];

ciò vuol dire che l'energia chimica stoccata non può superare la quantità di energia solare disponibile sulla superficie considerata.

La trasformazione dell'energia solare in energia chimica avviene attraverso un processo di fotosintesi, rappresentabile in prima approssimazione mediante la reazione elementare:



Attraverso l'Equazione 4.16 si assume che la forma basilare di molecola creata nel processo di fotosintesi per stoccare l'energia solare come energia chimica sia quella del carboidrato più semplice, ovvero la formaldeide (CH_2O), che corrisponde ad 1/6 della molecola del glucosio. Su base annua, la produzione massima teorica di biomassa P_{max} è data da:

$$P_{max} = \frac{\text{Mol}_{\text{CO}_2,rid} E_{carb}}{E_{bio}} \quad (4.17)$$

dove:

$\text{Mol}_{\text{CO}_2,rid}$ = moli di CO_2 ridotte a CH_2O per unità di superficie, [$\text{mol m}^{-2} \text{y}^{-1}$];

E_{carb} = calore di combustione di CH_2O , [J mol^{-1}];

E_{bio} = calore di combustione della biomassa, [J g^{-1}].

Le moli annue di CO_2 ridotte a formaldeide $\text{Mol}_{\text{CO}_2,rid}$, possono essere calcolate come:

$$\text{Mol}_{\text{CO}_2,rid} = \frac{E_{sun}(\%PAR / 100)}{E_{fot} QR} \quad (4.18)$$

dove:

E_{sun} = energia solare totale incidente sul sistema, [$\text{J m}^{-2} \text{y}^{-1}$];

%PAR = percentuale fotosinteticamente attiva dell'energia solare totale, [adim];

E_{fot} = energia media di una mole di fotoni, [J mol^{-1}];

QR = *quantum requirement*, [moli di fotoni/mole di CO_2 ridotta].

4.3.1 Energia solare totale: E_{sun}

Tale valore è consultabile tramite il sito online Photovoltaic Geographical Information System (*PVGIS Solar Irradiation Data, 2007*); per la località di Padova è pari a $4541,1 \text{ MJ m}^{-2}\text{y}^{-1}$.

4.3.2 Frazione fotosintetica dello spettro: %PAR

Durante la fotosintesi solo una porzione dell'energia totale incidente su un sistema di produzione di biomassa è effettivamente sfruttabile. Questa porzione è definita PAR, coincide con la frazione dello spettro che presenta lunghezze d'onda tra $400\div 700 \text{ nm}$ ed è pari a circa il 43% (*Enzo, 2012*).

4.3.3 Energia posseduta da un fotone: E_{fot}

Nota la lunghezza d'onda λ , l'energia di un fotone può essere calcolata con la legge di Planck:

$$E_{fot} = h \frac{c}{\lambda} \quad (4.19)$$

dove:

h = costante di Planck, pari a $6.63 \cdot 10^{-34} \text{ [J s]}$;

c = velocità della luce, pari a $2,998 \cdot 10^8 \text{ [m s}^{-1}\text{]}$;

λ = lunghezza d'onda, [m].

Nell'intervallo del PAR, E_{fot} assume un valore pari a 299 kJ mol^{-1} per $\lambda=400 \text{ nm}$ e 171 kJ mol^{-1} per $\lambda=700 \text{ nm}$; considerando una $\lambda_{media}=531 \text{ nm}$, l'energia posseduta da un fotone risulta pari a $225,3 \text{ kJ mol}^{-1}$.

4.3.4 Calore di combustione del carboidrato: E_{carb}

Questo termine rappresenta il contenuto energetico della formaldeide sintetizzata nella fotosintesi in virtù dell'*input* di energia solare. In letteratura (*Weyer et al., 2010*) il suo valore medio è assunto pari a $482,5 \text{ kJ mol}^{-1}$.

4.3.5 Quantum requirement: QR

Il termine QR rappresenta il numero di moli di fotoni richieste per ridurre una molecola di CO₂ a CH₂O; l'opinione del suo valore effettivo in letteratura non è unanime, ma quello che raccoglie maggiori consensi è di 8 moli di fotoni per mole di CO₂ (*Palma, 2011*).

4.3.6 Calore di combustione della biomassa: E_{biom}

Esso indica l'energia che viene sviluppata dalla combustione della biomassa (potere calorifico inferiore) e dipende dalla percentuale e dal tipo di lipidi che le microalghe sono capaci di accumulare. I valori variano tra 20÷24 MJ kg⁻¹; nell'Equazione 4.17 si è assunto un valore pari a 23,2 MJ kg⁻¹ (*Biller et Ross, 2011*).

4.3.7 %PAR massima convertibile in biomassa: %PAR_{max}

Si definisce %PAR_{max}, la percentuale teorica di luce PAR incidente sul reattore convertibile in biomassa:

$$\%PAR_{max} = \frac{E_{fix\ bio,max}}{E_{annuale}} \quad (4.20)$$

dove:

$E_{fix\ bio,max}$ = massima energia fissata in biomassa, pari a: $P_{bio,max} * E_{bio} * A$, [MJ y⁻¹];

$E_{annuale}$ = energia PAR incidente annualmente sul fotobioreattore, [MJ y⁻¹];

A = area del fotobioreattore, pari a 0,0208 m².

4.4 Produttività reale

Nell'Equazione 4.17 vanno aggiunti tre termini di efficienza (*Palma, 2011*) per superare le due ipotesi inizialmente fatte e riportate nel Paragrafo 4.3. La prima ipotesi (sfruttamento di tutti i fotoni incidenti sulla superficie del sistema) decade perché in realtà non tutti i fotoni vengono trasmessi al sistema a causa ad esempio dei fenomeni di riflessione da parte della superficie del PBR, ed inoltre non tutti i fotoni trasmessi sono effettivamente utilizzati, ma in parte la loro energia viene dissipata. La seconda ipotesi, invece, non vale nei sistemi reali perché parte dell'energia viene adoperata dalle microalghe per adempiere a funzioni cellulari quali la respirazione o la sintesi di molecole complesse, anziché per la produzione di biomassa.

Si ottiene così la produttività reale di biomassa P_r :

$$P_r = \frac{Mol_{CO_2,rid} E_{carb}}{E_{bio}} \cdot \eta_{tf} \cdot \eta_{uf} \cdot \eta_{ab} \quad (4.21)$$

dove:

η_{tf} = efficienza di trasmissione dei fotoni, [moli fotoni trasmessi/moli fotoni incidenti];

η_{uf} = efficienza di utilizzo dei fotoni, [moli fotoni utilizzati/moli fotoni trasmessi];

η_{ab} = efficienza di accumulo di biomassa, [adim].

4.4.1 Efficienza di trasmissione dei fotoni: η_{tf}

Questo fattore tiene conto delle perdite di energia solare incidente sul sistema produttivo dovute alla particolare geometria del PBR (riflessione e assorbimento da parte della superficie esterna dell'apparecchiatura) ed allo *scattering* della radiazione da parte delle particelle microalgali. Secondo dati di letteratura può raggiungere, in sistemi ottimizzati, valori del 90%.

4.4.2 Efficienza di utilizzo dei fotoni: η_{uf}

Esso tiene conto del fatto che, quando la cellula non si trova in condizioni ottimali di temperatura o di illuminazione, non riesce ad utilizzare tutti i fotoni assorbiti e dissipa parte dell'energia disponibile. In condizioni di sovrassaturazione assume valori tra 10÷30%, mentre in condizioni di sottosaturazione valori tra 50÷90%. Un valore attualmente conseguito nei sistemi reali si aggira intorno al 50%.

4.4.3 Efficienza di accumulo della biomassa: η_{ab}

L'efficienza di accumulo della biomassa quantifica il fatto che parte dell'energia viene adoperata per svolgere funzioni cellulari (mantenimento, respirazione, sintesi di molecole complesse, etc.) anziché essere accumulata come biomassa. Stime da letteratura (Weyer, 2010) indicano η_{ab} variabile tra 11÷88% a seconda del tipo di alga e delle condizioni operative. La parte relativa al mantenimento è, in genere, inclusa nel modello cinetico dei fotobioreattori mediante la costante di mantenimento esaminata nel Paragrafo 4.1.2.

La massima produttività teorica di biomassa e la massima %PAR convertibile in biomassa vengono stimate applicando le Equazioni 4.17 e 4.20 con valori per le tre efficienze pari al 100%.

I valori di tutti i termini delle equazioni ed i risultati sono riassunti in Tabella 4.2; da essa si evince che sul territorio di Padova la massima produttività di biomassa raggiungibile è di 26,14 kg m⁻² y⁻¹. Questa corrisponde al 27,91% del PAR.

Tabella 4.2 Sommario dei termini adoperati nelle Equazioni 4.17 e 4.20 per la stima della massima produttività e della massima %PAR convertibile in biomassa nel sistema microalgale utilizzato ($A=0,02808m^2$).

Termine	Simbolo	Unità di misura	Valore
Energia solare totale	E_{sun}	$\frac{MJ}{m^2y}$	4541,2
Frazione fotosintetica dello spettro	%PAR	$\frac{MJ_{PAR}}{MJ_{spettro}}$	43
Energia dei fotoni	E_{fot}	$\frac{kJ_{PAR}}{moli_{fot\ incidenti}}$	225,3
Contenuto energetico del carboidrato	E_{carb}	$\frac{kJ_{CH_2O\ creati\ come\ biomassa}}{moli_{CH_2O}}$	482,5
Contenuto energetico della biomassa	E_{biom}	$\frac{MJ_{biomassa\ accumulata}}{kg_{biomassa}}$	23,2
<i>Quantum requirement</i>	QR	$\frac{moli_{fot\ utilizzati}}{moli_{CO_2\ ridotte\ a\ CH_2O}}$	8
Efficienza di trasmissione dei fotoni	η_{tf}	$\frac{moli_{fot\ trasmessi}}{moli_{incidenti}}$	100%
Efficienza di utilizzo dei fotoni	η_{uf}	$\frac{moli_{fot\ utilizzati}}{moli_{fot\ trasmessi}}$	100%
Efficienza di accumulo della biomassa	η_{ab}	$\frac{kg_{biomassa\ accumulata}}{kg_{CH_2O\ crati}}$	100%
Moli di CO ₂ ridotte a CH ₂ O	$M_{CO_2\ rid}$	$\frac{moli_{CO_2\ ridotte\ a\ CH_2O}}{m^2y}$	1083
Produttività massima di biomassa	P_{max}	$\frac{kg}{m^2y}$	26,14
Energia massima fissata dalla biomassa	$E_{fix\ bio,max}$	$\frac{MJ_{biomassa\ max\ prodotta}}{y}$	12,61
Massima energia convertibile in biomassa	% E_{max}	$\frac{MJ_{max\ fissata\ dalla\ biomassa}}{MJ_{anuali\ incidenti}}$	13,35%
Massima %PAR convertibile in biomassa	%PAR _{max}	$\frac{MJ_{max\ fissata\ dalla\ biomassa}}{MJ_{PAR\ annuali\ incidenti}}$	27,91%

4.5 Efficienza fotosintetica

Un indice importante di prestazione di un fotobioreattore per la produzione di microalghe è l'efficienza fotosintetica ψ ; essa indica quanta dell'energia totale incidente sul reattore \dot{E}_{in} viene stoccata sottoforma di biomassa \dot{E}_{stored} :

$$\psi = \frac{\dot{E}_{stored}}{\dot{E}_{in}} \quad (4.22)$$

Il calcolo di \dot{E}_{stored} si riferisce ad un sistema in condizioni stazionarie, ossia quando la concentrazione microalgale estratta dal PBR non cambia nel tempo; lo si può ricavare in funzione dell'entalpia di formazione ΔH_f° di *Scenedesmus obliquus*. Quest'ultima, come vedremo, può essere calcolata a partire dal potere calorifico inferiore (LHV) dell'alga e dell'olio contenuto nella microalga stessa utilizzando dati di letteratura (*Biller et Ross, 2011*). L'energia totale che incide sulla superficie esterna del sistema di coltivazione microalgale \dot{E}_{in} , a seconda dell'intensità luminosa cui è sottoposto il PBR, è definita:

$$\dot{E}_{in} = I \cdot 0,217 \cdot E_{fot} A \quad (4.23)$$

dove:

\dot{E}_{in} = energia PAR incidente sulla superficie del fotobioreattore, [W];

I = intensità luminosa alla quale il fotobioreattore è esposto, [$\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$];

A = superficie del fotobioreattore esposta alla luce, [m^2];

E_{fot} = energia posseduta da un fotone, pari a 225,3 kJ mol⁻¹.

4.5.1 Entalpia di formazione *S. obliquus*: ΔH_f°

La variazione del contenuto entalpico $\Delta \dot{H}$ di una generica corrente dove ha luogo una reazione in continuo e in stato stazionario è definita:

$$\Delta \dot{H} = \dot{E}_{stored} = \sum_i \dot{m}_{i,out} H_{i,out} - \sum_i \dot{m}_{i,in} H_{i,in} \quad (4.24)$$

dove:

\dot{m}_{out} = portata in massa dei prodotti, [kg s^{-1}];

\dot{m}_{in} = portata in massa dei reagenti, [kg s^{-1}];

$H_{i,out}$ = entalpia specifica dei singoli prodotti, [J kg^{-1}];

$H_{i,in}$ = entalpia specifica dei singoli reagenti, [J s^{-1}];

i = indice di prodotto e di reagente.

Le entalpie specifiche sono calcolabili come:

$$H_i = \Delta H_f^0 + \int_{T_{rif}}^T c_p dT \quad (4.25)$$

dove:

ΔH_f^0 = entalpia standard di formazione, [J kg⁻¹];

c_p = calore specifico del gas ideale, [J kg⁻¹K⁻¹];

T_{rif} = temperatura di riferimento, [K].

La temperatura di riferimento è solitamente pari a 25 °C; assumendo che la crescita microalgale avviene ad una temperatura simile a quella di riferimento, il secondo termine può essere trascurato.

Si applica per prima cosa l'Equazione 4.24 ad un reattore di combustione, operante a 25 °C e 1 atm, alimentato da una corrente di 1 kg s⁻¹ di microalga, che viene suddivisa nei composti elementari. Le portate di questi elementi sono desunte dall'analisi elementare riportata in Tabella 4.1. In generale, il calore di combustione della reazione:



può essere valutato dalla:

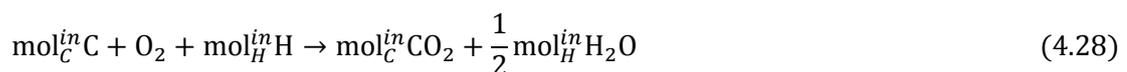
$$\Delta H_{comb,elem} = \Delta H_{f,prod}^0 - \Delta H_{f,elem}^0 \quad (4.27)$$

dove:

$\Delta H_{f,prod}^0$ = entalpia standard di formazione dei prodotti di combustione, [J kg⁻¹];

$\Delta H_{f,elem}^0$ = entalpia standard di formazione dei composti elementari, [J kg⁻¹].

Per il calcolo di $\Delta H_{f,prod}^0$ (prodotti principali: CO₂ e H₂O), consultabili in Tabella 2-220 (*Perry's Chemical Engineers' Handbook*: $\Delta H_{f,CO_2}^0 = -393,5$ KJ mol_{CO₂}⁻¹, $\Delta H_{f,H_2O}^0 = -285,8$ KJ mol_{H₂O}⁻¹), è necessario conoscere le portate molari dei prodotti per chilogrammo di alga alimentata al reattore di combustione. Pertanto la Reazione 4.26 va riscritta come:



dove:

$$\text{mol}_{C/H}^{in} = \frac{w_{C/H}^{in}}{MW_{C/H}} = \left[\frac{\text{kg}_{C/H} / \text{kg}_{alga}}{\text{kg}_{C/H} / \text{mol}_{C/H}} \right] \quad (4.29)$$

Le portate molari dei composti elementari alimentati al reattore di combustione e le portate molari dei prodotti di reazione, sono riassunte in Tabella 4.3:

Tabella 4.3 Portate massiche e molari dei composti elementari e dei prodotti di reazione per chilogrammo di alga alimentata al reattore.

Elemento	Rapporto di	Rapporto di
	portata massica [kg _i /kg _{alga}]	portata molare [kmol _i /kg _{alga}]
C	0,521	0,043
H	0,0804	0,0804
CO ₂	-	0,043
H ₂ O	-	0,0402

Allo stesso modo la combustione della microalga è esprimibile dalla reazione:



il cui calore di combustione può essere valutato:

$$\Delta H_{comb,alga} = \Delta H_{f,prod}^0 - \Delta H_{f,alga}^0 \quad (4.31)$$

In letteratura (*Biller et Ross, 2011*) si riportano i poteri calorifici superiori *HHV* di differenti specie microalgali. In questo studio, confrontando le diverse composizioni elementari, si è assunto un *HHV* per *S. obliquus* pari a 23,2 MJ kg⁻¹, cui corrisponde un *LHV*, indicato come $\Delta H_{comb,alga}$, di circa 22,4 MJ kg⁻¹. La differenza è il calore di condensazione del vapore d'acqua.

Combinando le Equazioni 4.27 e 4.31:

$$\Delta H_{f,alga}^0 = \Delta H_{f,prod}^0 - \Delta H_{comb,alga} \quad (4.32)$$

Con questa procedura si ottengono così i $\Delta H_{f,CO_2}^0$ e $\Delta H_{f,H_2O}^0$ pari, rispettivamente, a -16920,93 kJ kg_{alga}⁻¹ e -9720,92 kJ kg_{alga}⁻¹ e $\Delta H_{f,alga}^0$ risulta pari a -49041,85 kJ kg_{alga}⁻¹.

Capitolo 5

Risultati e discussione

Come osservato nel capitolo 3, *S. obliquus* cresce e raggiunge concentrazioni diverse, in stato stazionario, a seconda dell'intensità luminosa alla quale il PBR è stato sottoposto.

Nella prima parte di questo capitolo sono discussi e confrontati i risultati ottenuti a illuminazione costante, 150 e 1000 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$, a illuminazione simulata nelle diverse stagioni, inverno, primavera, estate ed autunno e ad illuminazione simulata a 10 Hz.

La seconda parte riguarda le simulazioni implementate in Matlab ed è suddivisa, a sua volta, in due sezioni: nella prima vengono descritte le simulazioni per gli esperimenti condotti a illuminazione costante, in quella successiva le simulazioni per gli esperimenti a illuminazione simulata nelle diverse stagioni.

5.1 Risultati sperimentali a confronto

Per due delle tipologie di esperimenti eseguiti in laboratorio, illuminazione costante e illuminazione simulata nelle diverse stagioni, si riporta una tabella riassuntiva, la quale, per ciascun esperimento contiene:

- periodo di realizzazione;
- irradianza incidente sul fotobioreattore;
- concentrazione di biomassa finale;
- produttività di biomassa, secondo l'Equazione 3.11;
- biomassa prodotta, secondo l'Equazione 3.12;
- energia convertita in biomassa, sia PAR che totale, come riportato nel paragrafo 4.3.7;
- frazione dell'energia PAR teoricamente convertibile in biomassa.

5.1.1 Illuminazione costante

In tabella 5.1 sono riportati i risultati degli esperimenti effettuati a illuminazione costante.

Da quanto già osservato nel capitolo 3, confrontando i due esperimenti condotti a illuminazione costante di 150 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$, si evince chiaramente che in un sistema continuo con riciclo si raggiunge una concentrazione di biomassa più alta rispetto allo stesso sistema funzionante senza riciclo. Nonostante l'elevata concentrazione di uscita, però, le prestazioni del reattore non migliorano nel momento in cui viene avviato il riciclo. Infatti, non solo la

produttività per unità di superficie è inferiore rispetto al sistema senza riciclo, ma anche l'energia convertita in biomassa è minore. In un PBR operante in modalità continua, la microalga sfrutta circa l'1% in più di energia PAR.

Aumentando l'intensità luminosa incidente sul fotobioreattore, si nota che *S. obliquus* raggiunge una concentrazione in biomassa nettamente più alta.

Nonostante l'elevata concentrazione finale e l'elevata produttività, però, dalla Tabella 5.1 è evidente come il forte irraggiamento diventa un fattore limitante, e causa una fotoinibizione nelle cellule; infatti, solo il 13,11% della massima frazione di PAR convertibile in biomassa (che rappresenta il 27,91% del PAR totale) viene trasformata.

Da quanto osservato, si conclude comunque che *S. obliquus* è una specie microalgale che resiste bene allo stress derivato da una variazione di intensità luminosa, assicurando ottimi risultati in termini sia di concentrazione finale di biomassa, sia di produttività, anche se l'efficienza fotosintetica è più bassa.

Tabella 5.1 *Tabella riassuntiva dei risultati ottenuti dagli esperimenti condotti a illuminazione costante.*

	Esperimento	Periodo (da - a)	Irradiation % PAR [$\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$]	Outlet Biomass Concentration [gL^{-1}]	Biomass Productivity [$\text{g L}^{-1}\text{days}^{-1}$]	Productivity [$\text{g m}^{-2}\text{days}^{-1}$]	Productivity [$\text{ton ha}^{-1}\text{year}^{-1}$]	Energy conversion (% PAR)	Energy conversion (% TOT)	Real energy conversion (%PAR/%PAR_{max})
Luce fissa	150 μE (senza riciclo)	27 marzo - 7 maggio	150	1,33	0,80	9,57	34,93	6,72	2,89	24,08
	150 μE (con riciclo)	13 aprile - 20 aprile	150	2,55	0,77	9,19	33,54	6,45	2,77	23,11
	1000 μE (con riciclo)	22 giugno - 13 luglio	1000	9,66	2,90	34,82	127,09	3,66	1,58	13,11

5.1.2 Illuminazione simulata nelle diverse stagioni

Obiettivo principale di questa tesi è stato valutare l'influenza della variazione della luce, durante il ciclo giorno-notte e nel corso delle varie stagioni, sulla crescita di *S. obliquus* in fotobioreattore continuo, con e senza riciclo. Come riportato nel capitolo 3, gli esperimenti sono stati condotti simulando non solo l'alternarsi del giorno e della notte, ma fornendo al fotobioreattore, ora dopo ora, la stessa intensità luminosa che si ha sul territorio di Padova in un tipico giorno di gennaio (rappresentativo della stagione invernale), di aprile (per la stagione primaverile), di luglio (per la stagione estiva), e di ottobre (per la stagione autunnale).

In Tabella 5.2 si riassumono i risultati ottenuti.

Una prima osservazione riguarda le concentrazioni di biomassa raggiunte in condizioni stazionarie: il valore più alto si verifica durante il mese di aprile con riciclo, la più bassa è raggiunta nel mese di gennaio senza riciclo.

La miglior produttività si ha nel mese di luglio; come per il PBR esposto a illuminazione costante di $1000 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$, però, anche in questo caso la percentuale di luce PAR convertita in biomassa è inferiore rispetto agli altri mesi simulati.

Sorprendente è invece la %PAR utilizzata dalla coltura microalgale nel mese di gennaio: circa il 41% della %PAR massima convertibile in biomassa. Questo risultato suggerisce che fornendo la giusta intensità luminosa al fotobioreattore, la microalga la sfrutta al massimo, limitando la dissipazione dell'energia in eccesso.

Infine si è osservato che anche in sistemi giorno/notte, l'aggiunta di una corrente di riciclo di biomassa al fotobioreattore non apporta vantaggi in termini né di produttività né di energia convertita in biomassa.

Tabella 5.2 *Tabella riassuntiva dei risultati ottenuti dagli esperimenti condotti a illuminazione simulata nelle diverse stagioni.*

	Esperimento	Periodo (da - a)	Irradiation % PAR [$\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$]	Outlet Biomass Concentration [g L^{-1}]	Biomass productivity [$\text{g L}^{-1}\text{days}^{-1}$]	Productivity [$\text{g m}^{-2}\text{days}^{-1}$]	Productivity [$\text{ton ha}^{-1}\text{year}^{-1}$]	Energy conversion (% PAR)	Energy conversion (% TOT)	Real Energy conversion (%PAR/%PAR_{max})
Cicli giorno-notte	Aprile (con riciclo)	8 maggio - 4 giugno	505,70	4,65	1,34	16,08	58,69	3,40	1,46	12,18
	Aprile (senza riciclo)	20 ottobre - 7 novembre	505,70	3,25	1,85	22,19	80,99	4,69	2,02	16,80
	Luglio (senza riciclo)	24 luglio - 4 settembre	661,08	3,78	2,14	25,77	94,06	4,17	1,79	14,94
	Ottobre (senza riciclo)	7 giugno - 21 giugno	343,84	2,72	1,54	18,55	67,71	5,77	2,48	20,67
	Ottobre (con riciclo)	7 giugno - 21 giugno	343,84	3,61	1,04	12,50	45,63	3,89	1,67	13,94
	Gennaio (senza riciclo)	5 settembre - 2 ottobre	175,17	2,76	1,57	18,84	68,77	11,50	4,95	41,20

Dai risultati sperimentali ottenuti, è stato anche possibile stimare la densità media di una cellula nelle diverse stagioni in pg/numero di cellule; si faccia riferimento alla Figura 5.1.

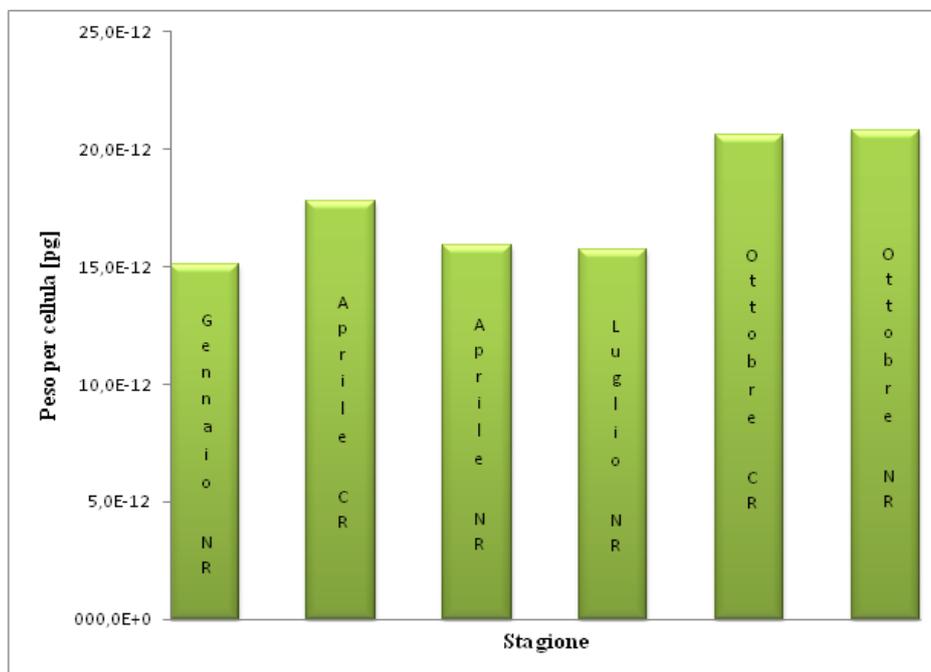


Figura 5.1 Peso medio delle cellule in pg/numero di cellule nelle diverse stagioni.

Dalla Tabella 5.3 si osserva che la massa delle cellule non varia molto nel corso dell'anno, fatta eccezione per la stagione autunnale in cui aumenta sensibilmente. Sulla base dei risultati ottenuti verrebbe da pensare che ad intensità luminose moderate, le cellule tendano ad ingrossarsi. In realtà potrebbe anche essere che, in soluzioni molto concentrate, le cellule hanno dimensioni inferiori per il semplice motivo che l'effetto di *self-shading* diventa determinante.

Tabella 5.3 *Tabella riassuntiva dei risultati ottenuti in stato stazionario nelle diverse stagioni.*

	Peso secco [g L⁻¹]	Numero di cellule/mL [cells mL⁻¹]	Peso per cellula [pg/numero cellule]	Peso medio per cellula [pg/numero cellule]
GENNAIO (senza riciclo)	3	191,1E+6	15,7E-12	
	2,63	182,7E+6	14,4E-12	15,1E-12
	2,8	185,0E+6	15,1E-12	
APRILE (con riciclo)	4,28	246,8E+6	21,0E-12	
	4,4	259,4E+6	17,7E-12	17,8E-12
	4,31	249,9E+6	15,1E-12	
	4,35	250,0E+6	17,5E-12	
APRILE (senza riciclo)	3,70	237,6E+6	15,6E-12	
	3,6	225,8E+6	15,9E-12	15,9E-12
	3,6	227,7E+6	15,8E-12	
	3,5	216,0E+6	16,2E-12	
LUGLIO (senza riciclo)	5,12	319,5E+6	16,0E-12	
	4,37	282,0E+6	15,5E-12	1,57E-11
	5,23	325,0E+6	16,1E-12	
	4,18	272,5E+6	15,3E-12	
OTTOBRE (con riciclo)	3,95	206,9E+6	19,1E-12	
	3,94	189,9E+6	20,7E-12	
	4,14	190,0E+6	21,8E-12	20,6E-12
	4,05	192,5E+6	21,0E-12	
	4	197,8E+6	20,2E-12	
OTTOBRE (senza riciclo)	2,54	122,5E+6	20,7E-12	
	2,34	112,5E+6	20,8E-12	
	2,61	126,0E+6	20,7E-12	20,8E-12
	2,4	115,5E+6	20,8E-12	
	2,51	120,8E+6	20,8E-12	

5.1.3 Illuminazione pulsata a 10 Hz

L'obiettivo di tale esperimento, come riportato nel capitolo 3, è stato di riprodurre quanto accade in un fotobioreattore: le microalghe, per effetto del mescolamento, alternano momenti di luce a momenti di buio. Come per gli esperimenti precedenti, la Tabella 5.4 riassume i risultati sperimentali ottenuti.

Dalla Tabella 5.4 si osserva come, nonostante la modalità di fornitura della luce e soprattutto la bassa concentrazione raggiunta in condizioni stazionarie, la concentrazione microalgale non va in *wash-out* se posta in un fotobioreattore che opera in condizioni continue.

Un fattore non trascurabile è la %PAR convertita in biomassa che è pari al 14,51% della %PAR_{max}. Questo valore è paragonabile a quello ottenuto durante le simulazioni delle stagioni. Ciò vuol dire che *S. obliquus* riesce a sfruttare al massimo la luce, nonostante essa sia fornita in maniera discontinua.

Tabella 5.4 Tabella riassuntiva dei risultati ottenuti dagli esperimenti condotti a illuminazione simulata a 10 Hz.

Esperimento	Periodo (da - a)	Irradiation % PAR [$\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$]	Outlet Biomass Concentration [g L^{-1}]	Biomass productivity [$\text{g L}^{-1}\text{days}^{-1}$]	Productivity [$\text{g m}^{-2}\text{days}^{-1}$]	Productivity [$\text{ton ha}^{-1}\text{year}^{-1}$]	Energy conversion (% PAR)	Energy conversion (% TOT)	Real Energy conversion (%PAR/%PAR_{max})	
Luce pulsata	10 Hz (senza riciclo)	7 settembre - 2 ottobre	150	0,8	0,48	5,77	2,06	4,05	1,74	14,51

5.2 Simulazioni

Per le due tipologie di esperimenti sui quali sono state effettuate simulazioni in Matlab, si riportano una descrizione del programma implementato e i risultati ottenuti.

5.2.1 Con illuminazione costante

Nel simulare il comportamento di una coltura microalgale in un fotobioreattore esposto a illuminazione costante, è essenziale conoscere il valore di assorbimento E_a e *back scattering* bE_s , nonché del termine di mantenimento μ_e secondo il modello di Cornet descritto nel capitolo 4, infatti, la distribuzione della luce lungo la profondità del fotobioreattore è legata a sua volta all'intensità luminosa incidente sulla superficie esterna ed alla velocità di crescita della coltura microalgale. Essendo impossibile misurare sperimentalmente l'irradianza lungo la profondità del reattore, un'ottima alternativa è quella di misurare sperimentalmente ogni giorno le *back irradiance*, ossia le irradianze dalla parte del PBR opposta a quella sulla quale incide la luce.

5.2.1.1 Programmi di calcolo

I programmi implementati in Matlab sono due:

- con *bilanci.m* è stata simulata la crescita microalgale in PBR, simulando la distribuzione della luce lungo la profondità del reattore $I_{dir}(z)$, secondo l'Equazione 4.1, la produzione di biomassa lungo la profondità del PBR $r_{x,t}$, secondo l'equazione 4.12, e la velocità di crescita media della biomassa $r_{x,n}$. Assumendo che il sistema in esame si comporti come un CSTR, la crescita microalgale è stata simulata secondo le Equazioni 3.5 e 3.6, a seconda che l'esperimento sia stato condotto in modalità continua con o senza riciclo.

Al programma sono forniti una concentrazione iniziale, che coincide con la concentrazione sperimentale misurata all'avvio (giorno zero), del singolo esperimento, l'intensità luminosa diretta che incide sulla superficie del reattore, i valori del coefficiente di assorbimento e di *back scattering*, ed una costante di mantenimento μ_e . Questi ultimi tre fattori sono un'ipotesi iniziale: variando E_a , bE_s e μ_e , come vedremo nella parte dedicata ai risultati da simulazione, si ottiene un ottimo *fitting* dei dati sperimentali.

- con *parametri.m* è stato effettuato un *fitting* sulle *back irradiance*. Sulla base dell'Equazione 4.1 è stato creato un vettore di *back irradiance* simulate prendendo, di giorno in giorno, l'ultimo valore delle $I_{dir}(z)$ giornaliere. Il vettore delle *back irradiance* calcolate è stato confrontato con quello delle *back irradiance* sperimentali;

il *fitting* è stato realizzato variando i coefficienti E_a e bE_s ; come funzione obiettivo si è utilizzata la:

$$fob = \sum_j^{NP} \varepsilon_{ij} = \sum_j^{NP} \text{norma} \left(\frac{I_{back,calc} - I_{back,exp}}{I_{back,exp}} \right) \quad (5.1)$$

Invece, il valore di μ_e è stato di volta in volta fittato in modo da riprodurre i profili di concentrazione di biomassa sperimentali.

5.2.1.2 Risultati

I risultati riportati di seguito riguardano, nell'ordine, gli esperimenti a illuminazione costante di $150 \mu E m^{-2} s^{-1}$ e $1000 \mu E m^{-2} s^{-1}$. I profili sperimentali sono confrontati con quelli simulati attraverso i programmi *bilanci.m* e *parametri.m*.

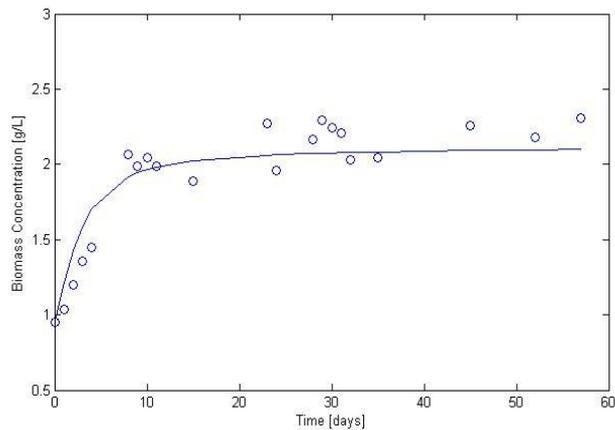


Figura 5.2 Crescita microalgale in PBR con riciclo, esposto a un'intensità luminosa costante di $150 \mu E m^{-2} s^{-1}$; i punti sono i dati sperimentali, la curva continua è il risultato della simulazione.

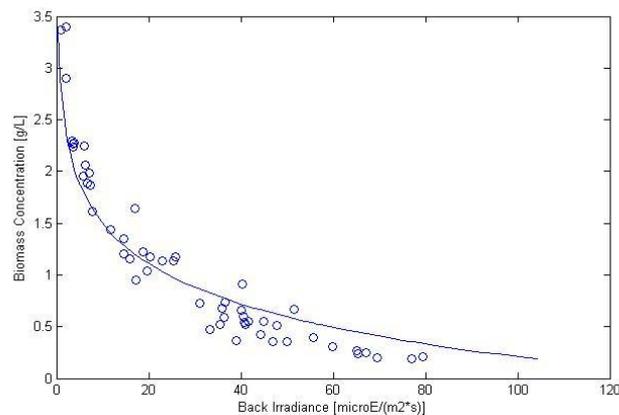


Figura 5.3 Back irradiance in PBR con riciclo, esposto a un'intensità luminosa costante di $150 \mu E m^{-2} s^{-1}$; i punti sono i dati sperimentali, la curva continua è il risultato della simulazione.

Dalle Figure 5.2 e 5.3 si nota come il modello riproduce in maniera più che soddisfacente i dati sperimentali per l'intensità di $150 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Per il *fitting*, i valori finali dei parametri sono:

$$E_a = 114 \text{ m}^2\text{kg}^{-1};$$

$$bE_s = 40 \text{ m}^2\text{kg}^{-1};$$

$$\mu_e = 8 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}.$$

I risultati relativi a illuminazione costante $300 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, sono riportati in Figura 5.4 e 5.5.

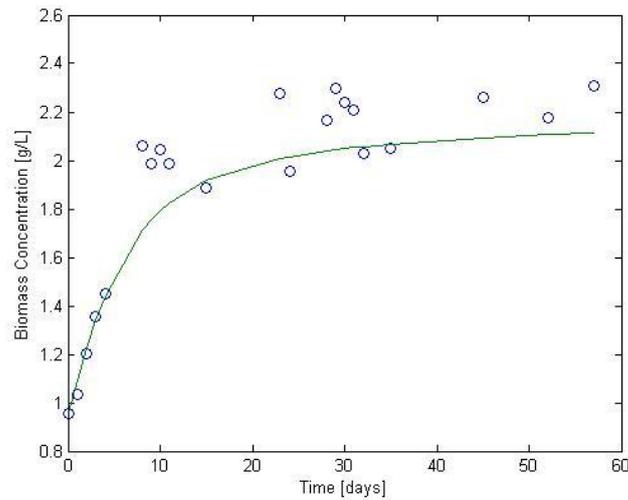


Figura 5.4 Crescita microalgale in PBR con riciclo, esposto a un'intensità luminosa costante di $300 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$; i punti sono i dati sperimentali, la curva continua è il risultato della simulazione.

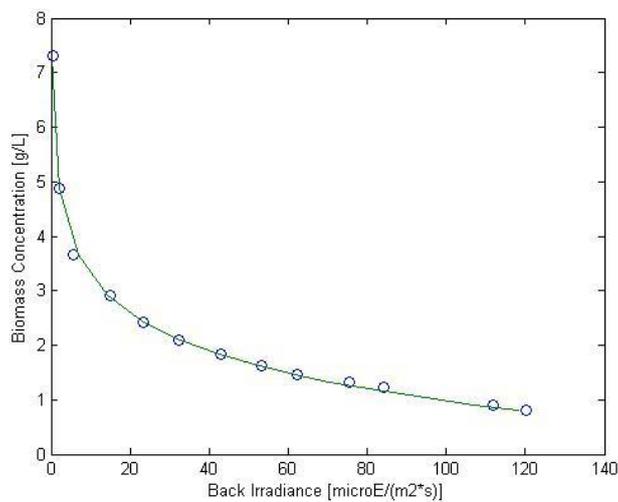


Figura 5.5 Back irradiance in PBR con riciclo, esposto a un'intensità luminosa costante di $300 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$; i punti sono i dati sperimentali, la curva continua è il risultato della simulazione.

Le Figure 5.4 e 5.5 mostrano che i dati sperimentali ad un'intensità luminosa di $300 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ sono nuovamente riprodotti. Il *fitting* dei dati sperimentali ha restituito i seguenti valori finali dei parametri:

$$E_a = 75 \text{ m}^2\text{kg}^{-1};$$

$$bE_s = 9 \text{ m}^2\text{kg}^{-1};$$

$$\mu_e = 1,2 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}.$$

Infine, I risultati relativi a illuminazione costante di $1000 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, sono riportati in Figura 5.6 e 5.7.

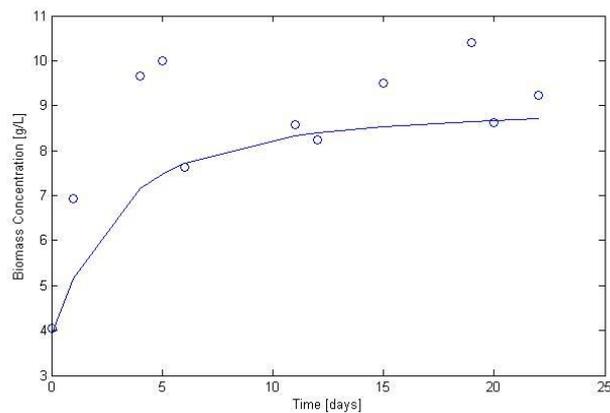


Figura 5.6 Crescita microalgale in PBR con riciclo, esposto a un'intensità luminosa costante di $1000 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$; i punti sono i dati sperimentali, la curva continua è il risultato della simulazione.

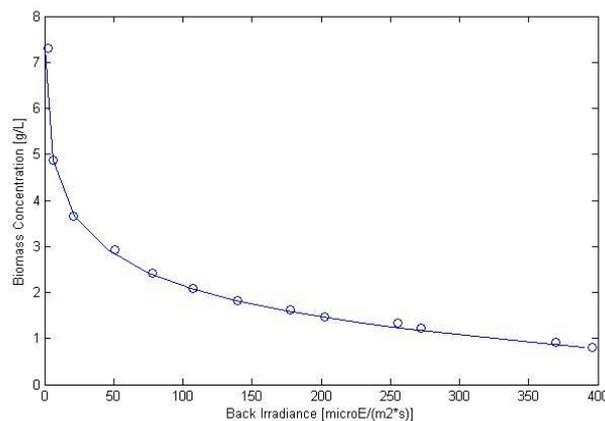


Figura 5.7 Back irradiance in PBR con riciclo, esposto a un'intensità luminosa costante di $1000 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$; i punti sono i dati sperimentali, la curva continua è il risultato della simulazione.

Anche in questo caso i risultati ottenuti sono molto soddisfacenti. Dal *fitting* dei dati sperimentali, sono stati ottenuti i seguenti valori finali dei parametri:

$$E_a = 80 \text{ m}^2\text{kg}^{-1};$$

$$bE_s = 5 \text{ m}^2\text{kg}^{-1};$$

$$\mu_e = 8 \cdot 10^{-4} \text{ h}^{-1}.$$

Si noti che i tre coefficienti sono più bassi di quelli ottenuti per le simulazioni a $150 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Si può ipotizzare che, nonostante la soluzione microalgale sia più concentrata (concentrazione a stazionario pari a $9,66 \text{ g L}^{-1}$) i fenomeni di *back scattering* siano inferiori. Per quanto riguarda l'assorbimento, una sua diminuzione era già ipotizzabile analizzando i risultati riassunti in Tabella 5.1; infatti rispetto agli esperimenti condotti a intensità luminose più basse, la %PAR convertita in biomassa è più bassa.

Infine, anche il termine di mantenimento risulta inferiore e questo porterebbe a pensare che le funzioni fisiologiche svolte dalle cellule a $1000 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ siano diverse da quelle svolte a $150 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Attraverso i programmi finora descritti, è possibile simulare la velocità di crescita media lungo l'asse (Figura 5.8). Essa, come definito nell'Equazione 4.8, è legata alla velocità di crescita lungo la profondità del reattore.

Noti la velocità di crescita media giornaliera in un fotobioreattore e la concentrazione di biomassa, è possibile calcolare la costante di crescita k , mediata lungo la profondità z del reattore (Figura 5.9).

I risultati delle simulazione riportate di seguito si riferiscono ad illuminazione costante pari a $150 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Per queste simulazioni sono stati confrontati due casi: nel primo si tiene conto del termine di mantenimento, nel secondo si ipotizza mantenimento nullo.

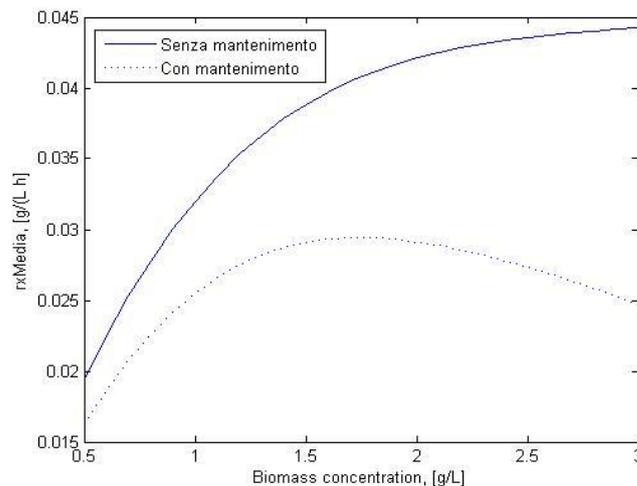


Figura 5.8 Andamento della velocità di reazione media rispetto la concentrazione di biomassa nel reattore a un'illuminazione costante di $150 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Confrontando le curve di Figura 5.8, si osserva come il termine di mantenimento influisce notevolmente sulle velocità di reazione medie, dopo aver raggiunto un picco in corrispondenza di una concentrazione di biomassa di circa $1,8 \text{ g L}^{-1}$, la velocità di reazione diminuisca.

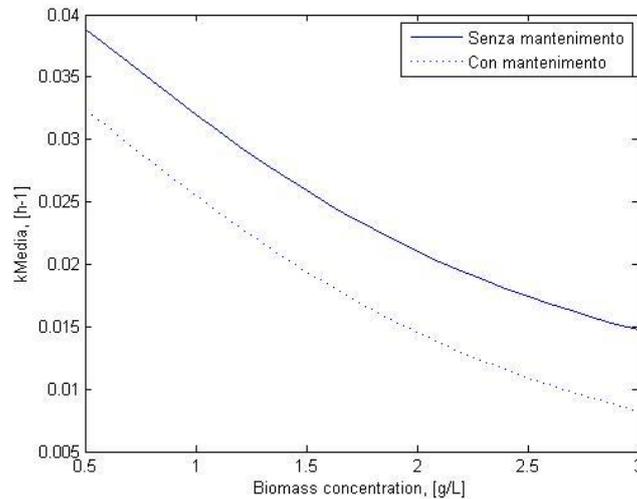


Figura 5.9 Andamento della costante di crescita media rispetto la concentrazione di biomassa nel reattore a un'illuminazione costante di $150 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Dalla Figura 5.9 si vede che i valori di k_{media} simulati variano in un intervallo compreso tra 0,8 e $0,2 \text{ d}^{-1}$; questi valori trovano riscontro negli esperimenti di crescita delle microalghe in reattori batch a diverse intensità luminose (Enzo, 2012 e Gris, 2012).

5.2.2 Con illuminazione giorno-notte nelle diverse stagioni

Così come per le simulazioni a illuminazione costante, anche in questo caso verranno descritti il programma implementato in Matlab e i risultati ottenuti nelle diverse stagioni. Sono stati simulati solo i casi senza riciclo.

Dopo aver osservato variazioni minime nelle curve di *fitting*, in tutti e quattro i casi è stato ipotizzato un coefficiente di assorbimento E_a pari a $114 \text{ m}^2 \text{kg}^{-1}$ e un coefficiente di *back scattering* bE_s pari a $5 \text{ m}^2 \text{kg}^{-1}$. Anche in questo caso il parametro che maggiormente ha influenzato il fitting dei dati sperimentali è il coefficiente di mantenimento μ_e .

5.2.2.1 Programmi di calcolo

Nelle simulazioni giorno-notte è stato implementato un metodo numerico di Eulero, esplicito per l'integrazione nel tempo. Dopo aver calcolato e salvato in un *.m file* le intensità luminose incidenti sul reattore (Equazione 4.7), il programma è stato suddiviso in tre parti, in funzione delle ore di luce e buio:

- 0 ÷ alba: in questo periodo, la luce è pari a zero e la velocità di reazione lungo la profondità z del reattore (Equazione 4.12) è data dal solo termine di mantenimento, negativo;
- alba ÷ tramonto: in questo periodo l'intensità luminosa cresce dall'alba fino ad un picco massimo, per poi diminuire fino al tramonto; la velocità di reazione in questa fase è determinata dall'Equazione 4.12, ossia sia dalla crescita che dal mantenimento;
- tramonto ÷ 24: in questo periodo, come nel primo, la luce è pari a zero e la velocità di reazione lungo la profondità z del reattore è data dal solo termine di mantenimento.

Attraverso il metodo di Eulero è possibile semplificare la risoluzione del bilancio di materia sul reattore senza riciclo descritto dall'Equazione 3.6. Ipotizzando un valore iniziale di concentrazione di biomassa nel reattore, la risoluzione dell'equazione differenziale si riduce a:

$$\Delta c_{x,out} = \left(-\frac{c_{x,out}^i}{\tau} + r_x \right) \Delta t \quad (5.2)$$

Da cui è possibile ricavare la concentrazione di biomassa nel reattore al giorno $i+1$:

$$c_{x,out}^{i+1} = c_{x,out}^i + \Delta c_{x,out} \quad (5.3)$$

dove:

$c_{x,out}^i$ = concentrazione alla i -esima iterazione, [g L⁻¹];

$c_{x,out}^{i+1}$ = concentrazione alla $i+1$ -esima iterazione, [g L⁻¹];

$\Delta c_{x,out}$ = variazione di concentrazione tra la i -esima e la $i+1$ -esima iterazione, [g L⁻¹];

Δt = passo di integrazione, [h].

Poiché l'algoritmo numerico di integrazione sia stabile è necessario dare un valore molto basso a Δt . Si è verificato che $\Delta t=0,024$ h è sufficiente in tal senso. Il programma di simulazione restituisce le concentrazioni nel reattore a partire dal secondo giorno di avvio dell'esperimento.

5.2.2.2 Risultati

Per ogni esperimento giorno-notte nelle diverse stagioni si presentano due grafici: il primo mostra la crescita giornaliera delle cellule nel reattore, il secondo confronta i risultati della simulazione con quelli sperimentali. Attraverso quest'ultimo grafico è possibile valutare la bontà del *fitting* aggiustando il solo termine di mantenimento μ_e .

Per il mese di gennaio, i risultati ottenuti sono riportati in Figura 5.10 e 5.11.

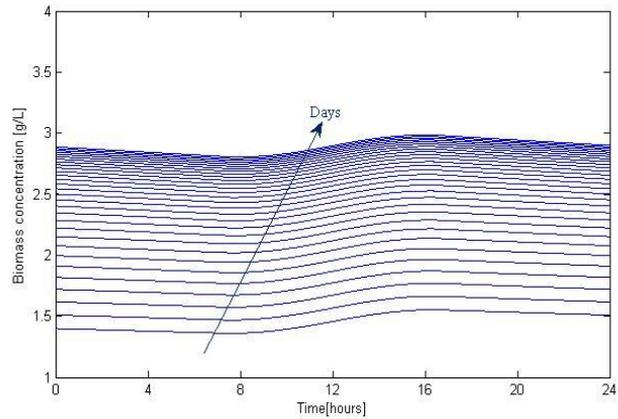


Figura 5.10 Crescita cellulare in PBR durante il mese di gennaio rappresentativo della stagione invernale. Il numero di curve corrisponde al numero di giorni simulati.

Dalla Figura 5.10 si vede chiaramente come la concentrazione di biomassa, all'aumentare dei giorni, raggiunge una stabilità ciclica stabilizzandosi ad un valore stazionario medio di circa $2,8 \text{ g L}^{-1}$ (Figura 5.11), dopo circa 20 giorni. Questo succede anche per le altre stagioni (grafici non riportati).

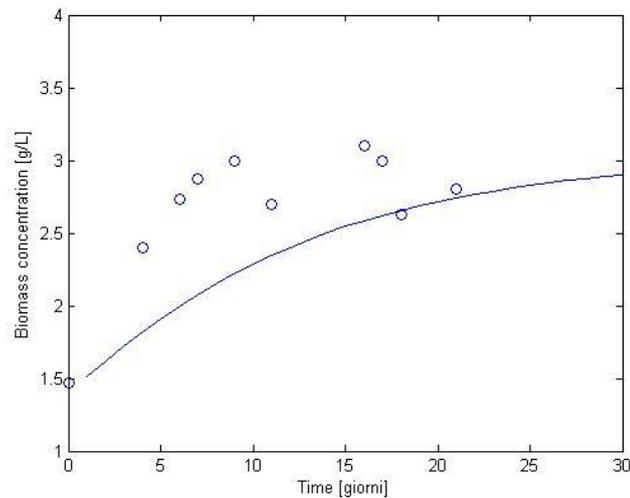


Figura 5.11 Crescita cellulare in PBR durante il mese di gennaio rappresentativo della stagione invernale. I punti sono I dati sperimentali, la curva continua è il risultato della simulazione.

Il *fitting* della curva continua riportata in Figura 5.11 è stato ottenuto con una costante di mantenimento pari a $3,8 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$. Per chiarezza, è stato diagrammato il solo valore medio della crescita cellulare nel tempo.

Per il mese di aprile, Figura 5.12, il *fitting* è stato ottenuto con una costante di mantenimento pari a $5,7 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$.

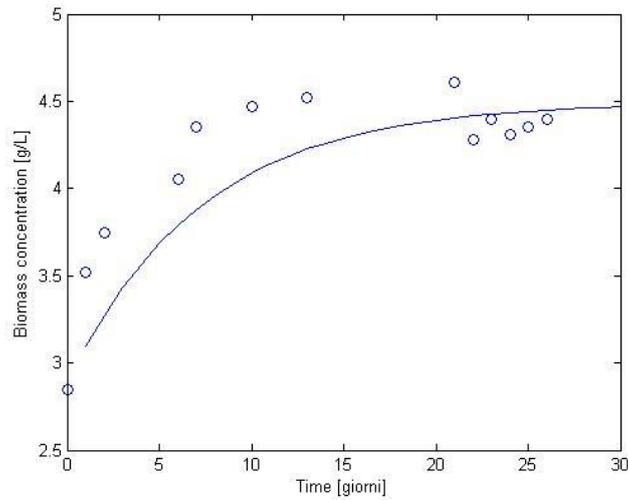


Figura 5.12 Crescita cellulare in PBR durante il mese di aprile rappresentativo della stagione primaverile. I punti sono I dati sperimentali, la curva continua è il risultato della simulazione.

La concentrazione media di biomassa raggiunta in condizioni stazionarie è di $4,3 \text{ g L}^{-1}$.

Per la stagione estiva (Figura 5.13) la costante di mantenimento che correla meglio i dati sperimentali è pari a $3,5 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$.

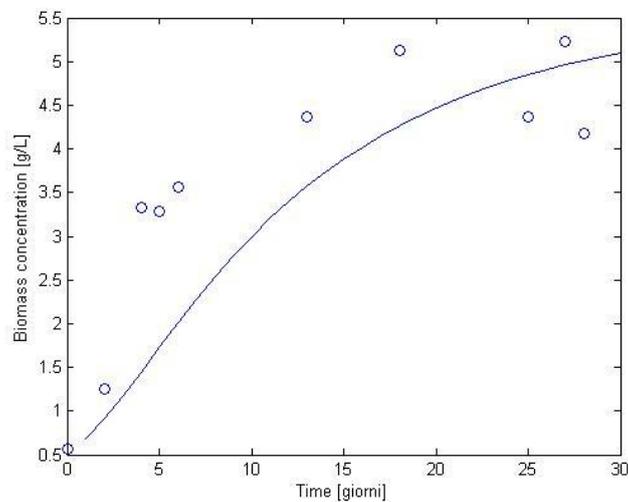


Figura 5.13 Crescita cellulare in PBR durante il mese di luglio rappresentativo della stagione estiva. I punti sono I dati sperimentali, la curva continua è il risultato della simulazione.

In questo caso la curva di *fitting* non raggiunge uno stazionario in 30 giorni come negli altri casi; l'andamento della curva, però, fa pensare, ed è stato verificato, che aumentando non di molto il numero di giorni, si raggiunge una concentrazione stazionaria prossima a quella media sperimentale di 5 g L^{-1} .

Infine, il mese di ottobre è ben rappresentato da una costante di mantenimento pari a $1,1 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$. Questa risulta essere la più alta concentrazione tra le costanti di mantenimento finora calcolate.

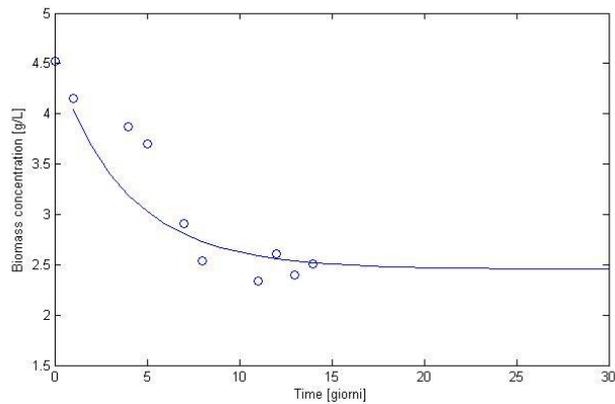


Figura 5.14 Crescita cellulare in PBR durante il mese di ottobre rappresentativo della stagione autunnale. I punti sono I dati sperimentali, la curva continua è il risultato della simulazione.

Dalla Figura 5.14 si può osservare una diminuzione della crescita microalgale, la quale si stabilizza ad un valore medio di $2,5 \text{ g L}^{-1}$; la simulazione, in questo caso, fitta in maniera eccellente i risultati sperimentali.

In Tabella 5.5 e 5.6 sono stati riassunti i diversi valori della costante di mantenimento ottenuti nelle simulazioni giorno-notte nelle diverse stagioni e ad illuminazione costante. Il valore particolarmente elevato di ottobre e $300 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ è di difficile spiegazione.

Tabella 5.5 Tabella riassuntiva dei valori delle costanti di mantenimento μ_e nelle diverse stagioni.

Stagione	Valore [h ⁻¹]
Inverno	$3,8 \cdot 10^{-3}$
Primavera	$5,7 \cdot 10^{-3}$
Estate	$3,5 \cdot 10^{-3}$
Autunno	$1,1 \cdot 10^{-2}$

Tabella 5.6 *Tabella riassuntiva dei valori delle costanti di mantenimento μ_e nelle diverse stagioni.*

Intensità [$\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$]	Valore [h^{-1}]
150	$8 \cdot 10^{-3}$
300	$1,2 \cdot 10^{-2}$
1000	$8 \cdot 10^{-4}$

Come si evince dalle Tabelle 5.5 e 5.6, la costante di mantenimento μ_e varia molto da esperimento ad esperimento e le simulazioni ad illuminazione costante e ad illuminazione giorno-notte sono molto sensibili alla variazione di questo parametro.

In Figura 5.15 è stata riportata la simulazione della crescita cellulare durante il mese di ottobre al variare di μ_e .

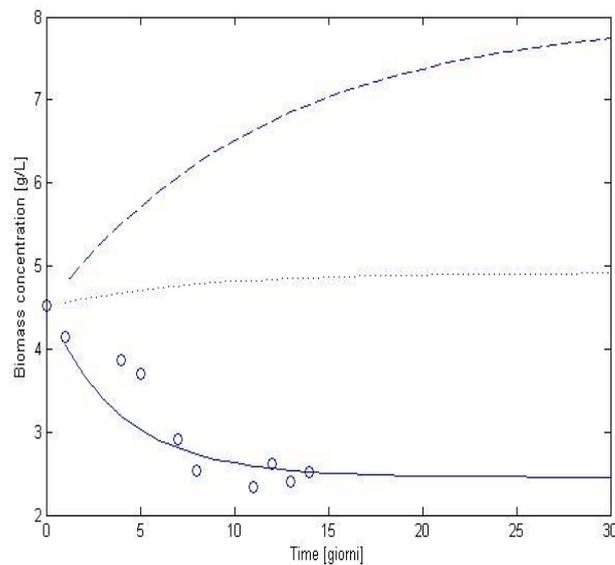


Figura 5.15 *Crescita cellulare in PBR durante il mese di ottobre rappresentativo della stagione autunnale. I punti sono I dati sperimentali, la curva continua è il risultato della simulazione a $\mu_e = 1,1 \cdot 10^{-2}$, la curva tratteggiata è il risultato della simulazione a $\mu_e = 3,8 \cdot 10^{-3}$, la curva a punti è il risultato della simulazione a $\mu_e = 5,7 \cdot 10^{-3}$.*

Dalla Figura 5.15 è evidente la forte sensibilità della crescita cellulare alla variazione della costante di mantenimento.

Alla luce dei risultati ottenuti, si suggerisce di misurare il parametro μ_e per valutare la dipendenza della costante di mantenimento dalla luce .

Conclusioni

In questa tesi è stato studiato l'effetto dell'intensità luminosa sul funzionamento di fotobioreattori per la produzione industriale di microalghe, con un approccio sia teorico sia sperimentale.

La crescita di *Scenedesmus obliquus* è stata approfondita su scala di laboratorio, in fotobioreattori tipo *flat-plate* funzionanti in modalità continua, con riciclo e senza riciclo.

Le prestazioni di questi fotobioreattori sono state poi simulate con un modello matematico sviluppato ad hoc.

Durante la fase sperimentale sono state svolte tre tipologie di esperimenti in continuo: ad illuminazione costante, ad illuminazione simulata giorno-notte nelle diverse stagioni, ed in luce pulsata. I risultati che si sono principalmente ricavati e confrontati sono: la concentrazione di biomassa raggiunta in condizioni stazionarie, la quantità di biomassa prodotta nel tempo, la produttività di biomassa per unità di superficie, e la percentuale di energia incidente sul reattore convertita in energia chimica sotto forma di biomassa.

Le illuminazioni costanti analizzate sono state di $150 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $300 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e di $1000 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Nel primo caso gli esperimenti sono stati condotti sia con riciclo che senza riciclo. Dai risultati si è concluso che l'impiego del riciclo, se da un lato aumenta la concentrazione di biomassa in uscita, dall'altro fa diminuire la produttività. Anche la percentuale di energia luminosa stoccata sottoforma di biomassa è minore. All'intensità di $1000 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ la concentrazione ha raggiunto valori molto alti, quasi 10 g L^{-1} , ma la percentuale di energia trasformata in biomassa è circa il 40% inferiore al valore ottenuto a $150 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, confermando che la dissipazione di energia in fotobioreattori esposti ad intensità luminose elevate è notevole.

Utilizzando un'apposita lampada a led collegata ad un *controller* programmabile, sono state simulate, in cicli giorno-notte, le diverse intensità luminose registrate sul territorio di Padova durante le quattro stagioni, assumendo come mesi rappresentativi: gennaio, aprile, luglio ed ottobre. Per confronto, ad aprile ed ottobre sono stati condotti esperimenti in continuo con riciclo e senza riciclo; appurato che il riciclo anche in questo caso non apportava benefici al sistema, gli esperimenti per i mesi di gennaio e di luglio sono stati condotti senza riciclo. Il risultato più interessante è stato ottenuto per il mese di gennaio, per il quale è stata registrata una percentuale di utilizzo dell'energia PAR per la produzione di biomassa pari all'11,5%, a fronte del 3,4%÷5,77% registrato nelle altre stagioni ed a confronto della massima percentuale teoricamente raggiungibile (26,7%). Questo risultato ha confermato che l'intensità luminosa è la prima variabile ad influire fortemente sulla crescita microalgale: per

bassi valori di intensità le cellule sono meno stressate e sono capaci di sfruttare al meglio l'energia luminosa alla quale sono esposte, evitando fenomeni di fotoinibizione.

Si è infine condotto un esperimento in luce pulsata, sempre in modalità continua e senza riciclo. Fornire la luce in maniera intermittente permette di simulare il mescolamento in una sospensione concentrata all'interno del reattore. Infatti, durante la loro permanenza nel reattore, le cellule alternano fasi di esposizione alla luce e fasi di buio. Dai risultati è stato appurato che il sistema, nonostante si trovi in condizione di forte stress, non va in *wash-out*, ma si stabilizza su di un valore di concentrazione accettabile, di $0,8 \text{ g L}^{-1}$.

Per la parte di simulazione, è stato programmato in Matlab il modello di Cornet, generalizzato da Pruvost, sia a luce costante sia con cicli giorno-notte nelle diverse stagioni. Sono state così simulate sia la distribuzione della luce lungo la profondità del reattore, sia la crescita delle microalghe, con risultati molto buoni. Variando i parametri di assorbimento, di *back scattering* e di mantenimento è stato possibile fittare i dati sperimentali ed ottenere valori a stazionario molto simili a quelli sperimentali. Per le simulazioni a luce costante è stata osservata una forte variazione in tutti e tre questi parametri: ad intensità luminose elevate le cellule assorbono meno energia ed i processi di mantenimento coinvolti sono volti a riparare i danni subiti, facendo diminuire il termine di mantenimento.

Per quanto riguarda le simulazioni in giorno-notte, invece, si è visto che l'unico parametro a risentire fortemente delle condizioni nelle diverse stagioni è la costante di mantenimento.

Gli esperimenti condotti ed i risultati ottenuti costituiscono un passo avanti nella ricerca sulle microalghe finalizzata alla produzione industriale di biocarburanti. Naturalmente l'effettiva applicazione di queste tecnologie su larga scala richiede che vengano approfonditi ancora molti aspetti, quali, la geometria del fotobioreattore, la distribuzione delle velocità e delle temperature al suo interno.

Nomenclatura

ACRONIMI

CSTR = *continuous stirred tank reactor*

GI = *global irradiation*

HHV = *upper heating value*

LHV = *lower heating value*

MW = peso molecolare

OD = *optical density*

PAR = radiazione fotosinteticamente attiva

PBR = *photobioreactor*

LETTERE GRECHE

α = coefficiente lineare di *scattering*, [adim]

ε = coefficiente di estinzione, [$\text{m}^2 \text{cell}^{-1}$]

η_{ab} = efficienza di accumulo della biomassa, [adim]

η_{tf} = efficienza di trasmissione dei fotoni [moli di fotoni trasmessi/moli di fotoni incidenti]

η_{uf} = efficienza di utilizzo dei fotoni [moli di fotoni utilizzati/moli di fotoni trasmessi]

θ = inclinazione della radiazione solare diretta rispetto alla perpendicolare uscente dal piano inclinato della superficie del reattore, [rad]

λ = lunghezza d'onda, [nm]

μ_e = costante di mantenimento, [h^{-1}]

Φ = resa quantica per lo schema-Z della fotosintesi, [$\text{kg } \mu\text{E}^{-1}$]

Ψ = efficienza fotosintetica, [adim]

τ = tempo di permanenza nel reattore, [h]

ρ_m = massima conversione energetica per la conversione dei fotoni, [adim]

LETTERE ROMANE

A = superficie del fotobioreattore esposta alla luce, [m^2]

A_{750} = assorbanza a $\lambda = 750 \text{ nm}$, [adim]

b = frazione di *back scattering*, [adim]

bE_s = coefficiente di *back scattering* massivo, [$\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$]

c = concentrazione cellulare, [cellule mL^{-1}]

c_b = concentrazione di biomassa della corrente riciclata al reattore, [g L^{-1}]

c_p = calore specifico, [$\text{J kg}^{-1} \text{K}^{-1}$]

c_x = concentrazione di biomassa, [kg m^{-3}] o [g L^{-1}]

$c_{x,in}$ = concentrazione di biomassa della corrente in ingresso al reattore, [kg m⁻³] o [g L⁻¹]
 $c_{x,out}$ = concentrazione di biomassa della corrente in uscita dal reattore, [kg m⁻³] o [g L⁻¹]
 $E_{annuale}$ = energia PAR incidente annualmente sul fotobioreattore, [MJ y⁻¹]
 E_a = coefficiente di assorbimento, [m² kg⁻¹]
 E_{bio} = calore di combustione della biomassa, [J g⁻¹]
 E_{carb} = calore di combustione del carboidrato (formaldeide), [J mol⁻¹]
 $E_{fix\ biom,max}$ = energia massima fissata dalla biomassa, [MJ y⁻¹]
 E_{fot} = energia media di una mole di fotoni, [J mol⁻¹]
 \dot{E}_{in} = energia PAR incidente sul fotobioreattore, [W]
 $\dot{E}_{in,area}$ = radiazione solare incidente sull'area di produzione, [W m⁻²]
 E_s = coefficiente di *scattering* massivo, [m² kg⁻¹]
 \dot{E}_{stored} = energia stoccata sotto forma di biomassa, [W]
 $\dot{E}_{stored,area}$ = energia stoccata sull'area di produzione, [W m⁻²]
 E_{sun} = energia solare totale incidente mediamente in un anno sul territorio di Padova [J m² y⁻¹]
 h = costante di Planck = 6,63 · 10⁻³⁴ [J s]
 h = profondità del reattore, [m]
 $H_{i,in}$ = entalpia specifica dei singoli reagenti, [J s⁻¹]
 $H_{i,out}$ = entalpia specifica dei singoli prodotti, [J s⁻¹]
 I = intensità luminosa, [μE m⁻² s⁻¹]
 $I(z)$ = radiazione fotosinteticamente attiva, [μE m⁻² s⁻¹]
 $I(0)$ = radiazione globale che giunge sulla superficie del reattore [μE m⁻² s⁻¹]
 $I_{back,calc}$ = *back irradiance* calcolate, [μE m⁻² s⁻¹]
 $I_{back,exp}$ = *back irradiance* sperimentali, [μE m⁻² s⁻¹]
 $I_{dif}(0)$ = irradianza PAR diretta sulla superficie del reattore, [μE m⁻² s⁻¹]
 $I_{dif}(z)$ = irradianza PAR diretta alla profondità z , [μE m⁻² s⁻¹]
 $I_{dir}(0)$ = irradianza PAR diffusa sulla superficie del reattore, [μE m⁻² s⁻¹]
 $I_{dir}(z)$ = irradianza PAR diretta alla profondità z , [μE m⁻² s⁻¹]
 k = velocità di crescita specifica, [d⁻¹]
 K = costante di saturazione per la fotosintesi, [μE m⁻² s⁻¹]
 K_a = coefficiente di assorbimento della biomassa [m² g⁻¹]
 n_c = moli di carbonio, [mol]
 n_{fot} = moli di fotoni, [mol]
 $Mol_{CO_2,rid}$ = moli annue di CO₂ ridotte a carboidrato per m² di sistema produttivo, [moli m⁻²]
 MW_i = peso molecolare del componente -iesimo, [g mol⁻¹]
 mol_i = moli del componente -iesimo, [mol]
 P_{max} = Produttività massima di biomassa per unità di superficie, [g m⁻² y⁻¹]
 P_x = produttività di biomassa, [g L⁻¹ d⁻¹]
 P_b = biomassa prodotta, [g d⁻¹]

$QR = \text{Quantum requirement}$, [moli fotoni/mole CO₂ ridotta]
 $r_x =$ velocità di produzione di biomassa, [g L⁻¹ d⁻¹]
 $r_{x,n} =$ velocità netta di produzione di biomassa, [g L⁻¹ d⁻¹]
 $r_{x,m} =$ velocità di crescita legata ai processi di mantenimento, [g m⁻³ s⁻¹]
 $r_{x,media} =$ velocità media di produzione di biomassa, [g L⁻¹ d⁻¹]
 $r_{x,p} =$ velocità di crescita legata ai processi di fotosintesi, [g m⁻³ s⁻¹]
 $V_R =$ volume del reattore, [L]
 $w_i =$ frazione ponderale del componente i -esimo, [adim]
 $x_{alga} =$ peso molecolare della biomassa, [g mol⁻¹]
 $z =$ dimensione verticale del reattore, [m]
 $\%PAR =$ percentuale fotosinteticamente attiva dell'energia solare totale, [adim]
 $\%PAR_{max} =$ massima % dell'energia PAR convertibile in biomassa, [adim]
 $\%E_{max} =$ massima % dell'energia incidente convertibile in biomassa, [adim]

Bibliografia

Amaro M. Helena, Catarina Guedea A., Xavier Malcata F. (2011). “Advances and perspectives in using microalgae to produce biodiesel”. *Applied Energy*, **88**, 3402-3410.

Biller P. e Ross, A.B. (2011). “Potential yields and properties of oil from the hydrothermal liquefaction of microalgae with different biochemical content”. *Bioresource Technology*, **102**, 215-225.

Bligh, E. G., and W. J. Dyer. (1959). “A rapid method of total lipid extraction and purification”. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, **37**, 911-917.

Brennan, L. e Owende, P. (2010). “Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing and extractions of biofuels and co-products”. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **14**, 557-577.

Cornet, J.F., Dussap, C.G. e J.B. Gros (1995). “A simplified mono dimensional approach for modeling coupling between radiant light transfer and growth kinetics in photobioreactors”. *Chem. Eng. Sci.*, **50**, 1489-1500.

Enzo M. (2012). “Sviluppo di un impianto pilota per la produzione di microalghe: misure di laboratorio e progetto di impianto”, MA tesi, Facoltà di Ingegneria, Dipartimento di Ingegneria Industriale.

Ghasemi Y., Rasoul-Amini, A. T. Naseri, Montazeri-Najafabady N., Mobasher M. A., and F. Dabbagh (2011), “Microalgae Biofuel Potentials (Review)”. *Applied Biochemistry and Microbiology*, **48**, 126-144.

Gris B. (2012). “ Coltivazione di *Scenedesmus obliquus* in fotobioreattori: effetto dell'intensità luminosa”.

Luo, H. P. e M.H. Al-Dahhan (2003). “Analyzing and Modeling of Photobioreactors by Combining First Principles of Physiology and Hydrodynamics”. *Biotechnol. Bioeng.*, **85**, 382-393.

Mata, T.M., Martins, A.A. e N.S. Caetano (2009). “Microalgae for biodiesel production and other applications: a review”. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **14**, 217-232.

MacDougall, Karen M., Jesse McNichol, Patrick J. McGinn, Stephen J. B. O'Leary, and Jeremy E. Melanson (2011). “Triacylglycerol profiling of microalgae strains for biofuel feedstock by liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry”. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **401**, 2609-1616.

Palma G. (2011). “Produzione di microalghe in fotobioreattori: influenza della luce e sfruttamento della biomassa esausta”, MA tesi, Facoltà di Ingegneria, Dipartimento di Principi e Impianti di Ingegneria Chimica “I. Sorgato”.

Posten, C. (2009). “Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae”. *Eng. Life Sci.*, **9**, 165-177.

Pruvost, J., Cornet, J.F., Goetz, V., J. Legrand (2010). “Modeling Dynamic Functioning of Rectangular Photobioreactors in Solar Conditions”. *AIChE J.*, **57**, 1947-1960.

Pruvost, J., Van Vooren, G., Le Gouic, B., Couzinet-Mossion, A., Legrand, J. (2011). “Systematic investigation of biomass and lipid productivity by microalgae in photobioreactors for biodiesel application”. *Bioresource Technology*, **102**, 150-158.

PVGIS Solar Irradiation Data (2007), [PVGIS© European Communities, 2001-2007].
<http://re.jrc.ec.europa.eu/pvgis/apps/radmonthphp?lang=en&map=europe/>

Sauli Emma, Sarbatly Rosalam (2012). “Conversion of microalgae to biofuel”. *Renwable and Sustainable Energy Rewies*, **16**, 4316-4342.

Tang, D. et al. (2011). “CO₂ biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO₂ levels”, *Bioresource Technology*, **102**, 3071–3076.

Weyer, K.M., Bush, D.R., Al Darzins e B.D.Wilson (2010). “Theoretical maximum algal oil production”. *Bioenergy Res*, **3**, 204–213.