Impianto di produzione integrata di biocombustibili da microalghe

Selezione ceppi algali a fini energetici

FEDERAZIONE ITALIANA PER
L'USO RAZIONALE DELL'ENERGIA

Versione 1.1

Agosto 2021

FEDERAZIONE ITALIANA PER
L'USO RAZIONALE DELL'ENERGIA

Hanno collaborato alla stesura del presente documento:
Eleonora Staffieri, Nazzareno De Angelis

Data di pubblicazione: 31 agosto 2021.

La distribuzione del presente documento nella sua interezza è consentita purché effettuata a titolo gratuito. Singole parti, grafici e tabelle possono essere riprodotte citando chiaramente ed esaustivamente la fonte (FIRE, Federazione italiana per l'uso razionale dell'energia).

Si declina ogni responsabilità per qualunque danno o conseguenza indesiderata derivanti dall'uso dei contenuti di questo documento.

FEDERAZIONE ITALIANA PER L'USO RAZIONALE DELL'ENERGIA

Chi è FIRE

La Federazione Italiana per l'uso Razionale dell'Energia - FIRE - è un'associazione tecnico-scientifica indipendente e senza finalità di lucro, fondata nel 1987 dall'ENEA e da due associazioni di energy manager e riconosciuta giuridicamente, il cui scopo e promuovere l'uso razionale dell'energia e delle altre risorse ai fini di una più estesa tutela ambientale, supportando attraverso le attività istituzionali e servizi erogati chi opera nel settore e favorendo – in collaborazione con le istituzioni di riferimento – un'evoluzione positiva del quadro legislativo e regolatorio.

La FIRE ha circa 350 associati che rappresentano tutta la filiera dell'energia, dai fornitori di tecnologie ai produttori di energia, dalle utility alle ESCO, da imprese ed enti consumatori di energia agli EGE e agli altri professionisti di settore.

La FIRE gestisce dal 1992, su incarico a titolo non oneroso del Ministero dello Sviluppo Economico, la rete degli energy manager individuati ai sensi della Legge 10/1991, recependone le nomine e promuovendone il ruolo attraverso varie iniziative.

Nel 2008 la Federazione ha avviato il SECEM (www.secem.eu), una struttura interna senza scopo di lucro dedicata alla certificazione delle competenze degli Esperti in Gestione dell'Energia, in accordo con la norma UNI CEI 11339. Il SECEM è stato accreditato nel 2012 secondo la norma ISO 17024.

I numeri della FIRE:

- circa 300 soci
- oltre 2.300 energy manager
- oltre 1.400 partecipanti ai convegni organizzati annualmente
- circa 2.000 partecipanti ai webinar organizzati annualmente
- oltre 800 partecipanti ai corsi di formazione annualmente
- oltre 400 certificati EGE SECEM emessi
- oltre 400 risposte via mail a quesiti di soci ed energy manager ogni anno
- circa 600 contributi pubblicati sui propri media e social e su quelli di terzi ogni anno
- oltre 50 indagini realizzate e 50 rapporti e guide pubblicati negli ultimi dieci anni
- oltre 70 commesse realizzate negli ultimi dieci anni per studi, ricerche, formazione e consulenze
- 16 progetti europei realizzati negli ultimi dieci anni
- 3-5 documenti di posizionamento e osservazioni prodotte ogni anno.

Definizioni *5*

Glossario *6*

Obiettivi del lavoro 7

Capitolo 1 La valle del Sacco *8*

1.1 Cenni Storici 8
1.2 Inquinamento ambientale 9
1.2.1 L'emergenza ambientale 10
1.2.2 Il Sito di Interesse Nazionale 11
1.2.3 Progetti di recupero e bonifica 13
1.2.4 Il B- Esaclorocicloesano 14
1.2.5 Qualità dell'aria 14

Capitolo 2 Le microalghe nel settore dei biocombustibili *16*

2.1 Le microalghe 16
2.2 Biocombustibili da microalghe 17
2.2.1 Tipologie di combustibili 18
2.3 Selezione ceppi algali 19
2.4 Coltivazione microalghe 20
2.4.1 Tipologie di metabolismo 20
2.4.2 Modello di crescita e parametri di coltivazione 22
2.4.3 Fattori che influenzano la produttività 23
2.4.4 Metodi di coltivazione 24
2.5 Principali limiti da affrontare e possibili soluzioni 26
2.5.1 Trattamento acque reflue 27
2.5.2 Digestione anaerobica e produzione co-prodotti 27

Capitolo 3 L'impianto integrato *29*

3.1 Caratteristiche impianto pilota 29
3.2 Innovazione e future implementazioni 33
3.3 Selezione ceppi algali 33
3.4 Valore strategico del progetto 35
3.4.1 Valore ambientale 35
3.4.2 Valore sociale e professionale 35
3.5 Bioavio e Biodiesel 35
3.6 Sviluppo sostenibile 36
3.7 Crediti di carbonio 36

Conclusioni *37*

Definizioni

Biomassa: Insieme molto eterogeneo di materiali organici. Secondo il decreto legislativo n. 378/2003 per biomassa si intende: "La parte biodegradabile dei prodotti, rifiuti e residui provenienti dall'agricoltura (comprendente sostanze vegetali ed animali) e dalla silvicoltura e delle industrie connesse, nonché la parte biodegradabile dei rifiuti industriali ed urbani".

Credito di carbonio: Unità di carattere finanziario che rappresenta la rimozione di una tonnellata di CO_2 equivalente dall'atmosfera. Rappresenta l'emissione di gas ad effetto serra (GHG) che è stata evitata, ridotta o sequestrata attraverso un progetto e che può essere acquistata come mezzo per compensare le emissioni.

Fotobioreattori: Sistemi colturali ottimali per la crescita di microrganismi fotosintetici. In genere sono sistemi chiusi o aperti di varie forme e dimensioni (usualmente tubolari o a pannelli) costruiti in modo da consentire il controllo di diversi parametri colturali ed il passaggio della luce.

Fotosistema: Complesso molecolare incluso nella membrana dei tilacoidi e attivo nella fase luminosa della fotosintesi clorofilliana. Contiene differenti pigmenti fotosintetici (clorofille, carotenoidi) che hanno il compito di assorbire l'energia luminosa. Esistono due tipi di fotosistemi (I e II), che si differenziano per il tipo di molecola eccitata nel processo di assorbimento dell'energia luminosa.

Flocculazione: Processo chimico-fisico conseguente alla coagulazione in cui le particelle colloidali presenti in una dispersione si uniscono fra loro per dare aggregati di dimensione maggiore (flocculi) che si depositano facilmente.

Flottazione: Operazione che consiste nell'insufflare un gas (in genere aria) all'interno di una vasca agitata dove è presente un liquido e uno o più componenti solidi in sospensione. Tale processo consente di dividere i componenti che hanno maggiore affinità con il gas, che sono trascinati verso il pelo libero della vasca, e quelli che hanno maggiore affinità con il liquido, che precipitano sul fondo.

Glossario

VCS Verified Carbon Standard

CDM Clean Development Mechanism

GHG gas ad effetto serra

HCH esaclorocicloesano

PM_{10} Particolato formato da particelle con dimensioni inferiori di 10 µm

SO_2 Anidride solforosa

O_3 Ozono

CO Monossido di carbonio

CH_4 Metano

H_2 Idrogeno

NH_3 Ammoniaca

CO_2 Anidride carbonica

NH_4^+ Ammonio, catione monovalente che si forma in soluzione per reazione tra l'ammoniaca e l'acqua

SIN Siti d'Interesse Nazionale

BCO Basso contenuto oleaginoso

MCO Medio Contenuto Oleaginoso

ECO Elevato Contenuto Oleaginoso

PBR Fotobioreattori chiusi

TDS Solidi Disciolti Totali

VOC Composti Organici Volatili

Obiettivi del lavoro

La "Valle del Sacco" è un territorio situato tra la provincia di Roma e quella di Frosinone attraversato dal fiume Sacco, da cui prende il nome. Tale area dal 2005 è stata riconosciuta come Sito di Interesse Nazionale a causa del rilevamento, in diverse matrici ambientali, di alte concentrazioni di β-esaclorocicloesano. Nelle acque del fiume Sacco, tuttavia, sono presenti anche altre sostanze chimiche e composti dannosi per l'ambiente e la salute, derivanti da discariche e siti industriali presenti nell'area. In particolare, le acque del fiume presentano differenti caratteristiche che ne determinano una limitata possibilità di utilizzo. Tuttavia, nonostante la difficilissima situazione da anni si sta lavorando al suo recupero**.**

Il progetto proposto mira a migliorare la qualità complessiva delle acque attraverso la creazione di un impianto di fitodepurazione utilizzando specie microalgali in grado di diminuire il quantitativo di composti inquinanti e sequestrare CO_2 dall'ambiente, rappresentando al contempo una preziosa risorsa per la produzione di biocombustibili.

Differenti soluzioni impiantistiche e progettuali, come l'utilizzo di un sistema naturale per lo scorrimento dell'acqua e la raccolta delle microalghe, l'utilizzo di acque direttamente prelevate dal fiume e la creazione di un sistema che permetta lo sfruttamento di ogni sottoprodotto di lavorazione, rendono l'intero progetto oltremodo sostenibile.

Inoltre, la produzione di biocombustibili di terza generazione si sta sempre più dimostrando un'alternativa efficiente e sostenibile per la produzione energetica, e l'utilizzo di aree interdette, quindi non utilizzabili per produzioni food, permetterebbe la riconversione di aree ad oggi inutilizzate, donando nuovo valore al territorio.

In aggiunta, i biocombustibili presentano il pregio di ridurre le emissioni di CO_2 in atmosfera rispetto ai combustibili fossili; le emissioni rilasciate nella combustione corrispondono ai quantitativi fissati per fotosintesi dalle biomasse di origine. Tutto ciò, legato all'elevata efficienza energetica dell'intero impianto e alla capacità delle microalghe di sottrarre 1,83 ton di CO_2 dall'ambiente per tonnellata di biomassa prodotta, porta alla creazione di un sistema a bilancio nullo di carbonio, costituendo una soluzione ideale nonché vantaggiosa per il territorio in cui verrà inserito.

Capitolo 1

La valle del Sacco

La Valle del Sacco, storicamente nota come Valle Latina, è una regione storico-geografica del Lazio, situata in massima parte nella provincia di Frosinone e in parte nell'area meridionale della città metropolitana di Roma. Essa costituisce la più ampia sezione pianeggiante del Lazio interno ed è considerata il baricentro geografico ed agricolo della provincia. La denominazione della valle deriva dal fiume che l'attraversa, il fiume Sacco, che nasce dal versante orientale dei Monti Prenestini e scorre verso sud-est per una lunghezza complessiva di 87 km, attraversando la Valle Latina tra i Monti Ernici a nord-est e i Monti Lepini a sud-ovest, confluendo infine nel Liri. Il fiume, caratterizzato da un corso articolato, che alterna zone di ampia portata a restringimenti, rappresenta da sempre la principale risorsa idrica della zona, concorrendo allo sviluppo economico e urbanistico dell'area [1].

1.1 Cenni Storici

A fine Ottocento, nonostante flebili iniziative imprenditoriali, l'area appariva sostanzialmente sottosviluppata, ma dagli inizi del Novecento divenne protagonista di un importante sviluppo industriale ad opera dell'industria bellica. Nel 1911 infatti furono acquistati, dalla società «Società Bombrini Parodi Delfino» (BDP) i primi ettari di terreno per la produzione di acido nitrico, balistite, dinamite e per la purificazione della glicerina [2; 3]. Lo sviluppo strutturale degli stabilimenti, che non si arrestò neanche con il termine della Prima guerra mondiale, determinò profonde trasformazioni nel territorio che andarono ad interessare l'area agricola e il patrimonio forestale del comune di Ceccano.

Tra il 1918 e il 1927 la BPD iniziò anche a produrre calce, cementi e prodotti intermedi (acido solforico, glicerina). Durante il secondo conflitto mondiale si ebbe un'ulteriore fase di espansione dell'azienda con la creazione di nuovi stabilimenti per la produzione di tritolo e nitrocellulosa e nuovi reparti atti ad ampliare la gamma delle produzioni esplosive. Al termine della guerra, vi fu un ampio processo di riconversione produttiva partendo dall'agricoltura. Vi furono tentativi di trasformazione e rilancio con lo sviluppo di un'attività zootecnica specializzata e un adeguamento di ampi spazi dedicati al granoturco per l'alimentazione animale [3;4].

A partire dal secondo dopoguerra molte aziende si insediarono nell'area e l'industria divenne prerogativa assoluta del processo di ricostruzione provinciale, grazie all'aumento delle importazioni di materie prime e di tecnologie che favorirono una massiva crescita, soprattutto dell'industria chimica. In particolare, la BPD potenziò il collegamento con il mercato chimico in due

direzioni, quella industriale (sintesi dell'anidride ftalica, maleica e delle resine di poliestere) e quella agricola (antiparassitari, insetticidi, anticrittogamici, diserbanti e fertilizzanti fosfatici). Tra il 1955 e il 1956, inoltre, fu avviata una nuova sezione tessile per la produzione di una fibra sintetica poliammidica [4].

Nonostante l'enorme sviluppo, l'esistenza di numerose realtà industriali frammentate non permetteva di garantire il mantenimento di una azienda autonoma. Per questo nei primi anni '60 venne istituito, al fine di irrobustire l'intero settore del bacino sfruttandone al meglio le risorse, il "Nucleo di industrializzazione della Valle del Sacco", che permetteva di congiungere in un unico asse tutte le realtà sparse sul territorio. Tale area, di estensione totale pari a 400 ettari da destinare alle nascenti industrie, venne trasformata in "Area di sviluppo industriale", formalizzando giuridicamente una fase di crescita ormai avviata in tutta la provincia [5]. Tra i nuovi insediamenti spiccavano ancora i nomi della BPD, Osim Plocco, Snia Viscosa e Plasti Sud. Seguirono successivamente le industrie: Clipper Oil Italiana, Italfornaci, Cemamit, Xiloplast, Ilfem Sud e Klopman [6].

Nel marzo del 1970 il Consiglio dei ministri approvò il piano regolatore dell'area. La superficie passò, pertanto, dagli iniziali 400 a 2.500 ettari di estensione. In quegli anni circa un quinto della popolazione attiva risultava impegnata nel settore agricolo, mentre in quello industriale circa il 45%. Verso la fine del '900 l'industria chimica si sviluppò a tal punto da divenire il tratto caratteristico dell'intera area [9].

1.2 Inquinamento ambientale

Già a seguito del secondo conflitto mondiale si ebbero le prime evidenze di inquinamento della Valle del Sacco. Infatti, nel 1947 fu inviato da alcuni agricoltori un esposto con il quale informavano il Ministero dell'Agricoltura di una serie di casi di morie di pesci riscontrati nell'area [7]. Negli anni successivi chiari sintomi di degrado furono registrati anche presso altre località del frusinate. Proprio in quegli anni, varie realtà produttive avevano ottenuto i nulla osta per le attività di scarico industriale, nonostante ad alcune di esse fosse già stata riconosciuta la responsabilità di attività di sversamento di materiali potenzialmente dannosi. L'inquinamento fluviale in quel lasso di tempo risultava circoscritto nell'area in cui operavano noti stabilimenti chimici e di lavorazione di materiali acidi [8].

Verso la fine degli anni Sessanta il problema della scarsa regolazione in materia di gestione idrica e l'assenza di sistemi di depurazione si imponeva in tutta la sua dimensione, con conseguenza

soprattutto nel settore agricolo. Infatti, fu evidenziata la diffusione ambientale di sostanze quali insetticidi, antiparassitari e relativi metaboliti nei prodotti agricoli e negli animali. In particolare, gli effetti della diffusione di tali sostanze furono evidenziati dall'ingresso nella catena alimentare di alcuni isomeri dell'esaclorocicloesano (HCH), della famiglia dei composti organo-clorurati impiegati sin dagli anni '50 principalmente in pesticidi ed antiparassitari [9]. Dagli anni '70 la produzione degli HCH diminuì fino alla totale cessazione, ma questo provvedimento comportò il loro stoccaggio in varie discariche a cielo aperto, in particolare nell'area di Colleferro. A causa della loro elevata persistenza e di fenomeni di lisciviazione, i residui continuarono a defluire nel fiume Sacco.

Nel 1971 le condizioni del fiume diventarono disastrose: analisi svolte dall'Ufficio Medico Provinciale nello stesso anno constatarono la quasi totale assenza di sistemi di depurazione degli scarichi. Inoltre, nel 1977 un'indagine condotta dal Consiglio Nazionale delle Ricerche rilevò che nel polo industriale anche lo smaltimento dei rifiuti tossici solidi non avveniva in modo regolare. I rifiuti venivano sistemati in fusti metallici per poi essere bruciati insieme ad altri residui di lavorazione [10].

Durante gli anni '80, alla Regione Lazio fu affidata la realizzazione di un impianto di depurazione per i rifiuti industriali e la ricerca di aree di discarica controllata, con un auspicio di svolgimento non oltre il 1984. Dopo un breve periodo di apparente miglioramento, alcuni eventi concorsero ad impedire il procedere delle opere di bonifica [11]. Inoltre, diverse disfunzioni dei nuovi sistemi di depurazione e la scarsa attenzione riservata a tali apparati si rivelarono tra le principali cause di nuovi processi di contaminazione. In tale contesto i comuni iniziarono a prendere iniziative autonome, vietando l'utilizzo delle acque per uso umano o agro-zootecnico.

I rilevamenti che attestavano l'avanzato stato di degrado si susseguirono fino agli anni '90, quando un'indagine congiunta della Guardia di Finanza e delle Unità Sanitarie Locali (USL) rivelò la presenza di enormi quantitativi di rifiuti industriali abbandonati nelle aree precedentemente occupate dagli stabilimenti BPD. Nonostante l'obbligo di bonifica dei siti del 1993 della Corte di Cassazione del Tribunale di Velletri, non vi furono molti cambiamenti [12].

1.2.1 L'emergenza ambientale

Nel marzo 2005, durante alcuni controlli, l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana ha rilevato nel latte di un'azienda bovina di Gavignano un livello di β-esaclorocicloesano (ß-HCH) circa 20 volte superiore al limite di legge (0,003 mg/kg). Questo rilevamento ha

determinato storicamente l'inizio dello stato di emergenza ambientale del bacino fiume Sacco [13]. Da allora il governo ha bloccato l'attività di numerose aziende del luogo, l'uso dei foraggi, la produzione di latte e carne ed è ha dichiarato lo stato d'emergenza per i comuni di Colleferro, Gavignano; Segni; Paliano; Anagni; Sgurgola; Morolo; Supino, Ferentino. A seguito dell'emergenza scaturita dai controlli, il Presidente della Regione fu nominato Commissario Delegato per le attività di sorveglianza ambientale ed epidemiologica con lo scopo di garantire la sicurezza delle produzioni agricole e la tutela della sanità pubblica. A tal fine, venne istituita un'apposita Unità di Crisi e vennero effettuati continui monitoraggi della Valle a livello agricolo, zootecnico, ambientale e sanitario [14]. Il β-esaclorocicloesano fu rilevato non solo nel latte, ma anche nei terreni agricoli, nelle relative colture e nel grasso degli animali allevati in prossimità delle rive del fiume. Il veicolo della diffusione è stato dunque identificato nell'acqua del fiume stesso che, attraverso l'irrigazione e di esondazioni nelle aree ripariali, veicola le molecole di β-HCH con conseguenti rischi per la salute pubblica attraverso la catena alimentare. L'emergenza ha imposto alle Istituzioni l'abbattimento dei capi allevati in aree considerate a rischio e l'interdizione all'uso per la produzione alimentare (produzioni food) delle aree a rischio [15].

Le indagini condotte misero in evidenza che l'esaclorocicloesano utilizzato come insetticida fosse stato prodotto nell'area industriale di Colleferro fino alla fine degli anni '80 (RM). Nell'89 in un'area all'interno dei possedimenti ex-BDP furono rinvenuti numerosi fusti interrati contenenti residui di lavorazioni industriali con ingenti quantitativi di esaclorocicloesano. Da tali indagini si concluse che la presenza di esaclorocicloesano nelle varie matrici ambientali ed alimentari dovesse essere imputata ad un non corretto smaltimento dei rifiuti e dalla presenza di discariche a cielo aperto che, nel corso del tempo, avevano determinato la contaminazione lungo l'intera catena trofica.

Accanto al monitoraggio ambientale vennero avviati una serie di studi epidemiologici sulla popolazione locale che dimostrarono una contaminazione di carattere cronico dovuta all'assorbimento e all'accumulo nel tempo di tale pesticida con un aumento dei tassi di mortalità e d'incidenza di varie patologie respiratorie e tumorali riconducibili alla contaminazione chimica [16;17].

1.2.2 Il Sito di Interesse Nazionale

Nel 2005 il territorio è stato inserito tramite la disposizione introdotta all'articolo 11-quaterdecies, comma 15 della Legge n. 248/05 tra i Siti di Interessa nazionale (SIN). Successivamente il sito è stato perimetrato (DM n. 4352 del 31 /01/2008) e rideterminato (DM n. 321 del 22 /11/ 2016). Il

perimetro individuato, di oltre 6.000 ettari, si estende sul territorio di competenza di 19 comuni tra le Provincie di Roma e Frosinone. Le principali criticità del SIN, che ad oggi rappresenta il terzo sito territoriale più inquinato d'Italia, sono rappresentate dalla presenza di aree produttive che necessitano di interventi per la messa in sicurezza e la caratterizzazione in quanto riscontrate problematiche derivanti dalla potenziale contaminazione e abbandono di rifiuti, anche interrati [18].

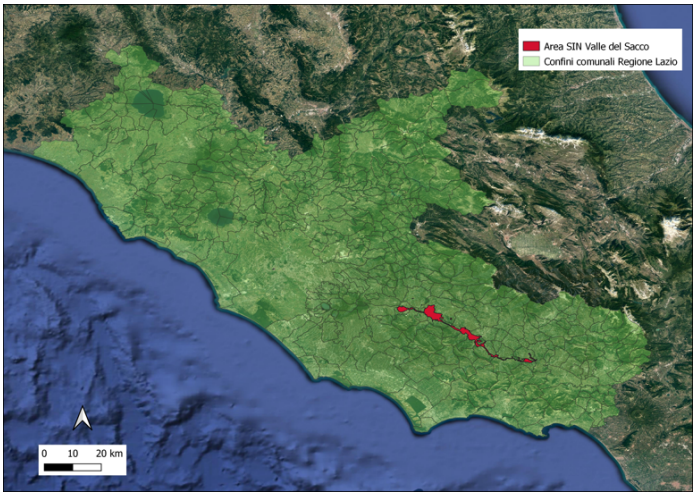

Figura 1: SIN Bacino del fiume Sacco.

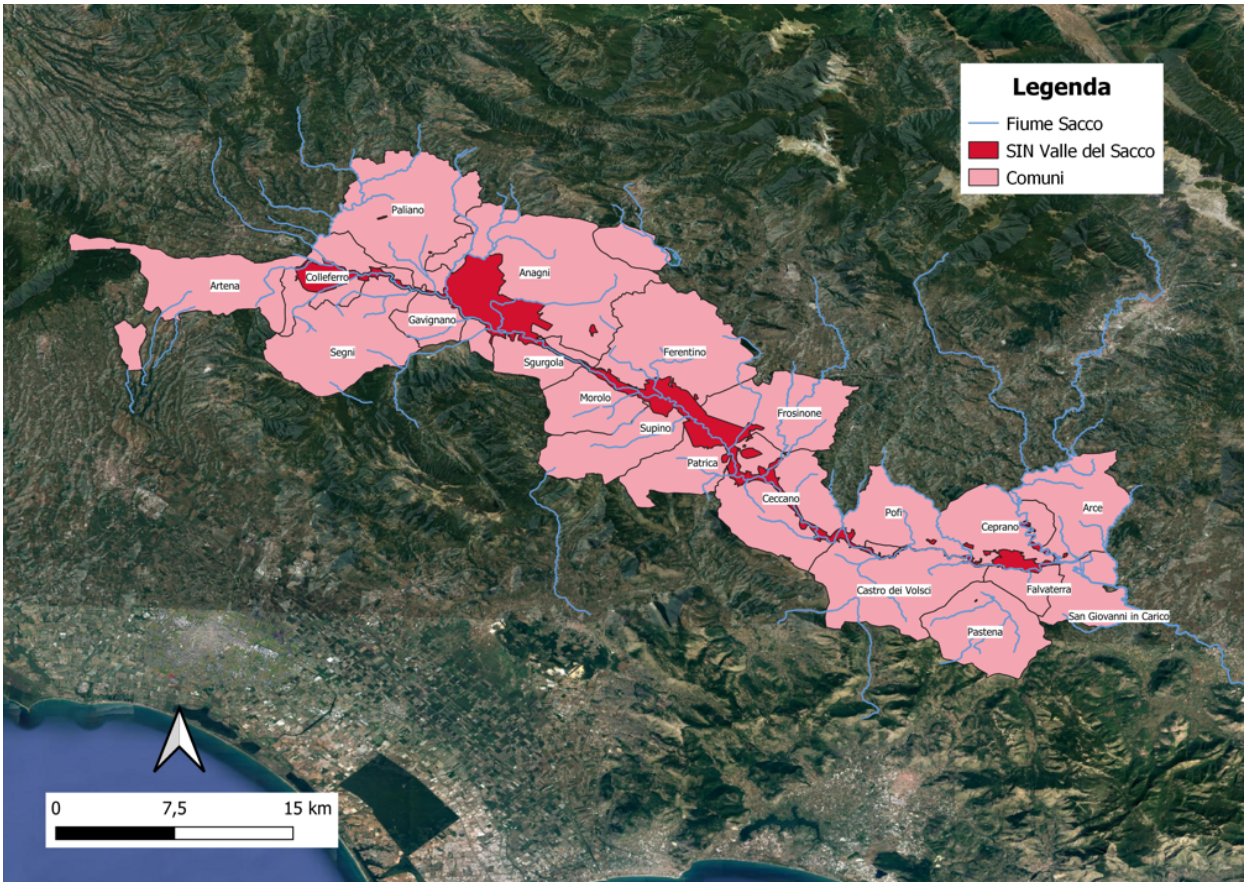

Figura 2: Comuni attraversati dal SIN Bacino del fiume Sacco.

1.2.3 Progetti di recupero e bonifica

Nonostante la difficilissima situazione in cui verte la Valle del Sacco, si sta, da diversi anni, lavorando al suo recupero. Inizialmente sono state proposte diverse soluzioni per ridare produttività attraverso la green economy; come l'istituzione del primo "distretto agro energetico d'Italia" che aveva lo scopo di bonificare i terreni tramite agricoltura destinata alla produzione d'energia da biomasse [19; 20]. Inoltre, a partire dal 2006, la Regione Lazio, in collaborazione con diversi istituti di Ricerca, diede avvio ad una serie di progetti mirati alla bonifica del territorio.

Ad esempio, nel 2008, in collaborazione con l'Istituto di Biologia Agro-Ambientale e Forestale (IBAF) del CNR di Roma, diede avvio ad un progetto volto alla verifica della possibilità di produrre bioenergia con effetti di disinquinamento del suolo contaminato. Vennero avviate procedure per la brevettazione di un processo di bonifica tramite di piante, enzimi e batteri selezionati. La sperimentazione prevedeva l'esecuzione di *test* su cloni di piante adatte alla coltivazione in turni brevi, in associazione con ammendanti e sistemi microbiologici (batteri e funghi) in grado di rendere più rapida la degradazione degli inquinanti negli strati superficiali del suolo. Il progetto terminò nel 2011 e evidenziò l'efficacia del processo di bonifica *in situ*, consentendo di ottenere una riduzione della contaminazione da HCH del 30%. Tuttavia, tali risultati lasciarono ancora aperta la questione della contaminazione ambientale che richiede a tutt'oggi, monitoraggi ambientali costanti [21].

Nel marzo 2019 è stato siglato il protocollo per la messa in sicurezza del Sito di Interesse Nazionale della Valle del Sacco, con un totale di risorse stanziate pari a 53 milioni di euro. Tale piano prevede la messa in sicurezza e la bonifica del SIN mediante una serie di interventi tra cui: messa in sicurezza e caratterizzazione di aree pubbliche o private individuate all'interno del perimetro del SIN, monitoraggio delle acque per uso potabile, domestico e per uso agricolo, avvio degli interventi relativi alla bonifica del suolo, sottosuolo ed acque sotterranee nell'area e l'istituzione di un Comitato tecnico per assicurare massima trasparenza e partecipazione. La Regione Lazio, Ente beneficiario delle risorse, risulta responsabile del controllo e del monitoraggio per la realizzazione degli interventi. Nell'ottobre dello stesso anno sono stati avviati i lavori di messa in sicurezza permanente per il cantiere di bonifica Area Arpa 2 (Colleferro). Il valore complessivo dell'intervento risulta superiore a 4 milioni di euro, con un cronoprogramma che prevede che tutte le azioni vengano ultimate entro 16 mesi.

Ad aprile del 2021 tale atto è stato modificato, rimodulando interventi e modalità di programmazione ed aggiungendo risorse per ulteriori interventi, non previsti in prima battuta.

Tale passaggio ha permesso lo stanziamento di oltre 10 milioni di euro dei Fondi di Sviluppo e Coesione del Ministero alle attività di messa in sicurezza della discarica di Via Le Lame (Frosinone) e per il potenziamento delle indagini epidemiologiche.

Nell'ambito del protocollo, sono stati redatti diversi documenti relativi alla Caratterizzazione delle Aree Agricole Ripariali, il Monitoraggio acque per uso potabile, irriguo e domestico e il Programma di valutazione epidemiologica [18].

1.2.4 Il B- Esaclorocicloesano

L'esaclorocicloesano (HCH) è una miscela di isomeri costituita dal 53-70% di α-HCH, 3-14% di β-HCH, 11-18% di γ-HCH, 6-10% di δ-HCH e il restante 3-10% da altri isomeri. L'isomero β è il più stabile e anche il più persistente e tossico. Negli anni in cui era permesso l'uso di esaclorocicloesano come insetticida (Lindano), i residui di β-HCH erano presenti in quasi il 100% della popolazione degli USA. L'uso globale di HCH tecnico è stato stimato in circa 550.000 t. L'HCH è tossico per i pesci, per gli uccelli e per i mammiferi. Il γ-HCH presenta il maggiore potere insetticida e, separato dagli altri isomeri per cristallizzazione frazionata, è stato commercializzato con il nome di Lindano a partire dai primi anni 50. Il Lindano è meno persistente del DDT ma ha una azione più rapida e uno spettro di azione ancora più ampio. Il Lindano agisce sul sistema nervoso centrale ed è molto tossico per i pesci, per i crostacei e per le api mentre per uccelli e mammiferi la tossicità varia in funzione della specie [18]. È stato utilizzato su diverse colture contro insetti del terreno, nel trattamento di legno, pelli, cotone e lana, come antiparassitario per gli animali e per il trattamento farmaceutico di malattie, quali la pediculosi e la scabbia. L'uso globale di Lindano è stato stimato in circa 720.000 t. Negli anni 70 e 80 tale fitofarmaco era diventato ubiquitario ed era stato riscontrato nei cibi, nel tessuto adiposo umano e nel latte materno [22].

1.2.5 Qualità dell'aria

La Valle de Sacco costituisce, ad oggi, una delle zone del Lazio in cui la qualità dell'aria presenta maggiori criticità registrando, negli anni, frequenti superamenti dei limiti di legge per inquinanti come PM10, SO_2 E O_3. Questo a principalmente a causa sia delle caratteristiche morfologiche e metereologiche della valle, sia dell'uso diffuso di sistemi di riscaldamento a biomasse [23]. Tali caratteristiche hanno portato negli anni a rafforzare il monitoraggio dell'area per aumentare il numero di informazioni disponibili ed individuare i punti in cui si rilevano livelli di concentrazioni

delle sostanze inquinanti superiori ai limiti fissati dal D.lgs. 155/2010. Sulla base di tali dati a settembre del 2020 è stato adottato dalla regione l'aggiornamento del Piano di Risanamento della Qualità dell'Aria (PRQA), realizzato dalla Direzione Politica Ambientale e del Ciclo dei Rifiuti in collaborazione con Arpa Lazio. Tale piano ha come obiettivo principale il raggiungimento, entro il 2025, dei valori limite indicati dal D.lgs. 155 del 2010 per l'intero territorio del Lazio attraverso 42 azioni e nove misure rivolte a cinque settori: combustione civile (13), trasporti (16), industria (4), emissioni diffuse (3) ed agricoltura-zootecnia (6). Tra le azioni previste dal piano vi sono incentivi per la sostituzione di veicoli inquinanti e sistemi di riscaldamento a biomassa, spingendo soprattutto la transizione verso l'elettrico [18].

Capitolo 2

Le microalghe nel settore dei biocombustibili

L'uso continuato di combustibili fossili come fonte primaria di energia è ormai ampiamente riconosciuto come insostenibile a causa dell'esaurimento delle risorse e del loro contributo all'inquinamento ambientale [24]. Tuttavia, la rapida crescita della popolazione umana ha portato ad un aumento della domanda di energia. Secondo il rapporto dell'U.S. Energy Information Administration (EIA) nel 2030 il mondo avrà bisogno di quasi il 60% di energia in più rispetto ad oggi [25]. I combustibili fossili, pertanto, dovrebbero essere sostituiti con fonti energetiche rinnovabili e pulite per ridurre le emissioni di anidride carbonica e di gas serra [26]. Delle diverse fonti di energia in fase di studio e implementazione, i biocarburanti sono visti come mezzi per raggiungere l'obiettivo di sostituire i combustibili fossili a breve termine. In questo contesto i biocarburanti d'origine microalgale si presentano come una delle alternative più promettenti [27].

2.1 Le microalghe

Le microalghe, note anche come fitoplancton, sono microrganismi prevalentemente fotoautotrofi che vivono singolarmente o in colonie. Con il termine "microalghe" generalmente si fa riferimento ad organismi sia eucariotici che procariotici (cianobatteri) caratterizzati da un'elevata capacità adattativa a diverse condizioni ambientali che li rende ubiquitari in tutti gli ecosistemi.

Le alghe si dividono principalmente in alghe verdi (Chlorophyta), alghe rosse (Rhodophyta), alghe brune (Phaeophyta) e alghe giallo-brune (Chrysophyta) alle quali appartengono le diatomee (Bacillariophyceae) e le alghe dinoflagellate (Dinophyta) [28].

A seconda della specie, le dimensioni delle microalghe possono variare da pochi micrometri a qualche centinaio. Tali organismi rappresentano i componenti alla base delle reti trofiche degli ecosistemi acquatici e si stima che siano responsabili della produzione di oltre la metà dell'ossigeno atmosferico [29]

Questi microrganismi presentano un'enorme biodiversità: si stima che le specie esistenti oscillino tra le 200.000 e le 800.000. Tuttavia, un numero limitato di microalghe, appartenenti a 5-6 classi, viene studiato a fini energetici e si suddivide essenzialmente in procarioti (Cyanobacteria), eucarioti (Chlorophyta) e diatomee (Baccillariophyta) [30].

2.2 Biocombustibili da microalghe

Ad oggi le microalghe sono usate per diversi scopi, che possono andare dalla produzione di prodotti nutritivi a quella di cosmetici e di medicinali per l'uomo. Si tratta di mercati molto regolamentati e dominati da poche specie di microalghe, di cui si conoscono bene le proprietà (Spirulina, Dunaliella e Chlorella). Da alcuni anni però si studiano processi per produrre biocombustibili di terza generazione dalle microalghe che si stanno affermando come una delle alternative alle fonti fossili a più alto potenziale [31].

Diverse caratteristiche della fisiologia delle microalghe sono rilevanti in tal senso. Prime tra tutte la loro capacità di fissare biologicamente la CO_2 attraverso l'attività fotosintetica, che può contribuire a mitigarne l'aumento in atmosfera, nonché la possibilità di intervenire sulla resa dei loro prodotti finali controllandone le condizioni di crescita. La loro diversità metabolica ed ecologica, inoltre, consente la selezione di taxa con caratteristiche favorevoli, che permettano, ad esempio, una raccolta economica o che siano adatti per la crescita in falde acquifere disponibili localmente [5]. A differenza delle piante terrestri, infine, possono essere coltivate in terreni non arabili e in zone deserte, sono convertitori di energia solare intrinsecamente più efficienti e presentano un'elevata produttività areale che, anche in termini di produttività di olio, supera di gran lunga quella delle migliori colture oleaginose [24]. Il contenuto lipidico delle microalghe, tuttavia, è estremamente variabile, e può andare dal 20 al 70% (Tabella 1).

Tabella 1: Confronto tra contenuto lipidico e resa tra colture oleaginose e microalghe.

Materia Prima	Contenuto lipidico % olio emi secchi	Resa olio L olio/ ha	Superficie m2 x kg biocarb	Resa biocarburante kg / ha
Camelina	42	915	12	809
Colza	41	974	12	946
Girasole	40	1.070	11	1.156
Olio di palma	36	5.950	2	*4.747*
Microalghe BCO	30	58.700	0,2	*51.927*
Microalghe MCO	50	97.800	0,1	*86.515*
Microalghe ECO	70	136.900	0,1	*121.104*

BCO (BASSO CONTENUTO OLIO) **MCO (MEDIO C O)** **ECO (ELEVATO C O)**

(Fonti: Chisti Y. 2007; Demirbas A, Demirbas MF. 2011; Lagioia G. et al. 2011; Mata TM. et al. 2010)

Diverse specie di microalghe possono essere adattate per vivere in una varietà di condizioni ambientali. Pertanto, è possibile trovare specie più adatte agli ambienti locali o alle caratteristiche di crescita specifiche, cosa che non è possibile fare con le altre materie prime di biodiesel attualmente usate (ad esempio soia, colza, girasole e olio di palma).

2.2.1 Tipologie di combustibili

Differenti tipologie di combustibili possono essere ottenute dalla biomassa algale. Con la conversione biochimica, ad esempio, si possono ottenere biodiesel (tramite transesterificazione), l'etanolo (con la fermentazione) e il biogas (con la digestione anaerobica). Per la produzione di biodiesel si passa dall'estrazione dei lipidi dalla biomassa, successivamente convertiti in biocarburante. La produzione di etanolo invece prevede una fermentazione diretta della biomassa dopo averne distrutto le cellule utilizzando opportuni enzimi o metodi meccanici. Infine, la digestione anaerobica, che trasforma materia organica in un gas contenente per la maggior parte metano, è un processo adatto per trattare la biomassa residua risultante dal processo di estrazione dei lipidi [34].

Si annovera poi un'ampia gamma di processi termochimici per il trattamento di biomasse. La gasificazione è un esempio di conversione termochimica, dove un certo substrato (idrocarburi, biomassa) è convertito in gas di sintesi (syngas, una miscela di CO, CH_4, H_2, CO_2). Con questa tecnologia, la biomassa viene convertita direttamente in metano senza essere essiccata e l'azoto presente viene trasformato in ammoniaca. La biomassa liquida può anche essere convertita direttamente in carburante liquido se viene liquefatta con acqua in condizioni supercritiche (liquefazione). Un altro processo è la pirolisi che converte la biomassa, precedentemente essiccata, in biocarburante liquido, residuo carbonioso (biochar, che ha mercato come fertilizzante per terreni) e gas, attraverso una combustione in assenza di aria. Infine, si può bruciare direttamente la biomassa in presenza di aria (combustione) convertendola in gas caldi i quali possono essere usati per produrre energia elettrica [34;35].

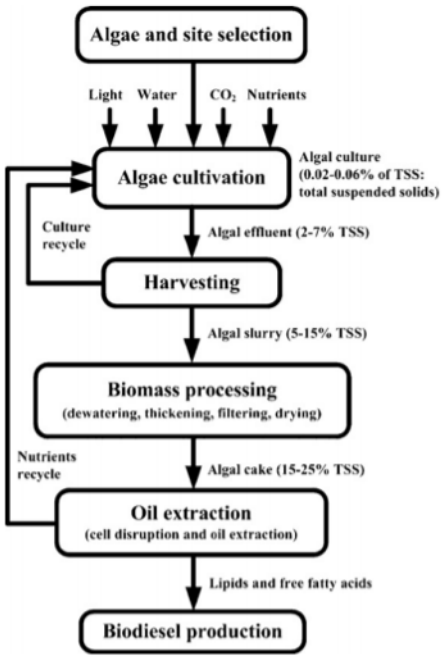

Figura 3 Fasi di produzione del biodiesel da microalghe. Da Mata, 2010 [33].

Il biodiesel è una miscela di esteri alchilici di acidi grassi ottenuta per transesterificazione di oli vegetali o grassi animali. Queste materie prime lipidiche sono composte, in genere, per il 90-98% (in peso) di trigliceridi e piccole quantità di mono e digliceridi, acidi grassi liberi (1-5%) e quantità residue di fosfolipidi, fosfatidi, caroteni, tocoferoli, composti di zolfo e tracce di acqua [9]. Tutti i processi esistenti per la produzione di biodiesel da microalghe includono un'unità di produzione in cui vengono coltivate le alghe, seguita dalla raccolta e la successiva estrazione dei lipidi. A questo punto, il biodiesel o altri biocarburanti

vengono prodotti in una forma simile ai processi e alle tecnologie esistenti utilizzate per altre materie prime per biocarburanti. Generalmente il biodiesel è prodotto attraverso il processo di transesterificazione. Tale reazione, a più fasi, permette la conversione dei trigliceridi in esteri (biodiesel) e glicerolo (sottoprodotto).

Recentemente sono stati valutati processi alternativi alla transesterificazione, come il cracking termico (o pirolisi) che coinvolge la decomposizione termica o la scissione dei trigliceridi in molecole più semplici, come alcani, alcheni, aromatici e acidi carbossilici. Il biodiesel microalgale non contiene zolfo e produce minori emissioni di particolato, CO, idrocarburi e SO_x [33].

2.3 Selezione ceppi algali

Attualmente gran parte degli sforzi di ricerca si stanno concentrando sull'unità di coltivazione algale, poiché nella maggior parte dei casi rappresenta il passaggio chiave che determina la fattibilità economica del processo. Per l'implementazione di un sistema di coltivazione delle alghe è necessario eseguire una selezione del sito e una valutazione delle risorse considerando diversi criteri come la topografia, le condizioni climatiche, la presenza di risorse idriche e l'accesso a fonti di approvvigionamento di nutrienti e carbonio. Poi è importante definire il tipo di coltivazione che si desidera eseguire; se funzionerà in modalità batch o continua, in sistema aperto o chiuso.

Tali decisioni vanno prese alla luce degli obiettivi preposti di produzione, alle condizioni ambientali previste e dalla possibilità di combinare la crescita delle microalghe con una strategia di controllo dell'inquinamento di altre industrie, ad esempio per la rimozione della CO_2 dalle emissioni di gas di combustione o la rimozione dell'azoto e fosforo da un effluente di acque reflue.

Oltre alle attrezzature necessarie per la crescita delle microalghe, è essenziale prestare molta attenzione alla selezione delle specie e dei ceppi più adeguati, alle loro condizioni di coltivazione e ai nutrienti disponibili per la loro crescita. Nella maggior parte dei casi la produzione di biodiesel si baserà su specie e ceppi già disponibili che si sono dimostrati adeguati a causa del loro contenuto di lipidi o della produttività. Possono essere utilizzate anche informazioni bibliografiche o ottenute da aziende che forniscono unità di produzione. Tuttavia, in alcuni casi questo approccio potrebbe non fornire una soluzione definitiva; è quindi necessario effettuare operazioni di screening di ceppi algali più convenienti e adatti.

Generalmente le microalghe sono acquistabili da aziende specificamente dedite alla crescita delle alghe, ma anche presso università o laboratori di ricerca. In alternativa, possono essere isolate direttamente da campioni di acqua e suolo ottenuti da diversi ambienti. Poiché le microalghe

dovranno vivere e prosperare in un'ampia gamma di condizioni ambientali, in particolare di scarsità di nutrienti e altre condizioni avverse, è possibile utilizzare campioni di alghe provenienti da ambienti estremi o fortemente impattati, come sorgenti termali o acque reflue industriali [33]. In questo modo si garantisce che il ceppo selezionato sarà robusto e adatto alle specifiche condizioni di interesse.

Il processo di campionamento e selezione è ben consolidato, sebbene richieda attrezzature specializzate e molto tempo [36]. In questo processo bisogna considerare diversi fattori come: tasso di crescita, contenuto lipidico, resistenza ai cambiamenti delle condizioni ambientali, disponibilità di nutrienti, facilità di separazione e lavorazione della biomassa, possibilità di ottenere prodotti secondari di alto valore [33]. Infine, quando le specie elencate in letteratura o ottenute dall'ambiente non sono adeguate, l'utilizzo dell'ingegneria genetica può essere una soluzione. In questo modo è possibile adattare le caratteristiche delle microalghe al processo e ai prodotti desiderati e migliorare la produttività, la resa e la composizione dei lipidi. Tuttavia, i timori di contaminazione biologica, legislazione restrittiva e opzioni naturali praticabili ostacolano un più ampio utilizzo di organismi geneticamente modificati [37].

2.4 Coltivazione microalghe

2.4.1 Tipologie di metabolismo

In generale, le microalghe crescono fissando carbonio inorganico (CO_2) utilizzando la radiazione luminosa come fonte di energia. Questo percorso è chiamato autotrofico. Allo stesso tempo, possono utilizzare il substrato organico come fonte di energia e C, in regime eterotrofo. Infine, possono crescere in modo mixotrofico, quando svolgono la fotosintesi come principale fonte di energia, ma sono essenziali sia fonti di C organiche che inorganiche (cioè CO_2). Il tipo di metabolismo può essere controllato determinando accuratamente le modalità di coltivazione delle microalghe [38].

Autotrofia

La coltivazione autotrofica è considerata il sistema di crescita più comune. La luce è generalmente fornita dal sole, che rappresenta un vantaggio sotto il punto di vista dei costi, ma un rischio se si considera che in alcune zone la disponibilità di luce solare può non essere costante e sufficientemente intensa da supportarne la crescita. In alternativa possono essere utilizzate fonti artificiali, come i LED, spesso utilizzati per migliorare la produzione di molecole specifiche [39]. La coltivazione autotrofica è utilizzata tipicamente in coltivazioni all'aperto, in particolare per

aumentare la produttività dei lipidi (utilizzando il 2% di CO_2 nell'aria) e anche per riciclare la CO_2 industriale [40]. Tuttavia, il potenziamento della crescita delle microalghe autotrofe richiede il superamento del problema legato all'auto ombreggiamento dovuto alla fotoacclimatazione e, contemporaneamente, l'aumento dell'attività netta del Rubisco [41].

Eterotrofia

Questa modalità di crescita è una soluzione al problema della disponibilità di luce perché permette la crescita anche in condizioni di oscurità. In questo caso, le fonti di carbonio e di energia vengono fornite come substrato di carbonio organico. I principali vantaggi della coltivazione eterotrofica sono un elevato controllo della crescita e un'elevata produttività. Generalmente sono utilizzate fonti di carbonio a basso costo (es. acque reflue). In queste condizioni può essere coltivato un numero limitato di ceppi di microalghe, come Chlorella vulgaris, Chlorella protothecoides, Crypthecodinium cohnii e Schizochytrium limacinum [42]. D'altra parte, questa modalità di coltivazione è più suscettibile a fenomeni di contaminazione microbica dei terreni di coltura e le condizioni di oscurità possono inibire la pigmentazione e la produzione di metaboliti secondari [38].

Mixotrofia

La coltivazione mixotrofica è una buona strategia per superare la limitazione delle precedenti modalità di coltivazione e combinare i loro vantaggi per promuovere un alto tasso di crescita e allo stesso tempo di accumulo biochimico [38].

In condizioni mixotrofiche, le microalghe possono utilizzare come fonte di carbonio sia composti organici sia CO_2. Un ulteriore vantaggio è legato alla possibilità di usare la luce in maniera flessibile, riducendo i fenomeni di fotoinibizione, e settare un ciclo buio/luce che permetta una crescita in condizioni ottimali [43]. L'utilizzo di un complesso substrato di carbonio organico può stimolare la biosintesi di lipidi e carboidrati solubili come materie prime per la produzione di biodiesel e bioetanolo e ridurre l'anabolismo dei pigmenti fotosintetici e delle proteine. In generale questa tipologia di coltivazione permette di ottenere maggiori tassi di crescita e produttività, la possibilità di manipolare la composizione della biomassa, una maggiore produttività lipidica [38].

Tale tipologia di metabolismo mixotrofico può essere trovata in *Spirulina platensis*, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella sorokiniana, Scenedesmus obliquus* e *C. vulgaris* [65].

2.4.2 Modello di crescita e parametri di coltivazione

Il modello di crescita ottimale delle microalghe generalmente può essere sintetizzato in 4 fasi:

1. **Fase di Latenza**: in cui le microalghe si adattano al mezzo di coltura e durante la quale la crescita è nulla. La durata di questo stadio di crescita dipende essenzialmente dall'età dell'inoculo, dalla composizione del terreno di coltura e da condizioni quali luce e temperatura.
2. **Fase esponenziale**: in cui avviene il picco di velocità di crescita, in questa fase la cinetica di crescita segue un andamento esponenziale in condizioni di substrato non limitante.
3. **Fase stazionaria**: in cui c'è una diminuzione della concentrazione di nutrienti nel mezzo di crescita e un accumulo di metaboliti tossici che rallentano la crescita fino ad azzerarla del tutto. In questa fase il numero di organismi rimane costante; la velocità di divisione cellulare è uguale alla velocità di decadimento.
4. **Fase di declino**: in questa fase diminuisce il numero di organismi vitali. In genere avviene quando si raggiunge un'eccessiva concentrazione algale, si esauriscono i nutrienti e si instaurano condizioni avverse alla crescita (eccesso di temperatura, presenza di metaboliti tossici, scarsa penetrazione della radiazione luminosa e carenza nutrienti).

Diversi sono i fattori che intervengono a modificare il modello standard. Questi comprendono sia fattori fisico-chimici (intensità luminosa, temperatura, fonti di carbonio, micro e macronutrienti, oligoelementi, pH, ciclo luce/buio, etc.), sia fattori biotici (concentrazione biomassa, predatori, patogeni, etc.). Molti di questi fattori, come ad esempio la tolleranza rispetto ad uno specifico range di temperature o la resistenza rispetto a determinati composti presenti nel mezzo, sono altamente specie-specifici e variano notevolmente [44].

Il tasso di crescita, la produzione di biomassa e il contenuto lipidico sono i fattori critici per garantire la fattibilità per la produzione su larga scala e ridurne i costi. Delle diverse modalità di coltivazione discusse in precedenza, la coltivazione mixotrofica è la migliore in termini di produzione di biomassa e contenuto di carboidrati e lipidi rispetto ad altre modalità di coltivazione. a La corretta manipolazione di vari fattori ambientali e nutritivi può determinare, infine, una massimizzazione della produttività [45].

2.4.3 Fattori che influenzano la produttività

La crescita delle microalghe è influenzata da diversi fattori come la temperatura, la luce, la disponibilità di nutrienti, lo scambio di gas, la salinità, la densità cellulare, il pH, ma anche da parametri operativi come lo stress idrodinamico e dei fluidi, la miscelazione, la profondità della coltura, il tasso di diluizione e frequenza di raccolta.

Intensità luminosa

La luce è il principale fonte di energia per gli organismi fotosintetici, comprese le microalghe. Tipicamente la maggior parte delle microalghe è satura di luce a un'intensità luminosa di 200-400 mmol / m^2 s [46]. La coltivazione di microalghe con un'adeguata intensità di luce influenzerà in modo significativo la crescita delle microalghe, la produzione di clorofilla e l'accumulo di metaboliti primari [46]. Tuttavia, un ulteriore aumento della sorgente luminosa porterà a processi di fotoinibizione, determinando la diminuzione del tasso di crescita della coltura. In generale, tuttavia, un'intensità luminosa elevata si traduce in un aumento del contenuto di carboidrati [45].

Temperatura

Esiste una correlazione tra la temperatura e l'intensità della luce sulla composizione della biomassa. Generalmente, la bassa temperatura associata ad una minore esposizione luminosa si traduce in una bassa produttività in termini di biomassa, mentre l'effetto opposto è osservato per temperature ed esposizioni più elevate fino a un valore di soglia. In genere, si nota una maggiore tolleranza a temperature al di sotto del range ideale ed un rapido decremento delle attività metaboliche a temperature di pochi gradi superiori, dovuto a meccanismi come la fotoinibizione. In generale le alghe possono essere classificate in euriterme, quando sopportano ampie variazioni di temperatura e stenoterme, se hanno bassa tolleranza alla variazione di questo parametro [44]. In generale, per la maggior parte delle specie l'optimum è compreso tra i 25 e i 30°C [45].

Fonte di carbonio

Il carbonio è uno degli elementi essenziali che permettono la crescita cellulare. Il tipo di fonte di carbonio influisce notevolmente anche sull'accumulo di biomassa, carboidrati e lipidi nella biomassa microalgale. Poiché sia l'utilizzo di CO_2 che di carbonio organico coesistono in condizioni mixotrofiche, la concentrazione di CO_2 e di composti organici forniti deve essere ottimizzata con precisione per ottenere una maggiore produttività. La CO_2, a concentrazioni adeguate, favorisce la crescita delle microalghe e stimola fortemente il fotosistema, migliorando la produttività fotosintetica. Per condizioni di coltivazione mixotrofiche, le microalghe possono riciclare la fonte di carbonio inorganica come la CO_2 per la fotosintesi [45].

Azoto

L'azoto è uno dei nutrienti essenziali che ha un ruolo cruciale per la crescita delle microalghe. Svolge un ruolo importante nella formazione di composti vitali come DNA, proteine e pigmenti nel processo di metabolismo delle microalghe. La fame di azoto è una strategia comune per migliorare la formazione di composti biochimici nelle microalghe. Tale condizione induce cambiamenti metabolici con un impatto negativo sulla sintesi delle proteine stimolando, invece, la sintesi dei lipidi e provocandone l'accumulo. Per tale motivo, è una strategia comunemente utilizzata per la produzione di olio algale.

La fonte di azoto preferita per le microalghe è l'ammonio/ammoniaca a causa del minor consumo di energia per la sua assimilazione rispetto alle altre fonti di azoto. L'ammoniaca è volatile e ha una solubilità molto elevata, il che significa che è spesso in soluzione liquida. In ogni caso l'ammoniaca reagisce in presenza di acqua formando un sistema ammoniaca/ammonio, che è in equilibrio in dipendenza del pH [47].

2.4.4 Metodi di coltivazione

Un sistema di coltivazione delle microalghe, generalmente, prevede le seguenti fasi [49]:

- Coltivazione;
- Separazione;
- Trattamento, accumulo e trasporto (facoltativi);
- Valorizzazione della biomassa.

Coltivazione

Le tecniche di coltura delle microalghe si basano essenzialmente sull'utilizzo di fotobioreattori (PBR) aperti e chiusi. La scelta del reattore dipende dalle specie da coltivare e dall'applicazione [33].

Sistemi chiusi (PBR)

I sistemi chiusi, o fotobioreattori (PBR), sono per lo più reattori in vetro o in plastica trasparente. A seconda della forma possono essere classificati in tubolari, flat panel, elicoidali, conici e ad albero. Essi rappresentano sistemi di coltura ottimali, permettono un elevato controllo dei parametri di coltura, diminuendo meccanismi di fotoinibizione e azzerando i processi d'evaporazione del mezzo di crescita. Sono utilizzati principalmente per ottimizzare la crescita di

ceppi algali selezionati e per la produzione di determinati metaboliti con un elevato controllo qualità [33;48].

Sistemi aperti

A causa degli eccessivi costi di manutenzione, operativi e di produzione, la maggior parte delle colture algali è svolta in sistemi aperti. I sistemi aperti possono essere classificati in: raceway, circolari con braccio rotante ed inclinati.

I raceway sono costituiti da un canale a circuito chiuso di ricircolo (di solito in cemento) profondo circa 0,3 m e una ruota a pale per la miscelazione e la circolazione. I sistemi aperti sono caratterizzati da un basso costo di costruzione, installazione e manutenzione ma occupano una superfice maggiore rispetto ai sistemi chiusi e sono maggiormente soggetti a fenomeni di contaminazione. Inoltre, rispetto a quest'ultimi presentano un maggior fabbisogno di energia ed acqua. Oltre ai rischi di contaminazione, tra le controindicazioni nell'uso di reattori aperti c'è l'impossibilità di gestire i parametri operativi, di prevenire il rischio di predazione delle microalghe e l'evaporazione del terreno di coltura [24]. La crescita in sistemi aperti avviene solitamente utilizzando la radiazione solare come fonte luminosa. Per permettere la penetrazione della luce, la maggior parte dei sistemi aperti ha un'altezza limitata.

È importante ricordare l'esistenza di sistemi ibridi per la produzione di microalghe. Essi consistono nell'utilizzo di PBR chiusi per lo sviluppo dell'inoculo e il successivo trasferimento della coltura in vasche aperte quando il ceppo algale è ormai resistente e dominante. Questo tipo di sistema è tutt'ora in disuso a causa degli eccessivi costi.

Raccolta

La raccolta delle alghe consiste nel recupero della biomassa dal terreno di coltura e può contribuire al 20-30% del costo totale di produzione della biomassa [33]. Questa può essere condotta attraverso differenti processi fisici, chimici e biologici a seconda delle caratteristiche delle microalghe. I metodi di raccolta più comuni includono sedimentazione, centrifugazione, filtrazione, ultrafiltrazione, a volte con una fase aggiuntiva di flocculazione o con una combinazione di flocculazione-flottazione. Il criterio principale per selezionare una corretta procedura di raccolta è la qualità del prodotto desiderata. Da una parte, per i prodotti di scarso valore, può essere utilizzata la sedimentazione per gravità, eventualmente potenziata dalla flocculazione. Sono anche possibili vasche di sedimentazione o stagni di decantazione, ad esempio recuperare la biomassa dai processi basati sulle acque reflue. D'altra parte, per prodotti di alto valore, per recuperare alghe di alta qualità come per applicazioni alimentari o di acquacoltura, si consiglia spesso di utilizzare centrifughe a funzionamento continuo in grado di

trattare grandi volumi di biomassa [33]. La sedimentazione è di solito la prima fase della raccolta e utilizza la gravità per separare le alghe dall'acqua. La flocculazione viene utilizzata per aggregare le cellule microalgali per aumentare la dimensione effettiva delle particelle e quindi facilitare la sedimentazione, il recupero centrifugo e la filtrazione. La filtrazione è utilizzata per le microalghe più grandi, come la *Spirulina platensis*, ma non è adatta per le microalghe di piccole dimensioni come la *Chlorella* o la *Scenedesmus*, per le quali si utilizza la microfiltrazione a membrana o l'ultrafiltrazione. Le centrifughe, seppur a costi considerevoli, sono adatte a concentrare rapidamente qualsiasi tipo di microrganismo e, nonostante gli elevati costi operativi (0,6 $/l) e il consumo energetico (3 kWh/l), è la tecnologia più utilizzata [32-33]. Un altro criterio fondamentale per la selezione della procedura di raccolta è la sua capacità di regolare la densità o il livello accettabile di umidità nel concentrato risultante fino al processo successivo ottimale [16,94]. I fanghi sedimentati per gravità sono generalmente più diluiti della biomassa recuperata mediante centrifugazione, il che influenza sostanzialmente l'economia del recupero del prodotto più a valle. Poiché i costi dell'essiccazione termica sono molto più alti di quelli della disidratazione meccanica, al fine di ridurre il costo di produzione complessivo è necessario un concentrato con un contenuto di solidi più elevato dopo la raccolta, per facilitare la disidratazione della biomassa (ad esempio in un tamburo). Dopo la separazione dal terreno di coltura, la biomassa algale (5–15% in peso secco) deve essere rapidamente lavorata per evitare che si rovini in poche ore in un clima caldo [33].

Estrazione olio

Dopo l'essiccazione della biomassa segue la rottura delle cellule, che può avvenire tramite metodi meccanici (frantumazione, omogeneizzazione, ultrasuoni) e non (solventi organici, shock osmotici, reazioni acide-basiche o enzimatiche). Tale processo permette l'*estrazione* dell'olio microalgale. Anche questi metodi differiscono per l'efficienza e i costi. A differenza degli altri oli vegetali, l'olio estratto dalle microalghe è abbastanza ricco di acidi grassi polinsaturi, con 4 o più doppi legami [33].

2.5 Principali limiti da affrontare e possibili soluzioni

Il mercato dei combustibili fossili è di dimensioni enormi, ma il costo di produzione della biomassa necessario per entrare in questi mercati è molto basso (<1 €/litro) e la maggior parte delle tecnologie ad oggi sul mercato non consentono la produzione di biomassa di microalghe a questi costi [25]. L'impianto integrato, grazie al basso costo di produzione della materia prima, permette

invece di stimare un costo di produzione di biodiesel e bioavio di € 0,55/litro, competitivo rispetto ai combustibili fossili.

2.5.1 Trattamento acque reflue

Una strategia per ridurre i costi è basata sul riutilizzo di acque reflue come fonte di nutrienti; ciò consente la produzione di biomassa di microalghe senza bisogno di fertilizzanti aggiuntivi, riducendo nettamente il costo di produzione [25]. Tale pratica affronta insieme le questioni energetiche ed ambientali. Infatti, l'eccessivo carico di nutrienti dei reflui può provocare fenomeni di eutrofizzazione, proliferazioni fitoplanctoniche che possono determinare fenomeni di anossia, costituendo un pericolo per biodiversità e qualità complessiva delle acque [50].

Le microalghe sono state ampiamente utilizzate nel trattamento di diversi tipi di reflui, con tassi di rimozione di nutrienti e metalli anche superiori al 90% [51]. Generalmente, per il trattamento dei reflui con microalghe, queste ultime vengono coltivate in sistemi aperti. L'utilizzo di acque reflue per la produzione di biomassa, tuttavia, limita le potenziali applicazioni di prodotti a base di microalghe; principalmente a causa dei requisiti di biosicurezza richiesti per i prodotti finali. I prodotti che non richiedono standard di sicurezza elevati includono principalmente i biocarburanti, biofertilizzanti, biostimolanti, biopesticidi, bioplastiche e, più in generale, le materie prime destinate all'industria. Nel caso di requisiti di sicurezza medi, sono incluse le applicazioni relative ad acquacoltura, alimentazione animale e additivi per mangimi. Tuttavia, il prezzo di mercato della biomassa per tutte queste applicazioni è di uno o due ordini di grandezza superiore a quello dei biocarburanti (10-100 €/kg) [25].

2.5.2 Digestione anaerobica e produzione co-prodotti

Uno dei processi più promettenti per massimizzare il recupero delle risorse delle biomasse microalgali è la digestione anaerobica (DA) [52]. Essa comprende una sequenza di processi attraverso i quali i microrganismi abbattono la materia organica in assenza di ossigeno. Il processo permette il recupero di nutrienti dai rifiuti e la contemporanea produzione di biogas e, rispetto ad altri processi, è caratterizzato da una più alta resa di conversione senza la necessità di particolari processi preliminari [50]. L'uso delle microalghe come substrato per la DA e la conseguente produzione di biogas e fertilizzanti è un processo ampiamente studiato [53]. Questa tecnologia è particolarmente adatta per trattare i residui microalgali derivanti dall'estrazione di olio e metaboliti e ridurre i costi associati al loro smaltimento [52]. La DA della biomassa

microalgale è risultata efficace per il trattamento delle acque reflue, diminuendo l'eutrofizzazione e producendo biometano [54]. Le acque reflue generate durante il processo sono utili per la coltivazione delle stesse microalghe e l'integrazione di sistemi biologici per l'upgrading del biogas con il sequestro della CO_2 nel sito [55] può determinare una maggiore economicità dell'intero processo e la creazione di un sistema chiuso ed autoalimentante.

Le maggiori potenzialità di sfruttamento delle biomasse algali risiedono nelle bioraffinerie dove la produzione combinata di biocarburanti e prodotti di alto valore aumentano la sostenibilità dell'intero processo [56]. Le bioraffinerie di microalghe combinano la produzione di biocarburanti (ad esempio biodiesel, bioetanolo, biogas) e prodotti di alto valore (ad esempio pigmenti, proteine, omega-3). La commercializzazione e l'uso dei prodotti secondari sono importanti quanto la produzione stessa di biocarburanti per la sostenibilità dell'intero processo produttivo [51]. L'alta percentuale di azoto e fosforo presente nelle alghe cresciute sui reflui, ad esempio, le rende idonee ad essere utilizzate come fertilizzanti. Rispetto al comune digestato, i residui di biomassa algale cresciuta sul centrato dello stesso refluo sono caratterizzati da un ben più lento rilascio di nutrienti, con minor evaporazione di azoto sotto forma di ammoniaca e presenza inferiore di batteri patogeni [57].

Il successo dei processi di bioraffineria dipende in gran parte dalla selezione dei ceppi microalgali. L'utilizzo di ceppi microalgali autoctoni, adattati alle condizioni climatiche locali e al biota, si è dimostrata una buona strategia, in particolar modo se è prevista la coltivazione all'aperto [51]. L'uso di ceppi provenienti da habitat locali e dalle stesse acque reflue garantisce dominanza e adattabilità alle condizioni ambientali, permettendo l'ottenimento di alte rese in termini di produttività lipidica, della biomassa e di rimozione di nutrienti [51].

Capitolo 3

L'impianto integrato

3.1 Caratteristiche impianto pilota

Il progetto integrato prevede la realizzazione di vasche aperte sull'argine del fiume Sacco con il triplice obiettivo di depurare le acque del fiume, sottrarre CO_2 dall'aria e produrre olio per la produzione di biodiesel e di bioavio.

Le vasche sono progettate con teli in PVC o materiali similari, si prevede di realizzare un modulo base composto da cinque vasche collegate tra loro. A monte è presente un sistema di pompaggio dell'acqua del fiume Sacco che confluisce direttamente nella prima vasca. L'acqua passa alle vasche successive attraverso un meccanismo di deflusso naturale, per poi essere reimmessa nel fiume a seguito della depurazione da parte delle microalghe.

Le microalghe depurando l'acqua utilizzando come sostanze nutritive per la loro crescita i composti organici, azotati e fosfati presenti e, utilizzando la luce naturale e la CO_2 atmosferica e quella insufflata nelle vasche, dopo una prima fase di crescita, "maturano" producendo olio e venendo a galla.

Per le caratteristiche costruttive dell'impianto, le microalghe mature vengono indirizzate naturalmente verso uno stramazzo posizionato nella parte finale delle vasche, cadendo in un canaletto laterale che le conduce nel punto di raccolta.

Le alghe non "mature" rimangono nelle vasche, proseguendo il percorso nelle successive. Il processo si completa nella quinta vasca dove l'acqua depurata viene scaricata nel fiume. Vista la delicatezza delle microalghe che non sopravvivono in acque veloci, quelle eventualmente trasportate dal fiume morirebbero in breve tempo. Inoltre, la selezione di ceppi algali provenienti dal corpo idrico stesso e conseguentemente adattati alle sue caratteristiche, permetterà da un lato di evitare fenomeni di dispersione di specie alloctone, dall'altro di ottenere colture algali più resistenti e produttive.

Un'area sarà dedicata ad attività di ricerca per la selezione e il miglioramento delle specie algali da utilizzare nell'impianto integrato, questo in modo da consentire un continuo miglioramento del processo, selezionando ceppi con caratteristiche favorevoli che permettano una massimizzazione della resa di produzione.

L'impianto delle vasche è progettato all'insegna del risparmio energetico; il sistema di circolazione dell'acqua e quello di raccolta delle microalghe mature non richiede pompe di circolazione e riduce notevolmente i consumi energetici.

Anche la separazione della parte vegetale delle alghe, dell'olio e dell'acqua è stata progettata con l'utilizzo di una batteria di decanter a tre fasi, che permettono di semplificare le successive fasi di elaborazione della parte vegetale da indirizzare al digestore e di ottenere una diminuzione dei costi d'estrazione dell'olio, da indirizzare poi a transesterificazione.

Il modulo base delle vasche è formato da cinque vasche in serie con una superficie di 5.000 m^2 cadauna (½ ha) con dimensioni di circa 150 m di lunghezza e 34 m di larghezza.

Secondo le stime effettuate, attraverso la selezione di specifici ceppi algali, sarà possibile ottenere un totale di 20-40 raccolti annui.

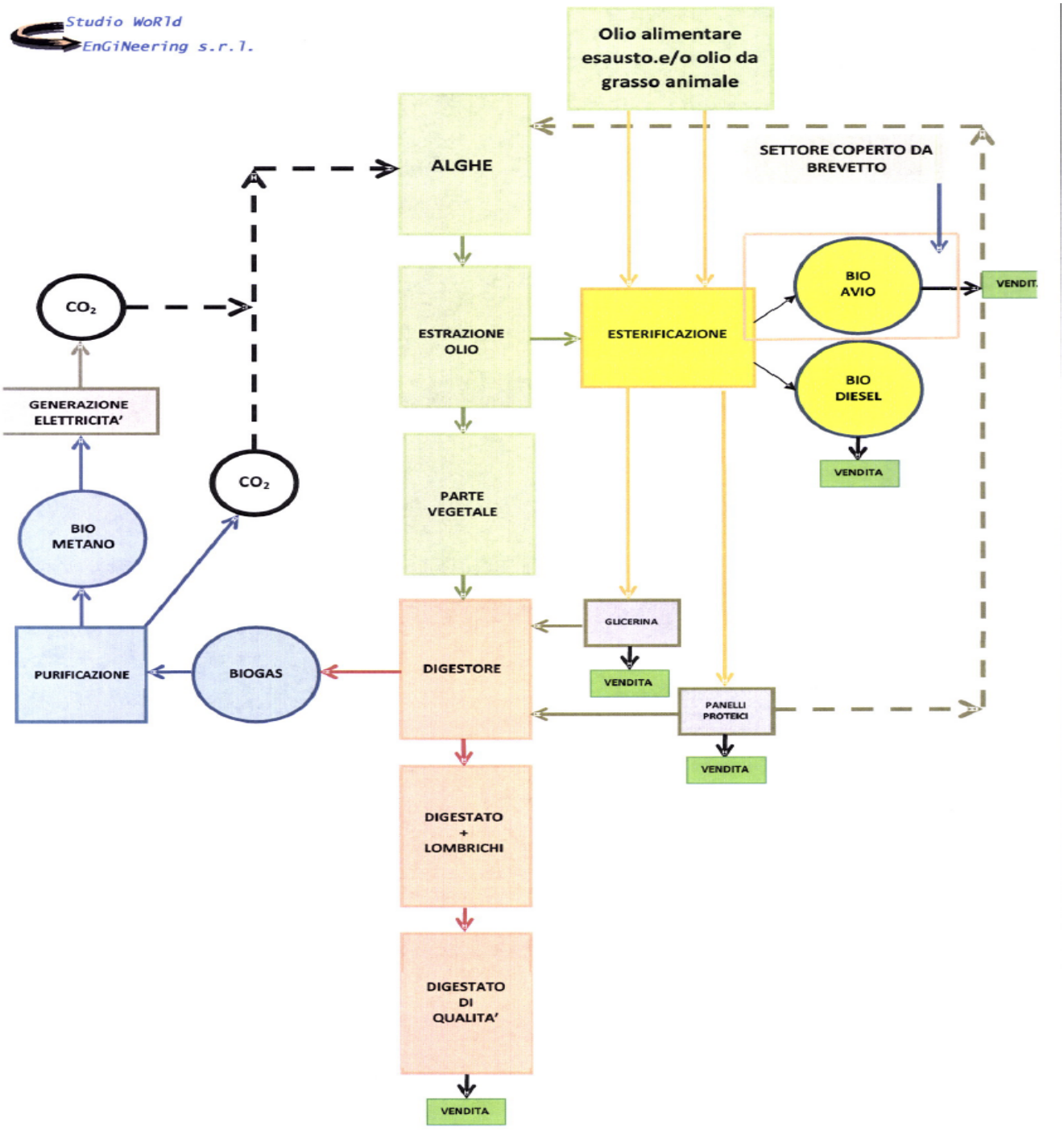

Figura 4: Schema del processo integrato sviluppato per la Regione Lazio da realizzare nella Valle del Sacco.

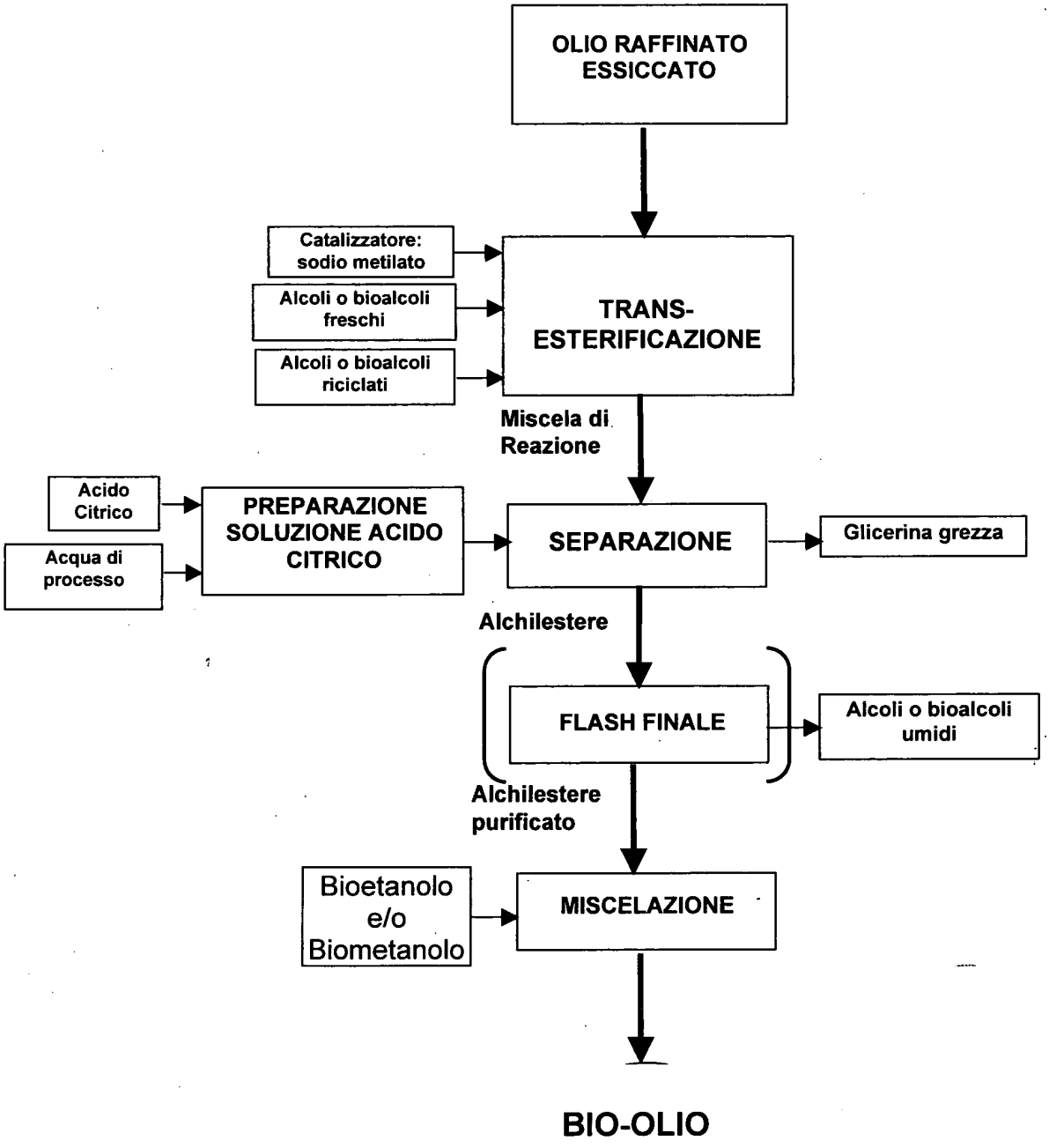

Figura 5: Schema brevetto per produzione bio-olio da componente lipidica delle microalghe.

3.2 Innovazione e future implementazioni

Il progetto consentirà l'introduzione di una nuova tecnologia di produzione di biomassa microalgale che non comporterà l'uso di terreni destinati all'agricoltura, ridurrà drasticamente l'area necessaria per la produzione di biocarburanti (da 1/20 a 1/100), consentirà un'elevata resa d'olio per ettaro e permetterà l'ottimizzazione dell'intero ciclo integrato grazie alla re-immissione, all'interno del medesimo processo, dei sottoprodotti ottenuti.

Oltre al biodiesel e il bioavio, ottenuti dal processo di transesterificaione, saranno generati una serie di co-prodotti secondari, rendendo l'intero progetto oltremodo sostenibile.

Nello specifico verranno prodotti:

- Biogas/Biometano, derivanti dalla digestione anaerobica della biomassa residua dei processi di estrazione dell'olio microalgale;
- Pannello proteico e glicerina, derivati dalla transesterificazione dell'olio;
- Energia elettrica "green";
- Biofertilizzanti liquidi e solidi dal digestato della biomassa.

Reimmettendo nelle vasche la CO_2 derivante dal processo di upgrading del biogas, inoltre, sarà possibile aumentare la produttività complessiva in termini di biomassa e olio prodotto.

3.3 Selezione ceppi algali

Le microalghe più idonee sono state individuate nei generi *Scendesmus* sp. e *Chlorella* sp. Queste presentano un contenuto oleico medio (15-55%) e sono ben conosciute, presenti in maniera ubiquitaria e facilmente gestibili in coltivazioni all'aperto. Inoltre, presentano una spiccata resistenza in acque reflue e sono ampiamente utilizzate in processi di fitodepurazione, rimuovendo oltre il 90% di azoto, fosforo e metalli pesanti presenti nei reflui [58-60]. In aggiunta, alcuni studi hanno dimostrato la capacità di questi organismi di crescere in ambienti con presenza di tensioattivi e altri contaminanti organici [58].

Come nella maggior parte delle microalghe, anche per *Chlorella* e *Scenedesmus* la composizione in acidi grassi (FAME) è risultata idoneità per la produzione di biocombustibili, in particolare biodiesel. Infatti, le due specie presentano un contenuto più elevato di acidi grassi a catena lunga desiderabili per la produzione di biodiesel e bioavio, con importanti contributi da saturi come l'acido palmitico [C16:0] e l'acido stearico [C18:0] [60;61].

Oltre ad utilizzare ceppi provenienti da centri di ricerca o laboratori, sarà prevista anche un'area dedita alla sperimentazione e alla ricerca di ceppi presenti direttamente nelle acque selezionate. Questo permetterà di isolare microalghe adattate al mezzo di crescita e al clima locale, permettendo di ottenere un ulteriore incremento della produttività complessiva dell'impianto.

Il clima locale presenta temperature medie che variano, a seconda dell'area specifica da 6-7°C invernali a 26-28°C estivi. Da precedenti studi sappiamo che sia *Scenedesmus* che *Chlorella* presentano un range di temperatura di crescita molto ampio, da 3-27°C per *Scenedesmus* e da 5-38°C per *Chlorella*. Nonostante ciò, come per molte altre specie di microalghe, il range di temperatura ottimale per la loro crescita è compreso tra i 20-30°C [62].

Valutando le temperature medie dell'area, la maggiore produttività dell'impianto è prevista da aprile a settembre. In questi mesi le temperature medie variano da 18 a 28 gradi, rientrando nel range ottimale per la crescita dei ceppi selezionati. Infatti, in una produzione a larga scala outdoor è fondamentale per la crescita cellulare che i valori di temperatura non decrescano più di 15-20° al di sotto del valore ottimale per la specie.

Nella conduzione dell'impianto sono previsti anche diversi sistemi per incentivare la crescita delle microalghe, come l'insufflazione di CO_2 derivante dall'aria e dai processi di generazione di energia elettrica green e upgrading del biometano.

Saranno previste anche variazioni della composizione del mix algale nelle diverse stagioni, attraverso un processo di selezione dei ceppi più resistenti al clima invernale, in modo da mantenere una produttività costante nonostante l'irrigidimento della temperatura.

Le alghe, per ogni tonnellata di biomassa prodotta, rimuovono circa 1,83 t di CO_2 [31]. Questo, oltre a bilanciare le emissioni climalteranti, permetterà il rilascio di crediti di carbonio, da vendere nel mercato specificatamente dedicato, previa certificazione da parte degli organismi competenti.

Le alghe verranno coltivate in modalità mixotrofica, utilizzando carbonio da fonte inorganica (CO_2) ed organica (composti organici presenti nelle acque del fiume). Come detto in precedenza, tale modalità permetterà, oltre ad aumentare la produttività della biomassa, la depurazione dei reflui e la diminuzione del carico organico complessivo.

3.4 Valore strategico del progetto

3.4.1 Valore ambientale

La produzione di microalghe in vasche aperte è una soluzione ottimale in termini di:

- elevata resa dell'olio;
- riqualificazione di terreni compromessi dal punto di vista ambientale;
- sfruttamento dei reflui e delle acque inquinate purificate dalle alghe;
- rimozione di 1,83 t di CO2 per tonnellata di biomassa prodotta e assorbimento di polveri sottili;
- clima idoneo per la produzione di 20-40 raccolti l'anno.

3.4.2 Valore sociale e professionale

Di seguito alcuni dei benefici:

- con l'utilizzo di aree incolte o compromesse per la creazione della filiera dei biocarburanti, nessuna terra viene sottratta ai settori alimentari;
- acqua e biofertilizzanti vengono recuperati dall'impianto per rendere produttivi terreni aridi;
- il ciclo della CO_2 della biomassa fa parte dell'economia circolare locale;
- il bioavio e il biodiesel prodotti consentono, in proporzione all'utilizzo, di ridurre l'inquinamento, di avere un bilancio netto delle emissioni di CO_2 potenzialmente nullo e nessuna emissione di zolfo;
- diminuzione nell'uso di combustibili fossili;
- l'utilizzo delle infrastrutture e della logistica esistenti per la distribuzione dei biocarburanti rende il processo più virtuoso e green.

3.5 Bioavio e Biodiesel

Il basso costo di produzione della materia prima permette di stimare un costo di produzione competitivo di biodiesel e bioavio di € 0,55/litro.

L'innovazione tecnologica del progetto consente l'elevata produzione di bio-olio che:

- non comporta l'uso di terreni destinati all'agricoltura e all'alimentazione umana o animale;
- riduce drasticamente (da 1/20 a 1/100) le superfici necessarie per la produzione di biocarburanti;
- consente un'elevata resa per ettaro;

- ottimizza il ciclo produttivo con il rientro, all'interno dello stesso processo, dei sottoprodotti ottenuti.

I biocarburanti di alghe offrono inoltre una sicurezza intrinseca:

- sono meno infiammabili e pericolosi dei tradizionali carburanti diesel e aeronautici;
- hanno un'elevata potenzialità di pulizia che migliora l'affidabilità e il funzionamento di turbine e motori;
- In caso di dispersione nell'ambiente o nell'acqua hanno la solubilità del sorbitolo; essendo un prodotto della biomassa, sono biodegradabili.

3.6 Sviluppo sostenibile

Il processo integrato è in grado di garantire una maggiore protezione dell'ambiente, grazie all'eliminazione quasi totale delle emissioni che alterano il clima, ed utilizzare, durante tutto il ciclo produttivo, materie prime naturali e prodotti finali derivanti da fonti rinnovabili.

Nello specifico, attraverso lo sviluppo del processo integrato sarà possibile ottenere:

- biogas e biometano per i trasporti;
- glicerina di purezza farmaceutica;
- panello proteico derivato dall'esterificazione dell'olio;
- biofertilizzanti derivanti dal digestato della biomassa algale;
- elettricità "verde" che utilizza biogas in cogenerazione;
- aumento della crescita delle microalghe attraverso la re-introduzione nei serbatoi di CO_2 derivante dalla combustione/upgrading del biogas.

3.7 Crediti di carbonio

Nel caso dell'impianto integrato per la coltivazione di microalghe, come quello progettato per la Valle del Sacco, oltre alla fitodepurazione delle acque inquinate del fiume e la produzione di olio per la generazione di biocaburanti, permetterebbe l'assorbimento di circa 200 tonnellate di CO2 per ettaro, a raccolto.

Tenendo conto che la superficie totale delle vasche si aggirerebbe dai 50 ai 100 ettari, l'ottenimento di crediti di carbonio apporterebbe un ulteriore ed interessante contributo economico al già alto reddito dell'impianto.

Conclusioni

La transizione energetica non può prescindere dalla produzione e dall'utilizzazione massiva dei biocarburanti, nel settore dei trasporti e nella produzione di energia. La produzione di biocarburanti di terza generazione permette di ridurre anche gli sprechi, l'inquinamento e il consumo di energia legato alla dismissione dei mezzi di trasporto e delle infrastrutture alimentate a fossile.

Inoltre, il 21 dicembre 2018 è stata pubblicata la Direttiva (UE) 2018/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio dell'11 dicembre 2018 sulla promozione dell'uso dell'energia da fonti rinnovabili, denominata RED II, che dovrà essere percepita dagli Stati Membri entro il 30 giugno 2021. La Direttiva sostituisce la precedente (RED) che poneva gli obiettivi da raggiungere per l'anno 2020, andando a definire quelli per il 2030. La norma, rispetto alla precedente (RED), apporta diverse novità:

- innalzamento della quota di energia rinnovabile dal 20% al 2020, al 32% al 2030 (legato ad un target di riduzione di GHG del 40%; sarà dunque rivisto in base alla decisione di portare il target sulla riduzione delle emissioni climalteranti al 55% presa nel 2020);
- innalzamento quota energia rinnovabile nei trasporti dal 10% al 2020, al 14% al 2030;
- innalzamento del target sui biocarburanti avanzati: dallo 0,5% al 2020, al 3,5% al 2030 (con almeno lo 0,2% al 2022, 1% al 2025 e 3,5% al 2030);
- limitazione per biocarburanti ottenuti a partire dai cereali e da altre colture amidacee, zuccherine od oleaginose: quota del 2020 (7%) con una flessibilità dell'1%.

Tale Direttiva incentiva il potenziamento delle attività di ricerca, sviluppo e produzione inerenti i biocarburanti avanzati, come quelli prodotti da rifiuti e alghe, che consentono significative riduzioni delle emissioni di gas a effetto serra, con un limitato rischio di causare un cambiamento indiretto della destinazione dei terreni, e non concorrono direttamente per lo sfruttamento di terreni agricoli con le colture destinate alla produzione alimentare e di mangimi.

La produzione di biocarburanti da microalghe in vasche aperte è una tecnologia che rientra nelle produzioni energetiche agricole, facilmente assimilabile dall'agricoltura, sempre più in crisi e che cerca nuove fonti per risparmiare energia e creare fonti di guadagno. Un'ulteriore applicazione in campo agricolo/zootecnico è l'integrazione in impianti di digestione anaerobica, dove la biomassa vegetale residua dei processi di estrazione dell'olio può essere utilizzata come co-substrato per alimentare il digestore.

Diverse caratteristiche rendono, quindi, la soluzione proposta ideale per i territori presi in esame tra cui:

- la produzione di olio da microalghe coltivate a terra in fotobioreattori aperti rappresenta l'ottimizzazione fra la massimizzazione della produzione rispetto la superficie impegnata dall'impianto, la minimizzazione dei costi, la sostenibilità dell'investimento e la resa del prodotto finale;
- si realizza su terreni incolti, non produttivi o compromessi; il potere depurante delle microalghe permette l'uso di acque inquinate (Valle del Sacco), senza intaccare la produzione food;
- è una soluzione naturale, esempio di vettore energetico che permette il passaggio a nuove tecnologie senza dovere ridisegnare le macchine e i mezzi di trasporto attuali;
- permette di ridurre immediatamente le emissioni proporzionalmente alla percentuale di miscelazione nei carburanti fossili;
- è una tecnologia non impattante, i cui carburanti senza zolfo, se gestiti in modo integrato, hanno la possibilità, nel loro ciclo di produzione, di partecipare all'attuazione di un'economia circolare e ridurre ulteriormente l'inquinamento dell'aria e dell'acqua;
- la produzione di biodiesel e di bioavio permette di utilizzare la stessa rete di distribuzione dei combustibili fossili.

In conclusione, tale progetto presenta innumerevoli vantaggi, tra cui la capacità di integrazione in diversi processi e la possibilità di utilizzo dei sottoprodotti generati. Inoltre, permetterebbe la creazione di nuovo valore e contribuirebbe al risanamento delle aree compromesse della Valle del Sacco.

Bibliografia

[1] La terra del Sacco e dei Lepini: monografia storico-ecologica su due nostre perle paesaggistiche: i monti Lepini e il fiume Sacco, Comune di Anagni, 1995-1997.

[2] M. R. Protasi, L'agro romano e pontino. Dall'unità d'Italia alla Seconda guerra mondiale, in L. Barozzi, Storia del Lazio rurale, Arsial, Iea, Roma, 2008, p. 78.

[3] Il gruppo industriale BPD, Stabilimento Arti Grafiche A. Pizzi s.p.a., Milano, 1962, pp. 11.

[4] Baris, T.; Casmirri, S. Un potere locale tra Seconda guerra mondiale e dopoguerra: strategie e orientamento della chiesa ciociara tra il 1943 e il 1948 in: lo Stato in periferia. 2003, Università degli Studi di Cassino, Viella, Roma.

[5] Battista, F. Dal nucleo di industrializzazione all'area di sviluppo della provincia di Frosinone. In "La giornata dell'industria". Atti del Convegno, 1968, Cassino, pp.11-13.

[6] Mastracco, F.; Pompeo, C. Consorzio per l'area di sviluppo industriale della provincia di Frosinone. 1981. Tipografia Pasquarelli, Sora, pp. 38-4.

[7] Archivio di Stato di Frosinone, Prefettura, II Vers., Serie I, b. 1252, f. Scarichi industriali, s.f. Inquinamento fiume Sacco.

[8] Scarichi industriali, s.f. Ditta Annunziata, Prefettura, II Vers., Serie I, b. 1252.

[9] Industria, ambiente e territorio. Per una storia ambientale delle aree industriali italiane, Il Mulino, 2009, Bologna, pp. 124- 127.

[10] Frosinone, esposti inquinamento e Ceccano, contenente il sottofascicolo Clipper Oil, in: ASF, Prefettura, V vers., b. "ce-g". Cfr. ASF, Prefettura, II vers., b. 1182, f. Contributi alla provincia da parte della "Isveimer"

[11] Iannucci, F. Licenza di inquinare, in "Il Messaggero", 5 luglio 1985. Cfr. Interrogazione parlamentare dell'On. Fini del 14 maggio 1985, in ASF, Prefettura, V vers., b. Inquinamento, f. Bacino fiume Sacco

[12] Ruzzenenti, M.; http://Use the "Insert Citation" button to add citations to this document. www.industriaeambiente.it/schede/valle_del_sacco/, 2013.

[13] Umano, B. A. E. (2012). Contaminazione da beta-esaclorocicloesano delle aziende bovine da latte della Valle del Sacco (Lazio). Gestione dell'emergenza 2005 e conseguente studio di coorte retrospettivo. Epidemiol Prev, 36(5 suppl 4), 34-43.

[14] Scavia, G.; Babsa, S.; Sala, M. IV Workshop Nazionale di Epidemiologia Veterinaria, Epidemiologia: strumenti per conoscere, agire e decidere in Sanità Pubblica Veterinaria, 11-12 dicembre 2008, Università degli Studi "Sapienza" Roma.

[15] Studio di fattibilità distretto agroenergetico Valle dei Latini.

[16] Relazione tecnica delle attività condotte nel quadro del progetto "Salute della popolazione nell'area della Valle del Sacco" "Azioni di controllo, monitoraggio e informazione ambientale". 2010-2013, Dipartimento di Epidemiologia della ASL Roma.

[17] E. 20 Pirastu, R.; Gruppo di lavoro Sentieri. Progetto Sentieri- Studio epidemiologico nazionale dei territori e degli insediamenti esposti a rischio da inquinamento,2011. Dipartimento di Biologia e Biotecnologie Charles Darwin, Sapienza Università di Roma.

[18] Sito Regione Lazio. http://www.regione.lazio.it

[19] Kipar, A. (2010). Progetto strategico di valorizzazione della VALLE del SACCO.

[20] Valle del Sacco: da disastro ambientale a distretto agroenergetico di Chiara Ranallo, Ecologieae.

[21] CNR. Piano triennale di attività del CNR 2008-2011. Dipartimento di Biologia Agro-ambientale, Roma.

[22] Spezzano, P. (2004). Inquinanti organici persistenti. Energia, Ambiente, Innovazione, 5, 30-48.

[23] Fumo nelle valli: il 'caso' della Valle del Sacco. Cnr-isac. https://www.cnr.it/it/news/9231/fumo-nelle-valli-il-caso-della-valle-del-sacco

[24] Shuba, E. S. & Kifle, D., 2018. Microalgae to biofuels: 'Promising' alternative and renewable energy, review. Renewable and Sustainable Energy REviews, 88, 743-755.

[25] Fernández, F. A., et al., 2019. Costs analysis of microalgae production. In Biofuels from algae. 551-566. Elsevier.

[26] Kumar, P., et al., 2017. Cultivation of native algal consortium in semi-continuous pilot scale raceway pond for greywater treatment coupled with potential methane production. Journal of environmental chemical engineering, 5(6), 5581-5587.

[27] Hussain, F., et al., 2021. Microalgae an ecofriendly and sustainable wastewater treatment option: Biomass application in biofuel and bio-fertilizer production. A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 137, 110603.

[28] Sadava, D. *et al.*, 2008. *SCIENZE*. Available at: www.zanichelli.it (Accessed: 22 December 2019).

[29] Orofino, N., 2017. *Macroalghe e microalghe: applicazioni in campo alimentare, industriale e farmaceutico*. Youcanprint. Available at: https://books.google.it/books?id=EmqqDgAAQBAJ.

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

[31] Chisti Y. (2007) Biodiesel from microalgae. Biotechnology Advances, 25, 294-306.

[32] ENEA, 2012. Le microalghe nel settore dei biocombustibili. Sviluppo e sostenibilità. https://www.enea.it/it/seguici/pubblicazioni/EAI/anno-2012/n.-2-marzo-aprile-2012/le-microalghe-nel-settore-dei-biocombustibili.-sviluppo-e-sostenibilita

[33] Mata, T. M., Martins, A. A., & Caetano, N. S., 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renewable and sustainable energy reviews*, *14*(1), 217-232.

[34] Li, Y., Horsman, M., Wu, N., Lan, C. Q., & Dubois-Calero, N., 2008. Biofuels from microalgae. *Biotechnology progress*, *24*(4), 815-820.

[35] Brennan, L., & 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*(2), 557-577.

[36] Richmond A, 2004. Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology. Blackwell Science Ltd.

[37] Gressel J., 2008. Transgenics are imperative for biofuel crops. Plant Science. 174(3):246–63.

[38] Meng, T. K., Kassim, M. A., & Cheirsilp, B., 2020. Mixotrophic cultivation: biomass and biochemical biosynthesis for biofuel production. In *Microalgae Cultivation for Biofuels Production* (pp. 51-67). Academic Press.

[39] S.K. Saha, P. Murray, 2008. Exploitation of microalgae species for nutraceutical purposes: cultivation aspects, Fermentation. 4, 46-63.

[40] L. Moreno-Garcia, K. Adjalle, S. Barnabé, G.S.V. Raghavan, 2017. Microalgae biomass production for a biorefinery system: recent advances and the way towards sustainability, Renew. Sust. Energ. Rev. 76. 493-506.

[41] P. Kenny, K.J. Flynn, 2019. Physiology limits commercially viable photoautotrophic production of microalgal biofuels, J. Appl. Phycol. 29. 2713-2727.

[42] A.K. Vuppaladadiyam, P. Prinsen, A. Raheem, R. Luque, M. Zhao, 2018. Microalgae cultivation and metabolites production: a comprehensive review, Biofuels Bioprod. Bioref. 12, 304-324.

[43] Zhan, J. Rong, Q. Wang, 2017. Mixotrophic cultivation, a preferable microalgae cultivation mode for biomass/bioenergy production and bioremediation, advances and prospect, Int. J. Hydrog. Energy 42. 8505-8517.

[44] Richmond, A., 2013. *Handbook of Micoralgal culture.* s.l.:WILEY Blackwell.

[45] Meng, T. K., Kassim, M. A., & Cheirsilp, B., 2020. Mixotrophic cultivation: biomass and biochemical biosynthesis for biofuel production. In *Microalgae Cultivation for Biofuels Production* (pp. 51-67). Academic Press.

[46] F.J. Marquez, K. Sasaki, T. Kakizono, N. Nishio, S. Nagai, 1993. Growth characteristics of Spirulina platensis in mixotrophic and heterotrophic conditions, J. Ferment. Bioeng. 76, 408-410.

[47] J. Zhan, J. Rong, Q. Wang, 2017., Mixotrophic cultivation, a preferable microalgae cultivation mode for biomass/bioenergy production, and bioremediation, advances and prospect, Int. J. Hydrogen Energ. 42 8505-8517.

[48] Cho, B. A. and Pott, R., 2019. The development of a thermosiphon photobioreactor and analysis using Computational Fluid Dynamics (CFD), *Chemical Engineering Journal*. Elsevier B.V., pp. 141–154. doi: 10.1016/j.cej.2019.01.104.

[49] Jankowska, E., Sahu, A. K. & Oleskowicz-Popiel, P., 2017. Biogas from microalgae: Review on microalgae's cultivation, harvesting and pretreatment for anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews, Vol 75*, pp. 692-709.

[50] Peng, S., & Colosi, L. M., 2016. Anaerobic digestion of algae biomass to produce energy during wastewater treatment. Water Environment Research, 88(1), 29-39.

[51] Mutanda, T., et al., 2020. Biotechnological Applications of Microalgal Oleaginous Compounds: Current Trends on Microalgal Bioprocessing of Products. Front. Energy Res, 8, 598803.

[52] Solé-Bundó, M., et al., 2019. Co-digestion strategies to enhance microalgae anaerobic digestion: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 112, 471-482.

[53] Olsson, J., et al., 2018. Anaerobic co-digestion of sludge and microalgae grown in municipal wastewater–a feasibility study. Water Science and Technology, 77(3), 682-694.

[54] Ward, A. J., et al., 2014. Anaerobic digestion of algae biomass: a review. Algal Research, 5, 204-214.

[55] Saratale, R. G., et al., 2018. A critical review on anaerobic digestion of microalgae and macroalgae and co-digestion of biomass for enhanced methane generation. Bioresource technology, 262, 319-332.

[56] Cramer, W., et al., 2018. Climate change and interconnected risks to sustainable development in the Mediterranean. Nature Climate Change, 8(11), 972-980.

[57] Woertz, I., et al., 2009. Algae grown on dairy and municipal wastewater simultaneous nutrient removal and lipid production for biofuel feedstock. Journal of Environmental Engineering, 135(11), 1115-1122.

[58] Hena, S., et al., 2015. Screening of facultative strains of high lipid producing microalgae for treating surfactant mediated municipal wastewater. RSC advances, 5(120), 98805-98813.

[59] Gentili, F. G., 2014. Microalgal biomass and lipid production in mixed municipal, dairy, pulp and paper wastewater together with added flue gases. Bioresource technology, 169, 27-32.

[60] Lu, W., et al., 2015. Cultivation of Chlorella sp. using raw dairy wastewater for nutrient removal and biodiesel production: Characteristics comparison of indoor bench-scale and outdoor pilot-scale cultures. Bioresource technology, 192, 382-388.

[61] Usha, M. T., et al., 2016. Removal of nutrients and organic pollution load from pulp and paper mill effluent by microalgae in outdoor open pond. Bioresource technology, 214, 856-860.

[62] Ras, M., et al., 2013. Temperature effect on microalgae: a crucial factor for outdoor production. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 12(2), 153-164.