

# UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II



## FACOLTA' DI INGEGNERIA

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA PER L'AMBIENTE E IL TERRITORIO

### ELABORATO DI LAUREA

*Produzione di biodiesel dalle colture algali*

**RELATORE**

**Ch.mo Prof.**

**Roberto Andreozzi**

**CANDIDATI**

**Figaj Rafal Damian matr.518/742**

**Vicidomini Maria matr.518/684**

# ***Introduzione***

*Le fonti energetiche alternative rappresentano una priorità per i paesi il cui fabbisogno energetico è dipendente dai combustibili fossili. Ciò deriva essenzialmente da:*

- limite delle riserve mondiali di combustibili fossili;*
- distribuzione non omogenea nel mondo delle riserve di combustibili fossili;*
- surriscaldamento dell'atmosfera terrestre ( il cosiddetto "effetto serra").*

*La produzione di bioenergia risulta essere una delle soluzioni più promettenti soprattutto nel settore dei trasporti. In tale settore gli obiettivi sono:*

- incremento produzione di biocarburanti (il biodiesel);*
- innalzare il contenuto in peso del biodiesel al 20% sul contenuto totale del diesel;*
- riduzione delle emissioni di CO<sub>2</sub>.*

# Problema energetico e esaurimento dei combustibili

Per lo sviluppo economico e tecnologico l'energia è senza dubbio il fattore di produzione. La richiesta di energia è in costante aumento e ciò lo dimostra:

- incremento del prezzo del greggio e degli idrocarburi fossili;
- crescita della domanda di beni di consumo e di servizi come quello del trasporto.



Gli idrocarburi fossili non sono una fonte rinnovabile. I loro giacimenti si esauriranno in tempi brevi; sono fonte di inquinamento.



Si mira a ricercare tecnologie per la produzione di energia rinnovabile volte ad uno sviluppo sostenibile e alla conseguente tutela ambientale

# Fonti rinnovabili

Sono rappresentate dalle seguenti forme di energia: solare, eolica, idraulica, geotermica, del moto ondoso (maree e correnti) e da biomasse.

I vantaggi delle fonti rinnovabili sono:

- si rinnovano in tempi brevi;
- inesauribili;
- meno inquinanti;
- riducono l'effetto serra.



Le fonti rinnovabili potranno fornire un importante contributo per soddisfare il futuro fabbisogno energetico.

# Diesel ed esigenza del biodiesel

Il settore dei trasporti si basa sull'utilizzo di combustibili fossili, tra i quali il diesel.

Il diesel appartiene alla categoria di combustibili per motori a combustione interna.



Il biodiesel è un combustibile alternativo per motori diesel, formato da una miscela di esteri metilici di acidi grassi.

I suoi principali vantaggi:

- è attualmente il più disponibile;
- non è tossico;
- è biodegradabile.

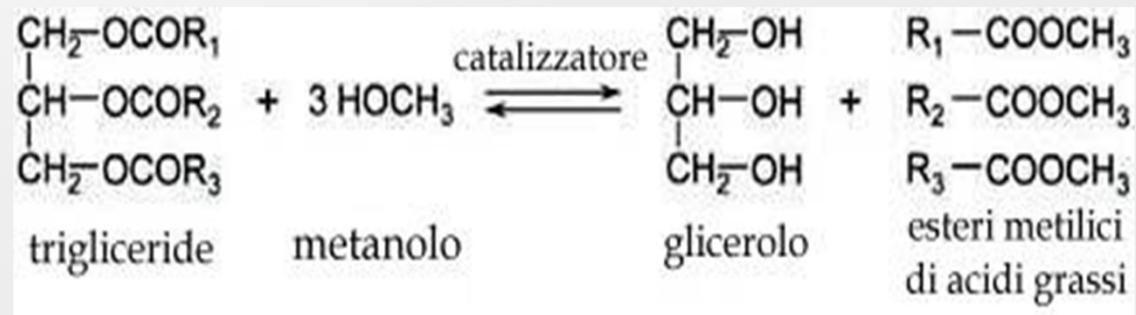


Il biodiesel è utilizzato nei motori diesel (senza apportare eccessive modifiche), generalmente sotto forma di miscela al 7% nelle autovetture, di miscela fino 30% negli autobus urbani e in forma pura in motori modificati.

# Biodiesel: metodi di produzione

I suoi metodi di produzione:

- La pirolisi: processo di decomposizione termochimica dei trigliceridi in assenza di aria e ossigeno.
- La transesterificazione: processo che produce esteri metilici di acidi grassi (il biodiesel) e glicerina secondo la seguente reazione:



Reazione di transesterificazione

A 60 °C e alla pressione atmosferica, la reazione è completa in circa 90 minuti.

Per evitare la saponificazione, la miscela deve essere priva di acqua.

Il biodiesel viene recuperato dopo ripetuti lavaggi con acqua rimuovendo glicerolo e metanolo.

# Fonti del biodiesel



Il biodiesel deriva dal trattamento di oli provenienti dalle piante oleaginose (olio di colza, di girasole e di semi di soia, di mais, di cocco, di palma, di arachidi).

Problemi:

- uso di sostanze chimiche per l'agricoltura;
- i conflitti dovuti all'utilizzo delle colture a scopo alimentare;
- scarsa efficienza di fissaggio dell'energia solare e di CO<sub>2</sub>.



La ricerca biotecnologica ha trovato nei lipidi estratti dalle microalghe, una fonte per il biodiesel rinnovabile.

A parità di tempi e superficie, le microalghe possono produrre oli fino all'80% del peso secco della biomassa rispetto alle piante da raccolto, in quantità superiori a 10-100 volte.



# Confronto tra le fonti del biodiesel

Questa tabella mostra la resa espressa in quantità di olio ricavata in media per ettaro da diverse colture, la relativa area richiesta<sup>a</sup> e la percentuale di area coltivata negli USA<sup>a</sup>.

Coltura	Rendita di olio (L/ha)	Area richiesta (milioni di ha) <sup>a</sup>	Percentuale di area coltivata esistente negli USA <sup>a</sup>
Mais	172	1540	846
Semi di soia	446	594	326
Canola	1190	223	122
Jatropha	1892	140	77
Noce di cocco	2689	99	54
Olio di palma	5950	45	24
Microalghes <sup>b</sup>	136900	2	1,1
Microalghes <sup>c</sup>	58700	4,5	2,5

<sup>a</sup> Rispetto al 50% dell'intera quantità di carburante necessaria annualmente per il trasporto negli Stati Uniti

<sup>b</sup> 70% di olio (in peso) presente nella biomassa da colture provenienti da fotobioreattori

<sup>c</sup> 30% di olio (in peso) presente nella biomassa da colture provenienti da fotobioreattori

# Microalghe

Le microalghe sono un gruppo eterogeneo di microrganismi unicellulari sia fotosintetici che eterotrofi. Sono dotate di straordinarie potenzialità nella produzione di energia

•Autotrofi: mediante la reazione di fotosintesi clorofilliana, si ottengono sostanze ad elevato contenuto energetico:



•Eterotrofi: la loro nutrizione si basa su composti organici pre-sintetizzati da microrganismi autotrofi. Per questi organismi è presente la reazione di respirazione:



Per entrambi è necessario, affinché sia favorita la crescita algale, tenere sotto controllo una serie di parametri: nutrienti, luce, temperatura e pH.

# Stato dell'arte: metodi di produzione algale

Gli unici metodi praticabili su larga scala per la produzione autotrofa di microalghe sono i raceway ponds e i fotobioreattori.

Caratteristiche:

- richiedono un continuo apporto di luce, naturale al fine di rendere il processo sostenibile economicamente;
- è fondamentale la  $CO_2$ , elemento principale per lo sviluppo algale;
- bisogna tenere sotto controllo i valori del pH e nutrienti necessari.



Un esempio di raceway ponds (Cyanotech Corp., Hawaii, USA)



Un esempio di fotobioreattore sistemato in una serra

# I raceway ponds

Sono rappresentati da un anello chiuso di ricircolazione, tipicamente profondo 30 cm.

Essi sono costituiti da:

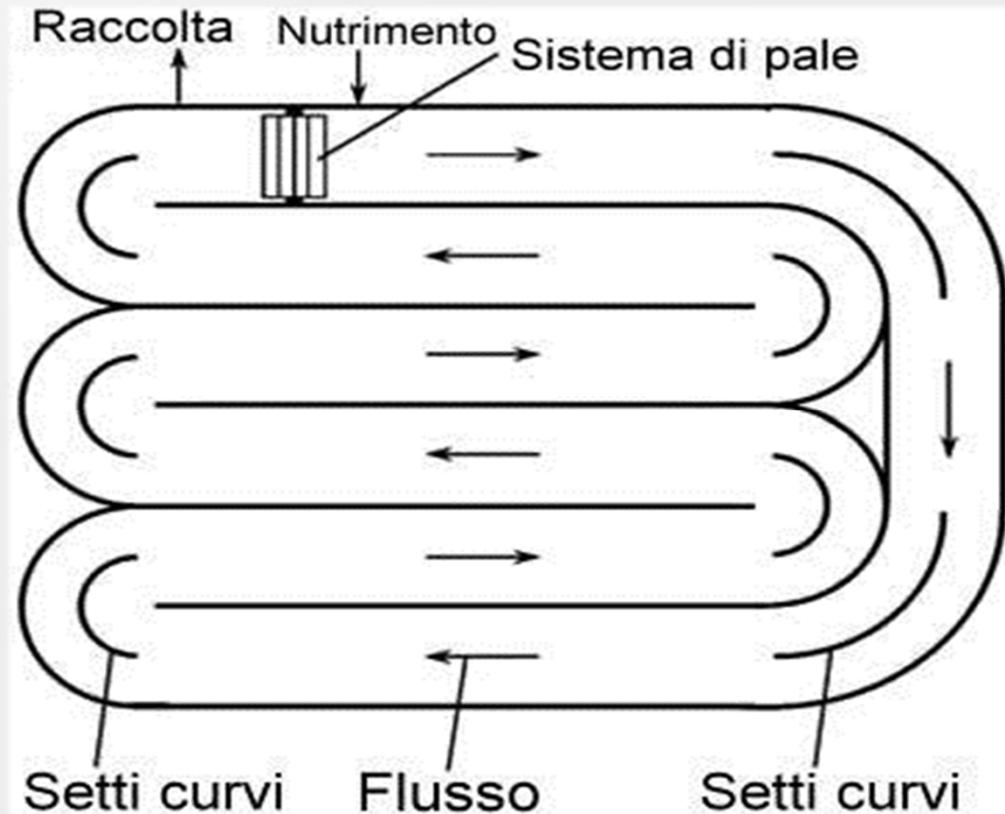
- un sistema di pale rotanti;
- una serie di setti curvi;
- zona di raccolta e nutrimento.

I canali sono costruiti in terra compattata o in cemento.

Esiste ormai una vasta esperienza sulla loro operatività e costruzione.

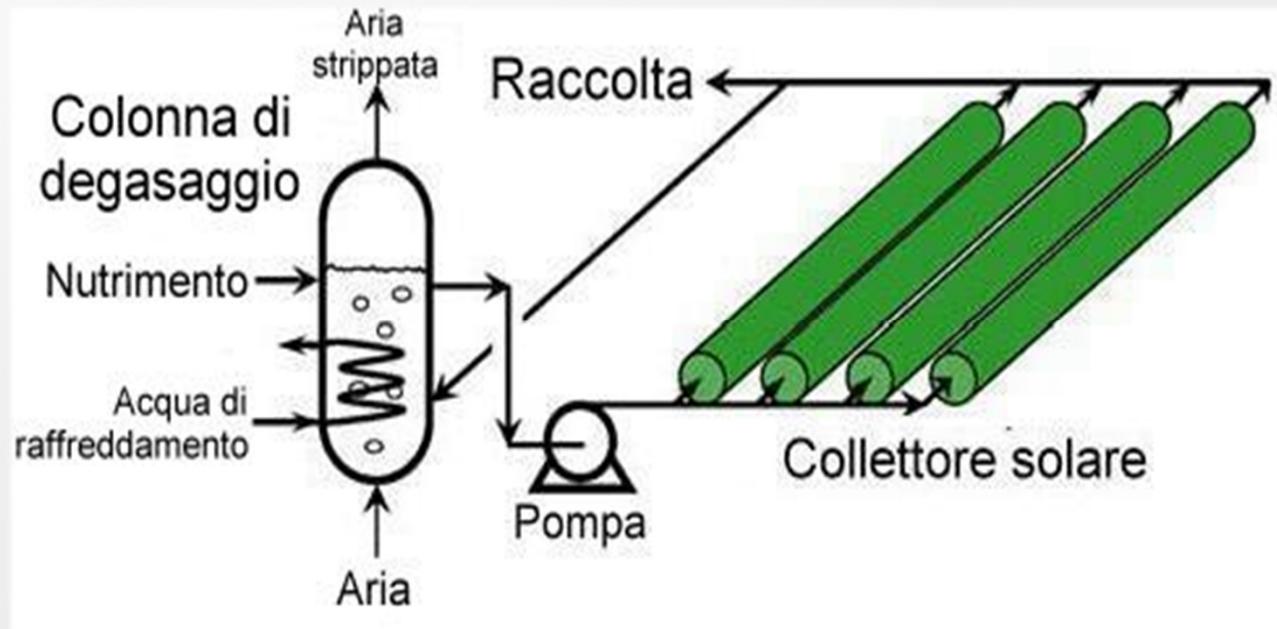
Bisogna evitare:

- eccessiva perdita d'acqua per evaporazione: raffreddamento;
- la contaminazione della produzione;
- zone buie che impediscono lo sviluppo algale.



# I fotobioreattori

Un fotobioreattore tubolare è un sistema di tubi rettilinei e trasparenti, in plastica o in vetro, la cui lunghezza non eccede gli 80 metri. I tubi hanno un diametro di circa 10 cm o inferiore. Il flusso algale, reso turbolento mediante una pompa, circola dalla colonna di degassificazione al collettore solare e torna indietro alla colonna.



Il collettore solare è orientato in modo da massimizzare l'assorbimento della luce.

Una intensa luce solare e livelli di ossigeno disciolto troppo alti inibiscono la fotosintesi. L'alimentazione di  $\text{CO}_2$  varia in funzione del pH. Bisogna tenere sotto controllo la temperatura diurna e notturna.

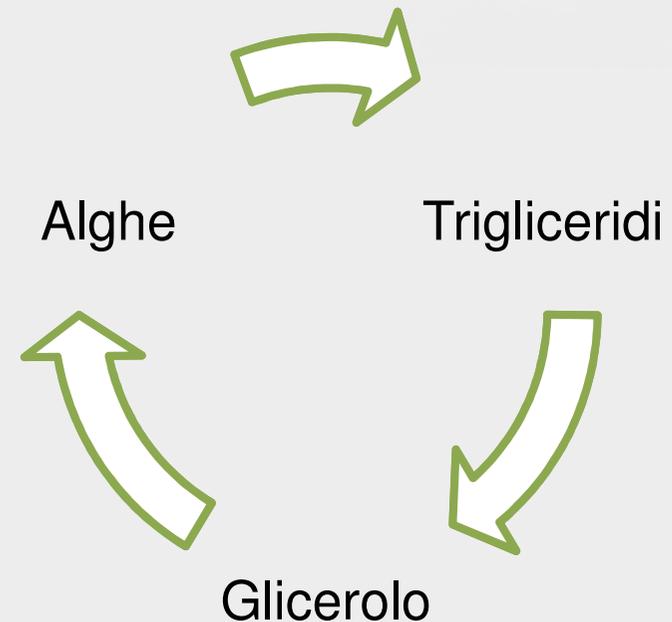
# Produzione eterotrofa e glicerolo

Non è necessaria la presenza della luce ma bensì della sostanza organica che risulta essere metabolizzabile da vari microrganismi, tra i quali le alghe.

Per una produzione a larga scala si ricerca una sostanza prodotta in grandi quantità e a basso costo. Il glicerolo è un esempio.

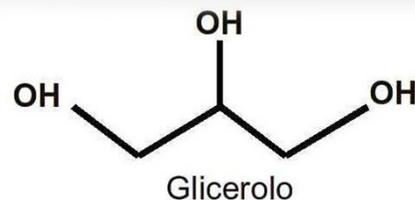
Essendo un sottoprodotto della reazione di transesterificazione e dell'industria chimica in generale, può essere utilizzato anche come nutriente per le alghe.

E' possibile infatti teorizzare un ciclo chiuso:



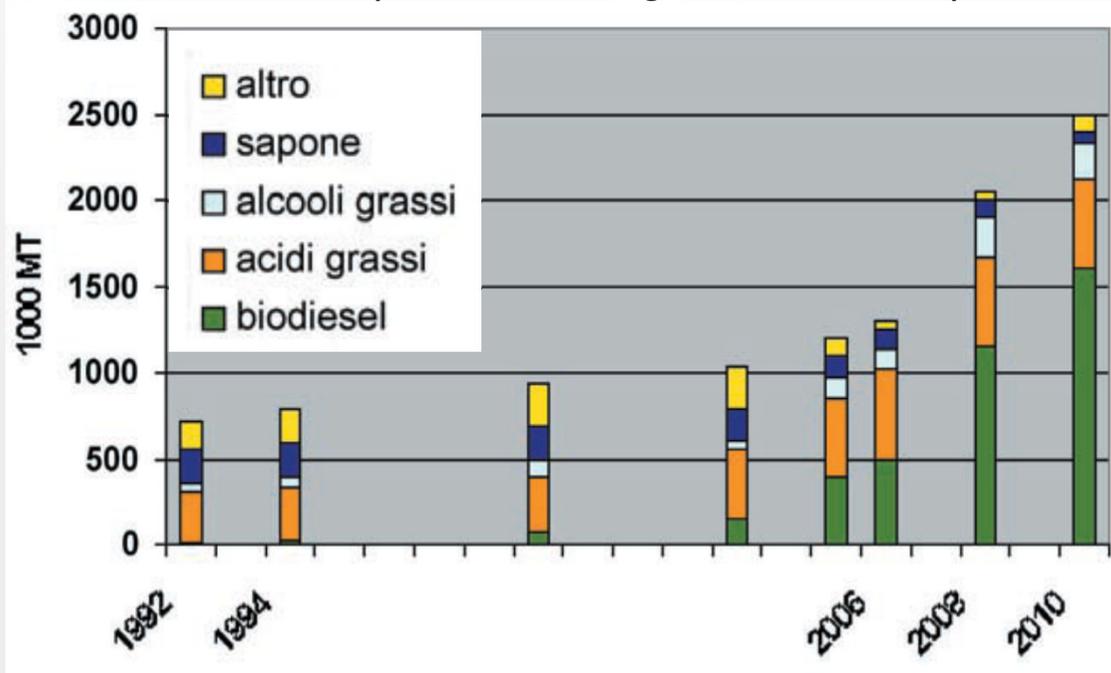
# Il glicerolo e la produzione di biodiesel

La struttura molecolare del glicerolo è:



Più che sottoprodotto, è opportuno chiamarlo coprodotto poiché il suo impatto sull'economia di produzione del biodiesel è rilevante.

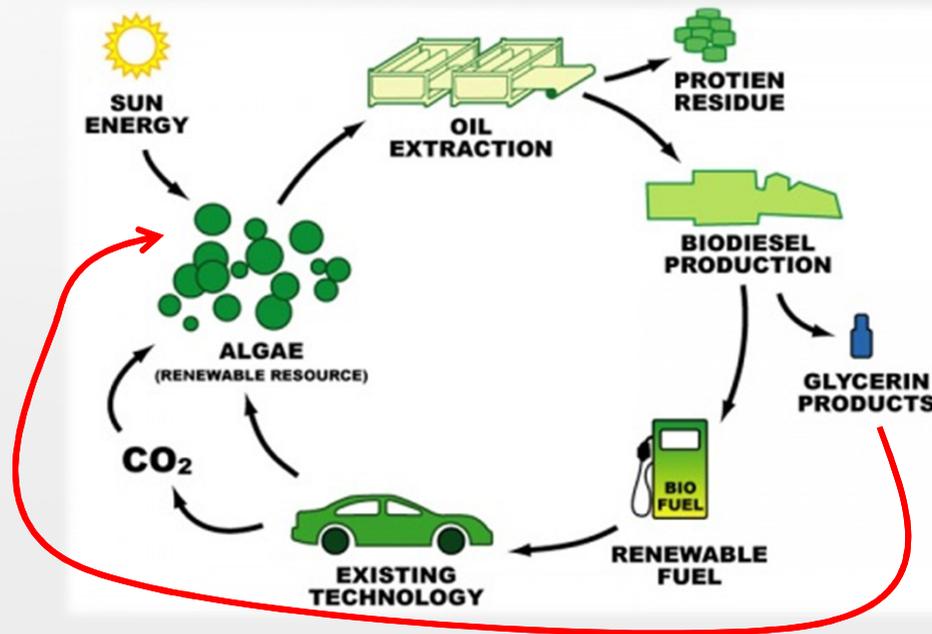
Incremento della produzione di glicerolo nel tempo nei diversi settori:



L'interesse è sempre più rivolto verso lo sviluppo di nuovi usi del glicerolo al fine di riequilibrare il rapporto tra domanda e offerta.

# Scopo della tesi

La seguente tesi riassume la ricerca di sistemi e tecnologie che mirino a sviluppare l'ambiziosa ma promettente prospettiva di produrre biocombustibile biodiesel mediante trasformazione chimica di lipidi estratti da microalghe.



Lo studio si è concentrato sull'individuazione delle migliori condizioni di crescita della biomassa e sulla massimizzazione del contenuto lipidico e relative tecniche impiegate. In questa ottica si è sperimentato una possibile crescita algale in condizione eterotrofica su glicerolo, prodotto secondario della reazione di produzione del biodiesel stesso

# Parte sperimentale

Prima di tutto sono stati individuati due gruppi di organismi unicellulari:

- **Chlorophyta** (alghe verdi);
- **Rhodophyta** (alghe rosse).



Un esemplare di microalga delle Chlorophyta



Un esemplare di microalga delle Rhodophyta

Entrambi sono capaci di produrre acidi grassi simili a quelli delle piante verdi oggi impiegate alla produzione del biodiesel.

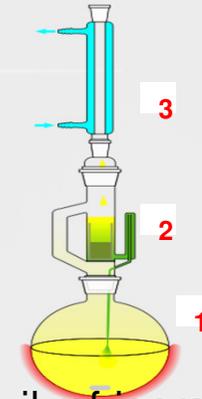
# Strumentazione utilizzata

- Liofilizzatore:** consente l'essiccazione della biomassa algale.

- Estrattore soxhlet:** è così costituito:

- 1) pallone;
- 2) estrattore soxhlet;
- 3) refrigerante a cadere.

Il solvente è portato all'ebollizione con una piastra; i suoi vapori raggiungono il refrigerante, gocciolano nel contenitore, estraendo le sostanze organiche.



- Spettrofotometro:** misura la concentrazione delle sostanze solubili e delle cellule basandosi sulla loro capacità di assorbire radiazioni nel campo del visibile e nel vicino UV.

- GC-MS:** è basata sull'utilizzo di un gascromatografo e uno spettrometro di massa (rilevatore).

- HPLC:** cromatografo in fase liquida, consente l'analisi qualitativa e quantitativa di acidi grassi e di esteri metilici degli acidi grassi

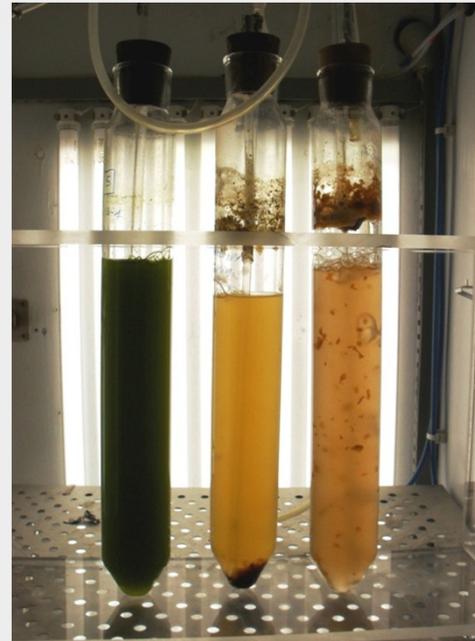
- Ossigrafo:** misura nel tempo la concentrazione dell'ossigeno in sospensioni liquide e quindi dell'attività respiratoria delle cellule algali.

- pH-metro:** consente la misurazione del pH.

# Fase di crescita algale

Abbiamo utilizzato:

- Bioreattori di laboratorio: di forma cilindrica e realizzati in vetro trasparente.
- Camere climatiche: in grado di garantire condizioni di luce e temperatura ideali per l'alga, in quanto equipaggiate con dispositivi di misura e controllo.



- Terreno di coltura: Bold Basal Medium agarizzato e liquido che è stato ripetutamente sottoposto ad isolamento e rimozione di altri organismi eventualmente presenti. Il terreno è ottenuto dall'aggiunta di alcuni composti in acqua bidistillata.

# Estrazione degli acidi grassi

Questa procedura l'abbiamo sviluppata e attuata mediante le seguenti fasi:

- centrifugazione

- separazione

- essiccazione

- estrazione in soxhlet

- dissoluzione

- neutralizzazione

- saponificazione

Si sono determinati in questo modo le quantità di: acidi liberi, acidi grassi e sostanze insaponificabili.

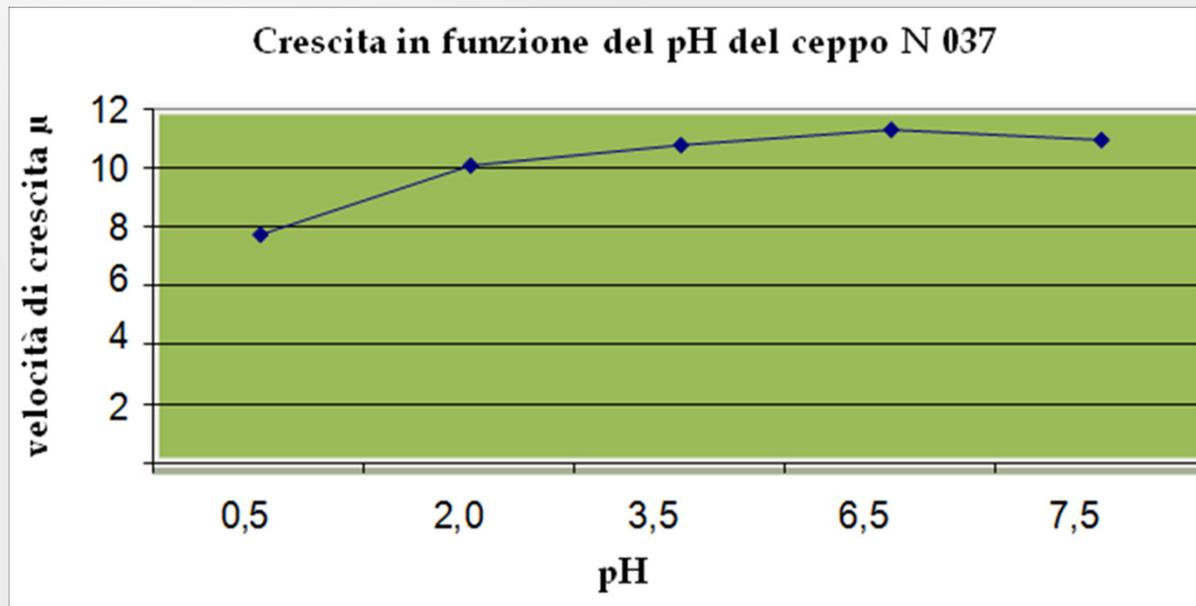
# I fase: sperimentazione su Chlorophyta (1)

• **Individuazione delle condizioni colturali che assicurano migliori velocità di crescita degli isolati algali.**

Solo 2 ceppi ( N 124 e N 037) su 60 sono in grado di vivere a pH acido ed a elevate concentrazioni di NaCl. La velocità di crescita  $\mu$  è stata calcolata mediante la formula:

$$\mu = \ln(N_t/N_0)/t,$$

$N_t$  ed  $N_0$  sono rispettivamente il numero di cellule al tempo  $t$  ed al tempo 0, e  $t$  è l'intervallo di tempo prescelto (24 ore).



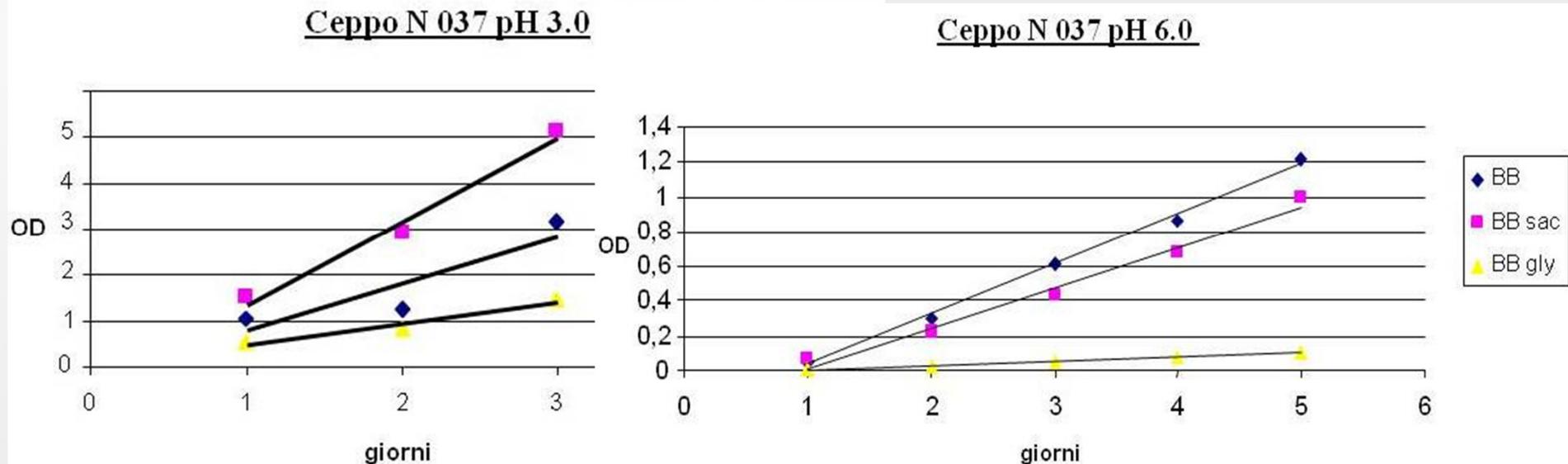
Solo il ceppo N 037 ha evidenziato una velocità di crescita rilevante su glicerolo ed è stato scelto per il passo successivo.

# I fase: sperimentazione su Chlorophyta (2)

•Analisi delle rese produttive del ceppo N 037 nelle condizioni selezionate (autotrofia, eterotrofia su saccarosio e glicerolo come substrato).

Le migliori rese si sono avute con saccarosio e a pH 3.0 e pH 6.0.

Su glicerolo, ad entrambi i pH, è stata riscontrata una crescita con velocità molto più bassa.



I risultati hanno quindi evidenziato come le condizioni sperimentali richieste siano scarsamente compatibili con le caratteristiche delle Chlorophyta unicellulari.

# Il fase: sperimentazione su Rhodophyta (1)

Solo un ceppo algale su 50 è stato capace di vivere a bassi pH e con glicerolo come substrato.

## **Influenza della composizione del terreno sui tassi di crescita.**

Variando la concentrazione dei nutrienti, a parità di T, pH, ossigeno disciolto, l'alga continua a crescere esponenzialmente, indipendentemente dall'aumento della biomassa.

## **Effetto sulla velocità di crescita del preadattamento a particolari substrati organici.**

Il preadattamento del ceppo a basse concentrazioni di saccarosio o glicerolo, permette una maggiore velocità di crescita.

## **Determinazione del rapporto ottimale tra densità cellulare e contenuto di glicerolo.**

I dati hanno dimostrato che:

- l'aumento della biomassa è correlato all'incremento di nutrienti e substrato organico;
- la concentrazione di sostanze nella coltura non deve superare 1,2 M;
- il rapporto tra le concentrazioni di biomassa prodotta e glicerolo non deve discostarsi da 2.

# Il fase: sperimentazione su Rhodophyta (2)

## •Scaling up delle colture del ceppo.

Su un volume di coltura di 10L con concentrazione algale di 2,0 unità di assorbanza colorimetrica, si è visto che con concentrazioni di glicerolo fino al 6% e quelle di nutrienti doppie rispetto a quelle standard, si raggiungono biomasse di 14 g di peso secco/l.

Si ottiene una velocità di crescita di circa 1.4 kg/(m<sup>3</sup> giorno), valore piuttosto elevato.

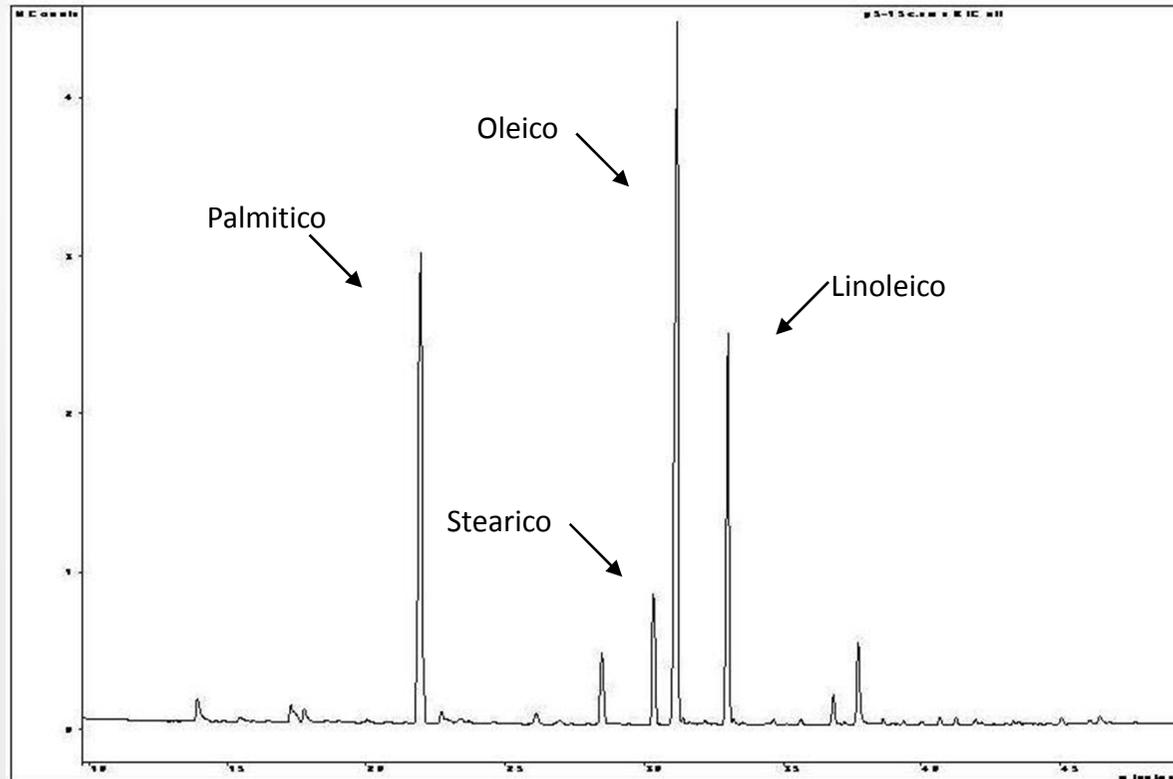
## •Caratterizzazione del contenuto lipidico.

- trigliceridi = 4.65 %
- acidi grassi liberi= 1.20 %
- frazione non saponificabile = 0.55 %

Attraverso la GC-MS si è proceduto alla caratterizzazione della miscela di acidi grassi ottenuti dalla saponificazione dei trigliceridi.

# Il fase: sperimentazione su Rhodophyta (3)

L'analisi GC-MS ha fornito il seguente cromatogramma:



che ha permesso di determinare i seguenti acidi grassi:

- palmitico;
- stearico;
- oleico;
- linoleico.

# Conclusioni parte sperimentale

I ceppi delle Chlorophyta unicellulari hanno evidenziato una scarsa compatibilità per la produzione di biodiesel in presenza di glicerolo per  $\text{pH} \leq 3.0$ .

Solo il ceppo N 037 ha evidenziato una crescita, seppure modesta, su glicerolo in assenza di luce.

Il ceppo B delle Rhodophyta ha mostrato:

- ottima capacità di crescere al buio su glicerolo;
- concentrazioni di biomassa pari a 14 g di peso secco per litro;
- un contenuto di trigliceridi è compreso tra il 3% e l'8% del peso secco;
- la migliore velocità di crescita 1.4 kg/(m<sup>3</sup> giorno) tra tutti i ceppi osservati.



# Conclusioni

La produzione di biodiesel da microalghe:

- campo piuttosto inesplorato;
- forti margini di sviluppo;
- il suo processo produttivo non è ancora competitivo con l'industria dei carburanti.

Il biodiesel ha benefici ambientali poiché è ottenuto da fonti rinnovabili, ma ci sono ancora problemi da risolvere:

## •costi

Il recupero di glicerolo di alta qualità può diminuire tali costi.

Tuttavia, c'è ormai un surplus di glicerolo → ricerca di nuovi impieghi → produzione eterotrofica delle alghe su substrati di glicerolo.

## •disponibilità limitata di fonti (oli e grassi)

Infatti si ricercano risorse diverse non fondamentali per l'uomo: le alghe.

**Questa è la sfida potenziale del biodiesel.**



**Grazie per l'attenzione**