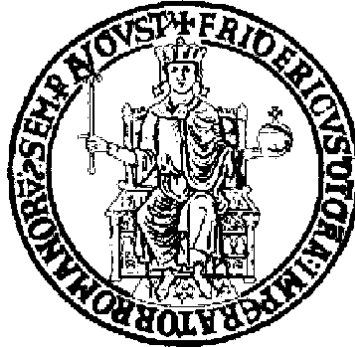


**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI**  
**“FEDERICO II”**



**Scuola Politecnica e delle Scienze di Base**

Dipartimento di Ingegneria Civile, Edile e Ambientale

**CORSO DI STUDIO MAGISTRALE IN**  
**INGEGNERIA PER L'AMBIENTE E IL TERRITORIO**

**TESI DI LAUREA**

**“RECUPERO DI NUTRIENTI DA REFLUI ZOOTECNICI**  
**DIGERITI ATTRAVERSO LO SVILUPPO DI COLTURE**  
**ALGALI”**

**Relatore**  
**Ch.mo Prof. Ing. Francesco Pirozzi**

**Candidata**  
**Raffaella Moccia**

**Correlatore**  
**Ing. Vincenzo Luongo**

**Matricola**  
**M67/180**

**Anno Accademico 2014/2015**

## ***Introduzione***

Obiettivo del presente elaborato è quello di valutare l'efficienza di rimozione dei nutrienti dagli effluenti derivanti da trattamenti biologici, nello specifico della digestione anaerobica, analizzando le performance e i parametri fondamentali che influenzano la crescita delle microalghe utilizzate a tale scopo. Nello specifico, è stata valutata la possibilità di recuperare nutrienti dalla frazione liquida del digestato di un impianto in scala reale, operante, in regime di mesofilia, la conversione energetica di deiezioni zootecniche. L'effluente considerato contiene elevate concentrazioni di azoto e fosforo, responsabili dell'eutrofizzazione e per i quali è importante provvedere non solo la rimozione ma anche il contestuale recupero, metalli pesanti e materiale organico lentamente biodegradabile. Le microalghe rappresentano un interessante metodo di trattamento poiché sono in grado di assorbire azoto, fosforo, metalli pesanti e composti organici scongiurando il pericolo di inquinamento secondario legato al successivo scarico di questi effluenti; inoltre, grazie all'azione del loro metabolismo autotrofo, sono in grado di mitigare l'effetto serra operando il sequestro della CO<sub>2</sub> di cui si nutrono. Esse, inoltre, possono essere utilizzate come materia prima per la produzione di energia, biogas o biocarburante, oppure per la successiva estrazione di sottoprodotti ad elevato valore aggiunto richiesti soprattutto nel campo dell'industria farmaceutica, cosmetica e agro alimentare.

Accoppiare i sistemi di trattamento delle acque reflue alla coltivazione algale significa controbilanciare i costi di trattamento delle acque con la produzione di una biomassa valorizzabile come energia e prodotti dal considerevole valore economico.

Negli ultimi anni, quindi, l'interesse della comunità scientifica all'applicazione delle microalghe al trattamento delle acque reflue, utilizzate come medium di coltura necessario per la crescita e la produzione biochimica di interessanti prodotti di pregio, assume sempre maggior importanza, con notevoli riscontri nel numero di lavori scientifici a tale scopo rivolti.

## ***Fattori limitanti del processo***

La luce è un fattore fondamentale per la crescita autotrofa e l'attività foto sintetica delle microalghe. Essa governa la fotosintesi, grazie alla quale è possibile l'accumulo e l'utilizzazione dell'energia necessaria per il loro metabolismo, regolando quasi completamente le reazioni chimiche e biologiche che avvengono nel caso dell'utilizzo di tali colture.



**Figura 1** *Torbidità del digestato*

Per tale ragione, l'elevata torbidità del digestato costituisce uno dei fattori limitanti nell'applicazione delle microalghe.

La torbidità è causata dal materiale sospeso o dalle impurità presenti naturalmente in tale effluente e riduce la penetrazione e la diffusione della luce necessaria per la crescita delle microalghe e l'assorbimento dei nutrienti.

Alcuni studi suggeriscono che, oltre al colore e la torbidità del digestato, la concentrazione delle microalghe nel medium ostacola la diffusione della luce e quindi la crescita delle microalghe (self-shading).

L'unica soluzione, quindi, risiede nella diluizione del digestato in trattamento oppure nella messa a punto di pretrattamenti che favoriscano la crescita microalgale. È chiaro che la quantità di acqua da utilizzare per tale diluizione deve essere la più piccola possibile non solo per garantire che il processo sia economico ed ecologico, ma anche economicamente sostenibile.

Elevati valori di concentrazioni iniziali di azoto ammoniacale ostacolano la crescita delle microalghe a causa dell'incompatibilità dell'ammoniaca libera con i processi foto sintetici che avvengono nei cloroplasti. Dato che nel digestato è prassi avere alti valori di azoto ammoniacale, si provvede alla sua diluizione allo scopo di ridurre il contenuto di ammoniaca e tenere sotto controllo questa inibizione.

Ulteriore fattore limitante è costituito dalla naturale presenza di forme batteriche all'interno dei substrati in trattamento. Tale condizione, tuttavia, può avere risvolti positivi o negativi in quanto il rapporto microalghe-batteri può essere sia di competizione che di simbiosi.

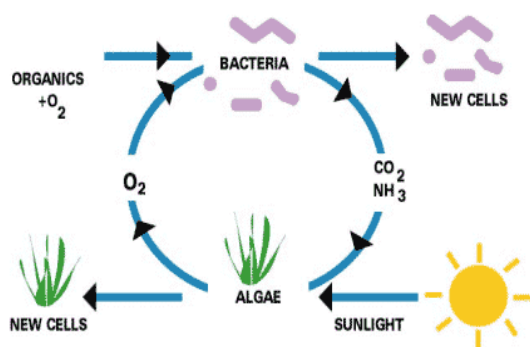


Figura 2 Relazione microaghe-batteri

Alcuni studi hanno dimostrato che l'ossigeno prodotto dalla fotosintesi delle microalghe può essere utilizzato da batteri autotrofi ed eterotrofi per la degradazione sinergica dei substrati.

Non va trascurato, tuttavia, il caso in cui essi competono per l'assimilazione dei nutrienti oppure ostacolano del tutto l'attività microalgale e l'innescano stesso della loro attività.

## Sperimentazione

Per lo svolgimento delle indagini sono stati messi a punto reattori del volume di 500 ml contenenti la fase liquida diluita del digestato come medium di crescita.



Figura 3 Tavolo da lavoro

Quest'ultima è stata ottenuta sottoponendo il digestato a centrifugazione in modo da ottenere una frazione liquida priva di particelle solide e ricca di azoto e fosforo.

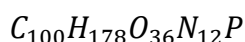
Le prove sono state condotte in condizioni di illuminazione continua e costante, con condizioni di miscelazione di 250 rpm; tutte le prove sono state condotte in triplicato, valutando i tassi di rimozione di azoto e fosforo, l'andamento del pH e dell'alcalinità, nonché il trend del COD.

Nelle specifiche condizioni operative, i meccanismi di rimozione dell'azoto possono essere tre: la volatilizzazione dell'ammoniaca, che si verifica in determinati intervalli di pH e temperatura, l'attività batterica di nitrificazione e l'assorbimento da parte delle microalghe.

I meccanismi di rimozione del fosforo, di contro, sono due: l'assorbimento da parte delle microalghe e la precipitazione dei fosfati.

Il pH è condizionato da due effetti contemporanei: la degradazione dell'ammonio, che comporta una riduzione del suo valore, e l'attività foto sintetica, che, al contrario, comporta un incremento di tale valore. In tutti i reattori l'aggiunta del bicarbonato, la forma di carbonio inorganico necessario al metabolismo fotosintetico, rende il secondo effetto prevalente sul primo. La sua aggiunta, inoltre, rappresenta un fattore cruciale per il suo effetto tampone che impedisce l'accrescimento troppo rapido del valore del pH, consentendo valori non inibitori per le colture in studio.

La quantità di bicarbonato da aggiungere è stata determinata fissando il rapporto stechiometrico C/N pari a 15. Questo valore è stato ricavato dalla "formula minima" molecolare media della composizione delle microalghe proposta da Grobbelar:



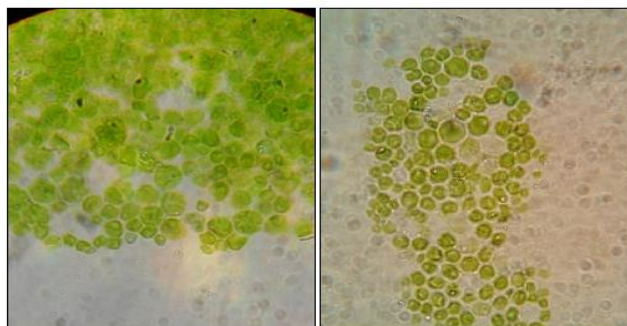
Rispettare questo rapporto stechiometrico significa favorire la crescita microalgale per garantire, contestualmente, la loro assimilazione dei composti azotati ridotti e un elevato rendimento in termini di biomassa prodotta.

## ***Risultati***

L'attività di laboratorio è stata svolta nelle seguenti tre fasi distinte.

### ***FASE 1: SCELTA DELL'INOCULO***

Sono state svolte indagini volte alla valutazione dell'efficienza di rimozione dei nutrienti ad opera di due differenti inoculi BD e BM, allo scopo di scegliere il più adatto tra a trattare il digestato.



**Figura 4** *BM e BD osservati al microscopio ottico*

L'inoculo BM, cresciuto in un ambiente ricco di nitrati, non è risultato idoneo al trattamento. L'inoculo BD, costituito dalla policoltura algale nata spontaneamente dall'effluente di un impianto di digestione anaerobica alimentato con un reflui bufalini, in un ambiente ricco di azoto in forma ammoniacale  $NH_4^+$ , è risultato il più idoneo in termini di rimozione dell'azoto totale.

## FASE 2: EFFETTI DELLA DILUIZIONE

La seconda fase della sperimentazione è stata dedicata alla valutazione degli effetti della diluizione sulla crescita delle microalghe. La diluizione serve a ridurre ulteriormente la torbidità del digestato e la concentrazione dei nutrienti. I fattori scelti sono stati 1:5, 1:8 e 1:10.

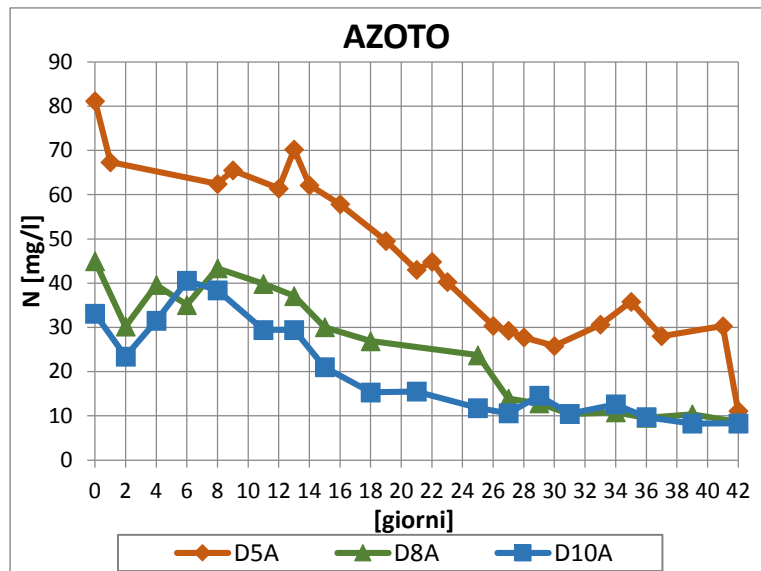


Figura 5 Rimozione dell'azoto nei reattori diluiti 1:5, 1:8 e 1:10

La maggiore presenza di solidi sospesi e specie ioniche ostacola la precipitazione del fosforo, che nel caso di diluizione 1:5 non avviene e che, all'aumentare della diminuzione, si verifica per valori di pH decrescenti risultando sempre più evidente.

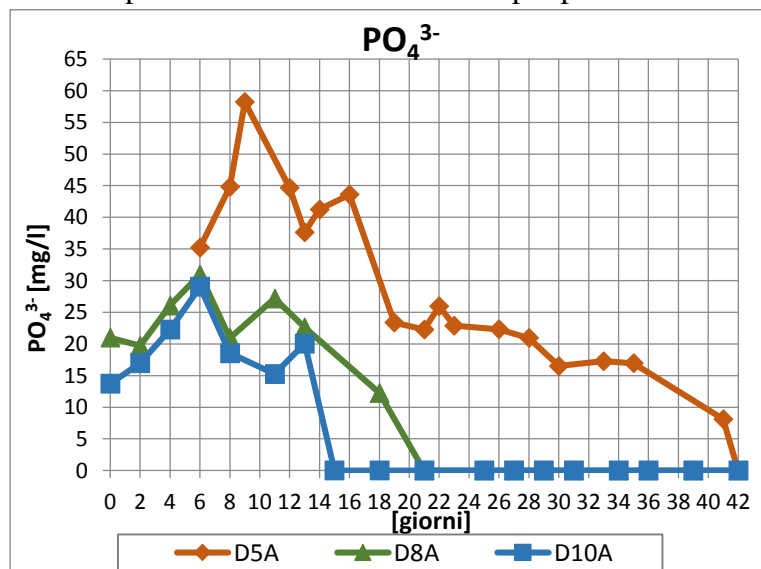


Figura 6 Rimozione dei fosfati nei reattori diluiti 1:5, 1:8 e 1:10

L'azoto totale subisce una degradazione di circa l'88% nel reattore D5A, dell'84% nel reattore D8A e dell'80% nel reattore D10A. Si può quindi notare la sua efficiente rimozione.

Nei reattori meno diluiti prevale l'attività batterica di nitrificazione rispetto al metabolismo algale. Questo è dovuto alla maggiore torbidità del medium che ostacola la penetrazione della luce e quindi l'attività fotosintetica delle microalghe.

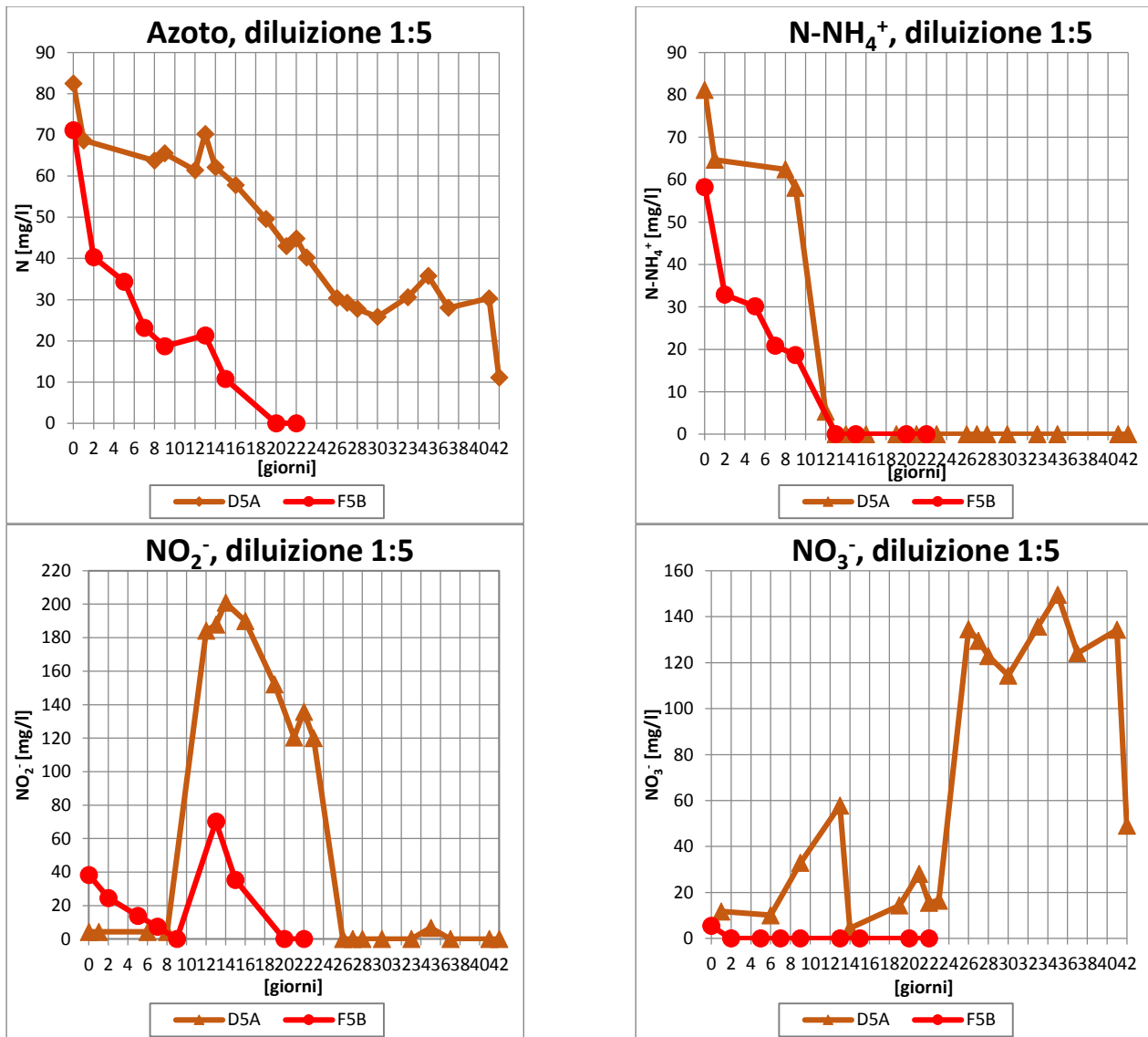
L'eliminazione dei fosfati nei reattori diluiti 1:5 è dovuta quasi esclusivamente all'assorbimento microalgale.

Diversamente, negli altri reattori, entrambi i meccanismi di rimozione del fosforo possono aver luogo, grazie anche al minor effetto buffer esercitato dall'alcalinità.

Il pH cresce più rapidamente nei reattori meno diluiti determinando, inoltre, l'inibizione dell'assimilazione dell'azoto nell'ultima fase di monitoraggio.

**FASE 3: EFFETTI FILTRAZIONE**

Nell'ultima fase della sperimentazione si è utilizzato quale medium per la coltivazione delle microalghe la fase liquida del digestato centrifugato, filtrato a  $0.45\ \mu\text{m}$  e diluito 1:5 e 1:8. L'ulteriore abbassamento del carico di solidi sospesi contenuti nel digestato ha avuto effetti determinanti per la coltivazione e la crescita delle microalghe in quanto, a parità di diluizione, l'utilizzo dei nutrienti da parte delle comunità batteriche, sfavorite in maniera netta dal pretrattamento di filtrazione, è risultato molto ridotto.



**Figure 7-10** Differenze nella rimozione dell'azoto per effetto del pretrattamento di filtrazione

L'eliminazione dell'ammonio impiega gli stessi giorni nei due reattori in differenti condizioni operative. Tuttavia, dai precedenti grafici, si denota che l'attività microalgale è nettamente favorita nel caso dell'attuazione dell'ulteriore pretrattamento.

I tenori delle forme ossidate dell'azoto raggiungono valori molto contenuti rispetto a quelli raggiunti nel caso di medium semplicemente centrifugato e l'azoto totale viene integralmente bio-assimilato dimezzando i tempi di trattamento.

Per quanto riguarda il fosforo, esso viene completamente rimosso in tutti i reattori.

In questa fase della sperimentazione è stata, inoltre, monitorata l'attività algale attraverso l'analisi del gas accumulato nello spazio di testa dei reattori biologici. L'andamento dell'ossigeno nel tempo in tale gas, infatti, rappresenta un interessante indice del funzionamento della simbiosi del consorzio alga-batterico che opera le reazioni biologiche.

Dalla figura di lato risulta evidente la produzione di ossigeno durante la fase di crescita esponenziale delle microalghe, indice di una maggiore attività nei reattori diluiti 1:8.

Nei primi giorni di prova l'ossigeno viene consumato dai nitrificanti per la degradazione dell'ammonio e che ricomincia a prodursi a partire dal giorno 13. È altresì interessante, infine, osservare che la diminuzione della produzione di ossigeno rilevata a partire dal giorno 20 è legata alla completa rimozione dell'azoto che risulta, quindi, limitante per l'attività fotoautotrofa.

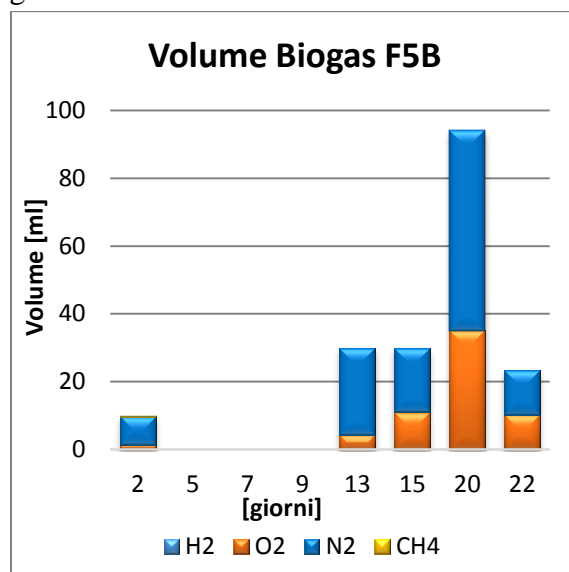


Figura 11 Produzione di ossigeno in F5B