# POLITECNICO DI TORINO

# COLLEGGIO DI INGEGNERIA CHIMICA E DEI MATERIALI

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Chimica e dei Processi Sostenibili

Tesi di Laurea Magistrale

# Modellazione matematica di reattori biologici

per la crescita di microalghe



Relatore Prof. Marco Vanni

Candidato Evelina Santangelo

Anno Accademico 2021/2022 Sessione di dicembre 2022

# Indice

Introduzione	1
1. Nuovo Modello Meccanicistico	5
1.1 Descrizione del modello	5
1.2 Componenti del modello	5
1.3 Cinetica del modello	7
2. Modellazione matematica	
2.1 Schema reattoristico dell'impianto pilota	
2.2 Modellazione idrodinamica	
3. Confronto tra i modelli	
3.1 Modelli stazionari	
3.2 Modelli dinamici	
3.2.1 River water quality model no.1 (RWQM1)	
3.2.2 Modello Sah	
3.2.4 ASM-A	
3.2.5 Modello BIO_ALGAE	
3.3 Confronto modelli dinamici	
3.3.1 Confronto tra i processi relativi alle microalghe	
3.3.2 Confronto relativo ai processi batterici	
5.5.5 Processi lisici, chimici e addizionali	
4. Risultati	45
4.1 Impostazione delle simulazioni	
4.1.1 Aspetti fluidodinamici	
4.1.2 Stato stazionario	
4.1.3 Dinamica del sistema	
Conclusioni	72
רו וי	00
Bibliografia	80

# Introduzione

Il riscaldamento globale, derivante dall'emissione di gas serra, ha ricevuto, negli ultimi anni, un'ampia attenzione da parte del settore ambientale ed energetico. Gli impatti del riscaldamento globale hanno causato gravi danni all'ecosistema umano ed ambientale, tra cui lo scioglimento dei ghiacciai, l'innalzamento del livello del mare, l'aumento della temperatura dell'acqua marina che ha causato la morte massiccia del corallo marino e le ondate di caldo estremo, che continuano ad ostacolare il settore agricolo e a pregiudicare la salute umana.

L'anidride carbonica, CO<sub>2</sub>, contribuisce per oltre il 60% al riscaldamento globale a causa dell'enorme quantitativo di emissioni, oltre 30 Gt di CO<sub>2</sub> all'anno (Ugwu et al., 2008). La concentrazione di anidride carbonica nell'atmosfera è ora vicina a 400 ppm, significativamente superiore al livello preindustriale di circa 300 ppm. Al fine di mitigare queste problematiche, il Protocollo di Kyoto ha esortato, tra il 2008 e il 2012, 37 nazioni industrializzate e l'Unione Europea a ridurre le emissioni di gas serra a un livello del 5,2%, in media, inferiore a quello del 1990. L'accordo di Copenaghen richiede, inoltre, che la variazione della temperatura globale sia limitata a un incremento di 2°C al di sopra del valore raggiunto nel periodo preindustriale, entro il 2100. Nel 2012, l'Agenzia internazionale per l'energia (IEA) ha espresso di voler raggiungere un obiettivo di 2°C, relativamente all'incremento della temperatura globale entro il 2050.

Dal quadro illustrato emerge la necessità di sviluppo di tecnologie avanzate e sostenibili per la cattura e il riutilizzo dell'anidride carbonica, (carbon capture and utilization, CCU). Tuttavia, le tecnologie disponibili al giorno d'oggi richiedono enormi quantità di energia o non sono in grado di subire un processo di scale-up.

Negli ultimi anni, le ricerche sulla coltivazione di microalghe, per la produzione di biocarburanti, come il biodiesel e il bioetanolo, hanno ottenuto una crescente attenzione da parte di vari gruppi di studiosi in tutto il mondo. Le microalghe sono microrganismi a crescita rapida che riescono a raddoppiare la loro biomassa in meno di un giorno, con produttività di circa 100 ton/anno. Tutto ciò è legato al fatto che la loro semplice struttura cellulare e l'ampio rapporto superficie/volume conferiscono loro la capacità di assorbire grandi quantità di nutrienti dalle fonti d'acqua, promuovendone la crescita.

Questi microrganismi sono oggi utilizzati per produrre una varietà di composti di interesse per diversi settori industriali, come l'acquacoltura, l'alimentazione animale e umana, la cosmesi e la farmaceutica. Un'altra applicazione biotecnologica delle microalghe è il loro utilizzo per il

trattamento di acque reflue: in questi sistemi, le microalghe forniscono l'ossigeno necessario per la degradazione di alcuni costituenti da parte dei batteri aerobi.

Tuttavia, particolarmente interessante e all'avanguardia risulta essere la coltivazione di microalghe per la cattura di anidride carbonica e la produzione di energia rinnovabile: attraverso il processo di fotosintesi, la CO<sub>2</sub>, fonte di carbonio per i microrganismi, viene assorbita dalle cellule delle microalghe per supportarne la crescita. Grazie alla loro semplice struttura cellulare e all'elevata velocità di crescita, le microalghe dovrebbero avere un'efficienza di biofissazione della CO<sub>2</sub> di 10-50 volte superiore rispetto alle piante terrestri.

Nella Tabella 1 sono raccolti i dati recenti sull'efficienza di rimozione della CO<sub>2</sub> da parte di diversi ceppi di microalghe.

Microalga	Concentrazione di CO <sub>2</sub> tollerata (%)	Velocità fissazione (g/L/d) o CO <sub>2</sub> rimossa (%)	Resa in biomassa	Applicazione specifica
Anabaena sp.	10	1,01	-	Fotobioreattore a bolle
Botrycoccus braunii	10	0,5	3,11	Fermentatore
Chlorella	15	0,46	1,88	Reattore cilindrico in vetro
Chlorella sp.	5	35%	3,46	Colonna a bolle
Chlorella vulgaris	10	0,25	1,94	Fermentatore
Dunaliella tertiolecta	10	0,27	2,15	Fermentatore
Scenedesmus	15	0,61	2,73	Reattore cilindrico in vetro
Scenedesmus obliquus	20	61,80%	0,948	Fotobioreattore areato
Scenedesmus sp.	10	(NIL)	0,37	(NIL)
Spirulina platensis	10	0,32	2,18	Fermentatore
Synechocystis sp.	(NIL)	2,07	0,9-1,6	(NIL)

**Tabella 1.** Confronto tra le velocità di fissazione della CO<sub>2</sub> e tra la resa in biomassa di diversi ceppi di microalghe. La prima è espressa in grammi di anidride carbonica rimossa per litro di sospensione al giorno, mentre la seconda è definita come il rapporto tra la quantità di biomassa formatasi e il quantitativo di sostanza organica biodegradabile disciolta.

I sistemi più utilizzati per la coltivazione delle microalghe risultano essere i fotobioreattori chiusi (PBRs, photo bio reactors) e gli stagni aperti; essi richiedono larghe quantità di nutrienti ed elevati volumi di acqua, circa 1 m<sup>3</sup> per ogni kg di biomassa nonché adeguate condizioni ambientali. Sebbene la costruzione e il funzionamento degli stagni aperti siano semplici e relativamente poco costosi, essi presentano alcuni svantaggi come una scarsa illuminazione e la perdita di acqua dovuta all'evaporazione (Ugwu et al., 2008). Inoltre, rispetto ai PBRs chiusi, gli stagni aperti presentano un elevato rischio di contaminazione che può influire direttamente su costi di produzione e produttività annuale.

Su questa strada, molte problematiche relative ai processi devono essere risolte affinché la crescita e la produzione delle microalghe vengano ben comprese ed ottimizzate per renderne praticabile ed efficiente il funzionamento ed il controllo di processo. Un passo importante verso il raggiungimento di questo obiettivo è la modellazione matematica in cui l'effetto di ogni condizione di processo (temperatura, luce, ecc.) è direttamente correlato ai parametri chiave della produzione in maniera tale che gli effetti legati alle variazioni delle condizioni di processo possano essere osservate senza la necessità di doverli testare sperimentalmente.

Un modello di successo dovrebbe includere gli effetti di tutti i parametri e il loro contributo e, una volta associato alla scelta reattoristica, dovrebbe essere in grado di prevedere le prestazioni e la produttività dei sistemi di coltivazione per diverse condizioni operative. La ricerca sulla modellazione della cinetica di crescita delle microalghe è iniziata con i lavori di Droop (1968, 1974). Da allora, numerosi ricercatori hanno sviluppato modelli basati su singoli fattori come l'intensità luminosa (Huisman et al. 1999), la temperatura (Franz et al., 2012), il quantitativo di azoto alimentato (Bernard et al., 2009) e gli effetti della fotosintesi e della fotoinibizione (Wu & Merchuk, 2001). Esiste una vasta gamma di modelli che predicono la produzione di biomassa in funzione dell'intensità luminosa (Yuan et al., 2014) in quanto la luce non può essere controllata in colture di microalghe su vasta scala, contrariamente ad altri fattori che possono essere mantenuti in condizioni ottimali per evitare effetti limitanti o inibitori (ad es. pH, nutrienti e condizioni di miscelazione).

Il modello a cui fa riferimento il seguente lavoro è il New Mechanistic Model presentato da Solimeno et al., 2015, in quanto offre un giusto compromesso tra complessità e riproducibilità dei dati sperimentali. Esso descrive accuratamente gli effetti delle grandezze più significative, quali temperatura, pH, nutrienti e illuminazione sulla crescita delle microalghe, su nitrato ed ammonio, sulla respirazione endogena, sul processo di inattivazione dei microrganismi, sull'equilibrio chimico delle specie coinvolte e sullo scambio di materia con l'atmosfera, trascurando i processi di crescita e decadimento dei batteri su cui si soffermano, principalmente, i modelli destinati al trattamento delle acque reflue per la rimozione di specie inquinanti.

Inoltre, a differenza dei vari modelli esistenti in letteratura, esso è in grado di prendere in esame l'effetto limitante del carbonio sulla crescita delle alghe il quale risulta essere un aspetto fondamentale poiché permette di analizzare e studiare in maniera accurata la capacità di rimozione della CO<sub>2</sub> da parte dei sistemi innovativi basati sulla coltivazione di alghe.

Il seguente lavoro, che si propone di investigare come i parametri e le varie grandezze influenzano la coltivazione delle alghe all'interno del fotobioreattore di laboratorio, è strutturato in quattro capitoli: nel primo viene presentata una descrizione dettagliata del modello in questione, nel secondo è illustrata la scelta reattoristica a cui esso è associato, nel terzo è presente un excursus storico ed un

confronto tra i vari modelli esistenti in letteratura e, infine, nel quarto vengono mostrati e analizzati i risultati estrapolati dalle simulazioni effettuate e confrontati con i dati sperimentali. Da questi ultimi si è notato come il modello sia stato abbastanza in grado di predire con precisione il tasso di produzione di microalghe, il valore del pH nel brodo di coltura e l'andamento temporale della concentrazione di specie gassose disciolte nonché l'influenza dei principali parametri sul sistema per cui esso risulta essere un ottimo e promettente punto di partenza per la modellizzazione di reattori biologici basati sulla coltivazione di microalghe.

# 1. Nuovo Modello Meccanicistico

### 1.1 Descrizione del modello

La principale fonte di inspirazione per l'elaborazione del New Mechanistic Model, presentato da Solimeno et al., 2015, è il River Water Quality Model 1 (RWQM1) dell'International Water Association (IWA) (Reichert et al., 2001). RWQM1 è stato selezionato in quanto appartenente a una famiglia di modelli ampiamente riconosciuti, come l'Activated Sludge Model (ASM) che condividono la stessa presentazione, notazione e struttura per i componenti, nonché i processi cinetici e le relative costanti. Inoltre, l'RWQM1 era l'unico tra i modelli sviluppati fino a quel momento che contemplasse l'attività delle microalghe.

Il nuovo modello meccanicistico considera cruciali i processi fisici, chimici e biocinetici per la descrizione della crescita di microalghe in diversi tipi di colture, con particolare attenzione per le acque reflue. La principale caratteristica del modello, rispetto ai precedenti (Bernard et al., 2009; Bonachela et al., 2011; Packer et al., 2011) è quella di prendere in esame l'effetto limitante del carbonio sulla crescita delle alghe, funzione dell'intensità luminosa, della temperatura e della disponibilità dei nutrienti, includendo diversi fattori come il trasferimento di gas verso l'atmosfera, la foto respirazione, la foto inibizione e la fotosintesi.

Una descrizione concettuale del modello può essere osservata in Figura 1. Mediante tale rappresentazione schematica si osserva come le microalghe crescono attraverso l'intensità luminosa, si nutrono di substrati a base di azoto e carbonio e, infine, rilasciano ossigeno. Altri nutrienti, come, ad esempio, composti a base di fosforo, non vengono contemplati come fattori limitanti del processo in quanto ritenuti presenti in ampie quantità. Come conseguenza dell'attività delle alghe, la concentrazione degli ioni idrossidi e, quindi, il pH aumentano, spostando l'equilibrio dai composti carboniosi verso la formazione di carbonati.

Viceversa, durante la notte viene rilasciata anidride carbonica mediante la respirazione endogena e l'inattivazione delle microalghe, la concentrazione degli ioni idrogeno aumenta e il pH decresce. L'equilibrio si sposta nuovamente dai carbonati verso i bicarbonati, i quali vengono utilizzati come substrati in presenza di luce (Ugwu et al., 2008).

### 1.2 Componenti del modello

Il modello in questione prende in considerazione dieci componenti presenti all'interno della coltura, di cui nove disciolti e uno in forma particellare corrispondente alla biomassa algale ( $X_{ALG}$ ). La dipendenza della crescita dei microorganismi dal fosforo potrebbe essere facilmente implementata nel modello utilizzando una funzione *Monod* in maniera analoga a come sono stati trattati gli altri nutrienti.



**Figura 1.** Rappresentazione schematica del modello presentato da Solimeno et al., 2015. Microalghe (ellisse verde), substrati (rettangoli), specie gassose (triangoli) e composti che dipendono dall'attività delle microalghe che non sono né gas né substrati (rombi e cerchi).

Le specie chimiche annoverate dal modello sono riportate nel seguente elenco con le unità di misura utilizzate per le rispettive concentrazioni, S.

- 1.  $S_{NH_4} [g(NH_4^+ N) m^{-3}]$ : *Ammonio*. Può essere alimentato come nutriente o venir prodotto mediante respirazione endogena o nel il processo di inattivazione delle microalghe. È consumato per la crescita di queste ultime.
- 2.  $S_{NH_3} [g(NH_3 N) m^{-3}]$ : *Ammoniaca*. È in equilibrio chimico con l'ammonio  $(S_{NH_4})$ . La sua concentrazione decresce in quanto volatilizza nell'atmosfera.
- 3.  $S_{NO_3}[g(NO_3^- N) m^{-3}]$ : *Nitrato*. È un nutriente per le microalghe ( $X_{ALG}$ ). La sua concentrazione è espressa in grammi di azoto al metro cubo.
- 4.  $S_{O_2} [g(O_2) m^{-3}]$ : Ossigeno. È prodotto durante la crescita delle microalghe attraverso il processo di fotosintesi e consumato mediante la respirazione endogena e l'inattivazione dei microorganismi. Come l'ammoniaca, può volatilizzare nell'atmosfera. La sua concentrazione è espressa in grammi di ossigeno al metro cubo.
- 5.  $S_{CO_2} [g(CO_2 C) m^{-3}]$ : Anidride carbonica. È consumata dalle microalghe e prodotta mediante la respirazione endogena e l'inattivazione dei microorganismi. È in equilibrio chimico con bicarbonato ( $S_{HCO_3}$ ) e carbonato ( $S_{CO_3}$ ) e può volatilizzare nell'atmosfera.

- 6.  $S_{HCO_3} [g(HCO_3^- C) m^{-3}]$ : *Bicarbonato*. È in equilibrio chimico con l'anidride carbonica  $(S_{CO_2})$  e il carbonato  $(S_{CO_3})$  ed è un nutriente per le microalghe.
- 7.  $S_{CO_3} [g(CO_3^{2^-} C) m^{-3}]$ : *Carbonato*. È in equilibrio chimico con l'anidride carbonica  $(S_{CO_2})$  e il bicarbonato  $(S_{HCO_3})$ . Non costituisce una risorsa diretta di carbonio per le microalghe.
- 8.  $S_H [g(H^+) m^{-3}]$ : *Ioni idrogeno*. Sono coinvolti nei processi di equilibrio di carbonio e azoto. La loro concentrazione diminuisce con la crescita delle microalghe ed aumenta con la respirazione endogena e l'inattivazione.
- 9.  $S_{OH} [g(OH^- H) m^{-3}]$ : Ioni idrossido. Sono in equilibrio con gli ioni idrogeno.
- 10.  $X_{ALG}$  [g(COD)  $m^{-3}$ ] : *Biomassa algale*. La sua concentrazione aumenta grazie al processo di crescita e diminuisce a causa della respirazione endogena e dell'attivazione. È espressa in gCOD (*chemical oxygen demand*)  $m^{-3}$  in quanto pratica comune per le concentrazioni di materia organica nei modelli IWA. La conversione da COD a TSS (total suspended solids) è effettuata assumendo un rapporto COD  $TSS^{-1} = 0.80$ , valore di riferimento valido qualunque sia il ceppo di appartenenza delle microalghe. (Khorsandi et al., 2014; Sperling, 2007).

Le concentrazioni delle specie chimiche azotate e carboniose non sono espresse in termini di concentrazioni reali del composto, bensì in grammi di azoto e in grammi di carbonio al metro cubo, rispettivamente, in quanto fanno riferimento esclusivamente al quantitativo di N e C contenuto.

### 1.3 Cinetica del modello

La Tabella 2 contiene una lista dei processi contemplati nel modello e delle equazioni che descrivono le rispettive velocità di reazione ( $M L^{-3}T^{-1}$ ).

Le equazioni 1a e 1b della Tabella 2 descrivono i processi di crescita delle microalghe, rispettivamente sull'ammonio e sul nitrato. L'aumento della biomassa algale per unità di tempo è espresso come il prodotto tra la velocità di crescita massima specifica ( $\mu_{ALG}$ ), la concentrazione di alghe in quell'istante di tempo ( $X_{ALG}$ ) e dei fattori correttivi, espressi mediante una formulazione di tipo Monod (Monod, 1949), che ne limitano o inibiscono la crescita.

L'equazione di Monod descrive il tasso di crescita di determinati microrganismi in funzione della concentrazione del substrato limitante come segue:

$$\rho = \mu_{max} \frac{[S]}{K_S + [S]} \tag{1.1}$$

Processo	Velocità del processo $[M L^{-3} T^{-1}]$
1a. Crescita delle microalghe sull'ammonio	$\rho_{1a} = \mu_{ALG} * f_{T,FS}(T) * \eta_{PS}(I, S_{O_2}) * \frac{S_{CO_2} + S_{HCO_3}}{K_{C,ALG} + S_{CO_2} + S_{HCO_3} + \frac{S_{CO_2}^2}{I_{CO_2,ALG}}} * \frac{S_{NH_3} + S_{NH_4}}{K_{N,ALG} + S_{NH_3} + S_{NH_4}} * X_{ALG}$
1b. Crescita delle microalghe sul nitrato	$\rho_{1b} = \mu_{ALG} * f_{T,FS}(T) * \eta_{PS}(I, S_{O_2}) * \frac{S_{CO_2} + S_{HCO_3}}{K_{C,ALG} + S_{CO_2} + S_{HCO_3} + \frac{S_{CO_2}^2}{I_{CO_2,ALG}}} * \frac{S_{NO_3}}{K_{N,ALG} + S_{NO_3}} * \frac{K_{N,ALG}}{K_{N,ALG} + S_{NH_3} + S_{NH_4}} * X_{ALG}$
2. Respirazione endogena	$\rho_2 = k_{resp,ALG} * f_{T,FS}(T) * \frac{S_{O_2}}{K_{O_2,ALG} + S_{O_2}} * X_{ALG}$
3. Inattivazione delle microalghe	$\rho_{3} = k_{death,ALG} * f_{T,FS}(T) * X_{ALG}$
4. Equilibrio chimico $CO_2 \leftrightarrow HCO_3^-$	$\rho_4 = k_{eq,1} * \left( S_{CO_2} - \frac{S_H S_{HCO_3}}{K_{eq,1}} \right)$
5. Equilibrio chimico $HCO_3^- \leftrightarrow CO_3^{2-}$	$\rho_{5} = k_{eq,2} * \left( S_{HCO_{3}} - \frac{S_{H}S_{CO_{3}}}{K_{eq,2}} \right)$
6. Equilibrio chimico $NH_4^+ \leftrightarrow NH_3$	$\rho_{6} = k_{eq,3} * \left( S_{NH_{4}} - \frac{S_{H}S_{NH_{3}}}{K_{eq,3}} \right)$
7. Equilibrio chimico $H^+ \leftrightarrow OH^-$	$ ho_7 = k_{eq,w} * \left(1 - rac{S_H S_{OH}}{K_{eq,w}} ight)$
8. Scambio di ossigeno con l'atmosfera	$\rho_{O_2} = k_{a,O_2} * (S_{O_2}^{WAT} - S_{O_2})$
9. Scambio di anidride carbonica con l'atmosfera	$\rho_{CO_2} = k_{a,CO_2} * (S_{CO_2}^{WAT} - S_{CO_2})$
10. Scambio di ammoniaca con l'atmosfera	$\rho_{NH_3} = k_{a,NH_3} * (S_{NH_3}^{WAT} - S_{NH_3})$

Tabella 2. Descrizione matematica delle velocità dei processi analizzati nel modello.

dove  $\rho$  è il tasso di crescita dei microorganismi considerati,  $\mu_{max}$  è il loro tasso di crescita massimo, [S] è la concentrazione del substrato limitante e  $K_S$  è la costante di mezza velocità, ovvero il valore di [S] quando  $\mu/\mu_{max}$  è pari a 0,5. I coefficienti  $\mu_{max}$  e  $K_S$  sono di natura empirica: i loro valori differiscono a seconda della specie considerata, delle condizioni ambientali, come la temperatura e il pH, e della composizione del mezzo nutritivo utilizzato per la coltura dei microrganismi.

Tale funzione è in grado di esprimere l'effetto di una specie chimica nutriente per le microalghe sulla loro crescita o produzione; rappresentando l'andamento della velocità di reazione in funzione della concentrazione del substrato, si ottiene il seguente grafico:



Figura 2. Tasso di crescita dei microrganismi in funzione della concentrazione di substrato limitante secondo una formulazione di tipo Monod.

Dato che il rapporto  $[S]/(K_s + [S])$  diventa unitario per alti valori di concentrazione del substrato, la velocità di reazione tende al valore asintotico  $\mu_{max}$ , come mostrato in Fig. 3, per cui un ulteriore aumento della concentrazione del nutriente non apporterebbe alcun vantaggio alla crescita delle microalghe.

Anche l'anidride carbonica ( $S_{CO_2}$ ) e il bicarbonato ( $S_{HCO_3}$ ), tra di loro in equilibrio, risultano essere dei nutrienti per le alghe; tuttavia, un'elevata concentrazione di anidride carbonica all'interno della coltura inibisce la proliferazione delle microalghe (Silva & Pirt, 1984), dato il suo effetto sull'acidità del sistema; questo aspetto è considerato attraverso l'introduzione della costante di inibizione della CO<sub>2</sub>, I<sub>CO2,ALG</sub> nelle espressioni 1a e 1b. Tra i substrati a base di azoto, le microalghe si nutrono di ammoniaca e ammonio, tra loro in equilibrio, ( $S_{NH_4} - S_{NH_3}$ ) o di nitrato ( $S_{NO_3}$ ). Quando questi ultimi sono entrambi presenti nella coltura, l'ammonio è generalmente preferito dalle alghe; questo fenomeno è stato introdotto nell'equazione 1b in cui compare una funzione di tipo Monod che descrive l'effetto inibitorio dell'ammoniaca e dell'ammonio relativo alla crescita delle microalghe sul nitrato.

Il fattore fotosintetico,  $\eta_{PS}$ , che compare nelle equazioni 1a e 1b della Tab. 2 e che descrive l'effetto dell'intensità luminosa e dell'ossigeno sulla velocità di fotosintesi, assume la seguente espressione:

$$\eta_{PS}(I, S_{O_2}) = f_L(I) * f_{PR}(S_{O_2})$$
(1.2)

dove,  $f_L$  e  $f_{PR}$  sono, rispettivamente, i fattori di intensità luminosa e della foto respirazione.

Nell'equazione 1a della Tabella 2 compare il prodotto di due funzioni Monod: la prima tiene conto dell'effetto dell'anidride carbonica e del bicarbonato, tra loro in equilibrio, includendo il carattere inibente della CO<sub>2</sub>, mentre la seconda dell'ammoniaca e dell'ammonio;  $K_{C,ALG}$  e  $K_{N,ALG}$  rappresentano, rispettivamente, le costanti di affinità delle microalghe verso le specie a base di carbonio e di azoto. L'equazione 1b è del tutto analoga alla precedente fatta eccezione per la presenza di un'ulteriore funzione Monod relativa al nitrato e dell'effetto inibitorio dell'ammonio e ammoniaca. Dal momento in cui le alghe crescono attraverso il processo di fotosintesi, l'intensità luminosa è uno dei fattori limitanti più importanti.

Gli effetti dell'illuminazione sul processo di fotosintesi sono descritti dal modello 'phosynthetic factories' (PSF) proposto da Eilers e Peeters, il quale stabilisce che, per bassi valori di illuminazione, la velocità con cui avviene la fotosintesi è proporzionale all'intensità luminosa in quanto il processo in questione è limitato dalla velocità di cattura dei fotoni (Eilers & Peters, 1998). Quando il valore di illuminazione raggiunge un certo livello, le microalghe diventano 'light saturated'; in questa condizione il processo di fotosintesi non riesce a catturare ulteriori fotoni. Infine, se tale valore

aumenta ancor di più, raggiungendo una soglia inibitoria, la velocità con cui avviene la fotosintesi inizia a diminuire (Béchet et al., 2013; Camacho et al., 2003; Crill, 1977). Una rappresentazione simbolica del modello PSF può essere osservata nella Fig. 3 in cui si assume che le microalghe siano presenti in tre stati differenti: a riposo o 'open' (1), attivate o 'closed' (2) e inibite (3).



Figura 3. I tre stati differenti e le relazioni del modello PSF: 'open' (1), 'closed' (2) e inibite (3), adattate da Eilers e Peeters.

Inizialmente, le microalghe, pronte a catturare fotoni, si trovano nel primo stato. Una volta catturati i fotoni, i microorganismi passano al secondo stato e iniziano le reazioni biochimiche, le quali dipendono dalla velocità di attivazione  $\alpha$  [( $\mu E m^{-2}$ )<sup>-1</sup>]. Il destino delle microalghe attivate, (stato 2), può essere duplice: nel caso in cui catturano un altro fotone, esse passano al terzo stato, mentre, in assenza di luce, ritornano nel primo. Questi ultimi due processi dipendono da  $\gamma$  [ $s^{-1}$ ], costante di produzione, e  $\beta$  [ $s^{-1}$ ], costante di inibizione. Infine, le microalghe inibite (stato 3), ritornano nel primo stato con una velocità di recupero  $\delta$  [ $s^{-1}$ ].

Il modello PSF assume che ciascun microorganismo non possa trovarsi contemporaneamente in stati differenti per cui, denotando con  $P_1$ ,  $P_2$  e  $P_3$  le probabilità che le microalghe si trovino, rispettivamente, nello stato 1, 2 e 3, si ha che:

$$P_1 + P_2 + P_3 = 1 \qquad (1.3)$$

Considerando le possibili transizioni che si verificano in un intervallo di tempo differenziale dt, la seguente equazione di bilancio può essere introdotta per il primo stato 1:

$$P_1(t + dt) = P_1(t) - \alpha I P_1(t) dt + \gamma P_2(t) dt + \delta P_3(t) dt \quad (1.4)$$

Effettuando il limite per dt che tende a zero e reiterando la stessa procedura per i due stati rimanenti, 2 e 3, si ottiene il seguente sistema di equazioni differenziali (Eq. (1.5), (1.6) e (1.7)) che permette di descriverne la dinamica:

$$\begin{cases} \frac{dP_1}{dt} = -\alpha I P_1 + \gamma P_2 + \delta P_3 & (1.5) \\ \\ \frac{dP_2}{dt} = \alpha I P_1 - \beta I P_2 - \gamma P_2 & (1.6) \\ \\ \frac{dP_3}{dt} = \beta I P_2 - \delta P_3 & (1.7) \end{cases}$$

Quando l'intensità luminosa non è costante, bensì è una funzione del tempo, I(t), le equazioni differenziali che compongono il sistema risultano essere a coefficienti non costanti e non presentano alcuna soluzione analitica. Tuttavia, in condizioni esterne, le variazioni dell'illuminazione sono molto lente rispetto alle dinamiche della fotosintesi (Camacho et al., 1999), pertanto le condizioni di equilibrio vengono raggiunte istantaneamente. Sotto queste assunzioni, il primo membro delle equazioni differenziali (1.5), (1.6) e (1.7) risulta essere nullo. Il problema, quindi, si riduce alla risoluzione di un sistema di tre equazioni lineari in tre incognite linearmente dipendenti che, accoppiate all'equazione (1.3), restituiscono le seguenti soluzioni:

$$P_1 = \frac{\gamma \delta + \beta I \delta}{\alpha \beta I^2 + (\alpha + \beta) \delta I + \gamma \delta}$$
(1.8)

$$P_2 = \frac{\alpha I \delta}{\alpha \beta I^2 + (\alpha + \beta) \delta I + \gamma \delta}$$
(1.9)

$$P_3 = \frac{\alpha\beta I^2}{\alpha\beta I^2 + (\alpha + \beta)\delta I + \gamma\delta}$$
(1.10)

Le microalghe crescono quando si trovano nel secondo stato per cui il fattore fotosintetico  $f_L$  dell'Eq. (1) in Tab. 2, che compare nel seguente modello, coincide con  $P_2$ :

$$f_L(l) = P_2 \tag{1.11}$$

Inoltre, quando la concentrazione di ossigeno all'interno della coltura assume valori molto elevati, il processo di fotosintesi dipende anche da quest'ultima. Ad esempio, nei cosiddetti 'closed' fotobioreattori che scambiano notevoli quantità di ossigeno con l'atmosfera, l'accumulo di tale specie potrebbe avere un effetto limitante (Molina Grima et al., 2001). Generalmente, per evitare l'effetto inibente, la concentrazione di ossigeno disciolto non dovrebbe superare circa il 400% del valore di saturazione in aria (Chisti, 2007).

Per esprimere questo concetto in termini matematici è stato introdotto il fattore di fotorespirazione,  $f_{PR}$ , nell'Eq. (1) di Tab. 2:

$$f_{PR} = \begin{cases} 1 - tanh\left(\frac{K_{PR}\frac{S_{O_2}}{\tau S_{O_2}^{SAT}}}{1 - \frac{S_{O_2}}{\tau S_{O_2}^{SAT}}}\right), & S_{O_2} \le \tau S_{O_2}^{SAT} \\ 0, & S_{O_2} > \tau S_{O_2}^{SAT} \end{cases}$$
(1.12)

dove  $S_{O_2}^{SAT}$  è la concentrazione di saturazione dell'ossigeno nell'aria; la costante di inibizione  $K_{PR}$  e il coefficiente  $\tau$ , che esprime l'eccesso di ossigeno disciolto, sono parametri che devono essere calibrati durante l'applicazione del modello.

Chiaramente, la fotorespirazione non influenza il processo di produzione delle alghe se la concentrazione dell'ossigeno in acqua è inferiore a  $\tau$  volte il valore di saturazione, come nel caso dei fotobioreattori 'open' (Chisti, 2007). In ogni caso, quando la concentrazione di ossigeno tende al valore di  $\tau S_{O_2}^{SAT}$ , il fattore di fotorespirazione diminuisce, inibendo la crescita delle alghe.

Il fattore termico fotosintetico, ( $f_{T,FS}$ ), che compare nelle equazioni che descrivono matematicamente i processi considerati dal modello in questione, descrive l'effetto della temperatura sia sulla crescita delle microalghe che sui processi di respirazione endogena e inattivazione (Eq. 1a, 1b, 2 e 3 di Tabella 2).

La temperatura della coltura varia durante l'arco della giornata e delle stagioni, influenzando la velocità con cui avvengono fotosintesi e respirazione. Il valore di temperatura ottimale per la crescita delle microalghe, a seconda del tipo di specie considerata, è nel range di 15-25 °C (Bitog et al., 2011; Larsdotter, 2006). L'espressione matematica del fattore termico fotosintetico segue il lavoro di Dauta et al., (1990):

$$f_{T.FS}(T) = e^{-\left(\frac{T-T_{opt}}{s}\right)^2}$$
 (1.13)

dove  $T_{opt}$  è stata assunta pari a 25 °C mentre il valore di *s* è adattato in maniera tale che i dati empirici vengano adeguatamente riprodotti dal modello.

La velocità del processo di respirazione endogena, descritta dall'Eq. 2 in Tabella 2, è espressa come il prodotto tra la concentrazione di microalghe, la massima velocità di respirazione endogena  $(k_{resp,ALG})$ , il fattore termico fotosintetico e la funzione Monod, che evidenzia l'effetto limitante della concentrazione di ossigeno sulla crescita dei batteri.

La velocità del processo di inattivazione, descritta dall'Eq. 3 in Tabella 2, è espressa come il prodotto tra la concentrazione di microalghe, la massima velocità di inattivazione ( $k_{death,ALG}$ ) e il fattore termico fotosintetico.

Gli equilibri chimici, che riguardano carbonio, azoto e il bilancio di ioni idrossido e ioni idrogeno, sono descritti dalle Eq. 4, 5 6 e 7 della Tabella 2 con un approccio cinetico, ovvero come reazioni reversibili con costante di equilibrio  $K_{eq}$  estremamente elevata. In generale, l'equazione chimica che descrive la reazione di equilibrio è data da:

$$a \rightleftharpoons b + c \tag{1.14}$$

dove, nel caso considerato,  $a = CO_2, HCO_3, NH_4, H_2O$ .

Le velocità dei suddetti processi, ( $\rho$ ) [ $g m^{-3} d^{-1}$ ], vengono espresse, mediante la legge di azione di massa, come differenza tra la velocità della reazione diretta, con costante cinetica  $k_d$ , e quella della reazione inversa, con costante cinetica  $k_i$ :

$$\rho = -k_d S_a - (-k_i S_b S_c) \qquad (1.15)$$

Mettendo in evidenza la costante cinetica della reazione diretta è possibile far comparire la costante di equilibrio  $K_{eq}$  della reazione, come segue:

$$\rho = -k_d S_a - (-k_i S_b S_c) = -k_d \left( S_a - \frac{k_i}{k_d} S_b S_c \right) = -k_d \left( S_a - \frac{S_b S_c}{K_{eq}} \right)$$
(1.16)

dove la costante di equilibrio o di dissociazione assume la seguente espressione  $K_{eq} = \frac{S_b S_c}{S_a} = \frac{k_a}{k_i}$ .

Le velocità di trasferimento, relative ad ossigeno, anidride carbonica e ammoniaca (processi 8, 9 e 10 di Tabella 1.) tra l'atmosfera e la sospensione acquosa sono descritte dalla generica equazione:

$$\rho_j = K_{a,j} * \left( S_j^{WAT} - S_j \right) \tag{1.17}$$

dove  $j = O_2, CO_2, NH_3, S_j [g m^{-3}]$  è la concentrazione del gas j-esimo nella coltura,  $S_j^{WAT} [g m^{-3}]$  quella di saturazione e  $K_{a,j} [d^{-1}]$  è il coefficiente di scambio globale del componente j-esimo il cui valore dipende dalla temperatura, dalla natura del gas e del liquido e dall'estensione dell'interfaccia di scambio.

L'intensità luminosa, la temperatura e il pH sono i fattori che principalmente influenzano i processi precedentemente descritti che compaiono nel modello analizzato:

- Intensità luminosa ( $I(\lambda) [\mu E (m^2 s)^{-1}]$ ) : è anche indicato in letteratura come densità del flusso di fotoni (PFD), dove *E* fa riferimento al numero di moli. I sistemi di coltura algali possono essere illuminati mediante luca artificiale, luce solare o entrambi. Tuttavia, gli studi sull'ottimizzazione della luce vengono generalmente condotti nei fotobioreattori illuminati mediante fonti artificiale in quanto, nelle coltivazioni all'aperto, la luce solare non può essere controllata.

In questo modello, tale parametro è stato espresso come radiazione fotosinteticamente attiva (PAR), che include lunghezze d'onda tra 400 e 700 nm (Ugwu et al., 2008):

$$\int_{400 nm}^{700 nm} I(\lambda) d\lambda \qquad (1.18)$$

- *Temperatura* (**T** [°C]): la dipendenza dalla temperatura dei processi in cui le microalghe sono coinvolte è espressa attraverso il fattore termico fotosintetico Eq. 11. La massima crescita delle alghe avviene, infatti, in corrispondenza di un valore di temperatura ottimale. Tale parametro influenza la dissociazione delle molecole contenenti carbonio, rendendolo disponibile per la fotosintesi e in maniera molto significativa il processo di respirazione e fotorespirazione. D'altro canto, il legame tra il processo di fotosintesi e la temperatura risulta essere più blando: infatti, se, ad esempio, l'anidride carbonica o la luce sono fattori limitanti la fotosintesi, l'effetto della temperatura diventa insignificante. Il valore di temperatura ottimale, generalmente compreso nel range sopra indicato, varia in base alla composizione del mezzo di coltura, alla specie e al ceppo di appartenenza dell'alga coltivata. Tuttavia, temperature inferiori ai 16 °C rallentano la velocità di crescita delle microalghe mentre quelle superiori ai 35 °C sono letali per molte specie vegetali;

- pH [-]: il valore di pH della sospensione acquosa, calcolato in termini di concentrazione di ioni idrogeno ( $S_H$ ), sposta l'equilibrio delle specie a base di carbonio e azoto. Anche le microalghe, richiedono determinati valori di pH e, a livelli elevati di tale parametro, la disponibilità di anidride carbonica può diventare limitante per la crescita e la fotosintesi dei microorganismi. Per la maggior parte delle specie di alghe in coltura, il range di pH è compreso tra 7 e 9, con un intervallo ottimale di [8.2-8.7]. In ogni caso, il valore di pH adeguato, si ottiene aerando la coltura; nel caso di colture di alghe ad alta densità, l'aggiunta di anidride carbonica corregge l'aumento di pH che può addirittura raggiungere un valore limite di 9 durante la fase di crescita.

Infine, considerando i coefficienti stechiometrici delle specie chimiche coinvolte in ogni processo in Tabella 3, la velocità di reazione,  $r_i$ , di ognuno di esso è espressa come:

$$r_i = \sum_j v_{j,i} * \rho_j \tag{1.19}$$

dove *i* e *j* sono, rispettivamente, l'indice della specie e della reazione biochimica,  $\rho_j$  è la velocità di reazione della reazione j-esima e  $v_{j,i}$  è il coefficiente stechiometrico della specie i-esima nella reazione j, il quale può assumere segno sia positivo che negativo a seconda che il composto a cui fa riferimento sia un prodotto o un reagente.

Variabile di stato → i		$S_{NH_4}$	$S_{NH_3}$	$S_{NO_3}$	$S_{O_2}$	$S_{CO_2}$	$S_{HCO_3}$	S <sub>CO3</sub>	$S_H$	S <sub>OH</sub>	X <sub>ALG</sub>
Processi 🗼 j		$gN \ m^{-3}$	$gN \ m^{-3}$	$gN m^{-3}$	$gO_2 m^{-3}$	$gC \ m^{-3}$	$gC m^{-3}$	$gC \ m^{-3}$	$gH m^{-3}$	$gH m^{-3}$	$gCOD \ m^{-3}$
1a. Crescita delle microalghe sull'ammonio	$\rho_{1a}$	$V_{1,1a}$			$V_{4,1a}$	V <sub>5,1a</sub>			$V_{8,1a}$		$V_{10,1a}$
1b. Crescita delle microalghe sul nitrato	$ ho_{1b}$			$V_{3,1b}$	$V_{4,1b}$	$V_{5,1b}$			$V_{8,1b}$		$V_{10,1b}$
2. Respirazione endogena	$\rho_2$	V <sub>1,2</sub>			V <sub>4,2</sub>	V <sub>5,2</sub>			V <sub>8,2</sub>		V <sub>10,2</sub>
3. Inattivazione delle microalghe	$ ho_3$	V <sub>1,3</sub>			V <sub>4,3</sub>	V <sub>5,3</sub>			V <sub>8,3</sub>		V <sub>10,3</sub>
4. Equilibrio chimico CO₂ ↔ HCO₃¯	$ ho_4$					V <sub>5,4</sub>	V <sub>6,4</sub>		V <sub>8,4</sub>		
5. Equilibrio chimico $HCO_3^- \leftrightarrow CO_3^{2-}$	$ ho_5$						V <sub>6,5</sub>	V <sub>7,5</sub>	V <sub>8,5</sub>		
6. Equilibrio chimico $NH_4^+ \leftrightarrow NH_3$	$ ho_6$	V <sub>1,6</sub>	V <sub>2,6</sub>						V <sub>8,6</sub>		
7. Equilibrio chimico $H^+ \leftrightarrow OH^-$	$ ho_7$								V <sub>8,7</sub>	V <sub>9,7</sub>	
8. Scambio di ossigeno con l'atmosfera	$ ho_{O_2}$				V <sub>4,02</sub>						
9. Scambio di anidride carbonica con l'atmosfera	$\rho_{CO_2}$					$V_{5,CO2}$					
10. Scambio di ammoniaca con l'atmosfera	$ ho_{NH_3}$		$V_{2,NH3}$								

Tabella 3. Matrice dei coefficienti stechiometrici che mette in relazione componenti e processi.

La formulazione dei coefficienti stechiometrici è stata effettuata in funzione delle frazioni massiche di carbonio,  $x_{C,ALG}$ , idrogeno,  $x_{H,ALG}$ , ossigeno,  $x_{O,ALG}$  e azoto,  $x_{N,ALG}$ , presenti all'interno delle microalghe, espresse in grammi di elemento su grammi di COD, in maniera tale da semplificare l'adattamento del modello ai casi in cui appare opportuna una diversa composizione della biomassa. L'ipotesi fondamentale su cui si basa tale procedura è legata al fatto che le frazioni massiche di ciascun elemento C, H, O ed N vengano ritenute costanti nel tempo per ogni composto (Reichert et. al, 2001).

La formula chimica utilizzata per descrivere la biomassa risulta essere  $C_{\alpha}H_{\beta}O_{\gamma}N_{\delta}$ , dove  $\alpha, \beta, \gamma \in \delta$ indicano il numero di atomi di C, H, O e N, rispettivamente presenti.

Il generico processo di crescita delle microalghe, su specie a base di azoto, è descritto dalla seguente reazione chimica:

$$a(Nutr)_i + bCO_2 + cH_2O \rightarrow dC_{\alpha}H_{\beta}O_{\gamma}N_{\delta} + eO_2 + fH^+$$
(1.20)

dove  $(Nutr)_i$  rappresenta il tipo di nutriente azotato a cui si fa riferimento, ammonio o nitrato. Il coefficiente stechiometrico f, a seconda della specie azotata coinvolta, può assumere anche segno negativo e ciò corrisponderebbe ad una generazione di ioni ossidrili, nonché consumo di ioni idrogeno.

Facendo riferimento ai coefficienti stechiometrici riportati in tabella è possibile scrivere un'equazione chimica per ogni processo che coinvolge le microalghe la quale verrà bilanciata in maniera tale da ricavare un'espressione matematica per i vari  $v_{j,i}$  in funzione della composizione massica delle microalghe a cui si fa riferimento.

- Crescita delle microalghe sull'ammonio,  $NH_4^+$  (Eq. 1a, Tab. 2)

L'equazione massica della reazione chimica che descrive la crescita delle microalghe sull'ammonio assume la seguente espressione:

$$v_{5,1a}CO_2 + v_{1,1a}NH_4 + cH_2O \to v_{10,1a}C_{\alpha}H_{\beta}O_{\gamma}N_{\delta} + v_{4,1a}O_2 + v_{8,1a}H^+$$
(1.21)

Per semplicità, si fa riferimento a un'unità di massa di biomassa,  $v_{10,1a} = 1$ , in quanto lo scopo è di esprimere ciascun coefficiente stechiometrico  $v_{j,i}$  in grammi di elemento su grammi di COD, in maniera tale da far comparire le frazioni massiche di C, H, O e N presenti all'interno delle microalghe e di adattarli facilmente ai casi in cui il ceppo di appartenenza della specie scelta risulta essere differente.

Effettuando un bilancio atomico su ogni specie, l'espressione della reazione chimica bilanciata in termini molari diventa:

$$\alpha CO_2 + \delta NH_4 + \frac{\beta - 3\delta}{2}H_2O \to C_{\alpha}H_{\beta}O_{\gamma}N_{\delta} + \left(\frac{\beta}{4} - \frac{3}{4}\delta + \alpha - \frac{\gamma}{2}\right)O_2 + \delta H^+ \quad (1.22)$$

A questo punto, per poter passare dai coefficienti stechiometrici in termini molari presenti nell'Eq. (1.22) a quelli massici dell'Eq. (1.21), in funzione della composizione massica della famiglia di microalghe selezionate,  $x_{N,ALG}$ ,  $x_{H,ALG}$ ,  $x_{O,ALG}$ ,  $x_{N,ALG}$ ,  $x_{C,ALG}$ , bisogna tener conto dei pesi molecolari dei vari elementi coinvolti.

Per capire meglio questa procedura, prendiamo in considerazione, ad esempio, la specie chimica  $H^+$ . Dall'Eq. (1.22), si nota che, indicando con  $\delta$  gli atomi di azoto presenti nella biomassa algale, il processo di crescita sull'ammonio ne genera  $\delta$  di  $H^+$  per cui, in termini massici, a 14g di N presenti nella biomassa, corrisponde 1g di  $H^+$  all'interno brodo di coltura. A questo punto, ottenuta la relazione da moli a grammi, il coefficiente massico  $v_{8,1a}$ , normalizzato all'unità di massa algale, assume la seguente espressione:

$$v_{8,1a} = \frac{g(H^+)}{g(COD)} = \frac{g(N)}{14 g(COD)} = \frac{x_{N,ALG}}{14}$$
(1.23)

dove, nel caso specifico,  $g(H^+)$  indicano i grammi di  $H^+$  presenti nel brodo di coltura, g(N) i grammi di azoto presenti nella biomassa algale e g(COD) i grammi di microalghe espressi in termini COD.

Reiterando la stessa procedura per i restanti coefficienti stechiometrici e adottando la convenzione di segno negativo per i reagenti e segno positivo per i prodotti, si ottengono le seguenti espressioni in funzione della composizione della biomassa:

$$\begin{cases}
v_{1,1a} = -x_{N,ALG} \\
v_{4,1a} = \frac{8}{3} x_{C,ALG} - x_{O,ALG} + 8x_{H,ALG} - \frac{12}{7} x_{N,ALG} \\
v_{5,1a} = -x_{C,ALG} \\
v_{8,1a} = \frac{x_{N,ALG}}{14} \\
v_{10,1a} = 1
\end{cases}$$
(1.24)

- Crescita delle microalghe sul nitrato,  $NO_3^-$  (Eq. 1b, Tab. 2)

L'equazione massica della reazione chimica che descrive il processo di crescita delle microalghe sul nitrato assume la seguente espressione:

$$v_{5,1b}CO_2 + v_{3,1b}NO_3^- + cH_2O + v_{8,1b}H^+ \to v_{10,1b}C_{\alpha}H_{\beta}O_{\gamma}N_{\delta} + v_{4,1b}O_2$$
(1.25)

Per semplicità, anche in questo caso, si fa riferimento a un'unità di massa di biomassa,  $v_{10,1b} = 1$ . Effettuando un bilancio atomico su ogni specie, l'espressione della reazione chimica bilanciata in termini molari diventa:

$$\alpha CO_2 + \delta NH_4 + \frac{\beta - \delta}{2}H_2O + \delta H^+ \to C_\alpha H_\beta O_\gamma N_\delta + \left(\frac{\beta}{4} + \frac{5}{4}\delta + \alpha - \frac{\gamma}{2}\right)O_2 \quad (1.26)$$

Reiterando la stessa procedura illustrata precedentemente, si ottengono le seguenti espressioni dei coefficienti stechiometrici in funzione delle frazioni massiche:

$$\begin{cases}
v_{3,1b} = -x_{N,ALG} \\
v_{4,1b} = \frac{8}{3} x_{C,ALG} - x_{O,ALG} + 8x_{H,ALG} + \frac{20}{7} x_{N,ALG} \\
v_{5,1b} = -x_{C,ALG} \\
v_{8,1b} = -\frac{x_{N,ALG}}{14} \\
v_{10,1b} = 1
\end{cases}$$
(1.27)

– Respirazione endogena e inattivazione delle microalghe (Eq. 2 ed Eq. 3, Tab. 2)
Per quanto riguarda i processi di respirazione endogena e inattivazione delle microalghe, la loro equazione di reazione chimica è analoga a quella del processo di crescita, ma con verso opposto. Ne consegue, quindi, che anche i coefficienti stechiometrici risultano essere gli stessi, fatta ad eccezione per il segno, in quanto le specie reagenti svolgono il ruolo di prodotti e viceversa.

– Reazioni di equilibrio chimico (Eq. 4, Eq. 5, Eq. 6 ed Eq. 7, Tab. 2)

D'altro canto, i coefficienti stechiometrici delle reazioni di equilibrio e di trasferimento delle specie chimiche verso l'atmosfera non coinvolgono le microalghe per cui non dipendono dalla loro composizione; è stato, quindi, sufficiente effettuare un bilanciamento in termini molari.

L'equazione massica della reazione di equilibrio chimico relativo all'anidride carbonica assume la seguente espressione:

$$v_{5,4}CO_2 + v_{9,4}OH^- \rightleftharpoons v_{6,4}HCO_3^-$$
 (1.28)

L'espressione della reazione chimica bilanciata in termini molari diventa:

$$CO_2 + OH^- \rightleftharpoons HCO_3^- \tag{1.29}$$

Normalizzando i coefficienti massici rispetto ai grammi di carbonio e sfruttando la relazione tra massa e moli, si ottengono le seguenti espressioni:

$$\begin{cases} v_{5,4} = -1 \\ v_{6,4} = 1 \\ v_{8,4} = -1/12 \end{cases}$$
(1.30)

L'equazione massica della reazione di equilibrio chimico relativo al bicarbonato assume la seguente espressione:

$$v_{6,5}HCO_3^- \rightleftharpoons v_{7,4}CO_3^{2-} + v_{8,5}H^+$$
 (1.31)

L'espressione della reazione chimica bilanciata in termini molari diventa:

$$HCO_3^- \rightleftarrows CO_3^{2-} + H^+ \tag{1.32}$$

Normalizzando i coefficienti massici rispetto ai grammi di carbonio, si ottengono le seguenti espressioni:

$$\begin{cases} v_{6,4} = -1 \\ v_{7,5} = 1 \\ v_{8,5} = 1/12 \end{cases}$$
(1.33)

L'equazione massica della reazione di equilibrio chimico relativo all'ammonio assume la seguente espressione:

$$v_{1,6}NH_4^+ \rightleftharpoons v_{2,6}NH_3 + v_{8,6}H^+$$
 (1.34)

L'espressione della reazione chimica bilanciata in termini molari diventa:

$$NH_4^+ \rightleftharpoons NH_3 + H^+ \tag{1.35}$$

Normalizzando i coefficienti massici rispetto ai grammi di azoto, si ottengono le seguenti espressioni:

$$\begin{cases} v_{1,6} = -1 \\ v_{2,6} = 1 \\ v_{8,6} = 1/14 \end{cases}$$
(1.36)

L'equazione massica della reazione di equilibrio chimico relativo agli ioni idrogeno e ossidrili assume la seguente espressione:

$$cH_20 \rightleftharpoons v_{8,7}H^+ + v_{9,7}OH^-$$
 (1.37)

L'espressione della reazione chimica bilanciata in termini molari diventa:

$$dH_2 0 \rightleftharpoons v_{8,7} H^+ + v_{9,7} O H^- \quad (1.38)$$

per cui i coefficienti stechiometrici in questione assumono le seguenti espressioni:

$$\begin{cases} v_{8,7} = 1 \\ v_{9,7} = 1 \end{cases}$$
(1.39)

Per completezza, le espressioni dei coefficienti stechiometrici di tutte le specie chimiche annoverate e coinvolte nei differenti processi sono state riportate in Tabella 5.

Nel nostro caso, la famiglia di microalghe selezionata appartiene al ceppo *Acutodesmus obliquus* ed è caratterizzata dai seguenti valori di frazioni massiche:

$$\begin{cases} x_{C,ALG} = 0,387 \ gC \ gCOD^{-1} \\ x_{H,ALG} = 0,075 \ gH \ gCOD^{-1} \\ x_{O,ALG} = 0,538 \ gO \ gCOD^{-1} \\ x_{N,ALG} = 0,065 \ gN \ gCOD^{-1} \end{cases}$$
(1.40)

COEFFICIENTI STECHIOMETRICI							
1a. Crescita delle microalghe sull'ammonio $v_{1,1a} = -x_{N,ALG}$	Unità gN gCOD-1	1b. Crescita delle microalghe sul nitrato $v_{3,1b} = -x_{N,ALG}$	Unità gN gCOD-1				
$v_{4,1a} = \frac{8x_{C,ALG}}{3} + 8x_{H,ALG} - x_{O,ALG} - \frac{12x_{N,ALG}}{7}$	$gO_2 gCOD^{-1}$	$v_{4,1b} = \frac{8x_{C,ALG}}{3} + 8x_{H,ALG} - x_{O,ALG} + \frac{20x_{N,ALG}}{7}$	gO <sub>2</sub> gCOD <sup>-1</sup>				
$v_{5,1a} = -x_{C,ALG}$	gC gCOD <sup>-1</sup>	$v_{5,1b} = -x_{C,ALG}$	gCOD-1				
$v_{8,1a} = \frac{x_{N,ALG}}{14}$	gH gCOD-1	$v_{8,1b} = \frac{-x_{N,ALG}}{14}$	gH gCOD-1				
$v_{10,1a} = 1$	gCOD gCOD-1	$v_{10,1b}=1$	gCOD gCOD-1				
2. Respirazione endogena	N. COD I	3. Inattivazione delle microalghe	N. GOD I				
$v_{1,2} = x_{N,ALG}$	gN gCOD-1	$v_{1,3} = x_{N,ALG}$	gN gCOD <sup>-1</sup>				
$v_{4,2} = (x_{0,ALG}) - 8(x_{H,ALG}) - \frac{8}{3}(x_{C,ALG}) + \frac{12}{7}(x_{N,ALG})$	$gO_2 \ gCOD^{-1}$	$v_{4,3} = (x_{0,ALG}) - 8(x_{H,ALG}) - \frac{8}{3}(x_{C,ALG}) + \frac{12}{7}(x_{N,ALG})$	$gO_2 gCOD^{-1}$				
$v_{5,2} = x_{C,ALG}$	gC gCOD-1	$v_{5,3} = x_{C,ALG}$	gC gCOD-1				
$v_{8,2} = \frac{-1}{14} \left( x_{N,ALG} \right)$	gH gCOD-1	$v_{8,3} = \frac{-1}{14} (x_{N,ALG})$	gH gCOD-1				
$v_{10,2} = -1$	gCOD gCOD-1	$v_{10,3} = -1$	gCOD gCOD-1				
4. Equilibrio chimico $CO_2 \leftrightarrow HCO_3^-$ $v_{5,4} = -1$	gC gC <sup>-1</sup>	5. Equilibrio chimico $HCO_3^- \leftrightarrow CO_3^{2-}$ $v_{6,5} = -1$	gC gC <sup>-1</sup>				
$v_{6,4} = 1$	gC gC <sup>-1</sup>	$v_{7,5} = 1$	gC gC <sup>-1</sup>				
$v_{8,4} = 1/12$	gH gC <sup>-1</sup>	$v_{8,5} = 1/12$	gH gC <sup>-1</sup>				
6. Equilibrio chimico $NH_4^+ \leftrightarrow NH_3$ $v_{1,6} = -1$	$\mathbf{g}\mathbf{N}\ \mathbf{g}\mathbf{N}^{-1}$	7. Equilibrio chimico $H^+ \leftrightarrow OH^-$ $v_{8,7} = 1$	gH gH-1				
$v_{2,6}=1$	gN gN <sup>-1</sup>	$v_{9,7}=1$	gH gH <sup>-1</sup>				
$v_{8,6} = 1/14$	$gH gN^{-1}$	8. Scambio di ossigeno con l'atmosfera $v_{4,02} = 1$	[-]				
9. Scambio di anidride carbonica con l'atmosfera $v_{5,CO2} = 1$	[-]	10. Scambio di ammoniaca con l'atmosfera $v_{2,NH3} = 1$	[-]				

**Tabella 4.** Espressioni matematiche dei coefficienti stechiometrici relativi ad ogni processo in funzione della<br/>composizione massica della famiglia di microalghe selezionate. Rispetto alla tabella riportata nell'articolo di<br/>Solimeno et al., 2015, è stato modificato il segno relativo alla frazione massica di azoto nell'espressione<br/>matematica di  $v_{4,1b}$ .

# 2. Modellazione matematica

## 2.1 Schema reattoristico dell'impianto pilota

La famiglia di microalghe selezionata per le prove sperimentali appartiene al ceppo *Acutodesmus obliquus* 276-3b, formalmente chiamate *Scenedesmus obliquus* (Turpin) *Kützing*, e ottenute dalla SAG, Culture Collection of Algae, (Göttingen, Germania).

Una rappresentazione schematica del fotobioreattore di laboratorio, presente nel Dipartimento di Ingegneria dell'Ambiente, del Territorio e delle Infrastrutture del Politecnico di Torino ed utilizzato per la realizzazione degli esperimenti, è mostrata in Figura 4. Lo schema reattoristico è composto da due pannelli piatti, un tank di miscelazione e un circolatore idraulico. Tra i due pannelli idraulici è posto un sistema di sorgente luminosa costituito da una matrice LED (Light Emitting Diode) che attiva il processo di fotosintesi e da una guida ottica per l'ottimizzazione della distribuzione della luce sulla superficie del pannello. Questi ultimi sono realizzati in policarbonato trasparente con una superficie di 1,5 m<sup>2</sup> ed ognuno di esso è suddiviso in 28 canali (alveoli), di sezione rettangolare di 0,0004 m<sup>2</sup> e di una lunghezza complessiva di circa 40 m. Il tank di miscelazione, privo di agitatore, è costituito da un materiale HDPE (high density polyethylene) ed ha un volume effettivo di 26 L.



**Figura 4.** Schematizzazione del fotobioreattore di laboratorio ideato per la crescita delle microalghe. I nutrienti vengono inviati durante la fase di start-up del processo e la CO<sub>2</sub> viene fornita all'uscita del serbatoio.

Gli esperimenti sono stati condotti in modalità batch, con una portata di 20,2 m<sup>3</sup>/giorno, uno spettro luminoso misto rosso-blu con un'irradiazione media di 150  $\mu$ E (m<sup>2</sup> s)<sup>-1</sup> e una temperatura ambiente mantenuta costante a 25°C.

La serpentina viene alimentata mediante una fase liquida arricchita di anidride carbonica, la quale si discioglie nell'acqua. In questo settore, grazie all'intensità luminosa, il processo di fotosintesi viene accelerato e le microalghe crescono. Dopodiché, la corrente in uscita dalla serpentina viene inviata ad un serbatoio miscelato, mantenuto al buio in maniera tale da simulare la zona notte. Al suo interno vengono alimentati i nutrienti a base di azoto e fosforo. La portata liquida in uscita da tale apparecchiatura viene poi riciclata alla serpentina mediante una pompa di ricircolo posta tra il tank di miscelazione e la serpentina stessa.

Attraverso il serbatoio, a contatto con l'atmosfera, degasa l' $O_2$  prodotto dalla fotosintesi, un'eventuale quantità di CO<sub>2</sub> in eccesso che non è stata consumata e dell'NH<sub>3</sub> formatasi durante il processo. Viene, inoltre, estratta una determinata quantità del prodotto costituito da liquido e microalghe in maniera tale da effettuarne il campionamento, e, per far in modo che il liquido continui ad essere presente all'interno del sistema, la portata volumetrica estratta deve essere poi reintegrata in egual quantitativo. La misura della concentrazione di biomassa, presente nel piccolo campione del brodo di coltura periodicamente estratto, viene effettuata su base secca: la portata campionata viene filtrata attraverso un filtro in fibra di vetro con pori di 1,5  $\mu$ m, essiccata a 105°C e infine pesata. Temperatura, pH, ossigeno disciolto e concentrazioni di anidride carbonica nel brodo di coltura vengono costantemente monitorati da sonde poste all'uscita del fotoreattore.

### 2.2 Modellazione idrodinamica

L'impianto è stato modellato prendendo in considerazione sia l'idrodinamica che la cinetica chimica del processo. Il serbatoio, atto a simulare la zona notte, è stato riprodotto mediante un modello a compartimenti costituito da una cascata di reattori CSTRs (continuous flow stirred tank reactors) di uguali dimensioni. Il numero di CSTRs da utilizzare per la modellizzazione può essere indefinito, con un minimo di due; il primo e l'ultimo rappresentano, rispettivamente, la zona di ingresso e quella di uscita del tank. È possibile riprodurre la fluidodinamica del serbatoio agendo sul numero di CSTRs utilizzati e sul valore delle portate interne di interscambio. In particolare, il primo e l'ultimo reattore della cascata sono caratterizzati, rispettivamente, da una portata di ingresso e di uscita pari a quella che attraversa il reattore tubolare mentre ciascuno degli altri interscambia una certa portata interna con i restanti. Le portate di nutrienti da alimentare vengono inviate ad unico reattore identificato come reattore di alimentazione. Infine, viene selezionato un solo CSTR per simulare lo scambio di materia

con l'ambiente esterno; per quest'ultimo è necessario definire una superficie di scambio e i coefficienti di scambio di materia con l'atmosfera per le specie gassose, quali anidride carbonica, ammoniaca e ossigeno. In ogni CSTR si presume che il brodo di coltura sia perfettamente miscelato in modo tale che non vi siano gradienti di concentrazioni di nutrienti, gas o biomassa. La cinetica chimica viene implementata seguendo la descrizione del lavoro di Solimeno et al. (2015), considerando anche il trasferimento delle specie gassose nell'atmosfera. Pertanto, il bilancio di massa per un componente i-esimo nel reattore  $\alpha$  è dato da:

$$\frac{dc_{\alpha,i}}{dt} = \frac{\dot{V}}{V_{\alpha}}c_{i,in} - \frac{\dot{V}}{V_{\alpha}}c_{i,out} + \dot{m}_{i,atm} + \sum r_i \qquad (2.1)$$

dove  $c_i$  è la concentrazione del componente i-esimo,  $\dot{V}$  è la portata volumetrica,  $V_{\alpha}$  il volume del reattore,  $\dot{m}_{i,atm}$  e  $\sum r_i$  sono rispettivamente la velocità di trasferimento massica verso l'atmosfera e la velocità di reazione del componente i-esimo. Si assume che il trasferimento delle specie gassose in atmosfera avvenga solo attraverso la superficie esposta del primo dei CSTRs adottati per la modellazione idrodinamica del serbatoio ed è espresso come:

$$\dot{m}_{i,atm} = (k_L a)_i \left( C_i^{SAT} - C_i \right) \tag{2.2}$$

dove  $(k_L a)_i$  è il coefficiente di trasferimento massico tra il liquido e l'atmosfera e  $C_i^{SAT}$  è la concentrazione di saturazione della specie i-esima nella fase liquida.

Per quanto riguarda la zona giorno, simulata dalla serpentina, si assume una fluidodinamica di tipo PFR (plug flow reactor) e l'effetto dei raccordi curvilinei tra un canale e l'altro è descritto mediante una dispersione assiale. Pertanto, trascurando tutti i gradienti di concentrazione in direzioni differenti da quelle della velocità, in tale apparecchiatura il bilancio di massa per un componente i-esimo assume la seguente espressione:

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = -\frac{\partial (u_z c_i)}{\partial z} + \mathcal{D} \frac{\partial^2 c_i}{\partial z^2} + \sum r_i \qquad (2.3)$$

dove z è la direzione assiale del flusso,  $u_z$  è la velocità del fluido in quella direzione e D è la dispersione longitudinale. I parametri che entrano in gioco in questo settore e che caratterizzano il reattore tubolare risultano essere la portata volumetrica, la sezione e la lunghezza dell'apparecchiatura

e la dispersione longitudinale, il cui valore è stato stimato mediante simulazioni CFD, (computational fluid dynamics).

Al fine di comprendere in maniera chiara quanto descritto, la Figura 5 mostra una rappresentazione dello schema reattoristico simulato attraverso il quale è stata riprodotta la fluidodinamica del bioreattore di laboratorio a cui si fa riferimento.



**Figura 5.** Rappresentazione dello schema reattoristico simulato attraverso il quale è stata riprodotta la fluidodinamica del bioreattore di laboratorio a cui si fa riferimento.  $\dot{V}_{sample}$  e  $\dot{V}_r$  rappresentano, rispettivamente, la portata estratta e quella di reintegro,  $\dot{m}_{feed}$  fa riferimento alle portate di nutrienti alimentati,  $v_{dot}$  si riferisce alle portate di interscambio e  $m_{CO_2}$ ,  $m_{O_2}$  e  $m_{NH_3}$  fanno riferimento alle portate massiche delle specie gassose che volatilizzano verso l'atmosfera.

Le equazioni alle derivate parziali che descrivono il trasporto delle specie all'interno del reattore PFR sono state ridotte a un insieme di ODEs (ordianary differential equations) mediante il metodo di discretizzazione spaziale.

Indicando con  $n_{CSTR}$  il numero di CSTRs utilizzati per la modellizzazione della zona notte, con  $n_z$  il numero di nodi relativi alla discretizzazione spaziale e tenendo conto del fatto che i componenti annoverati risultano essere pari a 10, il numero di equazioni lineari,  $n_{TOT}$ , da dover risolvere risulta essere pari a:

$$n_{TOT} = 10n_z + 10n_{CSTR}$$
(2.4)

Il problema è stato codificato utilizzando Fortran95, ricorrendo alla routine lsode della libreria LAPACK per la soluzione del sistema lineare delle ODEs.

## 2.3 Organizzazione delle simulazioni

I dati di input forniti al programma sono essenzialmente di tre tipologie: i dati relativi alla geometria e alle condizioni di funzionamento del fotobioreattore di laboratorio in esame, i dati relativi alle espressioni matematiche che descrivono le cinetiche di reazione e il modello PSF riguardante l'intensità luminosa e, infine, quelli relativi alle impostazioni computazionali della simulazione stessa. In particolare:

- Le grandezze necessarie all'identificazione dello schema reattoristico e al suo funzionamento, che caratterizzano ogni simulazione in input al programma, sono:
  - $\dot{V}$ , portata volumetrica in ingresso alla serpentina;
  - $\mathcal{D}$ , dispersione longitudinale;
  - $v_{dot}(i, j)$ , portate volumetriche interscambiate;
  - L, lunghezza del reattore PFR;
  - $A_{PFR}$ , sezione trasversale del reattore PFR;
  - $A_{TANK}$ , superficie di scambio del CSTR a contatto con l'atmosfera;
  - $V_{CSTR}$ , volume di ciascun reattore costituente la cascata di CSTRs;
  - $i_{r,feed}$ , indice del reattore di alimentazione;
  - $n_{CSTR}$ , numero di CSTRs utilizzati per la modellazione.
  - $S_{PFR}$ , vettore delle concentrazioni delle specie chimiche coinvolte in uscita dal PFR, ovvero in ingresso al tank;
  - $S_{tank}$ , vettore delle concentrazioni delle specie chimiche coinvolte in uscita dal tank, ovvero in ingresso al PFR;
  - $\dot{m}_{feed}$ , vettore delle portate massiche alimentate al CSTR identificato come reattore di alimentazione;
  - $\dot{V}_{sample}$ , portata volumetrica campionata;
  - $-\dot{V}_r$ , portata volumetrica reintegrata;
  - Il, intensità luminosa.
- Le proprietà che descrivono le cinetiche di reazione relative ai diversi processi che coinvolgono le microalghe e il modello PSF riguardante l'intensità luminosa sono invece:
  - $\mu_{ALG}$ , tasso massimo di crescita delle microalghe;
  - $k_{resp,ALG}$ , costante di respirazione endogena;

- $k_{death,ALG}$ , costante di inattivazione per le microalghe;
- $K_{C,ALG}$ , costante di affinità per le specie a base di C;
- $I_{CO2,ALG}$ , costante di inibizione relativa alla CO<sub>2</sub>;
- $K_{N,ALG}$ , costante di affinità per le specie a base di N;
- K<sub>02,ALG</sub>, costante di affinità per l'ossigeno disciolto;
- $K_{PR}$ , costante di inibizione della fotorespirazione;
- $-\tau$ , coefficiente di eccesso dell'ossigeno disciolto;
- $S_{02}^{SAT}$ , concentrazione di saturazione dell'O<sub>2</sub> in aria;
- $T_{OPT}$ , temperatura ottimale per la crescita delle microalghe;
- *s*, parametro di normalizzazione;
- $\alpha$ , parametro di attivazione relativo al modello PSF;
- $\beta$ , parametro di inibizione relativo al modello PSF;
- $-\gamma$ , parametro di produzione relativo al modello PSF;
- $-\delta$ , parametro di inibizione relativo al modello PSF
- $K_{a,NH_3}$ ,  $K_{a,CO_2}$ ,  $K_{a,O_2}$ , coefficienti di scambio liquido-atmosfera relativi ad ammoniaca, anidride carbonica ed ossigeno, rispettivamente;
- $K_{eq,1}, K_{eq,2}, K_{eq,3}, K_{eq,w}$ , costanti di equilibrio chimico.
- Le impostazioni computazionali, di carattere numerico e che influenzano la stabilità dell'algoritmo e la durata delle simulazioni, sono:
  - *dz*, passo di discretizzazione spaziale per la modellazione della serpentina;
  - $-t_{out}$ , istanti di tempo in corrispondenza dei quali vengono stampate le informazioni;
  - $dt_{out}$ , time step per l'output dei dati;
  - $n_{step}$ , numero di time steps;
  - $a_{tol}$ , parametro di tolleranza dell'errore assoluto;
  - $r_{tol}$ , parametro di tolleranza dell'errore relativo.

Inoltre, indicati con  $n_{r,max}$  il numero massimo di reattori utilizzati per la simulazione, con  $n_{c,max}$  il numero massimo di specie chimiche coinvolte e con  $n_{z,max}$  il numero massimo di nodi impiegati per la discretizzazione spaziale del PFR, il numero di equazioni massimo risolvibili dall'algoritmo,  $n_{eq,max}$ , è dato da:

$$n_{eq,max} = \left(n_{r,max} + n_{z,max}\right) * n_{c,max} \qquad (2.5)$$

Date le lente dinamiche del processo, l'unità di misura a cui si fa riferimento per descrivere il tempo è il giorno (d).

# 3.Confronto tra i modelli

### 3.1 Modelli stazionari

Sono stati sviluppati numerosi modelli allo stato stazionario che consentono di descrivere la fotosintesi e la cinetica di crescita delle microalghe, entrambe espresse in termini di crescita della biomassa o assorbimento di nutrienti, senza escludere l'influenza di diversi fattori come luce, pH, temperatura e disponibilità di nutrienti.

I modelli meccanicistici della serie Activated Sludge Model (ASM) sono stati promossi dall'International Water Association (IWA). Il primo di questi, modello di fanghi attivi n. 1 (ASM1), è stato presentato nel 1986 ed è considerato il modello base per il trattamento biologico convenzionale delle acque reflue. È composto da otto processi e tredici variabili di stato; le cinetiche coinvolte si basano principalmente sulla formulazione di Monod.

Successivamente, ASM1 è stato il punto di partenza per ulteriori estensioni: modello di fanghi attivi n. 2 (ASM2) e modello di fanghi attivi n. 2d (ASM2d), i quali comprendevano più processi per includere la rimozione biologica del fosforo, e modello di fanghi attivi n. 3 (ASM3), che incorporava una descrizione più realistica dei processi di decadimento e descrizioni più dettagliate dei composti accumulatisi all'interno delle cellule. (Henze et al., 2000).

Tuttavia, il limite principale dei modelli ASM era legato al fatto che i parametri cinetici erano stati calibrati sulla base dell'esperienza in un intervallo di temperatura di 8–23 °C e pH 6,5–7,5 (Henze et al., 2000). Pertanto, al di fuori di questi range, i modelli potrebbero non rappresentare adeguatamente il comportamento del sistema. Nonostante ciò, essi sono considerati i più importanti modelli matematici per la simulazione del trattamento delle acque reflue e sono ancora oggi utilizzati come modelli base da cui partire e che possono essere estesi per descrivere altri processi non inclusi nelle versioni originali (Van Loosdrecht et al., 2015).

Successivamente, Sterner e Grover (1998) hanno descritto la crescita di microalghe con una formulazione Monod allo stato stazionario considerando due fattori: la concentrazione di azoto e l'effetto della temperatura.

### 3.2 Modelli dinamici

I modelli matematici stazionari presentati precedentemente utilizzano un numero relativamente basso di fattori per descrivere la complessità intrinseca della crescita delle microalghe, specialmente per le colture di specie vegetali all'interno delle acque reflue. La modellazione richiede un grado di complessità maggiore a causa dei molteplici parametri coinvolti nel trattamento delle acque reflue e delle numerose interazioni tra gli organismi.

Il primo modello integrato che considera la crescita simultanea di microrganismi e batteri negli HRAPs è stato sviluppato da Buhr e Miller (1983). In esso, la crescita delle alghe è limitata dalla CO<sub>2</sub>, dall'azato inorganico totale e dall'intensità luminosa, mentre quella dei batteri è limitata dalla disponibilità o meno di substrati organici e dall'ossigeno disciolto. A partire da Buhr e Miller, sono stati ideati nuovi modelli dinamici con finalità differenti.

Beran e Kargi, 2005, hanno pubblicato un modello in grado di predire la qualità degli effluenti dei WSPs (waste stabilization ponds) considerando le seguenti variabili: concentrazione di batteri e microalghe, COD, ossigeno disciolto e concentrazioni di nutrienti, come azoto e fosforo. La crescita delle microalghe è stata descritta mediante la 'Legge del minimo' di Liebig in funzione di azoto (NH<sub>4</sub> e NO<sub>3</sub>), fosforo, intensità luminosa, pH e temperatura, escludendo la possibilità che più di un substrato possa essere limitante contemporaneamente.

Moreno Grau et al., 1996, hanno sviluppato un modello che permette di studiare la dinamica di batteri, microalghe e zooplancton nei WSPs la cui crescita su ammoniaca e fosforo è stata descritta utilizzando la funzione Monod, mentre la dipendenza dall'intensità luminosa e dalla temperatura è stata espressa mediante la funzione Steel e l'equazione di Arrhenius, rispettivamente.

Nel modello dinamico di Bernard (2011), il tasso di crescita delle microalghe era limitato contemporaneamente dalla presenza di azoto e dalla disponibilità di luce.

Pochi modelli hanno utilizzato la formulazione sviluppata da Bernard (2011). Zhou et al. (2014) hanno fatto riferimento al modello per studiare il valore ottimale dei fattori di coltura (cioè il tasso di diluizione, l'intensità della luce e la concentrazione di azoto influente) per massimizzare la produzione di microalghe. Yuan et al. (2014), prendendo come punto di partenza il modello di Bernard, hanno sviluppato una linea guida modello per la crescita delle microalghe introducendo differenti espressioni e coefficienti rispetto ad altri modelli precedenti (Quinn et al., 2011; Packer et al., 2011; Geider et al., 1998).

Costache et al. (2013) hanno sviluppato un modello dinamico considerando l'influenza di diversi parametri ambientali (intensità luminosa, temperatura, pH e ossigeno disciolto) sulla crescita delle microalghe.

Negli ultimi due decenni, la possibilità di trattare le acque reflue e, allo stesso tempo, di produrre biomassa hanno promosso lo sviluppo di modelli meccanicistici più complessi, i quali aprono la strada alla comprensione delle interazioni tra microalghe e batteri e al controllo delle reazioni. La Tabella 5 mostra un confronto tra le caratteristiche di alcuni dei principali modelli matematici che permettono di simulare i processi biocinetici coinvolti.

### 3.2.1 River water quality model no.1 (RWQM1)

Simile ai modelli ASM, il River water quality model no.1 (RWQM1) è un modello concettuale sviluppato da un gruppo di lavoro IWA (Reichert et al., 2001; Dekissa et al., 2004). Nonostante sia emerso per la gestione della qualità delle acque, è stato utilizzato come modello base per i sistemi di trattamento delle microalghe. Esso si basa sul bilancio di massa degli elementi chimici in termini di domanda biochimica di ossigeno (biochemical oxygen demand, BOD) e considera la sedimentazione della materia organica, includendo l'equilibrio delle specie a base di N, C e P.

Modello	Modello base meccanicistic o	Piattaforma simulazione	Numero di componenti	Numero di processi biologici	Processi addizionali	Idrodinamica	Caratteristiche più rilevanti
RWQM1 (Reichert et al.,2001)	RWQM1 (Reichert et al.,2001)	Conceptual model	24 (9 particellari e 15 solubili)	26	Limitazione della luce, dipendenza dalla temperatura, equilibrio chimico	Non inclusa	Dinamica del pH, equazioni di bilancio in termini di BOD
Sah et al. (2011)	ASM2, CWM1, RWQM1	Delft3D	18 (9 particellari e 9 solubili)	19	Limitazione e attenuazione della luce, dipendenza dalla temperatura	Equazioni di Navier-Stokes	Processi anaerobici, richiede la calibrazione rispetto ai dati sperimentali
Zambrano et al. (2016)	ASM1, Solimeno et al. (2015)	MATLAB/Simulink	8 (2 particellari e 6 solubili)	6	Limitazione della luce	Non inclusa	Calibrato con dati sperimentali da due PBR su scala di laboratorio
ASM-A (Wagner et al., 2016)	ASM-2d	Conceptual model	11 (5 particellari e 6 solubili)	6	Limitazione della luce	Non inclusa	Calibrato con dati sperimentali da PBR
BIO_ALGAE (Solimeno et al., 2017)	ASM3, RWQM1	COMSOL Multiphysics™	19 (6 particellari e 13 solubili)	25	Limitazione e attenuazione della luce, dipendenza dalla temperatura, fotorespirazione ed equilibrio chimico	Equazioni di Navier-Stokes, trasporto di specie diluite mediante convezione e diffusione	Limitazione del carbonio, trasferimento di gas verso l'atmosfera, dinamica dell'intensità luminosa

Tabella 5. Confronto tra le caratteristiche generali dei modelli meccanicistici integrati di microalghe-batteri.

Il modello si basa la composizione elementare degli organismi (C, H, N, O e P) e sulla stechiometria dei processi di conversione biochimica, invece del solo COD come in altri modelli. Esso include tutte le variabili dei modelli della serie ASM e considera 26 processi e 24 componenti di cui nove in forma particellare e quindici solubili. La frazione particellare è composta da batteri eterotrofi ( $X_H$ ), due tipi di batteri nitrificanti ( $X_{N1}$  e  $X_{N2}$ ), microalghe ( $X_{ALG}$ ), consumatori di batteri ( $X_{CON}$ ), inerti particellari

organici (X<sub>I</sub>), fosfato adsorbito alle particelle (X<sub>P</sub>), particolato inorganico (X<sub>II</sub>) e particolato biodegradabile (X<sub>S</sub>). D'altro canto, la frazione solubile è composta da inerte organico disciolto (S<sub>I</sub>), sostanze organiche biodegradabili (S<sub>S</sub>), composti azotati (S<sub>NH3</sub>, S<sub>NH4</sub>, S<sub>NO2</sub>, S<sub>NO3</sub>), fosfati (S<sub>HP04</sub>, S<sub>H2P04</sub>), ossigeno (S<sub>O2</sub>) ed infine dai componenti coinvolti nell'equilibrio del bicarbonato, ovvero anidride carbonica (S<sub>CO2</sub>), bicarbonato (S<sub>HCO3</sub>), carbonato (S<sub>CO3</sub>), calcio (S<sub>Ca</sub>) e ioni ossidrili (S<sub>OH</sub>) e idrogeno (S<sub>H</sub>).

Analogamente ai modelli ASM, le espressioni cinetiche di RWQM1 si basano sul prodotto di funzioni che esprimono la disponibilità e l'effetto di nutrienti, intensità luminosa e temperatura (rispettivamente, funzione di Monod, Lambert e Beer's ed Arrhenius).

#### 3.2.2 Modello Sah

Il modello meccanicistico di Sah et al. (2011) è stato sviluppato utilizzando il software Delft3D e accoppiando il modello ASM2 per la descrizione dei processi batterici aerobici e anossici, il CCWM1 per i processi batterici anaerobici e RWQM1 per simulare la crescita delle microalghe. Inoltre, include la descrizione dell'idrodinamica del sistema (equazioni idrauliche e di trasporto) e fattori fisici e ambientali come l'areazione, la radiazione solare e la temperatura.

Questo modello utilizza la stessa nozione e struttura dei modelli ASM e considera diciannove processi e diciotto componenti (nove particellari e nove solubili). La frazione particellare comprende cinque gruppi funzionali di batteri, inclusi batteri eterotrofi, nitrificanti, fermentanti, solfati riducenti e solfuri ossidanti, rispettivamente (X<sub>H</sub>, X<sub>A</sub>, X<sub>FB</sub>, X<sub>ASRB</sub> e X<sub>AMB</sub>), materia organica inerte e particolata, (X<sub>I</sub> e X<sub>S</sub>, rispettivamente), microalghe (X<sub>ALG</sub>) ed E.coli (X<sub>E.coli</sub>). Tra i componenti disciolti vi è ossigeno disciolto (S<sub>0</sub>), ammonio, nitrato ed azoto gassoso (S<sub>NH4</sub>, S<sub>NO3</sub> e S<sub>N2</sub>), COD, solfato di zolfo (S<sub>SO4</sub>), metano (S<sub>CH4</sub>), acetato (SA) e inerte solubile COD (S<sub>1</sub>). Le velocità dei processi si basano su equazioni di tipo Monod, mentre l'attenuazione della luce e l'effetto della temperatura si basano, rispettivamente, sulla legge di Lambert Beer e sull'equazione di tipo Arrhenius. Per il flusso turbolento, il software Delft3D risolve l'idrodinamica del sistema mediante le equazioni di Navier-Stokes per fluidi incomprimibili e rispetta le ipotesi di Boussinesq utilizzando un modello  $k - \epsilon$ standard integrato.

Tuttavia, questo modello è ancora considerato in fase concettuale in quanto richiede ulteriore calibrazione e validazione rispetto ai dati sperimentali.

#### 3.2.3 Modello Zambrano

Recentemente, Zambrano et al. (2016) hanno presentato un modello meccanicistico semplificato per descrivere la crescita di microalghe all'interno di un fotobioreattore. È stato sviluppato dagli autori nella piattaforma Matlab-Simulink e si ispira al modello ASM1 per la descrizione dei processi batterici e al nuovo modello meccanicistico presentato da Solimeno et al. (2015) per la crescita delle microalghe, descritto nel Capitolo 1.

Il modello di Zambrano considera sei processi e sei componenti, di cui due in forma particellare e quattro solubili. I componenti particellari includono batteri nitrificanti ( $X_{BAC}$ ) e microalghe ( $X_{ALG}$ ) mentre i componenti solubili sono le frazioni di azoto ( $S_{NH4}$  e  $S_{NO3}$ ), ossigeno ( $S_{O2}$ ) e anidride carbonica ( $S_{CO2}$ ).

Il modello è stato calibrato attraverso dati sperimentali ottenuti da esperimenti batch eseguiti su scala di laboratorio e alimentati con acqua reflue per sei giorni. I parametri più sensibili del modello, identificati mediante simulazioni Monte Carlo, risultano essere: velocità massima di crescita delle microalghe ( $\mu_{ALG}$ ), velocità massima di crescita e resa dei batteri ( $\mu_{BAC}$ ,  $y_{BAC}$ ) e la costante di saturazione delle microalghe per il carbonio inorganico ( $K_{CO2}$ ).

Tuttavia, il modello è in fase di sviluppo e l'idea degli autori è quella di implementare processi aggiuntivi, come l'attenuazione della luce e la dinamica del pH.

### 3.2.4 ASM-A

Il modello ASM-A (Wagner et al., 2016) è stato sviluppato come estensione dell'ASM-2d (Henze et al., 1999) per descrivere la crescita di microalghe in WSPs, HRAPs (high rate algal ponds) e fotobioreattori chiusi (PBRs) alimentati con acque reflue. Il modello è stato implementato in Matlab e utilizza lo stesso formato dei modelli ASM. Considera sei processi e undici componenti di cui cinque particellari e sei solubili, tutti legati alle microalghe.

I componenti particellari includono microalghe ( $X_{ALG}$ ), inerti organici ( $X_I$ ) e sostanze biodegradabili ( $X_S$ ). Le frazioni dei componenti particellari contengono inoltre la quota cellulare di azoto e fosforo ( $X_{ALG,N} e X_{ALG,PP}$ ) nelle microalghe. La frazione solubile comprende: azoto ammonico e nitrato ( $S_{NH4}$ e  $S_{NO}$ ), fosforo inorganico ( $S_{PO4}$ ), carbonio inorganico ( $S_{ALK}$ ), ossigeno disciolto ( $S_{O2}$ ) e acetato come substrato di carbonio organico ( $S_A$ ).

Le limitazioni di azoto e fosforo per la crescita di microalghe sono descritte mediante la formulazione di Droop, mentre il consumo di carbonio è formulato utilizzando la cinetica di Monod. L'effetto
limitante della luce è stato implementato dall'equazione di Steele (Steele, 1962), considerando un'intensità luminosa media costante.

Il modello è stato calibrato con i dati sperimentali di un PBR da 24 litri operante a temperatura controllata di 20 °C ed è stato in grado di prevedere con precisione la biomassa delle microalghe, l'assorbimento e lo stoccaggio di NH<sub>4</sub> e P, riducendo al minimo l'errore quadratico medio della radice relativo (RMSNE).

Il modello ASM-A presenta solo i processi biochimici relativi alle microalghe. Il suo obiettivo è quello di presentare processi di microalghe fotoautotrofi ed eterotrofi nel framework ASM al fine di consentire la loro integrazione in modelli batterici (come l'ASM-2d).

#### 3.2.5 Modello BIO\_ALGAE

Il modello BIO\_ALGAE (Solimeno et al., 2017) è stato implementato in COMSOL Multiphysics<sup>TM</sup>, è stato realizzato principalmente accoppiando il RWQM1 (Reichert et al., 2001) con l'ASM3 (Iacopozzi et al., 2007) ed è applicabile per WSPs, HRAPs e PBRs.

Tale modello utilizza la nomenclatura comune ai modelli IWA e considera diciannove componenti, di cui sei particellari e tredici disciolti. I componenti particellari includono batteri eterotrofi ( $X_H$ ), due tipi di batteri nitrificanti ( $X_{AOB}$ ,  $X_{NOB}$ ), microalghe ( $X_{ALG}$ ), inerti organici ( $X_I$ ) e materiali biodegradabili ( $X_S$ ). I componenti disciolti fanno riferimento alla materia organica inerte ( $S_I$ ) e materia organica biodegradabile ( $S_S$ ), alle frazioni di azoto ( $S_{NH3}$ ,  $S_{NH4}$ ,  $S_{NO2}$ ,  $S_{NO3}$ ), fosfato ( $S_{PO4}$ ), ossigeno ( $S_{O2}$ ) e componenti di carbonio inorganico ( $S_{CO2}$ ,  $S_{HCO3}$ ,  $S_{CO3}$ ), ioni ossidrili ( $S_{OH}$ ) e ioni idrogeno ( $S_H$ ).

Come nella serie ASM e RWMQ1, le espressioni cinetiche sono basate su funzioni di tipo Monod per esprimere la limitazione di C, N e P: l'effetto limitante del carbonio per le microalghe e i batteri nitrificanti è, infatti, una delle caratteristiche principali incluse nel modello. La dipendenza dalla temperatura è introdotta mediante l'equazione di tipo Arrhenius mentre l'effetto dell'intensità della luce sulla fotosintesi delle microalghe è descritto attraverso il modello dinamico di Eilers e Peters (1988). Sono stati, inoltre, inclusi l'attenuazione della luce, la dinamica del pH e l'effetto dell'ossigeno disciolto.

I parametri più significativi del modello come la velocità di crescita massima delle microalghe ( $\mu_{ALG}$ ), la velocità di crescita massima e l'inattivazione dei batteri eterotrofi ( $\mu_H$  e  $k_{death,H}$ ) e i coefficienti di trasferimento per ossigeno, anidride carbonica e ammoniaca ( $K_{a,O2}$ ,  $K_{a,CO2}$  e  $K_{a,NH3}$ ) sono stati calibrati mediante i dati sperimentali provenienti dall'impianto di trattamento per le acque reflue di Delhi, California.

Tale modello si è dimostrato uno strumento utile per simulare la dinamica e la produzione di biomassa, e in particolare, per dedurre la proporzione relativa di microalghe e batteri.

# 3.3 Confronto modelli dinamici

In questo capitolo viene fornito un confronto tra i diversi modelli integrati descritti nella sezione precedente per meglio comprendere le interazioni tra microalghe e batteri e i processi fisico-chimici nei sistemi di coltura, discutendo separatamente i processi di crescita e decadimento.

# 3.3.1 Confronto tra i processi relativi alle microalghe

La Tabella 6 contiene le espressioni delle velocità dei processi relativi alle microalghe dei cinque modelli meccanicistici selezionati.

#### Processi di crescita e assorbimento

In generale, i fattori correttivi che limitano o inibiscono il tasso massimo di crescita delle microalghe sono descritti dalle funzioni Monod, fatta eccezione per il modello ASM-A il quale fa riferimento alla quota di celle interna secondo la formula Droop. Il modello Droop tiene conto dell'assorbimento e dello stoccaggio dei nutrienti per la crescita mediante la concentrazione intracellulare del nutriente limitante ("quota cellulare", q); pertanto, può prevedere la crescita delle microalghe per un certo lasso di tempo in seguito al calo della concentrazione dei nutrienti. L'assorbimento e lo stoccaggio sono processi che devono essere rigorosamente presi in considerazione negli ecosistemi naturali acquatici, che di solito hanno concentrazioni di nutrienti molto basse (Powell et al., 2009; Sommer, 1991). D'altra parte, nei sistemi di acque reflue, intrinsecamente ricchi di nutrienti, il riferimento alle concentrazioni limitanti di nutrienti esterni garantisce una sufficiente precisione di modellazione. Questo rende il modello Monod da preferire, considerando anche il fatto che le limitazioni simultanee

dei nutrienti possono essere con esso facilmente implementate, mentre l'estensione del modello di Droop da singola limitazione di nutrienti a multipla non è così semplice (Cherif e Loreau, 2010). Tuttavia, a differenza degli altri, il modello ASM-A considera l'assorbimento e lo stoccaggio di N e P, ma non di C.

Modello	Processo	Velocità di reazione [M L-3 T-1]
RWQM1 (Reichert et al.,2001)	Crescita $X_{ALG}$ su $S_{NH_4}$	$k_{gro,ALG,To}f(T)f(L)\frac{S_{NH3}+S_{NH4}+S_{NO3}}{K_{N,ALG}+S_{NH3}+S_{NH4}+S_{NO3}}\frac{S_{NH3}+S_{NH4}}{K_{N,ALG}+S_{NH3}}\frac{S_{HPO4}+S_{H2PO4}}{K_{HPO4}+LC}X_{ALG}$
	Crescita $X_{ALG}$ su $S_{NO_3}$	$k_{groALG, To}f(T)f(L) \frac{S_{HH3} + S_{NH4} + S_{NO3}}{K_{HA,LG} + S_{NH3} + S_{NH4} + S_{NO3}} \frac{K_{HHA,LC}}{K_{HAALC} + S_{HH3} + S_{HH4}} \frac{S_{HFO4} + S_{H2PO4}}{K_{HFO4+SH2PO4}} \chi_{ALC}$
	Respirazione endogena $X_{ALG}$	$k_{resp,ALG,Tof}(T) \frac{S_{02}}{K_{02,ALG} + S_{02}} \chi_{ALG}$
	Decadimento X <sub>ALG</sub>	$k_{death,ALG,To}f(T)f(L)X_{ALG}$
Sah et al. (2011)	Crescita $X_{ALG}$ su $S_{NH_4}$	$\mu_{ALG} f(T) f(L) \frac{S_{NH}}{K_{NH,ALG} + S_{NH}} \chi_{ALG}$
	Crescita $X_{ALG}$ su $S_{NO_3}$	$\mu_{ALG} f(T) f(L) \frac{S_{NO}}{K_{NO,ALG} + S_{NO}} \frac{K_{NH,ALG}}{K_{NH,ALG} + S_{NH}} \chi_{ALG}$
	Decadimento X <sub>ALG</sub>	$b_{ALG}f(T)X_{ALG}$
Zambrano et al. (2016)	Crescita $X_{ALG}$ su $S_{NH_4}$	$\mu_{ALG} f(L) \frac{S_{CO2}}{K_{CO2} + S_{CO2}} \frac{S_{NH4}}{K_{N,ALG} + S_{NH4}} X_{ALG}$
	Crescita $X_{ALG}$ su $S_{NO_3}$	$\mu_{ALG} f(L) \frac{S_{CO2}}{K_{CO2} + S_{CO2}} \frac{S_{NO3}}{K_{N,ALG} + S_{NO3}} \frac{K_{N,ALG}}{K_{N,ALG} + S_{NH4}} X_{ALG}$
	Decadimento X <sub>ALG</sub>	$b_{ALG} X_{ALG}$
ASM-A (Wagner et al., 2016)	Assorbimento e accumulo $S_{NH_4}$	$k_{NH4,ALG} \frac{S_{NH4}}{K_{HN4,ALG} + S_{NH4}} \frac{X_{ALG,Nmax} X_{ALG} - X_{ALG,N}}{X_{ALG} + X_{ALG} + X_{ALG} + X_{ALG}} X_{ALG}$
	Assorbimento e accumulo $S_{NO_3}$	$k_{NO,ALG} \frac{S_{NO}}{K_{NO,ALG} + S_{NO}} \frac{K_{NHA,ALG}}{K_{NH4,ALG} + S_{NH4}} \frac{X_{ALG,Nmax} X_{ALG} - X_{ALG,N}}{X_{ALG,Mmax} X_{ALG}} X_{ALG}$
	Assorbimento e accumulo $S_{PO_4}$	$k_{PO4,ALG} \frac{S_{PO4}}{K_{PO4,ALG} + S_{PO4}} \frac{X_{ALG,Nmax} X_{ALG} - X_{ALG,N}}{X_{ALG,Mmax} X_{ALG}} X_{ALG}$
	Crescita autotrofica	$\mu_{A,max}\left(1-\frac{X_{ALG,Nmin}X_{ALG}}{X_{ALG,N}}\right)\left(1-\frac{X_{ALG,PPmin}X_{ALG}}{X_{ALG,PP}}\right)\frac{S_{ALK}}{K_{ALK}+S_{ALK}}f(L)X_{ALG}$
	Crescita eterotrofica	$\mu_{H,max} \left(1 - \frac{X_{ALG,Nmin} X_{ALG}}{X_{ALG,N}}\right) \left(1 - \frac{X_{ALG,Pmin} X_{ALG}}{X_{ALG,PF}}\right) \frac{S_A}{K_A + S_A} \frac{S_{O2}}{K_{O2} + S_{O2}} f(L) X_{ALG}$
	Decadimento X <sub>ALG</sub>	$b_{ALG} \chi_{ALG}$
BIO_ALGAE (Solimeno et al., 2017)	Crescita $X_{ALG}$ su $S_{NH_4}$	$f_{T,FS}(T)\eta_{FS}(I,S_{O_2}) \frac{S_{CO_2} + S_{HCO_3}}{K_{C,ALG} + S_{CO_2} + S_{HCO_3} + \frac{S_{2O_3}}{I_{CO_2,ALG}} \frac{S_{NH_3} + S_{NH_4}}{K_{N,ALG} + S_{NH_4}} \frac{S_{PO4}}{K_{P,ALG} + S_{PO4}} \chi_{ALG}$
	Crescita $X_{ALG}$ su $S_{NO_3}$	$\mu_{ALG}f_{T,FS}(T)\eta_{FS}(I,S_{O_2}) \frac{S_{CO_2} + S_{HCO_3}}{K_{C,ALG} + S_{CO_2} + S_{HCO_3} + \frac{S_{CO_3}^2}{I_{CO_2,ALG}}} \frac{S_{NO_3}}{K_{N,ALG} + S_{NO_3}} \frac{K_{N,ALG}}{K_{N,ALG} + S_{NH_3}} \frac{S_{FO_4}}{K_{P,ALG} + S_{FO_4}} \chi_{ALG}$
	Respirazione endogena X <sub>ALG</sub>	$k_{resp,ALG} \int_{T,FS} (T) \frac{S_{O_2}}{K_{O_2,ALG} + S_{O_2}} X_{ALG}$
	Decadimento X <sub>ALG</sub>	$k_{death,ALG} f_{T,FS}(T) X_{ALG}$

Tabella 6. Processi relativi alle microalghe coinvolti nei modelli meccanicistici integrati.

La crescita delle microalghe solitamente non è controllata dal carbonio inorganico negli ecosistemi acquatici come invece accade nei WSPs, HRAPs e PBRs. Infatti, nei PBRs utilizzati per colture di microalghe, il C viene solitamente fornito sotto forma di  $CO_2$  al fine di aumentarne la produzione. I modelli BIO\_ALGAE e Zambrano considerano il carbonio inorganico (sia  $CO_2$  che  $HCO_3^-$ ) come substrato controllante per la crescita delle microalghe, mentre i modelli RWQM1 e Sah non tengono conto di questo aspetto (Tabella 5). Il modello ASM-A prende in considerazione l'effetto limitante del carbonio utilizzando una formulazione Monod per l'alcalinità (S<sub>ALK</sub>): così facendo, il modello potrebbe sovrastimare leggermente il tasso di crescita delle microalghe. D'altra parte, concentrazioni eccessivamente elevate di  $CO_2$  possono anche inibire la crescita delle microalghe (Kurano e Miyachi, 2005). In questo senso, il modello BIO\_ALGAE è l'unico che implementa l'effetto inibitorio di alte concentrazioni di  $CO_2$  attraverso il parametro I<sub>CO2,ALG</sub> (Tabella 5). Tutto ciò è particolarmente rilevante in PBRs con iniezione di CO<sub>2</sub>, in cui pressioni parziali superiori a 0,6 atm possono acidificare il mezzo di coltura (Silva e Pirt, 1984).

Una differenza rilevante tra il resto dei modelli e l'ASM-A è che quest'ultimo considera la crescita eterotrofica delle microalghe per cui esse possono crescere utilizzando la CO<sub>2</sub> come fonte di carbonio e la luce come fonte di energia (crescita autotrofica), ma anche con acetato come fonte di carbonio e al buio (crescita eterotrofica) (Moya et al., 1997). La capacità di crescere su fonti di carbonio inorganiche e organiche è denominata mixotrofia e porta ad un aumento di produzione di microalghe (Kang et al., 2004; Wang et al., 2014) ma sembra improbabile che si verifichi nei sistemi di trattamento delle acque reflue, in cui popolazioni cospicue di batteri eterotrofi supererebbero con successo le microalghe per il carbonio organico.

Per quanto riguarda l'azoto, le microalghe possono crescere sia su NH<sub>4</sub> (e/o NH<sub>3</sub>) che su NO<sub>3</sub>; quando NH<sub>4</sub> (e/o NH<sub>3</sub>) e NO<sub>3</sub> sono entrambi presenti, l'NH<sub>4</sub> è generalmente preferito (Mostert e Grobbelaar, 1987; Syrett, 1981; Stewart, 1974). Pertanto, l'effetto inibitorio dell'ammonio è incluso nel processo di crescita delle microalghe sul nitrato in tutti i modelli i quali adottano gli stessi criteri per quanto riguarda l'azoto.

Il fosforo è un altro importante macronutriente per il metabolismo delle microalghe, essenziale per gli acidi nucleici (RNA e DNA), i fosfolipidi di membrana e l'ATP (Geider e La Roche, 2002). Inoltre, esso tende ad essere un nutriente limitante negli ecosistemi acquatici naturali (Correl, 1999), ma non nei sistemi di trattamento delle acque reflue, dove è ampiamente disponibile (Larsdotter, 2006). Di quelli analizzati, solo i modelli RWQM1, ASM-A e BIO\_ALGAE includono limitazioni riguardanti tale specie chimica.

#### - Processi di decadimento

I modelli Sah, ASM-A e Zambrano descrivono la respirazione endogena della biomassa e il loro decadimento utilizzando un tasso di decadimento unico. Al contrario, nei modelli RWQM1 e BIO\_ALGAE essi vengono trattati come due processi differenti: la respirazione endogena produce  $CO_2$  e trasforma la biomassa viva in materia organica inerte (X<sub>I</sub>), mentre il decadimento delle microalghe trasforma la biomassa viva in materia organica morta lentamente biodegradabile (X<sub>S</sub>) e inerte (X<sub>I</sub>) (Van Loosdrecht e Henze, 1999). Si presume che la biomassa organica (X<sub>S</sub>) lentamente biodegradabile proveniente dal processo di decadimento rappresenti l'80% della perdita totale di biomassa algale. Questi processi sono in realtà in fase di revisione perché non è chiaro se la respirazione endogena produca materia organica inerte (X<sub>I</sub>) quando questa è trattata separatamente al decadimento.

#### Valori dei parametri

Le costanti di saturazione di X<sub>ALG</sub> per i nutrienti (cioè carbonio, azoto e fosforo) e la costante di decadimento presente nei modelli BIO\_ALGAE, Sah e Zambrano sono state ottenute dal ben accettato RWQM1. L'analisi di incertezza condotta per ciascun modello ha confermato che il tasso di crescita massimo delle microalghe è il parametro che ha influito maggiormente sulla risposta delle simulazioni. Pertanto, è stato calibrato in ciascun caso, fornendo valori ( $\mu_{ALG} = 1,5 d^{-1}$  per il modello BIO\_ALGAE,  $\mu_{ALG} = 2 d^{-1}$  per il modello Sah,  $\mu_{ALG} = 1,6 d^{-1}$  per il modello Zambrano e  $k_{gro,ALG,T} = 2 d^{-1}$  per RWQM1) che si adattano bene agli intervalli della letteratura [0,4 – 1  $d^{-1}$ ] (Reichert et al., 2001).

Il modello ASM-A presenta una notevole differenza per quanto riguarda i valori dei parametri: il tasso massimo di crescita delle microalghe e la costante di saturazione dei nutrienti sono piuttosto elevati rispetto agli altri modelli, il che può essere dovuto al fatto che le microalghe sono in grado di crescere sia in condizioni eterotrofe che fotoautotrofe.

#### 3.3.2 Confronto relativo ai processi batterici

La Tabella 7 mostra le espressioni delle velocità di reazione e i rispettivi parametri relativi ai processi batterici dei cinque modelli selezionati. In questa sezione, i processi di crescita e di decadimento sono trattati separatamente.

- Processi di crescita e assorbimento

In tutti i modelli meccanicistici considerati, la principale fonte di ispirazione per la descrizione dei processi batterici è stata la serie ASM. Nel modello Zambrano è stata proposta una notevole semplificazione dei processi batterici rispetto ai restanti quattro: è stata considerata esclusivamente la crescita dei batteri nitrificanti per cui può essere applicato solo alle acque reflue a bassa resistenza (es. effluenti secondari), dove la crescita dei batteri eterotrofi può essere trascurata.

Il modello ASM-A è un'estensione dell'ASM-2d e include diverse interazioni tra microalghe e batteri, come lo scambio di ossigeno e carbonio disciolto o la competizione del carbonio organico tra batteri eterotrofi e microalghe in crescita.

Il modello Sah è il più complesso e comprende processi relativi a batteri aerobici autotrofi ed eterotrofi, fermentanti anaerobici, acetotrofi solfati riducenti e acetotrofi metanogenici. I batteri eterotrofi aerobici possono crescere anche in condizioni anossiche e sono limitati dall' ammonio (S<sub>NH</sub>), COD fermentabile solubile (S<sub>F</sub>) e prodotti di fermentazione come acetato (S<sub>A</sub>). I batteri autotrofi sono invece limitati solo dall'azoto e dall'ossigeno. La caratteristica più evidente del modello

è l'inclusione dei processi anaerobici, necessari per descrivere le reazioni che si verificano sul fondo degli stagni.

Modello	Processo	Velocità di reazione [M L-3 T-1]
RWQM1 (Reichert et al.,2001)	Crescita aerobica $X_H$ su $S_{NH_4}$	$k_{gro,H,aer}f(T)\frac{S_S}{K_{S,H,aer}+S_S}\frac{S_{O2}}{K_{O2,H,aer}+S_{O2}}\frac{S_{NH3}+S_{NH4}}{K_{N,H,aer}+S_{NH3}+S_{NH4}}\frac{S_{HPO4}+S_{H2PO4}}{K_{HPO4,H,aer}+S_{HPO4}+S_{H2PO4}}X_H$
	Crescita aerobica $X_H$ su $S_{NO_3}$	$k_{gro,H,aer}f(T)\frac{S_{S}}{K_{S,H,aer}+S_{S}}\frac{S_{02}}{K_{02,H,aer}+S_{02}}\frac{K_{N,H,aer}}{K_{N,H,aer}+S_{NH3}+S_{NH4}}\frac{S_{N03}}{K_{N,H,aer}+S_{M03}}\frac{S_{HP04}+S_{H2P04}}{K_{HP04,H,aer}+S_{HP04}+S_{H2P04}}$
	Respirazione aerobica $X_H$	$k_{resp,H}f(T)\frac{S_{O2}}{K_{O2,H,aer}+S_{O2}}X_H$
	Crescita anossica $X_H$ su $S_{NO_2}$	$k_{gro,H,anox} f(T) \frac{S_S}{K_{S,H,anox} + S_S} \frac{K_{O2,H,aer}}{K_{O2,H,aer} + S_{O2}} \frac{S_{NO2}}{K_{NO2,H,anox} + S_{NO2}} \frac{S_{HPO4} + S_{H2PO4}}{K_{HPO4,H,aer} + S_{HPO4} + S_{H2PO4}} X_H$
	Crescita anossica $X_H$ su $S_{NO_3}$	$k_{gro,H,anox} f(T) \frac{S_S}{K_{S,H,anox} + S_S} \frac{K_{02,H,aer}}{K_{02,H,aer} + S_{02}} \frac{S_{NO3}}{K_{NO3,H,anox} + S_{NO3}} \frac{S_{HPO4} + S_{H2PO4}}{K_{HPO4,H,aer} + S_{HPO4} + S_{H2PO4}} X_H$
	Respirazione anossica $X_H$	$k_{gro,H,anox} f(T) \frac{S_{O2}}{K_{O2,H,aer} + S_{O2}} \frac{S_{NO3}}{K_{NO3,H,anox} + S_{NO3}} X_{H}$
	Crescita $X_{N1}$	$k_{gro,N1}f(T) \frac{S_{O2}}{K_{O2,N1} + S_{O2}} \frac{S_{NH3} + S_{NH4}}{K_{NH4,N1} + S_{NH3} + S_{NH4}} \frac{S_{HPO4} + S_{H2PO4}}{K_{HPO4,N1} + S_{HPO4} + S_{H2PO4}} X_{N1}$
	Crescita $X_{N2}$	$k_{gro,N2}f(T)\frac{S_{O2}}{K_{O2,N2}+S_{O2}}\frac{S_{NO2}}{K_{NO2,N2}+S_{NO2}}\frac{S_{HPO4}+S_{H2PO4}}{K_{HPO4,N2}+S_{HPO4}+S_{H2PO4}}X_{N2}$
	Respirazione aerobica $X_{N1}$	$k_{gro,N1}f(T)rac{S_{O2}}{K_{O2,N1}+S_{O2}}X_{N1}$
	Respirazione aerobica $X_{N2}$	$k_{gro,N2}f(T)rac{S_{O2}}{K_{O2,N2}+S_{O2}}X_{N2}$
Sah et al. (2011)	Crescita aerobica $X_H$ su $S_A$	$\mu_H f(T) \frac{S_A}{K_{SAH} + S_A} \frac{S_A}{S_F + S_A} \frac{S_O}{K_{OH} + S_O} \frac{S_{NH}}{K_{NHH} + S_{NH}} X_H$
	Crescita aerobica $X_H$ su $S_F$	$\mu_H f(T) \frac{S_F}{K_{SFH} + S_F} \frac{S_F}{S_F} \frac{S_O}{K_{OH} + S_O} \frac{S_{NH}}{K_{NHH} + S_{NH}} X_H$
	Crescita anossica $X_H$ su $S_A$	$\mu_H \eta_H f(T) \frac{S_A}{K_{SAH} + S_A} \frac{S_A}{S_F + S_A} \frac{S_O}{K_{OH} + S_O} \frac{S_{NH}}{K_{NHH} + S_{NH}} \frac{S_{NO}}{K_{NOH} + S_{NO}} X_H$
	Crescita anossica $X_H$ su $S_F$	$\mu_H \eta_H f(T) \frac{S_F}{K_{SFH} + S_A} \frac{S_A}{S_F + S_A} \frac{S_O}{K_{OH} + S_O} \frac{S_{NH}}{K_{NHH} + S_{NH}} \frac{S_{NO}}{K_{NOH} + S_{NO}} X_H$
	Crescita $X_A$	$\mu_A f(T) \frac{S_O}{K_{OA} + S_O} \frac{S_{NH}}{K_{NHA} + S_{NH}} X_A$
	Crescita X <sub>FB</sub>	$\mu_{FB} f(T) \frac{S_F}{K_{SFB} + S_F} \frac{K_{OFB}}{K_{OFB} + S_O} \frac{K_{NOFB}}{K_{NOFB} + S_{NO}} \frac{S_{NH}}{K_{NHFB} + S_{NH}} X_{FB}$
	Crescita X <sub>AMB</sub>	$\mu_{AMB} f(T) \frac{S_A}{K_{SAMB} + S_F} \frac{K_{OAMB}}{K_{OAMB} + S_{NO}} \frac{S_{NH}}{K_{NHAMB} + S_{NH}} X_{AMB}$
	Crescita X <sub>ASRB</sub>	$\mu_{ASRB} f(T) \frac{S_A}{K_{SASRB} + S_F} \frac{S_{SO4}}{K_{SOASRB} + S_{SO4}} \frac{K_{OASRB}}{K_{OASRB} + S_O} \frac{K_{NOASRB}}{K_{NOASRB} + S_{NO}} \frac{S_{NH}}{K_{NHASRB} + S_{NH}} X_{ASRB}$
	Decadimento $X_H$	$b_H f(T) X_H$

Tabella 7. Processi relativi ai batteri coinvolti nei modelli meccanicistici integrati.

La descrizione dei processi batterici è abbastanza completa anche nei modelli RWQM1 e BIO\_ALGAE. Utilizzando la cinetica di Monod, i processi batterici sono stati modellati allo stesso modo dei processi delle microalghe seppur sono state apportate alcune semplificazioni per rendere più facile il controllo dei processi biochimici.

Anche i processi biologici anaerobici come la fermentazione e la riduzione dei solfati, importanti nel trattamento delle acque reflue, sono stati omessi a causa della natura ossidante dei processi di microalghe-batteri che si verificano negli HRAPs e nei fotobioreattori.

Modello	Processo	Velocità di reazione [M L-3 T-1]
	Decadimento $X_A$	$b_A f(T) X_A$
	Decadimento $X_{FB}$	$b_{FB} f(T) X_{FB}$
	Decadimento X <sub>AMB</sub>	$b_{AMB} f(T) X_{AMB}$
	Decadimento X <sub>ASRB</sub>	$b_{ASRB} f(T) X_{ASRB}$
Zambrano et al. (2016)	Crescita batterica	$\mu_{BAC} \frac{S_{NH4}}{K_{N,BAC} + S_{NH4}} \frac{S_{O2}}{K_{O2} + S_{O2}} X_{BAC}$
	Decadimento batterico	$b_{BAC} X_{BAC}$
ASM-A (Wagner et al., 2016)	а	
BIO_ALGAE (Solimeno et al., 2017)	Crescita aerobica $X_H$ su $S_{NH_4}$	$\mu_{H} f_{T,MB}(T) \frac{S_{S}}{K_{S,H} + S_{S}} \frac{S_{O2}}{K_{O2,H} + S_{O2}} \frac{S_{NH4} + S_{NH3}}{K_{N,H} + S_{NH4} + S_{NH3}} X_{H}$
	Crescita aerobica $X_H$ su $S_{NO_3}$	$\mu_{H} f_{T,MB}(T) \frac{S_{S}}{K_{S,H} + S_{S}} \frac{S_{O2}}{K_{O2,H} + S_{O2}} \frac{S_{NO3}}{K_{N,H} + S_{NO3}} X_{H}$
	Crescita anossica $X_H$ su $S_{NO_2}$	$\mu_{H}\eta_{H}f_{T,MB}(T)\frac{S_{S}}{K_{S,H}+S_{S}}\frac{K_{02,H}}{K_{02,H}+S_{02}}\frac{S_{N02}}{K_{N02,H,anox}+S_{N02}}X_{H}$
	Crescita anossica $X_H$ su $S_{NO_3}$	$\mu_{H} f_{T,MB}(T) \eta_{H} \frac{S_{S}}{K_{S,H} + S_{S}} \frac{K_{O2,H}}{K_{O2,H} + S_{O2}} \frac{S_{NO3}}{K_{NO3,H,anox} + S_{NO3}} X_{H}$
	Respirazione aerobica $X_H$	$k_{resp,H} f_{T,MB}(T) \frac{S_{O2}}{K_{O2,H} + S_{O2}} X_{H}$
	Respirazione anossica $X_H$	$k_{resp,H} f_{T,MB}(T) \frac{S_{O2}}{K_{O2,H} + S_{O2}} \frac{S_{NO2} + S_{NO3}}{K_{NO3,H,anox} + S_{NO2} + S_{NO3}} X_H$
	Decadimento $X_H$	$k_{death,H} f_{T,MB}(T) X_H$
	Crescita X <sub>AOB</sub>	$\mu_{AOB} f_{T,MB}(T) \frac{S_{O2}}{K_{O2,AOB} + S_{O2}} \frac{S_{NH4} + S_{NH3}}{K_{NH4,AOB} + S_{NH4} + S_{NH3}} \frac{S_{CO2} + S_{HCO3}}{K_{C,AOB} + S_{CO2} + S_{HCO3}} X_{AOB}$
	Crescita X <sub>NOB</sub>	$\mu_{NOB} f_{T,MB}(T) \frac{S_{O2}}{K_{O2,NOB} + S_{O2}} \frac{K_{LNH4}}{K_{I,NH4} + S_{NH3}} \frac{S_{NO2}}{K_{NO2,NOB} + S_{NO2}} \frac{S_{CO2} + S_{HCO3}}{K_{C,NOB} + S_{CO2} + S_{HCO3}} X_{NOB}$
	Respirazione $X_{AOB}$	$k_{resp,AOB} f_{T,MB}(T) \frac{S_{O2}}{K_{O2,AOB} + S_{O2}} X_{AOB}$
	Respirazione X <sub>NOB</sub>	$k_{resp,NOB} f_{T,MB}(T) \frac{S_{O2}}{K_{O2,NOB} + S_{O2}} X_{NOB}$
	Decadimento X <sub>AOB</sub>	$k_{death,AOB} f_{T,MB}(T) X_{AOB}$
	Decadimento X <sub>NOB</sub>	$k_{death,NOB} f_{T,MB}(T) X_{NOB}$

Tabella 7. (Continuazione)

Allo stesso modo, i modelli Sah e Zambrano non fanno riferimento ai processi relativi allo stoccaggio di materia organica solubile (S<sub>S</sub>) prontamente biodegradabile, che sono inclusi in alcuni modelli ASM.

Rispetto a RWQM1, il modello BIO\_ALGAE non considera la limitazione delle specie a base di fosforo durante la crescita di batteri eterotrofi e autotrofi, poiché questo nutriente è solitamente altamente disponibile nelle acque reflue (Larsdotter, 2006). D'altra parte, il modello BIO\_ALGAE include l'effetto limitante del carbonio nella crescita dei batteri autotrofi, fattore chiave per la competizione tra microalghe e batteri nitrificanti.

# - Processi di decadimento e respirazione

Sono stati presi in considerazione diversi approcci per implementare la perdita di biomassa batterica in ciascun modello, a seconda della serie ASM a cui ognuno di essi fa riferimento. Ad esempio, il

modello Sah, basato sull'approccio di ASM1, include in un processo globale la respirazione endogena e il decadimento: si presume che il decadimento sia identico per tutti i gruppi di batteri e trasforma la biomassa viva in materia organica morta lentamente biodegradabile ( $X_S$ ) e inerte ( $X_I$ ). Al contrario, nel modello RWQM1, che si basa su ASM3, la perdita di biomassa batterica è attuata dalla respirazione endogena che produce materia organica inerte ( $X_I$ ) mentre la formazione di materia organica lentamente biodegradabile ( $X_S$ ) è stata trascurata. Inoltre, in questo modello, la respirazione endogena e il decadimento delle microalghe sono trattati separatamente, mentre per i batteri è stato considerato un processo globale.

Il modello BIO\_ALGAE include sia il decadimento che la respirazione di batteri eterotrofi e autotrofi, ma in processi separati; essi sono formulati allo stesso modo della respirazione endogena aerobica e del decadimento delle microalghe per mantenere una certa congruenza tra i processi del modello. Il modello Zambrano non prende in considerazione la materia organica lentamente biodegradabile  $(X_s)$  e inerte  $(X_I)$ . Come risultato della decomposizione dei nitrificanti, vi è il rilascio della frazione di ammonio contenuta nella biomassa batterica la quale può essere riutilizzata come substrato sia per la crescita di microalghe che di batteri.

#### Valori dei parametri

La maggior parte dei parametri sono stati ottenuti dalla serie ASM. Come nel caso delle microalghe, il tasso di crescita massimo dei batteri eterotrofi è risultato il parametro più sensibile in tutti i modelli. I modelli RWQM1 e BIO\_ALGAE presentano un valore molto simile del tasso di crescita massimo dei batteri eterotrofi ( $k_{gro,-H,aer} = 2 d^{-1} e \mu_H = 1,5 d^{-1}$ , rispettivamente), mentre nel modello Sah, esso risulta essere molto più alto ( $\mu_H = 6 d^{-1}$ ). È importante notare che i parametri presentati nel modello Sah non sono stati calibrati con dati sperimentali.

Inoltre, il valore del tasso di crescita massimo dei batteri nitrificanti è significativamente basso rispetto al tasso di crescita massimo dei batteri aerobi eterotrofi in tutti i modelli. Questi valori sono in accordo con precedenti studi di simulazione (ad es. Samo & García, 2013; Krasnits et al., 2009), i quali hanno dimostrato che la quantità di batteri nitrificanti è molto bassa rispetto ad altri gruppi di batteri.

#### 3.3.3 Processi fisici, chimici e addizionali

I sistemi di microalghe e batteri sono notevolmente influenzati da fattori ambientali in continua variazione: temperatura, luce ed ossigeno disciolto. Come conseguenza, il pH è un parametro fortemente condizionato dalle fluttuazioni dei fattori ambientali. Complessivamente, questi fattori

influiscono notevolmente sulla crescita, sulla respirazione endogena, sul decadimento di questi sistemi e sul metabolismo, provocando talvolta gravi effetti inibitori.

#### Temperatura

La temperatura ha effetti notevoli su tutti i sistemi biologici: le microalghe e i batteri crescono in diversi intervalli di temperatura, da 15 a 25 °C per le prime e da 15 a 40 °C per i secondi (Henze et al., 2011; Bitog et al., 2011; Larsdotter, 2006). Al di sotto o al di sopra delle temperature ottimali, il tasso di accrescimento diminuisce drasticamente. Il modello BIO\_ALGAE descrive la dipendenza dalla temperatura delle microalghe con una distribuzione normale. Il fattore fotosintetico termico  $f_{T,FS}(T)$  assume valori più elevati in corrispondenza della temperatura ottimale di 25 °C e diminuisce quando questa si discosta verso limiti superiori o inferiori. Nel modello Zambrano e nell'ASM-A l'influenza della temperatura non è considerata, mentre nel modello RWQM1 e Sah essa è descritta dall'equazione di Arrhenius.

#### Intensità luminosa

L'intensità della luce incidente e la sua attenuazione all'interno della coltura influiscono sulle velocità della fotosintesi. La quantità di luce disponibile per la fotosintesi delle microalghe è funzione della posizione del sole, della quantità di radiazione fotosinteticamente attiva (PAR = 400–700 nm), della concentrazione di materia particellare nella coltura e della lunghezza del cammino ottico (Molina Grima et al., 1994). Anche un eccesso di luce può causare danni ossidativi alla clorofilla e ad altri pigmenti fotosintetici chiave per cui può inibirne il processo.

I modelli Sah e BIO\_ALGAE sono gli unici ad implementare l'attenuazione dell'intensità luminosa mediante la legge di Lambert-Beer il cui effetto è dipeso sia dalla presenza di componenti particellari all'interno dei reattori che dalla profondità del sistema. La disponibilità di luce incidente e l'efficienza di assorbimento dei fotoni da parte delle microalghe sono descritte con diverse formulazioni.

Nel modello BIO\_ALGAE, gli effetti della disponibilità della luce sono inclusi nel fattore fotosintetico  $\eta_{PS}$  e sono descritti dal modello PSF, come proposto da Eilers e Peters (1988). Per bassi valori di intensità luminosa, la fotosintesi è limitata dalla velocità di cattura dei fotoni da parte delle microalghe, mentre per alti valori le microalghe diventano "saturate di luce" in quanto la fotosintesi non è più in grado di elaborare fotoni per cui il processo è inibito.

I modelli Sah e Zambrano descrivono l'effetto della luce sulla crescita delle specie algali mediante una formulazione Monod, mentre nel modello ASM-A la produzione di microalghe è limitata da un'intensità luminosa media costante (Béchet et al., 2013). Questi ultimi tre modelli trascurano qualsiasi effetto dovuto all'inibizione della luce. Infine, l'RWQM1 tiene conto della limitazione dell'intensità luminosa e della fotoinibizione dalla relazione di Steele (Wu et al., 2013).

– pH

Nei sistemi di microalghe e batteri, il pH cambia notevolmente a seconda dei ritmi giornalieri e stagionali. Solitamente, più preoccupanti sono gli elevati valori di pH raggiunti durante le ore centrali della giornata in quanto possono influenzare negativamente la crescita di microalghe e batteri (Borowitzka e Moheimani, 2013; García et al., 2000b; Avoz e Goldman, 1982). In generale, si possono raggiungere valori fino a 10 o anche più a seconda dell'alcalinità dell'acqua (García et al., 2006). Le dinamiche del pH, che influenzano l'equilibrio chimico di specie a base di carbonio, azoto e fosforo, sono incluse sia nel modello RWQM1 che in BIO\_ALGAE. In quest'ultimo, gli effetti delle variazioni di pH sull'equilibrio di composti a base di fosforo vengono trascurati dal momento in cui il modello, tra tutte le specie, annovera solo il fosfato.

Nessuno dei cinque modelli include un fattore che esprima la limitazione alla crescita di microalghe e batteri in corrispondenza di valori di pH alti o basso. Un pH elevato può inibire i batteri aerobi e spostare l'equilibrio delle specie a base di carbonio verso i carbonati, bloccando il processo di crescita delle microalghe (Avoz e Goldman, 1982). Tuttavia, l'influenza del pH sulla velocità di fotosintesi e sulla crescita dei batteri può essere facilmente implementata mediante la legge di Arrhenius proposta nel modello di Costache et al. (2013).

#### Processi aggiuntivi

Rispetto agli altri quattro, il modello BIO\_ALGAE considera l'eccesso di ossigeno disciolto all'interno della coltura. Concentrazioni superiori al 250% del valore di saturazione in aria,  $S_{O2}^{SAT}$ , possono inibire pericolosamente l'attività delle microalghe. Questo aspetto è noto in quanto particolarmente critico nei fotobioreattori chiusi, PBRs, in cui lo scambio di ossigeno con l'atmosfera è molto limitato (Costache et al., 2013; Weissmand e Goebel, 1987). Tuttavia, esso può assumere una rilevante importanza anche negli HRAPs su vasta scala o in punti lontani dal dispositivo di miscelazione.

L'effetto dovuto alla presenza di ossigeno disciolto viene preso in considerazione mediante il fattore di fotorespirazione,  $f_{PR}(S_{O2})$ , (Solimeno et al.,2015). Questo fattore descrive la riduzione della velocità di fotosintesi ad alte concentrazioni di ossigeno. Ad esempio, per una concentrazione circa pari a 250%  $S_{O2}^{SAT}$  (22,67  $gO_2 m^{-3}$  a 20 ° C), la velocità di fotosintesi è ridotta del 10%; al di sopra di questo valore essa diminuisce più rapidamente ed è uguale a zero quando la concentrazione raggiunge il limite di saturazione del 350% (32  $gO_2 m^{-3}$  a 20 ° C). Nel modello BIO\_ALGAE, le velocità di trasferimento di O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> e NH<sub>3</sub> dipendono dalle diverse concentrazioni dei gas tra il mezzo di coltura e l'atmosfera, dalla temperatura e dall'estensione dell'interfaccia superficiale. Senza queste velocità di trasferimento, è quasi impossibile ottenere dei risultati accurati per quanto concerne l'azoto in quanto, per valori di pH elevati, la maggior parte dell'NH<sub>4</sub> viene convertito in NH<sub>3</sub> la quale può volatilizzare (García et al., 2000b).

Il modello di Zambrano include il trasferimento di ossigeno nell'atmosfera, mentre trascura quelli relativi a CO<sub>2</sub> e NH<sub>3</sub>. Nel modello Sah, l'equazione che descrive il processo di areazione dipende dalla differenza tra la concentrazione di ossigeno disciolto nel mezzo di coltura e quella di saturazione, la profondità e il coefficiente di trasferimento interfacciale (Moreno Grau et al., 1996). Diversamente, i modelli RWQM1 e ASM-A non considerano alcuno scambio tra coltura e ambiente esterno.

Processi aggiuntivi, come l'assorbimento e il desorbimento del fosfato sulla materia particellare, sono inclusi solo nel RWQM1. Per quanto riguarda il processo di idrolisi, che descrive quanto velocemente il substrato biodegradabile viene trasformato in un substrato facilmente biodegradabile, RWQM1 presenta un'equazione molto più semplice rispetto a quelle implementate nei modelli Sah e BIO\_ALGAE.

# 4. Risultati

# 4.1 Impostazione delle simulazioni

La risoluzione delle equazioni differenziali che modellano il sistema reattoristico in esame ha permesso di investigare gli aspetti fluidodinamici, lo stato stazionario, gli effetti dei vari parametri sulle grandezze di interesse, la dinamica del sistema e, infine, di effettuare un confronto con i dati sperimentali. La Tabella 8 contiene una lista dei parametri, con rispettivo valore ed unità di misura, che sono stati mantenuti invariati in tutte le simulazioni. Il valore dei parametri è stato ricavato dall'articolo di Solimeno et al., (2015).

Grandezza	Simbolo	Valore	Unità di misura							
Parametri relativi	Parametri relativi ai processi delle microalghe									
Massima velocità di crescita delle microalghe	$\mu_{ALG}$	1,6	<b>d</b> <sup>-1</sup>							
Costante di respirazione endogena	$k_{resp,ALG}$	0.1	<b>d</b> -1							
Costante di inattivazione per le microalghe	$k_{death,ALG}$	0.1	<b>d</b> <sup>-1</sup>							
Costante di affinità per le specie a base di C	$K_{C,ALG}$	0.00432	gC m <sup>-3</sup>							
Costante di inibizione relativa alla CO2	$I_{CO2,ALG}$	120	gC m <sup>-3</sup>							
Costante di affinità per le specie a base di N	$K_{N,ALG}$	0.1	gN m <sup>-3</sup>							
Costante di affinità per l'ossigeno disciolto O2	$K_{O2,ALG}$	0.2	$gO_2 m^{-3}$							
Fattori relativi al	processo di fotores	pirazione								
Costante di inibizione della fotorespirazione	K <sub>PR</sub>	0.01	_							
Coefficiente di eccesso di O2 disciolto	τ	4	_							
Concentrazione di saturazione dell' O2 in aria	$S_{O2}^{SAT}$	7.1904	$gO_2 m^{-3}$							
Parametri relativi	al fattore termico fo	tosintetico								
Temperatura ottimale per la crescita di microalghe	$T_{OPT}$	25	°C							
Parametro di normalizzazione	S	13	_							
Parametri	relativi al modello F	PSF								
Parametro di attivazione	α	0.001935	(µE m <sup>-2</sup> ) <sup>-1</sup>							
Parametro di inibizione	β	$5.7848E^{-7}$	(µE m <sup>-2</sup> ) <sup>-1</sup>							
Parametro di produzione	γ	0.1460	<b>s</b> <sup>-1</sup>							
Parametro di recupero	δ	0.0004796	$S^{-1}$							

Tabella 8. Valori dei parametri fisici e biocinetici coinvolti nel modello.

La Tabella 9 mostra le espressioni in funzione della temperatura che descrivono il valore delle costanti di equilibrio dei processi annoverati dal modello relativi alle specie a base di carbonio, azoto, ioni idrogeno e ossidrili. Tali grandezze sono state calcolate in corrispondenza della temperatura ottimale,

 $T_{OPT}$ , e assumono valori estremamente elevati in quanto gli equilibri chimici sono stati trattati con un approccio cinetico, ovvero come reazioni reversibili.

Grandezza	Costante di equilibrio	Costante cinetica
Equilibrio $CO_2 \leftrightarrow HCO_3^-$	$K_{eq,1} = 10^{17.843 - \frac{3404.71}{273.15 + T} - 0.032786(273.15 + T)}$	$k_1 = 10000  \mathrm{d}^{-1}$
Equilibrio $HCO_3 \leftrightarrow CO_3^{2-}$	$K_{eq,2} = 10^{9.494 - \frac{2902.39}{273.15 + T} - 0.02379(273.15 + T)}$	$k_2 = 1000 \text{ d}^{-1}$
Equilibrio $NH_4^+ \leftrightarrow NH_3$	$K_{eq,3} = 10^{2.891 - \frac{2727}{(273.15 + T)}}$	$k_3 = 1000 \text{ d}^{-1}$
Equilibrio $H^+ \leftrightarrow OH^-$	$K_{eq,w} = 10^{\frac{-4470.99}{273.15+T} + 12.0875 - 0.01706(273.15+T)}$	$k_4 = 1000 \text{ g m}^{-1} \text{ d}^{-1}$

Tabella 9. Espressioni e valori delle costanti relative agli equilibri chimici.

# 4.1.1 Aspetti fluidodinamici

Una prima valutazione riguardante gli aspetti fluidodinamici è stata effettuata in funzione del numero di CSTRs,  $n_{CSTR}$ , utilizzati per la modellizzazione del tank. In particolare, in entrambi i casi, il valore del tempo di permanenza all'interno della zona notte risulta essere il medesimo in maniera tale che il confronto abbia senso compiuto, il che sta ad indicare che il volume complessivo del tank, nonché la portata volumetrica in ingresso, rimangono invariati e, nel caso in esame, pari a 0,026 m<sup>3</sup> e 20,16 m<sup>3</sup>/d, rispettivamente. In prima battuta, la simulazione è stata effettuata considerando un numero di CSTRs pari a 3 in serie, ciascuno di egual volume e pari a 0,00867 m<sup>3</sup>, mentre nel secondo caso il numero di CSTRs è pari a 4 in serie, ciascuno con volume di 0,0065 m<sup>3</sup>. I valori dei principali parametri in input al programma, mantenuti invariati sia per la prima che per la seconda simulazione, sono riportati nella Tabella 10. L'intensità luminosa risulta essere pari a 300  $\mu E (m^2 s)^{-1}$ .

	Parametri di input										
	Concentrazioni iniziali tank										
$S_{NH_4}$	$S_{NH_3}$	$S_{NO_3}$	$S_{O_2}$	$S_{CO_2}$	$S_{HCO_3}$	$S_{CO_3}$	pH	pOH	X <sub>ALG</sub>		
0,0	0,0	313	6,354	1,866	63,82	0,31	8,06	5,94	155,2		
$g(N)m^{-3}$	$g(N) m^{-3}$	$g(N) m^{-3}$	$g(0_2)  m^{-3}$	$g(C) m^{-3}$	$g(C) m^{-3}$	$g(C) m^{-3}$	-	-	$g(COD) m^{-3}$		
	L	Α	PFR	:	D	A <sub>TAN</sub>	К		$\dot{V}_{sample}$		
	80	0,0	0004	0	),1	0,04			0,0		
	m	n	n <sup>2</sup>	m <sup>2</sup>	$d^{-1}$	$m^2$		$m^{3}d^{-1}$			

 Tabella 10. Valori delle principali grandezze in input al programma per la valutazione degli aspetti fluidodinamici del sistema.

Si assume che tutte le specie chimiche siano presenti al tempo t = 0 nel sistema con una determinata concentrazione iniziale, fatta ad eccezione per la CO<sub>2</sub>, la quale viene alimentata al processo con un valore di portata crescente nel tempo secondo una rampa di equazione:

$$\dot{m}_{CO_2} = a + bt \qquad (4.2)$$

dove  $a = 4 nL/day e b = 6.4 nL/day^2$ .

Al fine di analizzare gli aspetti fluidodinamici del sistema, vengono riportati in Figura 6 gli andamenti temporali della concentrazione di alghe e del pH all'interno del tank.



**Figura 6**. a) Confronto tra gli andamenti temporali della concentrazione di microalghe all'interno del tank nei casi  $n_{CSTR} = 3 \text{ e } n_{CSTR} = 4$ , b) Confronto tra gli andamenti temporali del pH all'interno del tank nei casi  $n_{CSTR} = 3 \text{ e } n_{CSTR} = 3 \text{ e } n_{CSTR} = 4$ .

Dagli andamenti riportati si nota come, in entrambi i casi, le due curve risultano essere sovrapposte per cui i risultati ottenuti sono del tutto matematicamente analoghi. Questo ci permette di capire che il numero di CSTRs utilizzati per simulare la zona notte non gioca un ruolo fondamentale per la modellizzazione, per cui è sufficiente utilizzarne esclusivamente tre, di cui il primo rappresenta la zona di ingresso e l'ultimo quella di uscita.

Successivamente, è stato effettuato un ulteriore confronto, prendendo in considerazione le stesse grandezze, pH e  $X_{alg}$ , al variare del numero di nodi utilizzati per la discretizzazione del PFR, rispettivamente 10 e 50. Le condizioni operative scelte fanno riferimento alla Tabella 10.

Dagli andamenti riportati in Figura 7 è possibile notare che l'utilizzo di 10 nodi per la modellizzazione del PFR non consente di ottenere dei risultati dettagliatamente accurati, nonostante permettesse di ridurre il costo computazionale delle simulazioni. Per questa ragione, in tutte le simulazioni successive è stato scelto un numero di nodi pari a 50.



**Figura 7**. a) Confronto tra gli andamenti temporali della concentrazione di microalghe all'interno del tank nei casi  $n_{nodi} = 10 \text{ e } n_{nodi} = 50$ , b) Confronto tra gli andamenti temporali del pH all'interno del tank nei casi casi  $n_{nodi} = 10 \text{ e } n_{nodi} = 50$ .

#### 4.1.2 Stato stazionario

Lo studio dello stato stazionario per il sistema in esame risulta essere fondamentale in quanto ci permette di effettuare un controllo sull'intero processo. Tale obbiettivo è stato raggiunto ricavando i giusti valori relativi alla portata campionata  $\dot{V}_{sample}$  e alle portate di nutrienti alimentati al sistema, anidride carbonica,  $\dot{m}_{CO_2}$ , e nitrato,  $\dot{m}_{NO_3}$ . In particolare, si è optato di voler far lavorare il sistema in condizioni analoghe a quelle del terzo giorno, riportate in Figura 8, le cui condizioni iniziali ed operative sono analoghe alle precedenti riportate in Tabella 10, fatta eccezione per il valore di illuminazione pari a 150  $\mu E (m^2 s)^{-1}$ .



Figura 78 a) Andamento temporale della concentrazione di microalghe all'interno del tank, b) Andamento temporale del pH all'interno del tank.

In corrispondenza del terzo giorno, la concentrazione media di alghe sarà  $\bar{X}_{alg} \approx 530 \ g(COD)/m^3$ , il cui valore può essere preso come valore iniziale. La velocità media di generazione delle microalghe è data da  $\dot{X}_{alg} = \frac{X_{alg}(t_{3,5}) - X_{alg}(t_{2,5})}{t_{3,5} - t_{2,5}}$ . Per raggiungere lo stato stazionario, la portata di campionamento estratta nel sistema continuo deve essere pari alla quantità generata nel sistema discontinuo equivalente, per cui:

$$\dot{V}_{sample} \Delta t \, \bar{X}_{alg} = V_{TANK} \left( X_{alg} \left( t_{3,5} \right) - X_{alg} \left( t_{2,5} \right) \right) \tag{4.3}$$

da cui è possibile ricavare il valore della portata estratta, unica incognita dell'Eq. (4.3).





**Figura 9**. Andamento temporale fino al raggiungimento dello stato stazionario della concentrazione di microalghe, pH, anidride carbonica, ossigeno, nitrato, ammonio, carbonato e bicarbonato all'interno del tank, rispettivamente a), b), c), d), e), f), g), h).

Per quanto riguarda le portate di nutrienti da inviare al sistema, si procede nello stesso modo. Facendo riferimento al nitrato, indichiamo con  $\bar{S}_{NO_3^-} \approx 288 \ g(N)/m^3$  la concentrazione media in corrispondenza del terzo giorno, il cui valore può essere impostato come iniziale. La portata di nitrato da inviare deve essere tale da compensare il consumo da parte delle microalghe, per cui:

$$\dot{m}_{NO_{3}^{-}} = V_{TANK} \frac{S_{NO_{3}^{-}}(t_{3,5}) - S_{NO_{3}^{-}}(t_{2,5})}{t_{3,5} - t_{2,5}}$$
(4.4)

Reiterando il tutto per la portata di anidride carbonica da inviare al sistema, i valori che ci permettono di raggiungere lo stato stazionario risultano essere i seguenti:

$$\dot{V}_{sample} = 0,01152 \frac{m^3}{d}, \dot{m}_{NO_3^-} = 0,2609 \frac{g(N)}{d}, \dot{m}_{CO_2} = 0,0447 \frac{g(C)}{d}$$
 (4.5)

In Figura 9 vengono riportati gli andamenti delle specie chimiche presenti nel sistema fino al raggiungimento dello stazionario. Si nota che, in linea di massima, il tempo impiegato dalle grandezze per giungere un asintoto risulta essere di circa trenta giorni.

Da un punto di vista generale, si osserva, inoltre, come in corrispondenza del picco relativo alla concentrazione di microalghe, ci sia un punto di minimo per le concentrazioni di nutrienti, nitrato ed anidride carbonica e un punto di massimo per la concentrazione di ossigeno, il quale viene rilasciato dal processo di fotosintesi. Al diminuire di  $X_{alg}$ , si ha una diminuzione della concentrazione di ioni idrossidi e quindi di pH, per cui l'equilibrio viene spostato dai carbonati verso composti carboniosi. Le condizioni operative e iniziali che fanno riferimento ai suddetti andamenti temporali sono riportate in Tabella 11.

	Parametri di input										
	Concentrazioni iniziali tank										
$S_{NH_4}$	$S_{NH_3}$	$S_{NO_3}$	<i>S</i> <sub>02</sub>	S <sub>CO2</sub>	S <sub>HCO3</sub>	$S_{CO_3}$	pH	рОН	$X_{ALG}$		
0,0	0,0	100	6,4	8,15	63,82	0,31	8,06	5,94	346,5		
$g(N) m^{-3}$	$g(N) m^{-3}$	$g(N) m^{-3}$	$g(0_2)  m^{-3}$	$g(C) m^{-3}$	$g(\mathcal{C})  m^{-3}$	$g(C) m^{-3}$	-	-	$g(COD) m^{-3}$		
L	$\mathcal{D}$	$A_{PFR}$	A <sub>TANK</sub>	n <sub>CSTRs</sub>	$K_{a,NH_3}$	K <sub>a,O2</sub>	K <sub>a,CO2</sub>	$\dot{V}_{sample}$	V <sub>CSTR</sub>		
40	0,1	0,0004	0,04	2	200	50	100	0,01152	0,013		
m	$m^2/d$	$m^2$	$m^2$	-	m/d	m/d	m/d	$m^3/d$	$m^3$		

Tabella 11. Valori delle principali grandezze in input al programma per la valutazione dello stato stazionario.

In seguito allo studio del sistema stazionario, sono state effettuate diverse simulazioni al variare di singole grandezze in maniera tale da valutarne il loro effetto.

#### Intensità luminosa

Lo studio legato all'effetto dell'intensità luminosa sulla crescita e produzione delle microalghe è stato effettuato facendo riferimento alle condizioni riportate in Tabella 11.



Figura 10. a) Curve parametriche al variare dell'illuminazione che descrivono l'andamento temporale della concentrazione di biomassa, b) Concentrazioni di biomassa valutate in corrispondenza del centesimo giorno in funzione dei diversi valori di intensità luminosa.

Dagli andamenti riportati in Figura 10 si osserva come all'aumentare del valore dell'intensità luminosa non corrisponde un progressivo aumento della concentrazione di biomassa. In particolare, la massima concentrazione di microalghe, in valore pari a circa 350 g(COD)/m<sup>3</sup>, si raggiunge in corrispondenza di un valore di illuminazione intermedio e, nel nostro caso, pari a 250  $\mu E (m^2 s)^{-1}$ : al di sotto, si verifica il fenomeno della fotolimitazione, per cui l'intensità luminosa non risulta essere abbastanza elevata affinché le alghe possano assorbire fotoni e accrescersi, al di sopra invece, si ha il fenomeno della fotolimitazione per cui le microalghe, saturate, non riescono ad assorbire più fotoni a tal punto che la luce svolge un ruolo limitante per la crescita.

# Effetto relativo ai nutrienti

L'effetto delle portate di nutrienti inviate al sistema è stato valutato facendo riferimento alle concentrazioni iniziali riportate in Tabella 12 in quanto tali valori permettono di raggiungere lo stato stazionario più velocemente e di diminuire, quindi, il costo computazionale delle simulazioni.

	Parametri di input									
Concentrazioni iniziali tank										
$S_{NH_4}$	$S_{NH_3}$	$S_{NO_3}$	$S_{O_2}$	$S_{CO_2}$	$S_{HCO_3}$	$S_{CO_3}$	pH	рОН	$X_{ALG}$	
0,0547	0,00015	0,8454	10,98	6,45	18,74	0,00547	6,83	7,17	333,3	
$g(N) m^{-3}$	$g(N) m^{-3}$	$g(N) m^{-3}$	$g(0_2)  m^{-3}$	$g(\mathcal{C})m^{-3}$	$g(C) m^{-3}$	$g(C) m^{-3}$	-	_	$g(COD)  m^{-3}$	

Tabella 12. Valori delle concentrazioni iniziali in input al programma.

Per quanto riguarda il nitrato, indicando con *a* la portata inviata per il raggiungimento dello stazionario, Eq. (4.5), a = 0,2609 g(N)/d, sono state effettuate simulazioni in funzione di diversi valori riportati in Tabella 13.

Portate di NO <sub>3</sub> - inviate al sistema								
1/4a	1/2a	а	2a	4a				
0,0652	0,13	0,2609	0,522	1,044				
g(N)/d	g(N)/d	g(N)/d	g(N)/d	g(N)/d				

Tabella 13. Valori delle portate di nitrato inviate al sistema.

Dai grafici riportati in Figura 11 si osserva, come ci si aspettava, che all'aumentare della portata di nutriente corrisponde un progressivo incremento della concentrazione di biomassa, nonché una diminuzione della concentrazione di anidride carbonica, consumata dalle microalghe stesse.



Figura 11. Curve parametriche al variare della portata di nitrato alimentata che descrivono l'andamento temporale della concentrazione di biomassa, del nitrato, dell'anidride carbonica e dell'ossigeno, a), b), c) e d).

Inoltre, è interessante notare come, inizialmente, in corrispondenza di portate di nitrato elevate, condizioni 2a e 4a, si ha un accumulo di NO<sub>3</sub><sup>-</sup> all'interno del tank, in quanto, nei primi giorni, le microalghe non sono presenti in concentrazioni così elevate da riuscire smaltire l'intera quantità di nutriente alimentato. Tuttavia, per valori di portata più elevati di quelli riportati in Tab.13, un aumento di nutriente non ha più alcun effetto sulla produzione di microalghe, in quanto la velocità di crescita presenta una dipendenza dalla concentrazione di substrato che segue la formulazione Monod, per cui  $\mu \rightarrow \mu_{max}$ . Questo aspetto può essere osservato mediante i grafici riportati in Figura 12. Nel caso specifico, si osserva che l'aumento della portata di nitrato inizia ad essere influente a partire dal valore di circa 2 g(N)/d.



Figura 12. Curve parametriche al variare della portata di nitrato alimentata che descrivono l'andamento temporale della concentrazione di biomassa e del pH, rispettivamente a) e b).

Relativamente all'anidride carbonica, indicando con *b* la portata inviata per il raggiungimento dello stazionario, Eq. (4.5), b = 0,0447 g(C)/d, sono state effettuate simulazioni in funzione dei valori riportati in tabella 14.

	Portate di CO <sub>2</sub> inviate al sistema								
1/-	4b	1/2b	b	2b	4b				
0,0	112 0	,0224 0	0,0447 0	),0894	0,179				
g(C	C)/d g	(C)/d g	g(C)/d g	g(C)/d	g(C)/d				

Tabella 14. Valori delle portate di anidride carbonica inviate al sistema.



Figura 12. Curve parametriche al variare della portata di anidride carbonica alimentata che descrivono l'andamento temporale della concentrazione di biomassa, del pH. del nutriente stesso e dell'ossigeno, rispettivamente a) e b).

I grafici presenti in Figura 12 mostrano che un aumento di anidride carbonica alimentata all'interno del sistema non apporta alcun vantaggio alla crescita e alla produzione di biomassa in quanto le curve parametriche collassano tutte in corrispondenza di uno stesso asintoto pari a circa 327,5 g(COD)/m<sup>3</sup>. Questo avviene in quanto la CO<sub>2</sub> svolge un ruolo limitante all'interno dei sistemi per la coltura di microalghe.

Tuttavia, un aumento della portata alimentata di anidride carbonica risulta essere vantaggiosa per l'aumento di biomassa nel momento in cui si maggiora anche il nitrato inviato, come mostrato in figura 13, in cui le condizioni 2s e 4s fanno riferimento ai valori di portate di nutrienti alimentate presenti in Tabella 15. Tutto ciò si manifesta in quanto le microalghe devono crescere e aumentare la

loro concentrazione al fine di poter assorbire un quantitativo maggiore di anidride carbonica attraverso il fenomeno della fotosintesi.

Portate di nutrienti inviate al sistema								
	2 <i>s</i>	4 <i>s</i>						
$\dot{m}_{NO_3^-}$	2a=0,522	4a=1,044	g(N)/d					
$\dot{m}_{CO_2}$	2b=0,0894	4b=0,179	g(C)/d					

Tabella 15. Valori delle portate di nutrienti inviate al sistema.



**Figura 13.** Andamento temporale della concentrazione di biomassa, del pH, dell'ossigeno e dell'anidride carbonica nelle condizioni 2s e 4s, rispettivamente a), b), c) e d).

La Figura 13 mostra come un raddoppio delle portate di nutrienti, sia a base di azoto che di carbonio, alimentate al sistema si rispecchia in un simile aumento della concentrazione di biomassa, discorso analogo per il caso in cui le portate in questione vengono quadruplicate, tale da raggiungere circa 620

 $g(COD)/m^3$  e 1390  $g(COD)/m^3$ , rispettivamente. Come conseguenza, all'aumentare di  $X_{alg}$  si verifica una diminuzione della concentrazione di CO<sub>2</sub> e un aumento di quella relativa all'O<sub>2</sub>, rispettivamente da esse consumata e prodotto.

In generale, però, aumenti significativi della portata di anidride carbonica insufflata nel sistema, causano un effetto inibente sulla produzione di biomassa, come si osserva in Figura 14, in cui le condizioni operative e il nitrato alimentato fanno riferimento alla Tabella 12 e alla condizione a, rispettivamente. Dalla sensitivity effettuata si osserva che tale effetto inibente si verifica a partire da una portata di circa  $30 \text{ g}(\text{CO}_2)/\text{d}$ .



Figura 14. Andamento temporale della concentrazione di biomassa al variare della portata di anidride carbonica inviata,  $g(CO_2)/m^3$ .



**Figura 15**. a) Curve parametriche al variare della portata di anidride carbonica,  $g(CO_2)/m^3$ , che descrivono l'andamento temporale della concentrazione di biomassa con  $K_{a,CO_2} = 0$  b) Concentrazioni di biomassa valutate in corrispondenza del centesimo giorno in funzione dei diversi valori di portata di anidride carbonica alimentata.

Tuttavia, tale valore non risulta essere propriamente corretto in quanto bisogna prendere in considerazione il fatto che parte dell'anidride carbonica degasa verso l'atmosfera. Di conseguenza, per ricavare il valore netto di portata di anidride carbonica a partire dal quale si verifica l'effetto inibente, è stata effettuata un'analisi di sensitività ponendo il valore del coefficiente di scambio relativo alla CO<sub>2</sub> pari a 0,  $K_{a,CO_2} = 0$ , i cui risultati sono riportati in Figura 15.

Si nota, pertanto, che la portata netta di anidride carbonica in corrispondenza della quale si verifica un drastico crollo della concentrazione di microalghe è circa pari a 2  $g(CO_2)/m^3$ .

Infine, un'ultima analisi sull'effetto dei nutrienti è stata effettuata alimentando al sistema una portata di azoto complessiva pari al valore dello stazionario di  $0,2609 \text{ g(N)/m^3}$ , ma cambiando i rapporti relativi tra nitrato ed ammonio. Questo studio ha permesso di valutare quale dei due nutrienti risulta essere favorito dalle microalghe e in corrispondenza di quali proporzioni si ottiene la massima crescita.

Le condizioni che descrivono le proporzioni relative tra ammonio e nitrato e, quindi le loro rispettive portate, sono riassunte in Tabella 16.

	Portate di nutrienti a base di azoto inviate al sistema									
Condizioni	с	d	e	f	g	h				
$\dot{m}_{NO_3^-}$	0,2609	0	0,1305	0,196	0,0652	0,0326	g(N)/d			
$\dot{m}_{NH_4^+}$	0	0,2609	0,1305	0,0652	0,196	0,228	g(N)/d			
			Rapport	i relativi						
NO <sub>3</sub>	1	0	1/2	3/4	1/4	1/8	-			
$NH_4^+$	0	1	1/2	1/4	3/4	7/8	-			

Tabella 16. Valori delle portate di nutrienti a base di azoto inviate al sistema.

Dagli andamenti riportati in Figura 16 si osserva che il caso più sfavorevole risulta essere quello relativo alla condizione *d* in cui viene alimentato esclusivamente ammonio come fonte di azoto per le microalghe. Viceversa, da un punto di vista della concentrazione di biomassa prodotta, si nota come le condizioni ottimali siano quelle in corrispondenza delle quali vengono alimentati entrambi i nutrienti. Questo ci fa capire che, nel caso in cui sia l'ammonio che il nitrato sono presenti, il primo è favorito dalle microalghe rispetto al secondo.

Tuttavia, osservando anche gli andamenti del pH e tenendo conto del fatto che il suo valore ottimale nei sistemi legati alla coltivazione di microalghe risulti essere circa 8, appare conveniente lavorare nella condizione f, in cui si mantiene circa pari a 7 e non nei casi d, e, g, h in cui vengono raggiunti valori molto bassi.



Figura 16. Curve parametriche al variare della portata di azoto alimentata che descrivono l'andamento temporale della concentrazione di biomassa, del pH, del nitrato e dell'ammonio, rispettivamente a), b), c) e d).

#### 4.1.3 Dinamica del sistema

Successivamente è stato effettuato uno studio sulla dinamica del sistema in esame. Prima di tutto, sono stati ricavati i valori di concentrazioni iniziali per cui il sistema si trova allo stato stazionario, descritto nel paragrafo precedente, a partire dall'istante di tempo t = 0, senza che questo venga raggiunto successivamente. Dopodiché, il sistema è stato perturbato mediante una sollecitazione a gradino di ampiezza *A* per poi analizzarne la risposta e il tempo caratteristico impiegato per riportarsi nuovamente allo stato stazionario.

In prima battuta, come variabile manipolata è stata scelta la portata di nitrato inviata al sistema: in un intervallo di tempo [0-10 giorni] tale valore è stato mantenuto costante e pari 0,2609 g(N)/m<sup>3</sup>, mentre nell'intervallo di tempo rimanente, tale portata è stata aumentata del 20%, ovvero pari a 0,313 g(N)/m<sup>3</sup>, come rappresentato qualitativamente in Figura 17. I valori di concentrazioni iniziali per cui il sistema si trova allo stato stazionario a partire dall'istante di tempo t = 0 sono riportati in Tab. 17.

Parametri di input										
Concentrazioni iniziali tank										
$S_{NH_4}$	$S_{NH_3}$	$S_{NO_3}$	<i>S</i> <sub>02</sub>	$S_{CO_2}$	$S_{HCO_3}$	$S_{CO_3}$	pH	pOH	$X_{ALG}$	
0,0555	0,00015	1,17	11,71	6,458	18,45	0,0053	6,83	7,17	328	
$g(N) m^{-3}$	$g(N) m^{-3}$	$g(N) m^{-3}$	$g(0_2)  m^{-3}$	$g(C)  m^{-3}$	$g(C) m^{-3}$	$g(C) m^{-3}$	-	-	$g(COD) m^{-3}$	

**Tabella 17.** Valori delle concentrazioni iniziali in input al programma che consentono al sistema di operare nello stato stazionario a partire dall'istante di tempo t = 0.

Nella Figura 18 vengono riportati gli andamenti di alcune delle specie chimiche presenti nel sistema che ci permettono di individuare, in base alla risposta ottenuta, la tipologia del sistema in esame (sistema del primo ordine, sistema del primo ordine con ritardo, sistema del secondo ordine, etc).

L'andamento della concentrazione di biomassa nel tempo, grandezza identificata come variabile risposta, ci suggerisce che il sistema risulta essere del primo ordine senza ritardo, in quanto si inizia a verificare un aumento della grandezza in questione proprio in corrispondenza del decimo giorno.



Figura 17. Rappresentazione qualitativa della sollecitazione a gradino di ampiezza A, relativa alla portata massica di nitrato inviato, con cui viene perturbato il sistema.



**Figura 18.** Andamento temporale della concentrazione di biomassa, dell'ammonio e del nitrato, dell'anidride carbonica, dell'ossigeno, del carbonato e del bicarbonato, rispettivamente a), b), c), d), e), f) in seguito ad una variazione a gradino della portata di nitrato alimentato al sistema.

Dato che il sistema in esame risulta essere del primo ordine, l'andamento della variabile risposta,  $X_{ala}$ , può essere descritto mediante la seguente equazione:

$$X_{alg}(t) = X_{alg}^{\infty} \left( 1 - e^{-\frac{t-\alpha}{\tau}} \right)$$
(4.6)

dove  $X_{alg}(t)$  è la concentrazione di biomassa nel tank in corrispondenza del generico istante temporale t,  $X_{alg}^{\infty}$  è il valore finale di concentrazione delle microalghe, ovvero quello raggiunto allo stazionario, nella fattispecie pari a 397,9 g(COD)/m<sup>3</sup>,  $\tau$  è il tempo caratteristico che consente al sistema di raggiungere il nuovo stato stazionario e  $\alpha$  è un parametro che tiene conto del fatto che la perturbazione al sistema viene effettuata in corrispondenza di t = 10 giorni e non all'istante t = 0. È possibile linearizzare l'Eq. (4.5) applicando il logaritmo ad entrambi i membri, come segue:

$$ln\left(\frac{X_{alg}^{\infty} - X_{alg}(t)}{X_{alg}^{\infty}}\right) = \frac{\alpha}{\tau} - \frac{1}{\tau}t \qquad (4.7)$$

In questo modo, il grafico del logaritmo in funzione del tempo, rappresentato in Figura 19, assume un andamento lineare per cui è possibile effettuare una regressione come segue:



**Figura 19.** Rappresentazione grafica dell'equazione 4.7 che fa riferimento alla linearizzazione della risposta del sistema dovuta al disturbo a gradino; in rosso è riportato l'andamento della retta, con annessa equazione, che riproduce la curva linearizzata in questione.

La regressione lineare effettuata che riproduce i dati descritti dall'Eq. (4.7) restituisce una retta di equazione:

$$y = -0,1499x + 1,9417 \tag{4.8}$$

Confrontando l'Eq. (4.7) con la (4.8) si intuisce che il tempo necessario al raggiungimento dello stazionario,  $\tau$ , è pari all'antireciproco della pendenza della retta descritta dall'Eq. (4.7), da cui si ottiene  $\tau = 6,67 \approx 7$  giorni.

In seconda battuta, il sistema è stato perturbato scegliendo come variabile manipolata la portata di azoto inviata al sistema: in un intervallo di tempo [0-10 giorni] la portata di azoto, mantenuta costante pari al valore di a  $0,2609 \text{ g(N)/m}^3$ , è stata fornita al sistema mediante due aliquote, nitrato ed ammonio secondo rapporti relativi pari a 1/8 e 7/8, rispettivamente, mentre nell'intervallo di tempo rimanente, [10-200 giorni], tale portata è stata aumentata del 20%, ovvero pari a  $0,313 \text{ g(N)/m}^3$ , mantenendo invariati i rapporti relativi tra le due specie.

I valori di concentrazioni iniziali per cui il sistema si trova allo stato stazionario a partire dall'istante di tempo t = 0 sono riportati in Tab. 18.

Parametri di input										
Concentrazioni iniziali tank										
$S_{NH_4}$	$S_{NH_3}$	$S_{NO_3}$	$S_{O_2}$	$S_{CO_2}$	$S_{HCO_3}$	$S_{CO_3}$	pH	рОН	$X_{ALG}$	
0,548	0,00001	0,496	11,05	6,53	0,08	0,0	6,83	7,17	329,5	
$g(N) m^{-3}$	$g(N) m^{-3}$	$g(N) m^{-3}$	$g(0_2)  m^{-3}$	$g(C) m^{-3}$	$g(C) m^{-3}$	$g(C) m^{-3}$	_	_	$g(COD) m^{-3}$	

**Tabella 18.** Valori delle concentrazioni iniziali in input al programma che consentono al sistema di operare nello stato stazionario a partire dall'istante di tempo t = 0.

Nella Figura 20 vengono riportati gli andamenti di alcune delle specie chimiche presenti nel sistema che ci permettono di individuare, in base alla risposta ottenuta, la tipologia del sistema in esame.

Anche in questo caso, l'evoluzione temporale della concentrazione di biomassa, grandezza identificata come variabile risposta, ci suggerisce che il sistema risulta essere del primo ordine senza ritardo, in quanto si inizia a verificare un aumento della grandezza in questione proprio in corrispondenza del decimo giorno.

Reiterando la procedura illustrata precedentemente e riportando l'andamento lineare del logaritmo in funzione del tempo, Eq. (4.7), è possibile effettuare una regressione come illustrato in Figura 21.

La regressione lineare effettuata che riproduce i dati descritti dall'Eq. (4.7) restituisce una retta di equazione:

$$y = -0.022x + 0.0615 \tag{4.9}$$



**Figura 20.** Andamento temporale della concentrazione di biomassa, dell'ammonio e del nitrato, dell'anidride carbonica, dell'ossigeno, del carbonato e del bicarbonato, rispettivamente a), b), c), d), e), f) in seguito ad una variazione a gradino della portata di nitrato alimentato al sistema.



**Figura 21.** Rappresentazione grafica dell'equazione 4.7 che fa riferimento alla linearizzazione della risposta del sistema dovuta al disturbo a gradino; in rosso è riportato l'andamento della retta, con annessa equazione, che riproduce la curva linearizzata in questione.

Confrontando l'Eq. (4.7) con la (4.9) si intuisce che il tempo necessario al raggiungimento dello stazionario,  $\tau$ , è pari all'antireciproco della pendenza della retta descritta dall'Eq. (4.7), da cui si ottiene  $\tau = 45,45 \approx 46$  giorni.

È possibile notare come in quest'ultimo caso il sistema impieghi molto più tempo per raggiungere nuovamente lo stato stazionario rispetto ai 7 giorni impiegati nel caso in cui la portata di azoto inviata al sistema viene fornita esclusivamente sotto forma di nitrato.

#### 4.1.4 Confronto con i dati sperimentali

In questa sezione viene illustrato un confronto tra le evoluzioni temporali delle grandezze principali ottenute sperimentalmente e attraverso la risoluzione delle equazioni presenti nel modello analizzato. I risultati delle prove sperimentali, effettuate all'interno del fotobioreattore di laboratorio, sono stati forniti dal Dipartimento di Ingegneria dell'Ambiente, del Territorio e delle Infrastrutture del Politecnico di Torino.

Al fine di poter realizzare un confronto sensato, è stato necessario investigare le condizioni in cui gli esperimenti sono stati effettuati in maniera tale da riprodurle il più possibile all'interno delle simulazioni mediante l'utilizzo del modello Solimeno, 2015.

Una descrizione reattoristica del fotobioreattore in questione, con relativi parametri geometrici, è stata presentata nel Paragrafo 2.1.

Le prove sperimentali sono state condotte in modalità batch per cui non sono presenti flussi liquidi influenti né effluenti. Una corrente di anidride carbonica è stata, invece, insufflata nel brodo durante gli esperimenti e regolata da un sistema di controllo on-off tale da mantenere il valore del pH all'interno del brodo di coltura intorno a 8. Al fine di riprodurre tale aspetto nella modellazione, per motivi di stabilità numerica, si è optato per l'introduzione di un'iniezione continua di CO<sub>2</sub>, la cui portata è stata determinata mediante una procedura 'trial & error' che ha permetto di ottenere un valore di pH costantemente uguale a 8 durante l'intero processo di crescita. Ciò si è verificato grazie ad una portata di CO<sub>2</sub> linearmente crescente, seguendo una rampa descritta dall'Eq. (4.2) del paragrafo precedente.

Il fatto che non venga alimentato continuamente del nitrato, nutriente fondamentale per le microalghe, è stato risolto introducendone un'elevata quantità al tempo t = 0 all'interno tank, il che equivale ad un'elevata concentrazione iniziale in input al programma.

Per quanto riguarda le concentrazioni iniziali delle altre specie, esse sono state determinate sperimentalmente.

Tuttavia, il modello si basa su una serie di parametri caratteristici i cui valori esatti sono sconosciuti. Questa incertezza ha imposto la necessità di un processo di calibrazione. Come riportato da Solimeno et al. (2015) e come hanno dimostrato i risultati della simulazione, il modello è particolarmente sensibile al tasso di rilascio di specie gassose nell'atmosfera. Ciò accade perché i gas partecipano a una serie di processi che esercitano un grave impatto sull'attività algale. Infatti, livelli elevati di ossigeno disciolto possono inibire la crescita delle microalghe, così come l'anidride carbonica a concentrazioni molto elevate a causa del suo effetto acidificante. Per questo motivo, i coefficienti di trasferimento dei gas nell'atmosfera sono stati adattati in maniera tale che i risultati potessero corrispondere ai dati ottenuti dalla rispettiva prova sperimentale.

I principali parametri utilizzati per calibrare il modello e per riprodurre lo schema reattoristico sono riportati in Tabella 18.

Parametri di input										
L	${\cal D}$	$A_{PFR}$	A <sub>TANK</sub>	n <sub>CSTRs</sub>	$K_{a,NH_3}$	$K_{a,O_2}$	$K_{a,CO_2}$	$\dot{V}_{sample}$	V <sub>CSTR</sub>	
80	0,1	0,0004	0,04	3	200	50	100	0	0,00867	
m	$m^2/d$	<i>m</i> <sup>2</sup>	$m^2$	-	m/d	m/d	m/d	$m^3/d$	$m^3$	

**Tabella 19.** Valori delle grandezze calibrate che permettono di riprodurre i risultati ottenuti sperimentalmente e dei principali parametri geometrici dello schema reattoristico.

In particolare, le prove sperimentali effettuate, ciascuna con una durata di 4 giorni, risultano essere 3 e, rispettivamente, RUN 2, RUN 3 e RUN 4. In ognuna di esse, è contemplata la presenza di fosfati, trascurati nel modello in quanto assunti ampiamente disponibili. I valori delle concentrazioni iniziali e dell'illuminazione di ciascuna prova sperimentale, che sono stati impostati come valori iniziali in input al programma, sono specificati per ognuna di esse e riportate in tabella.

I risultati sperimentali relativi alla concentrazione di microalghe sono stati registrati mediante misurazioni offline e forniti in termini di  $g(TTS)/m^3$ . Pertanto, per effettuare un opportuno confronto con i risultati del modello è stato necessario effettuare la conversione da  $g(TTS)/m^3$  a  $g(COD)/m^3$ , assumendo un rapporto  $COD TSS^{-1} = 0.80$  (Khorsandi et al., 2014; Sperling, 2007).

D'altro canto, i risultati relativi alle concentrazioni di ossigeno, anidride carbonica e pH sono stati ottenuti mediante misurazioni online, registrate ogni minuto.

Parametri di input - RUN2										
$S_{NH_4}$	$S_{NH_3}$	$S_{NO_3}$	<i>S</i> <sub>02</sub>	$S_{CO_2}$	S <sub>HCO3</sub>	$S_{CO_3}$	pН	рОН	X <sub>ALG</sub>	Illuminazione
0,0	0,0	245,6	8,405	1,816	63,82	0,311	8,03	5,97	187,6	60
$g(N) m^{-3}$	$g(N) m^{-3}$	$g(N) m^{-3}$	$g(0_2)  m^{-3}$	$g(C) m^{-3}$	$g(C) m^{-3}$	$g(\mathcal{C})m^{-3}$	_	_	$g(COD) m^{-3}$	$\mu E(m^{-2} s^{-1})$

Tabella 20. Valori delle concentrazioni iniziali e dell'intensità luminosa in input al programma relativi al RUN2.



**Figura 22.** Confronto tra l'evoluzione temporale sperimentale, run2, e simulata della concentrazione di biomassa, del pH, della concentrazione di anidride carbonica e di ossigeno nel brodo di coltura, rispettivamente, a), b), c) e

Parametri di input – RUN3										
$S_{NH_4}$	$S_{NH_3}$	$S_{NO_3}$	<i>S</i> <sub>02</sub>	$S_{CO_2}$	S <sub>HCO3</sub>	$S_{CO_3}$	pН	рОН	X <sub>ALG</sub>	Illuminazione
0,0	0,0	313	86,354	1,866	63,82	0,311	8,06	5,94	155,2	150
$g(N) m^{-3}$	$g(N) m^{-3}$	$g(N)  m^{-3}$	$g(O_2)m^{-3}$	$g(C) m^{-3}$	$g(\mathcal{C})m^{-3}$	$g(\mathcal{C})  m^{-3}$	-	-	$g(COD)  m^{-3}$	$\mu E(m^{-2}s^{-1})$

Tabella 21. Valori delle concentrazioni iniziali e dell'intensità luminosa in input al programma relativi al RUN3.



**Figura 23.** Confronto tra l'evoluzione temporale sperimentale, run3, e simulata della concentrazione di biomassa, del pH, della concentrazione di anidride carbonica e di ossigeno nel brodo di coltura, rispettivamente, a), b), c) e
Parametri di input – RUN4										
$S_{NH_4}$	$S_{NH_3}$	$S_{NO_3}$	<i>S</i> <sub>02</sub>	S <sub>CO2</sub>	S <sub>HCO3</sub>	S <sub>CO3</sub>	pH	рОН	X <sub>ALG</sub>	Illuminazione
0,0	0,0	244,63	6,38	3,265	63,82	0,311	8,06	5,94	191,2	225
$g(N) m^{-3}$	$g(N) m^{-3}$	$g(N) m^{-3}$	$g(O_2)m^{-3}$	$g(C) m^{-3}$	$g(\mathcal{C})m^{-3}$	$g(\mathcal{C})m^{-3}$	_	_	$g(COD) m^{-3}$	$\mu E(m^{-2} s^{-1})$

Tabella 22. Valori delle concentrazioni iniziali e dell'intensità luminosa in input al programma relativi al RUN4.



Figura 24. Confronto tra l'evoluzione temporale sperimentale, run4, e simulata della concentrazione di biomassa, del pH, della concentrazione di anidride carbonica e di ossigeno nel brodo di coltura, rispettivamente, a), b), c) e

Nelle Figure 22a, 23a e 24a vengono riportati gli andamenti simulati e sperimentali della concentrazione di microalghe nel brodo di coltura in funzione del tempo. Un soddisfacente accordo è stato raggiunto utilizzando un valore del tasso di crescita specifico,  $\mu_{ALG}$ , pari a 1,8  $d^{-1}$ , che ben si inserisce nei range di letteratura (Solimeno et al. 2015).

Nelle Figure 22b, 23b e 24b vengono mostrati i confronti tra i valori di pH calcolati e quelli sperimentali. Si può notare che anche in questo caso si raggiunge un accordo soddisfacente tra i due set di dati, nonostante la procedura di erogazione della CO<sub>2</sub> sia differente, trattandosi di un'iniezione continua nel modello numerico e di un'iniezione discontinua on-off controllata dal valore del pH nel modello sperimentale. Tuttavia, questi risultati dimostrano che, dopo la calibrazione, il modello numerico è in grado di valutare correttamente l'aumento del fabbisogno di CO<sub>2</sub> determinato dalla crescita della biomassa algale.

Le Figure 22c, 23c e 24c riportano l'evoluzione temporale simulata e sperimentale della CO<sub>2</sub> disciolta nel brodo di coltura. Si può notare che i due set di dati si confrontano abbastanza bene, con una piccola deviazione che appare solo nella fase avanzata del processo di crescita.

Infine, le Figure 22d, 23d e 24d riportano l'evoluzione temporale delle concentrazioni di ossigeno disciolto nel tank. Si può notare che il modello predice correttamente l'aumento atteso della concentrazione di ossigeno dovuto all'attività fotosintetica delle alghe anche se i dati della simulazione sottostimano leggermente i risultati sperimentali. Tuttavia, l'apparente discrepanza qualitativa suggerisce la necessità di una caratterizzazione più dettagliata delle caratteristiche idrodinamiche del serbatoio al fine di ottenere una previsione più affidabile per il rilascio di ossigeno nell'atmosfera.

# Conclusioni

In conclusione, il seguente lavoro si propone di analizzare e investigare una tecnologia alternativa, attuale e sostenibile per la cattura di anidride carbonica mediante la coltivazione di microalghe su cui si basa l'attuale focus della ricerca dato che i processi geologici e chimici tradizionali comportano vari problemi legati alla sicurezza e all'ambiente nella rimozione della  $CO_2$  dall'atmosfera e dai gas di combustione. Le microalghe, infatti, sono microrganismi unicellulari a crescita rapida, in grado di riprodursi ogni 1–2 giorni in condizioni di crescita favorevoli (Williams e Laurens, 2010). Attraverso il processo di fotosintesi, la  $CO_2$  viene assorbita dalle cellule delle microalghe per supportarne la crescita convertendo il carbonio in carboidrati e, successivamente, questi ultimi vengono utilizzati per costruire proteine, acidi nucleici e lipidi (Beer et al., 2009). Grazie alla loro struttura cellulare semplice e al rapido tasso di crescita, le microalghe dovrebbero avere un'efficienza di biofissazione della  $CO_2$  di 10-50 volte superiore rispetto alle piante terrestri (Khan et al., 2009; Li et al., 2008).

Inoltre, la coltivazione di microalghe appare interessante anche per la produzione di biodiesel: i lipidi e i carboidrati accumulati nelle cellule delle microalghe possono essere ulteriormente trasformati in biodiesel e bioetanolo, rispettivamente. Questo approccio introduce l'opportunità di creare un ciclo del carbonio sostenibile: la CO<sub>2</sub> emessa dalla combustione del biodiesel o il bioetanolo viene riassorbita dalle microalghe per crescere e, quindi, mantenere costante il livello di CO<sub>2</sub> nell'atmosfera. La crescita fototrofica delle microalghe può avvenire mediante l'utilizzo di anidride carbonica, fonte di carbonio per i microrganismi in questione, proveniente dall'atmosfera o da emissioni di gas di scarico. La maggior parte degli studi di ricerca di laboratorio ha mostrato l'effetto positivo della crescita di microalghe, in termini di tasso di fissazione del carbonio e sulla produttività della biomassa, mediante l'utilizzo di CO<sub>2</sub> pura. In particolare, il tasso di crescita delle microalghe è stato aumentato grazie all'integrazione di una concentrazione più elevata di CO<sub>2</sub> (1–15%) rispetto a quella presente nell'atmosfera (0,04% di CO<sub>2</sub>); ciò ha portato ad una maggiore produttività della biomassa in un tempo di coltivazione relativamente breve.

Tuttavia, in base al ceppo di appartenenza delle microalghe, differente è la capacità che i microrganismi presentano per quanto riguarda la cattura dell'anidride carbonica. Al fine di valutarne la potenzialità, è necessario stimare l'efficienza o la velocità di fissazione della CO<sub>2</sub>, in maniera diretta o indiretta.

La misurazione diretta della velocità di fissazione può essere ottenuta determinando l'efficienza di rimozione della CO<sub>2</sub> in un fotobioreattore, la quale è data dalla differenza della concentrazione della specie in questione nel brodo di coltura in ingresso e in uscita, come rappresentato nella seguente equazione:

*Efficienza di rimozione CO*<sub>2</sub> (%) = 
$$\frac{X_{CO_2,in} - X_{CO_2,out}}{X_{CO_2,in}}$$
 100 (5.1)

La misurazione indiretta della capacità di fissazione della CO<sub>2</sub> da parte delle microalghe può essere ottenuta attraverso la determinazione del suo tasso di fissazione, tenendo conto della produttività volumetrica della biomassa e del contenuto di carbonio in essa, come rappresentato dalla seguente equazione:

$$R_{CO_2} = C_C P \frac{M_{CO_2}}{M_C}$$
(5.2)

dove  $R_{CO_2}$  è la velocità di fissazione (in gCO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>),  $C_C$  è il contenuto di carbonio nella biomassa algale misurato attraverso analisi elementare (in %w/w), P è la produttività volumetrica di biomassa (in g DW L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) e  $M_{CO_2}$  e  $M_C$  sono i pesi molecolare di CO<sub>2</sub> ed elementare di C, rispettivamente (in g mol<sup>-1</sup>).

Come mostrato in Tabella 23, l'efficienza di cattura della  $CO_2$  all'interno di un sistema chiuso, riportata nell'Eq. (5.1), dipende dal ceppo di appartenenza della microalga stessa, nonché dalle condizioni operative, come visto precedentemente, dalla concentrazione di  $CO_2$  e dalla scelta reattoristica.

Strain	$CO_2$	Temperature	ъЦ	Ν	Р	Biomass productivity	CO <sub>2</sub> fixation rate
Strain	(%)	(°C)	рп	(mg/L)	(mg/L)	(g/L d)	(g/L d)
Aphanothece microscopica	15	35	8.0	24.71	7.13	0.800	1.5
Botryococcus braunii	15	30	8.3	-	-	1.1	> 1.0
Chlorococcum littorale	40	30	5.5	1250	1250	-	1.0
Chlorella kessleri	18	30	6.4	34.65	17.10	0.087	0.163
Chlorella valgaris	15	27	7.0	125.4	-	0.360	0.624
	Air	25	-	1250	1250	0.040	0.075
	Air	25	-	1250	1250	0.024	0.045
	10	22	6.0	2.25	13.36	0.278	0.522
Chlorella sp.	40	42	9.4	-	-	-	1.0
-	5	26	-	46.33	4.76	0.207	0.389
	20	18	8.2	12.35	1.29	0.271	0.510
Chlorella sp. AG10002	5	20	7.2	17.65	0.29	0.335	1.446
Chlorella sp. WT	25	25	-	37.06	3.88	0.200	0.376
Chlorella sp. MTF-7	25	25	-	37.06	3.88	0.358	0.674
Dunaliella tertiolecta	3	27	-	1000	535	0.170	0.313
Haematococcus pluvialis	16–34	20	-	-	-	0.076	0.143
Scenedesmus obliquus	Air	17	-	51.66	4.46	0.009	0.016
-	Air	30	-	51.66	4.46	0.016	0.031
	12	30	7.0	173.27	284.93	0.140	0.26
Spirulina sp.	12	30	7.0	173.27	284.93	0.220	0.413

**Tabella 23.** Composizione chimica del brodo di coltura in termini di CO<sub>2</sub>, pH, quantità di fonti nutritive, N e P, e valori relativi alle velocità di fissazione della CO<sub>2</sub> da parte ei differenti ceppi di microalghe.

Chlorella vulgaris possiede un'efficienza massima di rimozione della  $CO_2$  del 55,3% per una percentuale di anidride carbonica pari a 0,15% in un fotobioreattore a membrana mentre Spirulina sp. e Scenedesmus obliquus possiedono un'efficienza massima di rimozione del 27–38% e 7–13%, rispettivamente, in un fotobioreattore tubolare (Cheng et al., 2006); le loro efficienze di fissazione si riducono al 7–17% e 4–9% nel caso in cui la percentuale di  $CO_2$  risulti essere al di sotto del 12% (de

Morais e Costa, 2007). In altre parole, l'efficienza di rimozione e fissazione dipende dal ceppo di appartenenza delle microalghe a causa delle loro condizioni fisiologiche, come il potenziale di crescita cellulare e il metabolismo della CO<sub>2</sub>.

In generale, le microalghe che risultano essere efficaci sequestratori di carbonio appartengono ai generi Chlorococcum, Chlorella, Scenedesmus ed Euglena, le quali sono state in grado di

sopravvivere all'esposizione di CO<sub>2</sub> pura (100%). Esperimenti sullo Scenedesmus sp. hanno rivelato che questo ceppo è riuscito ad aumentare la sua biomassa cellulare in 30 giorni, ottenendo un aumento significativo della concentrazione cellulare di biomassa pari a 3,65 g L<sup>-1</sup>, con valore di concentrazione della CO<sub>2</sub> al di sotto del 100 %, rispetto agli 1,19 g L<sup>-1</sup> ottenuti in condizioni di CO<sub>2</sub> atmosferica (0,036%). Anche il Chloroccum littorale rappresenta una specie a crescita rapida in grado di tollerare elevate concentrazioni di CO<sub>2</sub>.

Il diverso contenuto di proteine, lipidi e carboidrati relativo ai vari ceppi di appartenenza delle microalghe è mostrato in Tabella 24.

Microalghe	Proteine	Carboidrati	Lipidi
Anabena cylindrica	43-56	25-30	4-7
Aphanizomenon flos-aquae	62	23	3
Chlamydomonas rheinhardii	48	17	21
Chlorella pyrenoidosa	57	26	2
Chlorella vulgaris	51-58	12-17	14-22
Dunaliella salina	57	32	6
Euglena gracilis	39-61	14-18	14-20
Porphyridium cruentum	28-39	40-57	9-14
Scenedesmus obliquus	50-56	10-17	12-14
Spirogyra sp.	6-20	33-64	11-21
Arthrospira maxima	60-71	13-16	6-7
Spirulina platensis	46-63	8-14	4-9
Synechococcus sp.	63	15	11

 Tabella 24. Composizione chimica in termini di proteine, carboidrati e lipidi presenti all'interno dei diversi ceppi di appartenenza delle microalghe.

Questo lavoro ha dimostrato come la modellazione matematica, in continua crescita e sviluppo, assume una fondamentale importanza e rilevanza nell'ambito della coltivazione di microalghe all'interno di fotobioreattori in quanto, data la complessità dei sistemi in questione, differenti sono i parametri che giocano una forte influenza sulla loro crescita per cui risulterebbe complesso e costoso effettuare prove sperimentali al variare di ognuno di essi.

Il modello matematico preso in considerazione nel seguente lavoro, il New Mechanistic Model, presentato da Solimeno et al., 2015, ha permesso di investigare ed analizzare i processi biocinetici che coinvolgono le microalghe e le varie specie presenti nel brodo di coltura. Esso prende in considerazione tre specie gassose (O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>), sei specie ioniche (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, H<sup>+</sup>, OH<sup>-</sup>) e un componente presente in forma particellare, ovvero la biomassa algale, per un totale di dieci componenti, e descrive accuratamente gli effetti delle grandezze più significative, quali temperatura, pH, nutrienti e illuminazione sulla crescita delle microalghe su nitrato ed ammonio, sulla respirazione endogena, sul processo di inattivazione dei microrganismi, sull'equilibrio chimico delle specie coinvolte e sullo scambio di materia con l'atmosfera, trascurando i processi di crescita e decadimento dei batteri.

Affinché sia stato possibile implementare ed analizzare il modello, è stato necessario associarlo ad una scelta reattoristica mirata alla riproduzione del fotobioreattore di laboratorio esistente nel Dipartimento di Ingegneria dell'Ambiente, del Territorio e delle Infrastrutture del Politecnico di Torino, costituito da due pannelli piatti, tra i quali è posta una sorgente luminosa LED, un tank di miscelazione, al buio, e un circolatore idraulico.

La risoluzione delle equazioni differenziali che modellano il trasporto e la cinetica dei vari componenti all'interno delle apparecchiature costituenti lo schema reattoristico, ha permesso di investigare l'influenza dei diversi parametri, tra cui i più importanti, intensità luminosa e portata di nutrienti alimentati.

In particolare, è stato notato come l'incremento del valore di intensità luminosa non corrisponde ad un progressivo aumento della concentrazione di biomassa; la massima concentrazione di microalghe è stata stimata dal modello in corrispondenza di un valore di illuminazione intermedio e, nel nostro caso, pari a 250  $\mu E (m^2 s)^{-1}$ .

Relativamente ai nutrienti, un incremento della portata di nitrato ha comportato un progressivo incremento della concentrazione di biomassa. Tuttavia, per valori molto elevati, un ulteriore aumento di nutriente non ha avuto più alcun effetto sulla produzione di microalghe, in quanto la velocità di crescita annoverata dal modello presenta una dipendenza dalla concentrazione di substrato che segue la formulazione Monod. Per quanto riguarda l'anidride carbonica, un aumento della portata alimentata non ha apportato alcun vantaggio alla crescita delle microalghe, anzi essa ha svolto un ruolo limitante all'interno dei sistemi per cui la concentrazione di queste specie è iniziata a decrescere, dato il suo effetto sull'acidità del sistema. Infine, si è notato che, alimentando al sistema una certa portata di azoto complessiva, modificando esclusivamente i rapporti relativi tra ammonio e nitrato, nel caso in cui siano entrambi presenti, il primo è favorito rispetto al secondo. La condizione affinché

il pH si mantenga nel range ottimale è risultata quella in cui l'azoto viene fornito mediante un'aliquota del 75% in termini di nitrato e la restante parte in termini di ammonio.

Cruciale e fondamentale per poter stimare e valutare la bontà e la validità del modello è stato il confronto con i risultati sperimentali illustrato nel capitolo precedente.

I risultati preliminari presentati hanno mostrato una soddisfacente corrispondenza con quelli sperimentali. Il modello è stato abbastanza in grado di predire con precisione il tasso di produzione di microalghe, il valore del pH nel brodo di coltura e l'andamento temporale della concentrazione di specie gassose disciolte. Sono state osservate discrepanze relativamente alla concentrazione di nitrati per cui è richiesta la necessità di una stima più attenta della velocità di consumo dei nutrienti.

Infine, vale la pena notare che i risultati qui presentati sono stati ottenuti in specifiche condizioni sperimentali per cui le previsioni del modello dipendono dal set di parametri in cui il esso stesso è stato calibrato.

Tuttavia, in generale, i risultati ottenuti hanno dimostrato come il modello in questione risulti essere un ottimo e promettente punto di partenza per un'affidabile previsione della crescita delle microalghe. A tal proposito, numerosi sono gli accorgimenti e gli sviluppi futuri che possono permetterne l'estensione e, in particolare, l'introduzione dei processi chimici fisici e biocinetici relativi ai batteri, che comporterebbe l'analisi delle interazioni microalghe-batteri, e l'inclusione di specie a base di fosforo come fonti di nutrienti per i microrganismi, oltre quelli a base di carbonio e azoto già annoverati dal modello.

La dipendenza della crescita dei microorganismi dal fosforo, precedentemente trascurata in quanto ritenuto presente in ampie quantità nel brodo di coltura, potrebbe essere facilmente implementata nel modello utilizzando una funzione *Monod* in maniera analoga a come sono stati trattati gli altri nutrienti. In questo modo, i processi relativi alla crescita delle microalghe su ammonio e nitrato, Eq. 1a e 1b della Tab.2, rispettivamente, assumerebbero le seguenti espressioni cinetiche:

$$\rho_{1a} = \mu_{ALG} \cdot f_{T,FS}(T) \cdot \eta_{PS}(I, S_{02}) \cdot \frac{S_{CO2} + S_{HCO3}}{K_{C,ALG} + S_{CO2} + S_{HCO3} + \frac{S_{CO2}^2}{I_{CO2,ALG}}} \cdot \frac{S_{NH3} + S_{NH4}}{K_{N,ALG} + S_{NH3} + S_{NH4}} \cdot \frac{S_{PO4}}{K_{P,ALG} + S_{PO4}} \cdot X_{ALG} \quad (5.3)$$

$$\rho_{1b} = \mu_{ALG} \cdot f_{T,FS}(T) \cdot \eta_{PS}(I, S_{02}) \cdot \frac{S_{CO2} + S_{HCO3}}{K_{C,ALG} + S_{CO2}^2} + \frac{S_{CO2}^2}{I_{CO2,ALG}}} \cdot \frac{S_{NO3}}{K_{N,ALG} + S_{NO3}} \cdot \frac{K_{N,ALG}}{K_{N,ALG} + S_{NH3} + S_{NH4}} \cdot \frac{S_{PO4}}{K_{P,ALG} + S_{PO4}} \cdot X_{ALG} \quad (5.4)$$

È possibile osservare, dalle due equazioni cinetiche sopra riportate, come un aumento della concentrazione di fosfato risulta essere vantaggioso per la produzione di microalghe fino ad un certo punto, dopo il quale la velocità di crescita appare costante.

Al contrario, le equazioni cinetiche che descrivono i processi di respirazione endogena e di

decadimento, nonché le equazioni chimiche relative all'equilibrio e al trasferimento di specie gassose verso l'atmosfera non dipendono dalla presenza o meno di fosforo per cui rimarrebbero invariate, come riportato in Tabella 2.

Per quanto riguarda l'introduzione dei processi batterici, questi possono essere modellati utilizzando la cinetica di tipo Monod, in maniera analoga a come effettuato per le microalghe. Ciò comporterebbe l'estensione del modello ad altri componenti quali batteri eterotrofi,  $X_H$ , batteri ammonioossidanti,  $X_{AOB}$ , batteri nitrito-ossidanti,  $X_{NOB}$ , materia organica particellare lentamente biodegradabile,  $X_S$ , materia organica particellare inerte,  $X_I$ , materia organica solubile prontamente biodegradabile,  $S_S$ , sostanza organica solubile inerte,  $S_I$ .

I processi aggiuntivi, con relative equazioni cinetiche che ne descrivono la velocità, risulterebbero essere:

#### – Crescita aerobica e anossica dei batteri eterotrofi, $X_H$

La crescita aerobica e anossica dei batteri eterotrofi può essere modellata mediante la cinetica di Monod. Entrambi i processi eterotrofi anossici e aerobici utilizzano gli stessi valori per i parametri e i coefficienti coinvolti.

$$\rho_{4a} = \mu_{\rm H} \cdot f_{\rm T,MB}(\rm T) \cdot \frac{S_{\rm S}}{K_{\rm S,H} + S_{\rm s}} \cdot \frac{S_{\rm O2}}{K_{\rm O2,H} + S_{\rm O2}} \cdot \frac{S_{\rm NH4} + S_{\rm NH3}}{K_{\rm N,H} + S_{\rm NH4} + S_{\rm NH3}} \cdot X_{\rm H}$$
(5.5)

$$\rho_{4b} = \mu_{\rm H} \cdot f_{\rm T,MB}(\rm T) \cdot \frac{S_{\rm S}}{K_{\rm S,H} + S_{\rm s}} \cdot \frac{S_{\rm O2}}{K_{\rm O2,H} + S_{\rm O2}} \cdot \frac{S_{\rm NO3}}{K_{\rm N,H} + S_{\rm NO3}} \cdot X_{\rm H}$$
(5.6)

$$\rho_{5} = \mu_{H} \cdot \eta_{H} \cdot f_{T,MB}(T) \cdot \frac{S_{S}}{K_{S,H} + S_{s}} \cdot \frac{K_{O2,H}}{K_{O2,H} + S_{O2}} \cdot \frac{S_{NO2}}{K_{NO2,H,anox} + S_{NO2}} \cdot X_{H}$$
(5.7)

$$\rho_{6} = \mu_{H} \cdot \eta_{H} \cdot f_{T,MB}(T) \cdot \frac{S_{S}}{K_{S,H} + S_{s}} \cdot \frac{K_{O2,H}}{K_{O2,H} + S_{O2}} \cdot \frac{S_{NO3}}{K_{NO3,H,anox} + S_{NO3}} \cdot X_{H}$$
(5.8)

## – Respirazione endogena aerobica e anossica di batteri eterotrofi, X<sub>H</sub>

Questi processi possono essere modellati come il prodotto tra il tasso massimo di respirazione endogena ( $k_{resp,H}$ ), la concentrazione di batteri eterotrofi, il fattore termico (lo stesso utilizzato per la crescita) e la funzione Monod che introduce ossigeno e azoto come fattori limitanti, rispettivamente per condizioni aerobiche e anossiche. La respirazione endogena produce CO<sub>2</sub> e trasforma la biomassa viva in materia organica inerte (X<sub>I</sub>).

$$\rho_7 = k_{resp,H} \cdot f_{T,MB}(T) \cdot \frac{S_{O2}}{K_{O2,H} + S_{O2}} \cdot X_H$$
 (5.9)

$$\rho_8 = k_{resp,H} \cdot \eta_H \cdot f_{T,MB}(T) \cdot \frac{K_{O2,H}}{K_{O2,H} + S_{O2}} \cdot \frac{S_{NO3} + S_{NO2}}{K_{NO3,H,anox} + S_{NO2} + S_{NO3}} \cdot X_H$$
(5.10)

#### – Decadimento di batteri eterotrofi, $X_H$

Il decadimento dei batteri trasforma la biomassa vivente in materia organica lentamente biodegradabile ( $X_S$ ) e inerte ( $X_I$ ). Questo processo può essere espresso come il prodotto del tasso massimo di decadimento ( $k_{decay,H}$ ), dalla concentrazione di batteri e dal fattore termico. Si presume che il processo continui con la stessa velocità in condizioni aerobiche e anossiche (Henze et al., 1987).

$$\rho_9 = k_{\text{death},\text{H}} \cdot f_{\text{T},\text{MB}}(\text{T}) \cdot X_{\text{H}} \quad (5.11)$$

#### – Crescita di batteri autotrofi, $X_{AOB}$ e $X_{NOB}$

Questi batteri sono responsabili della conversione biologica dell'ammonio in azoto nitrato (nitrificazione) utilizzando l'ossigeno molecolare come accettore di elettroni. La nitrificazione può essere implementata in un processo in due fasi (Iacopozzi et al., 2007).

$$\rho_{10} = \mu_{AOB} \cdot f_{T,MB}(T) \cdot \frac{S_{02}}{K_{02,AOB} + S_{02}} \cdot \frac{S_{NH3} + S_{NH4}}{K_{NH4,AOB} + S_{NH4} + S_{NH3}} \cdot \frac{S_{CO2} + S_{HCO3}}{K_{C,AOB} + S_{CO2} + S_{HCO3}} \cdot X_{AOB}$$
(5.12)  
$$\rho_{11} = \mu_{NOB} \cdot f_{T,MB}(T) \cdot \frac{S_{O2}}{K_{O2,NOB} + S_{O2}} \cdot \frac{K_{I,NH4}}{K_{I,NH4} + S_{NH3}} \cdot \frac{S_{NO2}}{K_{NO2,NOB} + S_{NO2}} \cdot \frac{S_{CO2} + S_{HCO3}}{K_{C,AOB} + S_{CO2} + S_{HCO3}} \cdot X_{NOB}$$
(5.13)

Nell' Eq. (5.12), che descrive la prima fase dell'ossidazione dell'ammonio in nitrito, sia l'ammonio che l'ossigeno disciolto agiscono da fattori limitanti, mentre nell'Eq. (5.13) lo stesso ammonio si comporta come un inibitore dell'ulteriore ossidazione del nitrito in nitrato. Per quanto riguarda la denitrificazione, la biomassa eterotrofica può rimuovere il carbonio organico attraverso la respirazione anossica su nitrito o nitrato, i quali fungono da accettori di elettroni in assenza di ossigeno disciolto.

## – Respirazione endogena di batteri autotrofi, X<sub>AOB</sub> e X<sub>NOB</sub>

Tale processo può essere modellato allo stesso modo della respirazione endogena aerobica dei batteri eterotrofi.

$$\rho_{10} = k_{resp,AOB} \cdot f_{T,MB}(T) \cdot \frac{S_{O2}}{K_{O2,AOB} + S_{O2}} \cdot X_{AOB}$$
(5.14)

$$\rho_{13} = k_{resp,NOB} \cdot f_{T,MB}(T) \cdot \frac{S_{O2}}{K_{O2,NOB} + S_{O2}} \cdot X_{NOB} \quad (5.15)$$

#### – Decadimento di batteri autotrofi, X<sub>AOB</sub> e X<sub>NOB</sub>

Anche in questo caso, tale processo può essere modellato allo stesso modo del decadimento dei batteri eterotrofi utilizzando differenti velocità di decadimento,  $k_{decay,AOB}$  e  $k_{decay,NOB}$ , rispettivamente per  $X_{AOB}$  e  $X_{NOB}$ .

$$\rho_{14a} = k_{\text{death,AOB}} \cdot f_{\text{T,MB}}(\text{T}) \cdot X_{\text{AOB}} \quad (5.16)$$

$$\rho_{14b} = k_{\text{death,NOB}} \cdot f_{\text{T,MB}}(\text{T}) \cdot X_{\text{NOB}} \quad (5.17)$$

#### – Idrolisi

L'idrolisi è il processo che trasforma la materia organica particellare  $(X_S)$  lentamente biodegradabile in materia organica solubile  $(S_S)$  prontamente biodegradabile catalizzata da batteri eterotrofi.

$$\rho_{15} = k_{HYD} \cdot \frac{X_S / X_H}{Y_{HYD} + (X_S / X_H)} \cdot X_H \quad (5.18)$$

L'estensione del New Mechanistic Model ai processi batterici elencati nel seguente capitolo andrebbe ad aumentare la difficoltà relativa alla modellazione del fotobioreattore in questione nonché il costo computazionale delle simulazioni. Allo stesso tempo, ciò permetterebbe di avere una visione più completa e dettagliata delle dinamiche e di integrare nei sistemi le acque reflue come risorse di nutrienti per le microalghe. In questo modo il vantaggio sarebbe duplice: si andrebbero ad eliminare le specie inquinanti presenti nelle acque oltre che a promuovere la crescita delle microalghe, microrganismi promettenti per la cattura dell'anidride carbonica e conseguente riduzione del riscaldamento globale.

# Bibliografia

[1] P. Reichert, D. Borchardt, M. Henze, W. Rauch, P. Shanahan, L. Somlyódy, P. Vanrolleghem, River water quality model no. 1 (RWQM1): II. Biochemical process equations, Water Sci. Technol. J. Int. Assoc. Water Pollut. Res. 43 (5) (2001) 11–30.

[2] A. Solimeno, R. Samsó, E. Uggetti, B. Sialve, J.P. Steyer, A. Gabarró, J. García, New mechanistic model to simulate microalgae growth, Algal Res. 12 (2015) 350–358.

[3] O. Bernard, P. Masci, A. Sciandra, A photobioreactor model in nitrogen limited conditions, Proceedings of the Sixth Conference on Mathematical Modelling, Vienna, 2009.

[4] J.A. Bonachela, M. Raghib, S.A. Levin, Dynamic model of flexible phytoplankton nutrient uptake, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 108 (2011) 20633–200638.

[5] A. Packer, Y. Li, T. Andersen, Q. Hu, Y. Kuang, M. Sommerfeld, Growth and neutral lipid synthesis in green microalgae: a mathematical model, Bioresour. Technol. 102 (2011) 111–117.

[6] C.U. Ugwu, H. Aoyagi, H. Uchiyama, Photobioreactors for mass cultivation of algae, Bioresour. Technol. 99 (2008) 4021–4028.

[7] H. Khorsandi, R. Alizadeh, h. Tosinejad, H. Porghaffar, Analysis of nitrogenous and algal oxygen demand in effluent from a system of aerated lagoons followed by polishing pond, Water Sci. Technol. 70 (2014) 1–95.

[8] M.V. Sperling, Waste Stabilization Ponds, IWA Publishing, London, UK, 2007.

[9] J. Monod, The growth of bacterial cultures, Annu. Rev. Microbiol. 3 (1949) 371–394.

[10] H.J. Silva, J. Pirt, Carbon dioxide inhibition of photosynthetic growth of chlorella, J. Gen. Microbiol. 130 (1984) 2833–2838.

[11] P.H.C. Eilers, J.C.H. Peters, A model for the relationship between light intensity and the rate of photosynthesis in phytoplankton, Ecol. Model. 42 (1988) 199–215.

[12] Q. Béchet, A. Shilton, B. Guieysse, Modelling the effects of light and temperature on algae growth: state of the art and critical assessment for productivity prediction during outdoor cultivation, Biotechnol. Adv. 31 (2013) 1648–1663.

[13] F. Camacho Rubio, F. García Camacho, J.M. Fernández Sevilla, Y. Chisti, E. Molina Grima, A mechanistic model of photosynthesis in microalgae, Biotechnol. Bioeng. 81 (4) (2003) 459 473.

[14] P.A. Crill, The photosynthesis-light curve: a simple analog model, J. Theor. Biol. 6 (1977) 506–516.

[15] F. Camacho Rubio, F.G. Acién Fernández, F. García Camacho, J.A. Sánchez Pérez, E. Molina Grima, Prediction of dissolved oxygen and carbon dioxide concentration profiles in tubular photobioreactors for microalgal culture, Biotechnol. Bioeng. 62 (1999) 71–86.

[16] E. Molina Grima, J. Fernández, G. Acién Fernández, Y. Chisti, Tubolar photobioreactor design for algae cultures, J. Biotechnol. 92 (2001) 113–131.

[17] Y. Chisti, Biodieselfrommicroalgae, Biotechnol.Adv.25(3) (2007) 294–306.

[18] J.P. Bitog, I.-B. Lee, C.-G. Lee, K.-S. Kim, H.-S. Hwang, S.-W. Hong, I.-H. Seo, K.-S. Kwon, E. Mostafa, Application of computational fluid dynamics for modelling and designing photobioreactors for microalgae production: a review, Comput. Electron. Agric. 76 (2) (2011) 131–147.

[19] K. Larsdotter, Wastewater treatment with microalgae—a literature review, Vatten (2006) 31–38.

[20] A. Dauta, J. Devaux, F. Piquemal, L. Boumnich, Growth rate of four freshwater algae in relation to light and temperature, Hydrobiologia 207 (1990) 221–226.

[21] C. Zonneveld, Light-limited microalgae growth: a comparison of modelling approaches, Ecol. Model. 113 (1998) 41–54.

[22] Ugwu CU, Aoyagi H, Uchiyama H. Photobioreactors for mass cultivation of algae. Bioresour Technol 2008; 99:4021–8.

[23] M.R. Droop, Vitamin B2 and marine ecology. IV. The kinetics of uptake, growth and inhibition in Monochrysis lutheri, J. Mar. Biol. Assoc. U. K. 48 (1968) 689–733.

[24] M.R. Droop, The nutrient status of algal cells in batch culture, J. Mar. Biol. Assoc.UK 54 (1974) 825–855.

[25] J. Huisman, Population dynamics of light-limited phytoplankton: microcosm experiments, Ecology 80 (1999) 202–210.

[26] A. Franz, F. Lehr, C. Posten, G. Schaub, Modeling microalgae cultivation productivities in different geographic locations — estimation method for idealized photobioreactors, Biotechnol. J. 7 (4) (2012) 546–557.

[27] O. Bernard, P. Masci, A. Sciandra, A Photobioreactor Model in Nitrogen Limited Conditions, Proceedings of the Sixth Conference on Mathematical Modelling, Vienna, 2009

[28] X. Wu, J. Merchuk, A model integrating fluid dynamics in photosynthesis and photoinhibition processes, Chem. Eng. Sci. 56 (2001) 3527–3538.

[29] S. Yuan, X. Zhsoliou, R. Chen, B. Song, Study on modelling microalgae growth in nitrogenlimited culture system for estimating biomass productivity, Renew. Sust. Energ. Rev. 34 (2014) 525– 535.

[30] Henze, M., van Loosdrecht, M.C.M., Ekama, G.A., Brdjanovic, D., 2011. Biological Wastewater Treatment: Principles, Modelling and Design. IWA Publishing, London.

[31] Henze, M., Gujer, W., Mino, T., van Loosdrecht, M., 2000. Activated Sludge Models ASM1, ASM2, ASM2d and ASM3. IWA Publishing, London.

[32] Sterner, R.W., Grover, J.P., 1998. Algal growth in warm temperature reservoirs: kinetic examina- tion of nitrogen, temperature, light and other nutrients. Science 32 (12).

[33] Mairet, F., Bernard, O., Masci, P., Lacour, T., Sciandra, A., 2011. Modelling neutral lipid production by the microalga Isochrysis affinis galbana under nitrogen limitation. Bioresour. Technol. 102, 142–149.

[34] Mairet, F., Moisan, M., Bernard, O., 2010. Interval observer-based estimator of specific growth rate in bioreactors. J. Européen des Systèmes Automatisés 44 (4–5), 493–507.

[35] Quinn, J., de Winter, L., Bradley, T., 2011. Microalgae bulk growth model with application to in-dustrial scale systems. Bio/Technology 102, 5083–5092.

[36] Anning, T., MacIntyre, H., Pratt, S., Sammes, P., Gibb, S., Geider, R., 2000. Photoacclimation in the marine diatom Skeletonema costatum. Limnol. Oceanogr. 45 (8), 1807–1817.

[37] Costache, T.A., Acién Fernández, F.G., Morales, M., Fernández Sevilla, J.M., Stamatin, I., Molina, E., 2013. Comprehensive model of microalgae photosynthesis rate. Appl. Microbiol. Biotechnol. 17, 7627–7637.

[38] Beran, B., Kargi, F., 2005. A dynamic mathematical model for wastewater stabilization ponds. Ecol. Model. 181 (1), 39–57.

[39] Moreno Grau, S., García Sanchez, A., Moreno Clavel, J., Serrano Aniorte, J., MorenoGrau, M.D., 1996. A mathematical model for wastewater stabilization ponds with macrophytes and microphytes. Ecol. Model. 91 (1–3), 77–103.

[40] Dekissa, T., Meirlaen, J., Ashton, P.J., Vanrolleghem, P.A., 2004. Simplifying dynamic river water quality modelling: a case study of inorganic nitrogen dynamics in the Crocodile River (South Africa). Water Air Soil Pollut. 155, 303–320.

[41] Powell, N., Shilton, A., Chisti, Y., Pratt, S., 2009. Towards luxury uptake process via microalgae - defining the polyphosphate dynamics. Water Res. 43 (17), 4207–4213.

[42] Cherif, M., Loreau, M., 2010. Towards a more biologically realistic use of Droop's equations to model growth under multiple nutrient limitation. Oikos 119, 897–907.

[43] Kurano, N., Miyachi, S., 2005. Selection of microalgal growth model for describing specific growth rate-light response using extended information criterion. J. Biosci. Bioeng. 100 (4), 403–408.

[44] Syrett, P.J., 1981. Nitrogen metabolism of microalgae. In physiological bases of phytoplankton ecology (T. Platt, Ed.). Can. Bull. Fish. Aquat. Sci. 210, 182–210.

[45] Stewart, W.D.P., 1974. Algal Physiology and Biochemistry. Blackwell Scientific Publications, Ox- ford, p. 989.

[46] Correll, D.L., 1999. Phosphorus: a rate limiting nutrient in surface waters. Poult. Sci. 78, 674–682.

[47] Krasnits, E., Friedler, E., Sabbah, I., Beliavski, M., Tarre, S., Green, M., 2009. Spatial distribution of major microbial groups in a well-established constructed wetland treating municipal wastewater. Ecol. Eng. 35, 1085–1089.

[48] Bitog, J.P., Lee, I.B., Lee, C.G., Kim, K.-S., Hwang, H.S., Hong, S.W., Seo, I.H., Kwon, K.S., Mostafa, E., 2011. Application of computational fluid dynamics for modelling and designing photobioreactors for microalgae production: a review. Comput. Electron. Agric. 76 (2), 131–147.

[49] Avoz, Y., Goldman, J.C., 1982. Free ammonia inhibition of algal photosynthesis in intensive cul- ture. Appl. Environ. Microbiol. 43, 735–739.