



*Ministero dell'Istruzione,
dell'Università e della Ricerca*



UNIVERSITÀ
DELLA CALABRIA

**Università degli studi della Calabria
Dipartimento di Biologia, Ecologia e Scienze della Terra**

Dottorato di ricerca in
Life Science and Technology XXXVI ciclo

Tesi di dottorato

**Valorizzazione del Sargasso per la produzione di biometano
in Repubblica Dominicana**

**Coordinatore del Dottorato
in Life Science and
Technology: Prof. Tommaso Angelone**

Supervisore: Prof.ssa Vincenza Calabrò

Co-supervisore: Prof. Natale Arcuri

Dottoranda: Paletta Rosy

Indice

Introduzione	6
PARTE 1: ASPETTI GENERALI	10
Capitolo 1: Invasione di Sargasso: una preoccupazione crescente	11
1.1 Il Sargasso: informazioni generali	11
1.2 Origine del Sargasso	12
1.3 Le cause alla base dell'invasione del Sargasso	14
1.4 Monitoraggio del Sargasso	15
1.5 Metodi di raccolta	21
1.6 Potenziali impatti dell'invasione del Sargasso.....	22
Capitolo 2: Il Sargasso come fonte di bioenergia	25
2.1 Caratteristiche del Sargasso	25
2.2 Composizione chimica del Sargasso	26
2.3 Il Sargasso come fonte di bioenergia.....	28
Capitolo 3: Biogas e biometano: aspetti generali	33
3.1 Coso sono il biogas e il biometano?.....	33
3.2 Il processo di digestione anaerobica.....	35
3.2.1 Idrolisi	37
3.2.2 Acidogenesi.....	38
3.2.3 Acetogenesi.....	39
3.2.4 Metanogenesi	39
3.3 Il digestato	40
3.4 Applicazioni del biogas e del biometano	41
3.5 Purificazione e stoccaggio	42
3.6 Proprietà del biogas	44
3.7 Impatto ambientale.....	45
Capitolo 4: Produzione di biometano da matrici algali.....	46
4.1 Produzione di biometano dalle macroalghe	47
4.2 Migliorare l'efficienza del processo mediante pretrattamenti	48
4.2.1 Pretrattamenti fisici	49
4.2.2 Pretrattamenti fisico-chimici.....	49

4.2.3	Pretrattamenti biologici	59
4.2.4	Pretrattamenti chimici	50
4.2.5	Confronto tra le tecniche di pretrattamento.....	50
4.3	Produzione di biometano da Sargasso.....	58
PARTE 2: ANALISI SPERIMENTALE		60
Capitolo 5: Sperimentazione preliminare: caratterizzazione del Sargasso		65
5. Materiali e metodi.....		68
5.1	Il Sargasso utilizzato nella sperimentazione	68
5.2	Caratterizzazione chimico-fisica del Sargasso.....	68
5.2.1	Determinazione del contenuto di umidità	68
5.2.2	Determinazione del contenuto di ceneri	69
5.2.3	Determinazione del contenuto di solidi volatili	70
5.2.4	Determinazione del contenuto di solidi totali.....	70
5.2.5	Determinazione del contenuto di carboidrati.....	70
5.2.6	Determinazione del contenuto di proteine.....	71
5.2.7	Determinazione del contenuto di lipidi.....	72
5.2.8	Determinazione del contenuto di lignina.....	73
5.2.9	Determinazione del contenuto di metalli e metalloidi.....	73
5.2.10	Contenuto domanda chimica di ossigeno	75
5.2.11	Contenuto carbonio organico totale.....	76
5.3	Analisi morfologica del Sargasso	76
5.4	Stabilità termica del Sargasso.....	77
5.4.1	Analisi termogravimetrica e calorimetria a scansione differenziale.....	77
5.5	Struttura atomica e molecolare del Sargasso.....	78
5.5.1	Diffrazione a raggi-X.....	78
5.5.2	Analisi FT-IR.....	78
5.6	Risultati sperimentali e discussione.....	79
5.6.1	Caratterizzazione chimico-fisica.....	80
5.6.2	Stabilità termica e struttura atomica	80
5.6.3	Analisi morfologica.....	83
Capitolo 6: Effetto della dimensione delle particelle sulla cinetica di biometanazione del Sargasso		85
6.1	Materiali e metodi.....	86

6.1.1 Substrato e inoculo.....	86
6.1.2 Pretrattamento della biomassa	86
6.1.3 Analisi granulometrica della biomassa	87
6.1.4 Determinazione del potenziale biochimico del metano sperimentale	87
6.1.5 Studio cinetico	88
6.1.6 Analisi energetica	89
6.1.7 Analisi statistica	90
6.2 Risultati e discussione.....	90
6.2.1 Caratterizzazione della biomassa post-pretrattamento	90
6.2.2 Analisi granulometrica del Sargasso	91
6.2.3. Determinazione del potenziale biochimico del metano sperimentale	93
6.2.4 Studio cinetico	95
6.2.5 Analisi energetica	98
6.3 Conclusioni	96

Capitolo 7: Influenza dei pretrattamenti sul processo di digestione anaerobica del Sargasso 101

7.1 Materiali e metodi.....	102
7.1.1 Sargasso: preparazione dei campioni	102
7.1.2 Caratterizzazione dei campioni.....	102
7.1.3 Determinazione del potenziale biochimico del metano sperimentale e teorico	103
7.1.4 Studio cinetico	103
7.2 Risultati e discussione.....	103
7.2.1 Caratterizzazione dei campioni.....	103
7.2.2 Determinazione del potenziale biochimico del metano sperimentale e teorico	108
7.2.3 Studio cinetico	112
7.3 Conclusioni	115

Capitolo 8: Riutilizzo efficiente del Sargasso e della frazione organica dei rifiuti solidi urbani mediante co-digestione anaerobica 117

8.1 Materiali e metodi.....	118
8.1.1 Preparazione dei campioni e piano sperimentale	118
8.1.2 Analisi elementare del Sargasso e della frazione organica dei rifiuti solidi urbani	119
8.1.3 Determinazione del potenziale biochimico del metano sperimentale e teorico	119
8.1.4 Studio cinetico	120
8.2 Risultati e discussione.....	120

8.2.1 Caratterizzazione del campione di Sargasso e del campione di frazione organica dei rifiuti solidi urbani.....	120
8.2.2 Determinazione del potenziale biochimico del metano sperimentale	122
8.2.3 Determinazione del potenziale biochimico del metano teorico	127
8.2.4 Studio cinetico	129
8.3 Conclusioni	133

Capitolo 9 Influenza delle nanoparticelle Fe₂O₃ sul processo di digestione anaerobica del Sargasso	135
9.1 Stato dell'arte.....	136
9.2 Materiali e metodi.....	137
9.2.1 Substrato e inoculo.....	137
9.2.2 Caratterizzazione delle nanoparticelle Fe ₂ O ₃	137
9.2.3 Campioni di Sargasso + nanoparticelle Fe ₂ O ₃	138
9.2.4 Determinazione del potenziale biochimico del metano sperimentale	138
9.2.5 Studio cinetico	138
9.3 Risultati e discussione.....	138
9.3.1 Dosaggio nanoparticelle Fe ₂ O ₃	138
9.3.2 Caratterizzazione delle nanoparticelle Fe ₂ O ₃	139
9.3.3 Determinazione del potenziale biochimico del metano sperimentale	140
9.3.4 Studio cinetico	142
9.4 Conclusioni	17
CONCLUSIONE GENERALE.....	148
APPENDICE A.....	155
APPENDICE B	171
RINGRAZIAMENTI	175
BIBLIOGRAFIA.....	177

Introduzione

Il Sargasso fu avvistato per la prima volta nel XV secolo da Cristoforo Colombo nell'area conosciuta come il Mar dei Sargassi. La presenza di Sargasso si estende dal Sud Africa al Golfo del Messico e le fioriture si verificano nell'Oceano Atlantico centrale e nel Mare dei Caraibi. Il Mar dei Caraibi è caratterizzato dalla presenza delle specie pelagiche *S. natans* (morfotipi I e VIII) e *S. fluitans* (morfotipo III). La presenza delle alghe Sargasso ha generato impatti rilevanti nelle regioni costiere, in particolare nel Mar dei Caraibi, compromettendo settori vitali come il turismo, la pesca, la biodiversità e la salute delle comunità circostanti.

Il presente lavoro rappresenta il risultato della collaborazione tra lo Spin-off Smart City Instruments dell'Università della Calabria e l'Università Federico y Carvajal (UFHEC) di Santo Domingo, supportata dal Fondo Nazionale di Ricerca per la Scienza, la Tecnologia e l'Innovazione (FONDOCYT 2022-3C2-136) del Ministero dell'Istruzione Superiore, della Scienza e della Tecnologia della Repubblica Dominicana (MESCYT). Tale collaborazione è indice di un impegno concreto, da parte dei Governi locali, nell'affrontare questo problema.

L'obiettivo principale è esaminare la possibilità di recuperare e valorizzare il Sargasso per mitigare l'impatto negativo delle fioriture e gestirne al meglio i costi associati.

La tesi è suddivisa in due parti fondamentali: aspetti generali e attività sperimentale.

La prima parte esplora gli aspetti generali del fenomeno del Sargasso, offrendo un quadro completo del contesto ambientale, economico e sociale in cui si inserisce. Il Sargasso sta attualmente invadendo le coste della Repubblica Dominicana. Nella prima parte, verrà esaminato il Sargasso in tutte le sue sfaccettature, dalle attuali modalità di raccolta utilizzate al dettagliato monitoraggio della sua diffusione. Per quanto riguarda il monitoraggio, il Sistema di Monitoraggio del Sargasso (*Sargassum Watch System-SaWS*) è un satellite progettato per impiegare dati satellitari e modelli numerici, consentendo così la rilevazione e il tracciamento del Sargasso pelagico in tempo quasi reale. La raccolta e lo smaltimento del Sargasso rappresentano sfide complesse a causa della vastità e della diffusione di queste alghe in mare aperto. Tuttavia, diversi sforzi sono in corso per sviluppare tecnologie e strategie mirate a gestire questa problematica. Alcuni progetti esplorano l'impiego di barriere galleggianti per raccogliere il Sargasso direttamente in mare, mentre altri cercano soluzioni più sostenibili concentrandosi sull'utilizzo del

Sargasso raccolto. Tuttavia, non sono state ancora trovate delle soluzioni efficienti. Proprio per questo motivo il Sargasso raggiunge le spiagge ed è lì che si decompone, rilasciando gas tossici e un cattivo odore. Per questo motivo in questa prima parte l'analisi affronterà le criticità associate alla sua presenza, insieme all'individuazione delle opportunità che potrebbe offrire.

Tra le prospettive più interessanti si evidenzia l'utilizzo dei Sargassi come risorsa chiave per la produzione di bioenergia. ***Di conseguenza, l'obiettivo principale del percorso di dottorato si è concentrato sulla valorizzazione di questa macroalga, con l'obiettivo specifico di generare biometano attraverso il processo di digestione anaerobica (DA).***

La seconda parte approfondisce, quindi, le attività sperimentali condotte, presentando i risultati ottenuti e offrendo possibili soluzioni per una gestione sostenibile del Sargasso. Il primo studio si è concentrato sulla caratterizzazione del Sargasso, considerando la sua influenza sul processo di digestione anaerobica. Va evidenziato che la dimensione delle particelle svolge un ruolo significativo nel medesimo processo. Pertanto, il primo studio sulla digestione anaerobica è stato dedicato all'individuazione del metodo di pretrattamento meccanico più appropriato. Tutti gli studi di digestione anaerobica hanno avuto l'obiettivo di determinare il potenziale biochimico del metano (PBM). Il PBM sperimentale (PBM_{sp}) dei campioni è stato valutato mediante l'utilizzo dell'Automatic Potential System Test-II (AMPTS[®] II). Invece il PBM teorico è stato calcolato seguendo diversi modelli pseudo empirici.

La composizione chimico-fisica del Sargasso, insieme alla sua morfologia e struttura atomica, esercitano un'influenza significativa sul processo di digestione anaerobica. In particolare, la presenza di materiali inorganici (quale il sale), di un alto contenuto di calcite, insieme alla presenza di lignina e al basso rapporto C/N e alla presenza di una doppia parete cellulare tendono a inibire il processo stesso. Di conseguenza, è stato condotto uno studio specifico sull'impatto di vari pretrattamenti sulla digestione anaerobica del Sargasso. Al fine di ridurre il contenuto di lignina, è stato applicato un pretrattamento ossidativo al Sargasso. Per ridurre il contenuto di sale, invece, è stato effettuato un lavaggio con acqua a 40°C. Nel tentativo di rompere la doppia parete cellulare, il Sargasso è stato sottoposto a pretrattamento con microonde e sonicazione.

Da un'attenta analisi della letteratura, non emergono studi sull'applicazione della sonicazione e dell'ossidazione su matrice algale, né tantomeno riguardanti tali pretrattamenti sul Sargasso.

Inoltre, per aumentare il rapporto C/N, si è optato per il processo di co-digestione, impiegando la frazione organica dei rifiuti solidi urbani (FORSU) come co-substrato. Questo lavoro è stato estremamente importante perché ha avuto lo scopo di proporre un metodo di trattamento applicabile sia sul Sargasso, sia sulla FORSU, con l'obiettivo di razionalizzare la tempistica del trattamento in base alla disponibilità, nel corso dell'anno, del Sargasso stesso e di fornire il rapporto Sargasso/FORSU ottimizzato in vista di un potenziale scale-up. Durante i mesi di non accumulo di Sargasso l'impianto produrrebbe biometano esclusivamente da FORSU e, nel periodo di accumulo del Sargasso, funzionerebbe con una miscela Sargasso-FORSU.

Infine, oltre all'impiego dei tradizionali metodi per valutare l'efficienza del processo, sono state prese in considerazione le influenze delle nanoparticelle di maghemite (Fe_2O_3 NPs) sul processo di digestione anaerobica. La nanotecnologia costituisce una promettente frontiera tecnologica per ottimizzare le prestazioni della digestione anaerobica. Le particelle di dimensioni nanometriche (1-100 nm) presentano straordinarie proprietà fisico-chimiche, tra cui elevata attività, ampia area superficiale reattiva, stabilità chimica e specificità elevata, tutte finalizzate a migliorare le performance e a stimolare la crescita microbica nell'ambito del processo di digestione anaerobica. L'introduzione di nanoparticelle (NPs) incide notevolmente sulla comunità microbica e, a concentrazioni adeguate, potenzia la degradazione della biomassa mediante il trasferimento di elettroni interspecie, diretto o indiretto, concorrendo così in modo significativo al potenziamento della produzione di biogas. Bisogna sottolineare che l'applicazione di nanoparticelle in ambito di digestione anaerobica è una pratica di recente introduzione, testimoniando la continua evoluzione e innovazione nel campo. Le nanoparticelle a base di ferro (Fe-NPs) emergono come i nanomateriali più promettenti per ottimizzare la produzione di biogas. Esse non solo contribuiscono a migliorare la stabilità del processo all'interno del biodigestore, ma favoriscono anche un trattamento più efficace del substrato. Pertanto, la presente indagine costituisce la prima esplorazione sull'impiego delle nanoparticelle nella digestione anaerobica delle macroalghe brune, con un'attenzione specifica rivolta al Sargasso.

Tra le diverse nanoparticelle disponibili, la selezione della Fe_2O_3 è stata determinata principalmente dal suo costo inferiore rispetto alla più diffusa magnetite. L'applicazione delle nanoparticelle Fe_2O_3 nella produzione di biogas è risultata molto rara nella letteratura. In modo analogo alla magnetite Fe_3O_4 , più comunemente utilizzata, le nanoparticelle Fe_2O_3 favoriscono efficacemente il trasferimento diretto di elettroni interspecie con impatti positivi sull'attività degli archaea metanogeni e sulla resa di biogas. È importante notare che la Fe_2O_3 può esercitare un effetto inibitorio sul consorzio metanogenico, un effetto strettamente dipendente dalla concentrazione e dal tempo. Tuttavia, questo studio è concepito per essere il primo a esaminare gli effetti delle nanoparticelle Fe_2O_3 sulla produzione di biogas durante la digestione anaerobica dell'alga bruna Sargasso.

Per quanto riguarda invece l'analisi dei dati, eseguita utilizzando OriginPro19, i parametri cinetici della reazione sono stati accuratamente valutati attraverso l'applicazione di metodologie scientifiche, utilizzando il modello cinetico del primo ordine, il modello Gompertz modificato e la Funzione logistica. Lo studio statistico è invece stato condotto utilizzando il Minitab.

Dunque, tenendo conto di quanto detto, attraverso questa ricerca multidisciplinare, si mira a contribuire a una comprensione più approfondita del fenomeno del Sargasso e a proporre strategie concrete per affrontare le sfide ambientali e socioeconomiche correlate.

Una volta sviluppata e validata la metodologia per la produzione di biometano dal Sargasso, i risultati e le raccomandazioni dello studio saranno condivisi con i Governi locali per l'avvio di un impianto pilota di digestione anaerobica. Questo impianto pilota servirà da modello per futuri progetti di scala più ampia e contribuirà alla promozione di soluzioni energetiche sostenibili e all'uso responsabile delle risorse marine.

PARTE 1

ASPETTI GENERALI

La prima parte della suddetta tesi è incentrata sulla descrizione degli aspetti generali.

Il Capitolo 1 si concentra sull'invasione di Sargasso, un problema crescente che richiede attenzione. Partendo dalle informazioni generali sul Sargasso, si esplora la sua origine e le cause che hanno portato all'attuale invasione. Il capitolo analizza anche i metodi di monitoraggio utilizzati per comprendere meglio l'entità del fenomeno, insieme ai diversi approcci per la raccolta del Sargasso. Infine, vengono esaminati i potenziali impatti ambientali e socioeconomici derivanti dall'invasione del Sargasso.

Nel Capitolo 2, si esplora il Sargasso come possibile fonte di bioenergia. Dopo aver delineato le caratteristiche di questa macroalga, si analizza la sua composizione chimica e le potenzialità di utilizzo per la produzione di energia rinnovabile.

Il Capitolo 3 introduce il concetto di biogas e biometano, offrendo una panoramica generale su entrambi e spiegando il processo di digestione anaerobica.

Nel Capitolo 4, ci si concentra sulla produzione di biometano da matrici algali, con particolare attenzione al Sargasso. Si inizia esaminando la produzione di biometano dalle macroalghe, esplorando le metodologie e gli approcci utilizzati per massimizzare l'efficienza del processo. Successivamente, si discutono i pretrattamenti impiegati per migliorare il rendimento della produzione di biometano, con una comparazione delle diverse tecniche utilizzate, tra cui pretrattamenti fisici, fisico-chimici, biologici e chimici. Infine, si approfondisce la produzione di biometano specificamente dal Sargasso, esaminando le sfide e le opportunità legate all'utilizzo di questa specie di macroalga come risorsa per la produzione di energia rinnovabile.

Capitolo 1

Invasione di Sargasso: una preoccupazione crescente

Le meravigliose spiagge della Repubblica Dominicana, celebri nel mondo, sono attualmente afflitte da un problema serio: l'invasione di macro-alghe brune, appartenenti al genere “*Sargassum*” (Sargasso). L'invasione delle spiagge e del mare ad opera del Sargasso impatta notevolmente sull'industria turistica, compromettendo la chiarezza delle acque e generando odori sgradevoli, simili a quelli delle "uova marce". Infatti, la presenza di queste alghe non solo compromette la trasparenza delle acque cristalline, ma, decomponendosi, emette spesso un odore simile a quello delle “uova marce”. La presenza di queste alghe crea sfide anche per il settore della pesca, ostacolando le reti e rendendo difficile la navigazione. Negli ultimi anni anche la produzione di energia è stata intaccata poiché le alghe hanno raggiunto le acque in prossimità delle centrali termo-elettriche fermando così la produzione in alcuni periodi. Infine, ma non per importanza, tale invasione ha impatti negativi anche sulla salute. Infatti, la decomposizione delle alghe rilascia sostanze nocive come l'idrogeno solforato (H₂S).

Il suddetto capitolo fornisce risposte cruciali alle domande chiave sulla diffusione temporale delle macro-alghe, eventi passati simili, l'origine delle recenti fioriture e i metodi di monitoraggio e di raccolta. Trattando aspetti storici, caratteristiche tassonomiche e morfologiche, distribuzione e tecniche di monitoraggio, si cerca di comprendere l'invasione di macro-alghe brune.

1.1 Il Sargasso: informazioni generali

Le alghe, organismi unicellulari o pluricellulari presenti in ambienti acquatici o umidi (Pereira 2021) si distinguono tra microalghe e macroalghe. Le macroalghe, con una lunghezza massima di 60 m in acque dolci o salate, sono piante multicellulari suddivise in base al pigmento fotosintetico e alla morfologia. I tre principali gruppi sono le alghe brune (Phaeophyceae), le alghe rosse (Rhodophyceae) e le alghe verdi (Chlorophyta) (Figura 1)(Song, Duc Pham, et al. 2015).



Figura 1. Classificazione delle macro-alghe a seconda del pigmento fotosintetico.

Le alghe brune sono gli organismi algali più complessi, con un meccanismo unico di assorbimento dei fotoni durante la fotosintesi (Song, Duc Pham, et al. 2015). Il colore marrone predominante è il risultato dei carotenoidi (cioè fucoxantina) (Rushdi et al. 2020). Tra le 2000 specie di alghe brune, il *Sargassum spp.* o 'Sargasso' rappresenta la specie più abbondante (Wei, Quarterman, and Jin 2013). Il Sargasso pelagico è un'alga bruna, non ancorata al fondale marino che galleggia libera nell'oceano (Doyle and Franks 2015). Il Sargasso pelagico viene descritto come “una giungla dorata galleggiante” che fornisce un habitat essenziale per pesci, tartarughe marine, uccelli e mammiferi (John J. Milledge and Harvey 2016b). Alcune specie di Sargasso vengono utilizzate come materia prima per la produzione di prodotti a valore aggiunto del settore agroalimentare, tessile, cosmetico, farmaceutico, soprattutto nei paesi asiatici (Rushdi et al. 2020) (T. M. Thompson, Young, and Baroutian 2020)(Mattio and Payri 2011)(Murakami et al. 2011). Inoltre, dal Sargasso è possibile estrarre composti funzionali di alto valore, come gli acidi grassi (Nomura et al. 2013), i polisaccaridi solfati, i polifenoli, l'alginato (Oliveira, Alves, and Costa 2015a) (N. Flórez-Fernández, Domínguez, and Torres 2019).

Tuttavia, l'accumulo di quantità eccessive di Sargasso sulle spiagge è causa di numerosi problemi. Ad esempio, le alghe in decomposizione possono rilasciare sostanze tossiche nell'ambiente circostante, compromettendo la qualità dell'aria e dell'acqua e aumentando il rischio di malattie respiratorie e cutanee per i residenti e i visitatori delle zone costiere colpite. La causa legata all'eccessiva fioritura negli ultimi anni non è definita, potrebbe trattarsi del risultato di eventi atmosferici su larga scala, quali aumento della temperatura dell'acqua, cambiamenti climatici e fluttuazioni meteorologiche (Terrell M. Thompson, Young, and Baroutian 2021) (M. Wang and Hu 2016).

1.2 Le origini del Sargasso

Il Sargasso, alga marina bruna, fu avvistato per la prima volta da Cristoforo Colombo nel XV secolo nell'area nota come Mar dei Sargassi (McKevitt 1993) (M. Wang et al. 2019a). Il Mar dei Sargassi, così chiamato per l'abbondanza di Sargasso, è caratterizzato dalla presenza di milioni di tonnellate di Sargasso. Costituisce così la più grande aggregazione di alghe al mondo (John J. Milledge and Harvey 2016b). Il Mar dei Sargassi è situato all'interno del vortice subtropicale del Nord Atlantico con i suoi confini definiti dalle correnti circostanti. La Corrente del Golfo e la Deriva del Nord Atlantico formano i confini occidentali e settentrionali, la corrente delle Canarie forma un confine orientale e la corrente equatoriale settentrionale e la corrente delle Antille formano il confine meridionale. È l'unico mare senza confini terrestri con profondità dell'acqua che vanno dalle barriere coralline superficiali delle Bermuda alle pianure abissali a 4500 m (Laffoley et al. 2011). L'Alleanza del Mar dei Sargassi ha delineato una mappa del Mar dei Sargassi (Laffoley et al. 2011) (Freestone 2021), riportata in Figura 2.

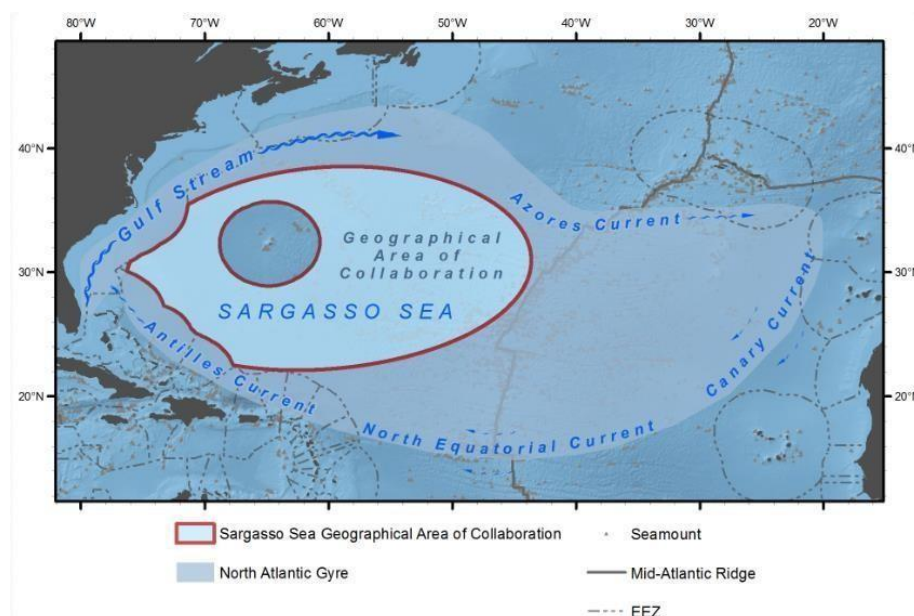


Figura 2. Mappa dell'area di studio dell'Alleanza del Mare dei Sargassi.

Fonte: Marine Geospatial Ecology Lab, Duke University.

La mappa indica l'area di studio dell'Alleanza del Mare dei Sargassi, comprese alcune delle principali caratteristiche che influenzano la definizione e la posizione complessiva dei confini. La linea intorno alle Bermuda rappresenta il confine più interno dell'area di studio che segna l'inizio dell'ascesa delle Bermuda.

Le immagini satellitari mostrano la presenza di una nuova area caratterizzata dalla presenza massiccia di Sargasso (20 milioni di tonnellate), ribattezzata come “Great Atlantic Sargasso Belt” (GASB) (M. Wang et al. 2019b).

La GASB, con origini risalenti al 2011 (Luis et al. 2021) si estende per 8850 km nell’Oceano Atlantico. La fioritura dei sargassi che ha creato la Grande cintura atlantica dei sargassi colpisce le coste e il mar dei Caraibi, il Brasile e parte della costa occidentale dell’Africa (Luis et al. 2021). Nella mappa in Figura 3 (Luis et al. 2021) è riportata l’area che caratterizza il GABS.

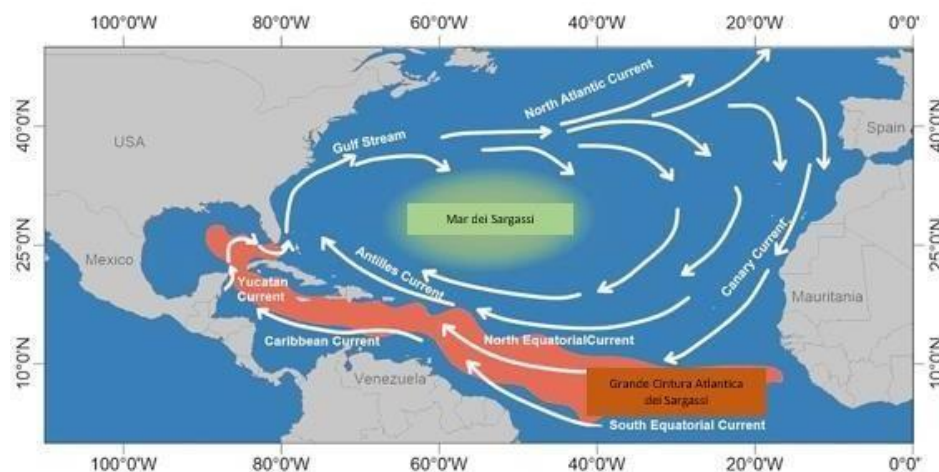


Figura 3. Mappa del Mar dei Sargassi e la Grande Cintura Atlantica dei Sargassi.

1.3 Le cause alla base dell’invasione del Sargasso

Le potenziali cause alla base dell’invasione di Sargasso sono ad oggi poco conosciute, sono state avanzate diverse ipotesi al fine di poter rispondere a tali interrogativi. Negli ultimi anni, un gran numero di inquinanti, quali acque reflue industriali, fognature domestiche e rifiuti di irrigazione agricola sono stati riversati in mare, contribuendo così alla crescita algale (Zou et al. 2018) (Lapointe et al. 2021). L’aumento della produzione e deflusso (verso il mare) di fertilizzanti artificiali ha favorito tale processo a causa della proliferazione dei nutrienti, quali azoto e fosforo (Lapointe et al. 2021), ed ha creato un ambiente ideale per la crescita del Sargasso (Djakouré et al. 2017). Tali fertilizzanti artificiali sono utilizzati soprattutto a valle della deforestazione, favoriscono la crescita

rapida dei prodotti agricoli e vengono riversati nei corsi d'acqua fino a raggiungere il grande Rio delle Amazzoni. E da lì fino al mare.

Secondo alcuni studi il cambiamento climatico ha influenzato le correnti marine (Djakouré et al. 2017) (Louime, Fortune, and Gervais 2017). L'aumento delle temperature oceaniche, nell'oceano Atlantico tropicale potrebbe aver indotto condizioni di temperatura favorevoli per le fioriture di Sargasso (M. Wang et al. 2019a).

Inoltre, enormi pennacchi di polvere, ricca di sostanze nutritive (compresi Fe, K e fosfato), provenienti dal deserto del Sahara rappresentano i principali driver che facilitano la crescita delle alghe nel mare (Louime, Fortune, and Gervais 2017) (Terrell M. Thompson, Young, and Baroutian 2021).

In Figura 4 è schematizzato il “circolo vizioso” che racchiude le principali cause dell'aumento della concentrazione di Sargasso.

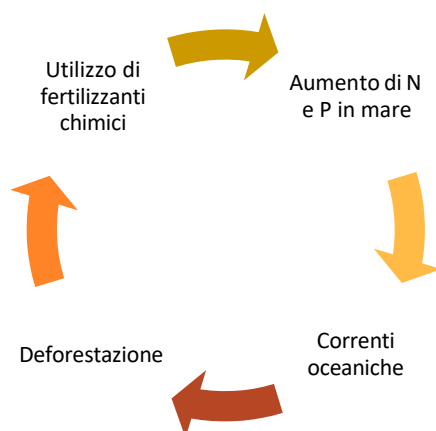


Figura 4. Principali cause dell'aumento della concentrazione di Sargasso.

1.4 Monitoraggio del Sargasso

L'Università della Florida del Sud, tramite il laboratorio di oceanografia ottica, mette a disposizione degli utenti una piattaforma sulla quale sono presenti le immagini e le date raccolte dal *Sargassum Watch System* (SaWS) (Figura 5).

Il *Sargassum Watch System* (SaWS) è progettato per utilizzare dati satellitari e modelli numerici per rilevare e tracciare il Sargasso quasi in tempo reale. Il SaWS utilizza quattro sensori satellitari:

1. MODIS terra, attivo dal 2000, caratterizzato da una risoluzione spaziale di 1000 m, opera su bande spettrali 667 nm, 748 nm e 869 nm;
2. MODIS acqua, attivo dal 2002, caratterizzato da una risoluzione spaziale di 1000 m, opera su bande spettrali 667 nm, 748 nm e 869 nm;
3. VIIRS, attivo dal 2012, caratterizzato da una risoluzione spaziale di 750 m, opera su bande spettrali 671 nm, 745 nm e 862 nm;
4. Landsat 8 OLI, attivo dal 2013, caratterizzato da una risoluzione spaziale di 30 m, opera su bande spettrali 655 nm, 865 nm e 1609 nm.

I dati grezzi del satellite sono forniti dalla NASA (National Aeronautics and Space Administration) e dall'USGS (United States Geological Survey) statunitensi. Questi dati vengono scaricati ed elaborati attraverso un'antenna virtuale.

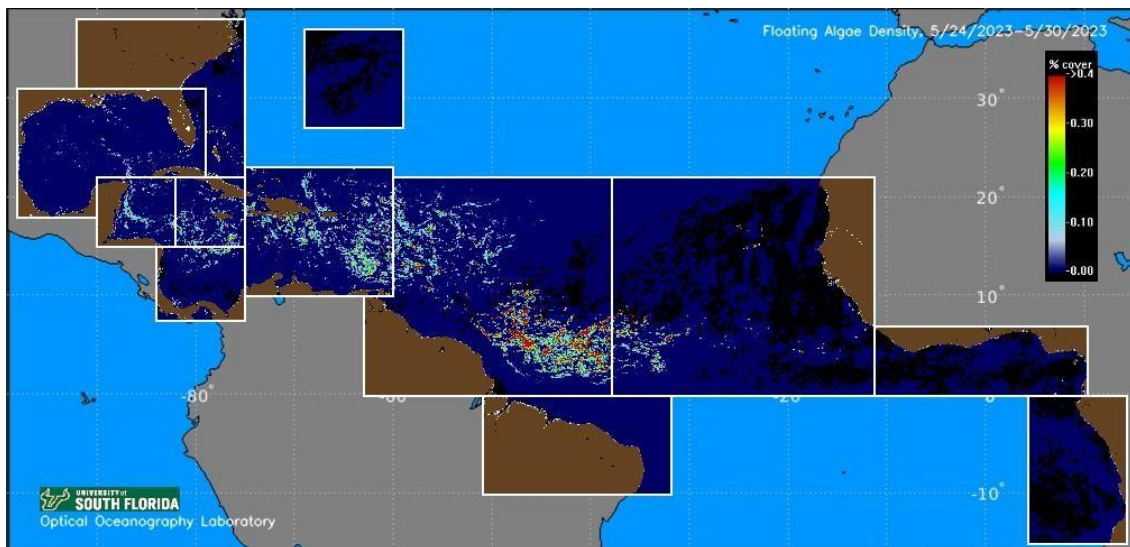


Figura 5. Mappa SaWS interattiva.

Fonte: South Florida University.

La densità algale viene calcolata mediante l'“Alternative floating algae index” (FAFI) che esamina la riflettanza del bordo rosso della vegetazione galleggiante (M. Wang and Hu 2016). La densità algale viene riportata in termini di percentuale di copertura dell'area. La barra dei colori riporta i valori di copertura. Un valore di 0,1 sulla barra dei colori indica una copertura dell'area superficiale dello 0,1% da parte delle alghe in quella posizione. La densità è calcolata come media dei sette giorni passati (incluso il giorno

corrente). In Figura 6 sono riportate le immagini SaWS relative all'area della Repubblica Dominicana da gennaio a dicembre del 2021. Si può osservare che il periodo di massima fioritura del Sargasso va da maggio a novembre.

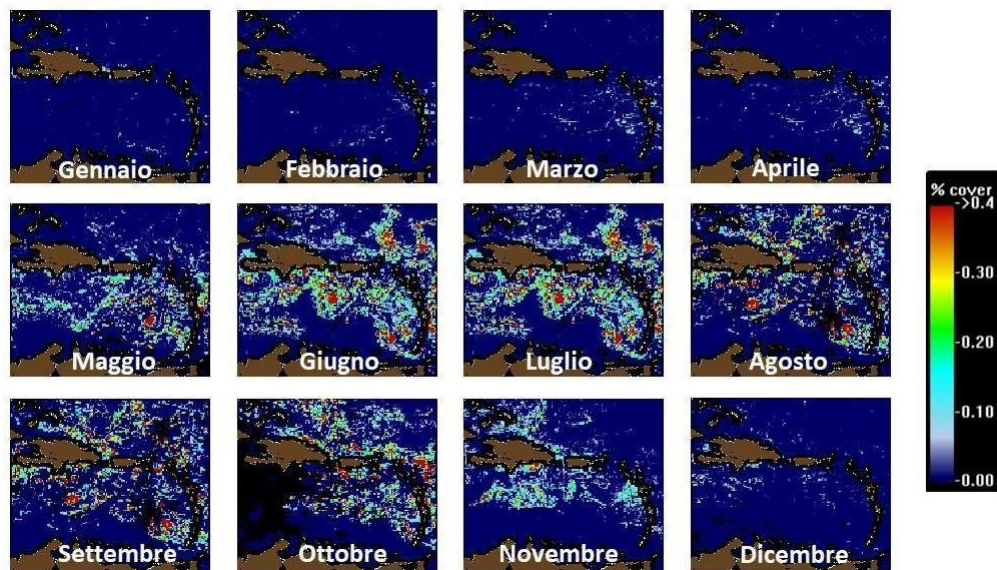


Figura 6. Mappatura SaWS della copertura di Sargasso nella regione della Repubblica Dominicana da gennaio a dicembre 2021.

Fonte: Immagine tratta dai bollettini forniti dall'Università del sud della Florida e rielaborata dall'autore.

In Figura 7 sono riportate le immagini SaWS relative all'area della Repubblica Dominicana da gennaio a dicembre del 2022.

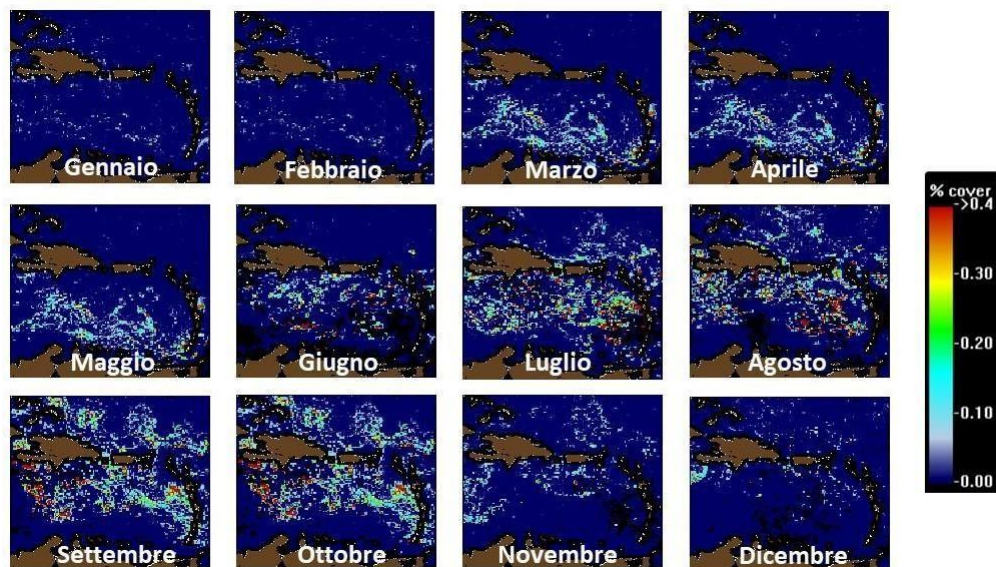


Figura 7. Mappatura SaWS della copertura di Sargasso nella regione della Repubblica Dominicana da gennaio a dicembre 2022.

Fonte: Immagine tratta dai bollettini forniti dall'Università del sud della Florida e rielaborata dall'autore.

In Figura 8 sono riportate le immagini SaWS relative all'area della Repubblica Dominicana da gennaio a dicembre del 2023.

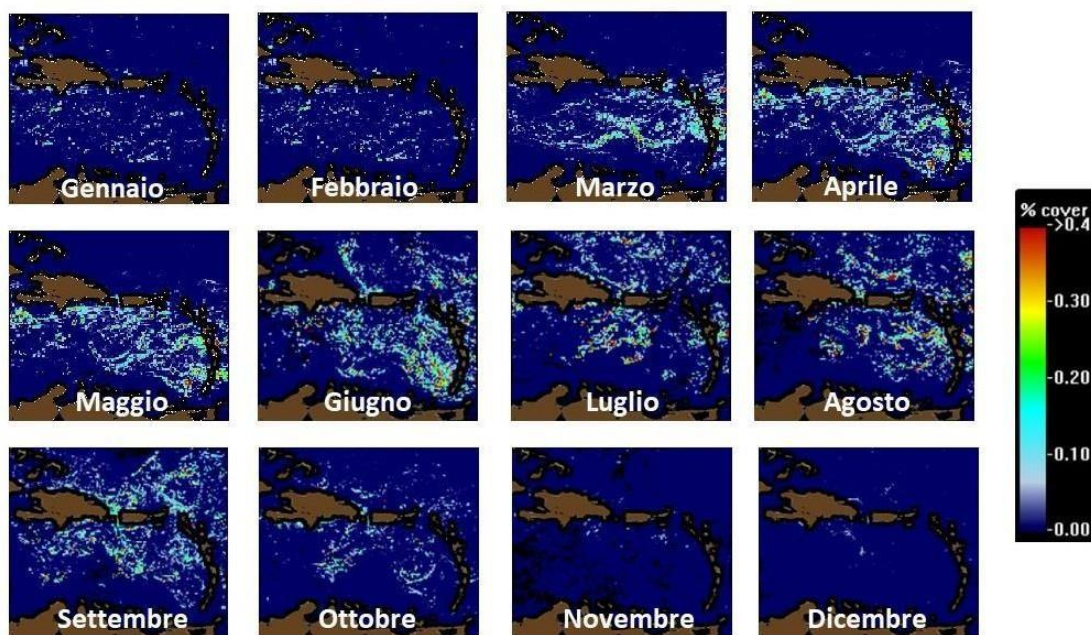


Figura 8. Mappatura SaWS della copertura di Sargasso nella regione della Repubblica Dominicana da gennaio a dicembre 2023.

Fonte: Immagine tratta dai bollettini forniti dall'Università del sud della Florida e rielaborata dall'autore.

In Figura 9 sono state messe a confronto le mappe SaWS della copertura di Sargasso, dal 2017 al 2022, nella regione della Repubblica Dominicana da aprile a dicembre.

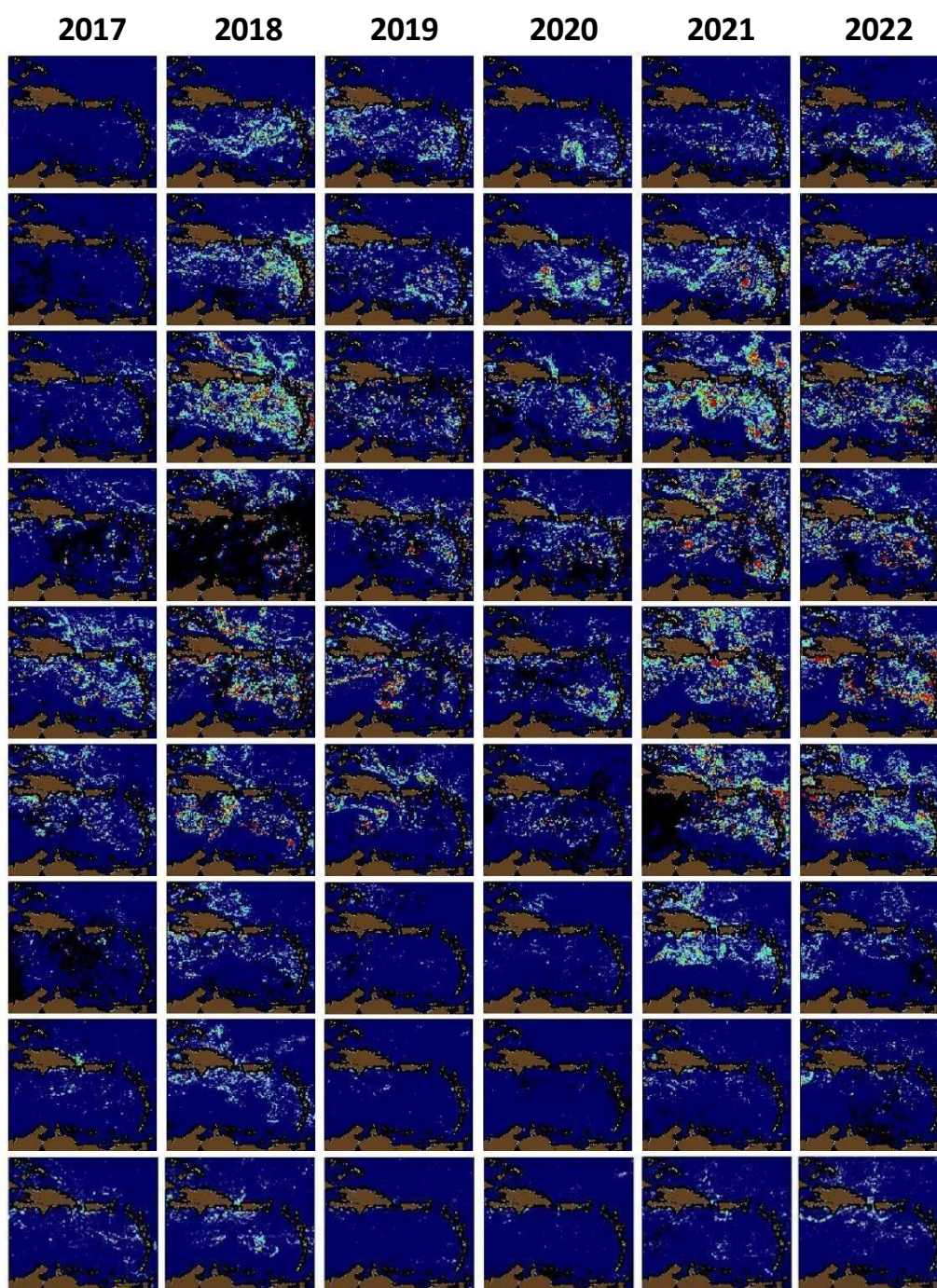


Figura 9. Confronto della mappatura SaWS della copertura di Sargasso, dal 2017 al 2022, nella regione della Repubblica Dominicana da aprile a dicembre.

Fonte: Immagine tratta dai bollettini forniti dall'Università del sud della Florida e rielaborata dall'autore.

Nel maggio 2023, per la prima volta dal 2011, la quantità totale di Sargasso nell'Oceano Atlantico è diminuita del 15% (Disclaimer: The information bulletin is meant to provide a general outlook of current bloom condition and future bloom probability for the Caribbean Sea. By no means should it be used for commercial purpose, or used for predicting bloom conditions for a s 2023) (Figura 10).

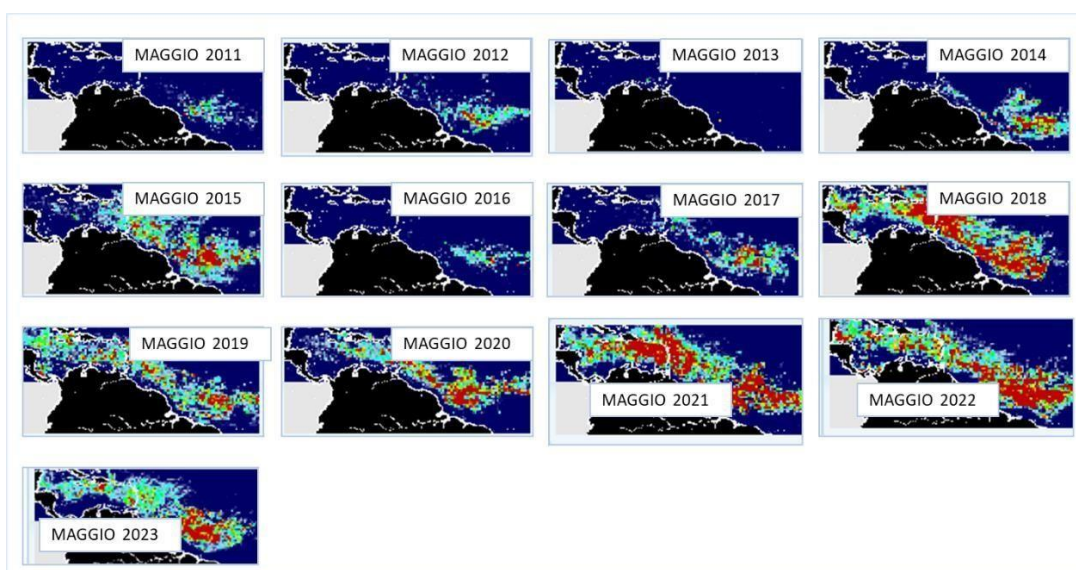


Figura 10. Confronto della copertura di Sargasso da maggio 2011 a maggio 2023 nella Repubblica Dominicana.

Fonte: Immagine tratta dai bollettini forniti dall'Università del sud della Florida e rielaborata dall'autore.

1.5 Metodi di raccolta

Attualmente non esiste una soluzione efficiente per quanto riguarda la raccolta e lo smaltimento del Sargasso. Tuttavia, esistono alcune soluzioni che riescono a risolvere il problema in piccole aree per periodi brevi, così come mostrato in Figura 11. Nelle zone turistiche, ogni resort pulisce le spiagge con l'uso di escavatori, trattori e camion. Nonostante ciò, data l'eccessiva quantità di Sargasso, con questo metodo di pulizia non è possibile mantenere pulite le spiagge (Gray et al. 2021). In alcune aree sono installate

barriere galleggianti per dirigere la massa di alghe, ma molte riescono a superare le barriere (Gray et al. 2021).

Sargassum Ocean Sequestration of Carbon ("SOS Carbon") fornisce soluzioni per la raccolta di Sargasso. Hanno brevettato (PCT/US/2021/017873) un sistema di raccolta, il Littoral Collection Module (LCM). Il Littoral Collection Module (LCM) è un modulo a basso costo progettato per essere collegato a qualsiasi imbarcazione. L'LCM ha cerchi a cui sono attaccate lunghe reti tubolari progettate per intrappolare il Sargasso. Il movimento in avanti delle barche LCM fa entrare il Sargasso nelle reti. Quando le reti si riempiono, vengono chiuse e portate nell'area di raccolta locale. Il costo stimato è inferiore as $1\$/m^3$.



Figura 11. Metodi di raccolta del Sargasso a Punta Cana (aprile 2023): a) raccolta presso il resort Riu Naiboa Punta Cana, b) raccolta SOS Carbon a Punta Cana.

Fonte: immagini prodotte dall'autore.

Attualmente, il Littoral Collection Module (LCM) viene utilizzato su scala pilota o in progetti dimostrativi in varie località costiere colpite dall'accumulo di Sargasso. Tuttavia, l'implementazione su larga scala del LCM è ancora limitata e soggetta a diverse considerazioni, tra cui la disponibilità di finanziamenti, la fattibilità logistica e operativa e l'efficacia del dispositivo stesso.

1.6 Potenziali impatti dell'invasione di Sargasso

Studi recenti hanno dimostrato che l'accumulo di Sargasso sulle spiagge ha effetti negativi sugli ecosistemi costieri e sulle spiagge (Masunga et al. 2016) (Sembera, Meier, and Waliczek 2018). La decomposizione del Sargasso crea le cosiddette "Golden Tides" o "Brown Tides", che rendono l'acqua marrone e bloccano la penetrazione della luce solare con conseguenti condizioni anossiche, perdita di nutrienti e produzione di gas tossici (Sembera, Meier, and Waliczek 2018) (Smetacek and Zingone 2013). Di conseguenza, alcune specie di coralli, comunità bentoniche e specie faunistiche muoiono in proporzioni maggiori a causa della bassa concentrazione di ossigeno disciolto e alti valori di ammonio, fosforo e zolfo (Luis et al. 2021). Sulle coste l'accumulo può formare un "muro" alto un metro, tale muro impedisce l'accesso ai siti di nidificazione delle tartarughe e si crea un ambiente contaminato (Maurer, De Neef, and Stapleton 2015). Inoltre, l'accumulo di Sargasso può anche causare l'erosione della spiaggia, a seconda delle condizioni locali (Laffoley et al. 2011). Infine, la decomposizione del Sargasso sulle spiagge provoca l'emissione di gas nocivi che possono causare problemi respiratori, soprattutto agli asmatici. I massicci eventi di spiaggiamento di Sargasso sono fenomeni recenti nei Caraibi, i residenti risentono degli impatti socioeconomici di tale afflusso. La rimozione di Sargasso dalle spiagge o la prevenzione del suo raggiungimento possono essere molto costose, con un costo di circa 5 milioni US\$ nel Golfo del Messico messicano e stimati costo nei Caraibi di 120 milioni di dollari (Acid et al. 2020). Nei Caraibi il meccanismo regionale della pesca ha addirittura stimato i costi di bonifica di Sargasso per le spiagge caraibiche nel 2018 a 210 milioni di dollari (Oviatt et al. 2019).

Non sono ancora state trovate soluzioni sostenibili per eliminare l'eccesso di Sargasso dalle coste per preservare gli ecosistemi e l'industria del turismo. In effetti, le fioriture di Sargasso possono durare settimane e influiscono negativamente sulle economie basate sul turismo delle regioni costiere (T. M. Thompson, Young, and Baroutian 2020). L'attuale bonifica finalizzata a minimizzarne l'impatto consiste nell'azione manuale o meccanica di ritiro di Sargasso, preferibilmente entro 72 h dall'arrivo (Chávez et al. 2020), seguito dallo smaltimento in discarica (Sembera, Meier, and Waliczek 2018).

La causa, gli effetti e le potenziali soluzioni dell'epidemia sono argomenti di dibattito internazionale (Louime, Fortune, and Gervais 2017). Secondo i dati del Ministero

dell'Ambiente e per le risorse naturali si stima che in Repubblica Dominicana siano state colpite 49 spiagge nazionali del paese dall'arrivo di Sargasso nel 2018, con un accumulo di 2.424.800 metri cubi. Di conseguenza, l'approccio di soluzioni sostenibili e scientifiche per superare l'impatto di Sargasso sugli ecosistemi, la pesca e il turismo è essenziale per la realtà dominicana. Questa invasione senza precedenti potrebbe offrire numerose opportunità economiche nel settore energetico (Clara and Cuevas 2020) (Liranzo-Gómez, García-Cortés, and Jáuregui-Haza 2021).

Capitolo 2

Il Sargasso come fonte di bioenergia

Il primo capitolo ha delineato il problema legato all'invasione del Sargasso in Repubblica Dominicana, evidenziando le sue conseguenze. Tuttavia, il Sargasso può rappresentare, una possibile risorsa da valorizzare. Al fine di comprendere come questa biomassa possa essere sfruttata, è necessario fornire maggiori dettagli in merito al Sargasso.

Questo capitolo fornisce una descrizione dettagliata delle caratteristiche del Sargasso, esplorando la sua composizione chimico-fisica e illustrando come possa essere valorizzato per la produzione di bioenergia.

Parte dei contenuti di questo capitolo sono stati estratti dalla review “*Sargassum Invasion in the Caribbean: An Opportunity for Coastal Communities to Produce Bioenergy Based on Biorefinery—An Overview*”, redatta nell’ambito di questo lavoro di tesi e pubblicata sulla rivista *Waste and Biomass Valorization* (Paletta et al., 2023).

2.1 Caratteristiche del Sargasso

Descritto per la prima volta 200 anni fa (Mattio and Payri 2011), il Sargasso è una macroalga bruna. Appartiene alla famiglia Sargassaceae, ordine Fucales, classe Phaeophyceae, sottoclasse Ciclosporeae, phylum Heterokontophyta (Rushdi et al. 2020). Ha un tipico colore marrone dovuto alla presenza di xantofille, una classe di carotenoidi contenenti ossigeno. Il pigmento principale del Sargasso è la fucoxantina. Il Sargasso, da un punto di vista morfologico, è molto complesso (Mattio and Payri 2011), è composto da numerose appendici fogliari, rami e strutture rotonde piene di gas simili a bacche chiamate pneumocisti. Le pneumocisti consentono al Sargasso di galleggiare sulla superficie dell'acqua. I membri più grandi possono raggiungere diversi metri di lunghezza. Il tallo, la forma delle foglie, la base delle foglie, il peduncolo, il margine, la nervatura centrale e l'apice delle foglie variano da specie a specie (Rushdi et al. 2020).

Esistono circa 150 specie di Sargasso distribuite in tutto il mondo (Namvar et al. 2013). Le specie più comuni nel Mar dei Caraibi sono *Sargassum fluitans* e *Sargassum natans* (M. Wang et al. 2019b) (T. M. Thompson, Young, and Baroutian 2020) . Queste sono le

solo due specie olopelagiche di Sargasso che trascorrono il loro intero ciclo di vita nella superficie dell'acqua.

2.2 Composizione chimica del Sargasso

La composizione chimica del Sargasso è molto complessa, essa varia da una specie all'altra, dalla collocazione geografica e dal periodo (Murakami et al. 2011). Le variazioni nella composizione chimica del Sargasso dovute al luogo di raccolta e al periodo sono importanti da comprendere al fine di sviluppare tecniche di conservazione durante la fioritura di Sargasso (T. M. Thompson, Young, and Baroutian 2020). I componenti più abbondanti del Sargasso sono i carboidrati e le ceneri, mentre il contenuto di lipidi e fibre è basso (John James Milledge et al. 2020) (John J. Milledge and Harvey 2016b). Il contenuto di umidità è generalmente elevato, compreso tra il 70 e il 90%, mentre il contenuto di ceneri (su base secca) varia dal 10 al 76%. I principali svantaggi associati a valori di umidità così elevati sono l'uso di tassi di carico organico limitati dei digestori e il breve periodo di stoccaggio della biomassa (Montingelli, Tedesco, and Olabi 2015). Il Sargasso ha un'elevata capacità di assorbire metalli e altri elementi, inclusi metalli tossici che possono penetrare nelle acque sotterranee. I metalli rilevati in campioni di *S. fluitans* e *S. natans* sulle coste messicane e dominicane sono: Al, As, Ca, Cl, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, P, Pb, Rb, S, Si, Sr, Th, U, V, Zn. La concentrazione di arsenico varia da 24 a 172 ppm (Fernández et al. 2017) . Inoltre è stata rilevata anche la presenza di composti bioattivi, come flavonoidi, saponine, tannini, fenoli, alcaloidi, terpenoidi (O. and A. 2014). Sono stati condotti studi sulla composizione chimica di alghe rosse, verdi e brune (Oucif et al. 2020), i contenuti di proteine, lipidi, carboidrati e ceneri sono rispettivamente 5.8–14.1%, 0.6–2.7%, 13.4–46.1% e 24.6–76.4%. Altri autori hanno recentemente riportato un'analisi compositiva di *S. natans* VIII, *S. natans* I e *S. fluitans* raccolti a Turks e Caicos nel 2019 (John James Milledge et al. 2020). Tutti i campioni hanno mostrato un elevato contenuto di umidità (82–87%) e contenuto di ceneri (34–47% dw) (Acid et al. 2020). Le stesse specie, raccolte nella costa settentrionale dei Caraibi nel settembre 2018, sono state caratterizzate. La composizione chimica è risultata omogenea rispetto al luogo di raccolta per la maggior parte dei componenti analizzati. Sono state osservate delle lievi differenze per alcuni componenti inorganici quali ceneri, carbonio elementare e contenuto di metalli (Vázquez-Delfín et al. 2021). La Tabella 1 riassume la composizione chimica del Sargasso pelagico secondo diversi studi. La composizione chimica delle macroalghe è molto importante e influenza la digestione anaerobica per la produzione di biogas

quando le macroalghe vengono utilizzate come substrato. La concentrazione di carbonio e azoto è fondamentale, perché il rapporto (C/N) influenza fortemente il processo di AD. Quando il C/N è molto elevato, il consumo di azoto avviene rapidamente e la produzione di biogas diminuisce (López-Aguilar et al. 2021). Al contrario, un rapporto C/N basso provoca il rilascio e l'accumulo di azoto sotto forma di ione ammonio, il cui elevato livello aumenta la pH nel digestore ed è tossico per i batteri metanogeni (Montingelli, Tedesco, and Olabi 2015). Per ottenere un processo di digestione stabile, il rapporto C:N ottimale si trova nell'intervallo 20-30 (Montingelli, Tedesco, and Olabi 2015). È evidente che il C/N del Sargasso pelagico varia a seconda della stagione e del sito di raccolta, varia da 7 a 14 in Cina a circa 22–27 nei Caraibi. A causa delle sue condizioni di crescita oceaniche, le macroalghe contengono un alto livello di sali che provocano un effetto negativo sulla produzione di biogas (T. M. Thompson, Young, and Baroutian 2020). I macronutrienti (Na, Mg, Al, P, K e Ca) sono essenziali per la crescita anaerobica per l'attività metabolica e per la stabilità del biodigestore (Terrell M. Thompson, Young, and Baroutian 2020), ma un livello elevato di sale causa la disidratazione delle cellule batteriche a causa della pressione osmotica, causa un rallentamento della crescita e può causare inibizione o tossicità (Chen, Cheng, and Creamer 2008). Inoltre, l'alto contenuto di Na influenza la comunità batterica degli archaea. Infatti, una concentrazione di sodio di 4.42 g L^{-1} promuove la crescita di *Paludibacter* e *Fibrobacter* mentre una concentrazione di sodio di 20.15 g L^{-1} inibisce la crescita degli acetoclasti durante il processo di digestione anaerobica (Yi Zhang, Li, et al. 2017). Inoltre, i microrganismi necessitano di tracce di microelementi (Fe, Ni, Zn, Cu) per la loro crescita e produzione di metano, ma l'accumulo di As, Cd, Cr, Hg e Pb è tossico, così come la presenza di carbammati (López-Aguilar et al. 2021). Il Sargasso pelagico può contenere una grande quantità di metalli pesanti; $\text{Fe} > \text{Mn} > \text{Zn} > \text{As} > \text{Ni} > \text{V} > \text{Cu} > \text{Cr} > \text{Co} > \text{Hg} > \text{Cd} > \text{Pb}$, che hanno un impatto negativo sulla digestione anaerobica dopo il loro rilascio dalla materia prima (Terrell M. Thompson, Young, and Baroutian 2020). L'effetto tossico dei metalli pesanti è dovuto all'interruzione della funzione degli enzimi ed alla distruzione della struttura degli enzimi legando i metalli con il tiolo e altri gruppi di molecole delle proteine o sostituendo i metalli presenti in natura con gruppi protesici enzimatici (Chen, Cheng, and Creamer 2008).

Per quanto riguarda la composizione approssimativa, le fibre insolubili sono recalcitranti alla digestione anaerobica e i polifenoli sono inibitori della digestione anaerobica

(Devault et al. 2021). La resa teorica di metano da lipidi, proteine e carboidrati è 1.014, 0.851 e 0.415 LCH₄ g⁻¹ SV (solidi volatili), rispettivamente (Oucif et al. 2020). Pertanto, i lipidi influenzano la resa teorica ma il loro livello nel Sargasso è molto basso.

2.3 Uso del Sargasso come fonte di bioenergia

La produzione di bioenergia (biogas, biometano, bioidrogeno) da risorse rinnovabili rappresenta una valida alternativa alla produzione tradizionale di energia a partire da risorse fossili. L'utilizzo della biomassa per fornire servizi energetici è strategicamente importante al fine di implementare lo sviluppo dell'energia rinnovabile (Slade, Bauen, and Gross 2014). Identificare i luoghi di coltivazione, i tipi di colture bioenergetiche appropriate, e le pratiche di gestione ottimali rappresentano delle sfide per lo sviluppo sostenibile delle bioenergie. La produzione di energia da fonti rinnovabili si traduce spesso in un utilizzo diretto e indiretto di suolo. Per questo motivi, la bioenergia di prima e seconda generazione prodotta a partire da colture agricole o dedicate implica un'evidente concorrenza tra l'uso di biomasse per scopi alimenti/mangimi e combustibili ed inoltre necessita dell'utilizzo di notevoli quantità di acqua (Y. Wu et al. 2018).

Il crescente accumulo di Sargasso sulle coste atlantiche ha sensibilizzato la comunità scientifica in merito al potenziale uso sostenibile di questa macroalga come fonte di energia e di prodotti ad alto valore aggiunto, per risanare le spiagge e promuovere la crescita dei settori del turismo e della pesca (T. M. Thompson, Young, and Baroutian 2020). Il Sargasso rappresenta una fonte di energia più sostenibile rispetto alle colture terrestri perché non ha bisogno di terra per la crescita (Tedesco and Daniels 2018), e la produzione di biocarburanti è una delle maggiori applicazioni ricercate (del Río et al. 2020).

Le microalghe sono anche utilizzate per la produzione di bioenergia ma la fattibilità economica su scala commerciale e la sostenibilità ambientale sono ancora lontane dall'essere raggiunte (Raheem et al. 2018) (Bhushan et al. 2020).

Tabella 1. Composizione chimico-fisica del Sargasso secondo diversi studi.

Sito e anno di raccolta	Nigeria (2012) (O. and A. 2014)	Dominican Republic (2015) (Fernández et al. 2017)	Ghana (2015) (Gloria and Kweku 2016)	Trinidad and Tobago (2017) (Mohammed et al. 2020)	Barbados (2018) (Terrell M. Thompson, Young, and Baroutian 2020)	Mexican-Caribbean (2018) (Vázquez-Delfín et al. 2021)	Cancun, Mexico (2019) (López-Aguilar et al. 2021)	Turks and Caicos (2019) (John James Milledge et al. 2020)
Umidità (%)	9.00 ± 0.14			18.90 ± 0.05	20.63 ± 0.93	83-86 (biomassa fresca)		81.98-87.41 (biomassa fresca)
Ceneri (%)	8.65 ± 0.07			13.43 ± 0.01	31.82 ± 1.34	18.1 -23.9		33.63-46.94
Proteine (%)	15.4 ± 0.0			4.70 ± 0.23		8.1 – 10.3		2.99 – 4.19
Lipidi (%)	2.50 ± 0.07			0.01 ± 0.00		2.5 – 3.4		3.58 – 4.56
Carboidrati (%)	57.30 ± 0.21			63.10 ± 0.06		14.0 – 17.0		11.68 – 27.40
Ag (ppm)		<0.6						
Al (ppm)		303-4188			2300.08±57.73		0.032	16.21-37.5

As (ppm)		13.7-42.3	13- 53.5	35.22±0.61	29.0-65.7		20.94-123.69
B (ppm)		10,224-116,294					
Ba (ppm)		6.8-16.5				0.243	
C (%)				27.50±0.65	26.8-33.0	28.8	27.41-29.23
Ca (ppm)		96,901-133,400		48,895.20±1232.16		539.5	26,020-70,306
Cd (ppm)		0.1-0.3	78-119	0.79±0.01	0.32-1.36		0.09-0.13
Ce (ppm)		0.4-3.2					
Cl (ppm)			22.5- 1353				
Co (ppm)		0.4-1.1		6.51±0.15			
Cr (ppm)		2.3-55.5		12.96±0.39		0.011	<0.43
Cu (ppm)		1.6-11.9	24-36	25.08±0.59	<0.20-1.09	0.036	1.25-2.91
Fe (ppm)	8700±280	20-655	1209- 5910	2398.37±52.52	24.0-54.6	0.251	81.58-3811
H (%)				4.16±0.30		3.4	3.13-3.7
Hg (ppm)		0.5-1.4	1-2	1.36±0.04			<0.01
I (ppm)	40 ± 0						
K (ppm)	28,000±740	2208-33,602	0.72- 2.48	49,973.09 ±1179.36			7444-69,359

Mg (ppm)	42,755±350	10.211-18,240		8233.78±170.44		75.267	12,053-16,547
Mn (ppm)		15.6-32.2		337.51±7.93		0.156	<3-30.15
Mo (ppm)		0.6-3					
N (ppm)	6360±200		0.62- 1.04	1.21±0.06		9000- 11,000	1.28-1.71
Na (ppm)		3802-21,068		14,890.65±288.88			
Ni (ppm)		10-32.5		34.90±0.90			
O (%)				34.49±0.18		39.7	20.62-31.79
P (ppm)	96,500±21,200	761-1145		855.13±11.89			138.3-500.6
Pb (ppm)		1-2	86-335	0.40±0.01		<0.20-0-29	0.26-0.48
Rb (ppm)		0.3-10.2					
S (ppm)		60.2-70.3		0.82±0.22			
Se (ppm)		<0.0001					
Si (ppm)		0.25-0.72					
Sr (ppm)		1162-1436					
Th (ppm)		0.04-0.43					
Ti (ppm)							
U (ppm)		37.3-91.7					
V (ppm)		1.1-2.8		25.76±0.64			
Zn (ppm)	50±0	12.7-20.6	16-100	105.65±2.16		3.6-7.2 0.098	5.81-35.64

Zr (ppm)

7.6-38.2

Capitolo 3

Biogas e biometano: aspetti generali

Nel secondo capitolo è stato descritto il Sargasso come potenziale materia prima per la produzione di bioenergia, in particolare di biogas e biometano.

In questo capitolo viene offerta una descrizione dettagliata sul biogas, ossia una miscela di metano, anidride carboniche e tracce di altri gas. La trattazione include una dettagliata analisi del processo di digestione anaerobica (DA) per la produzione di biogas, la sua successiva purificazione e le sue proprietà.

Inoltre, viene approfondito il contesto degli impianti di biogas e della produzione di energia da fonti rinnovabili in Repubblica Dominicana, con particolare attenzione all'impatto ambientale di queste pratiche.

3.1 Cosa sono il biogas e il biometano?

Quando la frazione organica, come il cibo, il letame, gli scarti agricoli, fanghi, etc., va incontro a decomposizione in assenza di ossigeno libero, produce un gas che consiste nel 50%-75% di metano e del 25%-50% di anidride carbonica, con tracce di azoto, idrogeno, ammoniaca e idrogeno solforato (solitamente meno dell'1% del volume totale del gas) (Kougias and Angelidaki 2018). Questo gas viene comunemente chiamato “biogas”.

Si ipotizza che il biogas fosse utilizzato per riscaldare l'acqua in Assiria già nel X secolo a.C. e che il processo di digestione anaerobica dei rifiuti solidi potrebbe essere stato applicato in Cina in tempi antichi (Bond and Templeton 2011).

I tentativi di sfruttamento dei rifiuti organici sono ben documentati e la digestione anaerobica delle biomasse da parte dell'uomo risale alla metà dell'Ottocento, quando furono costruiti i primi digestori anaerobici in India e in Nuova Zelanda. Nel 1921 in Cina venne costruito un serbatoio di biogas da 8 m³ alimentato con rifiuti domestici. Negli anni '70 si verificò un aumento del prezzo del petrolio. Tale aumento spinse la ricerca verso l'individuazione di fonti energetiche rinnovabili, tra queste il biogas. La crescita dell'uso

di biogas in molti paesi asiatici e latino-americani risale alla fine degli anni '70 e inizi degli anni '80 (Abbasi, Tauseef, and Abbasi 2012).

Tra il 2000 e il 2022 la produzione globale di biogas è cresciuta fortemente. Per quanto riguarda la situazione Europea, l'espansione del settore europeo del biogas è stata accelerata da misure governative favorevoli che hanno promosso l'uso di questa fonte rinnovabile. Nel 2020 il consumo energetico interno lordo di biogas ha raggiunto i 14.716 ktep, in notevole aumento rispetto ai 1.376 ktep del 2000, così come riportato da European Repost Statistic.

In Repubblica Dominicana la situazione è ben diversa, sono presenti solo cinque impianti di biogas, così come riportato sul portale Comision Nacional De Energia. Questi impianti sono locati a Santo Domingo, Juma, Santiago, Santo Domingo e Monte Plata caratterizzati da una potenza (MW) rispettivamente di 1.5, 1.5, 1.5, 2 e 5.

In Tabella 2 è riportata la produzione di energia rinnovabile per tipo di fonte primaria rispetto alla produzione totale di energia prodotta in Repubblica Dominicana, secondo i dati rielaborati <https://www.cne.gob.do/?s=biogas>. Nel 2013 sono stati prodotti 14,384.3 GWh di energia da fonti non rinnovabili e rinnovabili. L'energia prodotta da fonte rinnovabile ha rappresentato solo il 16.3%. Nel 2013 non è stata prodotta energia sfruttando le biomasse, così come è accaduto nei tre anni successivi. Nel 2017 sono stati prodotti 16,317.0 GWh di energia totale, di cui il 17% da fonti rinnovabili. Dell'energia prodotta da fonti rinnovabili solo il 5.12% è stato prodotto sfruttando le biomasse. Nel 2018 sono stati prodotti 17,734.7 GWh di energia totale, di cui il 16.3% da fonti rinnovabili. Dell'energia prodotta da fonti rinnovabili solo il 7.85% è stato prodotto sfruttando le biomasse, in aumento rispetto al 2017. Nel 2019 sono stati prodotti 19,260.6GWh di energia totale, di cui il 11.5% da fonti rinnovabili. Dell'energia prodotta da fonti rinnovabili solo il 10.46% è stato prodotto sfruttando le biomasse, in aumento rispetto al 2018. Nel 2020 sono stati prodotti 19,548.1GWh di energia totale, di cui il 14.7% da fonti rinnovabili. Dell'energia prodotta da fonti rinnovabili solo il 6.65% è stato prodotto sfruttando le biomasse, in calo rispetto al 2019. Nel 2021 sono stati prodotti 21,455.3GWh di energia totale, di cui il 16% da fonti rinnovabili. Dell'energia prodotta da fonti rinnovabili solo il 6.5% è stato prodotto sfruttando le biomasse, mantenendosi stabile rispetto all'anno precedente. Nel 2022 sono stati prodotti 19,864.3GWh di energia

totale, di cui il 18% da fonti rinnovabili. Dell'energia prodotta da fonti rinnovabili solo il 5.8% è stato prodotto sfruttando le biomasse, in leggero calo rispetto all'anno precedente.

3.2 Il processo di produzione di digestione anaerobica

Il processo di digestione anaerobica (DA) è il risultato di un complesso processo biologico durante il quale, in assenza di ossigeno, la sostanza organica si trasforma in biogas (Angelidaki, Ellegaard, and Ahring 2003). Il processo di DA è ampiamente utilizzato per il trattamento di rifiuti organici (Maneein et al. 2018), fanghi (Appels et al. 2008), scarti di produzione agricola (Merlin and Boileau 2013) (Macias-Corral et al. 2008) (Y. Li et al. 2020), acque reflue (Meraz 2000), macro alghe (Farghali et al. 2021) (Akila et al. 2019), per produrre energia rinnovabile.

Il biogas si ottiene attraverso quattro fasi principali, quali idrolisi, acidogenesi, acetogenesi e metanogenesi, (Figura 12) promosse da diversi consorzi batterici e archei.

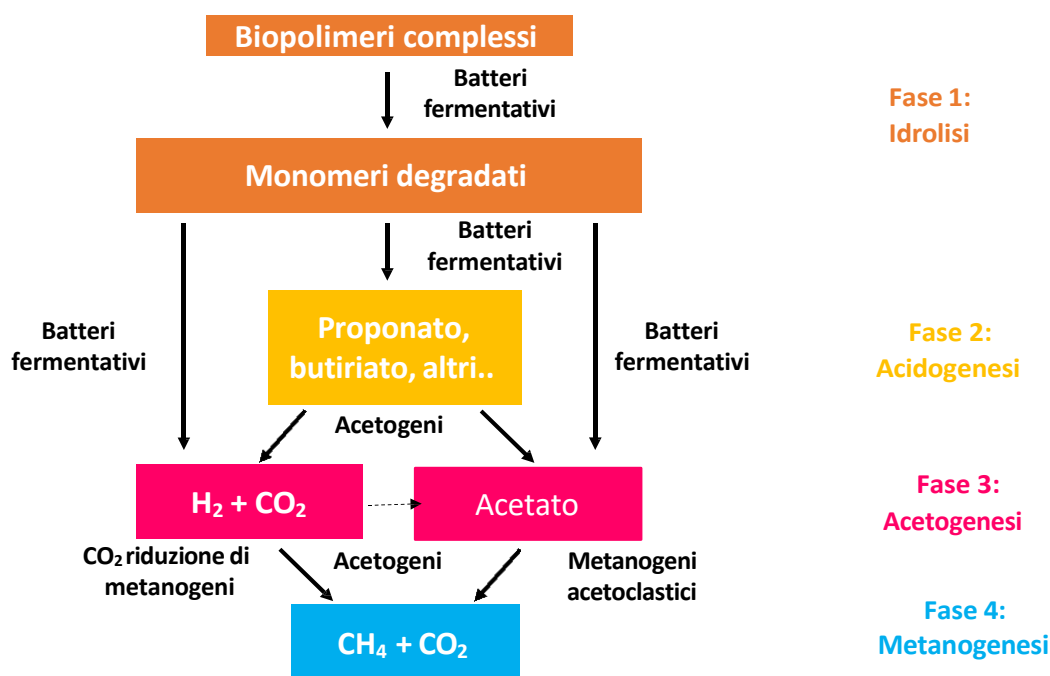


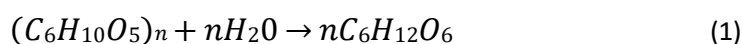
Figura 12. Schema del processo di digestione anaerobica (DA).

Tabella 2. Energia rinnovabile, per tipo di fonte primaria, sul totale dell'energia prodotta in Repubblica Dominicana.

Anno	Biomassa (GWh)	Eolica (GWh)	Idraulica (GWh)	Fotovoltaica (GWh)	Energia prodotta da fonti rinnovabili (GWh)	Energia prodotta da fonti non rinnovabili e rinnovabili (GWh)	Percentuale di energia rinnovabile sul totale (%)
2013	n/a	187.4	2,160.3	n/a	2,347.7	14,384.3	16.3
2014	n/a	232.9	1,585.7	n/a	1,818.6	14,766.0	12.3
2015	n/a	284.0	1,314.0	n/a	1,598.0	15,282.3	10.5
2016	n/d	312.6	1,500.3	23.4	1,836.4	15,891.6	11.6
2017	142.1	390.2	2,204.9	35.0	2,772.3	16,317.0	17.0
2018	226.3	492.5	2,090.3	74.5	2,883.6	17,734.7	16.3
2019	231.9	782.2	1,053.3	149.4	2,216.8	19,260.6	11.5
2020	190.8	1,101.4	1,285.4	296.1	2,873.7	19,548.1	14.7
2021	224.0	1,231.0	1,496.5	486.0	3,437.5	21,455.3	16.0
2022	207.6	1,175.4	1,457.1	732.4	3,572.6	19,864.3	18.0

3.2.1 Idrolisi

L'idrolisi rappresenta il primo step del processo di DA. Durante questa fase le molecole organiche più complesse (polisaccaridi, i lipidi e le proteine) vengono scomposte, mediante enzimi extracellulari, in molecole organiche più semplici. L'idrolisi può essere rappresentata dall'Equazione 1 (Anukam et al. 2019). Dal momento che i batteri idrolitici sono in grado di secernere enzimi extracellulari, questi possono convertire i carboidrati, i lipidi e le proteine in zuccheri, in acidi grassi a lunga catena (LCFA) e in amminoacidi (Menzel, Neubauer, and Junne 2020). Gli enzimi extracellulari coinvolti sono l'esterasi, la glicosidasi e la peptidasi, i quali catalizzano rispettivamente la scissione dei legami di tipo esteri, di tipo glicosidici e di tipo peptidici (Menzel, Neubauer, and Junne 2020).



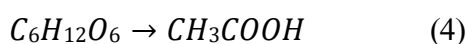
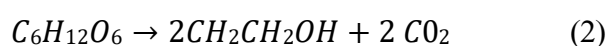
Substrati più complessi, come la lignina, la cellulosa e l'emicellulosa, presentano una maggiore difficoltà nel degradarsi e risultano, talvolta, inaccessibili ai microorganismi a causa delle loro complesse strutture; in questi casi si ricorre all'uso di aggiunte di enzimi in grado di migliorare l'idrolisi o si ricorre all'utilizzo di pretrattamenti (Menzel, Neubauer, and Junne 2020).

Da un punto di vista chimico, l'idrolisi si riferisce alla scissione dei legami chimici mediante l'aggiunta di acqua. Cationi e anioni reagiscono con le molecole d'acqua, alterando il pH nel processo per creare la scissione dei legami H-O (Anukam et al. 2019). L'Equazione 1 riporta l'idrolisi della cellulosa ($C_6H_{10}O_5$) tramite l'aggiunta di acqua (H_2O) per formare glucosio ($C_6H_{12}O_6$) come prodotto primario e liberare H_2 . Il glucosio prodotto può subire ulteriori reazioni successive per produrre composti come l'acido formico CH_2O_2 , l'idrossimetil furfurale $C_6H_6O_3$ e l'acido levulinico $C_5H_8O_3$ (Anukam et al. 2019).

La velocità del processo di DA dipende dalla fase di idrolisi. Infatti, quando si verifica che i microorganismi idrolitici sono presenti in quantità maggiori rispetto ai microorganismi metanogenici la fase di idrolisi determina la velocità del processo. Nel caso in cui i microorganismi metanogenici sono presenti in quantità maggiore rispetto ai microorganismi idrolitici la velocità di reazione non sarà determinata dalla fase di idrolisi ma dalla fase della metanogenesi (Ma et al. 2013).

3.2.2 Acidogenesi

L'acidogenesi rappresenta il secondo step del processo di DA ed è descritta dalle Equazioni 2,3,4 (Anukam et al. 2019). Le Equazioni (2) - (3) - (4) rappresentano la sequenza di reazioni che riassume lo stadio acidogenico del processo di DA. L'acidogenesi rappresenta la fase di fermentazione, i composti solubili formati nella fase di idrolisi vengono degradati e convertiti in CO₂ e H₂ attraverso i batteri acidogeni (microrganismi fermentativi); l'acido importante in questa fase è il CH₃COOH, utilizzato come substrato dai microrganismi che formano CH₄ (Anukam et al. 2019).



In questa fase i prodotti dell'idrolisi vengono assorbiti attraverso le membrane cellulari e i microrganismi acidogeni sono in grado di produrre acidi grassi volatili intermedi (VFA) e altri prodotti.

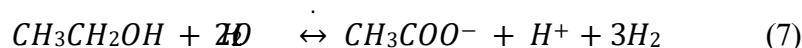
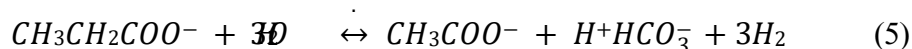
I VFA prodotti sono costituiti da acidi organici come l'acido propionico, l'acido acetico e l'acido butirrico, mentre gli altri prodotti possono comprendere piccole quantità di etanolo e lattato. Le concentrazioni di questi diversi intermedi dipendono dalle condizioni di esercizio e fisiche del digestore, con una forte dipendenza dal pH (Van et al. 2020). La produzione di VFA crea precursori per lo stadio finale della DA, mentre l'acidificazione dei VFA causa l'inibizione del processo (Meegoda et al. 2018).

L'idrogeno, che si forma come prodotto intermedio in questa fase, influenza il tipo di prodotto finale ottenuto durante il processo di fermentazione, di conseguenza si ha una diminuzione delle quantità di prodotti ridotti all'aumentare della pressione parziale dell'idrogeno (Adekunle and Okolie 2015).

Questa fase, generalmente, procede ad una velocità più elevata rispetto alle altre fasi della DA, in quanto i batteri acidogeni hanno dei tempi di rigenerazione minori (Anukam et al. 2019).

3.2.3 Acetogenesi

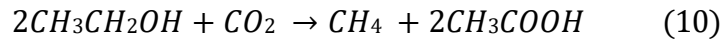
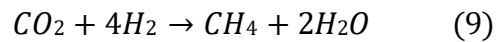
L'acetogenesi rappresenta la terza fase del processo di DA, descritta dalle Equazioni 5,6,7 (Anukam et al. 2019). Il prodotto di scarto dell'acetogenesi è il gas H₂ formatosi nella fase acidogenica. Quindi questa fase è anche nota come fase di deidrogenazione. Questo è vero perché il metabolismo dei batteri acetogeni è inibito dal gas H₂ prodotto. Tuttavia, il gas H₂ può essere consumato dai batteri produttori di CH₄ per funzionare come batteri che eliminano l'idrogeno e possono convertire alcuni batteri in CH₄ (Anukam et al. 2019).



Le reazioni sono reversibili con rilascio di H₂. La prima Equazione (5) indica che i prodotti della fase acida vengono convertiti in acetato (CH₃COO⁻) e idrogeno (H₂), che possono essere utilizzati dai batteri metanogeni nella fase successiva. L'H₂ rilasciato nella reazione presenta effetti tossici sui microrganismi che portano avanti il processo acetogenesi. Ciò rende necessaria una simbiosi tra i batteri acetogeni e metanogeni al fine di utilizzare l'H₂ rilasciato nel processo. Il 70% del CH₄ si forma attraverso la riduzione del CH₃COO⁻, circa il 25% di CH₃COO e circa l'11% di H₂ (Anukam et al. 2019).

3.2.4 Metanogenesi

L'ultima fase del processo di DA è la metanogenesi, descritta dalle Equazioni 8, 9 e 10 (Anukam et al. 2019). In questa fase i batteri convertono CH₃COOH e H₂ in CO₂ e CH₄ ad opera dei batteri metanogeni. Il carico di inquinamento in termini di domanda chimica di ossigeno (COD) o domanda biochimica di ossigeno (BOD) è ridotto considerevolmente nella fase metanogenica. La prima Equazione (8) mostra la conversione di CH₃COOH in CH₄ e CO₂. La CO₂ formatasi viene ridotta a CH₄ attraverso H₂, Equazione (9) e, infine, l'Equazione (10), mostra la produzione di CH₄ mediante la decarbossilazione di CH₃CH₂OH (Anukam et al. 2019).



3.3 Il digestato

La digestione anaerobica è un processo biologico che trasforma il substrato iniziale (ingestato) nel prodotto desiderato (biogas) e in un sottoprodotto solido-liquido (digestato) (Schievano et al. 2009).

Dunque, il digestato è il materiale che residua dopo il processo di digestione anaerobica. Si tratta, come detto, di un sottoprodotto solido-liquido. La frazione solida viene spesso separata dalla liquida. Con un trattamento appropriato, sia la parte solida che quella liquida del digestato possono essere utilizzate in molte applicazioni vantaggiose.

La qualità della materia prima determina la qualità del digestato (Mioduska, Grabowiec, and Hupka 2023) (Chozhavendhan et al. 2023). Il digestato è un materiale ricco ancora di un quantitativo, più o meno rilevante in base alla resa della DA, di sostanza organica, e, soprattutto, di composti minerali, tra cui i cosiddetti macronutrienti primari (azoto, fosforo e potassio) e i macronutrienti secondari (calcio, magnesio, sodio e zolfo). Le sostanze indesiderate, come i metalli pesanti e la presenza di microplastiche, presenti in una materia prima possono contribuire a limitare le proprietà applicative del digestato (Mioduska, Grabowiec, and Hupka 2023).

Il prodotto più noto, ottenuto dalla frazione solida del digestato, è il biofertilizzante. Tuttavia, negli ultimi anni la produzione di energia elettrica ottenuta mediante processo di DA è aumentata e di conseguenza anche la quantità di digestato. I costi legati al trasporto e alla produzione del biofertilizzante superano i costi del suo valore quando il trasporto supera distanze di 5–10 km (Kratzeisen et al. 2010). I fertilizzanti organici derivanti dalla fermentazione dei rifiuti organici e/o dal compostaggio possono essere una fonte trascurabile di microplastiche nell'ambiente. Per garantire un adeguato input di

qualità per il processo AD, è certamente necessario effettuare la raccolta selettiva dei rifiuti organici alla fonte (Mioduska, Grabowiec, and Hupka 2023).

L'utilizzo del digestato essiccato come combustibile solido sembra essere un'alternativa promettente. Kratzeisen et. al hanno condotto uno studio sull'utilizzo del digestato come pellet. Lo studio ha evidenziato che tale pellet ha proprietà (potere calorifico compreso tra 15.8 MJ/kg and 15.0 MJ/kg) simili al legno e quindi può essere utilizzato come alternativa al legno (Kratzeisen et al. 2010).

Inoltre, il digestato può essere utilizzato per la produzione di biopolimeri o mangime per pollame, pesci o animali (Chozhavendhan et al. 2023).

3.4 Applicazioni del biogas

Il biogas ha molteplici applicazioni nella produzione di calore ed elettricità come nonché una materia prima per la produzione di diversi biocarburanti e può essere utilizzato anche per la produzione di biometano e carbonio biossido e idrogeno (Kabeyi and Olanrewaju 2022). Oggi il biogas può essere convertito in biometano ed utilizzato come carburante per veicoli, in sostituzione del gas naturale in usi industriali, commerciali e domestici, o somministrati in modo naturale reti del gas in sostituzione del gas naturale. L'anidride carbonica può essere separata dal metano e utilizzata come materia prima per le serre e anche come materia prima per la produzione di combustibili chimici. In Figura 13 sono riportate le principali applicazioni del biometano, del biogas e del digestato.



Figura 13: Principali applicazioni del biometano, del biogas e del digestato.

3.5 Purificazione e stoccaggio del biogas

Sono state sviluppate diverse tecnologie per la purificazione e lo stoccaggio del biogas, alcune di esse si trovano in commercio (Ullah Khan et al. 2017). Con “purificazione del biogas” ci si riferisce al processo di estrazione del metano dal biogas. Questo processo è necessario per rendere il biogas adatto come carburante per i veicoli o per l'immissione nella rete del gas naturale (Villadsen et al. 2019). Al fine di utilizzare il metano come carburante, è necessario rimuovere l'anidride carbonica (CO_2) e l'idrogeno solforato (H_2S), poiché l' H_2S corrode i componenti meccanici vitali all'interno dei gruppi elettrogeni e dei motori dei veicoli. Il biogas purificato fornisce riduzioni delle emissioni di gas serra e numerosi altri vantaggi ambientali se utilizzato come carburante per veicoli (Zhao et al. 2010). Attualmente, la riqualificazione industriale del biogas è esclusivamente di prima generazione. Tra le tecnologie di upgrading rientrano l'adsorbimento (pressure swing adsorption – PSA), il lavaggio con acqua ad alta pressione (high pressure water scrubbing – HPWS), la separazione a membrana e la separazione criogenica. Ricerche recenti hanno introdotto il concetto di separazione di seconda generazione; tuttavia, la sperimentazione è ancora agli stadi iniziali. L'upgrading di seconda generazione utilizza la CO_2 come fonte di carbonio (Villadsen et al. 2019).

La Pressure Swing Adsorption - PSA è una tecnologia utilizzata per separare alcune specie di gas da una miscela di gas sotto pressione in base alle caratteristiche molecolari della specie e all'affinità del materiale adsorbente (Zhao et al. 2010). La CO_2 viene separata dal biogas ad alta pressione mediante un materiale adsorbente. Successivamente, la pressione viene ridotta per desorbire i gas adsorbiti. Durante tale processo la rimozione del gas H_2S è un passaggio fondamentale perché considerato tossico per il processo e l'assorbimento dello stesso gas è normalmente irreversibile. Tra gli adsorbenti utilizzati si trovano: zeoliti cationiche, silica, allumina, carboni attivi (Ullah Khan et al. 2017). I vantaggi della tecnologia PSA sono l'arricchimento di CH_4 superiore al 97%, la bassa richiesta di energia e la bassa emissione e rimozione di azoto e ossigeno (Ullah Khan et al. 2017) (Zhao et al. 2010). Tuttavia, questo processo richiede un ampio controllo e richiede investimenti elevati (Ullah Khan et al. 2017). Lo svantaggio principale della tecnologia PSA è l'ulteriore passaggio di rimozione dell' H_2S necessario prima del PSA. Il processo è anche relativamente più costoso di altri, il costo è di 0.40 €/Nm³ di biogas (Zhao et al. 2010).

Il lavaggio con acqua ad alta pressione (HPWS) è una tecnologia consolidata utilizzata per rimuovere CO₂ e H₂S dal biogas poiché questi gas sono più solubili in H₂O che in CH₄ (Ullah Khan et al. 2017) (Zhao et al. 2010). A livello operativo il biogas viene immesso sul fondo di una colonna impaccata mentre l'acqua viene alimentata in controcorrente ad una pressione di dieci bar. Questo processo è utile anche per la rimozione di H₂S perché H₂S è più solubile della CO₂ in acqua (Ullah Khan et al. 2017). Sebbene si tratti di un processo ecologico ed altamente efficiente ad elevato recupero di metano (>97%), sono richiesti elevati investimenti e alti consumi di energia. I vantaggi del lavaggio consistono nell'assenza di sostanze chimiche speciali (ad eccezione del glicole relativamente economico) e nella rimozione sia di CO₂ che di H₂S. Gli svantaggi del lavaggio ad acqua sono relativi al fatto che richiede molta acqua durante la rigenerazione, oltre a limitazioni nella rimozione di H₂S, poiché la CO₂ diminuisce il pH della soluzione e la corrosione delle apparecchiature causata dall'H₂S. Il costo è di circa 0.13 €/Nm³ di biogas (Zhao et al. 2010).

La separazione a membrana (MS) è una tecnica che sfrutta l'azione di barriera di una membrana che consente il passaggio selettivo di composti specifici in base alla propria permeabilità. La CO₂ permea attraverso la membrana mentre il CH₄ viene trattenuto sul lato di ingresso come retentato. Si tratta di un processo relativamente economico caratterizzato da una bassa domanda di energia, e richiede l'installazione di un'apparecchiatura a membrana semplice e compatta. La maggior parte delle membrane commerciali sono polimeriche di origine organica, come polisulfone, poliimmide, policarbonato, polidimetilsilossano e l'acetato di cellulosa. Tali membrane sono caratterizzate da un'ottima resistenza meccanica e sono facili da fabbricare con basso costo e alta permeazione selettiva (Ullah Khan et al. 2017). Alcune membrane inorganiche sono caratterizzate da una selettività 5-10 volte superiore rispetto alle membrane polimeriche. Tuttavia, le membrane polimeriche presentano numerosi vantaggi, tra questi il basso costo e la semplicità di fabbricazione (Basu et al. 2010).

Esistono due tecniche di separazione a membrana: separazione del gas ad alta pressione e adsorbimento gas-liquido. Il processo di separazione ad alta pressione separa selettivamente H₂S e CO₂ dal CH₄. Di solito, questa separazione viene eseguita in tre fasi e produce CH₄ puro al 96%. L'adsorbimento gas-liquido è un processo di recente sviluppo che utilizza membrane idrofobiche microporose come interfaccia tra gas e liquidi. La CO₂

e l'H₂S si dissolvono nel liquido mentre il metano (che rimane un gas) viene raccolto per l'uso (Zhao et al. 2010).

I vantaggi della separazione a membrana consistono nel fatto che il processo è compatto, leggero, ha bassi requisiti energetici e di manutenzione e una facile lavorazione. Gli svantaggi della separazione tramite membrana sono la resa relativamente bassa di CH₄ e l'elevato costo della membrana (Ullah Khan et al. 2017) (Zhao et al. 2010). Il costo è di 0.12 €/Nm³ di biogas. Sebbene questo costo sia basso rispetto ad altri metodi esaminati, le difficoltà relative alla resa e alla purezza, nonché il rischio di intasamento delle membrane (che richiedono la sostituzione della membrana) aumentano i costi operativi e influiscono fortemente sull'economia del progetto (Zhao et al. 2010).

La separazione criogenica del biogas si basa sul fatto che CO₂, H₂S e tutti gli altri contaminanti del biogas possono essere separati dal CH₄ in base al fatto che ciascun contaminante si liquefa in un diverso dominio di temperatura-pressione (Zhao et al. 2010). Questo processo di separazione opera a basse temperature, vicino a -100°C, e ad alte pressioni, quasi 40 bar (Zhao et al. 2010). Il vantaggio principale della separazione criogenica è l'elevata purezza del biogas purificato (99% CH₄). Lo svantaggio principale della separazione criogenica è che i processi criogenici richiedono l'uso di considerevoli apparecchiature di processo, principalmente compressori, turbine e scambiatori di calore (Ullah Khan et al. 2017). La necessità dell'attrezzatura aumenta i costi di capitale e operativi rispetto ad altre opzioni. Il prezzo finale del biogas potenziato utilizzando questa tecnica è stimato a 0.44 € per Nm³ di biogas (Zhao et al. 2010).

3.6 Proprietà del biogas

Le proprietà del biogas, sintetizzate nella Tabella 3, sono le seguenti: calore specifico (C_p) di 2.165 Kj/kgK, massa molare (M) pari a 16.04, costante dei gas (R) pari a 0.518 kJ/kg, densità normale (G) pari a 1.2 g/L, densità critica (g_c) pari a 320 g/L, densità relativa all'aria (g_r) pari a 0.83, potere calorifico compreso tra 21 e 23.5 MJ/m³, temperatura critica (T) pari a -2.5 °C, pressione critica (p) pari compresa tra 7.3 e 8.9 Mpa, contenuto limite di infiammabilità nell'aria (V) pari compreso tra 6 e 12% e temperatura di accensione compresa tra 650 e 750°C (Kabeyi and Olanrewaju 2022).

Tabella 3. Proprietà del biogas.

Proprietà	Simbolo	Valore
Calore specifico	Cp	2.165 kJ/kgK
Massa molare	M	16.04
Costante dei gas	R	0.518 kJ/kg
Densità normale	G	1.2 g/L
Densità critica	Gc	320 g/L
Densità relativa (all'aria)	Gr	0.83
Potere calorifico	LCV	21-23.5 MJ/m ³
Temperatura critica	T	-2.5°C
Pressione critica	P	7.3-8.9 MPa
Contenuto limite di infiammabilità nell'aria	V	6-12%
Temperatura di accensione	T	650-750°C

3.7 Impatto ambientale

La produzione di biogas, mediante processo di DA, può contribuire in modo significativo alla riduzione delle emissioni dei gas ad effetto serra. Tuttavia, la DA è associata alla produzione di diversi gas serra, vale a dire anidride carbonica (CO₂), metano (CH₄) e ossido nitroso (N₂O).

Se si considerano la combustione del biogas e la gestione del digestato, la CO₂ è considerata biologica e quindi non impattante a livello climatico. Il metano può essere rilasciato durante la combustione incompleta del biogas e non è considerato nocivo per l'uomo. Inoltre, la combustione è associata anche al rilascio di sostanze inquinanti nell'ambiente: monossido di carbonio (CO), anidride solforosa (SO₂), ossido di azoto (NO_x), composti organici volatili (COV_s) (Mioduska, Grabowiec, and Hupka 2023).

Secondo l'IPCC (2013) linee guida, il biogas è caratterizzato dal 5% di emissioni fuggitive. Per ridurre tali emissioni, il gas in eccesso viene bruciato in sistemi a torcia (Chew et al. 2021) (Chiu and Lo 2016).

Capitolo 4

Produzione di biometano da matrici algali

Nel terzo capitolo del suddetto studio, la discussione è stata concentrata sulla produzione di biogas attraverso il processo di digestione anaerobica. Ora, nel presente capitolo, saranno esaminati più approfonditamente la produzione di biometano utilizzando biomassa algale, in particolare il Sargasso. Come già discusso nel secondo capitolo, il Sargasso presenta caratteristiche sfidanti come un elevato contenuto di ceneri, un'elevata quantità di lignina, un basso rapporto C/N e una struttura a doppia parete cellulare. Tali fattori influenzano negativamente il processo di digestione anaerobica (DA). Per ottimizzare il processo, è imperativo ricorrere a diversi tipi di pretrattamenti o adottare la co-digestione. Nel corso di questo capitolo, esamineremo approfonditamente vari tipi di pretrattamenti. Esistono diversi tipi di pretrattamenti che possono essere utilizzati per ottimizzare il processo di digestione anaerobica della biomassa algale, come il Sargasso. Tra questi rientrano il pretrattamento meccanico, il pretrattamento chimico-fisico, il pretrattamento biologico.

Ogni tipo di pretrattamento ha i suoi vantaggi e le sue limitazioni, e la scelta del metodo più appropriato dipende dalla composizione specifica della biomassa algale, dalle risorse disponibili e dagli obiettivi del processo di produzione di biometano.

Spesso, un approccio integrato che combina diversi tipi di pretrattamenti produce risultati ottimali.

Il presente capitolo trae i propri fondamenti dalla review prodotta durante il percorso di dottorato, intitolata “*Sargassum* Invasion in the Caribbean: An Opportunity for Coastal Communities to Produce Bioenergy Based on Biorefinery—An Overview”, la quale è stata pubblicata sulla rivista *Waste and Biomass Valorization* (Paletta et al., 2023).

4.1 Produzione di biometano da macroalghe

L'impiego delle macroalghe come materia prima per la produzione di bioenergia è stato analizzato in dettaglio per la prima volta nell'ambito del progetto "US Ocean Food and Energy Farm" proposto da Wilcox (Of and Dgcum 1989).

La produzione di biometano da biomassa algale è stata ampiamente studiata come tecnologia rinnovabile e alternativa (Hughes et al. 2012). In letteratura la produzione di biogas da macroalghe, mediante digestione anaerobica (DA), è ampiamente descritta (McKennedy and Sherlock 2015).

Un aspetto critico della digestione anaerobica delle macroalghe marine è l'inibizione da parte di composti alogenati (B. V. Nielsen et al. 2020) e sali marini. Il rapporto C:N ottimale per la digestione anaerobica dipende dalla specie (McKennedy and Sherlock 2015). Anche la resa del biometano dipende da un'ampia gamma di fattori quali inoculo, temperatura, configurazione del reattore e composizione delle materie prime (Tedesco and Daniels 2018).

La temperatura fortemente influenza la DA (Jung, Kim, and Lee 2019) e i migliori risultati sono stati ottenuti a 35–37 °C. Inoltre, la concentrazione di solidi volatili delle alghe influisce fortemente sulla resa di metano. Infine, la fonte dell'inoculo ha un impatto significativo sul processo di DA a causa delle diverse comunità batteriche. I fanghi di depurazione possono fungere da inoculo per la digestione delle macroalghe (Obata et al. 2020).

Anche il pH svolge un ruolo cruciale nel processo di digestione anaerobica. Questo processo biologico avviene in un ambiente anaerobico, dove i batteri decompongono la materia organica producendo biogas, principalmente metano e anidride carbonica.

Il pH ottimale per la digestione anaerobica varia a seconda del tipo di batteri coinvolti e del substrato utilizzato, ma generalmente si situa tra 6,5 e 7,5. Questo intervallo di pH favorisce l'attività dei batteri metanogeni, responsabili della produzione di metano, e dei batteri acidogeni e acetogeni, che trasformano i composti organici in precursori del metano.

La digestione anaerobica in batch rappresenta la configurazione più semplice e più utilizzata. I risultati ottenuti dal processo di DA di diverse macroalghe, in reattori batch, sono riportati in Tabella 4. In alcuni studi, la DA sembra avere successo anche senza pretrattamenti, lavaggio o rimozione delle epifite (Migliore et al. 2012).

Dopo 25 giorni, non è stato registrato alcun miglioramento significativo pretrattamento meccanico rispetto alla *Laminaria* non trattata spp. (Montingelli et al. 2016). Macinazione a sfere su campioni secchi e microonde il pretrattamento su campioni bagnati ha ridotto la resa di metano rispetto alle macroalghe non trattate. Altri pretrattamenti mostrano un miglioramento della DA. Nielsen et al. (H. B. Nielsen and Heiske 2011) hanno studiato l'effetto meccanico del pretrattamento di macerazione ed osservato un aumento della resa in metano per ciascuna specie: 68% (*U. lactuca*), 17% (*C. linum*) e 11% (*G. vermiculophylla*). Il pretrattamento meccanico era efficace anche su *F. serratus*, *F. vesiculosus* Linnaeus, *G. gracilis*, *L. digitata* e *P. caniculata*, aumentando il rendimento in biogas rispettivamente del 182%, 222%, 110%, 51% e 179%, rispetto alla biomassa non trattata (Tedesco, Benyounis, and Olabi 2013). La battitura è frequentemente utilizzata nel pretrattamento meccanico delle alghe, svolgendo due azioni principali: taglio e battitura ad alta pressione. La battitura è adatta per biomassa umida o secca e un lavoro di Montingelli ha riportato un aumento del 37% nelle rese di metano rispetto a biomassa non trattata (Montingelli et al. 2017).

4.2 Migliorare l'efficienza del processo mediante pretrattamenti

Un aspetto chiave nell'ottimizzazione delle prestazioni di DA da macroalghe è il ricorso al pretrattamento della biomassa. Questo processo consiste nella rottura fisica, biologica, chimica o fisico-chimica della parete cellulare della matrice organica al fine di rimuovere o alterare le strutture di emicellulosa e lignina (se presenti), e a preservare la frazione cellulosica (P. Kumar et al. 2009). Ciò facilita lo step di idrolisi della cellulosa a glucosio. Inoltre, il PBM delle alghe brune dipende dalla decomposizione di catene di carboidrati, di cui l'alginato è il più abbondante (Anastasakis, Ross, and Jones 2011). Le macroalghe sono caratterizzate da un basso contenuto di lignina, di conseguenza risultano essere meno recalcitranti di altre biomasse lignocellulosiche. Tuttavia, le alghe brune sono più recalcitranti alla DA rispetto alle alghe rosse e verdi (Maneein et al. 2018). Prima del pretrattamento, le macroalghe devono essere lavate ed essiccate. Il lavaggio serve per rimuovere tutti i materiali inerti (es. pietre, sabbia, sali) ma altri tipi di pretrattamento

consentono di ottenere una resa maggiore (Adams, Schmidt, and Gallagher 2015). Dopo la fase di lavaggio e asciugatura aumenta la stabilità del campione e diminuisce il contenuto di umidità. Tuttavia, un'asciugatura eccessiva della matrice organica riduce la superficie disponibile efficace per l'idrolisi enzimatica prima della produzione di biogas. Studi di letteratura hanno segnalato che un'essiccazione eccessiva di biomassa, prima o dopo il pretrattamento, ne provoca una riduzione dei suoi pori e un collasso irreversibile, che provoca una riduzione della quantità di glucosio che può essere rilasciata dall'attività enzimatica di idrolisi (Sathitsuksanoh et al. 2011).

4.2.1 Pretrattamenti fisici

I pretrattamenti meccanici consentono di ridurre la dimensione delle particelle della biomassa fino a 0.2–2 mm, tale riduzione consente di diminuire il grado di cristallinità della cellulosa, aumentare il rapporto superficie/volume e aumentare l'accessibilità agli zuccheri complessi. Nonostante l'efficacia dei pretrattamenti fisici, la fattibilità di questi metodi è limitata perché il consumo di energia può essere elevato (P. Kumar et al. 2009).

4.2.2 Pretrattamenti fisico-chimici

I pretrattamenti fisico-chimici combinano metodi fisici e chimici. Alcune tecniche includono una fase di decompressione rapida (ad esempio esplosione di vapore, espansione delle fibre di ammoniaca (AFEX), esplosione di CO₂, idrotermolisi (del Río et al. 2020) (P. Kumar et al. 2009). Questi pretrattamenti sono efficaci per la decristallizzazione della biomassa e per aumentare l'area superficiale (P. Kumar et al. 2009) (del Río et al. 2020). Il metodo AFEX è simile al metodo della steam explosion, con l'eccezione che la biomassa è esposta all'ammoniaca liquida per un periodo prima della decompressione. A differenza della steam explosion, il pretrattamento con l'ammoniaca ha il vantaggio di non produrre inibitori della fermentazione ed eliminare il lavaggio di campione con acqua (Sun and Cheng 2002).

Il pretrattamento idrotermale è invece considerata una tecnologia compatibile con il pretrattamento del Sargasso. Tale pretrattamento consente di migliorare la biodisponibilità delle sostanze organiche per la digestione e non necessita di preliminari essiccazione delle alghe (Terrell M. Thompson, Young, and Baroutian 2021). Inoltre,

mitiga la presenza di idrogeno solforato nel biogas (Song, Pham, et al. 2015) e migliora le proprietà del digestato, ottenendo un biofertilizzante di alta qualità (Terrell M. Thompson, Young, and Baroutian 2020).

Altri pretrattamenti fisico-chimici includono l'autoidrolisi, acqua calda liquida e autoclave, efficace a rompere le strutture fibrose della biomassa (Noelia Flórez-Fernández et al. 2021). Anche se le alte temperature favoriscono la solubilizzazione della biomassa e l'estrazione, uno svantaggio è che temperature superiori a 180 °C portano alla formazione di composti inibitori come furfurale, idrossimetilfurfurale e fenoli che inibiscono la bioconversione .

4.2.3 Pretrattamenti biologici

I pretrattamenti biologici sfruttano l'azione di microrganismi naturali, come ad esempio funghi, batteri ed enzimi, che degradano la lignina e l'emicellulosa presenti nella biomassa. Una macroalga isolata nei Caraibi messicani è stata sottoposta a pretrattamento biologico con un ceppo Bm-2 (*Trametes hirsuta*), producendo una resa di metano maggiore del 20% rispetto alla biomassa non pretrattata (Tapia-Tussell et al. 2018). Tuttavia, i pretrattamenti biologici sono limitati da tempi di reazione lunghi e bassi tassi di idrolisi (P. Kumar et al. 2009) (Ferdeş et al. 2020).

4.2.4 Pretrattamenti chimici

I pretrattamenti chimici sono efficaci nel rimuovere la lignina e/o l'emicellulosa. Questi metodi includono l'utilizzo di alcali, perossidi, acidi di Brønsted, solventi organici, ozono, liquidi ionici e solventi eutettici profondi (del Río et al. 2020) (P. Kumar et al. 2009) (Blanch, Simmons, and Klein-Marcuschamer 2011) (Mora-Pale et al. 2011). I pretrattamenti alcalini utilizzano temperature miti (< 160 °C) ma tempi lunghi (da ore a settimane) e sono seguiti da un meccanismo di saponificazione dei legami esterei intermolecolari che reticolano l'emicellulosa e lignina per rimuovere entrambi i biopolimeri (Sun and Cheng 2002). Pretrattamenti con acido diluito consentono di rimuovere completamente l'emicellulosa ad alte temperature (160–220 °C) e tempi brevi (< 30 min). Con i solventi organici la biomassa può frazionarsi in lignina solida, fibre di cellulosa solida e emicellulosa (Blanch, Simmons, and Klein-Marcuschamer 2011).

Infine, i liquidi ionici degradano la biomassa sciogliendo la cellulosa e/o rimuovendo la lignina attraverso interazioni ioniche, π - π e legami idrogeno (Mora-Pale et al. 2011).

4.2.5 Confronto tra pretrattamenti

Altri pretrattamenti al di fuori delle suddette classificazioni includono gli ultrasuoni (del Río et al. 2020) e le microonde. Nel complesso, tutti i metodi di pretrattamento presentano vantaggi e svantaggi che devono essere considerati. Anche se i pretrattamenti possono aumentare la resa di biogas, richiedono input ad alta energia ed è difficile da raggiungere un bilancio energetico netto positivo. Per questo motivo è necessario studiare la valutazione energetica dei pretrattamenti (Terrell M. Thompson, Young, and Baroutian 2019a) in termini di ritorno energetico sugli investimenti (EROI) (Vázquez-Delfín et al. 2021). È stata studiata l'energia richiesta durante i pretrattamenti per diverse tecniche (Koch et al. 2020) (Passos and Ferrer 2014). Ad esempio, il pretrattamento idrotermale è molto promettente per le alghe brune, poiché migliora la resa in metano con un bilancio energetico netto positivo (Terrell M. Thompson, Young, and Baroutian 2019a).

Tabella 4. Produzione di biometano mediante AD di macroalghe in esperimenti batch.

Macroalga	Temperatura (°C)	Tempo (giorni)	Pretrattamento	Resa (NmLg ⁻¹ sv)	Rif.
<i>Macroalghe brune</i>					
<i>Ascophyllum nodosum</i>	38	14	Meccanico: taglio (15 min) in battitore olandese	169	(Montingelli et al. 2017)
<i>Alghe brune</i>	35	60	Macinazione	179	(Gurung et al. 2012)
<i>Fucus serratus</i>	35	109	Essiccazione al sole e macinazione	161 (biogas)	(Taylor, Vanegas, and Bartlett 2013)
<i>Fucus serratus</i>	37	21	No	64.2 (Lbiogas Kg ST ⁻¹)	(Tedesco, Benyounis, and Olabi 2013)
<i>Fucus vesiculosus</i>	37	20	Meccanico: taglio in battitore olandese	37-71	(Barbot, Falk, and Benz 2015)
<i>Fucus vesiculosus</i>	37	20	Lavaggio, asciugatura (53°C) e pretrattamento idrotermale (20-80°C)	37-65	(Barbot, Falk, and Benz 2015)
<i>Fucus vesiculosus</i>	37	20	Lavaggio, asciugatura (53°C) e pretrattamento termoacido (20-80°C HCl)	52-116	(Barbot, Falk, and Benz 2015)
<i>Fucus vesiculosus</i>		21	No	71.5 (LbiogaskgST ⁻¹)	(Tedesco, Benyounis, and Olabi 2013)
<i>Fucus vesiculosus</i>		22	Meccanico: taglio in battitore olandese	68.4-84.3(LbiogaskgST ⁻¹)	(Romagnoli et al. 2017)
<i>Fucus vesiculosus</i>		22	Congelamento (-18°C), pretrattamento meccanico e	78.9-130.1	(Romagnoli et al. 2017)

			pretrattamento a microonde (1.5 min)		
<i>rFucus vesiculosus</i>		22	Congelamento (-18°C), pretrattamento meccanico e pretrattamento a microonde (3 min)	116.6-146.9	(Romagnoli et al. 2017)
<i>Fucus vesiculosus</i>		25	Non lavato e tagliato	120	(Pastare et al. 2016)
<i>Fucus vesiculosus</i>		25	Lavato e tagliato	134	(Pastare et al. 2016)
<i>Fucus vesiculosus</i>		52	No	67	(H. Li and Kjerstadius 2013)
<i>Fucus vesiculosus</i>		52	Termale (50°C)	41	(H. Li and Kjerstadius 2013)
<i>Fucus vesiculosus</i>		52	Meccanico (50°C)	92	(H. Li and Kjerstadius 2013)
<i>Fucus vesiculosus</i>		52	Enzimatico con cellulosa, emicellulosa, pectine (50°C)	49	(H. Li and Kjerstadius 2013)
<i>Fucus vesiculosus</i>		52	Meccanico + enzimatico (50°C)	131	(H. Li and Kjerstadius 2013)
<i>Fucus vesiculosus</i> + <i>Fucus serratus</i>	37	20	Meccanico	140.5	(Y. N. Wu et al. 2019)
<i>Fucus vesiculosus</i> + <i>Fucus serratus</i>	37	20	Meccanico + ultrasuoni	235	(Y. N. Wu et al. 2019)
<i>Fucus vesiculosus</i> + <i>Fucus serratus</i>	37	20	Meccanico + microonde	220	(Y. N. Wu et al. 2019)
<i>Fucus vesiculosus</i> + <i>Fucus serratus</i>	37	20	Meccanico + ultrasuoni + microonde	260	(Y. N. Wu et al. 2019)
<i>Laminaria digitata</i>	20	54	Essiccazione (75°C) + macinazione	111	(C. Vanegas and Bartlett 2013)
<i>Laminaria digitata</i>	35		Essiccazione (75°C) + macinazione	184	(C. Vanegas and Bartlett 2013)
<i>Laminaria digitata</i>		21	Lavaggio, taglio,	222.6	(Ding et al. 2020)

		essiccazione (110°C), triturazione, fermentazione		
<i>Laminaria digitata</i>	21	Lavaggio, taglio, essiccazione (110°C), triturazione, pretrattamento idrotermale, fermentazione	282.2	(Ding et al. 2020)
<i>Laminaria digitata</i>	21	Lavaggio, taglio, essiccazione (105°C), triturazione, enzimolise, fermentazione	271	(Ding et al. 2020)
<i>Laminaria digitata</i>	21	Lavaggio, taglio, essiccazione (105°C), triturazione, pretrattamento idrotermale, enzimolise fermentazione	294.2	(Ding et al. 2020)
<i>Laminaria digitata</i>	21	Lavaggio, taglio, essiccazione (105°C), triturazione, pretrattamento idrotermale diluito con acido (HTDAP), fermentazione	164.9	(Ding et al. 2020)
<i>Laminaria digitata</i>	21	Lavaggio, taglio, essiccazione (105°C), triturazione, pretrattamento idrotermale diluito con acido (HTDAP),	159.4	(Ding et al. 2020)

			enzimolisi, fermentazione		
<i>Laminaria Japonica</i>	35	75	Lavaggio, essiccazione (60°C), triturazione	267.5	(Yi Zhang, Alam, et al. 2017)
<i>Laminaria Japonica</i>		22	No	172	(Barbot et al. 2015)
<i>Laminaria Japonica</i>		22	Termochimico con 0.05-0.5M HCl (20°C)	156-171	(Barbot et al. 2015)
<i>Laminaria Japonica</i>		22	Termochimico con 0.05-0.5M HCl (50°C)	150-180	(Barbot et al. 2015)
<i>Laminaria Japonica</i>		22	Termochimico con 0.05-0.5M HCl (80°C)	149-168	(Barbot et al. 2015)
<i>Pelvetia caniculata</i>	37	21	No	159.3 (LbiogaskgST)	(Tedesco, Benyounis, and Olabi 2013)
<i>Pelvetia caniculata</i>	37	21	Meccanico	443.3	(Tedesco, Benyounis, and Olabi 2013)
<i>Saccharina latissima</i>	35	11	Lavaggio, asciugatura (105°C), polverizzazione e fermentazione	281.4	(Ding et al. 2020)
<i>Saccharina latissima</i>	35	11	Lavaggio, asciugatura (105°C), polverizzazione, pretrattamento idrotermale (100°C) e fermentazione	318.8	(Ding et al. 2020)
<i>Saccharina latissima</i>	35	11	Lavaggio, asciugatura (105°C), polverizzazione, pretrattamento idrotermale (120°C) e fermentazione	344.6	(Ding et al. 2020)
<i>Saccharina latissima</i>	35	11	Lavaggio, asciugatura (105°C), polverizzazione,	345.1	(Ding et al. 2020)

			pretrattamento idrotermale (140°C) e fermentazione		
<i>Saccharina latissima</i>	35	11	Lavaggio, asciugatura (105°C), polverizzazione, pretrattamento idrotermale (160°C) e fermentazione	337.8	(Ding et al. 2020)
<i>Saccharina latissima</i>	35	11	Lavaggio, asciugatura (105°C), polverizzazione, pretrattamento idrotermale (180°C) e fermentazione	278.7	(Ding et al. 2020)
Macroalghe verdi					
<i>Ulva spp.</i>	35	109	Essiccazione (t.a.) e triturazione	191	(C. H. Vanegas and Bartlett 2013)
<i>Ulva lactuca</i>	35	30	No	183.2	(Allen et al. 2013)
<i>Ulva lactuca</i>	35	30	Non lavato	165	(Allen et al. 2013)
<i>Ulva lactuca</i>	35	30	Lavaggio ed essiccazione	250.2	(Allen et al. 2013)
<i>Ulva lactuca</i>	35	30	Lavaggio	221.1	(Allen et al. 2013)
<i>Ulva lactuca</i>	37	58	Taglio	162	(Bruhn et al. 2011)
<i>Ulva lactuca</i>	37	65	Lavaggio, essiccazione al sole, essiccazione in stufa (50°C), triturazione, pretrattamento con ozono (30 min)	498.75	(Hassaan et al. 2021)
<i>Ulva lactuca</i>	53	34	Lavaggio e taglio	152	(H. B. Nielsen and Heiske 2011)

<i>Ulva lactuca</i>	55	42	Taglio	174	(Bruhn et al. 2011)
<i>Ulva lactuca</i>	55	42	Macinazione	271	(Bruhn et al. 2011)
<i>Ulva lactuca</i>	55	42	Lavaggio e macinazione	171	(Bruhn et al. 2011)
<i>Ulva lactuca</i>	55	42	Lavaggio e macerazione	200	(Bruhn et al. 2011)
<i>Ulva lactuca</i>	55	42	Lavaggio e pretrattamento (110°C, 20 min)	157	(Bruhn et al. 2011)
<i>Ulva lactuca</i>	55	42	Lavaggio e pretrattamento (130°C, 20 min)	187	(Bruhn et al. 2011)
<i>Ulva lactuca</i>	55	42	Asciugatura (45°C), triturazione	176	(Bruhn et al. 2011)
<i>Macroalghe rosse</i>					
<i>Gracilaria gracilis</i>	37	21	No	81.8 (LbiogasjgST)	(Tedesco, Benyounis, and Olabi 2013)
<i>Gracilaria vermiculophylla</i>	53	34	Lavaggio e taglio	132	(H. B. Nielsen and Heiske 2011)
<i>Palmaria palmata</i>	35		No	308	(Jard et al. 2013)
<i>Palmaria palmata</i>	35		Macerazione (20°C)	328	(Jard et al. 2013)
<i>Palmaria palmata</i>	35		Pretrattamento termale (120°C)	296	(Jard et al. 2013)
<i>Palmaria palmata</i>	35		Pretrattamento termale (160°C)	269	(Jard et al. 2013)
<i>Palmaria palmata</i>	35		Pretrattamento termale (180°C)	268	(Jard et al. 2013)
<i>Palmaria palmata</i>	35		Pretrattamento termale (200°C)	211	(Jard et al. 2013)
<i>Palmaria palmata</i>	35		NaOH + Pretrattamento termale (160°C)	282	(Jard et al. 2013)
<i>Palmaria palmata</i>	35		KCl + Pretrattamento termale (160°C)	268	(Jard et al. 2013)

4.3 Produzione di biometano da Sargasso

Il potenziale biochimico del metano (PBM) delle alghe brune è compreso tra 204 e 380 L kg⁻¹ (Song, Duc Pham, et al. 2015). Tra le macroalghe brune, il Sargasso rappresenta una potenziale fonte per la produzione di biometano mediante processo di digestione anaerobica. Il Sargasso rappresenta una biomassa ideale grazie all'alto contenuto di polisaccaridi e del basso contenuto di lignina; subisce quindi un'idrolisi quasi completa. Tuttavia, il basso rapporto C/N (inferiore a 20:1), la presenza di polisaccaridi strutturalmente complessi, sali, polisaccaridi di zolfo, e i polifenoli potrebbero limitare le rese di metano (T. M. Thompson, Young, and Baroutian 2020) (John J. Milledge, Nielsen, and Harvey 2019).

Il Sargasso rappresenta la la più grande fonte naturale di polifenoli nell'oceano, raggiungendo un contenuto di 29.5 mg g⁻¹ dw (peso secco) (John James Milledge et al. 2020). Secondo studi recenti, le rese di metano del Sargasso pelagico sono comprese tra 65 e 145 LCH₄ kgSV⁻¹, corrispondente al 17–39% del rendimento teorico (John James Milledge et al. 2020). In un altro studio, tre specie di *S. natans* e *S. fluitans* hanno prodotto 113 LCH₄kgSV⁻¹. La bassa resa del Sargasso può essere attribuita al ricco contenuto di fibre indigeribili (anche superiore a 30%, come mostrato nella Tabella 1) (John James Milledge et al. 2020). Anche il basso contenuto di lipidi influenza negativamente la produzione di biometano.

Alcuni autori suggeriscono che la mono-digestione di Sargasso non è sostenibile per l'estrazione di energia data la sua bassa efficienza di bioconversione e volume del flusso imprevedibile (T. M. Thompson, Young, and Baroutian 2020). Tuttavia, il potenziale di Sargasso per la produzione di biogas potrebbe essere pienamente sfruttato mediante pretrattamenti appropriati prima del processo di DA (Tabella 5), per aumentare la biodisponibilità dei polisaccaridi difficilmente fermentabili per l'idrolisi microbica.

L'autoclavaggio del Sargasso, rispetto ad altri pretrattamenti, ha fornito la resa di metano più alta, pari a 541 LCH₄ kgSV⁻¹ (Costa et al. 2015). Il pretrattamento idrotermale del Sargasso pelagico porta ad un aumento della resa in metano e ad una diminuzione del contenuto di H₂S nel biogas (Terrell M. Thompson, Young, and Baroutian 2020). L'insilamento può risolvere il problema di discontinuità, poiché non influenza la resa in metano (John J. Milledge and Harvey 2016a).

Oltre ai pretrattamenti, una possibile soluzione per aumentare la resa di metano è rappresentata dalla co-digestione del Sargasso con substrati facilmente biodegradabili (Terrell M. Thompson, Young, and Baroutian 2021). La co-digestione aiuta ad aumentare il rapporto C/N, diluire la salinità e gli inibitori, bilanciare l'apporto di nutrienti e superare i problemi legati alla stagionalità del Sargasso. La co-digestione di glicerolo e *S. muticum* ha consentito di raggiungere un valore del rapporto C/N più vicino al valore ottimale per la digestione anaerobica e incrementare la resa di metano da 70 LkgSV⁻¹ (solo *S. muticum*) a 210 LkgSV⁻¹ (50% glicerolo e 50% *S. muticum*). La co-digestione di Sargasso con glicerolo e olio di frittura esausto ha portato ad un aumento della resa in biometano rispettivamente del 56% e del 46%, rispetto alla digestione del solo Sargasso (Oliveira, Alves, and Costa 2015b).

La co-digestione del Sargasso pelagico e dei rifiuti alimentari consente di aumentare la produzione di metano rispetto alla mono-digestione delle macroalghe, perché l'aggiunta degli scarti alimentari ottimizza il rapporto C/N e aumenta la concentrazione di macronutrienti (Terrell M. Thompson, Young, and Baroutian 2021).

Tabella 5. Produzione di biogas mediante processo di DA da diverse specie di Sargasso in esperimenti in batch.

Macroalga	T (°C)	Tempo (giorni)	Pretrattamento	Resa in metano [NmL · g⁻¹sv]	Riferimento
Consorzio di macroalghe	38	29	Lavaggio	81	(Tapia-Tussell et al. 2018)
Consorzio di macroalghe	38	29	Lavaggio, pretrattamento biologico	104	(Tapia-Tussell et al. 2018)
<i>S. natans I</i>	N.D.	28	Nessuno	65.8	(Acid et al. 2020)
<i>S. natans VIII</i>	N.D.	28	Nessuno	145.1	(Acid et al. 2020)
<i>S. fluitans</i>	N.D.	28	Nessuno	112.7	(Acid et al. 2020)
<i>S. fluitans</i> + <i>S. natans</i>	35	21	Nessuno	48.23	(Terrell M. Thompson, Young, and Baroutian 2021)

<i>S. fluitans</i> + <i>S. natans</i>	35	21	Idrotermale	102.52	(Terrell M. Thompson, Young, and Baroutian 2021)
<i>S. fluitans</i> + <i>S. natans</i>	35	21	Lavaggio, asciugatura al sole (2 settimane), riscaldamento (80°C)	41.8	(Terrell M. Thompson, Young, and Baroutian 2020)
<i>S. fluitans</i> + <i>S. natans</i>	35	21	Lavaggio, asciugatura al sole (2 settimane), riscaldamento (80°C), pretrattamento idrotermale	116.7	(Terrell M. Thompson, Young, and Baroutian 2021)
<i>S. muticum</i>	N.D.	30	Essiccamento (105°C)	166-208	(Noelia Flórez-Fernández et al. 2021)
<i>S. muticum</i>	37	28	Non-lavato	225	(John J. Milledge et al. 2018)
<i>S. muticum</i>	37	28	Lavaggio	177	(John J. Milledge et al. 2018)
<i>S. muticum</i>	37	36	Macinazione, non lavato	128.2-139.7	(Maneein et al. 2021)
<i>S. muticum</i>	37	28	Macinazione, lavaggio	163.2-170.2	(Maneein et al. 2021)
<i>Sargassum</i> <i>spp.</i>	37	42	Asciugatura (37°C), macinazione	181 LkgCO_D^{-1}	(Oliveira, Alves, and Costa 2015b)
<i>Sargassum</i> <i>spp.</i>	37	42	Asciugatura (t.a.), macinazione, autoclavaggio, fermentazione al buio	541	(Costa et al. 2015)

PARTE 2

ANALISI SPERIMENTALE

Nel passaggio dalla sezione precedente, incentrata su uno studio bibliografico esaustivo, a questa fase successiva, ci si concentra sull'analisi sperimentale, con particolare enfasi sul piano sperimentale dettagliatamente delineato in questa introduzione.

L'obiettivo della fase sperimentale di questo lavoro è stato la caratterizzazione della macroalga Sargasso e la valutazione del suo potenziale nella produzione di biometano. Inizialmente, è stata condotta un'indagine preliminare approfondita sul Sargasso, la cui metodologia è descritta nel dettaglio nel Capitolo 5. Il piano sperimentale di questa fase ha coinvolto una serie di prove di caratterizzazione, a partire dall'analisi chimico-fisica riportata nella Tabella 6.

Tabella 6. Caratterizzazione del Sargasso.

TIPO DI CARATTERIZZAZIONE	STRUMENTO/I UTILIZZATO/I	CAMPIONI ANALIZZATI
Chimico-fisica (contenuto di: carboidrati, proteine, lipidi, lignina, C, N metalli e metalloidi)	1. Stufa; 2. Muffola; 3. Essiccatore; 4. Evaporatore rotante; 5. Mineralizzatore; 6. Estrattore Soxhlet; 7. Spettrofotometro;	Sargasso essiccato.

Morfologica	1. Microscopio elettronico a scansione; 2. Microscopio confocale.	L'analisi morfologica è stata condotta sul campione di Sargasso andando ad analizzare diverse porzioni della superficie. Entrambe le analisi sono state condotte sulla foglia del Sargasso, sullo stelo e sul gas bladder.
Stabilità termica	Termobilancia	Sargasso essiccato.
Struttura atomica e molecolare	Diffratometro a raggi-X Spettrofotometro IR	Sargasso essiccato.

In parallelo alla fase di caratterizzazione del Sargasso, è stata avviata la preparazione dell'inoculo che serve come base di microorganismi per il processo di digestione anaerobica. Una volta preparato l'inoculo, viene acclimatato nel sistema Automatic Methane Potential Test System II (AMPTS-II®).

Per quanto concerne la produzione di biometano, è stato adottato un piano sperimentale in continua evoluzione, Tabella 7, in cui i risultati di ogni prova hanno delineato le condizioni operative delle prove successive.

La digestione anaerobica, sebbene caratterizzata da processi automatizzati per il controllo dei parametri critici, richiede comunque un monitoraggio costante al fine di garantire il corretto funzionamento e la stabilità del processo. Durante il suo svolgimento, possono verificarsi varie eventualità che richiedono un intervento immediato al fine di prevenire compromissioni nell'efficacia dell'operazione.

In particolare, la formazione di bolle all'interno del reattore rappresenta una delle problematiche più comuni. Queste bolle possono interferire con il corretto mescolamento dei substrati, compromettendo così l'efficacia della digestione anaerobica. Di conseguenza, è fondamentale monitorare attentamente la presenza e l'accumulo di bolle all'interno del sistema e adottare misure appropriate per la loro rimozione.

In aggiunta, il rischio di fuoriuscite di materiale, come il letame, richiede un monitoraggio altrettanto attento. La fuoriuscita di materiale può indicare problemi di tenuta o ostruzioni nei sistemi di alimentazione o scarico, che devono essere affrontati prontamente per evitare possibili compromissioni nel funzionamento del processo.

È importante anche considerare il rischio di interruzioni nell'alimentazione elettrica, che potrebbero comportare la perdita della prova in corso. Un'interruzione di corrente potrebbe compromettere il funzionamento degli apparati di controllo e monitoraggio, portando alla perdita di dati preziosi e alla necessità di ripetere l'intera procedura sperimentale. Infatti, quest'ultimo evento si è verificato nel corso di ben 5 prove (Tabella 7).

Il monitoraggio continuo durante le prove di digestione anaerobica consente di identificare tempestivamente tali anomalie e di adottare le necessarie misure correttive per mantenere l'integrità e l'efficienza del processo. Questo approccio garantisce la produzione di dati affidabili e riproducibili, fondamentali per il successo delle ricerche condotte in questo ambito.

Tabella 7: Prove di digestione anaerobica.

Numero prova	Descrizione della prova	Riportata nella tesi o non riportata nella tesi
1	Stabilizzazione dell'inoculo	
2	Test substrati noti	NO – si tratta di test preliminari necessari a convalidare la validità dell'inoculo
3	Test substrati noti	NO – si tratta di test preliminari necessari a convalidare la validità dell'inoculo
4	Test preliminari sul Sargasso	NO – si tratta di test preliminari sul Sargasso
5	Test sul Sargasso con diverse dimensioni	NO – studio preliminare sul Sargasso
6	Rinforzo inoculo	NO
7	Replica del test sul Sargasso con diverse dimensioni	SI
8	Test Sargasso + FORSU pulita prima parte	SI
9	Test Sargasso + FORSU pulita seconda parte	SI
10	Test Sargasso + FORSU sporca prima parte	NO - i dati erano simili alla prova senza contaminazione
11	Test Sargasso + FORSU sporca seconda parte	NO -i dati erano simili alla prova senza contaminazione
12	Test Sargasso + FORSU ripetizione di quattro prove	SI
13	Test rinforzo inoculo	NO
14	Test pretrattamenti: lavaggio – microonde – sonicazione	NO – test preliminari
15	Test Nps Fe ₂ O ₃	NO - test interrotto a causa di un malfunzionamento dello strumento vanificando tutto il lavoro svolto
16	Ripetizione test NPs	SI

17	Test macroalghe Crotone	NO – nella tesi sono stati riportati solo i dati sul Sargasso
18	Test pretrattamento ossidativo condotto in UFHEC	NO – test condotto in Repubblica Dominicana e ripetuto in Unical
19	Test pretrattamenti: microonde – lavaggio – sonicazione -ossidativo	SI
20	Test rinforzo inoculo	NO
21	Test Sargasso + NPs Fe ₃ O ₄	NO - da maggio 2023 a settembre 2023 l'Unical e' stata interessata da una serie di malfunzionamenti della rete elettrica vanificando tutto il lavoro svolto
22	Test Sargasso + NPs Fe ₃ O ₄	NO - da maggio 2023 a settembre 2023 l'Unical e' stata interessata da una serie di malfunzionamenti della rete elettrica vanificando tutto il lavoro svolto
23	Test Sargasso + NPs Fe ₃ O ₄	NO - da maggio 2023 a settembre 2023 l'Unical e' stata interessata da una serie di malfunzionamenti della rete elettrica vanificando tutto il lavoro svolto
24	Test Sargasso + NPs Fe ₃ O ₄	NO - da maggio 2023 a settembre 2023 l'Unical e' stata interessata da una serie di malfunzionamenti della rete elettrica vanificando tutto il lavoro svolto
25	Test Sargasso + NPs Fe ₃ O ₄	NO - da maggio 2023 a settembre 2023 l'Unical e' stata interessata da una serie di malfunzionamenti della rete elettrica vanificando tutto il lavoro svolto
26	Test Sargasso + glicerolo	NO - le prove sono terminate dopo la consegna della tesi

Nel contesto del lavoro sperimentale, sono state eseguite prove di digestione anaerobica su campioni di Sargasso precedentemente sottoposti a pretrattamento. Questo ha implicato una fase di pretrattamento dei campioni, durante la quale sono stati variati diversi parametri. È importante sottolineare che non tutte le prove di pretrattamento sono state documentate all'interno di questa tesi. In seguito, i campioni pretrattati sono stati accuratamente caratterizzati al fine di stabilire un confronto significativo con il campione di controllo non pretrattato.

In aggiunta, la ricerca ha dedicato un focus significativo allo studio cinetico del processo. Questa fase ha coinvolto una serie di test, i quali sono stati eseguiti utilizzando il software Origin19 al fine di ottimizzare l'analisi cinetica. Questa metodologia è stata adottata per garantire un'analisi dettagliata e accurata del comportamento cinetico del sistema in studio.

Capitolo 5

Sperimentazione preliminare: caratterizzazione del Sargasso

Il Capitolo 5 costituisce il primo di una serie di cinque capitoli dedicati all'analisi dell'attività sperimentale. All'interno di questo capitolo, vengono delineati dettagliatamente i processi di raccolta e conservazione della biomassa algale di Sargasso impiegata durante l'intera fase sperimentale. La sezione offre una disamina approfondita dei metodi utilizzati per la caratterizzazione della biomassa, inclusi gli esiti ottenuti. In particolare, il campione di Sargasso è stato soggetto a una valutazione meticolosa, con particolare attenzione rivolta alle sue proprietà chimico-fisiche, alla stabilità termica, nonché agli studi morfologici e della struttura atomica e molecolare.

Per quanto concerne l'analisi della caratterizzazione chimico-fisica, sono stati eseguiti determinazioni dettagliate per valutare il contenuto di ceneri, l'umidità, i solidi volatili (SV), i solidi totali (ST), i carboidrati, le proteine, i lipidi, la lignina, nonché il contenuto di metalli e metalloidi. Ulteriori parametri presi in considerazione comprendono il contenuto di carbonio organico, carbonio totale, azoto totale e la domanda chimica di ossigeno. Questa esaustiva analisi fornisce un quadro completo delle proprietà chimiche e fisiche del campione di Sargasso, contribuendo così a una comprensione approfondita della sua composizione e idoneità per le applicazioni previste nell'ambito della presente ricerca.

L'indagine sulla stabilità termica è stata effettuata mediante l'impiego di analisi termogravimetrica e calorimetria a scansione differenziale. Parallelamente, lo studio morfologico è stato condotto sfruttando tecniche avanzate come la microscopia a scansione elettronica e la microscopia confocale. Infine, l'analisi della struttura atomica e molecolare è stata intrapresa mediante l'utilizzo di strumenti sofisticati quali la diffrazione a raggi-X e la spettroscopia infrarossa. Queste metodologie di

caratterizzazione multidisciplinari consentono di ottenere una comprensione completa e approfondita delle proprietà termiche, morfologiche e strutturali del campione di Sargasso, rappresentando un passo fondamentale per la comprensione delle sue potenziali applicazioni e risorse nell'ambito della ricerca in corso.

5. Materiali e metodi

5.1 Il Sargasso utilizzato nella sperimentazione

Un campione di Sargasso, accumulato su barriere situate ad una distanza di 300 metri dalla costa orientale della Repubblica Dominicana, è stato raccolto a Punta Cana (18°32'N 68°22'W) durante la stagione primaverile. Il campione è stato trasportato in laboratorio in delle borse refrigerate ed in seguito è stato lavato con acqua (Figura 14a) e le epifite e gli elementi non strutturali sono stati rimossi dalla biomassa (Figura 14b). L'acqua in eccesso è stata rimossa dalla biomassa con un tovagliolo di carta assorbente e i campioni sono stati asciugati all'aria aperta (Figura 14c) per diversi giorni fino al raggiungimento del peso costante.

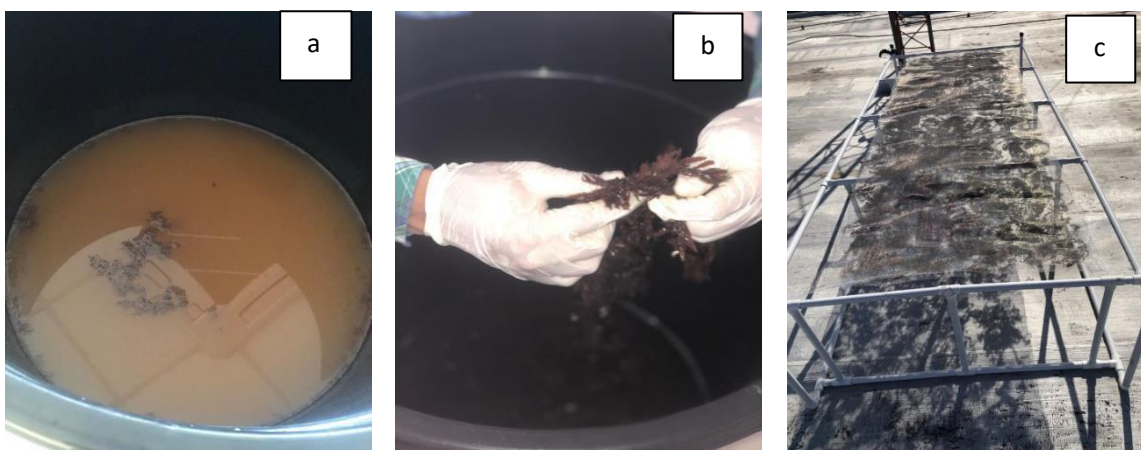


Figura 14. Processo di lavorazione del Sargasso: a) lavaggio, b) rimozione delle epifite, c) essiccazione.

5.2 Caratterizzazione chimico-fisica del Sargasso

La determinazione dei ST e dei SVT è stata eseguita tenendo conto della procedura analitica di laboratorio (LAP) (Sluiter et al. 2008).

5.2.1 Determinazione del contenuto di umidità

L'umidità è stata determinata essiccando il campione in un forno a $105^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. I campioni prima di essere introdotti all'interno della stufa, sono stati ridotti in pezzatura dell'ordine di $1000\ \mu\text{m}$ circa per mezzo di un mulino di laboratorio. I campioni risultanti sono stati posti in stufa a $105^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ per 2h (per ogni campione è stata pesata una quantità compresa tra 5 e 10 g all'interno di un crogiolo di porcellana). Dopo il processo di essiccazione, i campioni sono stati rimossi dalla stufa e lasciati raffreddare in un essiccatore da laboratorio fino al raggiungimento di una massa costante ed infine pesati. Il contenuto di umidità è stato calcolato mediante l'Equazione 11:

$$U(\%) = \frac{W_0 - W_f}{W_0} * 100 \quad (11)$$

dove W_0 rappresenta la massa del campione (g) prima dell'essiccazione in forno, W_f rappresenta la massa del campione (g) dopo l'essiccazione in forno a $105^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

5.2.2 Determinazione del contenuto di ceneri

Il contenuto delle ceneri è stato determinate mediante calcinazione in muffola a 550°C per 6 h (Figura 15). Il metodo prevede l'incenerimento di una aliquota del campione d'analisi in un'atmosfera ossidante alla temperatura di $550 \pm 10\ ^{\circ}\text{C}$ fino a completa combustione della sostanza organica ed al raggiungimento di una massa costante.

Nella capsula tarata con bilancia analitica sono stati pesati circa 5 g di campione. La capsula è stata collocata all'interno della muffola precedentemente riscaldata fino a completa combustione della sostanza organica ed al raggiungimento di una massa costante. Quando l'incenerimento è completato (4 - 6 ore) la capsula è stata prelevata dalla muffola e lasciata raffreddare in essiccatore. Raggiunta la temperatura ambiente è stata pesata.

Il contenuto di ceneri è stato calcolato mediante l'Equazione 12:

$$Ceneri (\%) = \frac{W_c}{W_0} * 100 \quad (12)$$

dove W_0 rappresenta la massa del campione (g) essiccato prima dell'essiccazione in forno e W_c rappresenta la massa (g) residua del campione dopo calcinazione in muffola a $550^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$ per 6 ore.

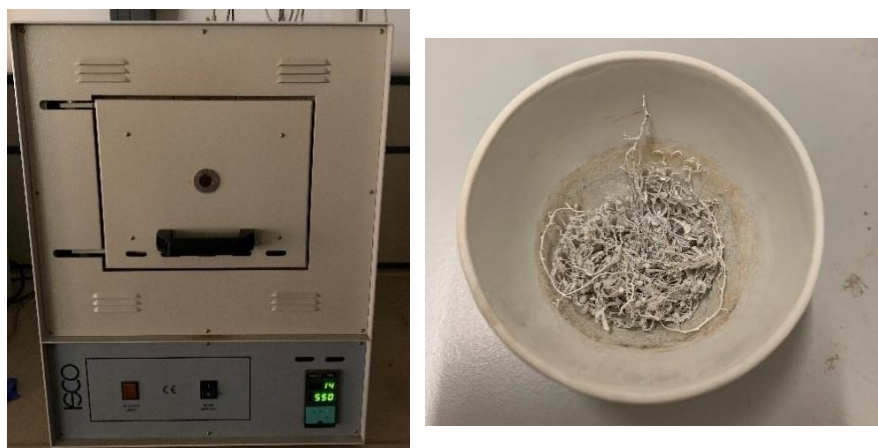


Figura 15. Calcinazione del campione di Sargasso.

5.2.3 Determinazione dei solidi volatili

I solidi volatili sono stati calcolati mediante l'Equazione 13:

$$SV (\%) = \frac{W_d - W_c}{W_0} * 100 \quad (13)$$

dove W_d rappresenta la massa del campione (g) dopo essiccazione in stufa a $105^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, W_c rappresenta la massa del campione (g) dopo calcinazione in muffola a $550^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$ per 6 ore e W_0 è la massa umida iniziale del campione (g).

5.2.4 Determinazione del contenuto di solidi totali

Il contenuto di solidi totali è dato dalla somma dei solidi volatili e delle ceneri, così come è riportato nell'Equazione 14.

$$ST (\%) = SV (\%) + \text{ceneri} (\%) \quad (14)$$

5.2.5 Determinazione del contenuto di carboidrati

Il contenuto di carboidrati è stato determinato mediante idrolisi in due fasi in acido solforico seguita dalla quantificazione dei carboidrati solubili mediante spettroscopia

(basato sulla derivatizzazione del gruppo funzionale aldeidico), per una determinazione complessiva della concentrazione di zuccheri monomerici combinati.

5.2.6 Determinazione del contenuto di proteine

Per la determinazione del contenuto proteico è stato impiegato il metodo di Bradford. Questo metodo utilizza un reattivo, il Coomassie Brilliant Blue, che legandosi ai gruppi amminici e carbossilici, in particolare all'arginina, conferisce una colorazione blu alla soluzione in base alla concentrazione delle proteine in essa contenute. Il picco di assorbanza del colorante è a 595 nm. Inoltre, il dosaggio è colorimetrico: all'aumentare della concentrazione proteica, il colore del campione diventa più scuro. Il Coomassie assorbe a 595 nm, per cui la concentrazione delle proteine può venire stimata con l'aiuto di uno spettrofotometro. La quantificazione proteica è stata effettuata all'interno dell'intervallo lineare (5-25 $\mu\text{g/mL}$).

Il metodo prevede inizialmente l'estrazione mediante PDS Dulbecco's Phosphate Buffered Saline solution (100 mL) (Figura 16b) della frazione proteica da una quantità opportuna di matrice macinata finemente (in questo caso 2,5 g) (Figura 16a). Successivamente, l'estratto è stato filtrato (Figura 16c).

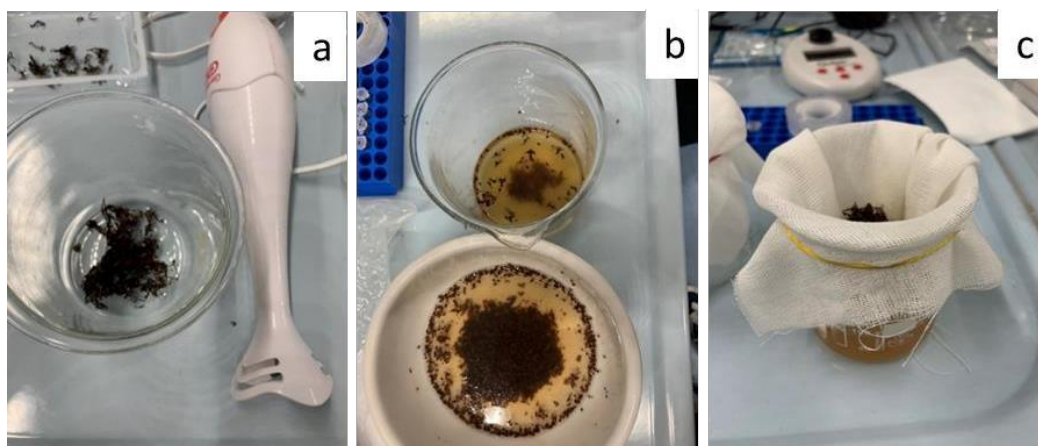


Figura 16. Fasi sperimentali del metodo Bradford: a) macinazione, b) estrazione, c) filtrazione del Sargasso.

Il surnatante ottenuto in seguito alla filtrazione è stato preparato per l'analisi spettrofotometrica:

- 1) 20 μl dell'estratto sono stati introdotti in una provetta di reazione;
- 2) Sono stati aggiunti 800 μl di acqua deionizzata e 200 μl di reagente di Bradford;

- 3) La soluzione ottenuta è stata posta sotto agitazione per 5 minuti affinché la reazione giunga a completezza;
- 4) La soluzione finale è stata analizzata mediante spettrofotometro alla lunghezza d'onda di 595 nm.

E' stata effettuata la procedura descritta sopra su 3 campioni differenti della stessa matrice algale.

5.2.7 Determinazione del contenuto di lipidi

Per la determinazione del contenuto lipidico è stato impiegato il Metodo Soxhlet (Figura 17). Il campione è stato estratto con etere di petrolio, eliminato successivamente per distillazione, mentre il residuo solido è stato essiccato e pesato.

L'estrazione con Soxhlet è stata condotta per 8 h a 50 °C con 2.5603 g di campione e 150 mL di etere di petrolio ($T_{\text{ebb}} = 40\text{ °C}$).



Figura 17. Estrazione di lipidi mediante metodo Soxhlet in atmosfera controllata.

L'estratto ottenuto è stato concentrato con un evaporatore rotante (Figura 18). Per ridurre ulteriormente il solvente residuo la frazione lipofila è stata essiccata utilizzando una pompa da vuoto fino a raggiungere una massa costante di 44 mg.



Figura 18. Concentrazione dell'estratto utilizzando l'evaporatore rotante.

La resa percentuale è stata calcolata seguendo l'Equazione 15:

$$Resa (\%) = \frac{\text{massa frazione lipofila ottenuta (g)}}{\text{massa del campione iniziale (g)}} \times 100 \quad (15)$$

5.2.8 Determinazione del contenuto di lignina

L'estrazione della lignina è avvenuta mediante l'applicazione del metodo Kraft. Il Sargasso è stato posto in una miscela di NaOH (pH=13) a 170°C per due ore. In seguito, mediante essiccazione si recupera la lignina.

5.2.9 Determinazione del contenuto di metalli e metalloidi

I campioni sottoposti ad analisi sono stati previamente mineralizzati mediante un mineralizzatore a microonde Milestone® Star D - Microwave Digestion System (Figura 19a). Ogni campione è stato previamente introdotto all'interno di un opportuno vessel in teflon (Figura 19b), adatto alla mineralizzazione, insieme a 12 mL di soluzione acida (HCl: HNO₃/1:3) e posti a mineralizzare a 250 W per 40 min. Le soluzioni mineralizzate (Figura 19c) ottenute sono state filtrate con un filtro da 0.45 µm ed opportunamente diluite per l'analisi ICP-MS.

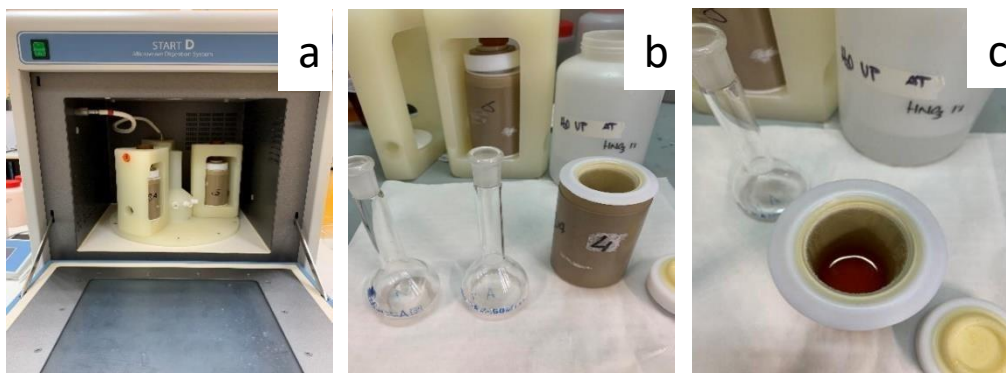


Figura 19. Fasi del processo di mineralizzazione: a) mineralizzatore microonde Milestone® Star D - Microwave Digestion System, b) vessel in Teflon, c) campione mineralizzato.

Le concentrazioni dei metalli e dei metalloidi nelle soluzioni ottenute sono state determinate utilizzando un ICP-MS Thermo Scientific™ iCAP™ TQ ICP-MS (Thermo Fisher Scientific, USA) (Figura 20). Soluzione standard multielemento dei metalli e dei metalloidi ricercati (materiali di riferimento certificati TraceCERT® (CRM), 50 mg / L di ogni elemento, Merck, Germania) sono state utilizzate per calibrare lo strumento utilizzando diverse concentrazioni di standard analitici: 0, 5, 10, 20, 50 e 100 ppb (curva di calibrazione $R^2 = 1$ e $LOD = 0.003$ ppb). Per la preparazione delle soluzioni acquose (standard e diluizioni) è stata utilizzata acqua ultra-pura, avente una resistività di 18.3 MΩcm e ottenuta dal sistema di purificazione dell'acqua Ariosio (Human Corporation, Corea).

Il contenuto di metalli e metalloidi dei campioni analizzati, espresso come $mg\ Kg^{-1}\ S.S.$, è stato calcolato mediante l'Equazione 16, dove B è la concentrazione ($mg\ L^{-1}$) espressa dall'analisi ICP-MS, V (mL) è il volume della soluzione ottenuta dalla mineralizzazione e portata a volume a 50 mL, m la massa del campione mineralizzato.

$$\frac{mg}{Kg} S.S = \frac{BV}{m} \quad (16)$$



Figura 20. ICP-MS Thermo Scientific™ iCAP™ TQ ICP-MS (Thermo Fisher Scientific, USA).

5.2.10 Contenuto domanda chimica di ossigeno

La determinazione del COD (Chemical Oxygen Demand) è stato effettuato attraverso uno spettrofotometro WTW multi-parametrico PhotoLab 7600 UV-Vis (Figura 21) attraverso l'impiego di fiale predosate per analisi COD.



Figura 21. Spettrofotometro IWR multi-parametro e fiale predosate per analisi COD (Chemical Oxygen Demand).

Una massa di campione pari a circa 1mg è stata introdotta all'interno della fiala con 1 mL di acqua distillata. In seguito, la fiala è stata posta in un reattore per la fase di digestione (2h a 148°C). Dopo la procedura di digestione e il successivo raffreddamento, la fiala è stata posta nell'alloggiamento dedicato dello spettrofotometro ed analizzata (facendo uno di curve di calibrazione previamente inserite nello strumento da parte della casa madre dello strumento).

5.2.11 Contenuto di carbonio organico totale

La determinazione del TOC (Total Organic Carbon) è stata effettuata mediante spettrofotometro WTW multi-parametrico PhotoLab 7600 UV-Vis (Figura 22) attraverso l'impiego di fiale predosate per analisi TOC.

Tale metodo ha previsto dapprima la macinazione della matrice algale e successivamente il suo dosaggio (1 mg) all'interno delle fiale TOC contenenti i reagenti necessari alla quantificazione del TOC.



Figura 22. Spettrofotometro WTW multi-parametrico PhotoLab 7600 UV-Vis.

5.3 Analisi morfologica del Sargasso

Lo studio morfologico dei campioni è stato eseguito mediante l'utilizzo del microscopio elettronico a scansione (MES) (Quanta FEG 400 (FEI)) e del microscopio confocale (MC) (TCS-SP8, Leica – Figura 23). Per l'imaging MES campioni sono stati metallizzati con un sottile strato di argento e le immagini sono state acquisite utilizzando un fascio di

elettroni di 15 KeV. Per l'imaging MC è stato utilizzato un obiettivo ad immersione in acqua 20X (lunghezza d'onda 633 nm).

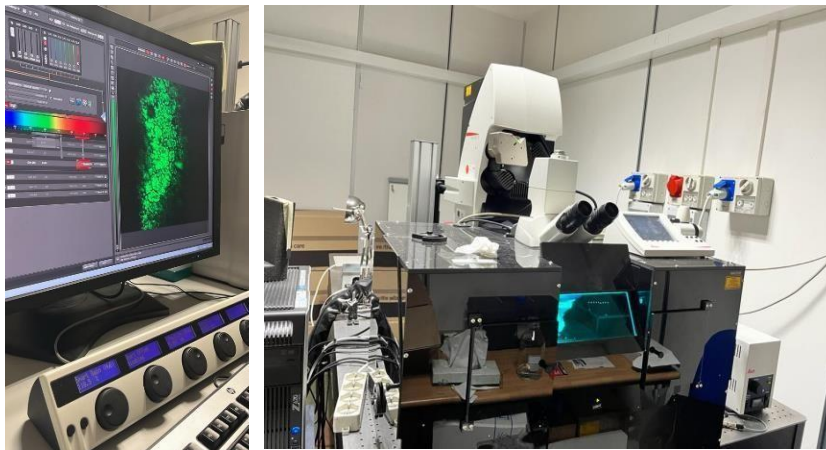


Figura 23. Microscopio confocale TCS-SP8, Leica.

5.4 Stabilità termica del Sargasso

5.4.1 Analisi termogravimetrica e calorimetria a scansione differenziale

La stabilità termica del Sargasso è stata valutata mediante analisi termogravimetrica (TGA) e calorimetria a scansione differenziale (CSD) utilizzando Netzsch STA 409 (Figura 24). La prova è stata condotta in condizioni di aria statica, velocità di riscaldamento di $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ da 25°C fino a 740°C .

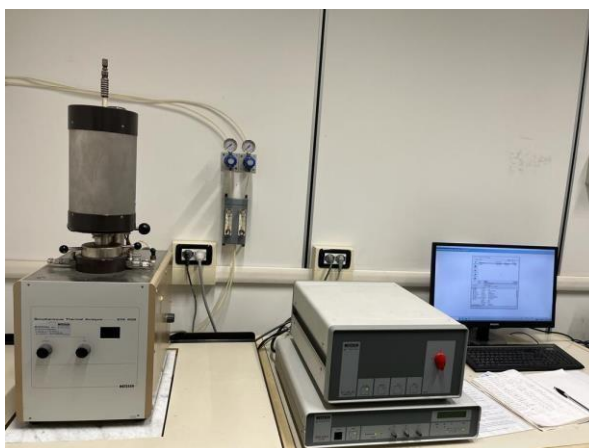


Figura 24. Apparato sperimentale per analisi termogravimetrica Netzsch STA 409.

5.5 Struttura atomica e molecolare del Sargasso

5.5.1 Diffrazione a raggi-X

La caratterizzazione primaria delle proprietà dei materiali come la struttura cristallina viene eseguita mediante diffrazione di raggi X (DRX). In questo studio, la determinazione delle strutture cristalline nei campioni di Sargasso è stata effettuata mediante diffrattometro a raggi X Rigaku MiniFlex 600 con radiazione $\text{CuK}\alpha$ generata a 2° mA e 40 KV. I campioni sono stati scansionati con incrementi di $0.02\ 2\theta$ alla velocità di $1^\circ/\text{minuto}$ tra 5° e 50° (intervallo di angoli 2θ).

5.5.2 Analisi FT-IR

La spettroscopia infrarossa o spettroscopia IR è una tecnica spettroscopica utilizzata nel campo della caratterizzazione dei materiali per lo studio chimico dei legami. In questo studio i campioni sono stati caratterizzati mediante la modalità di trasmittanza FT-IR utilizzando lo spettrometro PerkinElmer Spectrum 100 (Figura 25). La risoluzione utilizzata per catturare lo spettro è $4\ \text{cm}^{-1}$ nell'intervallo compreso tra $400\ \text{cm}^{-1}$ e $4000\ \text{cm}^{-1}$.

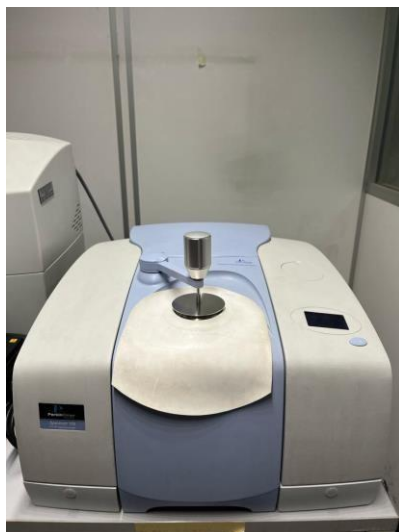


Figura 25. Spettrometro PerkinElmer Spectrum 100.

5.6 Risultati sperimentali e discussione

5.6.1 Caratterizzazione chimico-fisica

In Tabella 8 è riportata la composizione della biomassa di Sargasso utilizzata durante le attività sperimentali. La biomassa di Sargasso è molto eterogenea. La composizione chimica delle macroalghe è molto importante poiché influenza il processo di DA quando le macroalghe vengono utilizzate come substrato. I composti più abbondanti del campione analizzato sono i carboidrati (51.9%) e le ceneri, in linea con quanto riportato in letteratura (Vázquez-Delfin et al. 2021). Gli elementi più abbondanti presenti nella biomassa oggetto di studio sono potassio, calcio e sodio, mentre gli altri elementi sono presenti in quantità inferiori all'1%. Questo risultato è confermato da uno studio precedente condotto sul Sargasso (Terrell M. Thompson, Young, and Baroutian 2020). I macronutrienti (Na, Mg, Al, P, K e Ca) sono essenziali per la crescita anaerobica, l'attività metabolica e la stabilità del digestore. In particolare, il livello di Na, che dipende dalle condizioni di crescita oceanica, è ritenuto rilevante perché riduce il potenziale di tossicità dell' $\text{NH}_3\text{-N}$, ma se presente in quantità elevate provoca una grave inibizione della proliferazione del metanogeno. La concentrazione dei metalli pesanti, che possono essere tossici e disturbare la funzione del digestore, rientrano nell'intervallo documentato in letteratura per un'efficienza ottimale di bioconversione microbica (T. Schmidt et al. 2018)(Y. Tian et al. 2019). La concentrazione di carbonio e azoto è fondamentale poiché il rapporto carbonio-azoto (C/N) influenza notevolmente il processo di DA. Quando il rapporto C/N è molto elevato l'azoto viene consumato rapidamente e la produzione di biogas diminuisce. Al contrario, un basso rapporto C/N provoca il rilascio e accumulo di azoto sotto forma di ioni ammonio, il cui livello elevato aumenta il pH nel digestore ed è tossico per i batteri metanogeni. Il campione di Sargasso oggetto di studio è caratterizzato da un rapporto C/N pari a 7.92, significativamente inferiore al rapporto C/N ottimale di 20–30 richiesto per un processo di digestione stabile.

Tabella 8. Analisi chimico-fisica del Sargasso.

Componente	Contenuto	
	[%]	
Carboidrati	51.9	Percentuale di campione pre-essiccato all'aria aperta
Lipidi	1.65	
Proteine	0.62	
Lignina	35.2	
C	19	Percentuale di campione pre-essiccato all'aria aperta
N	2.4	
Na	1.22	Percentuale di solidi totali dopo l'essiccazione in forno
Mg	0.76	
Al	0.013	
K	3.36	
Ca	1.93	
Mn	0.003	
Fe	$<10^{-3}$	
Ni	0.001	
Cu	$<10^{-4}$	
Zn	0.006	
Ba	$<10^{-3}$	
Pb	0.003	
B	0.002	
P	0.009	
As	$<10^{-4}$	

5.6.2 Stabilità termica e struttura atomica

Le curve TG e DTG del campione di Sargasso (Figura 26) mostrano una zona di disidratazione (Alzate-Gaviria et al. 2021) che va da 50°C a 150°C con un indice di perdita d'acqua pari al 9.2% in massa. La seconda zona, da 150°C a 581°C, indica una perdita di massa del 50.90%, con due picchi importanti della curva DTGA a 260°C e 320°C. Questi picchi sono da attribuire alla decomposizione rispettivamente dell'emicellulosa e della cellulosa (Zaidi et al. 2019). Il picco a 461.19 °C indica la decomposizione dei composti a base di lignina (Alzate-Gaviria et al. 2021). Il picco a 683.69°C indica la decomposizione di materiale inorganico, la trasformazione di alcuni carbonati e l'eliminazione dei metalli pesanti (López-Sosa et al. 2020). Una terza zona è stata osservata da 581°C a 740°C con una perdita di peso del 18.60%, questa zona indica la presenza di componenti inorganici del campione (López-Sosa et al. 2020) , in particolare calcite, dolomite e quarzo.

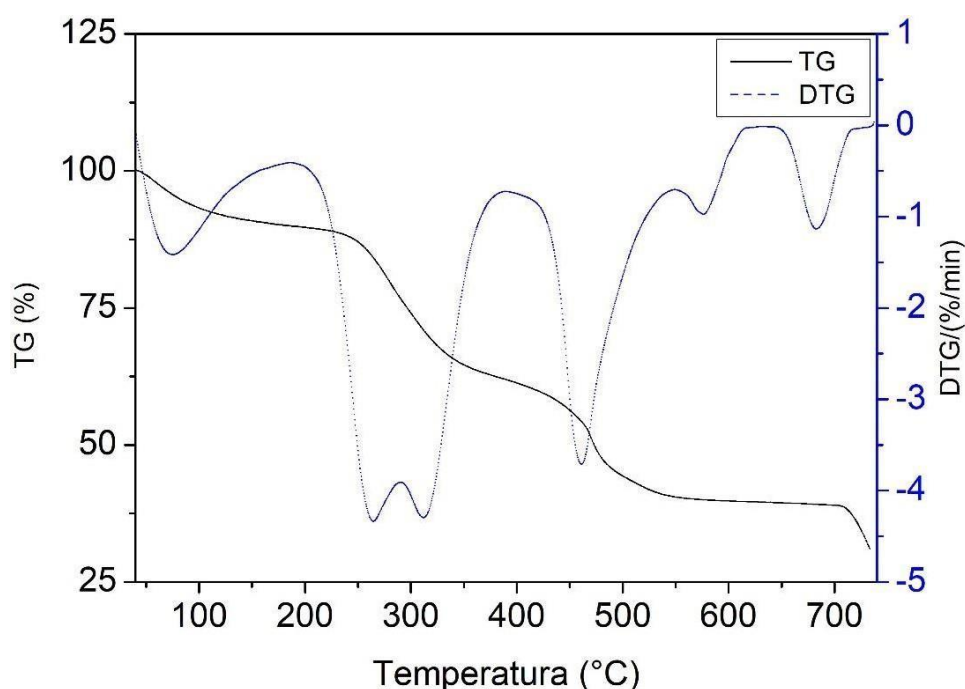


Figura 26. Curve TG (%) e DTG (%) del campione di Sargasso.

La curva DSC del campione di Sargasso (Figura 27) è caratterizzata dalla presenza di un picco esotermico a 311.7°C associato alla depolimerizzazione termica dell'emicellulosa (Candamano et al. 2021), un picco esotermico a 471.1°C associato alla decomposizione della lignina e un picco endotermico attorno ai 700°C che indica la decomposizione della calcite.

La curva XRD del campione di Sargasso è mostrata in Figura 28, ed è possibile osservare diversi picchi. Il picco più alto a $2\Theta=29.28^\circ$ è associato al piano di calcite (104), seguito dai picchi a $2\Theta = 39.40^\circ - 43.18^\circ - 47.76^\circ - 48.70^\circ$, associati rispettivamente ai piani (113) - (202) - (018) - (116) di calcite (Gunasekaran, Anbalagan, and Pandi 2006). Inoltre, due picchi a $2\Theta = 13.80 - 22.76$ sono associati rispettivamente ai piani di cellulosa (110) e (002) (Candamano et al. 2021). Oltre alla calcite e alla cellulosa sono presenti tracce di dolomite e quarzo. I picchi dolomitici a $2\Theta = 24.58^\circ - 32.62^\circ - 37.34^\circ - 37.88^\circ$ sono associati rispettivamente ai piani (012) – (015) – (110) – (110) (Gunasekaran, Anbalagan, and Pandi 2006). Il quarzo è presente in quantità quasi trascurabili con un solo picco a $2\Theta = 25.56^\circ$ corrispondente al piano (011) (Z. Wang et al. 2022). La presenza di calcite nel Sargasso è da attribuire alla presenza dell'esoscheletro della brioza che vive sulla superficie delle macroalghe (Davis et al. 2021).

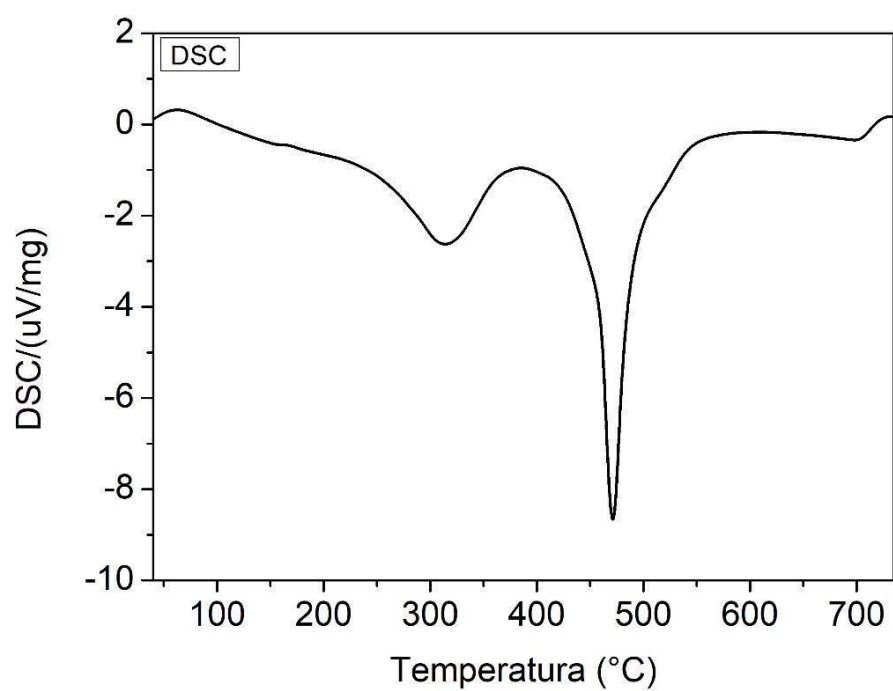


Figura 27. Curva DSC ($\mu\text{V}/\text{mg}$) del campione di Sargasso.

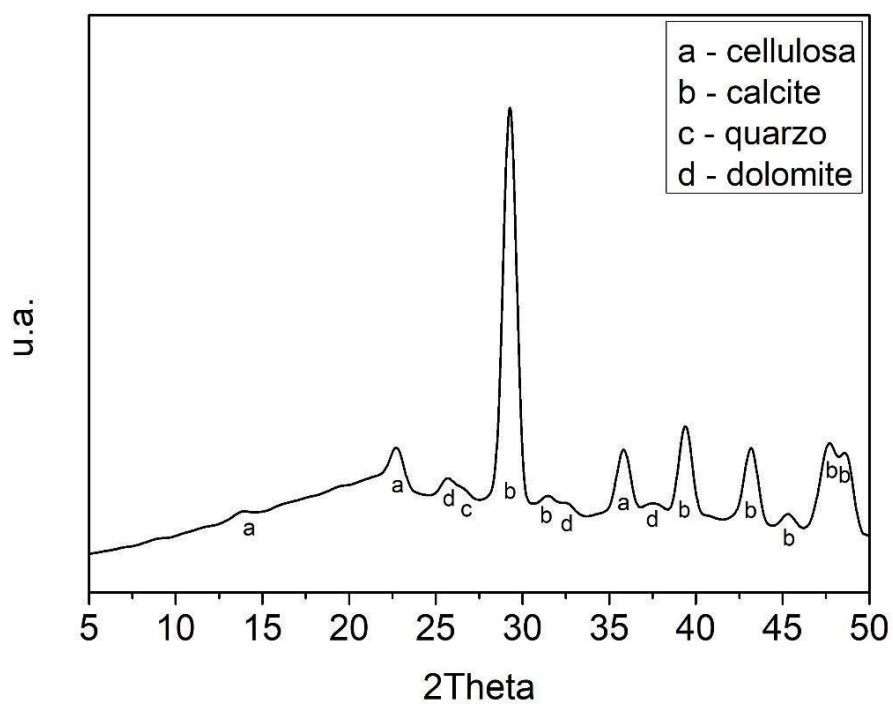


Figura 28. Curva XRD (u.a.) del campione di Sargasso.

Lo spettro FT-IR del campione nell'intervallo 500-4000 cm^{-1} è mostrato nella Figura 29. L'ampia banda di assorbimento centrata a 3300 cm^{-1} e 1622 cm^{-1} è associata alle vibrazioni di allungamento e flessione O-H dell'acqua (Alvarado Flores et al. 2022) . Le bande a circa 2932 cm^{-1} possono essere attribuite ai gruppi di stiramento del metile e del metilene sia dell'emicellulosa che della cellulosa (Candamano et al. 2021). Le bande di assorbimento a 1100-1000 cm^{-1} sono associate alla deformazione di C-H o lo stiramento di C-O o C-C appartenenti ai carboidrati (Kannan 2014) e ai polisaccaridi (S. Tian et al. 2005). I picchi a 875 e 1425 cm^{-1} corrispondono ai picchi di vibrazione della flessione fuori piano O-C-O e allo stiramento asimmetrico della calcite, rispettivamente(Xyla and Koutsoukos 1989).

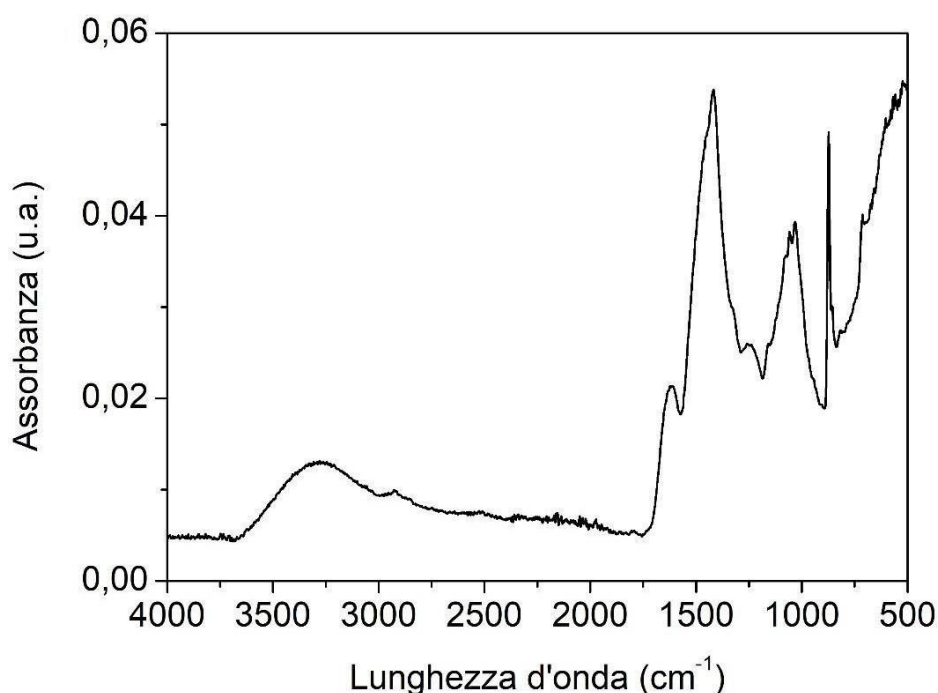


Figura 29. Spettro di assorbanza (u.a.) del campione di Sargasso.

5.6.3 Analisi morfologica

Le immagini SEM (Figura 30) mostrano che la superficie del campione di Sargasso è ricca di strutture simili alla calcite (CaCO_3), tali strutture sono da attribuire alla presenza dell'esoscheletro delle Briozoe (Davis et al. 2021). Il risultato ottenuto conferma quanto riscontrato con l'analisi XRD e FT-IR.

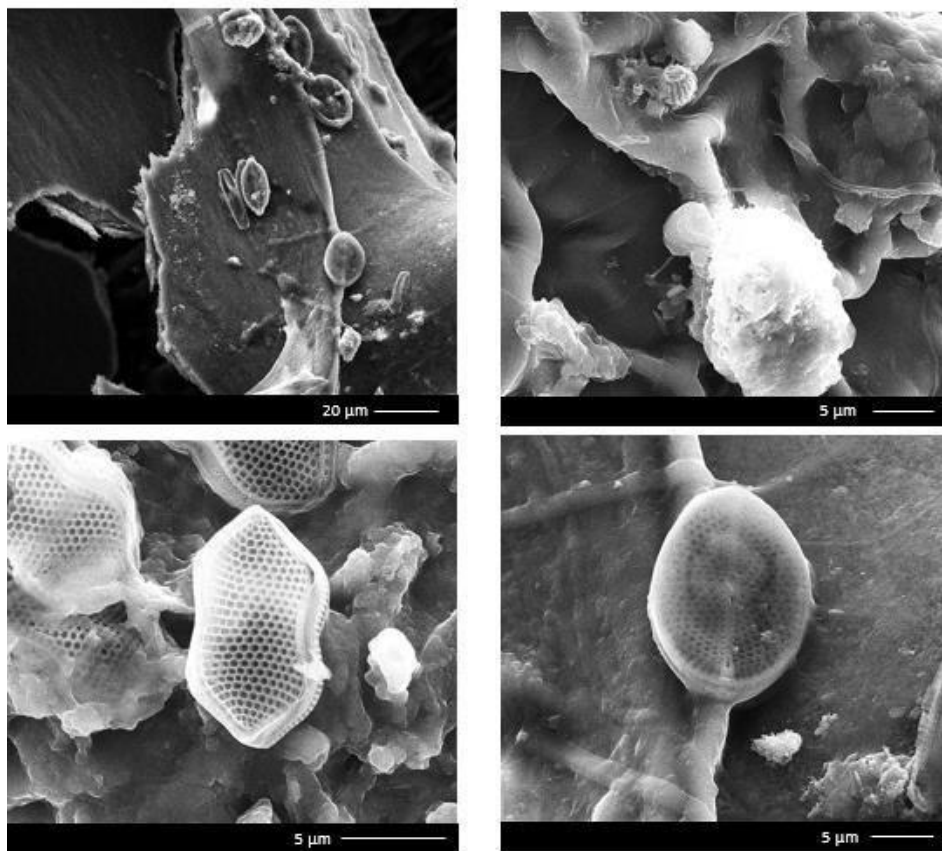


Figura 30. Immagini SEM del campione di Sargasso a diverso ingrandimento.

Le immagini ottenute mediante microscopia confocale mostrano invece la struttura cellulare. Il campione di Sargasso (Figura 31) mostra punti luminosi visibili all'interno delle cellule, di circa 3 µm (Kuroiwa et al. 1981) , corrispondono ai cloroplasti.

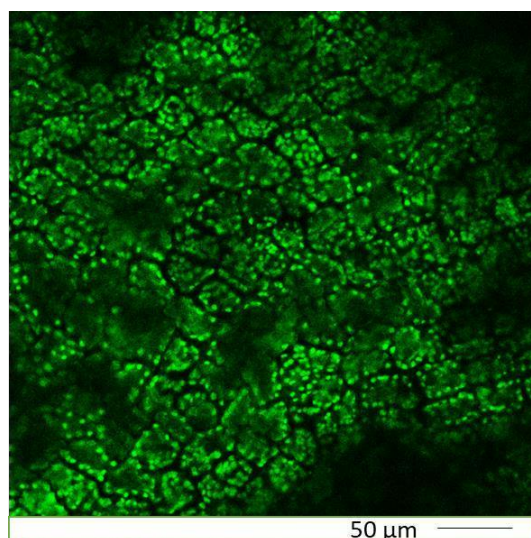


Figura 31. Immagine confocale del campione di Sargasso.

Capitolo 6

Effetto della dimensione delle particelle sulla cinetica di biometanazione del Sargasso

Questo capitolo costituisce un estratto dall'articolo intitolato "Effect of particle size on the bimethanation kinetics of mechanically pretreated *Sargassum spp.* biomass", il quale è stato pubblicato sulla rivista scientifica "Methane".

Nell'ambito di questo studio, sono stati esaminati gli impatti delle dimensioni delle particelle sulla cinetica della biometanazione della biomassa di Sargasso sottoposta a pretrattamenti meccanici. Il processo di digestione anaerobica è stato approfonditamente indagato attraverso l'utilizzo del "Automatic Potential System Test II" (AMPTS® II) per determinare il potenziale biochimico del metano (PBM) della biomassa.

La valutazione dei parametri cinetici è stata condotta con rigore scientifico, impiegando il Modello Cinetico del Primo Ordine, il Modello di Gompertz modificato e la Funzione logistica. I risultati e le conclusioni di questo studio forniscono una chiara comprensione dell'ottimizzazione del processo di biometanazione, con particolare attenzione agli aspetti legati alle dimensioni delle particelle della biomassa di Sargasso.

La pubblicazione rafforza la rilevanza e la contribuzione scientifica di questo lavoro nel contesto della produzione sostenibile di biometano utilizzando il Sargasso come materia prima.

6.1 Materiali e metodi

6.1.1 Substrato ed inoculo

Il substrato utilizzato, ossia il Sargasso, è stato ampiamente descritto nel capitolo 5, sezione 5.1.

Il letame bovino fresco necessario per la preparazione dell'inoculo è stato raccolto da un'azienda agricola locale (Azienda Agricola “Domenico Frontera” a Savelli - Italia). Lo stesso giorno il letame è stato diluito e mescolato, con un bastoncino di legno, con acqua di rubinetto in rapporto 1:1. Le fasi della preparazione dell'inoculo sono mostrate in Figura 32.



Figura 32. Preparazione dell'inoculo.

6.1.2 Pretrattamento della biomassa

Il campione di Sargasso è stato sottoposto a pretrattamento meccanico in diverse condizioni: S.1 (Figura 33 a), campione tagliato con le forbici; S.2 (Figura 33 b), campione tritato (505 μm) utilizzando il mixer Philips (Milano, Italia) (950 W) per 1 minuto alla massima velocità; S.3 (Figura 33 c), campione macinato in polvere (107 μm) utilizzando il mixer Moulinex (Écully, Francia) per 2 minuti. La determinazione dei ST, SV, ceneri ed umidità è stata eseguita tenendo conto della procedura riportata nel paragrafo 5.2.

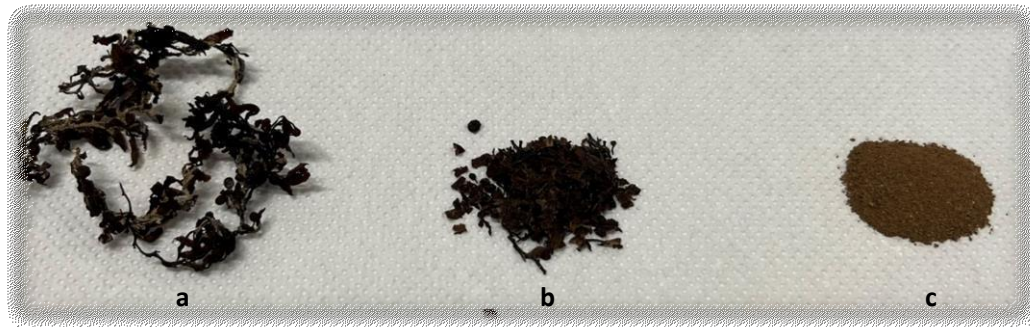


Figura 33. Biomassa di Sargasso con diverse dimensioni delle particelle a causa del pretrattamento meccanico, a) sminuzzata ($S1 > 50000 \mu\text{m}$), b) tritata ($S2 = 505 \mu\text{m}$) e c) macinata ($S3=107 \mu\text{m}$).

6.1.3 Analisi granulometrica della biomassa

L'analisi granulometrica dei campioni pretrattati meccanicamente (S.2, S.3) è stata effettuata utilizzando un diffrattometro laser Mastersize2000 (Malvern, Regno Unito) per determinare il diametro medio della superficie rispetto al volume. L'analizzatore è dotato di due accessori per la dispersione del campione nella cella. Per il campione S.2, la prova è stata condotta mediante dispersione a secco utilizzando Scirocco 2000, ad una pressione di 1,9 bar e una velocità di alimentazione del 50%. Il campione S.3 è stato analizzato mediante dispersione a umido con Hydro2000MU utilizzando acqua come fluido disperdente a causa della tendenza all'agglomerazione dei materiali con particelle di piccole dimensioni.

6.1.4 Determinazione del potenziale biochimico del metano sperimentale

Il potenziale biochimico del metano (PBM) è stato valutato mediante l'utilizzo dell'“Automatic Potential System Test II” (AMPTS[®] II), Figura 34, prodotto da BPC Instruments (Lund, Svezia). L' AMPTS[®] II è costituito da 15 canali che misurano il flusso di gas da 15 reattori batch da 500 ml. Ciascun reattore contiene 450 ml di inoculo caratterizzato dalla presenza di $6.67 \pm 0.40\%$ ST, $22.45 \pm 0.60\%$ di ceneri e $77.55 \pm 0.40\%$ di SV. L'amido di mais Conad (Bologna, IT) è stato utilizzato come controllo per convalidare l'efficienza dell'inoculo. L' AMPTS[®] II possiede 15 filtri di soda caustica da 100 ml, tali filtri vengono riempiti per l'80% da una soluzione di soda caustica 3N. I filtri di soda caustica sono necessari al fine di catturare il biossido di carbonio prodotto durante

il processo di digestione anaerobica. I campioni sono stati analizzati in doppio, con un rapporto inoculo/substrato pari a 3 (Sluiter et al. 2008) in condizioni mesofile (37°C). Il test PBM ha avuto una durata pari a 30 giorni.

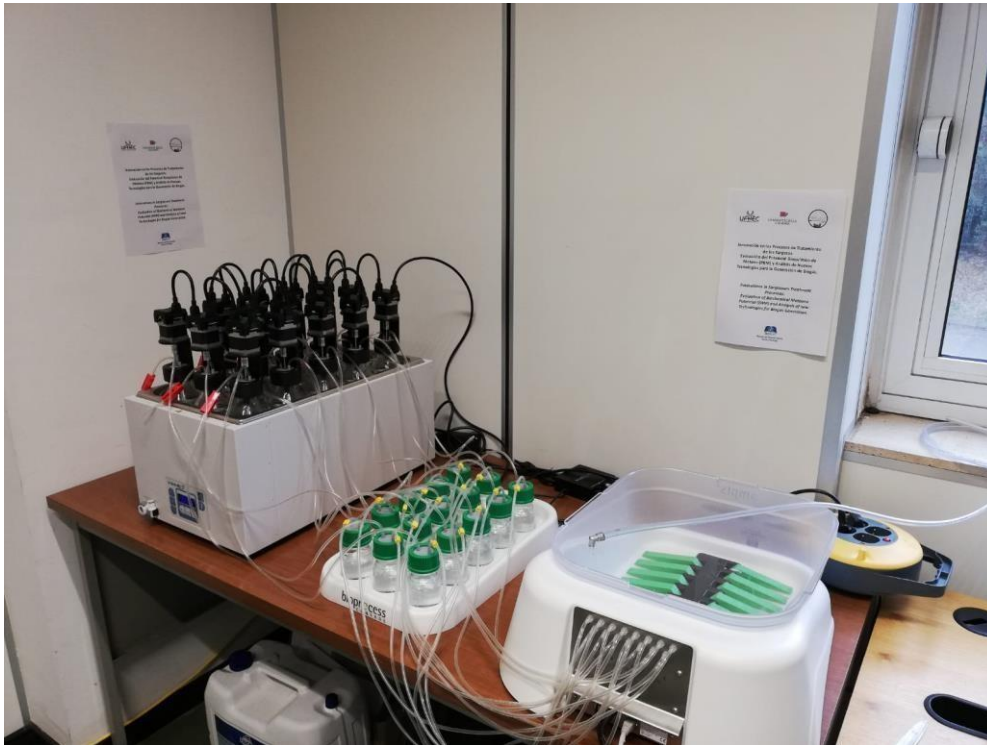


Figura 34. Automatic Potential System Test II® (AMPTS® II).

6.1.5 Studio cinetico

Tre modelli cinetici, il Modello cinetico del primo ordine (Equazione 17), il Modello di Gompertz modificato (Equazione 18) e la Funzione logistica (Equazione 19) sono stati utilizzati per determinare le costanti cinetiche A , u e m applicando un modello di regressione non lineare.

La produzione di biometano mediante il processo di digestione anaerobica può essere descritta mediante una cinetica del primo ordine

$$y(t) = A * (1 - e^{-kt}) \quad (17)$$

dove $y(t)$ rappresenta la produzione cumulativa di biogas ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}\text{sv}$), A rappresenta il potenziale di produzione di biogas ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}\text{sv}$) e k è stato stimato prendendo il reciproco del tempo dall'inizio del test PBM fino al quando $y(t)$ equivale a $0.632A$ (C. Li, Champagne, and Anderson 2011)(Gunaseelan 2004).

Il Modello di Gompertz modificato (Equazione 18) è stato utilizzato per validare i dati sperimentali. Si presuppone che la produzione di biogas corrisponda al tasso di crescita specifico dei batteri metanogeni nel digestore (Zaidi et al. 2019).

$$y(t) = A * \exp\left\{-\exp\left[\frac{u * e}{A}(m - t) + 1\right]\right\} \quad (18)$$

dove $y(t)$ rappresenta la produzione cumulativa di biogas ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}\text{sv}$), A rappresenta il potenziale di produzione di biogas ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}\text{sv}$), u rappresenta il tasso massimo di produzione di biogas ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}\text{sv} \cdot \text{giorni}^{-1}$), e rappresenta una costante matematica (2.718282), m rappresenta il periodo della fase di latenza (giorni) e t rappresenta il tempo cumulativo per la produzione di biogas (giorni).

La Funzione Logistica è descritta dall'Equazione 19:

$$y(t) = \frac{A}{1 + e^{\frac{4u*(m-t)}{A} + 2}} \quad (19)$$

dove $y(t)$ è la produzione cumulativa di biogas ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}\text{sv}$), A è il potenziale di produzione di biogas ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}\text{sv}$), u è il tasso massimo di produzione di biogas ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}\text{sv} \cdot \text{giorni}^{-1}$), m è il periodo della fase di latenza (giorni) e t è il tempo cumulativo per la produzione di biogas (giorni). Utilizzando la Funzione logistica, è possibile determinare i parametri cinetici A , m , u applicando un modello di regressione non lineare tramite il software OriginPro.

6.1.6 Analisi energetica

L'energia consumata (E_C) durante il pretrattamento meccanico dei campioni è stata calcolata utilizzando l'Equazione 20; dove P rappresenta la potenza misurata in kW e t rappresenta il tempo espresso in ore.

$$E_C = P (kW) * t (h) \quad (20)$$

Per valutare l'effetto che l'energia consumata ha sul bilancio energetico, è necessario calcolare l'energia prodotta (E_p) espressa in kWh (Equazione 21), in seguito al processo di digestione anaerobica. Il potere calorifico maggiore del biometano è mediamente pari a 39.84 MJ/m³ (ISO6975) quindi da 1 m³ di biometano, considerando che 1 kWh è pari a 3.6 MJ, si ottengono 11.07 kWh.

$$E_p = 11.07 \text{ kWh} * PBM_{30} \quad (21)$$

In questo studio è stato valutato l'effetto del consumo energetico sull'energia prodotta. L'energia disponibile (E_d), espressa in kWh, indica la differenza tra l'energia prodotta e l'energia consumata per ridurre la dimensione delle particelle (Equazione 22). Non viene considerata l'energia consumata nella produzione di biometano.

$$E_d = E_p - E_c \quad (22)$$

6.1.7 Analisi statistica

Per il confronto del PBM, l'analisi della varianza unidirezionale (ANOVA) e il test di Tukey è stato utilizzato il software Origin Pro 2019 di Origin Lab (Northampton, MA, USA). Per il confronto della composizione della biomassa è stato utilizzato il *t test* non appaiato (GraphPad), con l'ipotesi che i dati fossero normali, indipendenti e con varianza uguale.

6.2 Risultati e discussione

6.2.1 Caratterizzazione dei campioni post-pretrattamento

La differenza tra i solidi volatili (46.47±0.44) %wt della biomassa di Sargasso con dimensioni delle particelle di 505 µm e i solidi volatili (50.52±0.40) %wt del campione con dimensioni delle particelle pari a 107 µm non risulta essere statisticamente significativa ($p = 0.130$). Tuttavia, i solidi volatili della biomassa sminuzzata (56.01±0.40) %wt risultano più elevati ($p < 0.005$) rispetto a quelli del campione tritato e del campione macinato. Allo stesso modo, il contenuto di ceneri della biomassa sminuzzata (28.85 ± 0.23) % risulta essere inferiore ($p < 0.001$) a rispetto a quelli del campione tritato e del campione macinato. La differenza nel contenuto di ceneri tra la biomassa con dimensioni delle particelle di 505 µm (29.69±0.30) % wt e il contenuto di ceneri tra la biomassa con dimensioni delle particelle di 107 µm (30.87 ± 0.20) % wt non

risulta essere statisticamente significativa ($p = 0.052$). I valori di SV ottenuti risultano essere leggermente superiori a quelli ottenuti da altri autori (Tabella 9) (AP et al. 2021).

Tabella 9. Confronto delle caratteristiche di campioni di Sargasso a diverse dimensioni delle particelle. Valori indicati sulla base del peso essiccato.

Sito e anno di raccolta	Dimensione delle particelle	SV (%)	Ceneri (%)	Riferimenti
Punta Cana (2019)	107 μm	46.47	29.69	Questo lavoro
Punta Cana (2019)	505 μm	50.52	30.87	Questo lavoro
Indonesia (2021)	106 μm –4.75 mm	46.14	35.05	(AP et al. 2021)
Indonesia (2021)	75–850 μm	55.83	31.72	(Ap et al. 2021)

6.2.2 Analisi granulometrica dei campioni di Sargasso

I risultati dell'analisi granulometrica sono riportati in Figura 35. In Figura 35a sono riportate le curve differenziali mentre in Figura 35b sono riportate le curve cumulative. La distribuzione granulometrica mostra che per il campione di Sargasso tritato (S.2) la distribuzione è mono modale all'interno dell'intervallo rilevabile dallo strumento di analisi (Figura 35a). La distribuzione granulometrica mostra che il pretrattamento effettuato mediante macinazione, campione macinato (S.3), è stato più efficiente, poiché la distribuzione granulometrica si è spostata verso dimensioni inferiori (vedere Figura 35a). La media superficie-volume, dSV, del campione S.2 è pari a 86 μm e scende drasticamente a 15 μm per il campione S.3, poiché particelle più fini vengono prodotte dall'ultimo tipo di pretrattamento (macinazione, S.3). Infatti, la distribuzione granulometrica si allarga in ampiezza, come segnalato dall'aumento del parametro span indicato nella Tabella 10, e la distribuzione è di tipo bimodale (Figura 35a). Il campione

S.3 è dunque caratterizzato da una miscela di particelle più fini che rappresentano più del 40% e il resto di quelle più grosse. Questo aspetto è rilevante perché, aumentando la presenza di fini in un campione solido, aumenta l'area superficiale, ma introduce anche problemi di agglomerazione (C. G. Schmidt and Furlong 2012).

Il campione macinato (Figura 36) mostra la distribuzione di frequenza più alta nell'intervallo delle particelle più fini (da 0 a 45 μm), mentre il campione tritato è costituito prevalentemente da particelle nell'intervallo da 200 μm a 1000 μm . Nel campione macinato (S.3), le classi dimensionali ≥ 1 mm sono scomparse con conseguente presenza di particelle fini dovute al processo di macinazione. Questo aspetto è cruciale, perché esiste un utile mix tra contenuto fine e particolato grossolano che si riflette in un comportamento macroscopico del campione macinato (S.3): elevata area superficiale con agglomerazione (C. G. Schmidt and Furlong 2012).

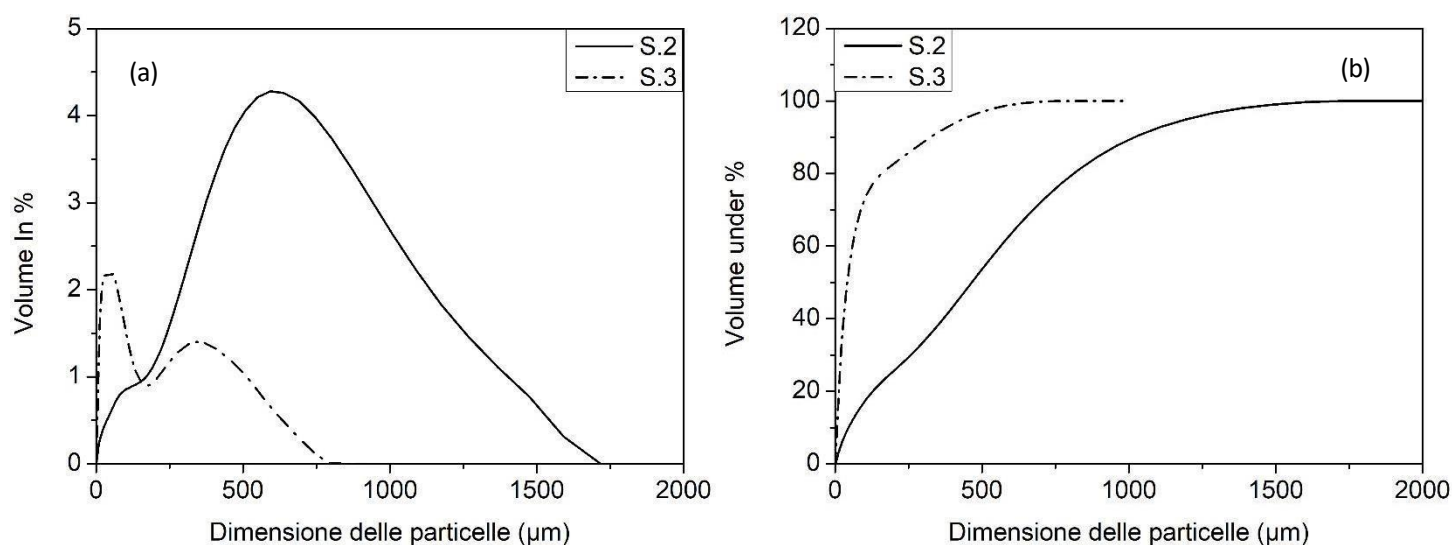


Figura 35. Confronto delle distribuzioni granulometriche del Sargasso pretrattato meccanicamente con dimensioni delle particelle di 505 μm (S.2) e 107 μm (S.3) analizzata mediante diffrazione laser: a) curva differenziale, b) curva cumulativa.

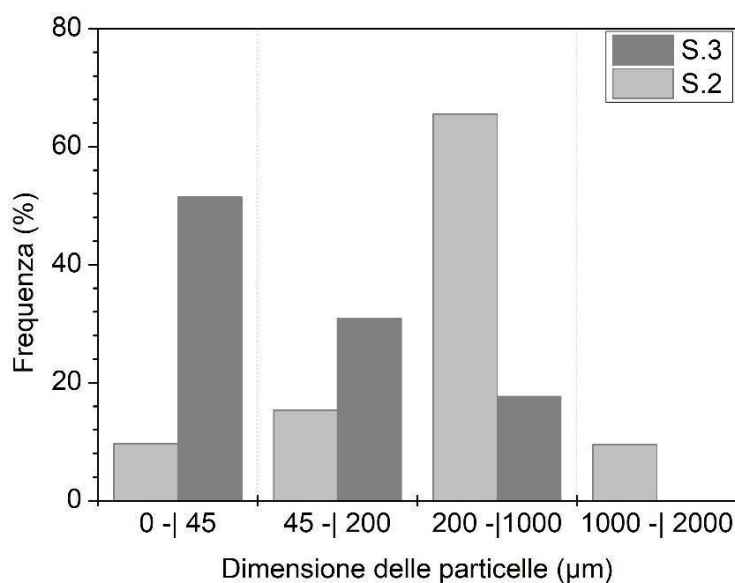


Figura 36. Confronto delle distribuzioni granulometriche del Sargasso pretrattato meccanicamente. biomassa con granulometria di 505 μm (S.2) e 107 μm (S.3) analizzata mediante diffrazione laser: istogramma della distribuzione discreta di frequenza.

Tabella 10. Analisi granulometrica e PBM dei campioni di Sargasso a diverse dimensioni delle particelle.

Analisi granulometrica

Pretrattamento	Span [-]	d _{sv} [μm]	d _v [μm]	Resa in
				biometano (NmL · g ⁻¹ _{sv})
Sminuzzato (S.1)	-	-	50000.0 ± 0.5	17.17 ± 2.14 ^a
Tritato (S.2)	2.088	86.0 ± 0.1	505.0 ± 0.1	79.68 ± 2.77 ^b
Macinato (S.3)	7.730	15.0 ± 0.1	107.0 ± 0.1	65.08 ± 2.18 ^c

6.2.3 Determinazione del potenziale biochimico del metano sperimentale

Dopo il periodo di 30 giorni, la resa di biometano aumenta al diminuire della dimensione delle particelle (Figura 37). La resa in biometano passa da 17.17 NmL · g⁻¹_{sv} a 79.68

$\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$ quando la dimensione media del campione passa da $50000 \mu\text{m}$ a $505 \mu\text{m}$, e da $17.17 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$ a $6.08 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$ quando la dimensione media del campione passa da $50000 \mu\text{m}$ a $107 \mu\text{m}$. La resa in biometano ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$) per la biomassa tritata (S.1) è significativamente inferiore ($p < 0.0005$, Tabella 8) rispetto a quella per la biomassa pretrattata meccanicamente (S.2 e S.3). Analogamente, la resa in biometano del campione macinato (S.3) è superiore ($p = 0.279$) rispetto al campione tritato (S.2). Tuttavia, non vi è alcuna differenza ($p = 0.06156$) tra la resa in metano di S.2 e S.3.

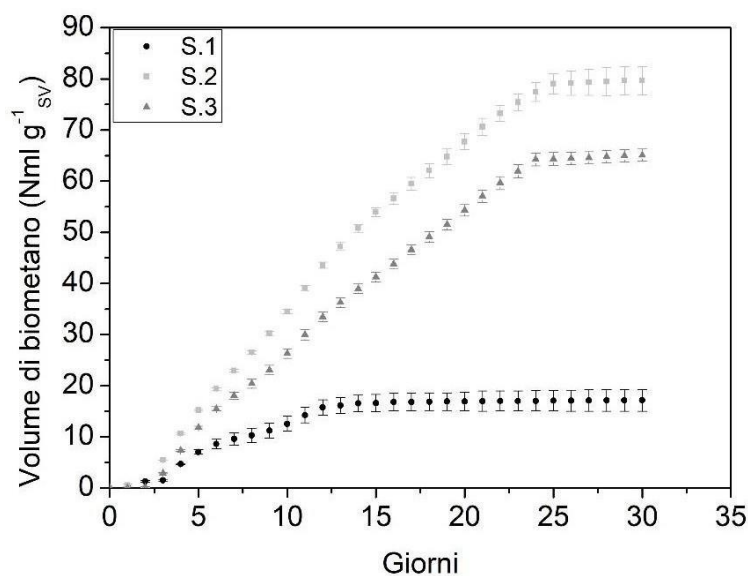


Figura 37. Produzione media di volume netto cumulato di biometano ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$) durante il processo di DA per campioni: sminuzzato (S.1), tritato (S.2) e macinato (S.3).

La resa in biometano inferiore della biomassa macinata (S.3) rispetto a quella tritata (S.2) si può attribuire all'eccessiva riduzione delle dimensioni delle particelle. L'analisi granulometrica del campione macinato (S.3) ha evidenziato la presenza predominante di particelle fini nell'intervallo $0-45 \mu\text{m}$. Queste particelle fini sono soggette alla formazione di aggregati e di conseguenza diminuisce l'area di contatto tra le cellule delle alghe e i microrganismi che operano il processo di digestione anaerobica (C. G. Schmidt and Furlong 2012). Inoltre, l'eccessiva diminuzione delle dimensioni delle particelle aumenta la presenza di acidi grassi volatili che inibiscono il processo di metanogenesi (Zheng et al. 2011). Studi simili hanno dimostrato che la resa diminuisce in presenza di un accumulo di acidi grassi volatili (Izumi et al. 2010).

6.2.4 Studio cinetico

I tre modelli cinetici sono stati adattati ai dati sperimentali basati sulla produzione media cumulativa del volume netto di metano durante la digestione anaerobica di ciascun campione. Tre regioni principali possono essere osservate nelle curve adattate riportate in Figura 38: la regione della fase di latenza, la regione della fase esponenziale caratterizzata da un forte aumento della resa cumulativa di biogas e una regione di plateau, dove la produzione di biometano quasi si ferma. Ciascuno dei tre modelli cinetici fornisce informazioni specifiche e aggiuntive (K. Li, Liu, and Sun 2015). Il modello cinetico del primo ordine fornisce informazioni sulla costante della velocità di idrolisi. Il modello Gompertz modificato descrive la densità cellulare durante i periodi di crescita microbica in termini di tassi di crescita esponenziale e fase di latenza. Il modello della funzione logistica è appropriato per descrivere l'aumento esponenziale iniziale e una stabilizzazione finale al livello di produzione più elevato (Pramanik et al. 2019). Pertanto, tutti e tre i modelli cinetici sono stati utilizzati in questa indagine per determinare il potenziale di produzione cumulativa di biogas, la cinetica di idrolisi, la durata della fase di latenza e la produzione massima di metano.

I parametri dei modelli cinetici sono riportati nella Tabella 11.

Il coefficiente di correlazione (R^2) per ciascuna unità sperimentale è risultato essere superiore a 0.950, indicando che i modelli cinetici utilizzati si adattano bene ai dati sperimentali.

I tre modelli cinetici si adattano bene ai dati sperimentali. Il Modello di Gompertz modificato mostra risultati più accurati. La differenza tra il valore A sperimentale e il valore A ottenuto utilizzando il Modello di Gompertz modificato per i campioni S.1, S.2, S.3 è rispettivamente 0.35%, 6.86% e 9.24%. Mentre le differenze tra il valore A sperimentale e il valore A ottenuto utilizzando il Modello cinetico del primo ordine per i campioni S.1, S.2, S.3 sono rispettivamente 9.20%, 50.36% e 61.08%. Infine, le differenze tra il valore A sperimentale e il valore A ottenuto utilizzando la Funzione logistica per i campioni S.1, S.2, S.3 sono rispettivamente 308.98%, 47.17% e 10.75%

Il parametro u ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{SV}} \cdot \text{giorni}^{-1}$) indica la massima produzione di biogas ottenibile. Il campione S.2 mostra il valore più alto del parametro u sia utilizzando il modello di Gompertz modificato che la Funzione logistica. Tuttavia, tenendo conto che la prova ha

avuto una durata di 30 giorni, i dati della Funzione logistica si discostano molto dai dati reali.

Il parametro m indica il periodo necessario per avviare la produzione di biometano. Dai risultati ottenuti mediante il modello di Gompertz modificato, il campione S.1 mostra un periodo di latenza pari a 1.749 giorni, il campione S.2 un periodo di latenza pari a 2.322 giorni mentre il campione S.3 un periodo di latenza pari a 2.568 giorni. Per i campioni caratterizzati da una dimensione delle particelle più fine il tempo di ritardo è più lungo rispetto al campione S.1, mentre la Funzione logistica indica un periodo di latenza molto basso per tutti i campioni in esame.

Le costanti di velocità di idrolisi (k) dei diversi campioni S.1, S.2, S.3 sono state determinate dal Modello del primo ordine e sono pari a 0.107, 0.025 e 0.018 (giorni^{-1}). Il Modello cinetico del primo ordine non si adatta perfettamente ai dati. Infatti, secondo questo modello, maggiore è il k , più veloce è il degrado. Dai risultati ottenuti, invece, i campioni S.2 e S.3 mostrano una resa in biometano maggiore rispetto al campione S.1 che invece mostra un valore k più alto.

Tabella 11. Parametri cinetici del Modello cinetico di primo ordine, modello di Gompertz modificato e della Funzione logistica.

	S.1	S.2	S.3
Modello cinetico di primo ordine			
A ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}\text{sv}$)	18.919	160.529	167.248
k (giorni^{-1})	0.107	0.025	0.018
R ²	0.951	0.982	0.981
Modello di Gompertz modificato			
A ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}\text{sv}$)	17.677	86.085	72.823
u ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}\text{sv} \cdot \text{giorni}^{-1}$)	1.750	4.495	3.526
m (giorni)	1.570	2.315	2.573
R ²	0.988	0.996	0.993
Funzione logistica			
A ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}\text{sv}$)	70.223	54.147	72.915
u ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}\text{sv} \cdot \text{giorni}^{-1}$)	8.731	13.245	7.407
m (giorni)	0.130	0.083	0.132
R ²	0.987	0.979	0.969

I dati sperimentali sono stati adattati ai due modelli mostrati in Figura 38.

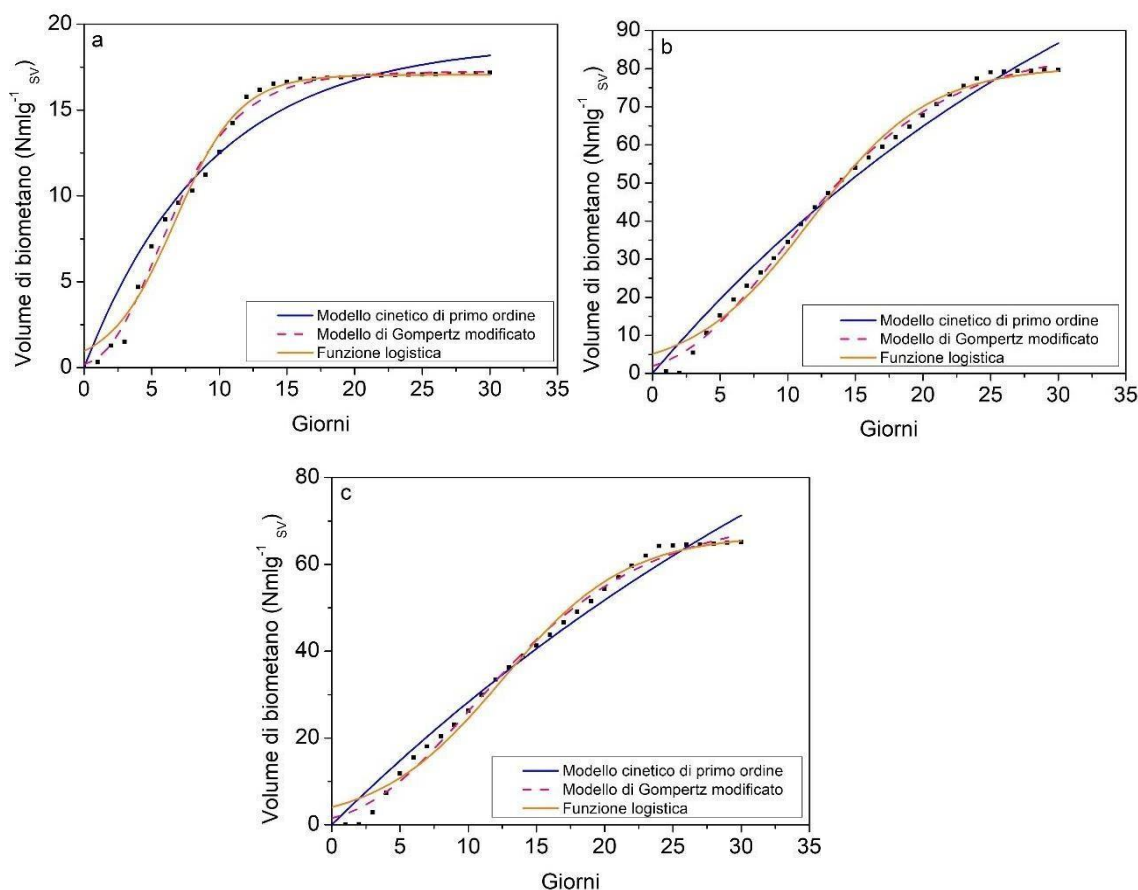


Figura 38. Dati sperimentali adattati dal Modello cinetico del primo ordine e dal Modello cinetico di Gompertz modificato per i campioni: sminuzzato (S.1), tritato (S.2) e macinato (S.3).

Dall'analisi dei dati il modello di Gompertz modificato risulta essere quello che meglio descrive i dati sperimentali. Tuttavia, per rafforzare tale conclusione è stato condotto uno studio statistico ANOVA, utilizzando il software Minitab (APPENDICE A1). Dalla suddetta analisi è emerso che da un confronto dei valori di A (volume di biometano), il $P\text{-Value} > \alpha$ e dunque si accetta l'ipotesi nulla. Questo vuol dire che statisticamente i valori di A non mostrano differenze significative. Mentre, l'analisi statistica ANOVA dei valori di u (portata di biometano) mostra che il $P\text{-Value} < \alpha$ e dunque non si accetta l'ipotesi nulla. Questo vuol dire che statisticamente i valori di u mostrano differenze significative.

6.2.5 Analisi energetica

La Tabella 12 mostra i dati ottenuti dall'analisi energetica. Per il campione tritato S.2 si stima che sia possibile produrre $79.68 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{SV}}$ di biometano e quindi l'energia prodotta è pari a 882.06 kWh. Per ottenere la granulometria desiderata del campione S.2 ($505 \mu\text{m}$), il campione è stato tritato con un mixer. Un contenitore con una capacità di 1 litro può contenere 91.1 g di Sargasso tal quale, quindi la sua densità è pari a 91.1 g/L . Considerando un mixer aziendale con potenza di 1.4kW e capacità di 120L, per frullare 1 tonnellata occorre utilizzare il frullatore 91.5 volte per 1 minuto per un totale di 91.5 minuti (circa 1.525 ore). Pertanto, l'energia necessaria per mescolare 1 tonnellata di Sargasso è pari a 2.135 kWh. Il costo medio per 1 kWh è di 0.18 \$, quindi il costo del pretrattamento ammonta a 0.38 \$. Per il campione macinato S.3 si stima che sia possibile produrre $65.08 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{SV}}$ di biometano e quindi l'energia prodotta è pari a 720.43 kWh. Per ottenere il campione S.3 ($107 \mu\text{m}$), il campione è stato macinato con un macinatore, in questo caso ci vuole il doppio del tempo e quindi si stima un consumo di circa 2.8 kWh, quindi il costo del pretrattamento ammonta a 0.76\$. Il campione S.1 invece è stato sminuzzato con coltelli; quindi, non è stata utilizzata energia meccanica, si stima che sia possibile produrre $17.17 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{SV}}$ di biometano e quindi l'energia prodotta è pari a 190.07 kWh.

Si può concludere che se da un lato il pretrattamento comporta un dispendio energetico, dall'altro consente di ottenere una resa maggiore e quindi non incide negativamente sul bilancio energetico. In particolare, per il campione S.2 i migliori risultati si ottengono in termini di resa di biometano prodotto ed energia utile. Inoltre, come già osservato, il campione S.3 mostra una velocità di reazione più elevata rispetto al campione S.2. Ciò significa che la reazione produce una maggiore quantità di metano in tempi più brevi, e quindi anche il costo di produzione, in termini energetici, è inferiore.

Tabella 12. Parametri dell'analisi energetica. PBM ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$) è il potenziale biochimico del metano, E_p (kWh) è l'energia prodotta, E_c (kWh) è l'energia consumata ed E_d (kWh) è la differenza tra E_p ed E_c .

Pretrattamento	PBM ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$)	E_p (kWh)	E_c (kWh)	$E_d = E_p - E_c$
Sminuzzato (S.1)	17.17	190.07	-	190.07
Tagliato (S.2)	79.68	882.06	1.4	880.66
Macinato (S.3)	65.08	720.43	2.8	717.63

6.3 Conclusioni

In questa ricerca, è stato approfonditamente esaminato l'impatto delle dimensioni delle particelle nella biomassa di Sargasso sul processo di digestione anaerobica (DA). La biomassa è stata sottoposta a pretrattamenti meccanici per ottenere tre differenti campioni: sminuzzato, tritato e macinato, con dimensioni delle particelle di $50000 \mu\text{m}$ (S.1), $505 \mu\text{m}$ (S.2) e $107 \mu\text{m}$ (S.3) rispettivamente.

L'analisi granulometrica è stata specificamente condotta sui campioni tritato (S.2) e macinato (S.3). I risultati di questo studio hanno evidenziato una significativa diminuzione della media superficie-volume (dSV) da 86 a $15 \mu\text{m}$, passando dal campione di dimensione $505 \mu\text{m}$ al campione di dimensione $107 \mu\text{m}$. Questo suggerisce una riduzione drastica della dimensione delle particelle e, di conseguenza, un aumento dell'area superficiale.

Tuttavia, è importante notare che l'aumento delle particelle più fini nei materiali solidi può comportare problemi di agglomerazione. Questo fenomeno è stato ulteriormente evidenziato nello studio, spiegando la diminuzione della resa in biometano nel campione macinato ($65.08 \pm 2.18 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$) rispetto al campione tritato ($79.68 \pm 2.77 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$).

L'associazione tra dimensioni delle particelle, area superficiale e resa in biometano fornisce importanti indicazioni sulla complessità del processo di digestione anaerobica della biomassa di Sargasso e sottolinea l'importanza di considerazioni pratiche nella gestione delle dimensioni delle particelle per ottimizzare l'efficienza del processo.

L'analisi è stata estesa per includere un'approfondita valutazione energetica, mirata a determinare la riduzione ottimale delle dimensioni delle particelle considerando sia la resa in biometano che il consumo energetico associato al pretrattamento meccanico. I risultati di questa analisi hanno rivelato una variazione nell'energia necessaria per ridurre 1 tonnellata di Sargasso a seconda del tipo di pretrattamento meccanico impiegato. Per ottenere una dimensione delle particelle di 505 μm , è stato necessario un consumo energetico di 1.4 kWh, mentre per raggiungere una dimensione delle particelle di 107 μm sono stati richiesti 2.8 kWh.

È interessante notare che l'energia richiesta per ottenere un campione con dimensioni delle particelle di 107 μm corrisponde al 0.38% dell'energia prodotta, mentre per un campione con dimensioni delle particelle di 505 μm è necessario solo l'0.16% dell'energia prodotta. Questi dati indicano che il pretrattamento meccanico finalizzato a ottenere particelle inferiori a 505 μm non comporta un miglioramento significativo nelle prestazioni di biometanazione del materiale, sia in termini di cinetica che di consumo energetico.

In conclusione, l'analisi energetica sottolinea l'importanza di bilanciare l'efficienza del processo con i costi energetici associati al pretrattamento meccanico, evidenziando che dimensioni delle particelle inferiori potrebbero non sempre tradursi in vantaggi significativi nel contesto della produzione di biometano dalla biomassa di Sargasso.

Capitolo 7

Influenza dei pretrattamenti sul processo di digestione anaerobica del Sargasso

Lo studio dedicato all'effetto della dimensione delle particelle sulla cinetica di biometanazione del Sargasso ha identificato il metodo di pretrattamento meccanico più efficace. Tale approccio, adottato in tutti gli studi successivi, implica la riduzione della biomassa di Sargasso mediante l'uso di un mixer Philips (Milano, Italia) con una potenza di 950 W per 1 minuto alla massima velocità, generando un campione con una dimensione media delle particelle di 505 μm .

Il presente capitolo si focalizza sulla valutazione degli effetti dei pretrattamenti (microonde, sonicazione, lavaggio con acqua a 40°C e ossidativo) sulle proprietà morfologiche del Sargasso, oltre a esaminare l'influenza di tali pretrattamenti sul processo di digestione anaerobica (DA).

Per analizzare gli effetti dei pretrattamenti sulle proprietà morfologiche, sono state impiegate diverse tecniche. L'analisi diffrattometrica a raggi X (XRD) ha rivelato la presenza di calcite (CaCO_3) nel campione non pretrattato (C1), confermato anche tramite FT-IR e soprattutto mediante immagini SEM. La presenza di calcite è legata all'esoscheletro dei briozoi depositato sul Sargasso. Nei campioni pretrattati, si osserva una diminuzione della presenza di calcite, sebbene siano ancora presenti tracce.

Il potenziale biochimico del metano (PBM) è stato determinato mediante l'utilizzo dell'AMPTS[®] II, mentre i parametri cinetici della reazione sono stati valutati in modo scientifico attraverso l'applicazione del Modello Cinetico del Primo Ordine, del Modello di Gompertz Modificato e della Funzione Logistica.

Questo approccio metodologico integrato offre una panoramica completa degli effetti dei pretrattamenti sulla morfologia del Sargasso e sulla sua suscettibilità al processo di digestione anaerobica, contribuendo così a una comprensione più approfondita delle dinamiche coinvolte in questo contesto di produzione sostenibile di biometano.

7.1 Materiali e metodi

7.1.1 Sargasso: preparazione dei campioni

Il campione di Sargasso utilizzato è stato descritto nel Capitolo 5, sezione 5.1.

Il pretrattamento a microonde è stato effettuato utilizzando un microonde Toshiba MW2-MM20 ponendo il campione in un'autoclave per 2 minuti e potenza 1100 W. Il campione C2 corrisponde al campione sottoposto al trattamento a microonde.

La sonicazione è stata eseguita utilizzando il processore a ultrasuoni UP200S secondo i seguenti parametri, 0.5 cicli, ampiezza del 90% e frequenza di 20 V per 10 minuti. Il campione C3 corrisponde al campione sonicato.

Il lavaggio con acqua è stato eseguito in acqua distillata a 40°C per due minuti. Dopo i pretrattamenti i campioni sono stati filtrati per eliminare l'acqua. Il campione C4 corrisponde al campione lavato con acqua calda

Il pretrattamento ossidativo è stato eseguito a partire da 500 mL di soluzione H₂O₂ (diluita da uno stock commerciale al 3%). La soluzione H₂O₂ è stata titolata a pH 11.5 con NaOH 5 M. Il Sargasso è stato posto nella soluzione titolata. La soluzione contenente la biomassa è stata posta sotto agitazione (15 min, 200 rpm) a temperatura ambiente. Trascorsi i 15 minuti, alla soluzione sono stati aggiunti 700 ml di H₂O₂ al 3%. La soluzione è stata posta sotto agitazione (12 ore, 200 rpm) a temperatura ambiente. Il campione C5 corrisponde al campione ossidato.

7.1.2 Caratterizzazione dei campioni

I campioni sono stati caratterizzati secondo i metodi descritti nel Capitolo 5. In particolare, il contenuto di ST dei campioni è stato determinato mediante il procedimento descritto nel paragrafo 5.2.1. Il contenuto di SV dei campioni è stato determinato mediante il procedimento descritto nel paragrafo 5.2.2. Il contenuto di ceneri dei campioni è stato determinato mediante il procedimento descritto nel paragrafo 5.2.3. Il contenuto di umidità dei campioni è stato determinato mediante il procedimento descritto nel paragrafo 5.2.4. Inoltre, il campione è stato caratterizzato dal punto di vista della struttura atomica e molecolare, secondo le tecniche descritte nei paragrafi 5.2.2 e 5.2.3, e da un punto di vista morfologico secondo quanto descritto nel paragrafo 5.3.

7.1.3 Determinazione del potenziale biochimico del metano sperimentale e teorico

Il potenziale biochimico del metano (PBM) è stato valutato mediante l'utilizzo dell'“Automatic Potential System Test II” (AMPTS[®] II), così come descritto nel paragrafo 6.1.4. I campioni sono stati analizzati in doppio, con un rapporto inoculo/substrato pari a 3 (Sluiter et al. 2008) in condizioni mesofile (37°C) per una durata di 30 giorni.

Il potenziale biochimico teorico del metano (PBM_{th}) è stato calcolato utilizzando l'Equazione 23.

$$PBM_{th} = \frac{PBM_C \cdot m_C + PBM_P \cdot m_P + PBM_L \cdot m_L}{m_C + m_P + m_L} \quad (23)$$

dove PBM_C, PBM_P, PBM_L sono i valori del PBM_{th} rispettivamente di carboidrati, proteine e lipidi; m_C, m_P, m_L sono rispettivamente le masse di carboidrati, proteine e lipidi nel substrato.

7.1.4 Studio cinetico

Nel presente studio sono stati utilizzati tre diversi modelli cinetici per la descrizione della crescita batterica, il Modello cinetico del primo ordine (Equazione 17 – paragrafo 6.1.5), il Modello di Gompertz modificato (Equazione 18 - paragrafo 6.1.5) e la Funzione logistica (Equazione 19 – paragrafo 6.1.5).

7.2 Risultati e discussione

7.2.1 Caratterizzazione dei campioni

I campioni di Sargasso sono stati caratterizzati in termini di contenuto di ST (%), SV (%), umidità (%), vedere Tabella 13. Si può osservare che la quantità di solidi totali è paragonabile per tutti i campioni, così come il contenuto di umidità e di solidi volatili.

Tabella 13. Carratterizzazione dei campioni

Campione	ST (%)	SV	Umidità (%)
C1	84.26	55.74	15.19
C2	92.52	49.26	7.47
C3	90.09	43.01	9.90
C4	90.29	44.74	9.70
C5	87.26	53.14	12.74

Per studiare e identificare le strutture dei materiali cristallini presenti in un campione è stata utilizzata la tecnica della diffrazione di raggi X. Con questo studio è anche possibile analizzare le modifiche apportate dai pretrattamenti ai campioni.

La Figura 39 mostra le curve relative all'analisi XRD dei campioni. Il campione C1 è caratterizzato dalla presenza di più picchi, il picco di maggiore intensità si osserva a $2\Theta=29.28^\circ$ associato al piano di calcite (104) seguito dai picchi corrispondenti a $2\Theta = 39.40^\circ - 43.18^\circ - 47.76^\circ - 48.70^\circ$ rispettivamente associati ai piani (113) - (202) - (018) - (116) della calcite (Gunasekaran, Anbalagan, and Pandi 2006). Inoltre si osserva un picco $2\Theta = 22.76$ associato ai piani di cellulosa (002) (Candamano et al. 2021). Inoltre, sono presenti anche tracce di dolomite e quarzo. Il quarzo è presente in quantità quasi trascurabili con un solo picco a $2\Theta = 25.56^\circ$ corrispondente al piano (011) (Z. Wang et al. 2022). La dolomite ha picchi a $2\Theta = 32.62^\circ - 37.34^\circ$ associati rispettivamente ai piani (015) – (110) (Gunasekaran, Anbalagan, and Pandi 2006).

Il picco intenso relativo al piano della calcite (104) è presente anche nei campioni sottoposti a pretrattamento con intensità inferiore, così come gli altri picchi relativi alla calcite. Nei campioni sottoposti a pretrattamento non è stata riscontrata la presenza di quarzo.

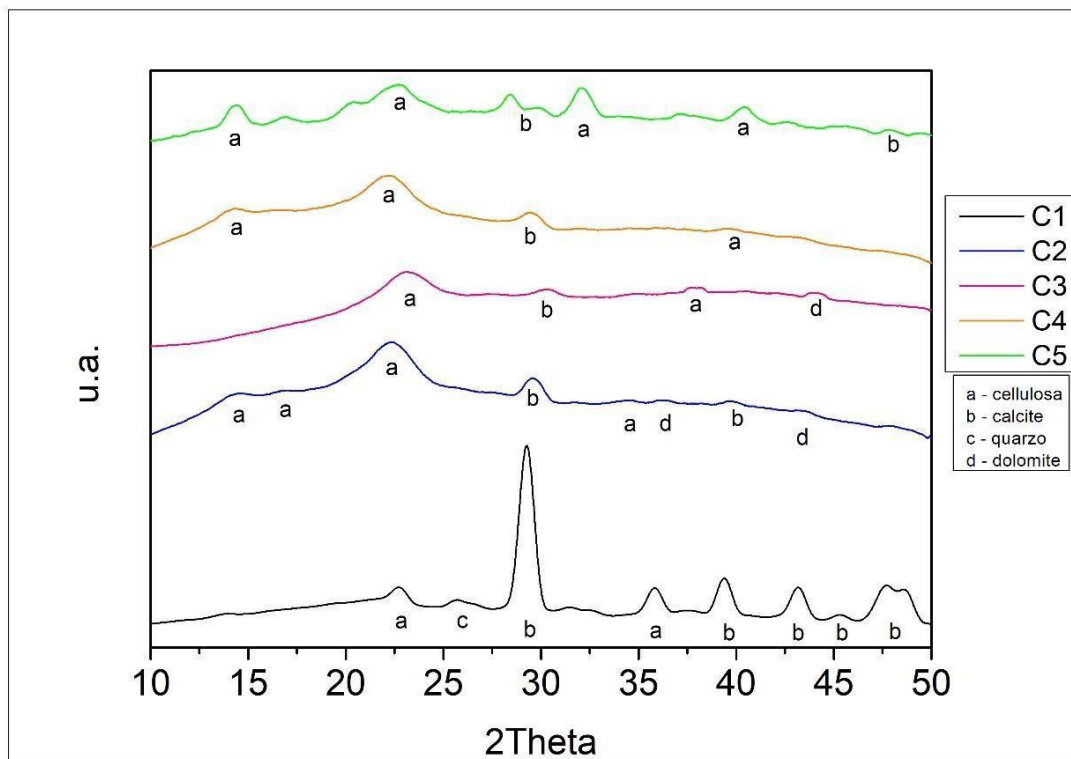


Figura 39. Spettri XRD dei campioni di Sargasso (C1), Sargasso pretrattato al microonde (C2), Sargasso sonicato (C3), Sargasso lavato con acqua a 40°C (C4), Sargasso ossidato (C5).

L'analisi XRD ha evidenziato che il campione costituito da solo Sargasso (C1) è caratterizzato da una forte presenza di calcite, che diminuisce gradualmente nei campioni pretrattati.

Lo spettro FT-IR del campione nell'intervallo $500\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ è mostrato in Figura 40. L'ampia banda di assorbimento del campione di solo Sargasso (C1) centrata a 3300 cm^{-1} e 1622 cm^{-1} è associata alle vibrazioni di stiramento e flessione dell'OH di acqua, in composti come la lignina (Alzate-Gaviria et al. 2021). Le bande a circa 2932 cm^{-1} possono essere attribuite ai gruppi di stiramento del metile e del metilene sia dell'emicellulosa che della cellulosa (Candamano et al. 2021). Le bande di assorbimento a $1100\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ sono associate a diverse modalità come la deformazione di C-H o lo stiramento di C-O o C-C relativi ai carboidrati (Kannan 2014) e ai polisaccaridi (Kovac 2000) e alla lignina (Alzate-Gaviria et al. 2021), la i picchi a 875 e 1425 cm^{-1} corrispondono rispettivamente ai picchi di vibrazione fuori piano di flessione O-C-O e di allungamento asimmetrico della calcite. Una tendenza simile si osserva per gli altri

campioni, tuttavia i picchi che rispondono alla flessione fuori piano O–C–O e ai picchi di vibrazione dello stiramento asimmetrico della calcite sono molto meno intensi.

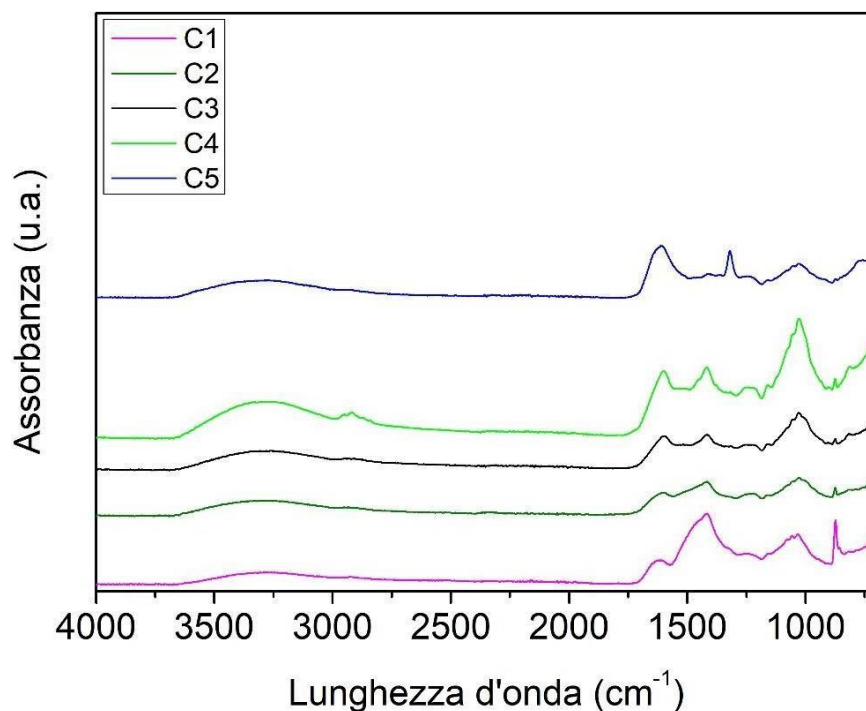


Figura 40. Spettri FT-IR dei campioni di Sargasso (C1), Sargasso pretrattato al microonde (C2), Sargasso sonificato (C3), Sargasso lavato con acqua a 40°C (C4), Sargasso ossidato (C5).

Come riportato nel paragrafo 5.6.2 la superficie del campione di Sargasso (C1) è ricca di strutture simili a CaCO₃, tali strutture sono da attribuire alla presenza dell'esoscheletro delle Briozoe. Le superfici dei campioni sottoposti a pretrattamento mostrano invece una superficie meno ricca di CaCO₃ (Figura 41).

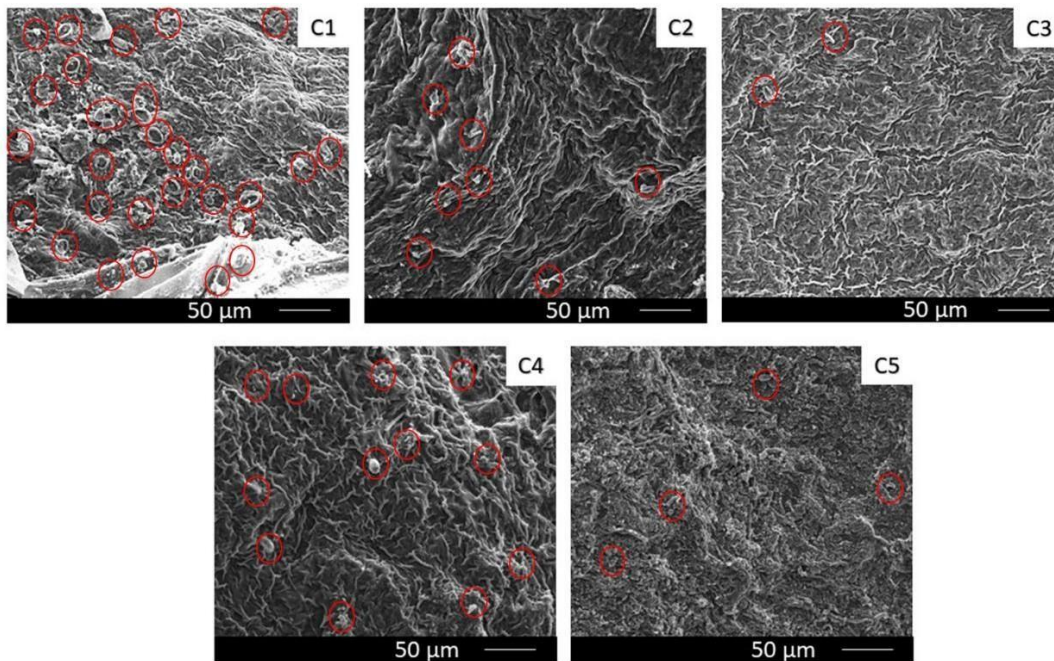


Figura 41. Immagini SEM dei campioni di Sargasso (C1), Sargasso pretrattato al microonde (C2), Sargasso sonicato (C3), Sargasso lavato con acqua a 40°C (C4), Sargasso ossidato (C5). I cerchi rossi evidenziano le strutture delle Bryozoe.

L'analisi confocale (Figura 42) ha fornito ulteriori dettagli sulla morfologia cellulare dei campioni di Sargasso sottoposti a diversi pretrattamenti. Nello specifico, i cloroplasti, organelli responsabili della fotosintesi nelle cellule vegetali, sono emersi come elementi ben visibili nel campione costituito solo da Sargasso (C1). Al contrario, nel campione lavato con acqua a 40°C (C4), i cloroplasti risultano meno evidenti.

Nei campioni pretrattati al microonde (C2) e sonicato (C3), la definizione dei cloroplasti è scarsa, e la struttura cellulare mostra un dettaglio poco definito. Quando il campione di Sargasso viene sottoposto a pretrattamento a microonde, la biomassa viene bombardata a livello cellulare. Mentre il pretrattamento ad ultrasuoni genera onde sonore ad alta frequenza, vengono create zone di alta e bassa pressione. Durante il ciclo a bassa pressione si creano bolle di vapore che sono instabili e durano solo frazioni di secondo. Durante questo processo di trattamento, si formano cavità d'aria o microbolle nella parete cellulare che successivamente collassano, rompendo l'involucro cellulare (Kim et al.

2013) (Terrell M. Thompson, Young, and Baroutian 2019b). Nella Figura 42 è infatti possibile osservare questo fenomeno.

L'analisi confocale conferma, dunque, che i diversi pretrattamenti hanno un impatto significativo sulla struttura interna delle cellule di Sargasso, con conseguente alterazione della visibilità e della definizione dei cloroplasti. Questi dettagli sono cruciali per comprendere in modo approfondito gli effetti dei pretrattamenti sulla biomassa di Sargasso e possono fornire informazioni utili sulla suscettibilità della biomassa ai processi successivi, come la digestione anaerobica.

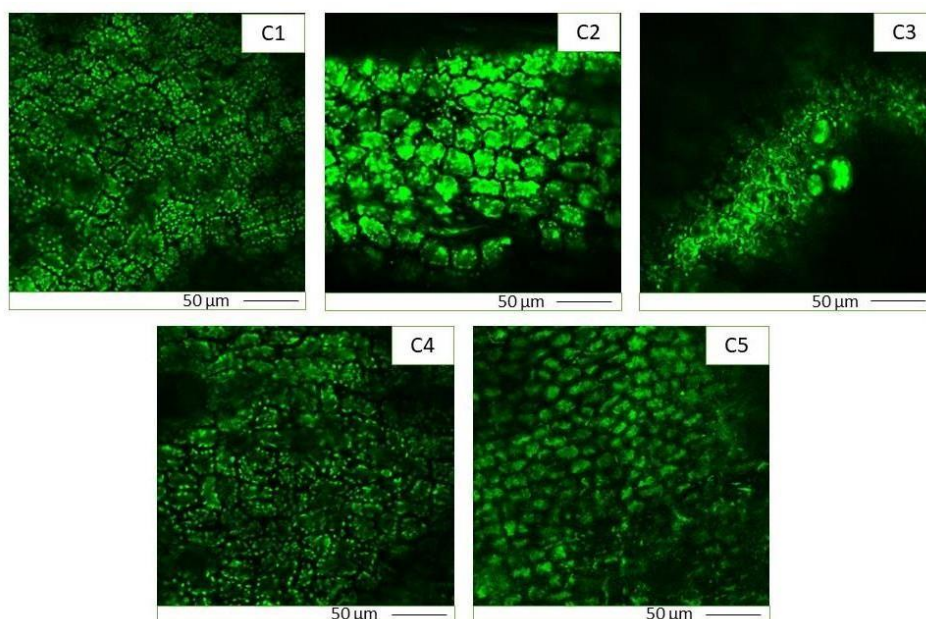


Figura 42. Microscopia confocale dei campioni di Sargasso (C1), Sargasso pretrattato al microonde (C2), Sargasso sonicato (C3), Sargasso lavato con acqua a 40°C (C4), Sargasso ossidato (C5).

7.2.2 Determinazione del potenziale biochimico del metano sperimentale e teorico

I pretrattamenti della biomassa influenzano la produzione di biometano, in Tabella 14 è possibile osservare i valori del volume di biometano ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{SV}}$) ottenuti per i campioni e la variazione rispetto al campione di riferimento costituito da Sargasso (C1).

Tabella 14. Volume di biometano ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}\text{sv}$) ottenuti per i campioni e la variazione rispetto al campione di riferimento costituito da Sargasso (C1).

	Volume di biometano ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}\text{sv}$)	Variazione rispetto al campione di controllo (C1)
C1	72.26±2.96	-
C2	53.42±0.09	-26.06%
C3	76.07±0.63	+5.28
C4	87.26±0.47	+20.76
C5	235.77±16.67	+226.28

Per il campione di riferimento, solo Sargasso, (C1), la resa è pari a $72.25 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}\text{sv}$. I pretrattamenti hanno influenzato la resa in biometano. Il pretrattamento a microonde (campione C2) ha comportato una diminuzione della resa (-26.06%). L'impiego del pretrattamento a microonde si configura come un doppio enigma all'interno del processo di digestione anaerobica. La sua presenza, contrariamente alle aspettative, si traduce in un'influenza avversa sul sistema, principalmente imputabile alla presenza pervasiva di componenti recalcitranti.

In letteratura non sono presenti lavori riguardanti il pretrattamento a microonde della macroalga Sargasso. Tuttavia, esiste un lavoro condotto da Montingelli et al. in cui la macroalga *Laminaria* sp. è stata pretrattata al microonde a 50 Hz e 560 W fino all'ebollizione e poi per altri 30 secondi. Dopo 25 giorni, la resa in biometano è diminuita del 27% rispetto allo stesso campione non trattato (Montingelli et al. 2016). Ciò è dovuto alla presenza di componenti fibrosi insolubili recalcitranti (Terrell M. Thompson, Young, and Baroutian 2019a). Al contrario, in uno studio di Zaidi et al sull'effetto del pretrattamento a microonde su un campione di alghe verdi (*Enteromorpha*) i risultati mostrano che il metano totale prodotto è aumentato del 42% (302 mL) rispetto al campione non trattato (212 mL) (Zaidi et al. 2019). Tuttavia, in questo lavoro viene

riportato il valore del volume di biogas in mL, quindi un valore che non tiene conto della SV del campione. È anche un volume di biogas totale e non solo di biometano.

Un lavoro più preciso e dettagliato è stato invece svolto da Nemr et al. sulla macroalga *Ulva intestinalis Linnaeu* (Nemr et al. 2021). I pretrattamenti MW sono stati effettuati a 1100 watt per 2 e 4 minuti utilizzando un reattore in autoclave idrotermale rivestito di politetrafluoroetilene (PTFE) da 0.25 L contenente 150 mL di sospensione algale *U. intestinalis* come volume di lavoro. I risultati ottenuti mostrano una resa, dopo 42 giorni di DA, pari a 84 mL/g SV mentre per il campione non trattato pari a 42 mL/g SV. Da sottolineare che in questo caso si fa riferimento ai SV ma il volume si riferisce al biogas e non solo al biometano come nel caso studio proposto. Li et al. valutato l'effetto delle microonde sul processo di digestione anaerobica dell'erba. In questo caso il metano totale prodotto è diminuito del 12% rispetto al campione non trattato (L. Li et al. 2012).

L'applicazione della sonicazione (campione C3) quale pretrattamento ha rivelato un incremento di resa, quantificato con precisione al +5.28% in confronto al campione di controllo composto unicamente da Sargasso (C1). Questo risultato positivo si presenta come una scoperta rilevante, dato che, non risultano precedenti studi sull'impatto della sonicazione specificamente sul Sargasso.

L'impiego del pretrattamento idrotermale (campione C4) ha dimostrato di essere particolarmente efficace, determinando un notevole incremento di resa pari al +20.77% rispetto al campione C1 composto esclusivamente da Sargasso. La chiave di questo significativo aumento risiede principalmente nella riuscita rimozione del contenuto di sale durante il pretrattamento.

I risultati del lavoro proposto mostrano che il pretrattamento ossidativo consente di ottenere $235.77 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{SV}}$ di biometano che rappresenta il 46.17% del potenziale teorico ($438 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{SV}}$). Tale incremento notevole è dovuto al fatto che grazie a tale pretrattamento il contenuto di lignina diminuisce passando dal 35.2% per il campione di solo Sargasso (C1) al 4.3% per il campione ossidato (C5).

In letteratura il pretrattamento ossidativo non è mai stato testato su biomasse algali, tuttavia è stato testato su altri tipi di biomasse quali paglia di frumento (Gould 1984) (Kerley et al. 1985), stocchi di mais (Gould 1984) (Kerley et al. 1985), pannocchie di mais (Gould 1984)(Kerley et al. 1985), bucce di mais, coda di volpe, fieno di erba medica, stocchi di soia (Gould 1984), stocchi di mais (Banerjee et al. 2010) (Selig et al. 2009),

panico verga, cereali essiccati di distillazione più solubili, pioppo (Banerjee et al. 2010). Ciò che è stato osservato in tutti gli studi è che questo tipo di pretrattamento migliora il processo di degradazione della materia organica. Gould et al hanno scoperto che le soluzioni alcaline di perossido di idrogeno (H_2O_2) rimuove circa la metà della lignina presente nei materiali, il che comporta il 100% della conversione della cellulosa presente nella matrice organica in glucosio (Gould 1984) migliorando così il processo di idrolisi.

Le curve relative al volume di biometano sono mostrate in Figura 43. Per tutti i campioni nei primi giorni si osserva una produzione in volume molto bassa con un picco di produzione al quarto giorno per poi mantenere una tendenza crescente fino al 30° giorno.

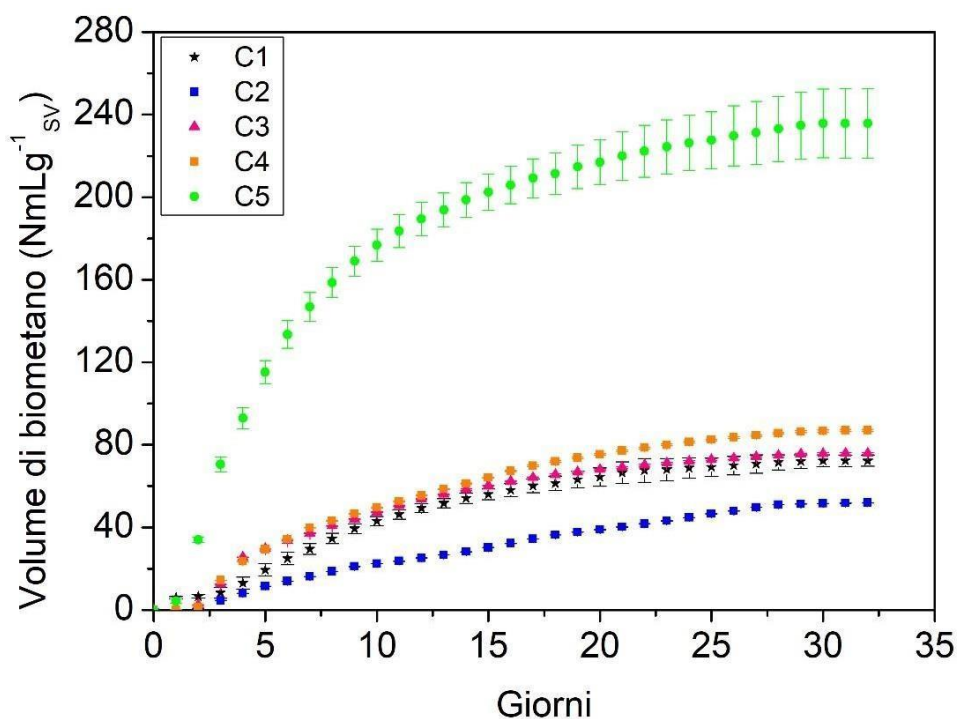


Figura 43. Volume di biometano ($NmL \cdot g^{-1}_{SV}$) dei campioni di Sargasso (C1), Sargasso pretrattato al microonde (C2), Sargasso sonicato (C3), Sargasso lavato con acqua a $40^{\circ}C$ (C4), Sargasso ossidato (C5).

7.2.3 Studio cinetico

I modelli cinetici impiegati sono il Modello cinetico di primo ordine, la Funzione logistica e il modello di Gompertz modificato. Le curve sono riportate in Figura 44.

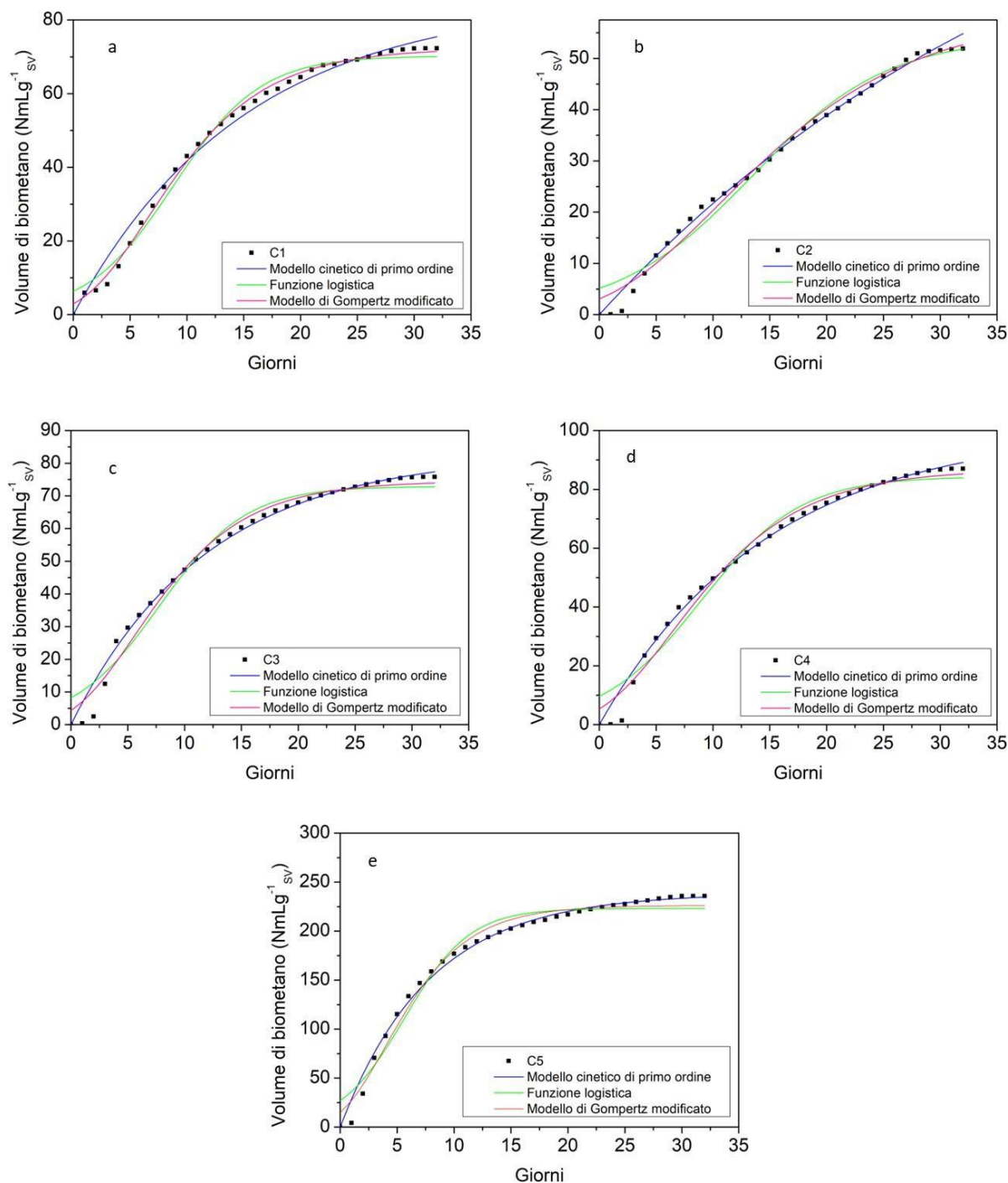


Figura 44. Dati sperimentali adattati dal Modello cinetico del primo ordine, dalla Funzione logistica e dal Modello cinetico di Gompertz modificato per i campioni di Sargasso (C1), Sargasso pretrattato al microonde (C2), Sargasso sonicato (C3), Sargasso lavato con acqua a 40°C (C4), Sargasso ossidato (C5).

I parametri del Modello cinetico di primo ordine, della Funzione logistica e del modello di Gompertz modificato sono riportati nella Tabella 15.

Tabella 15. Parametri cinetici stimati per i tre modelli cinetici (primo ordine, Gompertz modificato, funzione logistica).

	C1	C2	C3	C4	C5
Modello cinetico di primo ordine					
A (NmL · g⁻¹sv)	85.494	104.324	83.015	100.883	238.659
k (giorni⁻¹)	0.066	0.023	0.083	0.067	0.127
R²	0.988	0.995	0.988	0.991	0.991
Modello di Gompertz modificato					
A (NmL · g⁻¹sv)	72.287	58.934	74.473	86.791	226.283
u (NmL · g⁻¹sv · giorni⁻¹)	4.700	2.230	5.105	5.073	20.738
m (giorni)	0.936	0.936	0.230	0.161	0.057
R²	0.996	0.988	0.984	0.984	0.984
Funzione logistica					
A (NmL · g⁻¹sv)	70.223	54.147	72.915	84.316	223.136
u (NmL · g⁻¹sv · giorni⁻¹)	8.731	13.245	7.407	8.864	5.641
m (giorni)	0.130	0.083	0.132	0.114	0.175
R²	0.987	0.979	0.969	0.970	0.965

Tutti e tre i modelli cinetici descrivono in modo ragionevole i dati sperimentali. Il modello di Gompertz modificato ha mostrato la stima più robusta.

La differenza tra il valore di A sperimentale e il valore di A ottenuto dal modello di Gompertz modificato per i sistemi C1 (Sargasso), C2 (Sargasso pretrattato al microonde), C3 (Sargasso sonicato), C4 (Sargasso lavato con acqua a 40°C), C5 (Sargasso ossidato) risulta essere rispettivamente 0.01%, 10.31%, 2.10%, 0.53 e 4.02%. La differenza utilizzando il Modello di Funzione logistica per i sistemi C1 (Sargasso), C2 (Sargasso pretrattato al microonde), C3 (Sargasso sonicato), C4 (Sargasso lavato con acqua a 40°C), C5 (Sargasso ossidato) risulta essere rispettivamente dello 2.82%, 1.35%, 4.15%, 3.38% e 5.36. La differenza utilizzando il Modello cinetico del primo ordine per i sistemi C1 (Sargasso), C2 (Sargasso pretrattato al microonde), C3 (Sargasso sonicato), C4 (Sargasso lavato con acqua a 40°C), C5 (Sargasso ossidato) risultano essere rispettivamente del

18.30%, 95.28%, 9.12%, 15% e 1.23%. Quest'ultimo modello si allontana di più dai dati sperimentali, così come si può osservare nelle curve in Figura 45.

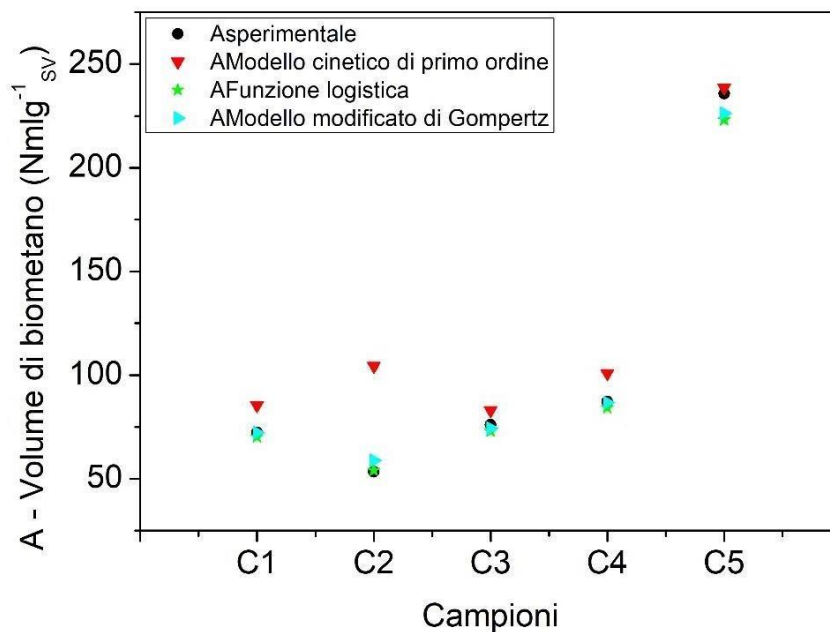


Figura 45. Valori di A (volume di biometano (NmLg⁻¹_{sv}) sperimentale e di A ottenuto dai modelli cinetici in funzione dei campioni C1 (Sargasso), C2 (Sargasso pretrattato al microonde), C3 (Sargasso sonicato), C4 (Sargasso lavato con acqua a 40°C), C5 (Sargasso ossidato).

Le costanti di velocità di idrolisi (k) dei diversi sistemi sono state determinate dal Modello del primo ordine e sono, per i sistemi C1 (Sargasso), C2 (Sargasso pretrattato al microonde), C3 (Sargasso sonicato), C4 (Sargasso lavato con acqua a 40°C), C5 (Sargasso ossidato), pari a 0.066, 0.023, 0.083, 0.067 e 0.127 giorni⁻¹. Tassi di degradazione e produzione di biogas più rapidi sono associati a un valore k più elevato. Nella presente indagine, il valore k più alto è stato ottenuto per il sistema C5 (ossidato) che ha mostrato la degradazione e la produzione di biogas più alte. Seguito dal campione C3 (sonicato). Al contrario il campione C2 (microonde) presenta il valore di k più basso e difatti per questo campione è stato ottenuto il risultato, in termini di resa, peggiore.

Il parametro u (NmL · g⁻¹_{sv} · giorno⁻¹) indica la massima produzione di biogas ottenibile per ciascun campione. Il valore più alto, utilizzando il Modello modificato di Gompertz, è stato raggiunto dal sistema C5 (Sargasso ossidato) mentre il valore più basso è stato

ottenuto per il campione C2 (Sargasso pretrattato al microonde). Questi risultati sono in linea con i dati sperimentali.

Il parametro m indica il periodo di ritardo. Secondo il Modello di Gompertz modificato, il periodo necessario per avviare la produzione di biometano è di 0.0936 giorni per il sistema C1, mentre questo periodo si riduce a 0.230 quando il campione viene sonicato (C3) e a 0.057 quando il campione viene ossidato (C5). Questo comportamento può essere attribuito all'accelerazione dell'idrolisi dovuta alla modifica della struttura cellulare.

L'analisi statistica ANOVA (Appendice A.2) dei valori di A (volume di biometano), mostra che il $P\text{-Value} > \alpha$ e dunque si accetta l'ipotesi nulla. Questo vuol dire che statisticamente i valori di A non mostrano differenze significative.

Mentre l'analisi statistica ANOVA dei valori di u (portata di biometano), riportata nella mostra che il $P\text{-Value} < \alpha$ e dunque non si accetta l'ipotesi nulla. Questo vuol dire che statisticamente i valori di u mostrano differenze significative. In Figura A8 (Appendice A1) è riportato il Tukey Plot, si può osservare che i valori di u sperimentale e $u_{L.f.}$ (Funzione logistica) hanno le medie corrispondenti significativamente differenti.

7.3 Conclusioni

La ricerca qui esposta solleva questioni di profonda rilevanza per il campo della digestione anaerobica e la produzione di biogas, offrendo chiarezza sui pretrattamenti e il loro impatto sulla resa complessiva del processo. Attraverso un'analisi attenta dei risultati ottenuti, emergono conclusioni di notevole interesse.

Innanzitutto, il pretrattamento a microonde, sebbene apporti modifiche al substrato con una certa intensità, si rivela sfidante poiché la presenza di componenti recalcitranti incide negativamente (-26.06% di volume di metano prodotto rispetto al campione di solo Sargasso, C1, considerato come riferimento) sulla degradazione durante il processo anaerobico.

Il lavaggio con acqua consente di ottenere un aumento di resa pari a + 20.76% rispetto al campione di solo Sargasso, C1, (considerato come riferimento) nell'efficienza, rivela una prospettiva interessante. La rimozione parziale del sale emerge come un fattore determinante, suggerendo potenziali applicazioni pratiche e la necessità di studi approfonditi per perfezionare le condizioni di lavaggio.

La sonicazione, con la sua abilità di rompere la parete cellulare, permette di ottenere un aumento di resa del +5.28% rispetto al campione di solo Sargasso, C1, considerato come riferimento. Variando i parametri del processo di sonicazione si potrebbero ottenere risultati migliori.

Infine, l'ossidazione si distingue come il pretrattamento più impattante, con la quasi totale rimozione della lignina. Si ottiene +226.28% di volume di metano prodotto rispetto al campione di solo Sargasso, C1, considerato come riferimento. Questo risultato sorprendente sottolinea il suo potenziale nelle applicazioni industriali, ma richiede anche una valutazione attenta sullo smaltimento del perossido di idrogeno (H_2O_2) e sui possibili impatti ambientali.

In conclusione, questa ricerca apre la strada a prospettive future intriganti. L'ottimizzazione dei pretrattamenti richiede un approccio strategico, considerando attentamente le specificità del substrato. Le sfide identificate fungono da stimolo per ulteriori ricerche e lo sviluppo di metodologie più avanzate. La strada per un processo di digestione anaerobica altamente efficiente si rivela ancora aperta, richiedendo impegno continuo e innovazione per raggiungere livelli superiori di sostenibilità e resa energetica.

Capitolo 8

Riutilizzo efficiente del Sargasso e della frazione organica dei rifiuti solidi urbani mediante il processo di co-digestione anaerobica

Nei capitoli precedenti sono stati valutati l'incidenza delle dimensioni delle particelle e dei differenti pretrattamenti sulla resa di biometano derivante dal Sargasso. Il Sargasso oggetto di studio è caratterizzato da un basso rapporto C/N pari a 7.92. Al fine di incrementare questo rapporto è possibile ricorrere alla co-digestione, scegliendo un co-substrato caratterizzato da un alto rapporto C/N. In questo studio la scelta del co-substrato è ricaduta sulla frazione organica dei rifiuti solidi urbani (FORSU).

Nel presente studio i risultati della co-digestione di Sargasso e della frazione organica di rifiuti solidi urbani (FORSU), con rapporti ponderali diversi, vengono riportati e confrontati con i risultati ottenuti dal processo di mono-digestione delle due matrici organiche. La co-digestione anaerobica con biomassa di rifiuti organici rappresenta un metodo valido ed economicamente vantaggioso per aumentare le rese senza alcun pretrattamento e consente uno sfruttamento sostenibile dal punto di vista ambientale di queste fonti di energia rinnovabile, altrimenti destinate alla discarica. La biomassa dei rifiuti organici aumenta il contenuto di lipidi, ridistribuisce gli elementi metallici e aumenta la capacità tampone del digestore, aumentando così le prestazioni della digestione.

L'obiettivo del suddetto studio riguarda la valorizzazione del Sargasso proveniente dalle coste e dalle spiagge della Repubblica Dominicana tramite digestione anaerobica (mono-digestione e co-digestione) con FORSU proveniente dalla zona, senza alcun pretrattamento, promuovendo così la sostenibilità dell'implementazione del processo di DA. Da questo punto di vista, lo scopo del suddetto studio è quello di fornire il rapporto ottimizzato tra Sargasso e FORSU per la produzione sostenibile di biogas nella Repubblica Dominicana in vista di un potenziale aumento di scala durante tutto l'anno. Durante i mesi di non accumulo di Sargasso l'impianto produrrebbe biogas

esclusivamente da FORSU e, nel periodo di accumulo del Sargasso, funzionerebbe con una miscela Sargasso-FORSU.

I dati riportati nello studio proposto hanno permesso di redigere una pubblicazione scientifica dal titolo *“Efficient reuse of Sargassum spp. biomass and organic fraction of municipal solid waste by anaerobic co-digestion in the Dominican Republic: evaluation of biochemical methanogenic potential and reaction rates”* pubblicata sulla rivista Applied Chemical.

8.1 Materiali e metodi

8.1.1 Preparazione dei campioni e piano sperimentale

Il campione di Sargasso utilizzato è stato descritto nel Capitolo 5, sezione 5.1.

Il campione di FORSU è stato ottenuto dalla raccolta porta a porta dei rifiuti solidi urbani in Calabria ed è stato anch'esso sottoposto allo stesso pretrattamento meccanico.

L'esperimento è stato modellato mediante una metodologia di progettazione sperimentale modificata (Prakoso et al. 2022) (Oliveira, Alves, and Costa 2015a). Attraverso il software Minitab 18, è stato sviluppato il piano sperimentale basato sul “Factorial Design”. Sono stati impostati i seguenti parametri: fattori = 2, repliche = 1, $\alpha = 1$. I fattori sono la % di Sargasso e la % di FORSU. I parametri operative sono riportati in Tabella 16.

Tabella 16. Valori dei fattori.

Fattore	Valore minimo (%)	Valore medio (%)	Valore massimo (%)
Sargasso	0	50	100
FORSU	0	50	100

Il Factorial Design ottenuto è riportato in Tabella 17. Tale piano sperimentale è costituito da dieci prove. In tale Tabella sono riportati i seguenti parametri:

- “StdOrder” che indica l’ordine non casuale delle prove sperimentali;
- “RunOrder” che indica l’ordine di esecuzione delle prove;

- “PtType” che lega la singola prova a un punto del modello;
- “Blocks”, identifica i gruppi di prove sperimentali eseguite in condizioni più o meno omogenee.

Tabella 17. Factorial Design.

ID Campione	Std Order	Run Order	Pt Type	Blocks	%Sargasso	%FORSU
S1	1	1	1	1	0	100
S2	2	2	1	1	10	90
S3	3	3	0	1	20	80
S4	4	4	1	1	25	75
S5	5	5	1	1	33	67
S6	6	6	1	1	50	50
S7	7	7	1	1	67	33
S8	8	8	1	1	75	25
S9	9	9	1	1	90	10
S10	10	10	1	1	100	0

Il parametro su cui è stato basato il metodo della superficie di risposta è stato il volume di biometano prodotto ($\text{Nm}^3 \cdot \text{g}^{-1} \text{SV}$).

Da sottolineare che anche se nel modello non sono state previste prove in doppio, tutti i campioni sono stati analizzati in doppio e dunque i valori del volume di biometano prodotto ($\text{Nm}^3 \cdot \text{g}^{-1} \text{SV}$) riportati sono valori medi.

8.1.3 Analisi elementare della frazione organica dei rifiuti solidi urbani

Il campione di FORSU è stato caratterizzato in termini di contenuto di carboidrati, lipidi, proteine, rapporto C/N, SV, ST, ceneri e umidità seguendo i metodi riportati nel paragrafo 5.2.

8.1.4 Determinazione del potenziale biochimico del metano sperimentale e teorico

Il potenziale biochimico del metano (PBM) è stato valutato mediante l'utilizzo dell'“Automatic Potential System Test II” (AMPTS[®] II), così come descritto nel paragrafo 3.1.4. I campioni sono stati analizzati in doppio, con un rapporto inoculo/substrato pari a 3 (Sluiter et al. 2008) in condizioni mesofile (37°C) per una durata di 10 giorni ad eccezione del campione di solo Sargasso che impiega 30 giorni per completare la degradazione.

Il potenziale biochimico del metano teorico è stato calcolato seguendo il modello PBM_{thCOD} (Mohamed et al. 2018) (Equazione 24), basato sulla domanda chimica di ossigeno (Chemical Oxygen Demanda - COD) nel substrato.

$$PBM_{thCOD} = \frac{n_{CH_4} * RT}{p * SV} \quad (24)$$

dove PBM_{thCOD} rappresenta la produzione teorica di metano da COD ($L_{CH_4g^{-1}SV}$), COD è la domanda chimica di ossigeno, n_{CH_4} è la quantità di metano molecolare (mol), R è la costante dei gas ($82 \text{ atm mLmolK}^{-1}$), T la temperatura del reattore (310 K), p è la pressione atmosferica (1 atm) e SV i solidi volatili del substrato (g).

8.1.5 Studio cinetico

La cinetica della produzione di metano è stata valutata con due modelli cinetici: Modello cinetico del primo ordine (Equazione 17 - paragrafo 6.1.5), il Modello di Gompertz modificato (Equazione 18 - paragrafo 6.1.5).

8.2 Risultati e discussione

8.2.1 Caratterizzazione del campione di Sargasso e del campione di frazione organica dei rifiuti solidi urbani

La composizione chimico-fisica dei campioni di Sargasso e FORSU è riportata in Tabella 18. Nel campione di Sargasso è stata rilevata la presenza di diversi metalli e metalloidi. Alcuni di essi sono presenti in quantità trascurabili. Il contenuto di metalli e metalloidi è riportato con contenuto superiore all'1%: Na 1.22%, K 3.35%, Ca 1.92%. Nel paragrafo 2.2 la composizione chimica del Sargasso è stata analizzata nel dettaglio.

Il contenuto di SV (%), ST (%), ceneri (%) e umidità (%) dei campioni in analisi sono riportati nella Tabella 19. Il campione di FORSU (S1) è caratterizzato da un basso contenuto di ceneri mentre il campione di Sargasso (S10) mostra un contenuto di ceneri molto più elevato che può essere attribuito al bioaccumulo di minerali (ad esempio Na, Ca, K, Mg) e oligoelementi (ad esempio Fe, Zn, Ni, Cu) dall'acqua di mare circostante (Acid et al. 2020). Il contenuto di solidi volatili dei campioni di FORSU (S1) e Sargasso (S10) era risulta essere pressoché uguale. I valori di SV, ST, umidità e ceneri per il

campione di FORSU sono in linea con quanto riportato in altri studi (Campuzano and González-Martínez 2016) (Sailer et al. 2021) .

Tabella 18. Caratterizzazione del campione di Sargasso e del campione di FORSU

	Sargasso	FORSU	
Composto	Contenuto [%]	Contenuto [%]	
Carboidrati	51.9 ± 0.23	23.47 ± 0.09	Percentuale di campione pre-essiccato all'aria aperta
Lipidi	1.65 ± 0.03	2.32 ± 0.04	Percentuale di campione pre-essiccato all'aria aperta
Proteine	0.62 ± 0.06	9.78 ± 0.11	Percentuale di campione pre-essiccato all'aria aperta
C/N	8 ± 0.12	28 ± 0.15	Percentuale di campione pre-essiccato all'aria aperta
Na	1.22 ± 0.02	-	Percentuale di solidi totali dopo l'essiccazione in forno
K	3.36 ± 0.02	-	Percentuale di solidi totali dopo l'essiccazione in forno
Ca	1.93 ± 0.02	-	Percentuale di solidi totali dopo l'essiccazione in forno

Il contenuto di ceneri e umidità nei campioni aumenta con l'aumento della percentuale di Sargasso presente nel campione mentre il contenuto di umidità all'aumentare della percentuale di FORSU presente nel campione. È interessante notare che i rapporti SV/ST

di Sargasso e FORSU sono rispettivamente 0.49 e 0.95, da cui si evidenzia che quest'ultimo contiene composti più facilmente digeribili. Il risultato può essere attribuito all'elevata quantità di contenuto totale di fibre indigeribili nel Sargasso e ad una maggiore frazione lipidica/proteica nella FORSU.

I rapporti C/N di Sargasso e FORSU sono rispettivamente 8 ± 0.12 e 28 ± 0.15 . Mentre il rapporto C/N della FORSU rientra nell'intervallo ottimale suggerito compreso tra 20:1 e 30:1 per prestazioni stabili del biodigestore (Montingelli, Tedesco, and Olabi 2015) il basso rapporto C/N del Sargasso può portare alla formazione di ioni ammonio che aumentano il pH nel digestore e influenzano negativamente i batteri metanogeni.

Tabella 19. Caratterizzazione dei campioni preparati

ID Campione	SV (%)	ST (%)	Ceneri (%)	Umidità (%)
S1	44.51 ± 0.01	46.17 ± 0.01	1.66 ± 0.01	53.83 ± 0.01
S2	38.40 ± 0.05	47.01 ± 0.01	8.61 ± 0.06	52.98 ± 0.01
S3	34.30 ± 0.13	50.65 ± 0.04	16.35 ± 0.08	49.35 ± 0.04
S4	25.66 ± 0.26	45.71 ± 0.01	20.05 ± 0.27	54.28 ± 0.01
S5	26.20 ± 0.01	45.97 ± 0.06	19.77 ± 0.05	54.02 ± 0.06
S6	23.90 ± 0.01	48.64 ± 0.70	24.74 ± 0.72	50.85 ± 0.01
S7	33.07 ± 0.10	61.47 ± 0.06	28.40 ± 0.16	38.52 ± 0.01
S8	35.67 ± 0.08	68.64 ± 0.06	32.97 ± 0.02	31.36 ± 0.07
S9	43.75 ± 0.09	77.41 ± 0.04	33.66 ± 0.06	22.59 ± 0.04
S10	46.55 ± 0.11	76.16 ± 0.04	29.61 ± 0.15	23.85 ± 0.04

8.2.2 Determinazione del potenziale biochimico del metano sperimentale

Il test di valutazione del PBM sperimentale (PBM_{sp}) ha avuto una durata pari a 30 giorni. Tuttavia, solo il campione di Sargasso(S10) ha impiegato 30 giorni per raggiungere lo stato stazionario mentre tutti gli altri campioni lo hanno raggiunto in soli 10 giorni. I valori medi cumulativi di PBM_{sp} ottenuti dopo 10 giorni sono mostrati nella Tabella 20.

Tabella 20. Volume cumulativo di biometano (NmL · g⁻¹sv)

ID Campione	SV (%)	PBM (NmL · g⁻¹sv)
S1	44.51 ± 0.01	436.71 ± 29.33
S2	38.40 ± 0.05	391.08 ± 4.69
S3	34.30 ± 0.13	379.78 ± 17.43
S4	25.66 ± 0.26	345.64 ± 35.41
S5	26.20 ± 0.01	327.27 ± 15.93
S6	23.90 ± 0.01	264.83 ± 16.36
S7	33.07 ± 0.10	167.66 ± 11.23
S8	35.67 ± 0.08	159.40 ± 33.39
S9	43.75 ± 0.09	99.73 ± 15.88
S10	46.55 ± 0.11	34.52 ± 2.15

Con il campione di FORSU (S1) è stata ottenuta la resa massima totale in biometano pari a 436.71 ± 29.33 NmL · g⁻¹sv, in linea con quanto riscontrato in altri studi (Derbal, Bencheikh-Lehocine, and Meniai 2012)(Rodríguez et al. 2017). La resa totale minima di biogas di 79.68 ± 2.38 NmL · g⁻¹sv è stata ottenuta per il campione di Sargasso (S10). Valori intermedi sono stati ottenuti per campioni composti da una miscela di Sargasso e FORSU in percentuali diverse. È possibile osservare che la resa diminuisce con l'aumentare della quantità di Sargasso. Infatti, aumentando la concentrazione di FORSU aumenta anche il rapporto C/N, quindi i risultati sono in linea con quanto atteso.

Thompson et al. (Terrell M. Thompson, Young, and Baroutian 2021) hanno analizzato tre diversi campioni A1 (75% Sargasso e 25% FORSU), A2 (50% Sargasso e 50% FORSU) e A3 (25% Sargasso e 75% FORSU) per 21 giorni a 35°C e hanno identificato il mix ottimale in A3. I risultati possono essere confrontati con quelli ottenuti per i

campioni S4 – S6 – S8 nella presente indagine. La resa del campione S4 è pari a $345.64 \pm 35.41 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$ dopo 10 giorni mentre la resa del campione A3 è pari a $201.67 \pm 6.36 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$. La resa del campione S6 è pari a $264.83 \pm 16.36 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$ mentre la resa del campione A2 è pari a $182.33 \pm 2.61 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$. La resa del campione S8 è pari a $167.66 \pm 11.23 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$ la resa del campione A1 è pari a $97.46 \pm 1. \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$. In tutti e tre i casi la resa ottenuta nella presente indagine è più elevata. I risultati sono da ascrivere a diversi fattori quali le diverse condizioni operative e la diversa composizione della FORSU. Inoltre, il fatto che il Sargasso sia stato raccolto in una regione e in un periodo diversi può influenzare i risultati complessivi. Tuttavia, anche nel nostro caso, prendendo in considerazione solo i campioni S2 – S4 – S6, la resa più alta si ottiene per il campione Sargasso-FORSU 25:75.

In Figura 46 sono riportate le curve del volume di biometano ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$) in funzione del tempo.

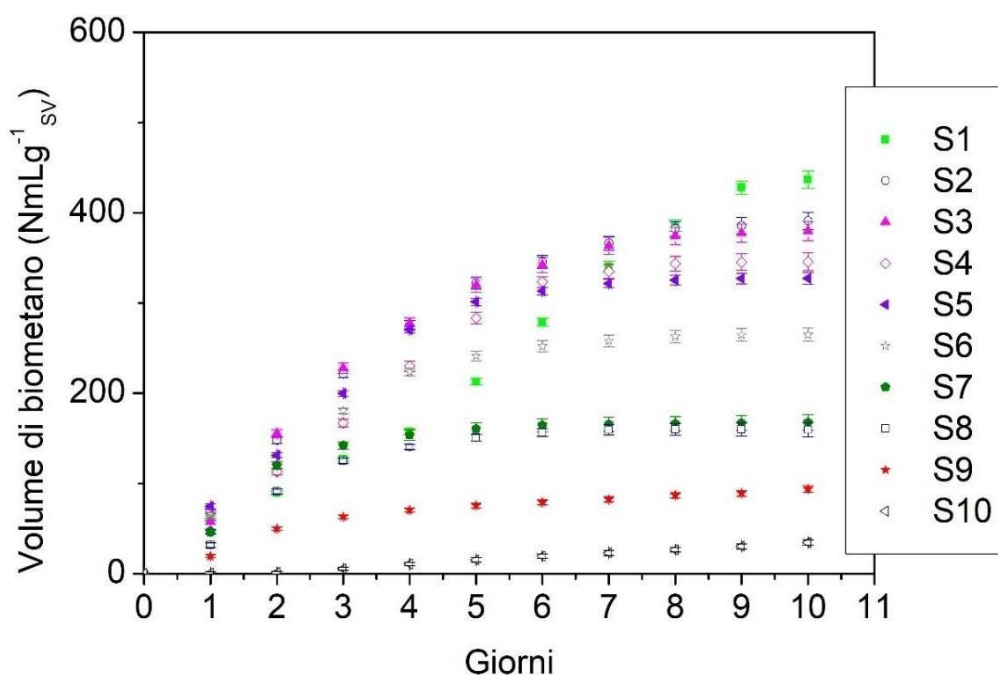


Figura 46. Volume cumulativo medio di biometano ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$) prodotto durante la digestione anaerobica dei campioni.

Dalle curve è possibile notare che il campione di Sargasso (S10) mostra una tendenza in crescita. Per questo campione, infatti, un livello di produzione stabile è stato raggiunto

solo dopo 30 giorni. Il campione di sola FORSU ha invece una velocità di produzione maggiore e quindi il processo DA raggiunge un andamento stabile in dieci giorni.

Tramite software Minitab18 è stato possibile ottenere il diagramma di Pareto (Figura 47). Tale diagramma opera sulla standardizzazione degli effetti delle singole variabili e delle loro combinazioni sulla produzione del volume di biometano. Pertanto, permette di stabilire su quale parametro operare per migliorare la variabile indipendente in esame, nel ossia il volume di biometano. Dal grafico di Pareto si evince che la % di Sargasso influenza maggiormente la produzione di biometano.

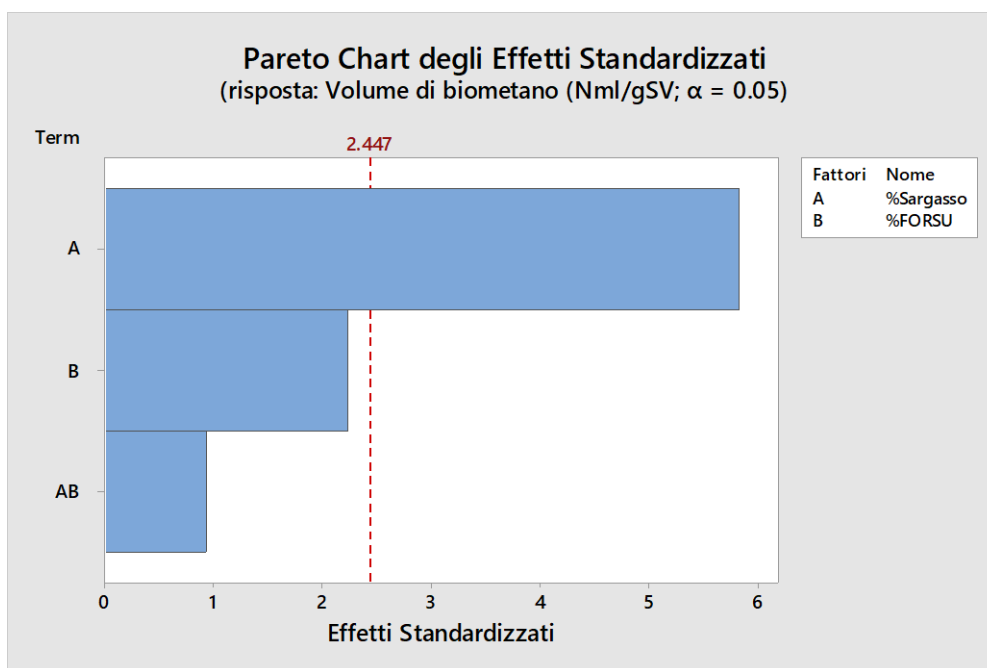


Figura 47. Diagramma di Pareto.

Inoltre, in Figura 48 sono riportati i Contour plots del volume di biometano ($\text{Nmlg}^{-1}_{\text{SV}}$) in funzione della % di Sargasso e della % di FORSU. Si evince che la resa in volume aumenta con l'aumento della concentrazione di FORSU e diminuisce con l'aumento della concentrazione di Sargasso.

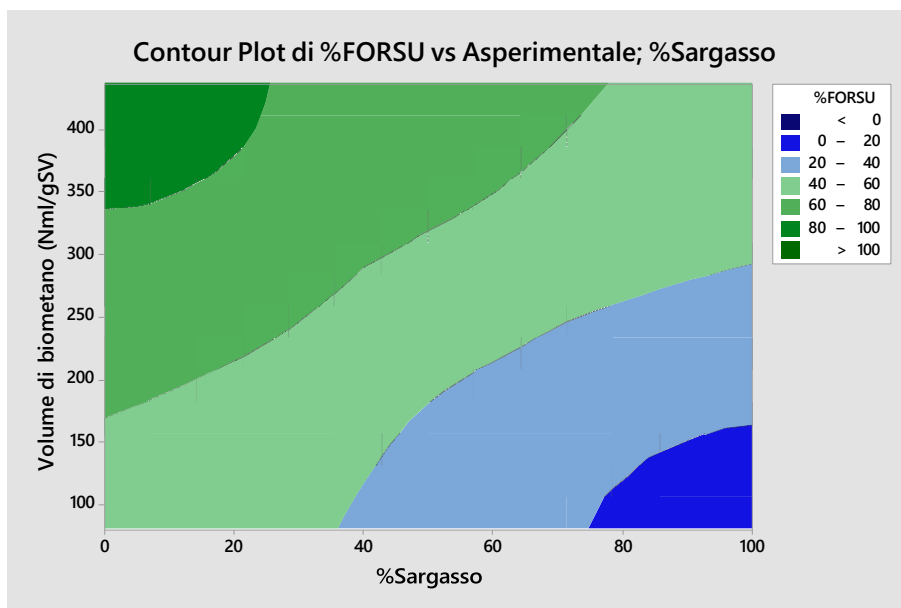
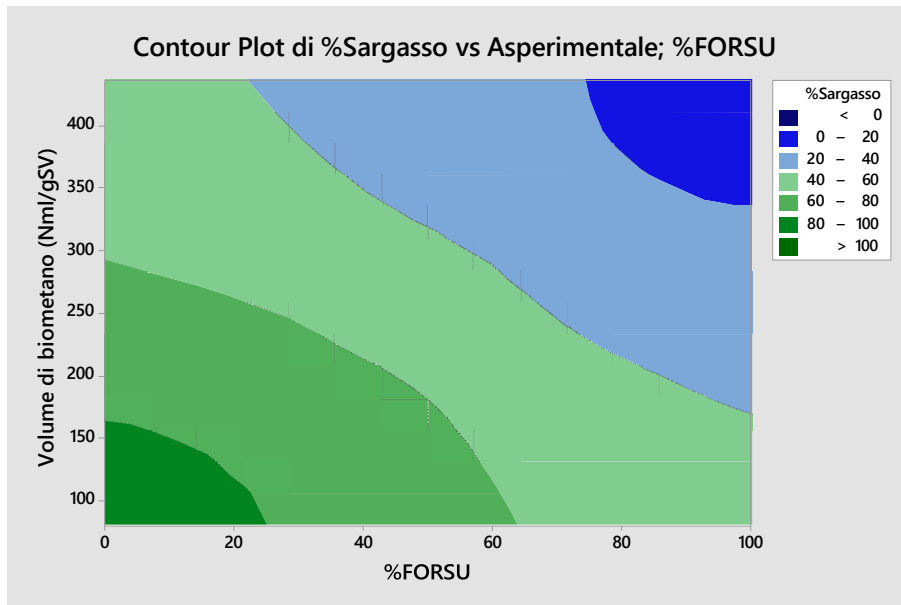


Figura 48. Contour Plots.

In Figura 49 sono riportati il “Normal Probability Plot”, il “Versus Fits”, l’“Histogram” e il “Versus Order”. Tali grafici vengono utilizzati per validare il modello utilizzato.

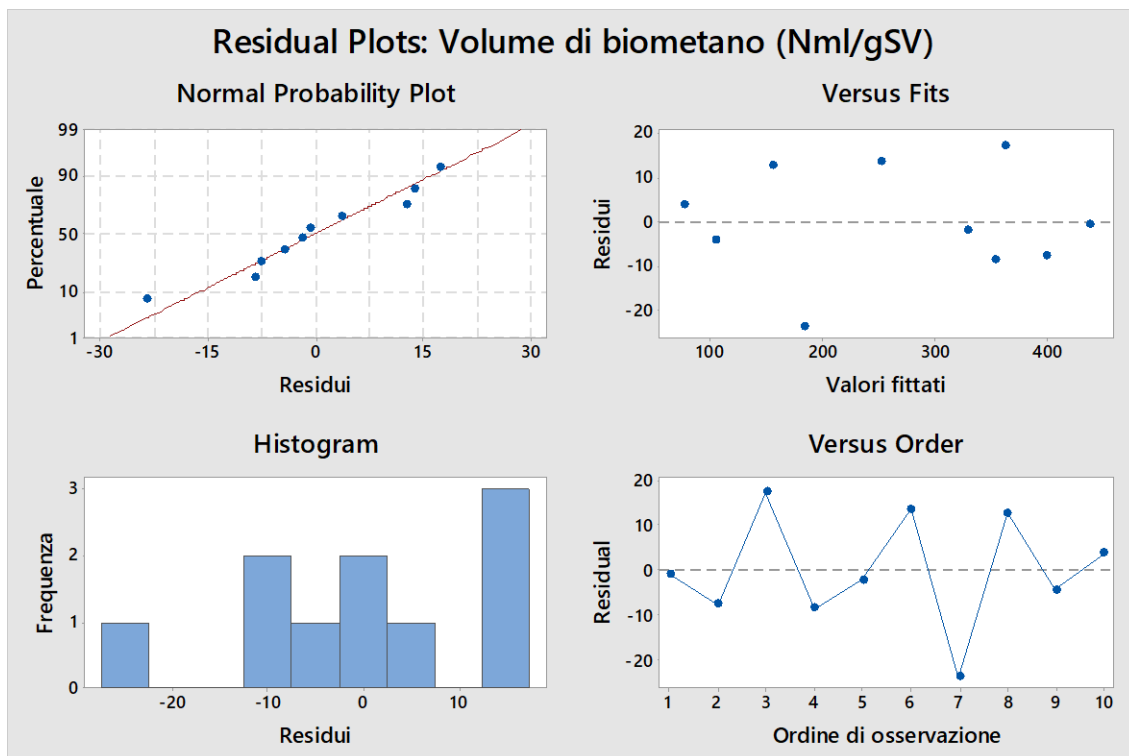


Figura 49. Normal Probability Plot”, “Versus Fits”, “Histogram” e “Versus Order”.

I grafici non mostrano la presenza di punti anomali e le oscillazioni dei valori dei residui non sono eccessivi, ciò rende valido il piano sperimentale.

8.2.3 Determinazione del potenziale biochimico del metano teorico

In Tabella 21 è riportata la resa sperimentale dei campioni rispetto alla resa teorica. È importante sottolineare che per il campione di Sargasso la resa sperimentale è sempre inferiore alla resa teorica. Analizzando i dati ottenuti è possibile osservare che la resa aumenta all'aumentare della percentuale di FORSU presente nei campioni.

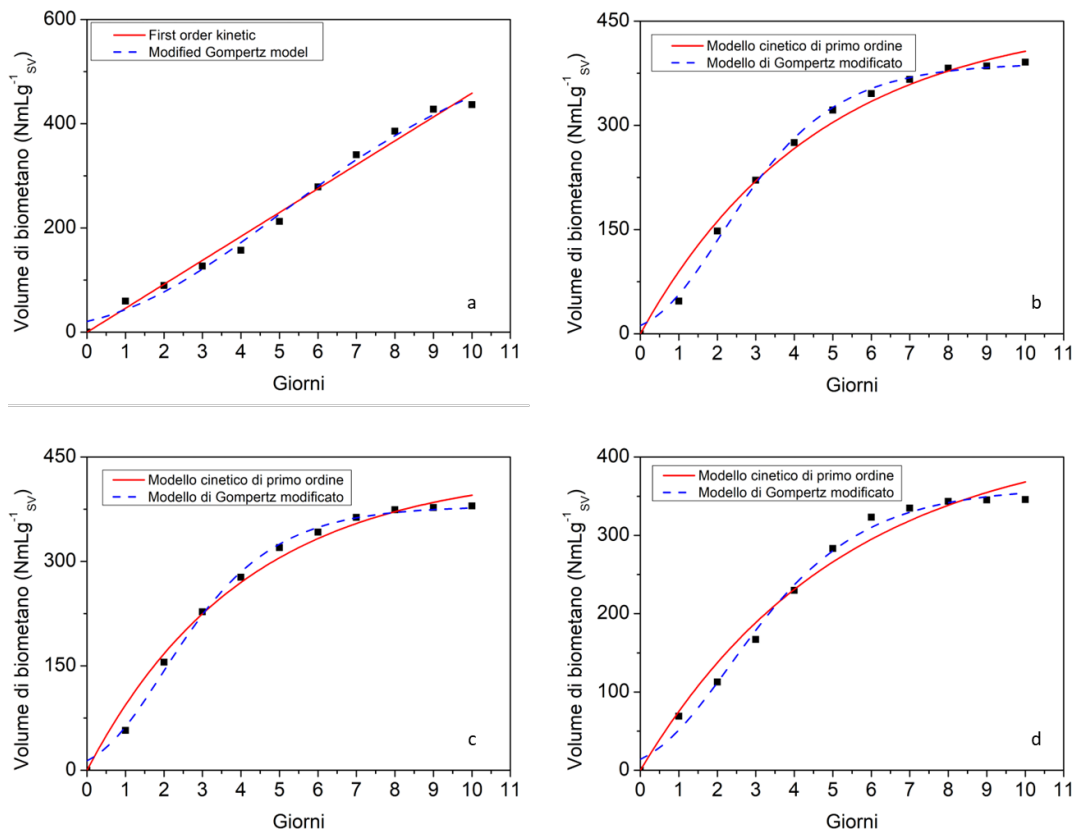
Tabella 21. Parametri utilizzati per il calcolo del PBM_{thCOD} ($NmL \cdot g^{-1}sv$).

ID Campione	SV (g)	COD (g)	nCH4 (mol)	T (K)	R (atm mLmolK⁻¹)	p (atm)	PBM_{thCOD} (NmL · g⁻¹sv)	PBM_{sp} (NmL · g⁻¹sv)
S1	0.44	0.59	0.009	310	82	1	519.95	436.71
S2	0.38	0.51	0.008	310	82	1	535.15	391.08
S3	0.34	0.45	0.007	310	82	1	523.35	379.78
S4	0.25	0.34	0.005	310	82	1	508.40	345.64
S5	0.26	0.35	0.005	310	82	1	488.84	327.27
S6	0.23	0.32	0.005	310	82	1	552.60	264.83
S7	0.33	0.44	0.007	310	82	1	539.21	167.66
S8	0.35	0.47	0.007	310	82	1	508.40	159.40
S9	0.43	0.58	0.009	310	82	1	532.04	99.73
S10	0.46	0.62	0.010	310	82	1	552.60	79.68

Dal confronto tra i valori di PBM_{thCDO} e PBM_{sp} si evince che la resa sperimentale del campione di Sargasso (S10) è molto lontana dal valore della resa teorica e che diminuendo la percentuale di Sargasso presente nei campioni i due valori si avvicinano. In particolare, il campione di Sargasso (S10) raggiunge solo il 14.41% della resa teorica. Quando al campione di Sargasso si aggiunge FORSU, il valore della resa sperimentale aumenta. In questo modo si riduce il divario tra resa sperimentale e resa teorica. Pertanto, il campione contenente il 10% di Sargasso e il 90% della FORSU (S2) raggiunge il 73.07% della resa teorica. Il campione di FORSU (S1) raggiunge l'84% della resa teorica. Ciò indica che il campione di FORSU è più facilmente degradabile rispetto a quello di Sargasso.

8.2.4 Studio cinetico

Al fine di trovare i parametri cinetici, sono stati utilizzati il Modello cinetico del primo ordine e il Modello di Gompertz modificato. La Figura 50 mostra le curve.



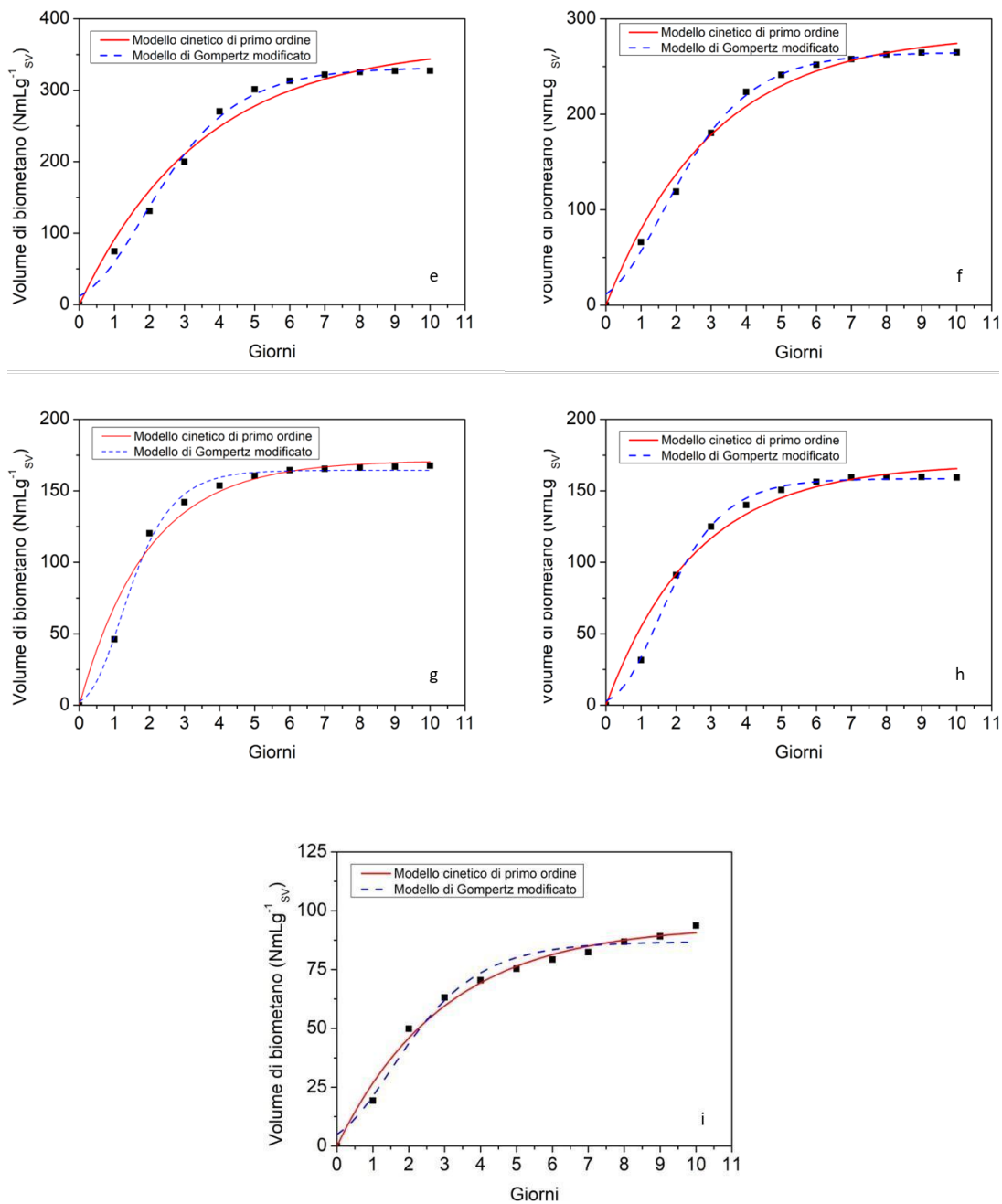


Figura 50. Dati sperimentali adattati dal Modello cinetico del primo ordine e dal modello Gompertz modificato: (a) campione S1, (b) campione S2, (c) campione S3, (d) campione S4, (e) campione S5, (f) campione S6, (g) campione S7, (h) campione S8, (i) campione S9.

I parametri stimati utilizzando le due cinetiche adattate sono riportati nella Tabella 22.

Tabella 22. Parametri cinetici stimati per i tre modelli cinetici (Primo ordine, Gompertz modificato,).

Modello cinetico di primo ordine									
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9
A (NmL · g⁻¹sv)	721.395	458.786	432.823	432.051	364.166	282.850	171.349	168.864	93.947
k (day⁻¹)	0.0006	0.217	0.244	0.191	0.287	0.329	0.516	0.392	0.335
R²	0.988	0.985	0.987	0.980	0.979	0.987	0.977	0.976	0.988
Modello di Gompertz modificato									
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9
A (NmL · g⁻¹sv)	598.145	389.583	379.523	360.996	331.916	264.980	164.415	158.544	85.859
u (NmL · g⁻¹sv · day⁻¹)	54.985	85.832	86.161	68.232	81.782	69.496	74.451	55.683	22.939
m (day)	0.855	0.425	0.330	0.349	0.309	0.203	0.354	0.409	0.075
R²	0.992	0.997	0.997	0.994	0.996	0.997	0.995	0.997	0.979

I dati ottenuti indicano che il Modello di Gompertz si adatta meglio ai dati rispetto al Modello cinetico del primo ordine. Per tutti i campioni, i valori di A ottenuti utilizzando il Modello di Gompertz deviano leggermente dal valore sperimentale, i valori ottenuti per i campioni S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S8, S9, deviano rispettivamente del 26.98%, 0.38%, 0.07%, 4.44%, 1.42%, 0.56%, 3.15%, 5.44%, 13.90%, dai valori sperimentali. Il parametro m (giorni) indica il tempo di ritardo, per tutti i campioni è inferiore a un giorno. Il parametro u ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}} \cdot \text{giorni}^{-1}$) indica la produzione giornaliera di biometano. Il valore di R^2 indica quanto bene il modello si adatta ai dati.

Il campione di solo Sargasso (S10), raggiunge la fase stazionaria dopo 30 giorni; quindi, i dati per tale campione sono riportati in Tabella 21 e le curve cinetiche in Figura 51.

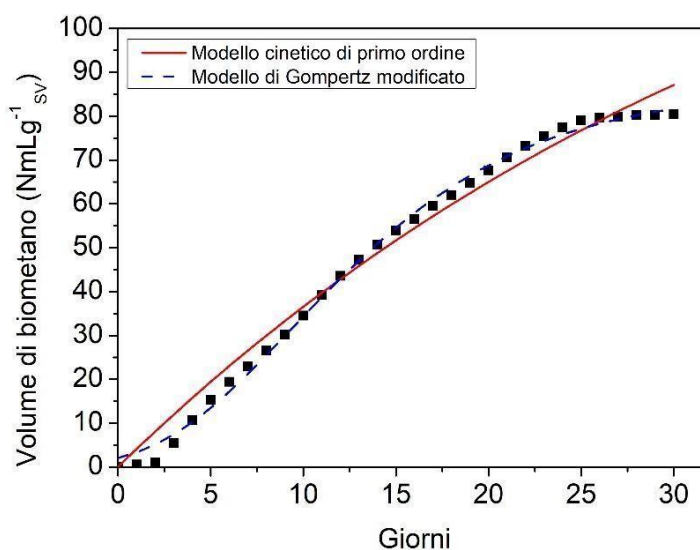


Figura 51. Dati sperimentali adattati dal Modello cinetico del primo ordine e dal Modello Gompertz modificato per il campione S10 dopo 30 giorni di processo di digestione anaerobica.

I parametri stimati utilizzando le due cinetiche per il campione di Sargasso (S10), dopo 30 giorni, sono riportati nella Tabella 23.

Tabella 23. Parametri cinetici del primo modello cinetico e del modello Gompertz per il campione S10 dopo 30 giorni

ID Campione	A (NmL · g⁻¹sv)	k (giorni⁻¹)	u (NmL · g⁻¹sv · giorni⁻¹)	m (giorni)	R²
Modello cinetico di primo ordine	165.057	0.025	-	-	0.984
Modello di Gompertz modificato	86.450	-	4.466	2.267	0.997

L'analisi statistica ANOVA dei valori di A (volume di biometano), riportata in Appendice A3 mostra che il P-Value > α e dunque si accetta l'ipotesi nulla. Questo vuol dire che statisticamente i valori di A non mostrano differenze significative.

Inoltre, i gruppi sono stati comparati utilizzando il metodo Tukey (Figura A10-Appendice A3), con un livello di confidenza del 95%. I risultati mostrano che non ci sono differenze significative tra le medie dei gruppi.

8.3 Conclusioni

Il processo di digestione anaerobica del Sargasso è caratterizzato da basse rese di biometano e questo studio ha dimostrato il significativo aumento della produzione di biometano quando il Sargasso viene co-digerito con la frazione organica dei rifiuti solidi urbani (FORSU), con o senza pretrattamento. In questo studio, sono stati determinati il potenziale biochimico sperimentale del metano (PBM_{sp}) ed il potenziale teorico del (PBM_{thCOD}) del Sargasso in condizini di mono-digestione e co-digestione con la FORSU.

I risultati mostrano che la produzione di biometano diminuisce con l'aumentare della concentrazione di Sargasso. Infatti, i valori PBM_{sp} passano da 79.68 ± 2.15 NmL · g⁻¹sv

per il campione di Sargasso a $436.71 \pm 29.33 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{SV}}$ per il campione di FORSU. Un confronto tra i valori del $\text{PBM}_{\text{thCOD}}$ e del PBM_{sp} mostra che per il campione di Sargasso (S10) la resa sperimentale in biometano è molto lontana dalla resa teorica. Per il campione FORSU (S1) avviene il contrario. Ciò indica che il processo di biodegradazione della matrice algale è complesso. Aggiungendo la FORSU al campione di Sargasso il divario tra $\text{PBM}_{\text{thCOD}}$ e PBM_{sp} diminuisce.

Per individuare la giusta combinazione, i dati del volume di biometano sono stati plottati in funzione della % di Sargasso e della % della FORSU (Figura 52). Il punto in cui le due curve si intercettano è scelto come combinazione migliore. Questo punto coincide con il campione S6, costituito dal 50% di Sargasso e dal 50% di FORSU. Tale combinazione ha fornito un PBM pari a $264.83 \pm 16.36 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{SV}}$, mentre il campione costituito da solo Sargasso ha fornito un PBM pari a $34.53 \pm 2.15 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{SV}}$.

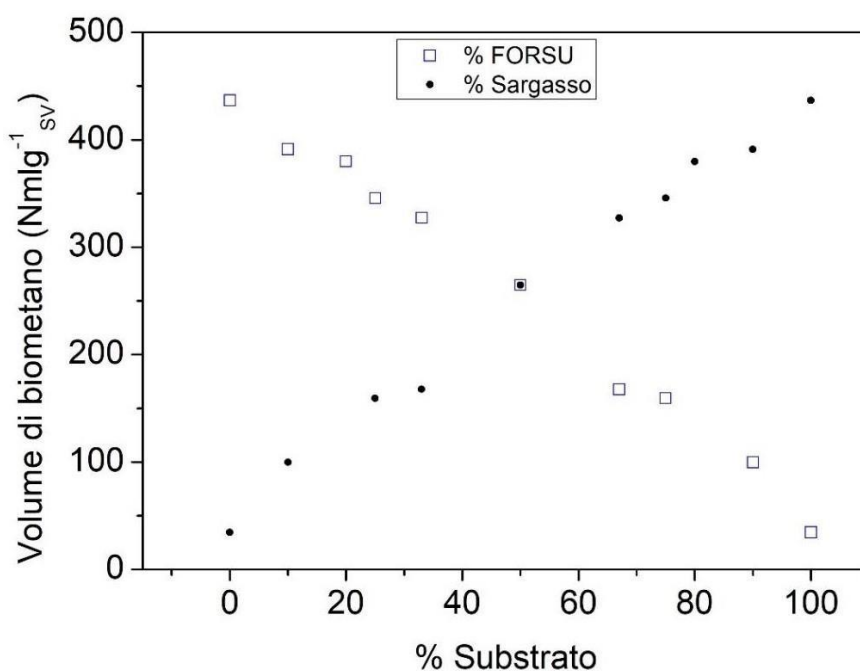


Figura 52. Volume di biometano ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{SV}}$) in funzione della % di substrato.

Infine, per studiare la cinetica di reazione sono stati utilizzati il modello cinetico del primo ordine e il modello cinetico modificato. Dal confronto dei parametri cinetici sperimentali e dei modelli è emerso che il Modello cinetico di Gompertz modificato si adatta meglio ai dati.

Capitolo 9

Influenza delle nanoparticelle Fe_2O_3 sul processo di digestione anaerobica del Sargasso

Nei capitoli precedenti, relativi alla seconda parte, è stato dimostrato come la resa di biogas dei substrati esistenti e la biodegradabilità degli stessi possono essere migliorate mediante tecniche convenzionali come il ricorso a pretrattamenti o la co-digestione. Tuttavia, l'interesse dei ricercatori sta aprendo nuove strade, come l'aggiunta di nanoparticelle.

La nanotecnologia rappresenta una tecnologia emergente atta a migliorare le prestazioni della DA. Caratterizzate da dimensioni nanometriche (1–100 nm), le nanoparticelle hanno eccellenti proprietà fisico-chimiche, come alta attività, alta area superficiale reattiva, stabilità chimica, elevata specificità per migliorare le prestazioni e capacità di stimolare la crescita microbica nel processo di DA. L'aggiunta di nanoparticelle colpisce la comunità microbica (Yanru Zhang et al. 2021) e, in concentrazioni adeguate, ne aumenta la degradazione della biomassa attraverso il trasferimento di elettroni interspecie diretto o indiretto (Tsui et al. 2022), quindi migliora il processo di produzione di biogas (Jadhava et al. 2021)(S. S. Kumar et al. 2021).

In questo studio, è stato valutato l'effetto delle NPs di Fe_2O_3 , a diverse concentrazioni, sul processo di DA del Sargasso.

Questo studio è stato estratto dall'articolo "*Influence of Fe_2O_3 Nanoparticles on the Anaerobic Digestion of Macroalgae Sargassum spp.*", pubblicato su Processes.

9.1 Stato dell'arte

Tra le nanoparticelle (NPs), quelle a base di ferro (Fe-NPs) sembrano essere i nanomateriali più promettenti per migliorare la produzione di biogas, migliorare la stabilità del processo del biodigestore, ottenere risultati migliori riguardo il trattamento del substrato (Dehhaghi et al. 2019) (Ugwu and Enweremadu 2020). Le Fe-NPs includono le nanoparticelle di ferro zerovalente (ZVI) caratterizzate da proprietà paramagnetiche e le nanoparticelle di ossido di ferro (IONP) caratterizzate da proprietà ferromagnetiche. Recentemente, la loro influenza sui meccanismi fondamentali del processo di DA sono stati discussi (Abdelwahab and Fodah 2022) (Jadhav et al. 2021). Tra le nanoparticelle IONP, le NPs di magnetite (Fe_3O_4) sono state ampiamente applicate negli ultimi anni per la loro proprietà magnetiche, atossicità, elevata coercività, biocompatibilità e capacità di miglioramento dell'efficienza del trasporto degli elettroni. Gli ioni ferro (Fe^{2+} e Fe^{3+}) sono costituenti essenziali dei cofattori e degli enzimi e la loro aggiunta ai digestori anaerobici può migliorare l'attività dei microrganismi archaea. Tuttavia, pochissimi lavori sperimentali si sono concentrati sull'uso di Fe_2O (Bharathi et al. 2022) e Fe_2O_3 (Tetteh and Rathilal 2021a) (Rana, Bhushan, and Prajapati 2020).

Uno studio ha dimostrato come l'aggiunta di NPs Fe_2O_3 (20 e 100 mg/L) al letame bovino migliora la resa in biogas del letame bovino rispetto al controllo, sia singolarmente che in combinazione con NPs di TiO_2 . Nello specifico, le NPs Fe_2O_3 hanno promosso la produzione di intermedi metabolici e l'attività di enzimi chiave nel processo di metanogenesi degli Archaea, stimolato la produzione di sostanze polimeriche extracellulari mediante attività anaerobica di batteri che forniscono protezione cellulare contro la citotossicità microbica e ne hanno ridotto la quantità di H_2S nel digestato formando un deposito di solfuro ferroso (FeS) (Farghali et al. 2019).

Inoltre, Farghali et al. hanno attribuito il miglioramento dell'efficienza della produzione di biogas e CH_4 al rilascio di $\text{Fe}^{+2/+3}$ da NPs Fe_2O_3 (Farghali et al. 2019). Invece, Wang et al. hanno evidenziato che le NPs Fe_2O_3 non si dissolvono facilmente nella fase liquida in condizioni quasi neutre; tuttavia, una bassa concentrazione di NPs Fe_2O_3 (100 mg/gSST, TSS: Solidi Sospesi Totali) hanno modificato la quantità di microrganismi e

migliorato l'attività degli enzimi e portato all'aumento della resa di biometano di fanghi attivi di scarto (T. Wang et al. 2016).

Singh Rana et al. hanno testato l'effetto dell'aggiunta di NPs Fe_2O_3 (10, 20 e 30 mg L^{-1}) sul processo di DA di microalghe e la prestazione migliore è stata ottenuta aggiungendo 30 mg L^{-1} , mentre operare alle due concentrazioni più basse non ha migliorato significativamente la produzione di biogas (Rana, Bhushan, and Prajapati 2020). Inoltre, l'aggiunta di NPs Fe_2O_3 influenza la composizione del biogas, raggiungendo quasi il 100% di metano (Tetteh and Rathilal 2021a). Tuttavia, l'aggiunta di NPs Fe_2O_3 a diverse concentrazioni nell'intervallo 5–500 mg/gST ha ridotto la produzione di metano da fanghi attivi di scarto del 4–28.9% rispetto al substrato grezzo. Questo effetto inibitorio è diventato evidente dopo il dodicesimo giorno dei test di DA (Kökdemir Ünşar and Perendeci 2018).

Tuttavia, dopo un ampio studio della letteratura, nessun altro studio si è concentrato sull'applicazione delle NPs per il processo di DA delle macroalghe brune. Pertanto, questo studio rappresenta la prima indagine. Tra le diverse NPs esistenti, sono state selezionate le NPs Fe_2O_3 tenendo conto del basso costo rispetto alla magnetite più ampiamente utilizzata. L'applicazione delle NPs Fe_2O_3 nella produzione di biogas è molto rara in letteratura. Analogamente alla più utilizzata magnetite Fe_3O_4 (Y. Tian et al. 2019), le NPs Fe_2O_3 promuovono efficacemente il trasferimento diretto di elettroni interspecie tra batteri e metanogeni, con un impatto positivo sull'attività degli archaea e sulla resa di biogas (T. Schmidt et al. 2018). Tuttavia, l'utilizzo di NPs Fe_2O_3 può avere un effetto di inibizione sul consorzio metanogenico, che dipende fortemente dalla concentrazione e dal tempo.

9.2 Materiali e metodi

9.2.1 Substrato ed inoculo

Il substrato utilizzato, ossia il Sargasso, è stato descritto nel capitolo 5, sezione 5.1. La preparazione dell'inoculo è stata descritta nel paragrafo 6.1.1.

9.2.2 Caratterizzazione delle NPs Fe_2O_3

Nanoparticelle commerciali di ossido di ferro (III) (NPs Fe_2O_3) con dimensione media < 50 nm sono state acquistate da Sigma Aldrich (lotto MKCM1032, CAS: 1309-37-1, MW: 156.69 g/mol). La presenza di fasi cristalline è stata valutata mediante diffrazione a

raggi X (XRD). Un diffrattometro a raggi X Rigaku MiniFlex 600 con radiazione CuK generata a 20 mA e 40 KV. Le NPs sono state scansionate a una velocità di 0.02 2θ e passi di 1min^{-1} tra 20° e 70° (intervallo di 2θ).

9.2.3 Campioni di Sargasso + NPs

Le NPs sono state aggiunte a campioni di Sargasso pre-essiccati all'aria aperta, genericamente indicati con “S”: a tre diverse concentrazioni. S è il campione di controllo, S₊₅ rappresenta il campione di Sargasso con l'aggiunta di NPs alla concentrazione di 5 mg_{NPs}/gs; S₊₁₀ rappresenta il campione di Sargasso con l'aggiunta di NPs ad una concentrazione di 10 mg_{NPs}/gs; S₊₅₀ rappresenta il campione di Sargasso con l'aggiunta di NPs ad una concentrazione di 50 mg_{NPs}/gs.

9.2.4 Determinazione del potenziale biochimico del metano sperimentale

Il potenziale biochimico del metano (PBM) è stato valutato mediante l'utilizzo dell'“Automatic Potential System Test II” (AMPTS® II), così come descritto nel paragrafo 3.1.4. I campioni sono stati analizzati in doppio, con un rapporto inoculo/substrato pari a 3 in condizioni mesofile (37°C) per una durata di 30 giorni.

9.2.5 Studio cinetico

La cinetica della produzione di metano è stata valutata seguendo tre modelli cinetici: Modello cinetico del primo ordine (Equazione 17 – paragrafo 6.1.5), il Modello di Gompertz modificato (Equazione 18 - paragrafo 6.1.5), Funzione Logistica (Equazione 19 – paragrafo 6.1.5).

9.3 Risultati e discussione

9.3.1 Dosaggio nanoparticelle Fe₂O₃

Il Sargasso è una biomassa molto eterogenea. Infatti, i valori di ST, umidità, SV e ceneri erano rispettivamente compresi negli intervalli 76.30-82.47%, 17.53-23.70%, 37.42-55.95%, 26.52-41.60%. Sulla base di questi valori, il dosaggio delle NPs può essere normalizzato come mostrato nella Tabella 24, dove la massa del substrato si riferisce rispettivamente a grammi di biomassa pre-essiccata all'aria aperta, solidi totali e solidi volatili.

Tabella 24. Dosaggio di NPs.

Campion e	Substrato essiccato [mg NPs / g S]	Solidi totali del substrato [mg NPs / g ST]	Solidi volatili del substrato [mg NPs / g SV]
S ₊₅	5	6.6	14.4
S ₊₁₀	10	12.1	17.9
S ₊₅₀	50	60.6	89.4

9.3.2 Caratterizzazione delle nanoparticelle Fe₂O₃

Le NPs Fe₂O₃ sono state analizzate mediante XRD (Figura 53). Il modello ottenuto corrisponde a maghemite (γ - Fe₂O₃) (PDF 9006317) (Shan, Ma, and Tong 2014). La maghemite presenta una struttura a spinello cubico, contenente solo cationi ferro allo stato trivalente (Fe³⁺). La neutralità della carica è garantita dalla presenza di posti vacanti cationici ottaedrici.

La maghemite mostra proprietà ferromagnetiche/superparamagnetiche, la sua stabilità chimica e il basso costo hanno portato a diverse applicazioni (Shokrollahi 2017).

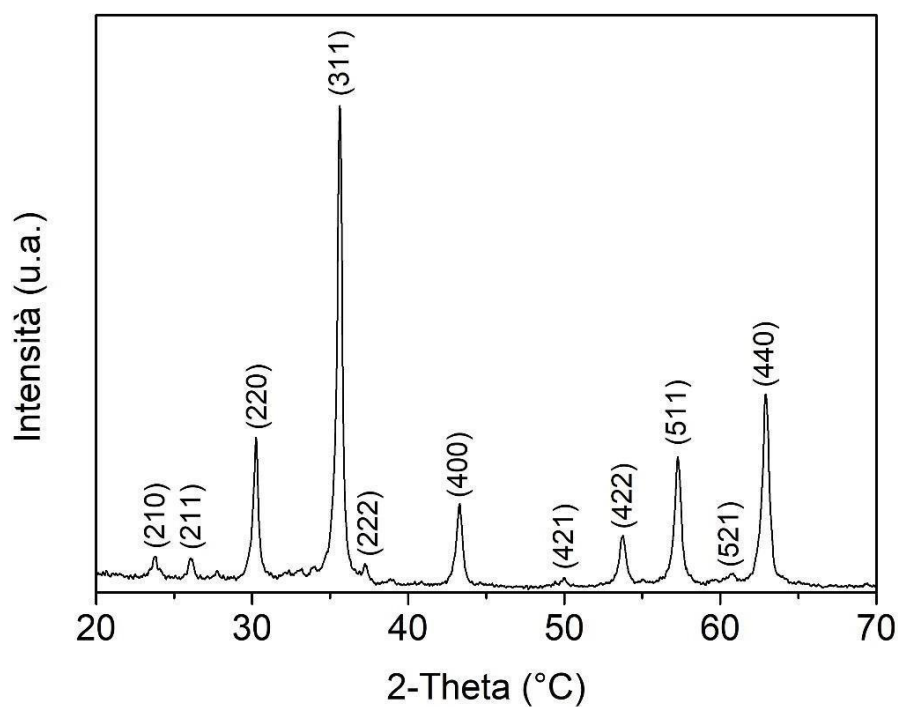


Figura 53. Spettro XRD delle NPs di Fe₂O₃.

9.3.3 Determinazione del potenziale biochimico del metano sperimentale

La produzione di biogas è stata influenzata dalla presenza delle NPs Fe₂O₃. Il processo di DA ha avuto una durata pari a 30 giorni. Poiché il campione di Sargasso è molto eterogeneo, i valori del PBM sono stati riportati in funzione dei SV. I valori medi del PBM, ottenuti al termine delle prove di digestione anaerobica, dopo 30 giorni (PBM), sono riportati in Tabella 25.

Tabella 25. PBM dei campioni.

Campioni	PBM (NmL · g ⁻¹ sv)	Variazione rispetto al controllo (S)
S	80.25 ± 3.21	-
S+5	99.57 ± 2.76	+24.07
S+10	101.90 ± 2.98	+26.97
S+50	48.97 ± 2.32	-38.97

Il campione di controllo (S) è caratterizzato da una resa di $80.25 \pm 3.21 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$, in linea con l'intervallo caratteristico della resa di Sargasso di $65\text{-}145 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}_{\text{sv}}$. Le rese teoriche di metano da lipidi, proteine e carboidrati sono rispettivamente 1.014 , 0.851 e $0.415 \text{ LCH}_4 \text{ g}^{-1}_{\text{sv}}$. Pertanto, i lipidi danno la resa teorica più alta, ma il loro livello nel Sargasso è molto basso e giustifica la bassa resa, insieme al basso valore C/N. Tenendo conto del contenuto di lipidi, proteine e carboidrati (Tabella 6), il valore approssimativo del PBM teorico è stato calcolato tramite l'Equazione 23.

Il PBM teorico è pari a $438 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$. Pertanto, il PBM sperimentale rappresenta solo il 18% del valore teorico, coerentemente con la letteratura precedente (John J. Milledge et al. 2019).

La resa totale massima di biogas di $101.90 \pm 2.98 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$ (+26.97%) è stata ottenuta con il campione S+10. S+5 e S+50 hanno prodotto rispettivamente $99.57 \pm 2.76 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$ (+24.07%) e $48.97 \pm 2.32 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$ (-38.97%) di metano.

I valori medi cumulativi di produzione di metano sono riportati nella Figura 54.

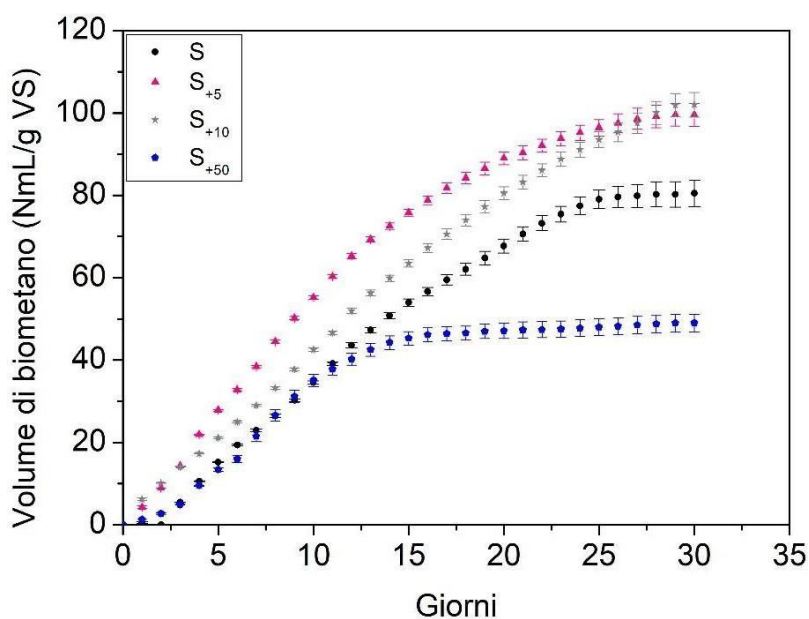


Figura 54. Produzione media di volume netto cumulativo di metano ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$) durante la digestione anaerobica senza NPs (S) e con aggiunta di NPs (S+5, S+10, S+50).

Basse concentrazioni di NPs ($5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}\text{s}$ e $10 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}\text{s}$) hanno migliorato la produzione di biogas rispetto al controllo (S). Il campione S ha mostrato un andamento crescente fino al 25° giorno, per poi rimanere costante. I campioni S₊₅ e S₊₁₀ hanno mostrato un andamento simile con una velocità di reazione più elevata per il campione S₊₁₀. L'aggiunta di NPs a bassa concentrazione porta ad un aumento giornaliero della produzione di biogas rispetto al campione S. Questo comportamento può essere attribuito all'idrolisi accelerata e all'attività di assorbimento enzimatico (Ali et al. 2017). La concentrazione più alta di S₊₅₀ ha comportato l'inibizione del processo di DA e l'assenza di ulteriore produzione di metano dopo 16 giorni. Tale andamento è stato osservato anche da Ünşar et al. (Kökdemir Ünşar and Perendeci 2018), il loro studio sui rifiuti dei fanghi attivi di rifiuto e 500 mg di Fe₂O₃NPs/g ST ha dimostrato una inibizione del consorzio metanogenico e una diminuzione della produzione di biogas e del tasso di produzione specifica di metano. Nello specifico, l'inibizione nel loro studio, confermata anche dalla presente indagine, è emersa dopo il dodicesimo giorno del test del PBM. Inoltre, secondo tale studio concentrazioni più basse di NPs Fe₂O₃, invece, hanno portato ad un lieve aumento della produzione di metano nei primi giorni del test. Il risultato è coerente con lo studio condotto e con altri esiti dell'utilizzo di NPs Fe₂O₃ sull'AD riportati in letteratura per indagini a breve termine.

Le possibili cause del comportamento riscontrato nella produzione di metano sono state identificate da Wu et al. (J. Wu, Zhu, and Yu 2018) che hanno affermato che le NPs Fe₂O₃ si attaccano alla superficie cellulare causando la deformazione fisica della cellula, la perforazione e la disorganizzazione della membrana o del contenuto interno. Pertanto, l'aumento della produzione di CH₄ nelle prime fasi degli esperimenti deriva dall'impatto degli oligoelementi delle NPs Fe₂O₃ sui microrganismi anaerobici. Nelle fasi successive, cresce l'accumulo di Fe nelle cellule dei microrganismi anaerobici, provocando la morte cellulare e arrestando così la produzione di biogas.

Pertanto, l'effetto delle NPs sul processo di DA dipende dal dosaggio. In concentrazione adeguata, l'aggiunta di Fe₂O₃ comporta un aumento della produzione di metano e una maggiore degradazione della materia organica. Al contrario, un dosaggio eccessivo di NPs ostacola il processo con conseguente riduzione della produzione di biogas. Risultati simili sono stati ottenuti in ricerche precedenti variando i dosaggi di NPs di Ag, NPs di MgO, NPs di nZVI e Fe₂O₃ (T. Wang et al. 2016).

La previsione e il meccanismo d'azione delle NPs sulla DA rappresentano sfide dovute alla varietà di specie di batteri coinvolte nei sistemi di digestione. Poche indagini sono state riportate in letteratura su questo argomento (T. Wang et al. 2016) e nessuna di queste si focalizza sulla DA delle macroalghe brune; quindi, non è possibile confrontare risultati dello studio proposto con risultati precedenti.

L'aumento della produzione di metano può essere indirizzato sia al trasferimento diretto di elettroni interspecie (DIET) tramite Fe_2O_3 sia all'insolubilità delle NPs Fe_2O_3 (Abdelwahab et al. 2020). La DIET può facilitare la metanogenesi mediante materiali conduttivi utilizzati per il trasferimento di elettroni. Le NPs Fe_2O_3 sono semiconduttrici e agiscono come condotti di elettroni tra i donatori e gli accettori di elettroni, accelerando così la produzione di metano, simile al comportamento degli enzimi nelle reazioni catalitiche in una sequenza di reazioni biochimiche (T. Wang et al. 2016). L'insolubilità delle NPs Fe_2O_3 impedisce il rilascio di ioni metallici non tossici che sono i principali responsabili della tossicità per alcuni organismi viventi (Xia et al. 2008) (Franklin et al. 2007). Tuttavia, elevate concentrazioni di NPs Fe_2O_3 mostrano un effetto inibitorio.

I risultati ottenuti sono coerenti con quanto riportato in letteratura sulle NPs Fe_2O_3 (Tetteh and Rathilal 2021b)(Kökdemir Ünşar and Perendeci 2018).

9.3.4 Studio cinetico

I tre modelli cinetici sono stati adattati ai dati sperimentali basati sulla produzione media cumulativa del volume netto di metano durante la digestione anaerobica di ciascun campione. Tre regioni principali possono essere osservate nelle curve adattate riportate in Figura 55: la regione della fase di latenza, la regione della fase esponenziale caratterizzata da un forte aumento della resa cumulativa di biogas e una regione di plateau, dove la produzione di biometano quasi si ferma. Ciascuno dei tre modelli cinetici fornisce informazioni specifiche e aggiuntive (K. Li, Liu, and Sun 2015). Il modello cinetico del primo ordine fornisce informazioni sulla costante della velocità di idrolisi. Il modello Gompertz modificato descrive la densità cellulare durante i periodi di crescita microbica in termini di tassi di crescita esponenziale e fase di latenza. Il modello della funzione logistica è appropriato per descrivere l'aumento esponenziale iniziale e una stabilizzazione finale al livello di produzione più elevato (Pramanik et al. 2019). Pertanto, tutti e tre i modelli cinetici sono stati utilizzati in questa indagine per determinare il

potenziale di produzione cumulativa di biogas, la cinetica di idrolisi, la durata della fase di latenza e la produzione massima di metano.

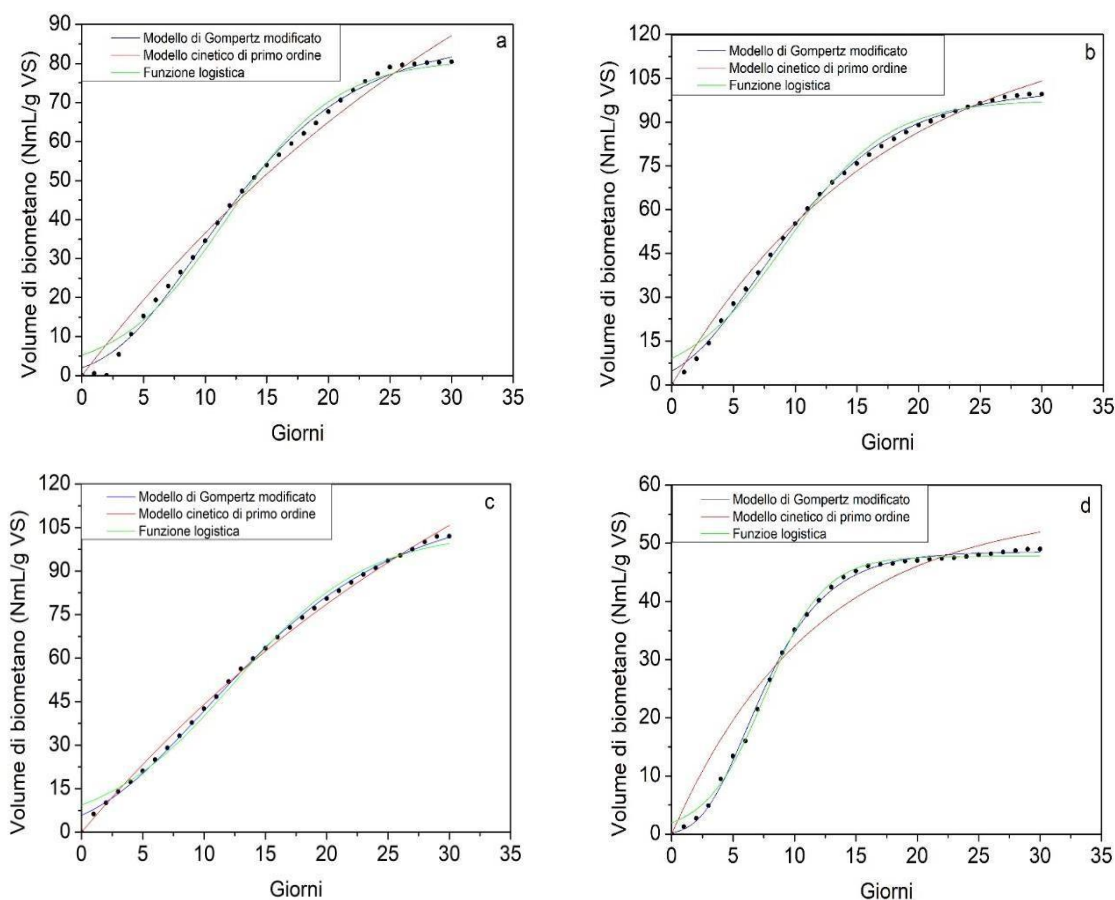


Figura 55. Dati sperimentali adattati dal Gompertz modificato, dal modello cinetico del primo ordine e dal modello della funzione logistica: a) campione S, b) campione S₊₅, c) campione S₊₁₀, d) campione S₊₅₀.

I parametri stimati utilizzando i tre modelli cinetici, in particolare la costante della velocità di idrolisi (primo ordine, k), la durata della fase di latenza (m), la velocità massima di produzione di biogas (u) e il potenziale di resa massima di biogas (A) sono riportati nella Tabella 26.

Tabella 26. Parametri cinetici stimati per i tre modelli cinetici (primo ordine, Gompertz modificato, funzione logistica).

	S	S+5	S+10	S+50
Modello cinetico di primo ordine				
A (NmL · g⁻¹sv)	165.542	126.443	204.634	56.221
k (giorni⁻¹)	0.021	0.063	0.022	0.082
R²	0.983	0.992	0.997	0.948
Modello di Gompertz modificato				
A (NmL · g⁻¹sv)	86.749	101.217	113.595	48.517
u (NmL · g⁻¹sv · giorni⁻¹)	4.468	6.045	4.595	4.949
m (giorni)	2.289	0.768	0.829	2.440
R²	0.996	0.997	0.998	0.998
Funzione logistica				
A (NmL · g⁻¹sv)	81.111	97.483	103.412	47.792
u (NmL · g⁻¹sv · giorni⁻¹)	11.701	9.203	12.382	7.502
m (giorni)	0.110	0.121	0.093	0.207
R²	0.989	0.987	0.992	0.997

Tutti e tre i modelli cinetici descrivono in modo ragionevole i dati sperimentali. Il modello di Gompertz modificato ha mostrato la stima più robusta, seguito dal modello della Funzione logistica, mentre il Modello cinetico del primo ordine è meno accurato nella stima.

La resa massima prevista di biometano (A) derivata dal modello di Gompertz modificato e dal Modello della Funzione logistica risulta comparabile con i dati sperimentali. La differenza tra il valore di A sperimentale e il valore di A ottenuto dal modello di Gompertz modificato per i sistemi S, S+5, S+10, S+50 risulta essere rispettivamente 8.1%, 1.7%, 10.3% e 0.9%. Le differenze utilizzando il Modello di Funzione logistica per i sistemi S, S+5, S+10, S+50 risulta essere rispettivamente dello 0.9%, 2.1%, 1.5% e 2.38%. Il Modello cinetico del primo ordine, invece, non adattare accuratamente la resa di biometano con differenze per i sistemi S, S+5, S+10, S+50 rispettivamente del 106%, 27%, 100% e 14.8%. Risultati simili sono stati ottenuti da Li et al. (C. Li, Champagne, and Anderson 2011).

Le costanti di velocità di idrolisi (k) dei diversi sistemi sono state determinate dal Modello del primo ordine e sono, per i sistemi S, S+5, S+10, S+50, pari a 0.021, 0.063, 0.022 e 0.082 (giorno⁻¹). Il Modello cinetico del primo ordine presuppone che l'idrolisi sia la fase limitante della velocità durante il processo di DA di materie prime complesse. In questo

caso, tassi di degradazione e produzione di biogas più rapidi sono associati a un valore k più elevato. Nella presente indagine, il valore k più alto è stato ottenuto per il sistema S_{+50} che ha mostrato la degradazione e la produzione di biogas più basse. La spiegazione può essere trovata osservando che il modello del primo ordine mal si adatta ai dati sperimentali.

Il parametro u ($\text{NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{SV}} \cdot \text{giorno}^{-1}$) indica la massima produzione di biogas ottenibile in ciascun impianto. Il valore più alto, utilizzando il Modello modificato di Gompertz, è stato raggiunto dal sistema S_{+5} . Valore pari a $6.045 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{SV}} \cdot \text{giorno}^{-1}$ attribuito alla presenza delle NPs Fe_2O_3 attaccate sulla superficie cellulare o alla loro internalizzazione che causano direttamente la deformazione fisica della cellula, la perforazione e la disorganizzazione della membrana o del contenuto interno, aumentando così la concentrazione specifica del tasso di produzione del metano nelle fasi iniziali (J. Wu, Zhu, and Yu 2018).

Il parametro m indica il periodo di ritardo. Secondo il Modello di Gompertz modificato, il periodo necessario per avviare la produzione di biometano è di 2.289 giorni per il sistema S , mentre a basse concentrazioni di NPs questo periodo si riduce a 0.768 per il campione S_{+5} e 0.829 per il campione S_{+10} . Questo comportamento può essere attribuito all'accelerazione dell'idrolisi dovuta alla presenza di NPs. Inoltre, la quantità di NPs rispetto ai SV è pressochè uguale, quindi il loro effetto è simile. Il campione ad alta concentrazione di NPs (S_{+50}) ha mostrato un comportamento diverso. In questo caso, il tempo di ritardo stimato è stato di 2.440 giorni, più lungo rispetto agli altri sistemi. Inoltre, il sistema S_{+50} è caratterizzato da un periodo di produzione effettiva di biogas più breve ottenuto sottraendo la durata della fase di latenza dal periodo impiegato per raggiungere il 90% della produzione totale di biogas, indicando un periodo di DA più breve e un processo di inibizione irreversibile (C. Li, Champagne, and Anderson 2011). Ciò può essere spiegato dal crescente accumulo di Fe nelle cellule dei microrganismi anaerobici che provoca la morte cellulare, arrestando così prematuramente la produzione di biogas.

L'analisi statistica ANOVA (Appendice A4) dei valori di A (volume di biometano), mostra che il $P\text{-Value} > \alpha$ e dunque si accetta l'ipotesi nulla. Questo vuol dire che statisticamente i valori di A non mostrano differenze significative.

Mentre l'analisi statistica ANOVA dei valori di u (portata di biometano), riportata nella mostra che il $P\text{-Value} < \alpha$ e dunque non si accetta l'ipotesi nulla. Questo vuol dire che

statisticamente i valori di u mostrano differenze significative. In Figura A14 (Appendice A4) è riportato il Tukey Plot, si può osservare che i valori di u sperimentale e $u_{L.f.}$ (Funzione logistica) hanno le medie corrispondenti significativamente differenti.

9.4 Conclusioni

Uno dei problemi più importanti della DA delle alghe brune è la bassa resa in biometano. L'uso di nanoparticelle (NPs) con una concentrazione adeguata può migliorare il processo grazie alla loro capacità di migliorare le prestazioni della produzione di biogas, abbreviare la fase di latenza e migliorare la stabilità del processo. L'impatto delle NPs a base di maghemite sulla digestione anaerobica della macroalga bruna Sargasso è stato studiato per la prima volta in questo studio. Il test del potenziale biochimico del metano (PBM) è stato utilizzato per studiare i possibili benefici delle Fe_2O_3 -NPs a tre diverse concentrazioni sul processo di DA del Sargasso. L'efficacia delle NPs nel migliorare la produzione di metano è risultato essere dose-dipendente. Coerentemente con studi precedenti su altre biomasse, l'aggiunta di NPs ha influenzato le prestazioni del processo in modo opposto, mostrando un effetto di promozione a basse concentrazioni ($5-10 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) e di inibizione al dosaggio più elevato ($50 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$). I risultati hanno mostrato che la resa di biometano più elevata è stata ottenuta aggiungendo $10 \text{ mg}_{NPs} \cdot \text{g}^{-1}$ con un aumento del 26.97% rispetto al campione di controllo. Le NPs Fe_2O_3 , a basse concentrazioni, hanno migliorato la DA promuovendo il trasferimento diretto di elettroni interspecie (DIET) e un rilascio trascurabile di ioni metallici. Concentrazioni più elevate hanno inibito la DA. Pertanto, questo lavoro getta le basi per una migliore resa di biogas mediante l'aggiunta di Fe_2O_3 -NPs durante il processo di DA delle alghe brune

Conclusione generale

Il Sargasso ha causato un massiccio accumulo costiero nella Repubblica Dominicana, con un forte impatto sull'ambiente, sugli ecosistemi, sulla salute e sull'economia locale.

L'iniziativa intrapresa da Smart City Instruments dell'Università della Calabria e l'Universidad Federico y Carvajal (UFHEC) di Santo Domingo per affrontare il problema dell'accumulo costiero causato dal Sargasso nella Repubblica Dominicana è lodevole e di grande importanza. La collaborazione tra un'organizzazione specializzata in tecnologie smart per le città e un istituto accademico come UFHEC evidenzia l'approccio interdisciplinare necessario per affrontare le sfide ambientali complesse. Tale collaborazione ha trovato concretizzazione nel suddetto dottorato di ricerca durante il quale è stata portata avanti tutta la sperimentazione.

L'obiettivo di identificare un metodo di valorizzazione del Sargasso per la produzione di biometano è strategicamente importante, poiché può offrire una soluzione sostenibile al problema dell'accumulo costiero e al contempo contribuire alla produzione di energia rinnovabile.

Una volta identificato il metodo ottimale, la condivisione di questa metodologia con i governi locali per l'avvio di un impianto pilota di Digestione Anaerobica per la produzione di biometano è un passo significativo verso l'attuazione pratica della soluzione proposta. La partecipazione dei governi locali è essenziale per garantire il successo a lungo termine e l'integrazione della soluzione nella gestione sostenibile dell'accumulo costiero.

Inoltre, l'impatto positivo di questo progetto potrebbe estendersi oltre la gestione del Sargasso, contribuendo alla transizione verso fonti di energia più pulite e sostenibili nella regione. La collaborazione tra settori pubblici e privati, unita alla ricerca accademica, può servire da modello per affrontare altre sfide ambientali complesse in diverse comunità.

Il presente studio si è proposto, in primo luogo, di esaminare in dettaglio la complessa situazione del Sargasso nella Repubblica Dominicana, concentrandosi su quattro aspetti fondamentali: il monitoraggio dell'accumulo di alghe, i metodi di raccolta impiegati, le criticità affrontate dalle comunità e dalle autorità locali, e le potenziali opportunità che potrebbero emergere da questa problematica.

Oltre alle sfide e alle criticità affrontate dall'accumulo di Sargasso, emergono anche significative opportunità per la sua valorizzazione. Tra queste, spicca la possibilità di utilizzare il Sargasso per la produzione di bioenergia, in particolare di biogas e biometano attraverso il processo di digestione anaerobica (DA).

Dopo aver delineato l'obiettivo di produrre biometano dal Sargasso, è stata avviata un'attività sperimentale per valutare la fattibilità e l'efficacia di questo processo.

Lo studio iniziale sulla caratterizzazione del Sargasso è stato di fondamentale importanza. La comprensione della composizione chimico-fisica e della morfologia del Sargasso è cruciale per sviluppare un processo di digestione anaerobica efficace. Il Sargasso è caratterizzato dalla presenza di un alto contenuto di ceneri, un basso rapporto C/N, alto contenuto di lignina e la sua superficie è caratterizzata dalla presenza dell'esoscheletro delle Bryozoe (phylum di animali marini invertebrati), e da una doppia parete cellulare.

Anche la dimensione delle particelle influenza il processo di DA, per questo è stato condotto uno studio mirato. Lo studio sull'effetto della dimensione delle particelle nella digestione anaerobica del Sargasso è estremamente interessante e fornisce informazioni cruciali per sviluppare un processo efficiente di valorizzazione della biomassa. L'uso di tre diversi metodi di pretrattamento meccanico per ottenere particelle di dimensioni diverse (S.1 - 50000 μm , S.2 - 505 μm , S.3 - 107 μm) è una strategia chiave per comprendere come la dimensione delle particelle influenzi il processo di digestione anaerobica. La superficie-volume medio, dSV, diminuisce drasticamente con la diminuzione delle dimensioni delle particelle.

L'osservazione che il campione macinato (S.3) mostra una resa in biometano inferiore rispetto al campione frantumato (S.2) è interessante. L'effetto della dimensione delle particelle sulla resa in biometano può essere correlato al fenomeno di agglomerazione causato da particelle più fini, il che può avere impatti negativi sulla cinetica della digestione anaerobica. Ciò spiega la riduzione della resa in biometano del campione macinato ($65.08 \pm 2.18 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{SV}}$) rispetto al campione frantumato ($79.68 \pm 2.77 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{SV}}$) che ha una dimensione delle particelle più elevata.

L'analisi energetica per stimare la riduzione ottimale delle dimensioni delle particelle, bilanciando la produzione di metano con la richiesta di energia durante il pretrattamento meccanico, è un approccio pragmatico. Questo tipo di analisi fornisce una prospettiva

importante per trovare un equilibrio tra l'efficacia del processo e l'efficienza energetica complessiva.

La conclusione è che il pretrattamento meccanico permette di ottenere il giusto compromesso tra dimensione delle particelle e la resa di biometano e consiste nel macinare il campione con il mixer. In tutti gli studi successivi la biomassa di Sargasso è stata macinata con il mixer.

Una volta identificato il metodo di pretrattamento meccanico, è stato condotto uno studio sul campione di Sargasso per valutare l'effetto di diversi tipi di pretrattamenti.

La composizione chimico-fisica del Sargasso, con la presenza di materiali inorganici come il sale, un alto contenuto di calcite, lignina e un basso rapporto C/N, insieme alla struttura cellulare complessa con una doppia parete cellulare, tende ad inibire il processo di digestione anaerobica. I materiali inorganici come il sale possono agire come inibitori, mentre la lignina e la struttura cellulare complessa rendono difficile l'accesso degli agenti di digestione agli zuccheri e ad altri composti utilizzabili.

Per superare queste sfide e migliorare il processo di digestione anaerobica del Sargasso, sono stati applicati diversi pretrattamenti. Il pretrattamento ossidativo è stato utilizzato per ridurre il contenuto di lignina nel Sargasso, rendendo più accessibili gli zuccheri e altri composti organici per la digestione anaerobica. Il lavaggio con acqua a 40°C è stato impiegato per ridurre il contenuto di sale, riducendo così l'effetto inibitorio dei materiali inorganici sul processo. Inoltre, i pretrattamenti con microonde e sonicazione sono stati utilizzati per rompere la doppia parete cellulare del Sargasso, facilitando l'accesso degli agenti di digestione ai composti organici all'interno delle cellule.

Questi pretrattamenti sono fondamentali per migliorare l'efficienza complessiva del processo di digestione anaerobica del Sargasso e aumentare la resa di biometano, consentendo così di sfruttare in modo più efficace questo materiale biodegradabile per la produzione di energia rinnovabile. Il campione composto esclusivamente da Sargasso (C1) è stato considerato il campione di riferimento. Per il campione C1, la resa in biometano è risultata pari a $72.26 \pm 2.96 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$.

Altri quattro campioni di Sargasso sono stati sottoposti a specifici pretrattamenti: C2 è stato trattato con microonde, C3 è stato sonicato, C4 è stato lavato con acqua a 40°C e C5 è stato ossidato. Dall'analisi è emerso che il pretrattamento al microonde ha influenzato

negativamente il processo (-26.06%), mentre il lavaggio con acqua ha consentito di ottenere un aumento della resa di biometano del +20.76%.

Da notare che l'ossidazione del campione ha comportato un notevole aumento della resa, pari al +226.28% ($235.77 \pm 16.67 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$). Questo incremento è attribuibile al fatto che l'ossidazione ha permesso di rimuovere gran parte della lignina, riducendola dal 35.2% nel campione C1 al 4.3% nel campione C5.

In Appendice B sono riportati, per i campioni C2 – C3 – C4 -C5, il bilancio energetico annuo e l'analisi dei costi relativi a un impianto di biogas da 300 kW. In tale analisi non si tiene conto dei costi di gestione dell'impianto e neanche dei profitti non legati alla vendita del biometano. Da sottolineare che la decisione di escludere questi costi e profitti non implica che siano trascurabili o irrilevanti, ma piuttosto che l'analisi si limita a un ambito specifico per semplificare il processo decisionale e fornire risultati chiari e utili. Nel grafico a barre in Figura 56 sono riportati i valori del ritorno economico annuo (€/anno). Risulta subito evidente che il pretrattamento ossidativo consente di ottenere un ricavo nettamente superiore rispetto agli altri tipi di pretrattamento. Tuttavia, bisogna considerare che per il suddetto trattamento c'è un consumo notevole di H_2O_2 e dunque questo studio può aprire la strada per uno studio più approfondito in merito.

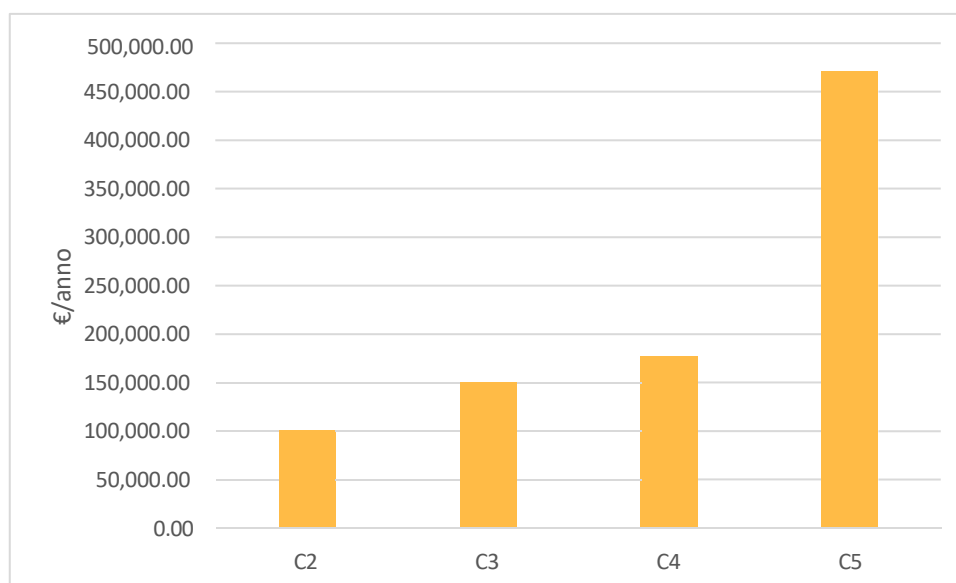


Figura 56. Grafico Grafico a barre del ritorno economico (€/anno) in funzione dei campioni C2 (Sargasso pretrattato al microonde), C3 (Sargasso sonicato), C4 (Sargasso lavato con acqua a 40°C), C5 (Sargasso ossidato).

Al fine di incrementare il rapporto C/N, si è fatto ricorso al processo di co-digestione con la frazione organica dei rifiuti solidi urbani (FORSU). In questo studio, è stato valutato il potenziale biochimico sperimentale del metano (BMP_{sp}) e il potenziale teorico del metano seguendo il modello BMP_{thCOD} sia per il Sargasso da solo che all'interno di una matrice organica con FORSU (Frazione Organica dei Rifiuti Solidi Urbani). I risultati indicano che la produzione di biometano diminuisce all'aumentare della concentrazione di Sargasso, Infatti, i valori di BMP_{sp} sono saliti da $79.68 \pm 2.15 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{sv}$ per il campione di Sargassum spp. a $436.71 \pm 29.33 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{sv}$ per il campione di FORSU. Un confronto tra i valori di BMP_{th} e BMP_{sp} evidenzia una discrepanza significativa per il campione di Sargasso (S10) rispetto alla resa teorica. Al contrario, per il campione di FORSU (S1) si osserva il contrario. Questo suggerisce che il processo di biodegradazione della matrice algale sia complesso. L'aggiunta di FORSU al campione di Sargassum spp. riduce la discrepanza tra BMP_{th} e BMP_{sp} . La combinazione ottimale che consente di ottenere volumi elevati e rese di biometano utilizzando grandi frazioni di Sargasso è stata individuata nella proporzione sargasso-FORSU 50:50. Tale combinazione ha prodotto un volume cumulativo di biometano pari a $264.83 \pm 16.36 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{sv}$, valore dieci volte superiore a quello ottenuto dalla mono-digestione del Sargasso.

In aggiunta ai metodi tradizionali per aumentare la resa del processo di digestione anaerobica (DA), è stato condotto uno studio sugli effetti delle nanoparticelle di Fe_2O_3 sul processo. Lo studio ha coinvolto quattro campioni: il campione S composto solo da Sargasso, il campione S_{+5} con l'aggiunta di 5 mg di nanoparticelle per 1 g di Sargasso, il campione S_{+10} con l'aggiunta di 10 mg di nanoparticelle per 1 g di Sargasso, e il campione S_{+50} con l'aggiunta di 50 mg di nanoparticelle per 1 g di Sargasso. Coerentemente con studi precedenti su altre biomasse, l'aggiunta di nanoparticelle ha influenzato le prestazioni del processo in modo opposto, mostrando un effetto di promozione a basse concentrazioni (5-10 mg/g_{sv}) e di inibizione al dosaggio più alto (50 mg/g_{sv}). I risultati hanno mostrato che la resa di biometano più elevata è stata ottenuta aggiungendo 10 mg di nanoparticelle per grammo di materia secca, con un aumento del 26.97% rispetto al campione di controllo.

Le nanoparticelle di Fe_2O_3 , a basse concentrazioni, hanno migliorato la digestione anaerobica promuovendo il trasferimento diretto di elettroni interspecie (DIET) e un rilascio trascurabile di ioni metallici. Concentrazioni più elevate hanno invece inibito il processo di digestione anaerobica. Pertanto, questo lavoro getta le basi per una migliore resa di biogas mediante l'aggiunta di nanoparticelle di Fe_2O_3 nella digestione anaerobica delle alghe brune.

In conclusione, l'analisi dei pretrattamenti ha dimostrato che il pretrattamento ossidativo (campione C5) porta alla massima resa in biometano. D'altra parte, l'analisi della co-digestione ha indicato che la maggiore resa si verifica con il campione S9. Questi risultati sottolineano l'importanza di considerare attentamente le strategie di pretrattamento e la selezione dei substrati nella produzione di biometano, al fine di massimizzare l'efficienza e l'output desiderato. Tra i diversi campioni testati, la migliore resa si ottiene utilizzando il mixer composto per il 90% da FORSU e il 10% da Sargasso. Tuttavia, poiché l'obiettivo primario è lo smaltimento del Sargasso, la configurazione più vantaggiosa è quella del mixer con il 50% della FORSU e il 50% di Sargasso. Tale combinazione ha fornito un PBM pari a $264.83 \pm 16.36 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$, mentre il campione costituito da solo Sargasso ha fornito un PBM pari a $34.53 \pm 2.15 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$.

Dunque, la resa maggiore in termini di pretrattamenti è stata ottenuta per il campione ossidato (C5) mentre dallo studio di co-digestione la configurazione più vantaggiosa risulta essere quella del mixer con il 50% della FORSU e il 50% di Sargasso. In Appendice B è riportata l'analisi energetica e dei costi dei campioni C5 ed S6. Nel diagramma a barre, Figura 57, viene riportato il confronto del ritorno economico. Il campione S6 ha una resa in biometano ($264.83 \pm 16.36 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$) superiore rispetto al campione C5 ($235.77 \pm 16.67 \text{ NmL} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sv}}$).

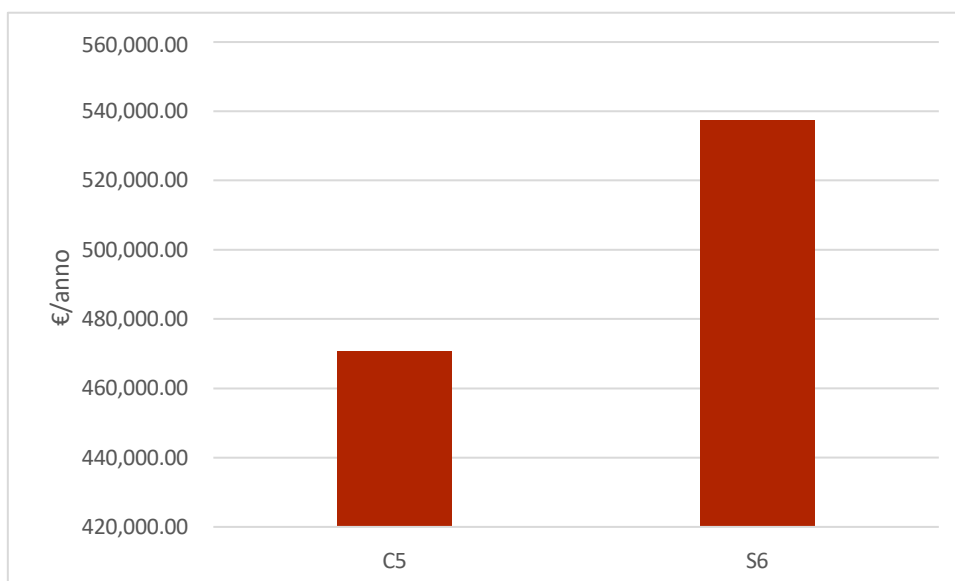


Figura 57. Grafico a barre del ritorno economico (€/anno) in funzione dei campioni C5 (Sargasso ossidato) ed S6 (50% Sargasso + 50% FORSU)

Considerando che il pretrattamento ossidativo richiede anche un consumo energetico maggiore rispetto alla sola macinazione dei campioni di Sargasso e FORSU, il ritorno economico del campione costituito dal mixer 50% della FORSU e 50% di Sargasso (S6) è superiore rispetto al campione ossidato (C5). Tenendo conto anche degli impatti ambientali del pretrattamento ossidativo, per lo scale-up la scelta ricade sul mixer 50% della FORSU e il 50% di Sargasso.

Questo tipo di analisi è fondamentale per il processo di scale-up, poiché fornisce informazioni cruciali sulla scelta dei migliori materiali e delle migliori configurazioni per ottimizzare il rendimento del processo e raggiungere gli obiettivi desiderati.

Appendice A

L'analisi statistica riportata in questa appendice è stata elaborata mediante il software Minitab18.

A.1 Analisi statistica dei modelli cinetici in riferimento al Capitolo 6

L'analisi statistica ANOVA dei valori di A (volume di biometano), riportata nella Tabella A1 mostra che il $P\text{-Value} > \alpha$ e dunque si accetta l'ipotesi nulla. Questo vuol dire che statisticamente i valori di A non mostrano differenze significative.

Tabella A1. Analisi statistica ANOVA dei valori di A (volume di biometano).

Method

Null hypothesis	All means are equal
Alternative hypothesis	Not all means are equal
Significance level	$\alpha = 0.05$
Rows unused	21

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor	Levels	Values
Factor	3	Asperimentale; Ap.o.; AG.m.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	2	14064	7032	2.80	0.092
Error	15	37610	2507		
Total	17	51674			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
50.0733	27.22%	17.51%	0.00%

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
Asperimentale	6	54.0	29.2	(10.4; 97.5)
Ap.o.	6	115.6	74.9	(72.0; 159.1)
AG.m.	6	58.9	32.4	(15.3; 102.4)

Pooled StDev = 50.0733

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Ap.o.	6	115.6	A
AG.m.	6	58.9	A
Asperimentale	6	54.0	A

Means that do not share a letter are significantly different.

In Figura A1 è riportato l'Interval Plot dei valori di A (volume di biometano).

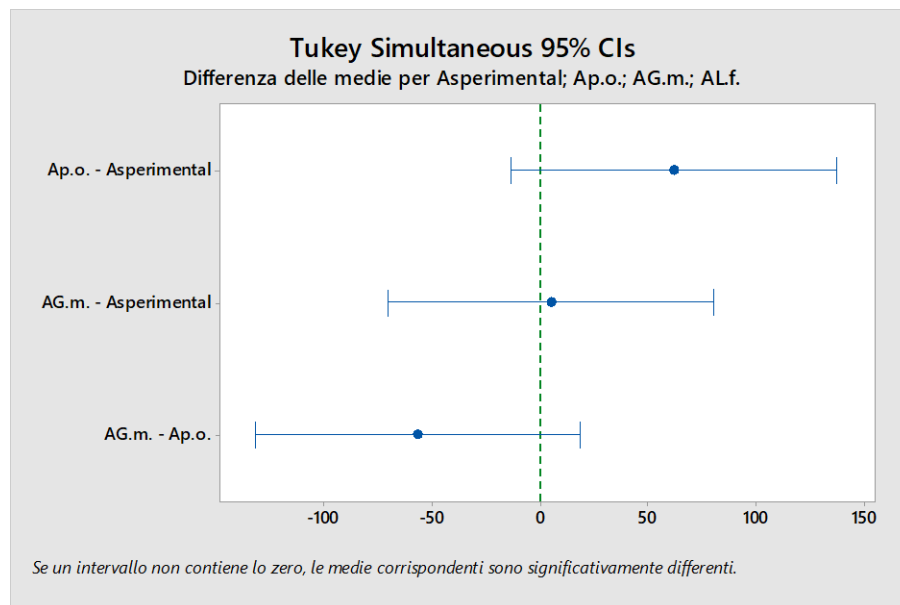


Figura A1. Interval Plot dei valori A (volume di biometano).

Inoltre, i gruppi sono stati comparati utilizzando il metodo Tukey (Figura A2), con un livello di confidenza del 95%. I risultati mostrano che non ci sono differenze significative tra le medie dei gruppi.

Figura A2. Tukey Test dei valori A (volume di biometano).

L'analisi statistica ANOVA dei valori di u (portata di biometano), riportata in Tabella A2, mostra che il $P\text{-Value} < \alpha$ e dunque non si accetta l'ipotesi nulla. Questo vuol dire che statisticamente i valori di u mostrano differenze significative.

Tabella A2. Analisi statistica ANOVA dei valori di u (portata di biometano).

Method

Null hypothesis	All means are equal
Alternative hypothesis	Not all means are equal
Significance level	$\alpha = 0.05$
Rows unused	24

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor	Levels	Values
Factor	3	usperimentale; uG.m.; uL.f.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	2	127.03	63.514	24.45	0.000
Error	12	31.17	2.598		
Total	14	158.20			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
---	------	-----------	------------

1.61168	80.30%	77.01%	62.04%
---------	--------	--------	--------

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
usperimentale	6	2.028	0.967	(0.595; 3.462)
uG.m.	6	3.256	1.246	(1.822; 4.689)
uL.f.	3	9.79	3.06	(7.76; 11.81)

Pooled StDev = 1.61168

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
uL.f.	3	9.79	A
uG.m.	6	3.256	B
usperimentale	6	2.028	B

Means that do not share a letter are significantly different.

In Figura A3 è riportato l'Interval Plot dei valori di u (portata di biometano).

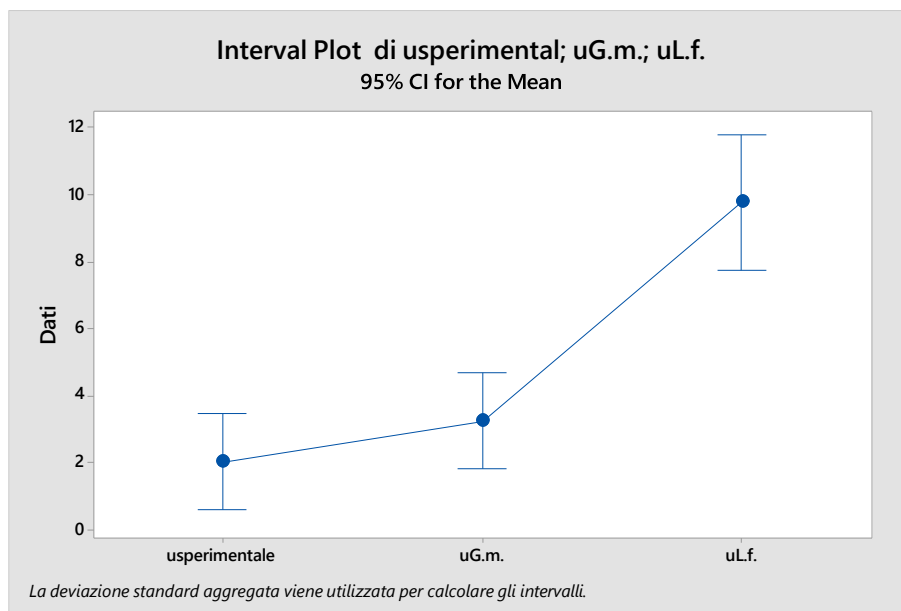


Figura A3. Interval Plot dei valori u (portata di biometano).

Inoltre, i gruppi sono stati comparati utilizzando il metodo Tukey (Figura A4), con un livello di confidenza del 95%. I risultati mostrano che ci sono differenze significative tra le medie dei gruppi.

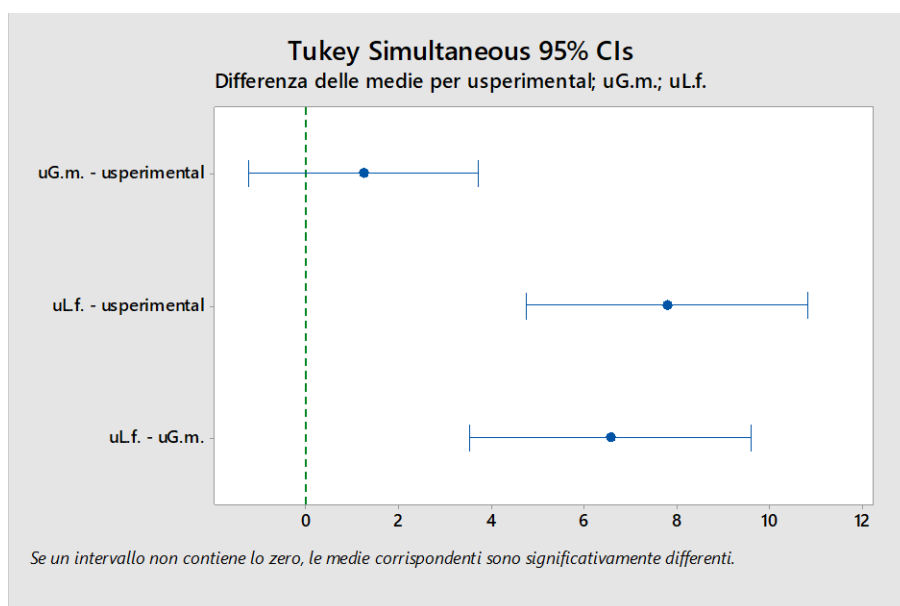


Figura A4. Tukey Test dei valori u (portata di biometano).

A.2 Analisi statistica dei modelli cinetici in riferimento al Capitolo 7

L'analisi statistica ANOVA dei valori di A (volume di biometano), riportata nella Tabella A3 mostra che il $P\text{-Value} > \alpha$ e dunque si accetta l'ipotesi nulla. Questo vuol dire che statisticamente i valori di A non mostrano differenze significative.

Tabella A3. Analisi statistica ANOVA dei valori di A (volume di biometano)

Method

Null hypothesis	All means are equal
Alternative hypothesis	Not all means are equal
Significance level	$\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	3	1433	477.6	0.10	0.960
Error	16	77488	4843.0		
Total	19	78921			

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
Asperimentale	5	105.0	74.1	(39.0; 170.9)

Ap.o.	5	122.5	65.6	(56.5; 188.5)
AG.m.	5	103.8	69.2	(37.8; 169.7)
AL.f.	5	100.9	69.1	(35.0; 166.9)

Pooled StDev = 69.5917

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Ap.o.	5	122.5	A
Asperimentale	5	105.0	A
AG.m.	5	103.8	A
AL.f.	5	100.9	A

Means that do not share a letter are significantly different.

In Figura A5 è riportato l'Interval Plot dei valori di A (volume di biometano).

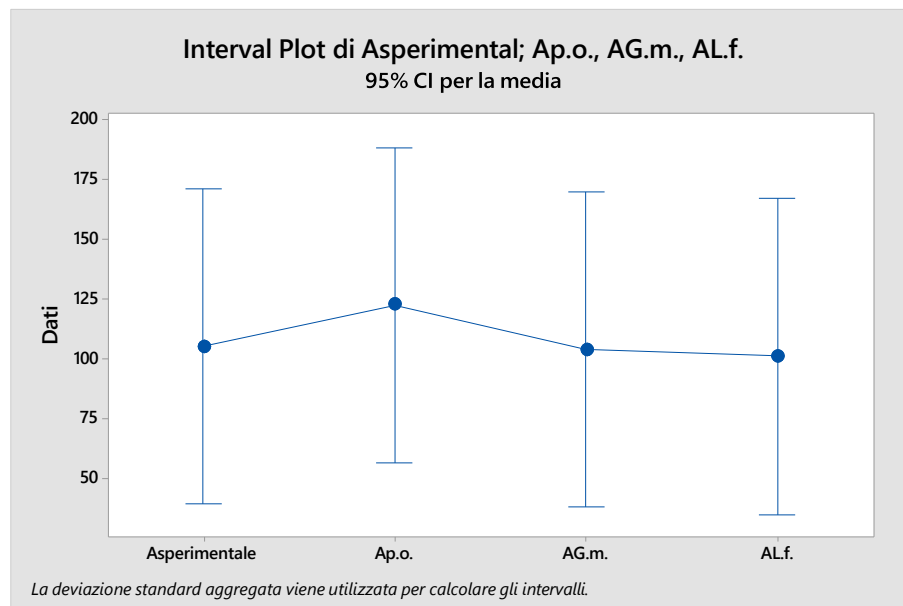


Figura A5. Interval Plot dei valori A (volume di biometano).

Inoltre, i gruppi sono stati comparati utilizzando il metodo Tukey (Figura A6), con un livello di confidenza del 95%. I risultati mostrano che non ci sono differenze significative tra le medie dei gruppi.

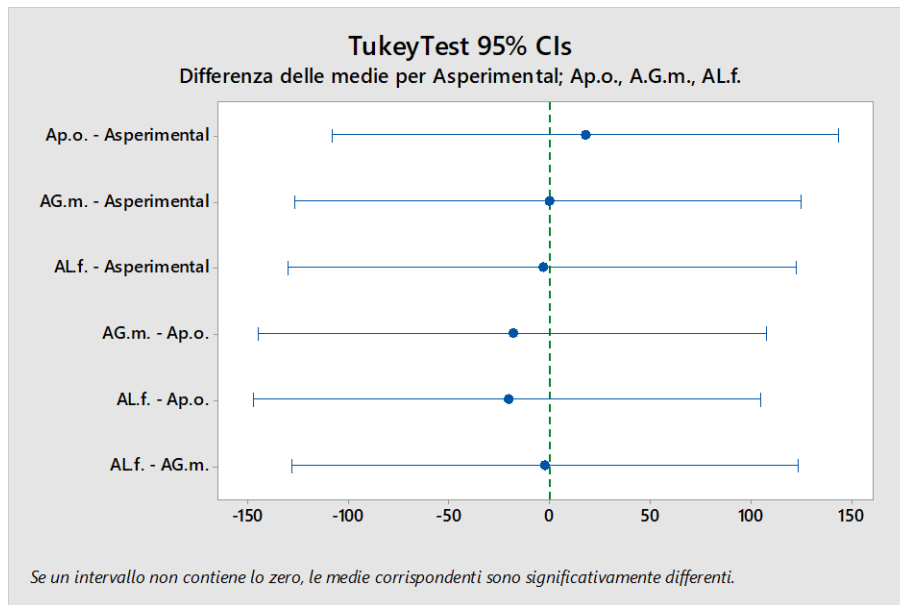


Figura A6. Tukey Test dei valori A (volume di biometano).

L'analisi statistica ANOVA dei valori di u (portata di biometano), riportata in Tabella A4, mostra che il $P\text{-Value} < \alpha$ e dunque non si accetta l'ipotesi nulla. Questo vuol dire che statisticamente i valori di u mostrano differenze significative.

Tabella A4. Analisi statistica ANOVA dei valori di u (portata di biometano).

Method

Null hypothesis	All means are equal
Alternative hypothesis	Not all means are equal
Significance level	$\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor	Levels	Values
Factor	3	usperimentale; uG.m.; uL.f.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	2	69.46	34.729	4.39	0.037
Error	12	95.00	7.917		

Total	14	164.46			
--------------	----	--------	--	--	--

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
2.81369	42.23%	32.61%	9.74%

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
usperimentale	5	3.55	2.46	(0.81; 6.29)
uG.m.	5	5.57	3.13	(2.83; 8.31)
uL.f.	5	8.78	2.82	(6.04; 11.52)

Pooled StDev = 2.81369

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping	
uL.f.	5	8.78	A	
uG.m.	5	5.57	A	B
usperimentale	5	3.55		B

Means that do not share a letter are significantly different.

In Figura A7 è riportato l'Interval Plot dei valori di u (portata di biometano).

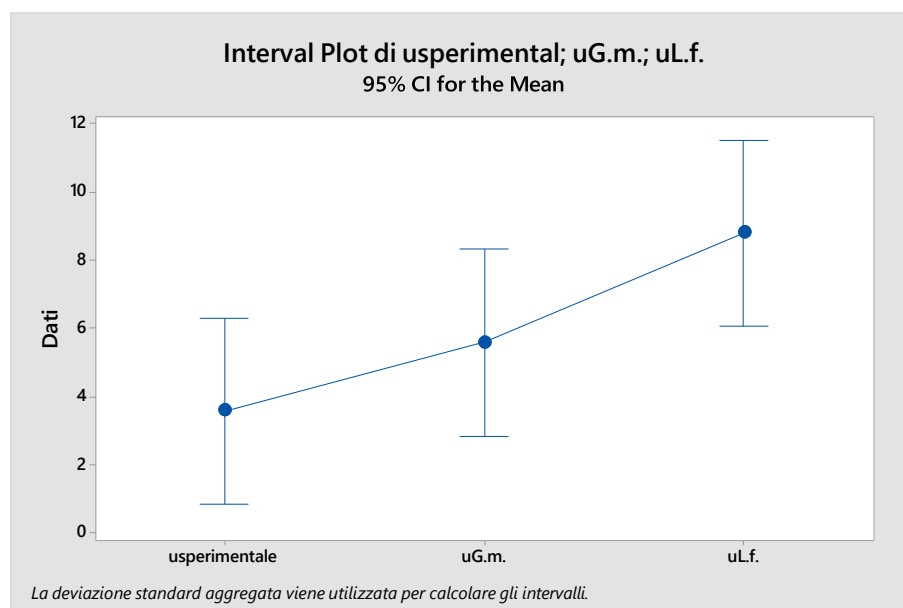


Figura A7. Interval Plot dei valori u (portata di biometano).

Inoltre, i gruppi sono stati comparati utilizzando il metodo Tukey (Figura A8), con un livello di confidenza del 95%. I risultati mostrano che ci sono differenze significative tra le medie dei gruppi.

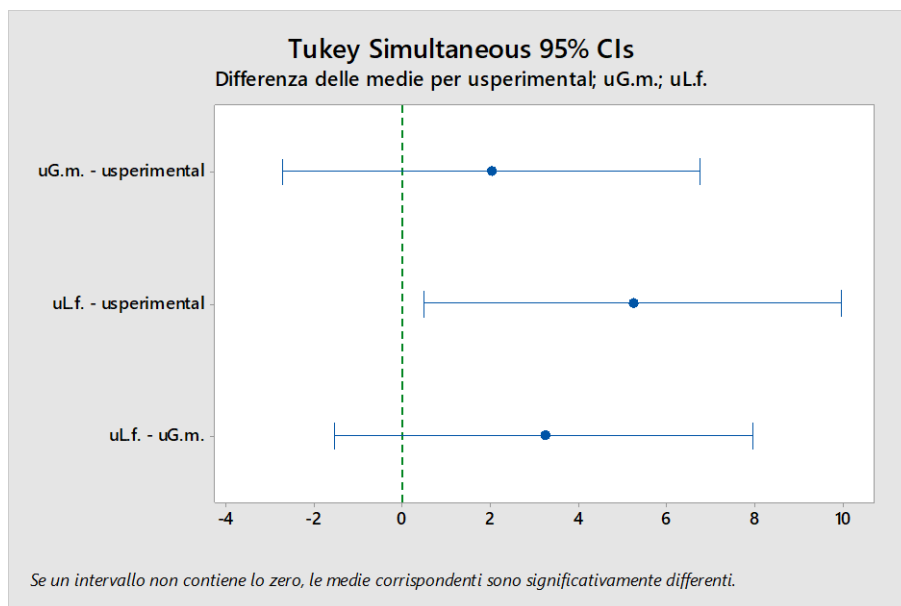


Figura A8. Tukey Test dei valori u (portata di biometano).

A.3 Analisi statistica dei modelli cinetici in riferimento al Capitolo 8

L'analisi statistica ANOVA dei valori di A (volume di biometano), riportata nella Tabella A5 mostra che il $P\text{-Value} > \alpha$ e dunque si accetta l'ipotesi nulla. Questo vuol dire che statisticamente i valori di A non mostrano differenze significative.

Tabella A5. Analisi statistica ANOVA dei valori di A (volume di biometano).

Method

Null hypothesis	All means are equal
Alternative hypothesis	Not all means are equal
Significance level	$\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor	Levels	Values
--------	--------	--------

Factor	3	Asperimentale; Ap.o.; AG.m.
---------------	---	-----------------------------

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	2	21971	10985	0.41	0.665
Error	27	715256	26491		
Total	29	737227			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
162.760	2.98%	0.00%	0.00%

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
Asperimentale	10	265.2	129.6	(159.6; 370.8)
Ap.o.	10	329.1	191.0	(223.5; 434.7)
AG.m.	10	282.0	161.9	(176.4; 387.6)

Pooled StDev = 162.760

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Ap.o.	10	329.1	A
AG.m.	10	282.0	A
Asperimentale	10	265.2	A

Means that do not share a letter are significantly different.

In Figura A9 è riportato l'Interval Plot dei valori di u (portata di biometano).

Figura A9. Individual Plot dei valori A (volume di biometano).

Inoltre, i gruppi sono stati comparati utilizzando il metodo Tukey (Figura A10), con un livello di confidenza del 95%. I risultati mostrano che non ci sono differenze significative tra le medie dei gruppi.

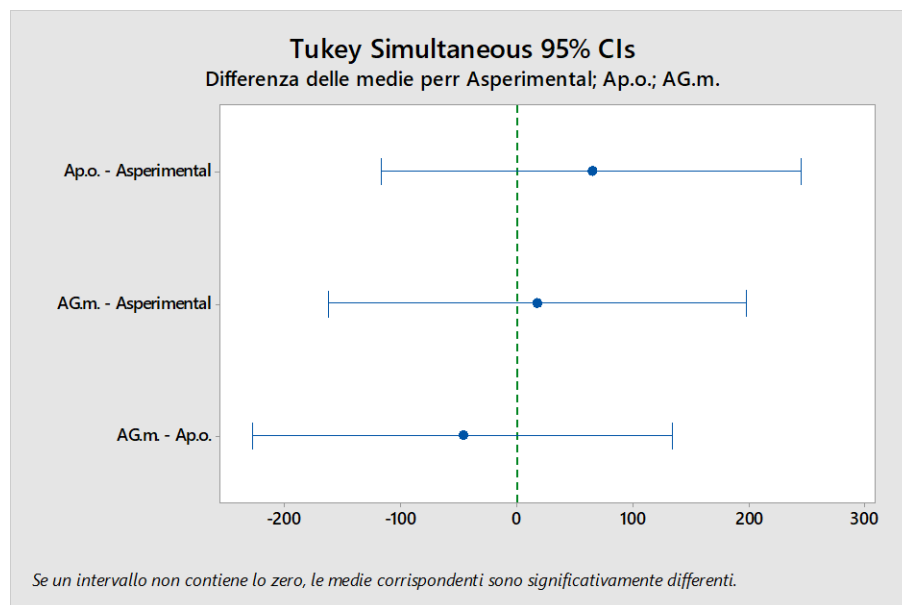


Figura A10. Tukey Test dei valori A (volume di biometano).

A.4 Analisi statistica dei modelli cinetici in riferimento al Capitolo 9

L'analisi statistica ANOVA dei valori di A (volume di biometano), riportata nella Tabella A6 mostra che il $P\text{-Value} > \alpha$ e dunque si accetta l'ipotesi nulla. Questo vuol dire che statisticamente i valori di A non mostrano differenze significative.

Tabella A6. Analisi statistica ANOVA dei valori di A (volume di biometano).

Method

Null hypothesis	All means are equal
Alternative hypothesis	Not all means are equal
Significance level	$\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor	Levels	Values
Factor	4	Asperimentale; Ap.o.; AG.m.; AL.f.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	3	8812	2937	1.95	0.175
Error	12	18074	1506		
Total	15	26886			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
38.8095	32.77%	15.97%	0.00%

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
Asperimentale	4	82.7	24.5	(40.4; 125.0)
Ap.o.	4	138.2	63.3	(95.9; 180.5)
AG.m.	4	87.5	28.2	(45.2; 129.8)
AL.f.	4	82.4	25.0	(40.2; 124.7)

Pooled StDev = 38.8095

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Ap.o.	4	138.2	A
AG.m.	4	87.5	A
Asperimentale	4	82.7	A
AL.f.	4	82.4	A

Means that do not share a letter are significantly different.

In Figura A11 è riportato l'Interval Plot dei valori di A (volume di biometano).

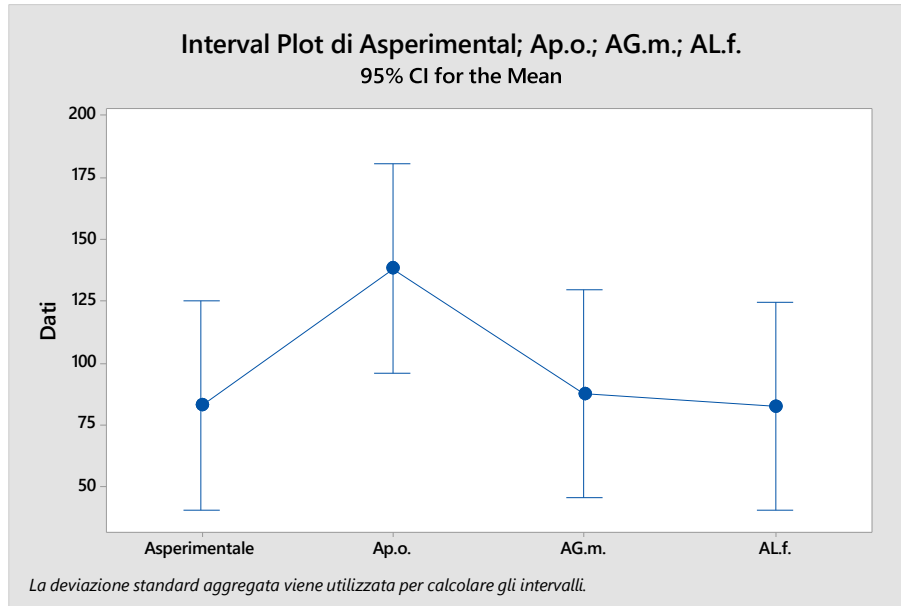


Figura A11. Individual Plot dei valori A (volume di biometano).

Inoltre, i gruppi sono stati comparati utilizzando il metodo Tukey (Figura A12), con un livello di confidenza del 95%. I risultati mostrano che non ci sono differenze significative tra le medie dei gruppi.

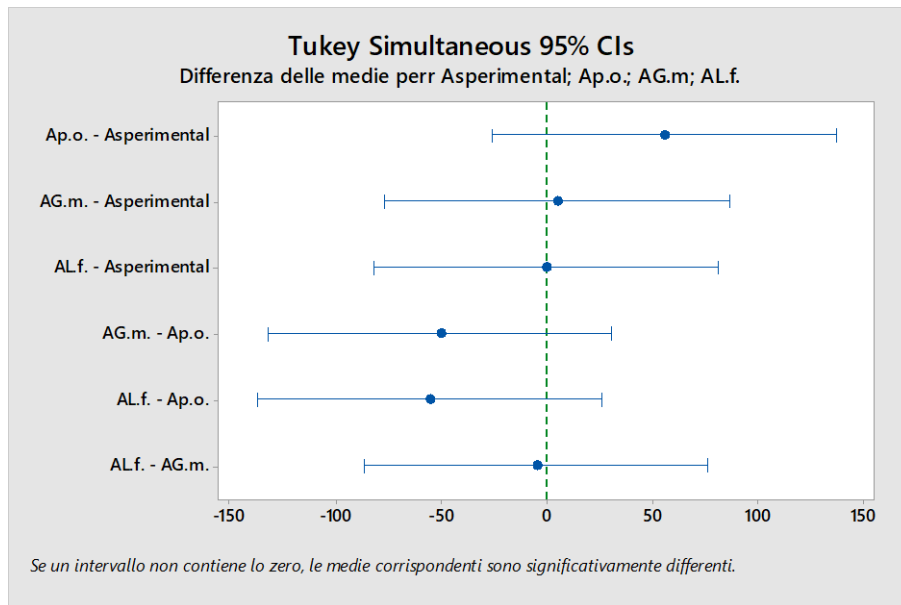


Figura A12. Tukey test dei valori A (volume di biometano).

L'analisi statistica ANOVA dei valori di u (portata di biometano), riportata in Tabella A7, mostra che il $P\text{-Value} < \alpha$ e dunque non si accetta l'ipotesi nulla. Questo vuol dire che statisticamente i valori di u mostrano differenze significative.

Tabella A7. Analisi statistica ANOVA dei valori di u (portata di biometano).

Method

Null hypothesis	All means are equal
Alternative hypothesis	Not all means are equal
Significance level	$\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor	Levels	Values
Factor	3	usperimentale; uG.m.; uL.f.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	2	109.34	54.668	25.82	0.000
Error	9	19.06	2.118		
Total	11	128.39			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
---	------	-----------	------------

1.45519	85.16%	81.86%	73.61%
---------	--------	--------	--------

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
usperimentale	4	3.035	0.860	(1.389; 4.681)
uG.m.	4	5.018	0.718	(3.372; 6.663)
uL.f.	4	10.20	2.26	(8.55; 11.84)

Pooled StDev = 1.45519

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
uL.f.	4	10.20	A
uG.m.	4	5.018	B
usperimentale	4	3.035	B

Means that do not share a letter are significantly different.

In Figura A13 è riportato l'Interval Plot dei valori di u (portata di biometano).

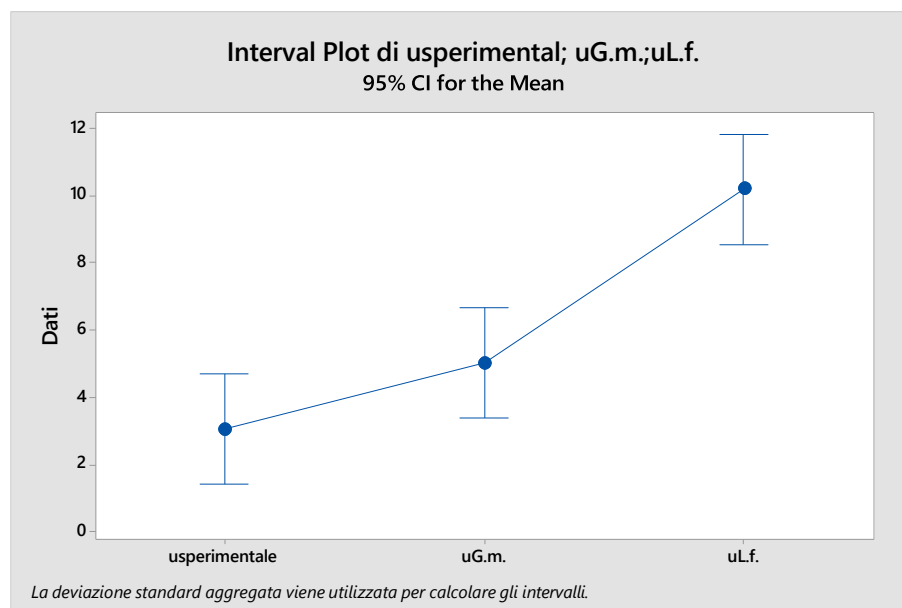


Figura A13. Interval Plot dei valori u (portata di biometano).

Inoltre, i gruppi sono stati comparati utilizzando il metodo Tukey (Figura A14), con un livello di confidenza del 95%. I risultati mostrano che ci sono differenze significative tra le medie dei gruppi.

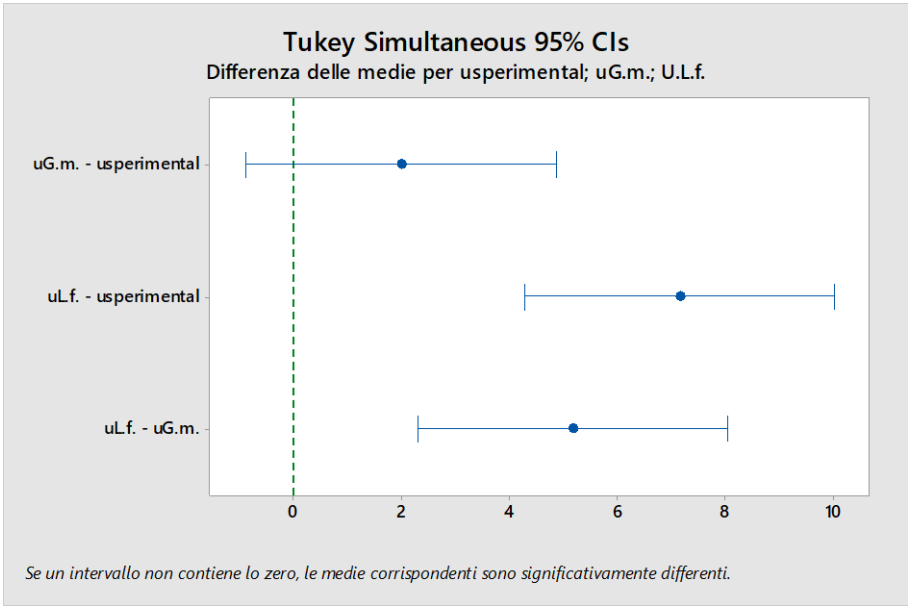


Figura A14. Tukey Test dei valori u (portata di biometano).

APPENDICE B

Nell'appendice sono riportati il bilancio energetico annuo e un'analisi dei costi relativi a un impianto di biogas da 300 kW. Questo impianto è progettato per smaltire 13.000 tonnellate di materiale organico macinato ogni anno. Tutti i campioni presi in esame sono stati macinati e nel paragrafo 6.2.5 è riportato il consumo energetico necessario per ridurre una tonnellata di Sargasso, (1.4 kWh), dunque per ridurre 13,000 tonnellate sono necessari 18.2 MWh/anno.

Inoltre, i dati sperimentali ottenuti indicano il valore del potenziale biochimico del metano (PBM) ma nel calcolo dell'energia prodotta sarà aggiunto un 35% perché l'impianto di biogas non produce solo biometano ma per l'appunto biogas.

Per quanto riguarda l'analisi dei costi, bisognerebbe considerare diversi fattori come il costo di costruzione e installazione dell'impianto, il costo di manutenzione, il costo del materiale organico, il costo dello smaltimento dei residui e il costo del personale. In questo studio è solo fornito il calcolo economico relativo ai m³ di biometano prodotti in un anno, senza tenere conto dei costi sopra citati.

APPENDICE B1. Analisi energetica campione C2

Il campione C2 è costituito da Sargasso macinato utilizzando il mixer Philips (Milano, Italia) (950 W) per 1 minuto alla massima velocità e poi sottoposto a pretrattamento a microonde.

Un microonde industriale, modello Gastrodomus da 44L, è in grado di pretrattare 4 kg di materiale organico macinato. Tale microonde ha una potenza di 5 kW.

Dunque l'energia richiesta per il trattamento, calcolata con l'Equazione 20, di una tonnellata di Sargasso è pari a 41.5 kWh. A questo consumo va sommato il consumo energetico per la macinazione del campione che corrisponde a 1.4 kWh per tonnellata di campione. Se si considerano 13,000 tonnellate di Sargasso il consumo energetico è pari 557.70 MWh/anno.

I risultati sperimentali, riportati in Tabella 12, indicano che per il campione C2 il PBM è pari a 53.42 Nmlg⁻¹_{SV}. Dunque, l'energia prodotta dal campione C2, calcolata mediante l'Equazione 21, è pari a 591.35 kWh, per una tonnellata di Sargasso. Se si considera l'impianto da 300kW che smaltisce 13.000 ton di Sargasso all'anno, allora la produzione è di 7,687.55 MWh/anno.

Inoltre, da considerare che l'impianto di biogas non produce solo metano. Se si considera tutto il biogas la produzione aumenta del +35%, quindi consideriamo una produzione di 10,378.19 MWh/anno. Tenendo conto dei dati forniti d IRCI-impianti ed energia, un impianto di 300kW consuma circa l'11% rispetto all'energia prodotta. ù

Dunque, l'energia netta è pari a 8,678.89. MWh/anno. Di questi si considera che 509,524.52 m³ sono di biometano. Il prezzo attuale di vendita è di 0.2€/m³, con un ritorno economico di 101,904.90 €/anno.

APPENDICE B2. Analisi energetica campione C3

Il campione C3 è costituito da Sargasso macinato utilizzando il mixer Philips (Milano, Italia) (950 W) per 1 minuto alla massima velocità e poi sottoposto a pretrattamento ad ultrasuoni.

Un sonicatore industriale, modello Ultrasonic vibrating screen (XianFeng) è in grado di sonicatore 1200 kg/h di materiale organico macinato. Tale sonicatore ha una potenza di 2000 W.

Dunque l'energia richiesta per il trattamento, calcolata con l'Equazione 20, di una tonnellata di Sargasso è pari a 1.66 kWh. A questo consumo va sommato il consumo energetico per la macinazione del campione che corrisponde a 1.4 kWh per tonnellata di campione. Se si considerano 13,000 tonnellate di Sargasso il consumo energetico è pari 39.78 MWh/anno.

I risultati sperimentali, riportati in Tabella 12, indicano che per il campione C3 il PBM è pari a 76.07 Nmlg⁻¹sv. Dunque, l'energia prodotta dal campione C3, calcolata mediante l'Equazione 21, è pari a 842.09 kWh, per una tonnellata di Sargasso. Se si considera l'impianto da 300kW che smaltisce 13.000 ton di Sargasso all'anno, allora la produzione è di 10,947.17 MWh/anno, quindi se si aggiunge il 35% la produzione totale sarà di 14,778.18 MWh/anno.

Tenendo conto dei consumi energetici, l'energia netta è pari a 13,112.80 MWh/anno. Di questi si considera che 769.94 m³ sono di biometano. Il prezzo attuale di vendita è di 0.2€/m³, con un ritorno economico di 153,989.52 €/anno.

APPENDICE B3. Analisi energetica campione C4

Per calcolare l'energia necessaria per riscaldare 1000 litri di acqua è stata utilizzata l'Equazione B1.

$$Q = m * C * \Delta t \quad (B1)$$

dove Q è l'energia (in joule o in calorie), m è la massa dell'acqua (in grammi o in chilogrammi), c è la capacità termica specifica dell'acqua (circa 4.18 J/g°C o 4.18 kJ/kg°C), ΔT è la variazione di temperatura (in °C). Se $\Delta T=20^\circ\text{C}$, per scaldare 1000 litri di acqua sono necessari circa 83,600 kJ di energia.

1 kWh equivale a $3,6 \times 10^6$ J (joule), quindi, sono necessari circa 0.0232 kWh di energia per riscaldare 1000 litri di acqua da 20°C a 40°C.

Per lavare una tonnellata di Sargasso il consumo è pari a 0.116 kWh. A questo consumo va sommato il consumo energetico per la macinazione del campione che corrisponde a 1.4 kWh per tonnellata di campione. Dunque, l'energia consumata per il pretrattamento di 13,000 tonnellate è 19.71 MWh/anno. L'energia annua prodotta è di 12,557.58 MWh/anno, a questi va aggiunto il 35% e si ottiene 16,954.73 MWh/anno. Se si considera che l'impianto consuma circa l'11% dell'energia necessaria, allora l'energia netta è 15,071.00 MWh/anno. Otteniamo allora 884, 92.77 m³ di biometano. Il prezzo attuale di vendita è di 0.2€/m³, con un ritorno economico di 176, 98.55 €/anno

APPENDICE B4. Analisi energetica campione C5

Consideriamo il pretrattamento ossidativo su larga scala. Se si considera un agitatore di capacità 1000L e potenza 0.75 kW. In tale contenitore inseriamo 150 kg di Sargasso e 450 L di acqua ossigenata (3%). Quindi per pretrattare una tonnellata di Sargasso l'energia consumata è di 54 kWh. a questo consumo va sommato il consumo energetico per la macinazione del campione che corrisponde a 1.4kWh per tonnellata di campione. Per 13,000 tonnellate l'energia richiesta è di 720.2 MWh.

Con 13,000 tonnellate si producono 33,948.6317 MWh a cui aggiungere il 35%, quindi 45,830.70 MWh. Se si considera che l'impianto consuma circa l'11%, allora l'energia netta è 40,069.12MWh/anno. Otteniamo allora 2,352.74 m³ di biometano. Il prezzo attuale di vendita è di 0.2€/m³, con un ritorno economico di 470,54.97 €/anno

APPENDICE B5. Analisi energetica campione S6

Il campione S6 è composto dal 50% di Sargasso e dal 50% di FORSU. Il consumo energetico necessario per ridurre una tonnellata di Sargasso, (1.4 kWh), dunque per ridurre 13,000 tonnellate sono necessari 18.20 MWh/anno. Il campione di FORSU è stato ottenuto dalla raccolta porta a porta dei rifiuti solidi urbani ed è stato anch'esso sottoposto allo stesso pretrattamento meccanico del Sargasso. Dunque, per ridurre 13,000 tonnellate di FORSU sono necessari 18.20 MWh/anno.

Tenendo conto che il campione S6 è composto dal 50% di FORSU e dal 50% di Sargasso, l'energia totale consumata per il pretrattamento meccanico è pari a 18.20 MWh/anno.

I risultati sperimentali, riportati in Tabella 18, indicano che per il campione S6 il PBM è pari a $264.83 \text{ Nmlg}^{-1}_{sv}$. Dunque, l'energia prodotta dal campione S6, calcolata mediante l'Equazione 21, è pari a 2,931.66 kWh, per una tonnellata di Sargasso e FORSU (50:50). Se si considera l'impianto da 300kW che smaltisce 13.000 ton di biomassa all'anno, allora la produzione è di 38,111.68 MWh/anno, quindi se si aggiunge il 35% la produzione totale sarà di 51,450.77 MWh/anno.

Tenendo conto dei consumi energetici, l'energia netta è pari a 45,772.98 MWh/anno. Di questi si considera che 2,687.66 m³ sono di biometano. Il prezzo attuale di vendita è di 0.2€/m³, con un ritorno economico di 537,53.27 €/anno.

Ringraziamenti

Desidero esprimere la mia profonda gratitudine al Corso di Dottorato in Scienze e Tecnologie della Vita per avermi concesso l'opportunità di intraprendere il percorso di Dottorato.

Un sentito ringraziamento va al mio Tutor, la Professoressa Vincenza Calabrò, e al mio co-Tutor, il Professor Natale Arcuri, per avermi consentito di condurre l'attività sperimentale secondo i miei obiettivi, fornendomi un supporto costante e prezioso.

Desidero estendere la mia riconoscenza alla Dott.ssa Yessica Castro, mio tutor presso l'Università Federico Henríquez y Carvajal, per la sua accoglienza calorosa e il costante sostegno.

Un grazie particolare al Professor Atilio de Frias per il suo costante supporto negli anni trascorsi.

Ringrazio il Dottor Darwin Munoz, Vicerettore di Scienza, Tecnologia, Innovazione e Studi Post-Laurea presso l'Università Federico Henríquez y Carvajal, per avermi accolto presso UFHEC e per la sua partecipazione alla coordinazione delle attività di ricerca.

Inoltre, desidero ringraziare Ministero dell'Istruzione Superiore, della Scienza e della Tecnologia della Repubblica Dominicana (MESCYT) poiché la ricerca condotta è stata sostenuta dal Fondo Nazionale di Ricerca per la Scienza, la Tecnologia e l'Innovazione [FONDOCYT 2022-3C2-136].

Esprimo la mia gratitudine a Smart City Instruments, spin-off dell'Università della Calabria, in particolare al Dott. Alfredo Sguglio, al Dott. Pierpaolo Filippelli e al Dott. Angelo Macilletti, per la loro guida e il coordinamento delle attività di collaborazione tra Smart City Instruments, l'Università della Calabria (UNICAL) e l'Università Federico Henríquez y Carvajal (UFHEC).

Un ringraziamento speciale al Professor Sebastiano Candamano per il suo fondamentale supporto durante le ricerche condotte nel suo laboratorio.

Esprimo la mia riconoscenza alla Prof.ssa Rossella Girimonte, alla Prof.ssa Maria Penepole De Santo, al Professor Giovanni Desiderio, al Dott. Mauro Bruno, al Dott.

Antonio Tursi e al Professor Alessio Siciliano per avermi concesso la possibilità di effettuare i test nei loro laboratori.

Un sentito ringraziamento va anche alla Dott.ssa Catia Giovanna Lopresto che ha collaborato con me nella stesura di due articoli.

Infine, desidero ringraziare SILA - Sistema Laboratori Integrati per l'Ambiente per aver finanziato il mio viaggio all'estero in Repubblica Dominicana. La loro generosa contribuzione ha reso possibile l'approfondimento delle mie ricerche e la collaborazione internazionale.

Bibliografia

- Abbasi, Tasneem, S. M. Tauseef, and S. A. Abbasi. 2012. "Biogas Energy." *Biogas Energy*: 1–169.
- Abdelwahab, Taha Abdelfattah Mohammed, and Ahmed Elsayed Mahmoud Fodah. 2022. "Utilization of Nanoparticles for Biogas Production Focusing on Process Stability and Effluent Quality." *SN Applied Sciences* 4(12). <https://doi.org/10.1007/s42452-022-05222-6>.
- Abdelwahab, Taha Abdelfattah Mohammed, Mahendra Kumar Mohanty, Pradeepta Kumar Sahoo, and Debaraj Behera. 2020. "Application of Nanoparticles for Biogas Production: Current Status and Perspectives." *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects* 00(00): 1–13. <https://doi.org/10.1080/15567036.2020.1767730>.
- Acid, Amino et al. 2020. "Sargassum Inundations in Turks and Caicos : Methane."
- Adams, J. M.M., A. Schmidt, and J. A. Gallagher. 2015. "The Impact of Sample Preparation of the Macroalgae *Laminaria Digitata* on the Production of the Biofuels Bioethanol and Biomethane." *Journal of Applied Phycology* 27(2): 985–91.
- Adekunle, Kayode Feyisetan, and Jude Awele Okolie. 2015. "A Review of Biochemical Process of Anaerobic Digestion." *Advances in Bioscience and Biotechnology* 06(03): 205–12.
- Akila, Varatharajan et al. 2019. "Biogas and Biofertilizer Production of Marine Macroalgae: An Effective Anaerobic Digestion of *Ulva Sp.*" *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 18(January): 101035. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101035>.
- Ali, Asim, Rasool Bux Mahar, Razium Ali Soomro, and Syed Tufail Hussain Sherazi. 2017. "Fe₃O₄ Nanoparticles Facilitated Anaerobic Digestion of Organic Fraction of Municipal Solid Waste for Enhancement of Methane Production." *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects* 39(16): 1815–22. <https://doi.org/10.1080/15567036.2017.1384866>.
- Allen, E., J. Browne, S. Hynes, and J. D. Murphy. 2013. "The Potential of Algae Blooms to Produce Renewable Gaseous Fuel." *Waste Management* 33(11): 2425–33. <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2013.06.017>.
- Alvarado Flores, José Juan et al. 2022. "Kinetic, Thermodynamic, FT-IR, and Primary Constitution Analysis of *Sargassum Spp* from Mexico: Potential for Hydrogen Generation." *International Journal of Hydrogen Energy* 47(70): 30107–27.
- Alzate-Gaviria, Liliana et al. 2021. "Presence of Polyphenols Complex Aromatic 'Lignin' in *Sargassum Spp.* From Mexican Caribbean." *Journal of Marine Science and Engineering* 9(1): 1–10.
- Anastasakis, K., A. B. Ross, and J. M. Jones. 2011. "Pyrolysis Behaviour of the Main Carbohydrates of Brown Macro-Algae." *Fuel* 90(2): 598–607. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2010.09.023>.
- Angelidaki, Irini, Lars Ellegaard, and Birgitte Kioer Ahring. 2003. "Applications of the

- Anaerobic Digestion Process.” *Advances in biochemical engineering/biotechnology* 82: 1–33.
- Anukam, Anthony, Ali Mohammadi, Muhammad Naqvi, and Karin Granström. 2019. “A Review of the Chemistry of Anaerobic Digestion: Methods of Accelerating and Optimizing Process Efficiency.” *Processes* 7(8): 1–19.
- Ap, Yuhendra et al. 2021. “Potential of Biogas Production from the Anaerobic Digestion of Sargassum Fulvellum Macroalgae : Influences of Mechanical , Chemical , and Biological Pretreatments.” *Biochemical Engineering Journal* 175(May): 108140. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2021.108140>.
- AP, Yuhendra et al. 2021. “Potential of Biogas Production from the Anaerobic Digestion of Sargassum Fulvellum Macroalgae: Influences of Mechanical, Chemical, and Biological Pretreatments.” *Biochemical Engineering Journal* 175(July): 108140. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2021.108140>.
- Appels, Lise, Jan Baeyens, Jan Degrève, and Raf Dewil. 2008. “Principles and Potential of the Anaerobic Digestion of Waste-Activated Sludge.” *Progress in Energy and Combustion Science* 34(6): 755–81.
- Banerjee, Goutami et al. 2010. “Rapid Optimization of Enzyme Mixtures for Deconstruction of Diverse Pretreatment/Biomass Feedstock Combinations.” *Biotechnology for Biofuels* 3: 1–15.
- Barbot, Yann Nicolas, Harry Michael Falk, and Roland Benz. 2015. “Thermo-Acidic Pretreatment of Marine Brown Algae *Fucus Vesiculosus* to Increase Methane Production—A Disposal Principle for Macroalgae Waste from Beaches.” *Journal of Applied Phycology* 27(1): 601–9.
- Barbot, Yann Nicolas, Claudia Thomsen, Laurenz Thomsen, and Roland Benz. 2015. “Anaerobic Digestion of *Laminaria Japonica* Waste from Industrial Production Residues in Laboratory- and Pilot-Scale.” *Marine Drugs* 13(9): 5947–75.
- Basu, Subhankar et al. 2010. “Membrane-Based Technologies for Biogas Separations.” *Chemical Society Reviews* 39(2): 750–68.
- Bharathi, P. et al. 2022. “Biogas Production from Food Waste Using Nanocatalyst.” *Journal of Nanomaterials* 2022.
- Bhushan, Shashi et al. 2020. “Current Trends and Prospects in Microalgae-Based Bioenergy Production.” *Journal of Environmental Chemical Engineering* 8(5): 104025. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104025>.
- Blanch, Harvey W., Blake A. Simmons, and Daniel Klein-Marcuschamer. 2011. “Biomass Deconstruction to Sugars.” *Biotechnology Journal* 6(9): 1086–1102.
- Bond, Tom, and Michael R. Templeton. 2011. “History and Future of Domestic Biogas Plants in the Developing World.” *Energy for Sustainable Development* 15(4): 347–54. <http://dx.doi.org/10.1016/j.esd.2011.09.003>.
- Bruhn, Annette et al. 2011. “Bioenergy Potential of *Ulva Lactuca*: Biomass Yield, Methane Production and Combustion.” *Bioresource Technology* 102(3): 2595–2604. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.010>.
- Campuzano, Rosalinda, and Simón González-Martínez. 2016. “Characteristics of the

- Organic Fraction of Municipal Solid Waste and Methane Production: A Review.” *Waste Management* 54: 3–12. <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2016.05.016>.
- Candamano, S. et al. 2021. “Influence of Acrylic Latex and Pre-Treated Hemp Fibers on Cement Based Mortar Properties.” *Construction and Building Materials* 273: 121720. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2020.121720>.
- Chávez, Valeria et al. 2020. “Massive Influx of Pelagic Sargassum Spp. On the Coasts of the Mexican Caribbean 2014–2020: Challenges and Opportunities.” *Water (Switzerland)* 12(10): 1–24.
- Chen, Ye, Jay J. Cheng, and Kurt S. Creamer. 2008. “Inhibition of Anaerobic Digestion Process: A Review.” *Bioresource Technology* 99(10): 4044–64.
- Chew, Kah Rong et al. 2021. “Effects of Anaerobic Digestion of Food Waste on Biogas Production and Environmental Impacts: A Review.” *Environmental Chemistry Letters* 19(4): 2921–39. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01220-z>.
- Chiu, Sam L.H., and Irene M.C. Lo. 2016. “Reviewing the Anaerobic Digestion and Co-Digestion Process of Food Waste from the Perspectives on Biogas Production Performance and Environmental Impacts.” *Environmental Science and Pollution Research* 23(24): 24435–50. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-016-7159-2>.
- Chozhavendhan, S. et al. 2023. “Current and Prognostic Overview on the Strategic Exploitation of Anaerobic Digestion and Digestate: A Review.” *Environmental Research* 216(P2): 114526. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.114526>.
- Clara, V, and Rodriguez Cuevas. 2020. “Biogas Generation from Different Organic Waste : Case Studies of Bioremediation and Community Development in Argentina and Dominican Republic Generación de Biogás a Partir de Diferentes Residuos Orgánicos : Estudio de Casos de Biorremediación y Desarrollo.” (July): 27–31.
- Costa, José C. et al. 2015. “Biohythane Production from Marine Macroalgae Sargassum Sp. Coupling Dark Fermentation and Anaerobic Digestion.” *Bioresource Technology* 190: 251–56.
- Davis, Doleasha et al. 2021. “Biomass Composition of the Golden Tide Pelagic Seaweeds Sargassum Fluitans and S. Natans (Morphotypes I and VIII) to Inform Valorisation Pathways.” *Science of the Total Environment* 762: 143134. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143134>.
- Dehghani, Mona et al. 2019. “A State-of-the-Art Review on the Application of Nanomaterials for Enhancing Biogas Production.” *Journal of Environmental Management* 251(September).
- Derbal, K., M. Bencheikh-Lehocine, and A. H. Meniai. 2012. “Study of Biodegradability of Organic Fraction of Municipal Solids Waste.” *Energy Procedia* 19: 239–48.
- Devault, Damien A. et al. 2021. “Sargassum Contamination and Consequences for Downstream Uses: A Review.” *Journal of Applied Phycology* 33(1): 567–602.
- Ding, Lingkan et al. 2020. “Improving Biohydrogen and Biomethane Co-Production via Two-Stage Dark Fermentation and Anaerobic Digestion of the Pretreated Seaweed Laminaria Digitata.” *Journal of Cleaner Production* 251: 119666.

<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.119666>.

“Disclaimer: The Information Bulletin Is Meant to Provide a General Outlook of Current Bloom Condition and Future Bloom Probability for the Caribbean Sea. By No Means Should It Be Used for Commercial Purpose, or Used for Predicting Bloom Conditions for a S.” 2023. (June): 2023.

Djakouré, Sandrine et al. 2017. “On the Potential Causes of the Recent Pelagic Sargassum Blooms Events in the Tropical North Atlantic Ocean.” *Biogeosciences Discussions* (September): 1–20.

Doyle, E., and J. Franks. 2015. “Sargassum Fact Sheet.” *Gulf and Caribbean Fisheries Institute: 1–4*. [https://tamug-ir.tdl.org/bitstream/handle/1969.3/28843/GCFISargassumFactSheet\[1\].pdf?sequence=1](https://tamug-ir.tdl.org/bitstream/handle/1969.3/28843/GCFISargassumFactSheet[1].pdf?sequence=1)[https://repositories.tdl.org/tamug-ir/bitstream/handle/1969.3/28843/GCFISargassumFactSheet\[1\].pdf?sequence=1](https://repositories.tdl.org/tamug-ir/bitstream/handle/1969.3/28843/GCFISargassumFactSheet[1].pdf?sequence=1).

Farghali, Mohamed et al. 2019. “Impacts of Iron Oxide and Titanium Dioxide Nanoparticles on Biogas Production: Hydrogen Sulfide Mitigation, Process Stability, and Prospective Challenges.” *Journal of Environmental Management* 240(March): 160–67. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.03.089>.

———. 2021. “Thermophilic Anaerobic Digestion of Sargassum Fulvellum Macroalgae: Biomass Valorization and Biogas Optimization under Different Pre-Treatment Conditions.” *Journal of Environmental Chemical Engineering* 9(6): 106405. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.106405>.

Ferdeş, Mariana et al. 2020. “Microorganisms and Enzymes Used in the Biological Pretreatment of the Substrate to Enhance Biogas Production: A Review.” *Sustainability (Switzerland)* 12(17).

Fernández, Fernando et al. 2017. “Análisis Elemental Prospectivo De La Biomasa Algal Acumulada En Las Costas De La República Dominicana.” *Revista Centro Azúcar* 44(1): 11–22.

Flórez-Fernández, N., H. Domínguez, and M. D. Torres. 2019. “A Green Approach for Alginate Extraction from Sargassum Muticum Brown Seaweed Using Ultrasound-Assisted Technique.” *International Journal of Biological Macromolecules* 124: 451–59. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.232>.

Flórez-Fernández, Noelia et al. 2021. “Integrated Valorization of Sargassum Muticum in Biorefineries.” *Chemical Engineering Journal* 404(April 2020).

Franklin, Natasha M. et al. 2007. “Comparative Toxicity of Nanoparticulate ZnO, Bulk ZnO, and ZnCl₂ to a Freshwater Microalga (Pseudokirchneriella Subcapitata): The Importance of Particle Solubility.” *Environmental Science and Technology* 41(24): 8484–90.

Freestone, David. 2021. “The Sargasso Sea Commission: An Evolving New Paradigm for High Seas Ecosystem Governance?” *Frontiers in Marine Science* 8(June): 1–10.

Gloria, Naa Dzama Addico, and Amoako Atta deGraft-Johnson Kweku. 2016. “Preliminary Investigation into the Chemical Composition of the Invasive Brown Seaweed Sargassum along the West Coast of Ghana.” *African Journal of*

- Biotechnology* 15(39): 2184–91.
- Gould, J. Michael. 1984. “Alkaline Peroxide Delignification of Agricultural Residues to Enhance Enzymatic Saccharification.” *Biotechnology and Bioengineering* 26(1): 46–52.
- Gray, Luke A. et al. 2021. “Caribbean-Wide, Negative Emissions Solution to Sargassum Spp. Low-Cost Collection Device and Sustainable Disposal Method.” *Phycology* 1(1): 49–75.
- Gunaseelan, V. Nallathambi. 2004. “Biochemical Methane Potential of Fruits and Vegetable Solid Waste Feedstocks.” *Biomass and Bioenergy* 26(4): 389–99.
- Gunasekaran, S., G. Anbalagan, and S. Pandi. 2006. “Raman and Infrared Spectra of Carbonates of Calcite Structure.” *Journal of Raman Spectroscopy* 37(9): 892–99.
- Gurung, Anup et al. 2012. “Evaluation of Marine Biomass as a Source of Methane in Batch Tests: A Lab-Scale Study.” *Energy* 43(1): 396–401.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.energy.2012.04.005>.
- Hassaan, Mohamed A. et al. 2021. “Enhancement of Biogas Production from Macroalgae *Ulva Lатуca* via Ozonation Pretreatment.” *Energies* 14(6): 1–16.
- Hughes, Adam D., Maeve S. Kelly, Kenneth D. Black, and Michele S. Stanley. 2012. “Biogas from Macroalgae: Is It Time to Revisit the Idea?” *Biotechnology for Biofuels* 5: 1–7.
- Izumi, Kouichi et al. 2010. “Effects of Particle Size on Anaerobic Digestion of Food Waste.” *International Biodeterioration and Biodegradation* 64(7): 601–8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2010.06.013>.
- Jadhav, Pramod et al. 2021. “The Role of Iron-Based Nanoparticles (Fe-NPs) on Methanogenesis in Anaerobic Digestion (AD) Performance.” *Environmental research*: 112043. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:237585010>.
- Jadhava, Pramod et al. 2021. “A Review on the Impact of Conductive Nanoparticles (CNPs) in Anaerobic Digestion: Applications and Limitations.” *Environmental Technology and Innovation* 23: 101526. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101526>.
- Jard, G. et al. 2013. “Effect of Thermochemical Pretreatment on the Solubilization and Anaerobic Biodegradability of the Red Macroalga *Palmaria Palmata*.” *Biochemical Engineering Journal* 79: 253–58. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2013.08.011>.
- Jung, Heejung, Jaai Kim, and Changsoo Lee. 2019. “Temperature Effects on Methanogenesis and Sulfidogenesis during Anaerobic Digestion of Sulfur-rich Macroalgal Biomass in Sequencing Batch Reactors.” *Microorganisms* 7(12).
- Kabeyi, Moses Jeremiah Barasa, and Oludolapo Akanni Olanrewaju. 2022. “Biogas Production and Applications in the Sustainable Energy Transition.” *Journal of Energy* 2022: 1–43.
- Kannan, S. 2014. “FT-IR and EDS Analysis of the Seaweeds *Sargassum Wightii* and *Gracilaria Corticata* (Red Algae).” *Int J Curr Microbiol Appl Sci* 3(4): 341–51.
- Kerley, M. S. et al. 1985. “Alkaline Hydrogen Peroxide Treatment Unlocks Energy in Agricultural By-Products.” *Science* 230(4727): 820–22.

- Kim, Jungmin et al. 2013. “Methods of Downstream Processing for the Production of Biodiesel from Microalgae.” *Biotechnology Advances* 31(6): 862–76. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.04.006>.
- Koch, Konrad, Sasha D. Hafner, Sergi Astals, and Sören Weinrich. 2020. “Evaluation of Common Supermarket Products as Positive Controls in Biochemical Methane Potential (BMP) Tests.” *Water (Switzerland)* 12(5).
- Kökdemir Ünşar, Elçin, and Nuriye Altınay Perendeci. 2018. “What Kind of Effects Do Fe₂O₃ and Al₂O₃ Nanoparticles Have on Anaerobic Digestion, Inhibition or Enhancement?” *Chemosphere* 211: 726–35. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.08.014>.
- Kougias, Panagiotis G., and Irini Angelidaki. 2018. “Biogas and Its Opportunities — A Review Key Words.” *Frontiers in Environmental Science* 12(June 2018): 1–22.
- Kovac, Jeffrey. 2000. “Book & Media Reviews.” 77(9): 29409.
- Kratzeisen, Martin et al. 2010. “Applicability of Biogas Digestate as Solid Fuel.” *Fuel* 89(9): 2544–48. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2010.02.008>.
- Kumar, Parveen, Diane M. Barrett, Michael J. Delwiche, and Pieter Stroeve. 2009. “Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production.” *Industrial and Engineering Chemistry Research* 48(8): 3713–29.
- Kumar, Smita S. et al. 2021. “The Role of Conductive Nanoparticles in Anaerobic Digestion: Mechanism, Current Status and Future Perspectives.” *Chemosphere* 280: 130601. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130601>.
- Kuroiwa, Tsuneyoshi, Takahito Suzuki, Kazuo Ogawa, and Shigeyuki Kawano. 1981. “The Chloroplast Nucleus: Distribution, Number, Size, and Shape, and a Model for the Multiplication of the Chloroplast Genome during Chloroplast Development.” *Plant and Cell Physiology* 22(3): 381–96.
- Laffoley, D d’A. et al. 2011. Sargasso Sea Alliance: The golden floating rainforest of the Atlantic Ocean *The Protection and Management of the Sargasso Sea: The Golden Floating Rainforest of the Atlantic Ocean. Summary Science and Supporting Evidence Case.*
- Lapointe, B. E. et al. 2021. “Nutrient Content and Stoichiometry of Pelagic Sargassum Reflects Increasing Nitrogen Availability in the Atlantic Basin.” *Nature Communications* 12(1): 1–10.
- Li, Chenxi, Pascale Champagne, and Bruce C. Anderson. 2011. “Evaluating and Modeling Biogas Production from Municipal Fat, Oil, and Grease and Synthetic Kitchen Waste in Anaerobic Co-Digestions.” *Bioresource Technology* 102(20): 9471–80. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.07.103>.
- Li, Huili, and Hamse Kjerstadius. 2013. “Evaluation of Pretreatment Methods for Increased Biogas Production from Macro Algae.” : 34.
- Li, Kun, Ronghou Liu, and Chen Sun. 2015. “Comparison of Anaerobic Digestion Characteristics and Kinetics of Four Livestock Manures with Different Substrate Concentrations.” *Bioresource Technology* 198: 133–40. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.151>.

- Li, Lianhua et al. 2012. "Biogas Production Potential and Kinetics of Microwave and Conventional Thermal Pretreatment of Grass." *Applied Biochemistry and Biotechnology* 166(5): 1183–91.
- Li, Yangyang et al. 2020. "Anaerobic Digestion of Different Agricultural Wastes: A Techno-Economic Assessment." *Bioresource Technology* 315(July).
- Liranzo-Gómez, Rolando Esteban, Daniel García-Cortés, and Ulises Jáuregui-Haza. 2021. "Adaptation and Sustainable Management of Massive Influx of Sargassum in the Caribbean." *Procedia Environmental Science, Engineering and Management* 8(2): 543–53.
- López-Aguilar, Héctor et al. 2021. "Practical and Theoretical Modeling of Anaerobic Digestion of Sargassum Spp. in the Mexican Caribbean." *Polish Journal of Environmental Studies* 30(4): 3151–61.
- López-Sosa, Luis Bernardo et al. 2020. "A Prospective Study of the Exploitation of Pelagic Sargassum Spp. As a Solid Biofuel Energy Source." *Applied Sciences (Switzerland)* 10(23): 1–17.
- Louime, Clifford, Jodany Fortune, and Gary Gervais. 2017. "Sargassum Invasion of Coastal Environments: A Growing Concern." *American Journal of Environmental Sciences* 13(1): 58–64.
- Luis, José et al. 2021. "Commercial Potential of Pelagic Sargassum Spp. in Mexico." 8(November).
- Ma, Jingwei et al. 2013. "A Simple Methodology for Rate-Limiting Step Determination for Anaerobic Digestion of Complex Substrates and Effect of Microbial Community Ratio." *Bioresource Technology* 134: 391–95.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.02.014>.
- Macias-Corral, Maritza et al. 2008. "Anaerobic Digestion of Municipal Solid Waste and Agricultural Waste and the Effect of Co-Digestion with Dairy Cow Manure." *Bioresource Technology* 99(17): 8288–93.
- Maneein, Supattra, John J. Milledge, Patricia J. Harvey, and Birthe V. Nielsen. 2021. "Methane Production from Sargassum Muticum: Effects of Seasonality and of Freshwater Washes." *Energy and Built Environment* 2(3): 235–42.
<https://doi.org/10.1016/j.enbenv.2020.06.011>.
- Maneein, Supattra, John J. Milledge, Birthe V. Nielsen, and Patricia J. Harvey. 2018. "A Review of Seaweed Pre-Treatment Methods for Enhanced Biofuel Production by Anaerobic Digestion or Fermentation." *Fermentation* 4(4).
- Masunga, Raphael Habai et al. 2016. "Nitrogen Mineralization Dynamics of Different Valuable Organic Amendments Commonly Used in Agriculture." *Applied Soil Ecology* 101: 185–93. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.01.006>.
- Mattio, Lydiane, and Claude E. Payri. 2011. "190 Years of Sargassum Taxonomy, Facing the Advent of DNA Phylogenies." *Botanical Review* 77(1): 31–70.
- Maurer, Andrew S., Emma De Neef, and Seth Stapleton. 2015. "Sargassum Accumulation May Spell Trouble for Nesting Sea Turtles." *Frontiers in Ecology and the Environment* 13(7): 394–95.

- McKennedy, Janet, and Orla Sherlock. 2015. "Anaerobic Digestion of Marine Macroalgae: A Review." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 52: 1781–90.
- McKevitt, G. 1993. "Christopher Columbus as a Civic Saint." *California History* 71(4): 516–33.
- Meegoda, Jay N., Brian Li, Kush Patel, and Lily B. Wang. 2018. "A Review of the Processes, Parameters, and Optimization of Anaerobic Digestion." *International Journal of Environmental Research and Public Health* 15(10).
- Menzel, Theresa, Peter Neubauer, and Stefan Junne. 2020. "Role of Microbial Hydrolysis in Anaerobic Digestion." *Energies* 13(21).
- Meraz, Â Nica. 2000. "<Tto Anaerobio Mexico.Pdf>." 34(6).
- Merlin, G, and H Boileau. 2013. "Anaerobic Digestion of Agricultural Waste: State of the Art and Future Trends. Anaerobic Digestion: Types, Processes and Environmental Impact." *New York: Nova Science Publishers, Inc.*
- Migliore, G. et al. 2012. "Anaerobic Digestion of Macroalgal Biomass and Sediments Sourced from the Orbetello Lagoon, Italy." *Biomass and Bioenergy* 42: 69–77. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.03.030>.
- Milledge, John J., and Patricia J. Harvey. 2016a. "Ensilage and Anaerobic Digestion of Sargassum Muticum." *Journal of Applied Phycology* 28(5): 3021–30. <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-016-0804-9>.
- . 2016b. "Golden Tides: Problem or Golden Opportunity? The Valorisation of Sargassum from Beach Inundations." *Journal of Marine Science and Engineering* 4(3).
- Milledge, John J., Birthe V. Nielsen, and Patricia J. Harvey. 2019. "The Inhibition of Anaerobic Digestion by Model Phenolic Compounds Representative of Those from Sargassum Muticum." *Journal of Applied Phycology* 31(1): 779–86.
- Milledge, John J., Birthe V. Nielsen, Supattra Maneein, and Patricia J. Harvey. 2019. "A Brief Review of Anaerobic Digestion of Algae for BioEnergy." *Energies* 12(6): 1–22.
- Milledge, John J., Birthe V. Nielsen, Manar S. Sadek, and Patricia J. Harvey. 2018. "Effect of Freshwaterwashing Pretreatment on Sargassum Muticum as a Feedstock for Biogas Production." *Energies* 11(7).
- Milledge, John James, Supattra Maneein, Elena Arribas López, and Debbie Bartlett. 2020. "Sargassum Inundations in Turks and Caicos: Methane Potential and Proximate, Ultimate, Lipid, Amino Acid, Metal and Metalloid Analyses." *Energies* 13(6).
- Mioduska, Joanna, Aleksandra Grabowiec, and Jan Hupka. 2023. "Digestate Quality Originating from Kitchen Waste." *Applied Sciences (Switzerland)* 13(18).
- Mohamed, Mahmoud ALI, DIA Nourou, BILAL Boudy, and NDONGO Mamoudou. 2018. "Theoretical Models for Prediction of Methane Production from Anaerobic Digestion: A Critical Review." *International Journal of Physical Sciences* 13(13): 206–16.

- Mohammed, Akeem, Arianne Rivers, David C. Stuckey, and Keeran Ward. 2020. "Alginate Extraction from Sargassum Seaweed in the Caribbean Region: Optimization Using Response Surface Methodology." *Carbohydrate Polymers* 245(January): 116419. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116419>.
- Montingelli, M. E. et al. 2017. "Influence of Mechanical Pretreatment and Organic Concentration of Irish Brown Seaweed for Methane Production." *Energy* 118: 1079–89. <http://dx.doi.org/10.1016/j.energy.2016.10.132>.
- Montingelli, M. E., K. Benyounis, J. Stokes, and A. G. Olabi. 2016. "Pretreatment of Macroalgal Biomass for Biogas Production." *Energy Conversion and Management* 108: 202–9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.enconman.2015.11.008>.
- Montingelli, M. E., S. Tedesco, and A. G. Olabi. 2015. "Biogas Production from Algal Biomass: A Review." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 43: 961–72. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2014.11.052>.
- Mora-Pale, Mauricio et al. 2011. "Room Temperature Ionic Liquids as Emerging Solvents for the Pretreatment of Lignocellulosic Biomass." *Biotechnology and Bioengineering* 108(6): 1229–45.
- Murakami, Kaori et al. 2011. "Seasonal Variation in the Chemical Composition of a Marine Brown Alga, Sargassum Horneri (Turner) C. Agardh." *Journal of Food Composition and Analysis* 24(2): 231–36. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2010.08.004>.
- Namvar, Farideh et al. 2013. "Antioxidant , Antiproliferative , and Antiangiogenesis Effects of Polyphenol-Rich Seaweed (Sargassum Muticum)." 2013.
- Nemr, Ahmed El et al. 2021. "Efficiency of Fe₃O₄ Nanoparticles with Different Pretreatments for Enhancing Biogas Yield of Macroalgae *Ulva Intestinalis* Linnaeus." *Molecules* 26(16).
- Nielsen, Birthe V., Supattra Maneein, M. D. Mahmud Al Farid, and John J. Milledge. 2020. "The Effects of Halogenated Compounds on the Anaerobic Digestion of Macroalgae." *Fermentation* 6(3).
- Nielsen, H. B., and S. Heiske. 2011. "Anaerobic Digestion of Macroalgae: Methane Potentials, Pre-Treatment, Inhibition and Co-Digestion." *Water Science and Technology* 64(8): 1723–29.
- Nomura, Masatoshi et al. 2013. "Seasonal Variations of Total Lipids, Fatty Acid Composition, and Fucoxanthin Contents of Sargassum Horneri (Turner) and Cystoseira Hakodatensis (Yendo) from the Northern Seashore of Japan." *Journal of Applied Phycology* 25(4): 1159–69.
- O., O. Oyesiku, and Egunyomi A. 2014. "Identification and Chemical Studies of Pelagic Masses of Sargassum Natans (Linnaeus) Gaillon and S. Fluitans (Borgessen) Borgesen (Brown Algae), Found Offshore in Ondo State, Nigeria." *African Journal of Biotechnology* 13(10): 1188–93.
- Obata, Oluwatosin, Arlene Ditchfield, Angela Hatton, and Joseph Akunna. 2020. "Investigating the Impact of Inoculum Source on Anaerobic Digestion of Various Species of Marine Macroalgae." *Algal Research* 46(July 2019).
- Of, O N, and This Dgcum. 1989. "LOCAL ATOMIC DISPLACEMENTS IN HIGH Tc

OXIDES STUDIED BY PULSED NEUTRON SCATTERING DISCLAIMER
R Portions of This Document May Be Illegible in Electronic Image Products .
Images Are Produced from the Best Available Original Document .” 00622(April):
18–21.

- Oliveira, J. V., M. M. Alves, and J. C. Costa. 2015a. “Optimization of Biogas Production from Sargassum Sp. Using a Design of Experiments to Assess the Co-Digestion with Glycerol and Waste Frying Oil.” *Bioresource Technology* 175: 480–85. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.121>.
- . 2015b. “Optimization of Biogas Production from Sargassum Sp. Using a Design of Experiments to Assess the Co-Digestion with Glycerol and Waste Frying Oil.” *Bioresource Technology* 175: 480–85. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.121>.
- Oucif, Hanane et al. 2020. 29 Journal of Aquatic Food Product Technology *Chemical Composition and Nutritional Value of Different Seaweeds from the West Algerian Coast*.
- Oviatt, Candace A., Kristin Huizenga, Caroline S. Rogers, and W. Jeff Miller. 2019. “What Nutrient Sources Support Anomalous Growth and the Recent Sargassum Mass Stranding on Caribbean Beaches? A Review.” *Marine Pollution Bulletin* 145(June): 517–25. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.06.049>.
- Passos, Fabiana, and Ivett Ferrer. 2014. “Microalgae Conversion to Biogas: Thermal Pretreatment Contribution on Net Energy Production.” *Environmental Science and Technology* 48(12): 7171–78.
- Pastare, Laura, Intars Aleksandrovs, Dace Lauka, and Francesco Romagnoli. 2016. “Mechanical Pre-Treatment Effect on Biological Methane Potential from Marine Macro Algae: Results from Batch Tests of Fucus Vesiculosus.” *Energy Procedia* 95: 351–57.
- Pereira, Leonel. 2021. “Macroalgae.” *Encyclopedia* 1(1): 177–88.
- Prakoso, Tirto et al. 2022. “The Study of Hydrothermal Carbonization and Activation Factors’ Effect on Mesoporous Activated Carbon Production From Sargassum Sp. Using a Multilevel Factorial Design.” *Reaktor* 22(2): 59–69.
- Pramanik, Sagor Kumar, Fatimah Binti Suja, Mojtaba Porhemmat, and Biplob Kumar Pramanik. 2019. “Performance and Kinetic Model of a Single-Stage Anaerobic Digestion System Operated at Different Successive Operating Stages for the Treatment of Food Waste.” *Processes* 7(9).
- Raheem, Abdul et al. 2018. “A Review on Sustainable Microalgae Based Biofuel and Bioenergy Production: Recent Developments.” *Journal of Cleaner Production* 181: 42–59.
- Rana, Mohit Singh, Shashi Bhushan, and Sanjeev Kumar Prajapati. 2020. “New Insights on Improved Growth and Biogas Production Potential of Chlorella Pyrenoidosa through Intermittent Iron Oxide Nanoparticle Supplementation.” *Scientific Reports* 10(1): 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71141-4>.
- del Río, Pablo G. et al. 2020. “Recent Trends on Seaweed Fractionation for Liquid Biofuels Production.” *Bioresource Technology* 299(December 2019): 122613.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122613>.

- Rodríguez, Aura et al. 2017. "Evaluation of the Biochemical Methane Potential of Pig Manure, Organic Fraction of Municipal Solid Waste and Cocoa Industry Residues in Colombia." *Chemical Engineering Transactions* 57(September): 55–60.
- Romagnoli, Francesco et al. 2017. "Effects of Pre-Treatment on Biochemical Methane Potential (BMP) Testing Using Baltic Sea Fucus Vesiculosus Feedstock." *Biomass and Bioenergy* 105: 23–31.
- Rushdi, Mohammed I. et al. 2020. "Pharmacological and Natural Products Diversity of the Brown Algae Genus: Sargassum." *RSC Advances* 10(42): 24951–72.
- Sailer, Gregor et al. 2021. "Characterization of the Separately Collected Organic Fraction of Municipal Solid Waste (OFMSW) from Rural and Urban Districts for a One-Year Period in Germany." *Waste Management* 131(February 2021): 471–82. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2021.07.004>.
- Sathitsuksanoh, Noppadon, Zhiguang Zhu, Sungsool Wi, and Y. H. Percival Zhang. 2011. "Cellulose Solvent-Based Biomass Pretreatment Breaks Highly Ordered Hydrogen Bonds in Cellulose Fibers of Switchgrass." *Biotechnology and Bioengineering* 108(3): 521–29.
- Schievano, Andrea et al. 2009. "What Is Digestate." *Anaerobic digestion: Opportunities for agriculture and environment. Regione Lombardia, Milan, Italy*: 7–18.
- Schmidt, Cristiano Gautério, and Eliana Badiale Furlong. 2012. "Effect of Particle Size and Ammonium Sulfate Concentration on Rice Bran Fermentation with the Fungus *Rhizopus Oryzae*." *Bioresource Technology* 123: 36–41.
- Schmidt, Thomas, Bernadette K. McCabe, Peter W. Harris, and Seonmi Lee. 2018. "Effect of Trace Element Addition and Increasing Organic Loading Rates on the Anaerobic Digestion of Cattle Slaughterhouse Wastewater." *Bioresource Technology* 264(May): 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.05.050>.
- Selig, Michael J., Todd B. Vinzant, Michael E. Himmel, and Stephen R. Decker. 2009. "The Effect of Lignin Removal by Alkaline Peroxide Pretreatment on the Susceptibility of Corn Stover to Purified Cellulolytic and Xylanolytic Enzymes." *Applied Biochemistry and Biotechnology* 155(1–3): 397–406.
- Sempera, Jen A., Erica J. Meier, and Tina M. Waliczek. 2018. "Composting as an Alternative Management Strategy for Sargassum Drifts on Coastlines." *HortTechnology* 28(1): 80–84.
- Shan, Chao, Zhiyao Ma, and Meiping Tong. 2014. "Efficient Removal of Trace Antimony(III) through Adsorption by Hematite Modified Magnetic Nanoparticles." *Journal of Hazardous Materials* 268: 229–36. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.01.020>.
- Shokrollahi, H. 2017. "A Review of the Magnetic Properties, Synthesis Methods and Applications of Maghemite." *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 426(July 2016): 74–81. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmmm.2016.11.033>.
- Slade, Raphael, Ausilio Bauen, and Robert Gross. 2014. "Global Bioenergy Resources." *Nature Climate Change* 4(2): 99–105.

- Sluiter, A et al. 2008. "Determination of Total Solids in Biomass and Total Dissolved Solids in Liquid Process Samples." *National Renewable Energy Laboratory (NREL)* (March): 3–5.
- Smetacek, Victor, and Adriana Zingone. 2013. "Green and Golden Seaweed Tides on the Rise." *Nature* 504(7478): 84–88.
- Song, Minkyung, Hong Duc Pham, Jiyun Seon, and Hee Chul Woo. 2015. "Marine Brown Algae: A Conundrum Answer for Sustainable Biofuels Production." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 50: 782–92. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2015.05.021>.
- Song, Minkyung, Hong Duc Pham, Jiyun Seon, and Hee Chul Woo. 2015. "Overview of Anaerobic Digestion Process for Biofuels Production from Marine Macroalgae: A Developmental Perspective on Brown Algae." *Korean Journal of Chemical Engineering* 32(4): 567–75.
- Sun, Ye, and Jiayang Cheng. 2002. "Hydrolysis of Lignocellulosic Materials for Ethanol Production: A Review." *Bioresource Technology* 83(1): 1–11.
- Tapia-Tussell, Raúl et al. 2018. "Biological Pretreatment of Mexican Caribbean Macroalgae Consortia Using Bm-2 Strain (*Trametes Hirsuta*) and Its Enzymatic Broth to Improve Biomethane Potential." *Energies* 11(3).
- Taylor, Publisher, C H Vanegas, and J Bartlett. 2013. "Green Energy from Marine Algae : Biogas Production and Composition from the Anaerobic Digestion of Irish Seaweed Species." (August): 37–41.
- Tedesco, S., K. Y. Benyounis, and A. G. Olabi. 2013. "Mechanical Pretreatment Effects on Macroalgae-Derived Biogas Production in Co-Digestion with Sludge in Ireland." *Energy* 61: 27–33. <http://dx.doi.org/10.1016/j.energy.2013.01.071>.
- Tedesco, S., and S. Daniels. 2018. "Optimisation of Biogas Generation from Brown Seaweed Residues: Compositional and Geographical Parameters Affecting the Viability of a Biorefinery Concept." *Applied Energy* 228(February): 712–23.
- Tetteh, E. Kweinor, and S. Rathilal. 2021a. "Application of Biomagnetic Nanoparticles for Biostimulation of Biogas Production from Wastewater Treatment." *Materials Today: Proceedings* 45: 5214–20. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.01.720>.
- . 2021b. "Application of Biomagnetic Nanoparticles for Biostimulation of Biogas Production from Wastewater Treatment." *Materials Today: Proceedings* 45(March): 5214–20. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.01.720>.
- Thompson, T. M., B. R. Young, and S. Baroutian. 2020. "Pelagic Sargassum for Energy and Fertiliser Production in the Caribbean: A Case Study on Barbados." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 118(November 2019): 109564. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109564>.
- Thompson, Terrell M., Brent R. Young, and S. Baroutian. 2019a. "Advances in the Pretreatment of Brown Macroalgae for Biogas Production." *Fuel Processing Technology* 195(April): 106151. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2019.106151>.
- . 2019b. "Advances in the Pretreatment of Brown Macroalgae for Biogas Production." *Fuel Processing Technology* 195(July): 106151. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2019.106151>.

- Thompson, Terrell M., Brent R. Young, and Saeid Baroutian. 2020. "Efficiency of Hydrothermal Pretreatment on the Anaerobic Digestion of Pelagic Sargassum for Biogas and Fertiliser Recovery." *Fuel* 279(April): 118527.
<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.118527>.
- . 2021. "Enhancing Biogas Production from Caribbean Pelagic Sargassum Utilising Hydrothermal Pretreatment and Anaerobic Co-Digestion with Food Waste." *Chemosphere* 275: 130035.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130035>.
- Tian, Su, Kozo Nakamura, Tong Cui, and Hiroshi Kayahara. 2005. "High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Phenolic Compounds in Rice." 1063: 121–28.
- Tian, Yonglan et al. 2019. "Process Analysis of Anaerobic Fermentation Exposure to Metal Mixtures." *International Journal of Environmental Research and Public Health* 16(14): 12–14.
- Tsui, To-Hung et al. 2022. "Methodological Framework for Wastewater Treatment Plants Delivering Expanded Service: Economic Tradeoffs and Technological Decisions." *The Science of the total environment* 823: 153616.
- Ugwu, Samson Nnaemeka, and Christopher Chintua Enweremadu. 2020. "Enhancement of Biogas Production Process from Biomass Wastes Using Iron-Based Additives: Types, Impacts, and Implications." *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects* 00(00): 1–23.
<https://doi.org/10.1080/15567036.2020.1788675>.
- Ullah Khan, Imran et al. 2017. "Biogas as a Renewable Energy Fuel – A Review of Biogas Upgrading, Utilisation and Storage." *Energy Conversion and Management* 150(July): 277–94.
- Van, Dinh Pham et al. 2020. "A Review of Anaerobic Digestion Systems for Biodegradable Waste: Configurations, Operating Parameters, and Current Trends." *Environmental Engineering Research* 25(1): 1–17.
<https://doi.org/10.4491/eer.2018.334>.
- Vanegas, C. H., and J. Bartlett. 2013. "Green Energy from Marine Algae: Biogas Production and Composition from the Anaerobic Digestion of Irish Seaweed Species." *Environmental Technology (United Kingdom)* 34(15): 2277–83.
- Vanegas, Carlos, and John Bartlett. 2013. "Anaerobic Digestion of *Laminaria Digitata*: The Effect of Temperature on Biogas Production and Composition." *Waste and Biomass Valorization* 4(3): 509–15.
- Vázquez-Delfín, Erika et al. 2021. "Species Composition and Chemical Characterization of Sargassum Influx at Six Different Locations along the Mexican Caribbean Coast." *Science of the Total Environment* 795.
- Villadsen, Sebastian N.B. et al. 2019. "The Potential of Biogas; the Solution to Energy Storage." *ChemSusChem* 12(10): 2147–53.
- Wang, Mengqiu et al. 2019a. "The Great Atlantic Sargassum Belt." *Science* 364(6448): 83–87.
- . 2019b. "The Great Atlantic Sargassum Belt." *Science* 364(6448): 83–87.

- Wang, Mengqiu, and Chuanmin Hu. 2016. "Mapping and Quantifying Sargassum Distribution and Coverage in the Central West Atlantic Using MODIS Observations." *Remote Sensing of Environment* 183: 350–67. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rse.2016.04.019>.
- Wang, Tao et al. 2016. "Effects of Metal Nanoparticles on Methane Production from Waste-Activated Sludge and Microorganism Community Shift in Anaerobic Granular Sludge." *Scientific Reports* 6(February): 1–10.
- Wang, Zhi et al. 2022. "Effects of Anaerobic Digestion Pretreatment on the Pyrolysis of Sargassum: Investigation by TG-FTIR and Py-GC/MS." *Energy Conversion and Management* 267(July): 115934. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2022.115934>.
- Wei, Na, Josh Quarterman, and Yong Su Jin. 2013. "Marine Macroalgae: An Untapped Resource for Producing Fuels and Chemicals." *Trends in Biotechnology* 31(2): 70–77. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.10.009>.
- Wu, Junkang, Guangcan Zhu, and Ran Yu. 2018. "Fates and Impacts of Nanomaterial Contaminants in Biological Wastewater Treatment System: A Review." *Water, Air, and Soil Pollution* 229(1).
- Wu, Yi N. et al. 2019. "Effects of Different Pretreatments on Improving Biogas Production of Macroalgae *Fucus Vesiculosus* and *Fucus Serratus* in Baltic Sea." *Energy and Fuels* 33(3): 2278–84.
- Wu, Yiping et al. 2018. "Bioenergy Production and Environmental Impacts." *Geoscience Letters* 5(1). <https://doi.org/10.1186/s40562-018-0114-y>.
- Xia, Tian et al. 2008. "Comparison of the Mechanism of Toxicity of Zinc Oxide and Cerium Oxide Nanoparticles Based on Dissolution and Oxidative Stress Properties." *ACS Nano* 2(10): 2121–34.
- Xyla, Aglaia G., and Petros G. Koutsoukos. 1989. "Quantitative Analysis of Calcium Carbonate Polymorphs by Infrared Spectroscopy." *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases* 85(10): 3165–72.
- Zaidi, Asad A. et al. 2019. "Combining Microwave Pretreatment with Iron Oxide Nanoparticles Enhanced Biogas and Hydrogen Yield from Green Algae." *Processes* 7(1).
- Zhang, Yanru et al. 2021. "Addition of Nanoparticles Increases the Abundance of Mobile Genetic Elements and Changes Microbial Community in the Sludge Anaerobic Digestion System." *Journal of Hazardous Materials* 405: 124206. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124206>.
- Zhang, Yi, Md Asraful Alam, et al. 2017. "Effect of Salinity on the Microbial Community and Performance on Anaerobic Digestion of Marine Macroalgae." *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 92(9): 2392–99.
- Zhang, Yi, Lianhua Li, et al. 2017. "Inhibition Effect of Sodium Concentrations on the Anaerobic Digestion Performance of Sargassum Species." *Energy and Fuels* 31(7): 7101–9.
- Zhao, Q et al. 2010. "Purification Technologies for Biogas Generated by Anaerobic Digestion." *Climate Friendly Farming: Improving the Carbon Footprint of*

Agriculture in the Pacific Northwest. CSANR Research Report 2010-00: 24.

Zheng, Hongli et al. 2011. “Disruption of *Chlorella Vulgaris* Cells for the Release of Biodiesel-Producing Lipids: A Comparison of Grinding, Ultrasonication, Bead Milling, Enzymatic Lysis, and Microwaves.” *Applied Biochemistry and Biotechnology* 164(7): 1215–24.

Zou, Yu et al. 2018. “Enhancing Methane Production from *U. Lactuca* Using Combined Anaerobically Digested Sludge (ADS) and Rumen Fluid Pre-Treatment and the Effect on the Solubilization of Microbial Community Structures.” *Bioresource Technology* 254: 83–90. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.12.054>.