

**Accordo di Cooperazione in materia di “Produzione dei Biocombustibili e loro utilizzo nel settore dell’aviazione” stipulato fra il Ministero dell’Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare-Direzione Generale per il Clima e l’Energia”, il Consiglio Nazionale delle Ricerche, l’ENEA e l’Aeronautica Militare Italiana.**

*(Progetto finanziato dal Ministero della Transizione Ecologica anni 2017-2019)*

**Rapporto conclusivo**



29 aprile 2021



Agenzia nazionale per le nuove tecnologie,  
l'energia e lo sviluppo economico sostenibile

## **GRUPPO DI LAVORO**

### **Responsabile del Progetto:**

Dr. Gabriele Zanini

ENEA – SSPT-MET

Via Martiri di Monte Sole 4 - 40129 Bologna, Tel. 051 6098121 - Fax 051 6098675

[gabriele.zanini@enea.it](mailto:gabriele.zanini@enea.it)

### **Hanno partecipato al Progetto:**

WP1 “Caratterizzazione dell’impatto su ambiente e salute dei biocombustibili per aerotrazione e sviluppo di un nuovo sistema sensore multiparametrico”:

Massimo Berico, Barbara Benassi, Gennaro Cassano, Claudia Consales, Eugenia Cordelli, Giuseppe Cremona, Maria Giuseppa Grollino, Maurizio Gualtieri, Teresa La Torretta, Antonella Malaguti, Ettore Petralia, Francesca Pacchierotti, Michele Penza, Valerio Pfister, Mario Prato, Domenico Suriano, Giuseppe Raschellà, Milena Stracquadanio.

WP2 “Valutazione di matrici vegetali idonee alla produzione di biocarburanti e della sostenibilità economica ambientale della produzione di biocombustibili per aviotrazione”:

Nicola Colonna, Carla Creo, Paola Crinò, Daniela Cuna, Laura Cutaia, Valentina Fantin, Antonella Del Fiore, Patrizia De Rossi, Pier Luigi Porta, Silvia Procacci, Silvia Sbaffoni, Catia Stamigna, Valentina Tolaini, Gianfranco Zingarelli

## SOMMARIO

<b>INTRODUZIONE.</b>	<b>PAG. 6</b>
<b>1 RAPPORTO CONCLUSIVO WP1: CARATTERIZZAZIONE DELL'IMPATTO SU AMBIENTE E SALUTE DEI BIOCOMBUSTIBILI PER AEROTRAZIONE E SVILUPPO DI UN NUOVO SISTEMA SENSORE MULTIPARAMETRICO.</b>	<b>PAG. 8</b>
<b>1.1 MATERIALI E METODI</b>	<b>PAG.9</b>
1.1.1 CAMPAGNA DI MISURE	PAG.9
1.1.2 SISTEMA DI PRELIEVO DELLE EMISSIONI	PAG.9
1.1.3 CONTAINER E STRUMENTI DI MISURA	PAG.14
1.1.4 SENSORI E STRUMENTAZIONE PER LA QUALITÀ DELL'ARIA	PAG.20
1.1.5 ESPOSIZIONE DI MODELLI IN VITRO ALLE EMISSIONI MEDIANTE UN SISTEMA INNOVATIVO E ANALISI TOSSICOLOGICA COMPARATIVA	PAG.24
1.1.6 CITOTOSSICITÀ E INFIAMMAZIONE NEI SOVRANATANTI DELLE CELLULE BEAS-2B ESPOSTE IN CAMPO	PAG.28
1.1.7 TOSSICITÀ DEGLI ESTRATTI ORGANICI (EO)	PAG.28
<b>1.2 RISULTATI CARATTERIZZAZIONE CHIMICO FISICA EMISSIONI</b>	<b>PAG.32</b>
1.2.1 CALCOLO DEL FATTORE DI CORREZIONE PER LA DILUIZIONE	PAG.32
1.2.2 CALCOLO INDICI DI EMISSIONE (EI)	PAG. 33
1.2.3 MISURE ONLINE	PAG. 34
1.2.4 MISURE INTEGRATE	PAG. 42
1.2.5 CONCENTRAZIONI IN MASSA E CONFRONTO PER RPM E TIPOLOGIA DI COMBUSTIBILE	PAG.48
1.2.6 CONCENTRAZIONI IN MASSA MEDIATE E CONFRONTO PER RPM E TIPOLOGIA DI COMBUSTIBILE	PAG.54
1.2.7 INDICI DI EMISSIONE	PAG. 58

1.2.8 CONCLUSIONI	PAG. 62
<b>1.3 RISULTATI ANALISI TOSSICOLOGICA COMPARATIVA</b>	<b>PAG.63</b>
1.3.1 ESPOSIZIONE IN CAMPO	PAG. 63
1.3.2 ESPOSIZIONE IN LABORATORIO	PAG. 65
1.3.3 CONCLUSIONI	PAG. 73
BIBLIOGRAFIA	PAG. 74
<b>1.4 RISULTATI MISURE DEL SISTEMA –SENSORI MULTIPARAMETRICO</b>	<b>PAG.76</b>
1.4.1 CONTESTO METEOROLOGICO	PAG 76
1.4.2 SERIE TEMPORALI	PAG 77
APPENDICE A	PAG. 81
APPENDICE B	PAG. 85
<b>2 RAPPORTO CONCLUSIVO WP2: VALUTAZIONE DI MATRICI VEGETALI IDONEE ALLA PRODUZIONE DI BIOCARBURANTI E DELLA SOSTENIBILITÀ ECONOMICA AMBIENTALE DELLA PRODUZIONE DI BIOCOMBUSTIBILI PER AVIOTRAZIONE.</b>	<b>PAG. 89</b>
<b>2.1 IDENTIFICAZIONE, VALUTAZIONE, SELEZIONE, CONFRONTO VARIETALE E CARATTERIZZAZIONE CHIMICA DI COLTURE DEDICATE, IDONEE, NEL CONTESTO ITALIANO, ALLA PRODUZIONE DI BIOCARBURANTI PER AVIOTRAZIONE</b>	<b>PAG.90</b>
2.1.1 INTRODUZIONE E SCOPO DELLE ATTIVITÀ	PAG.90
2.1.2 STATO DELL'ARTE DELLE COLTURE PER BIOENERGIA IN ITALIA	PAG.92
2.1.3 OSTACOLI ALLO SVILUPPO DI FILIERE AD HOC IN ITALIA	PAG.95
2.1.4 LE COLTURE POTENZIALMENTE IDONEE PER IL CONTESTO ITALIANO	PAG.99
ideotipo di colture per il contesto pedoclimatico italiano	pag.99
2.1.5 SELEZIONE DELLE MATRICI IDONEE	PAG.101
2.1.6 PROVE SPERIMENTALI E RISULTATI	PAG.106
caratterizzazione morfologica delle specie considerate	pag.108

caratterizzazione chimico fisica degli oli	pag.131
risultati e discussione	pag.138
2.1.7 CONSIDERAZIONI FINALI SUI RISULTATI SPERIMENTALI	PAG.141
2.1.8 PROSPETTIVE DI RICERCA	PAG.142
2.1.9 CONCLUSIONI	PAG.143
BIBLIOGRAFIA	PAG.145
RIFERIMENTI NORMATIVI E STATISTICHE	PAG.148
<b>2.2 STUDI DI LIFE CYCLE ASSESSMENT (LCA), CARBON FOOTPRINT</b>	<b>PAG.150</b>
2.2.1 INTRODUZIONE	PAG.149
2.2.2 APPROCCIO METODOLOGICO	PAG.149
2.2.3 DEFINIZIONE DELL'OBIETTIVO E CAMPI DI APPLICAZIONE DELLO STUDIO	PAG.149
Obiettivi dello studio	pag.149
ambito dello studio: descrizione del sistema	pag.150
unità funzionale	pag.151
confini del sistema	pag.151
cut-offs	pag.151
definizione dell'ambito per la fase di valutazione degli impatti ambientali	pag.151
2.2.4 ANALISI DI INVENTARIO	PAG.153
valutazione della qualità dei dati	pag.154
gestione della multifunzionalità	pag.154
assunzioni	pag.154
2.2.5 VALUTAZIONE DEGLI IMPATTI E INTERPRETAZIONE	PAG.154
classificazione e caratterizzazione	pag.155
normalizzazione	pag.158



Agenzia nazionale per le nuove tecnologie,  
l'energia e lo sviluppo economico sostenibile

2.2.6 CONCLUSIONI	PAG.159
BIBLIOGRAFIA	PAG.160
ALLEGATO A	PAG.161
ALLEGATO B	PAG.162

## INTRODUZIONE

Il presente rapporto descrive le attività intraprese nel periodo 01 luglio 2018 - 31 dicembre 2019. Nel capitolo 1, sono descritte le attività ed i risultati ottenuti per le Task 1.2, 1.3, 1.5, 1.6, afferenti al WP1; nel capitolo 2 sono descritte le attività ed i risultati ottenuti per le Task 2.1, 2.4 e 2.5 afferenti al WP2.

Il 3 luglio 2020 l'Aeronautica Militare ha trasmesso al Ministero la relazione congiunta ( AM-ENEA-CNR) sulla campagna sperimentale di Pratica di Mare effettuata nel dicembre 2019.

Il presente rapporto al capitolo 1 amplia le informazioni della relazione congiunta in quanto si riferisce all'elaborazione definitiva di tutti i dati a disposizione.

Il rapporto contiene anche le elaborazioni definitive degli studi effettuati nell'ambito del WP 2 sulle matrici idonee alla produzione di biocarburanti e sulla sostenibilità economico-ambientale della produzione di biocombustibili per aviotrazione.

La numerazione di tabelle e figure è consistente all'interno di ciascun paragrafo.

## **1. CARATTERIZZAZIONE DELL'IMPATTO SU AMBIENTE E SALUTE DEI BIOCOMBUSTIBILI PER AEROTRAZIONE E SVILUPPO DI UN NUOVO SISTEMA SENSORE MULTIPARAMETRICO.**

### **Rapporto conclusivo**

**Task 1.2 Campionamento e misure per la caratterizzazione chimico-fisica di biocarburanti per aerotrazione.**

**Task 1.3 Analisi tossicologica comparativa di biocarburanti per aerotrazione**

**Task 1.5 Test di validazione del sistema–sensori multiparametrico mediante prove comparative.**

**Task 1.6 Analisi, validazione, elaborazione e presentazione dei risultati.**

## 1.1 MATERIALI E METODI

### 1.1.1 CAMPAGNA DI MISURE

Nell'ambito dell'Accordo di Cooperazione in materia di "Produzione dei Biocombustibili e loro utilizzo nel settore dell'aviazione" (ABC), a completamento delle attività sperimentali previste per le Task 1.2, 1.3 e 1.5, nei giorni 3, 4 e 5 dicembre si sono svolte, presso il Centro Sperimentale di Volo (CSV) dell'aeroporto dell'Aeronautica Militare Italiana (nel seguito "AMI") "M. De Bernardi" di Pratica di Mare – Roma (nel seguito "PDM"), le prove motore con velivolo a terra, alimentato con carburante tradizionale e con miscela contenente biocombustibile.

Le prove sono state effettuate con un ritardo di circa un anno e mezzo, rispetto ai tempi previsti dal cronoprogramma di Progetto, per le sopraggiunte difficoltà riscontrate nell'identificazione, reperimento ed acquisto del combustibile tipo HEFA nella quantità (3000 litri) e con le caratteristiche tecniche (specificate in Annesso 2 ASTM D 7566) idonee per essere utilizzato nel velivolo AMX-TA-11B messo a disposizione dall'AMI.

Per rispettare esigenze di sicurezza e di logistica dell'AMI, le attività ENEA necessarie per lo svolgimento della campagna di misure, presso l'aeroporto di PDM, sono state suddivise in tre diverse fasi nel periodo compreso tra il 12 novembre e il 18 dicembre 2019.

I materiali e la strumentazione necessaria per la campagna di misure sono stati imballati e trasportati con il laboratorio trasportabile (nel seguito denominato container) dell'ENEA. Il container è stato posizionato presso la piazzola prove motore dell'aeroporto di PDM il 12 novembre e dal 12 al 15 novembre sono stati effettuati il disimballo e parte dell'installazione degli strumenti. Dal 28 novembre al 7 dicembre sono stati effettuati: l'allestimento dell'interfaccia di campionamento, il completamento dell'installazione, la messa in funzione degli strumenti, la campagna di misure, la disinstallazione dei sistemi di misura e parte dell'imballaggio della strumentazione. Dal 16 al 18 dicembre è stato completato l'imballaggio degli strumenti ed il recupero del container con il suo trasferimento presso la sede ENEA di Bologna.

Il sistema di misura delle emissioni messo in campo dal Dipartimento Sostenibilità dei Sistemi Produttivi e Territoriali dell'ENEA (ENEA SSPT), consiste in una linea di prelievo delle emissioni progettata e costruita appositamente per questa sperimentazione e del container all'interno del quale sono installati e impiegati i campionatori e i monitor per le misure.

### 1.1.2 SISTEMA DI PRELIEVO DELLE EMISSIONI

Il sistema di prelievo consente di prelevare in un unico punto le emissioni del turbofan e di trasferirle, tramite un condotto e un ventilatore centrifugo (ventola), a una camera di campionamento, nella quale sono inserite le teste di prelievo degli strumenti posti all'interno del container come di seguito meglio specificato.

Le caratteristiche dei componenti il sistema di prelievo delle emissioni sono riportate in Tabella 1.

TABELLA 1: COMPONENTI SISTEMA DI PRELIEVO DELLE EMISSIONI

componente	materiale	caratteristiche
Punto ingresso	inox	Ø 20 cm
Canale	alluminio	Ø 20 cm L max 22 m
Manicotti giunzione	inox	Ø 20 cm
Ventilatore centrifugo	polietilene antistatico	220V/550W Q max 3580 m <sup>3</sup> /h
Canale	polietilene antistatico	Ø 30 cm L 6 m
Camera campionamento	polietilene antistatico	Ø 120 cm L 5m
Regolatore tensione		220V 7A

Il container per motivi di sicurezza, dovuti all'utilizzo della piazzola per altre prove motore, svoltesi prima e dopo la campagna di misure ABC, è stato posizionato tra due manufatti in cemento armato (Figura 1): il muro di contenimento del terrapieno e la cabina di controllo della piazzola. Una volta stabilita la posizione dell'aereo e sistemati in campo sistemi di misura del CNR, è stata assemblata la canalizzazione del sistema di prelievo come riportato in Figura 1.



FIGURA 1: DISPOSIZIONE IN CAMPO DEL SISTEMA DI CAMPIONAMENTO ENEA.

Il punto di prelievo delle emissioni, riportato in Figura 2, è stato posizionato in asse con lo scarico del turbofan ad una altezza dal suolo di circa 110 cm. La parte del condotto in alluminio, per una lunghezza di circa 22 m, è stata posizionata e fissata al suolo in modo da minimizzare le perdite di carico sul flusso di aspirazione e resistere al getto del turbofan (Figura 2). La ventola, in aspirazione dal condotto in alluminio (Figura 3), immette aria nel condotto di polietilene antistatico, (Figura 4), che è termosaldato alla camera di campionamento. La ventola è dotata inoltre di un regolatore di tensione per poter stabilire un flusso d'aria in grado di sostenere la camera di campionamento e garantire un ricambio ottimale del volume d'aria nella camera senza tuttavia creare un'eccessiva sovrappressione che potrebbe danneggiarla. La camera di campionamento, un cilindro in polietilene antistatico di circa 6 m<sup>3</sup>, (Figura 5), è stata fissata al container tramite una rete in PVC, per contrastare eventuali venti provenienti dal quadrante Sud e con un sistema di fasce fissate ad una cima regolabile in tensione, per contrastare venti dal quadrante Nord (Figura 6).



**FIGURA 2: DETTAGLIO DEL PUNTO DI PRELIEVO IMPIEGATO PER IL CAMPIONAMENTO DELLE EMISSIONI: VISTA FRONTALE (A) E VISTA POSTERIORE (B) IN CUI SI APPREZZA IL POSIZIONAMENTO RELATIVO AL TURBOFAN DEL VELIVOLO AMX-TA-11B E L'AREA ATTREZZATA DEL CNR**



**FIGURA 3: DETTAGLIO DEL CONDOTTO IN ALLUMINIO ALLESTITO PER VEICOLARE I FUMI EMESSI DAL TURBOFAN ALLA CAMERA DI CAMPIONAMENTO.**



**FIGURA 4: DETTAGLIO DELLA VENTOLA CON LA PARTE DI CONDOTTO IN POLIETILENE ANTISTATICO TERMOSALDATO ALLA CAMERA DI CAMPIONAMENTO**



**FIGURA 5: DETTAGLIO DELLA CAMERA DI CAMPIONAMENTO (VISTA POSTERIORE – LATO SE) CON RETE DI CONTENIMENTO.**



**FIGURA 6: DETTAGLIO DEGLI ANCORAGGI IMPIEGATI PER MANTENERE STABILE LA CAMERA DI CAMPIONAMENTO (VISTA LATERALE – LATO NO).**

### 1.1.3 CONTAINER E STRUMENTI DI MISURA

All'interno del container sono stati installati strumenti per misure online ad elevata risoluzione temporale che hanno consentito di determinare nel corso delle prove motore l'andamento dei seguenti parametri:

- Idrocarburi Totali Non Metanici (TNMHC), mediante gas cromatografia (Synspec ALPHA 115), limite di rilevabilità da 0.05 a 100 ppm;
- SO<sub>2</sub> mediante fluorescenza UV (TELEDYNE 101E H<sub>2</sub>S/SO<sub>2</sub> Analyzer), limite di rilevabilità di 0.4 ppb;
- monitor NO<sub>2</sub>/NO/NO<sub>x</sub> (Modello 405-nm<sup>1</sup>, 2B Technologies Inc. Figura 15) per il monitoraggio del biossido di azoto mediante assorbimento a 405 nm (blu), limite di rilevabilità da 0 a 10 ppm per il NO<sub>2</sub> e da 0 a 2 ppm per il NO; il campionamento è eseguito dalla linea di prelievo che pesca nella camera di campionamento della linea canale di fumo con un percorso a valle della sezione di aspirazione (indicata come Aspiraz. Monitor in Figura 13) di circa 30 metri;
- monitor CO<sub>2</sub>/O<sub>3</sub> (Modello 106-L, 2B Technologies Inc. Figura 15), per il monitoraggio dell'anidride carbonica e dell'ozono mediante NDIR, limite di rilevabilità 1 ppm;
- distribuzione dimensionale in numero di particelle del PM in 104 canali da 7 nm a 300 nm, con classificatore di mobilità elettrica e contatore di nuclei di condensazione (TSI 3938 Scanning Mobility Particle Sizer, SMPS), incertezza nel dimensionamento < 2%, risoluzione temporale 3 minuti; limite di rilevabilità in conteggio da 0 a 100000 #/cm<sup>3</sup>;
- concentrazione nel PM<sub>2.5</sub> di carbonio totale (TC), carbonio organico (OC) e carbonio elementare (EC) con metodo termo-ottico a trasmittanza (TOT), protocollo termico NIOSH-like e di black carbon (BC) con metodo ottico (in fase di campionamento misura ogni minuto della trasmittanza del campione a 680 nm). Le misure sono state effettuate con monitor SUNSET Semi-Continuous Carbon Aerosol Analyzer, equipaggiato con denuder per la rimozione dei composti organici volatili (COV); limite di rilevabilità di 0.24 µgC/m<sup>3</sup> per l'OC e di 0.11 µgC/m<sup>3</sup> per l'EC;
- concentrazione nel PM<sub>1</sub> di materia organica (OM) e sue componenti (100 amu), ammonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), solfato (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>), nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e cloro (Cl<sup>-</sup>) mediante spettrometro di massa Aerosol Chemical Speciation Monitor (ACSM); risoluzione temporale 11 minuti; limiti di rilevabilità: 0.5 µg/m<sup>3</sup> per OM, < 0.2 µg/m<sup>3</sup> per SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e Cl<sup>-</sup>, 1 µg/m<sup>3</sup> per NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Questi dati sono disponibili solo per III e IV prova motore con miscela-bio, a causa di un problema tecnico dello strumento durante le prime quattro prove;
- distribuzione dimensionale in numero di particelle del PM di diametro compreso tra 0.250 e 1.7 µm con metodo ottico (monitor ottico GRIMM mod. 1.107), risoluzione temporale 1 minuto; limite di rilevabilità di 1 #/L e di 1 µg/m<sup>3</sup>.
- esposizione cellulare (colture cellulari di epitelio bronchiale umano, BEAS-2B) diretta agli aero-inquinanti ambientali presenti nel PM<sub>2.5</sub> (un'esposizione ogni prova motore) mediante l'utilizzo di due sistemi CULTEX<sup>®</sup> RFS-1 Compact Type (CULTEX<sup>®</sup> GmbH- Germania) e successiva valutazione della risposta biologica delle cellule esposte. Per la preparazione, manipolazione e conservazione delle colture cellulari da esporre, è stato installato, presso un laboratorio dell'AMI, un incubatore a CO<sub>2</sub> e utilizzata una cappa a flusso laminare. Dato il carattere innovativo della metodologia utilizzata e il contesto applicativo per un ulteriore

---

<sup>1</sup> Certificato QAL1 da TUV Rheinland secondo gli standard europei EN15267 e EN14211. Approvato come Federal Equivalent Method (FEM) della EPA per l'inquinante NO<sub>2</sub>.

approfondimento si rimanda al paragrafo a pag. 20 “Esposizione di modelli in vitro alle emissioni mediante un sistema innovativo”

Oltre alle misure online sono stati condotti campionamenti di  $PM_{2.5}$  su diversi tipi di supporti filtranti mediante 3 campionatori ZAMBELLI mod. DIGIT (flusso di campionamento di 12,78 l/min).

Più in dettaglio, per l'intera durata di ogni prova sono stati raccolti un campione su supporto in PTFE (Pall TEFLO W/RING pore size 1.0  $\mu m$  Ø47) e due su supporti in fibra di quarzo (Pall 2500-QUAT-UP Ø47mm). Per stimare e correggere l'artefatto positivo, dovuto all'adsorbimento di composti volatili del carbonio o precursori gassosi di ioni secondari sul supporto filtrante frontale, un secondo supporto in fibra di quarzo è stato posto sotto il supporto frontale in quarzo (quartz behind quartz filter, QBQ) seguendo il metodo del backup quartz approach, come riportato da Cheng et al., 2009 e da Hwang et al., 2017.

Sui campioni raccolti su PTFE sono state condotte misure integrate di:

- concentrazione in massa del  $PM_{2.5}$  con metodo gravimetrico, limite di rilevabilità 10  $\mu g$ ;
- metalli ed elementi in traccia con tecnica di spettrometria a fluorescenza a raggi-X (ED-XRF, Rigaku NEX CG ).

Sui campioni raccolti su supporti in fibra di quarzo sono state condotte misure integrate di:

- concentrazioni di carbonio organico (OC) e carbonio elementare (EC) mediante metodo termo-ottico a trasmittanza (TOT, protocollo termico NIOSH-870, analisi effettuate su fustelle da 1.5  $cm^2$ ), analizzatore termo-ottico Sunset Laboratory Dual-Optical Carbonaceous Analyzer (Sunset Laboratory), con limite di rilevabilità 0.24  $\mu gC/m^3$  per OC e 0.11  $\mu gC/m^3$  per EC;
- concentrazione dei principali ioni inorganici idrosolubili ( $Cl^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $NH_4^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ) mediante cromatografia ionica (Dionex ICS 1100)
- caratterizzazione degli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) mediante estrazione, il medesimo estratto è stato utilizzato anche per le prove di tossicità *in vitro* (attività Task 1.3)

Per le analisi IPA i filtri sono stati estratti mediante un sistema per estrazione accelerata con solvente (Accelerated Solvent Extraction) ASE 200 Dionex con le seguenti condizioni:

- Sistema solvente esano:acetone 1:1
- $T=120^\circ C$  Press=1500 psi
- Due cicli di estrazione (con 5 min di fase statica)
- Cella a basso volume (7 mL) per minimizzare la quantità di solvente totale utilizzata (circa 15 mL)

Non sono stati aggiunti composti surrogati o altro prima dell'estrazione per non alterare il profilo chimico degli estratti, in vista dei test biologici successivi.

Dopo l'estrazione, un'aliquota di circa l'8% dell'estratto è stata prelevata gravimetricamente per l'analisi degli IPA, addizionata con una miscela di IPA deuterati (antracene-d10, pirene-d10, crisene-d12, perilene-d12) e ridotta ad un volume di circa 150  $\mu L$  per la successiva determinazione quantitativa.

Il resto dell'estratto, riservato alle analisi biologiche, è stato portato a piccolo volume (circa 1 mL) con evaporatore rotante, eventualmente miscelato con estratti di altri filtri, e portato a secco con un leggero flusso di azoto.

La determinazione degli IPA è stata effettuata con gascromatografia accoppiata a spettrometria di massa (GC/MS) su un sistema Agilent 7890a GC/5975c MS, equipaggiato con una colonna capillare DB-5ms (Agilent, 30m x 250  $\mu m$  x 0.25  $\mu m$ ). Programma termico 40 $^\circ C$  x 2min, 20 $^\circ C$ /min

fino a 200°C x 1 min, 4°C/min fino a 300°C x 1 min, 20°C/min fino a 320°C x 7min, ionizzazione EI a 70eV, acquisizione dati in modalità SIM (Single Ion Monitoring).

Campionatori e monitor sono stati collegati a cinque linee di prelievo poste all'interno della camera di campionamento, mostrate in Figura 7. Ogni linea ha un proprio flusso di aspirazione legato al taglio aerodinamico della testa di campionamento utilizzata. I campionatori e i monitor sono stati distribuiti nelle varie linee in funzione dei loro flussi di misura come mostrato in Tabella 2.



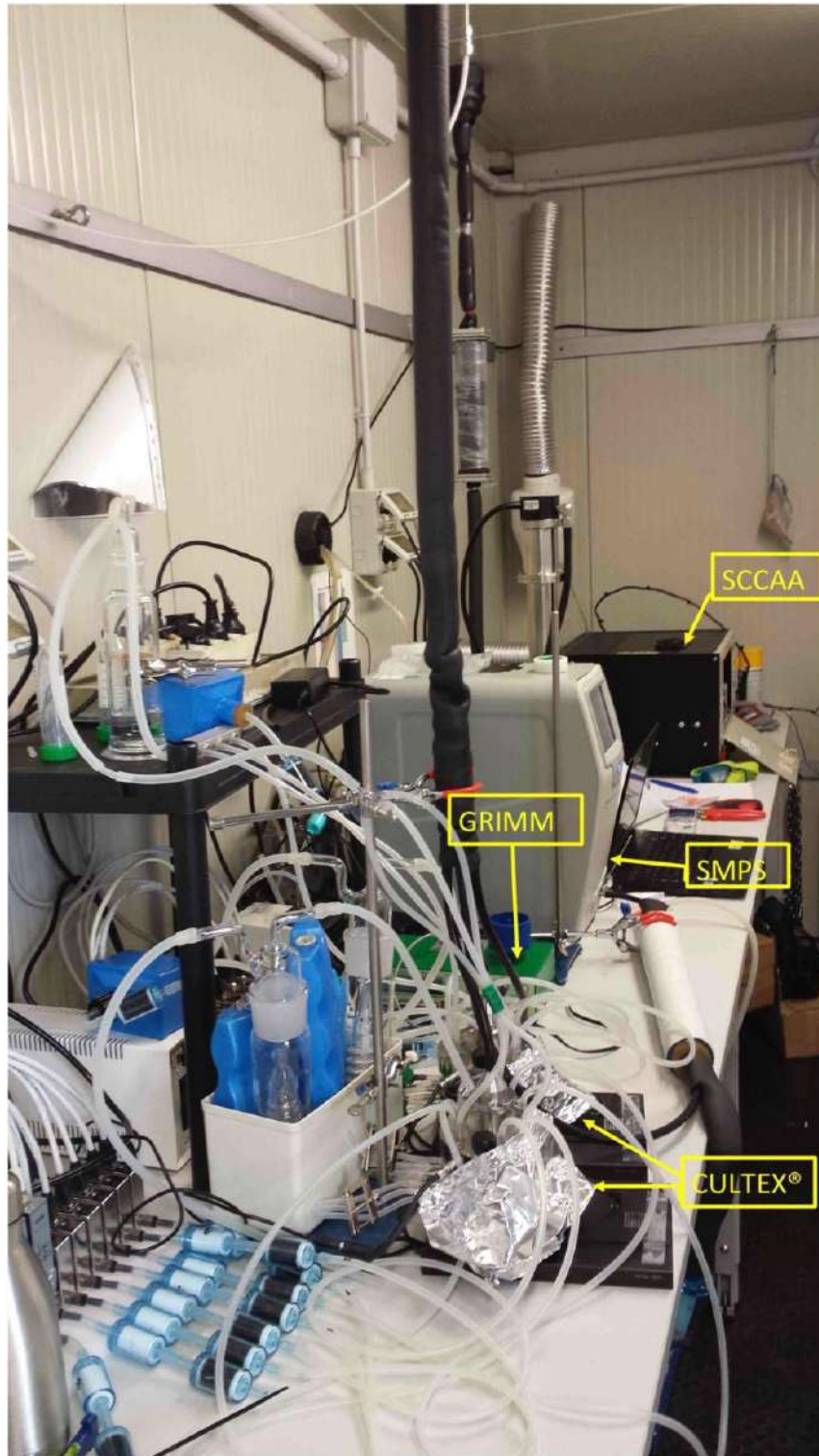
FIGURA 7: DISPOSIZIONE DELLE CINQUE LINEE DI PRELIEVO ALL'INTERNO DELLA CAMERA DI CAMPIONAMENTO, IN PRIMO PIANO LA LINEA DI PRELIEVO N°5 PIÙ PROSSIMA ALLA BOCCA DI USCITA DELLA CAMERA DI CAMPIONAMENTO (SI VEDA FIGURA 5).

TABELLA 2: CARATTERISTICHE DELLE CINQUE LINEE DI CAMPIONAMENTO E LISTA DEGLI STRUMENTI AD ESSE ASSOCIATI.

LINEA	1	2	3	4	5
PM/gas	PM <sub>1</sub>	PM <sub>2.5</sub>	PM <sub>1.7</sub>	Gas	PM <sub>2.5</sub>
lpm	3	38.3	4	-	9
Strumenti	ACSM	n° 3 pompe tipo DIGIT	SMPS GRIMM 2 x CULTEX®	M/TNMHC CO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> NO, NO <sub>2</sub> , NO <sub>x</sub>	SCCAA

In Figura 8 è mostrata in fase operativa la disposizione nel container della strumentazione di misura relativa alle linee 3 e 5: in primo piano i due sistemi di esposizione di sistemi cellulari *in vitro* rappresentativi dell'epitelio polmonare umano (avvolti in fogli di alluminio), il monitor ottico GRIMM (in verde), lo spettrometro SMPS per PM<sub>0.3</sub> e sul fondo il monitor per la misura del TC, EC e OC nel PM<sub>2.5</sub>.

In Figura 9 si può vedere la disposizione dei due monitor di CO<sub>2</sub> e NO<sub>2</sub>/NO/NO<sub>x</sub> nella parte superiore del rack (linea 4) e in primo piano lo spettrometro di massa ACSM (linea1). Alla linea 4 sono collegati anche il monitor dei VOC, posto nella parte inferiore del rack di Figura 9 e il monitor di SO<sub>2</sub> riportati rispettivamente nelle Figure 10 e Figura 11. In Figura 12 sono mostrati i tre portafiltri inox con Ø da 47 mm collegati alla linea 2.



**FIGURA 8: STRUMENTI ASSOCIATI ALLE LINEE DI PRELIEVO N°3 E N°5. IN PRIMO PIANO I DUE SISTEMI DI ESPOSIZIONE CULTEX®, A SEGUIRE IL MONITOR OTTICO GRIMM, LO SPETTROMETRO SMPS E SUL FONDO L'ANALIZZATORE DI CARBONIO SCCAA.**



**FIGURA 9: RACK CON I MONITOR DI CO<sub>2</sub> E NO<sub>2</sub>/NO/NO<sub>x</sub> IN ALTO E LO SPETTROMETRO DI MASSA ACSM.**



FIGURA 10: MONITOR PER L'ANALISI DEGLI IDROCARBURI TOTALI NON METANICI (TNMHC)



FIGURA 11: MONITOR PER L'ANALISI DEL BLOSSIDO DI ZOLFO (SO<sub>2</sub>)

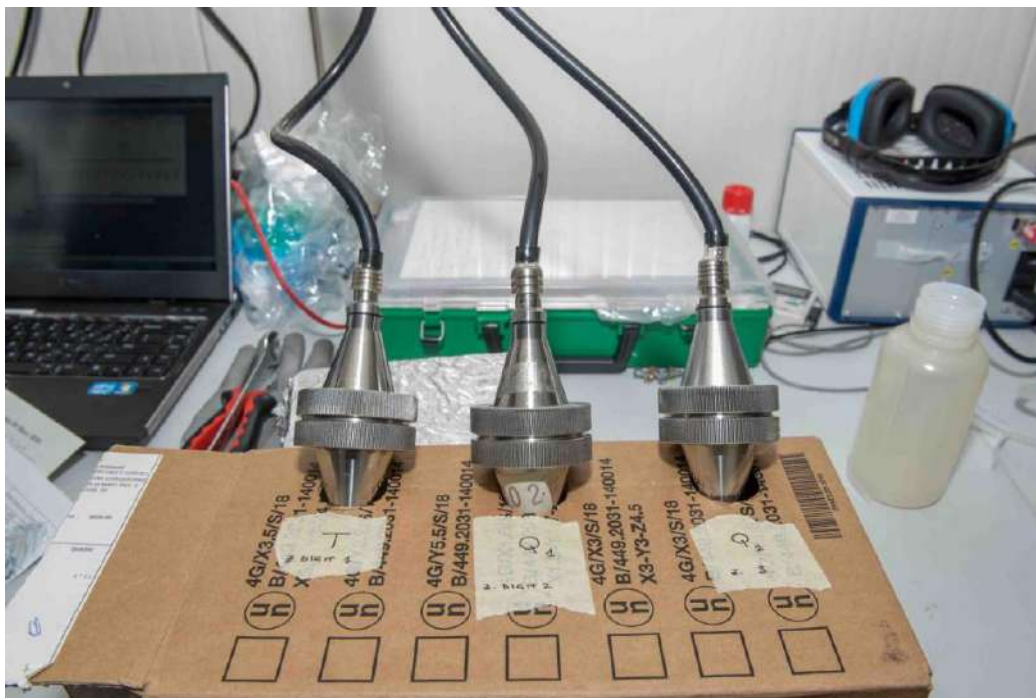


FIGURA 12 : PARTICOLARE DEI PORTAFILTRI IN ACCIAIO INOSSIDABILE IMPIEGATI PER LA RACCOLTA DI CAMPIONI DI PM<sub>2.5</sub> SU FILTRI IN TEFLON (T) E QUARZO (Q<sub>1</sub> E Q<sub>2</sub>) CON Ø 47 MM

#### 1.1.4 SENSORI E STRUMENTAZIONE PER LA QUALITÀ DELL'ARIA (ENEA BRINDISI)

Oltre ai monitor NO<sub>2</sub>/NO/NO<sub>x</sub> e CO<sub>2</sub>/O<sub>3</sub> (Figura 15) installati nel container, è stata posizionata in campo la seguente strumentazione:

-odorimetro portatile OMX-TDM VOC Shinyei Technology Co. Ltd. (**TVOC** - Toluene, etc, range di misura fino a 9999 mg/m<sup>3</sup>), per la misura delle emissioni di composti organici totali (tVOCs) espressi come equivalenti in toluene, posizionato in asse rispetto allo scarico del velivolo, ad una distanza di circa 18 metri dallo stesso, ancorato al palo di sostegno della bocchetta di aspirazione del canale di fumo di ENEA Bologna, ad un'altezza di circa 1 metro dal suolo. e corpo protetto da eventuali agenti atmosferici con busta in polietilene (Figura 14);

-2 sensori PM<sub>10</sub>/PM<sub>2.5</sub>/PM<sub>1.0</sub> (OPC-N2, Alphasense, Sensor Technology House, distribuiti come segue: 1 sensore di particolato posizionato fuori dal plume di scarico dell'aereo e collocato lateralmente, ad una distanza di circa 12 metri dall'asse dello scarico, per il monitoraggio continuo del particolato (PM<sub>10</sub>/PM<sub>2.5</sub>/PM<sub>1.0</sub>), ed 1 sensore di particolato posizionato lateralmente rispetto allo scarico ad una distanza di circa 15 metri dallo stesso (Figura 16).

-1 nodo multiparametrico (Figura 17), collocato subito oltre il manufatto in cemento armato (NNE rispetto allo scarico del velivolo) e non direttamente esposto al getto di scarico, per la misura del fondo degli inquinanti. Elenco della sensoristica con cui è stato equipaggiato il nodo è riportata in Tabella 3;

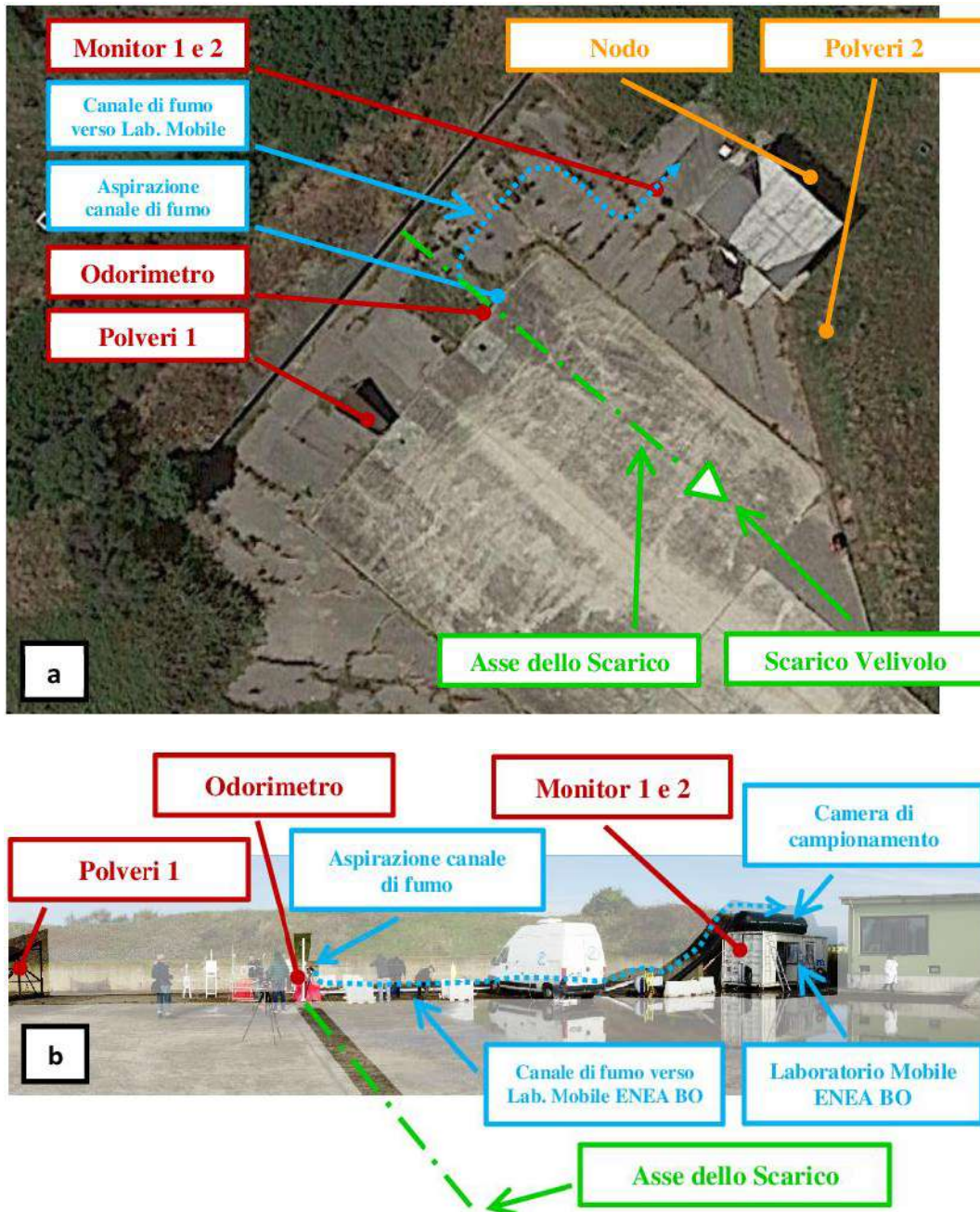
**TABELLA 3: CARATTERISTICHE DEI SENSORI USATI NEL SISTEMA-SENSORE MULTIPARAMETRICO PER LA QUALITÀ DELL'ARIA SVILUPPATO DA ENEA BRINDISI ED INSTALLATO PRESSO L'AEROPORTO "MARIO DE BERNARDI" DI PRATICA DI MARE PER LA CAMPAGNA DI MISURA SPERIMENTALE PER LA VALUTAZIONE DELL'IMPATTO DELLE EMISSIONI GASSOSE DA AEROMOBILI MILITARI ALIMENTATI CON COMBUSTIBILE FOSSILE E BIOCARBURANTE.**

Sensori	Range di misura	Identificativo
NO <sub>2</sub>	0 ÷ 2 ppm	NO2-B4, Alphasense
O <sub>3</sub>	0 ÷ 2 ppm	O3-B4, Alphasense
CO	0 ÷ 20 ppm	CO-B4, Alphasense
SO <sub>2</sub>	0 ÷ 2 ppm	SO2-B4, Alphasense
PM <sub>10</sub>	0 ÷ 100 mg/m <sup>3</sup>	PPD20V, Shinyei
CO <sub>2</sub>	0 ÷ 5000 ppm	NDIR, IRC-A1, Alphasense
Temperatura	-40 ÷ 125 °C	TC1047A, Microchip
Umidità Relativa	0 ÷ 90 %	HIH-5030, Honeywell

Il posizionamento della strumentazione durante le prove è stata riportata nei layout di Figura 13, mentre lo specchio con il riepilogo della copertura delle prove con la sopraindicata strumentazione è stato sintetizzato nella successiva Tabella 4.

I due Monitor NO<sub>2</sub>/NO/NO<sub>x</sub> e Monitor CO<sub>2</sub>/O<sub>3</sub> nonché il nodo multiparametrico sono stati alimentati da rete elettrica ed hanno un orologio interno per definire un'ascissa temporale delle misure. In particolare i 2 monitor sono stati collegati ad un computer portatile dedicato che ha assolto la funzione di datalogger e che ha provveduto alla sincronizzazione delle misure provenienti da due unità distinte assegnando etichetta oraria dal proprio orologio interno avente sincronizzazione con server NTP. Stesso tipo di sincronizzazione è in uso per il nodo multiparametrico.

I 2 nodi delle polveri e l'odorimetro palmare, invece, ricevono alimentazione da corpi batteria indipendenti ed hanno sistemi orario interni che si avviano dal momento dell'effettiva erogazione dell'alimentazione: la sincronizzazione dei dati è stata eseguita registrando, dispositivo per dispositivo, l'orario di inizio di erogazione dell'alimentazione elettrica.



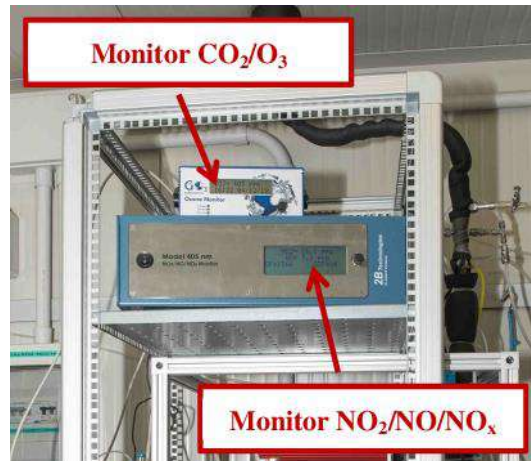
**FIGURA 13: LAYOUT STRUMENTAZIONE ENEA BRINDISI (A) VISTA SATELLITARE (FONTE IMMAGINE: [HTTPS://WWW.GOOGLE.IT/MAPS/@41.6638448,12.4389679,72m/data=!3m1!1e3](https://www.google.it/maps/@41.6638448,12.4389679,72m/data=!3m1!1e3)) E (B) VISIONE D'INSIEME DELL'AREA A MAGGIORE ESPOSIZIONE.**

**TABELLA 4: COPERTURA DELLE PROVE CON LA STRUMENTAZIONE DI ENEA BRINDISI (SIMBOLI PER LA PRESENZA DELLA STRUMENTAZIONE: ● PRESENTE, ○ NON PRESENTE).**

Dispositivo	Parametri	Giorno					
		3/12		4/12		5/12	
		Prova					
		Fossile		Bio 13%		Bio 17%	
		P1	P2	P3	P4	P5	P6
Monitor 1	O <sub>3</sub> , CO <sub>2</sub>	●	●	●	●	●	●
Monitor 2	NO <sub>2</sub> , NO	●	●	●	●	●	●
Odorimetro	VOC <sub>s</sub>	●	●	●	●	○	○
Nodo Multisensore	T, RH, PM, CO, CO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub>	●	●	●	●	○	○
Polveri 1	PM <sub>1</sub> , PM <sub>2.5</sub> , PM <sub>10</sub>	●	●	●	●	○	○
Polveri 2	PM <sub>1</sub> , PM <sub>2.5</sub> , PM <sub>10</sub>	●	●	●	●	○	○



**FIGURA 14: ODORIMETRO PALMARE PER LA MISURA DEI TVOCs POSIZIONATO, IN ASSE CON IL GETTO DI SCARICO DEL VELIVOLO, SUL MONTANTE DI ANCORAGGIO DELLA SEZIONE DI ASPIRAZIONE DEL CANALE DI FUMO CHE ALIMENTA LA CAMERA DI CAMPIONAMENTO DEL LABORATORIO MOBILE DI ENEA BOLOGNA.**



**FIGURA 15: MONITOR NO<sub>2</sub>/NO E MONITOR O<sub>3</sub>/CO<sub>2</sub>.OSPITATI SUL RACK ALL'INTERNO DEL LABORATORIO MOBILE.**



**FIGURA 16: BOX SENSORI POLVERI CORRISPONDENTI (RISPETTO AL LAYOUT DI FIGURA ) (A) AL NODO POLVERI 1 E (B) AL NODO POLVERI 2.**



**FIGURA 17: NODO MULTIPARAMETRICO PER LA MISURA DI INQUINANTI POSIZIONATO A NNE RISPETTO ALLO SCARICO DEL VELIVOLO, OLTRE IL MANUFATTO IN CEMENTO ARMATO.**

### **1.1.5 ESPOSIZIONE DI MODELLI IN VITRO ALLE EMISSIONI MEDIANTE UN SISTEMA INNOVATIVO E ANALISI TOSSICOLOGICA COMPARATIVA DI BIOCARBURANTI PER AEROTRAZIONE**

Le attività si sono articolate in una prima fase focalizzata sulla sperimentazione in campo e una seconda fase in laboratorio.

Nel corso della campagna di misure, all'interno del container ENEA sono stati installati in parallelo, sulla stessa linea di prelievo, due sistemi CULTEX® RFS-1 (Figura 18), al fine di garantire le stesse condizioni di esposizione di tutti i modelli cellulari impiegati.

Il sistema CULTEX® RFS-1 permette l'esposizione diretta ad un flusso di aria ambiente campionata nelle condizioni di interesse. Questo tipo di metodologia permette un'esposizione simile a quella fisiologica umana, poiché il sistema cellulare è a diretto contatto con l'atmosfera, senza interferenze con il mezzo di coltura che è posto sotto lo strato cellulare.

Il flusso di prelievo del campione d'aria è pari a  $1 \text{ L min}^{-1}$  mentre ogni campione cellulare è esposto ad un flusso d'aria variabile tra  $5$  e  $10 \text{ mL min}^{-1}$ . All'interno di ogni espositore è possibile alloggiare 6 differenti campioni di cellule coltivate all'interfaccia aria-liquido su inserti idonei alle manipolazioni di sistemi *in vitro*. Il flusso di prelievo e quello di esposizione di ogni singolo espositore sono garantiti da 7 controllori di flusso indipendenti (Figura 19) gestiti da un sistema programmabile tramite PC e da una pompa a vuoto.

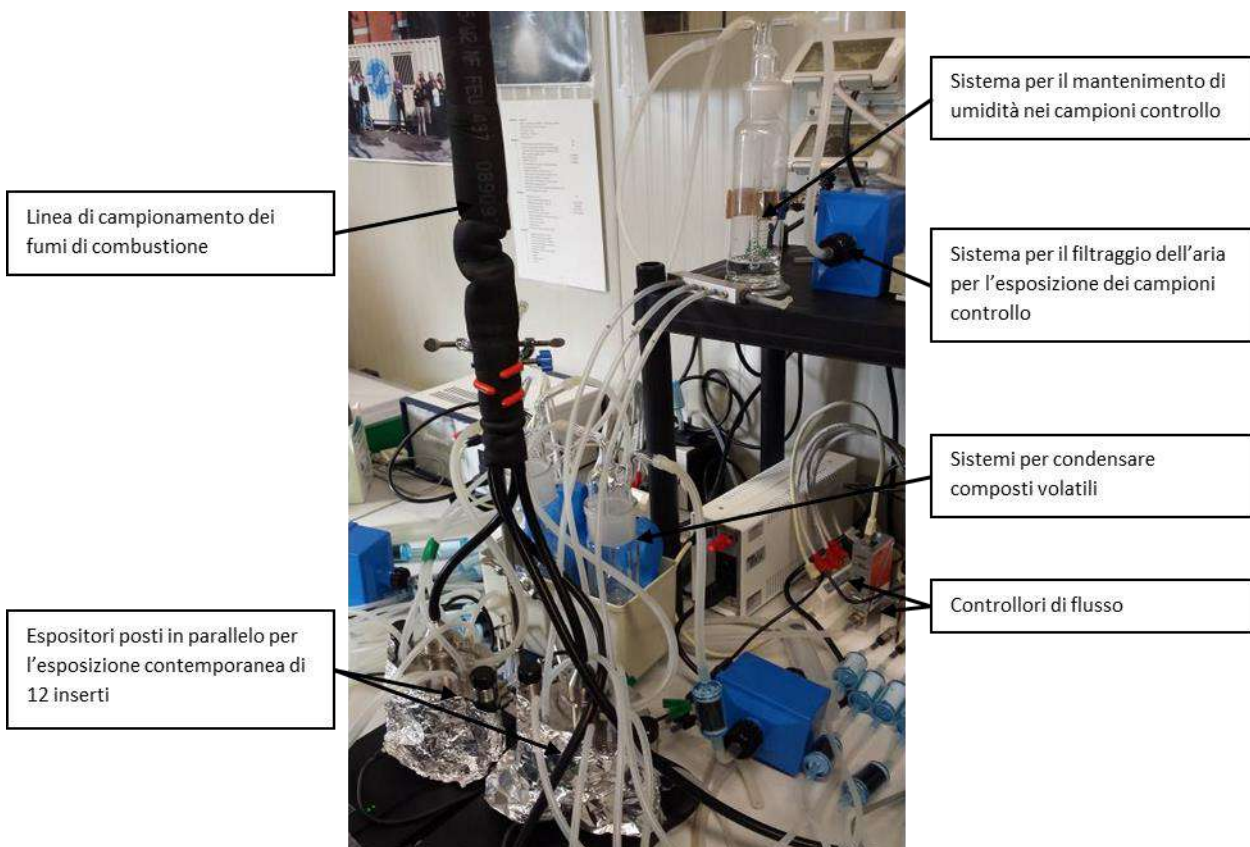


**FIGURA 18: DETTAGLIO DEI SISTEMI DI ESPOSIZIONE CULTEX® RFS-1 POSIZIONATI IN PARALLELO SULLA STESSA LINEA DI CAMPIONAMENTO**



**FIGURA 19: DETTAGLIO DEI CONTROLLORI DI FLUSSI PER LA CORRETTA GESTIONE DEL VOLUME DI CAMPIONAMENTO DELL'ARIA AMBIENTE E DEL VOLUME DI ESPOSIZIONE DEI MODELLI CELLULARI**

In ciascuno dei due espositori impiegati, tre sistemi cellulari sono stati esposti ai fumi di combustione e tre sistemi sono stati invece esposti ad un flusso d'aria di controllo (aria ambiente filtrata per la rimozione di particolato e di composti organici volatili e umidificata mediante gorgogliamento in acqua sterile). All'uscita della linea di prelievo dall'espositore è stata alloggiata una trappola a freddo (Figura 20) per favorire l'eventuale condensazione di composti volatili e per garantire il corretto funzionamento dei sistemi di controllo del flusso di campionamento dei fumi di combustione.



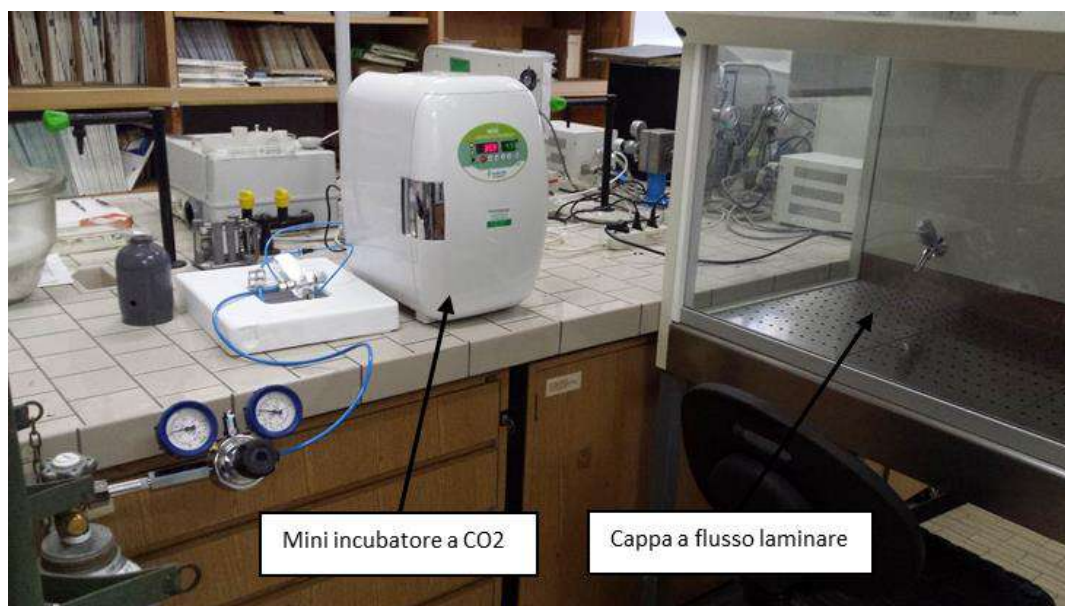
**FIGURA 20: SISTEMI DI ESPOSIZIONE CULTEX® RFS-1 DURANTE UNA PROVA DI ESPOSIZIONE NEL CORSO DELLE PROVE EFFETTUATE PRESSO L'AEROPORTO MILITARE DI PDM.**

I sistemi di esposizione sono stati attivati all'inizio di ogni prova motore e fermati al termine della stessa al fine di esporre i sistemi cellulari alle sole emissioni derivanti dalla combustione dei combustibili di interesse.

Presso gli spazi dei laboratori messi a disposizione dal CSV dell'AMI è stata attrezzata un'area per la preparazione degli espositori e per la manipolazione degli inserti con le cellule. I sistemi cellulari, prima del loro alloggiamento all'interno degli espositori, sono stati mantenuti in un piccolo incubatore a CO<sub>2</sub>, per garantire il mantenimento ai livelli ottimali di CO<sub>2</sub> (5%) e di temperatura (37 °C); le manipolazioni delle cellule sono state condotte in ambiente sterile mediante l'utilizzo di una cappa a flusso laminare (Figura 21).

Prima di ogni prova motore, gli inserti contenenti le cellule sono stati posizionati negli appositi contenitori dei moduli espositivi, precedentemente riempiti con 4 mL di mezzo di coltura e i moduli sono stati quindi trasferiti nel container per l'esposizione durante la prova motore.

Nel corso di ogni prova di esposizione sono stati quindi raccolti sei campioni cellulari esposti alle emissioni e sei campioni cellulari di controllo impiegati come riferimento di non effetto. I campioni di cellule e i terreni cellulari al termine dell'esposizione sono stati conservati per le analisi biologiche utili alla definizione del possibile impatto tossicologico delle emissioni.



**FIGURA 21: AREA DI LAVORO PREDISPOSTA PRESSO I LABORATORI DEL CSV DI AM.**

La linea cellulare BEAS-2B, utilizzata per le esposizioni e per i test di tossicità in laboratorio deriva da un epitelio bronchiale umano normale e costituisce un modello cellulare ben caratterizzato e largamente utilizzato nella sperimentazione *in vitro* mirata a valutare possibili effetti tossici a carico dell'epitelio polmonare.

Le cellule sono state mantenute in coltura a 37° C in un'atmosfera umidificata al 5% di CO<sub>2</sub> nel mezzo di coltura LHC-9 (Life Technologies, USA). Una settimana prima delle esposizioni le cellule sono state seminate in inserti con membrane semipermeabili (Corning, USA) alla densità di 45.000 cellule/inserto e cresciute all'interfaccia aria-liquido (Air Liquid Interphase).

Le cellule posizionate nelle posizioni 2,4,6, sono state esposte alle emissioni del motore del velivolo mentre quelle posizionate in 1,3,5 all'aria filtrata e umidificata. Alla fine di ogni esposizione è stato prelevato il sovranatante delle colture esposte, aliquotato e congelato a -20°C. Per due esposizioni, la quarta e la sesta, gli inserti con le cellule sono stati rimessi in incubatore, per un recupero di 1 h e successivamente anche questo sovranatante è stato aliquotato e congelato a -20°C. In totale sono stati raccolti 96 sovrinatanti, di cui 36 esposti all'aria filtrata (controlli), 36 esposti alle emissioni (esposti) e 24 (di cui 12 esposti e 12 di controllo) raccolti dopo il tempo di recupero di 1h. In parallelo, campioni delle stesse cellule sono stati mantenuti in incubatore come controllo di laboratorio.

Alla fine di tutte le esposizioni i campioni congelati e i filtri in quarzo sono stati portati nel laboratorio SSPT-TECS-SAM (ex SSPT-TECS-BIORISC) per i successivi test e analisi.

### 1.1.6 CITOTOSSICITÀ E INFIAMMAZIONE NEI SOVRANATANTI DELLE CELLULE BEAS-2B ESPOSTE IN CAMPO

**Vitalità cellulare.** È stata analizzata la vitalità cellulare, quale parametro biologico per valutare l'effetto citotossico nelle cellule BEAS-2B esposte alle emissioni del velivolo durante le prove motore sia con carburante fossile che con miscela bio, tramite la misura dell'attività della lattato deidrogenasi (LDH), un enzima citoplasmatico rilasciato dalle cellule non vitali a seguito della degradazione della membrana plasmatica.

L'attività dell'LDH rilasciata nei sovrinatanti dalle cellule esposte e dai controlli è stata misurata utilizzando il saggio fluorimetrico CytoTox-ONE™ Homogeneous Membrane Integrity Assay (Promega, USA) basato sulla riduzione della resazurina che genera un prodotto fluorescente, la resofurina, la cui intensità risulta proporzionale alla quantità di LDH.

I sovrinatanti sono stati diluiti con il reagente CytoTox-One contenente la resazurina (1:1v/v) e incubati per 10 min a temperatura ambiente. Le piastre con i sovrinatanti sono state lette al luminometro/fluorimetro Glomax Discover System (Promega) dopo aver selezionato i filtri di emissione ed eccitazione ottimali per la lettura di fluorescenza emessa dal substrato (Eccitazione 560/ Emissione 590 nm).

**Citochine infiammatorie.** Negli stessi sovrinatanti è stato analizzato anche un pannello di citochine umane: Interleuchina-8 (IL-8), Interleuchina-1 beta (IL-1 $\beta$ ), Interleuchina-6 (IL-6), Interleuchina 10 (IL-10), Fattore di Necrosi Tumorale (TNF-alfa) e Interleuchina (IL-12), rappresentativo di una risposta infiammatoria.

L'infiammazione è il primo meccanismo di risposta biologica del tessuto polmonare esposto a inquinanti ambientali. Il sistema immunitario risponde con una difesa organizzata, che coinvolge un gran numero di cellule specializzate che rilasciano una serie di mediatori pro-infiammatori come le citochine.

Le 6 proteine del pannello infiammatorio, sono state simultaneamente quantificate mediante il kit Human Inflammatory Cytokine CBA ((Becton Dickinson, USA). L'analisi è stata eseguita seguendo rigorosamente le indicazioni del produttore. In breve, in apposite provette sono stati mescolati le biglie del saggio, il sovrinatante delle cellule o gli standard delle citochine e gli anticorpi marcati con il colorante fluorescente PE. Dopo un'incubazione di tre ore, i campioni sono stati lavati e centrifugati per essere risospesi con apposito tampone. I campioni sono stati analizzati con il citometro a flusso FACS Calibur (Becton Dickinson).

La concentrazione di ogni citochina nei sovrinatanti delle cellule è stata calcolata mediante il software di analisi FCAP Array, utilizzando le curve standard ottenute dalle analisi degli standard delle citochine analizzate.

### 1.1.7 TOSSICITÀ DEGLI ESTRATTI ORGANICI (EO)

**Preparazione delle soluzioni di estratto e concentrazioni utilizzate per il trattamento.** Per avere una quantità di materiale sufficiente per tutta la sperimentazione biologica, gli estratti ottenuti nelle diverse sessioni di esposizione per i due tipi di carburante sono state unite ed essiccate. Dopo

essiccamento, gli estratti organici (EO) ottenuti dai filtri esposti a carburante fossile e da quelli esposti alla miscela bio sono stati risospesi in dimetilsolfossido (DMSO) e congelati a  $-20^{\circ}\text{C}$  fino al loro utilizzo per gli studi tossicologici. Sulla base della quantità di particolato depositata sui filtri esposti al fossile e di quella dei filtri esposti alla miscela bio, sono state preparate due soluzioni di estratto organico alla concentrazione di  $1\text{ mg PM-equivalenti (eq) /ml}$ , relative ai due tipi di carburante. Una soluzione, è stata preparata anche per l'estratto da filtro di quarzo bianco non esposto da utilizzare come controllo. Al momento dell'uso, queste soluzioni madre sono state opportunamente diluite con terreno di coltura per ottenere le concentrazioni di EO, espresse in  $\mu\text{g PM-eq/cm}^2$ , alle quali sono state esposte le cellule BEAS-2B nei vari saggi.

In tutti gli esperimenti effettuati oltre ai campioni trattati con gli estratti organici a diverse concentrazioni, sono stati preparati campioni di controllo che consistevano in cellule trattate con l'estratto da filtro bianco non esposto, campioni di controllo solvente trattate con DMSO (il solvente utilizzato per sciogliere l'estratto) e campioni trattati con benzo(a)pirene (BaP) (controllo positivo). La concentrazione del DMSO, non superava mai l'1% (v/v), limite massimo di solvente organico raccomandato dalle linee guida dell'OECD Guidelines for the Testing of Chemicals-TG487.

**Proliferazione e vitalità cellulare.** Per valutare la proliferazione e la vitalità cellulare delle cellule BEAS-2B a seguito del trattamento con diverse concentrazioni degli estratti organici, è stato utilizzato il Real-Time Cell Viability Assay (Promega, USA). In questo saggio vengono utilizzati due componenti: 1) un *pro-substrato* che viene internalizzato dalle cellule e 2) un *enzima luciferasi* che rimane nel mezzo di coltura. Il *pro-substrato* viene ridotto dalle reduttasi endocellulari in substrato attivo che fuoriesce dalle cellule nel mezzo, dove viene trasformato in un prodotto chemo-luminescente dalla luciferasi. L'intensità della chemo-luminescenza è direttamente proporzionale al numero di cellule vive e per questo motivo il metodo è in grado di fornire una misura della *proliferazione cellulare*. Le cellule morte non sono più in grado di trasformare il pro-substrato e contribuire alla chemo-luminescenza; il metodo può quindi dare una stima della *vitalità cellulare*.

L'intensità della chemo-luminescenza viene rivelata tramite il Glomax Discover System. In questo saggio, le cellule BEAS-2B sono state trattate con 5 concentrazioni di EO fossile e con 5 concentrazioni di EO miscela bio (2.5, 1.0, 0.5, 0.05, 0.005  $\mu\text{g PM-eq/cm}^2$ ), con l'estratto da filtro bianco non esposto o con BaP100  $\mu\text{M}$ . Per la misura della vitalità cellulare le cellule sono state trattate per 24 h. Per valutare la proliferazione il trattamento è stato prolungato fino a 72 h e le letture di chemo-luminescenza sono state effettuate a 0, 24, 28, 48 e 72 ore dall'inizio dell'esposizione.

**Apoptosi.** L'attivazione delle caspasi, è un indice diretto della morte cellulare programmata (apoptosi). Questi enzimi, possono essere raggruppati in "iniziatori" o "effettori" di apoptosi, tra questi ultimi le caspasi 3 e 7 giocano un ruolo importante nell'apoptosi delle cellule di mammifero. L'attivazione della caspasi 3 e 7 è stata analizzata nelle cellule BEAS-2B dopo trattamento con EO da fossile e con EO da miscela bio alla concentrazione di 2.5, 1.0, 0.5, 0.05 e 0.005  $\mu\text{g PM-eq/cm}^2$ , utilizzando il kit Caspase-Glo 3/7 Assay (Promega, USA). Il saggio si basa sull'utilizzo di un substrato (Z-DEVD-aminoluciferina) e dell'enzima luciferasi. Le caspasi attive tagliano il substrato liberando aminoluciferina che, in presenza della luciferasi, genera un segnale luminescente direttamente proporzionale alla quantità di caspasi presente.

Le cellule sono state seminate alla densità di  $10^4$  cellule/pozzetto in piastre da 96 pozzetti. Dopo 24 h dal trattamento con gli estratti, e dopo aver aggiunto il substrato e l'enzima seguendo le indicazioni del kit, il segnale di luminescenza è stato misurato al Glomax Discover System.

**Induzione ROS.** Le ROS (specie reattive dell'ossigeno) sono definite come specie chimiche contenenti ossigeno con proprietà chimiche reattive e comprendono radicali liberi, come il superossido ( $O_2^{\bullet-}$ ), il radicale ossidrilico ( $OH^{\bullet}$ ), il perossido di idrogeno. Un aumento delle ROS intracellulari rispetto ai valori basali è indice di stress ossidativo, sintomo di un effetto citotossico alla base di diversi eventi compresa la morte cellulare.

L'induzione di ROS è stata misurata mediante il ROS-Glo™  $H_2O_2$  Assay (Promega, USA). Per questo saggio sono state seminate  $10^4$  cellule/pozzetto in piastre da 96 pozzetti. Alla fine del trattamento con le stesse concentrazioni degli estratti organici utilizzati nei precedenti saggi, in ogni pozzetto è stato aggiunto un substrato che, reagendo direttamente con l' $H_2O_2$ , genera un precursore della luciferina. La successiva aggiunta di luciferasi e cisteina permette alla cisteina di convertire il precursore in luciferina che reagendo con l'enzima luciferasi genera un segnale di luminescenza proporzionale alla concentrazione di  $H_2O_2$ .

**Citochine infiammatorie.** Lo stesso pannello di citochine infiammatorie (IL-8, IL-1beta, IL-6, IL-10, TNF-alfa e IL-12) utilizzato per valutare la risposta infiammatoria delle cellule esposte in campo è stato analizzato nei sovrantanti delle cellule BEAS-2B trattate per 24 h con le stesse concentrazioni degli estratti organici utilizzati nei precedenti saggi, mediante il kit Human Inflammatory Cytokine CBA (Becton Dickinson, USA).

**Genotossicità.** Per valutare il danno indotto sulla molecola di DNA è stato utilizzato il test della cometa. Il test permette di valutare il danno al DNA su singola cellula. La versione alcalina del test, applicata in questo studio, permette di individuare rotture del singolo e del doppio filamento di DNA che possono derivare dall'interazione diretta dell'agente chimico o fisico con il DNA, essere prodotti intermedi nei processi di riparazione a seguito di modificazioni chimiche subite dalla doppia elica, o essere generate in ambiente alcalino a livello dei siti alcali-labili.

Sono stati effettuati 2 esperimenti indipendenti esponendo per 24 h le cellule a due diverse concentrazioni (0.5 e 1  $\mu g$  PM-eq/cm<sup>2</sup>) di ciascun EO, un controllo solvente (DMSO), un controllo bianco (EO da filtro non esposto) ed un controllo positivo, trattato con BaP 5  $\mu M$ . Alla fine del trattamento, le cellule sono state risospese in PBS e la sospensione è stata utilizzata per preparare i vetrini per il test della cometa. Al momento dell'analisi i preparati sono stati colorati con etidio bromuro ed analizzati con un microscopio a fluorescenza. Le immagini sono state acquisite tramite una telecamera collegata ad un sistema computerizzato, fornito di un software specifico per l'analisi delle immagini (IAS Delta Sistemi). Sono state analizzate 150 cellule per punto sperimentale, provenienti da 2 vetrini distinti. Per ogni cellula è stata rilevata la percentuale di DNA migrato nella coda della cometa (%TI). Da ciascun vetrino è stata ricavata la mediana dei valori di %TI e da queste, per ciascun punto sperimentale è stata ricavata la media. I risultati sono infine riportati come media dei due esperimenti e relativo errore standard (ES).



Agenzia nazionale per le nuove tecnologie,  
l'energia e lo sviluppo economico sostenibile

## 1.2 RISULTATI CARATTERIZZAZIONE CHIMICO FISICA EMISSIONI

Le misure con i monitor hanno permesso di confrontare le emissioni dei due tipi di combustibile per i due RPM (50% e 70%) mentre per le misure sui filtri il confronto è stato effettuato sull'intera durata della prova integrando le due fasi di RPM.

Le analisi dei dati sono state finalizzate al confronto tra le concentrazioni in atmosfera degli inquinanti emessi e al calcolo degli indici di emissione usati nei cicli standardizzati LTO (Landing, Take-Off).

L'analisi delle concentrazioni in atmosfera delle emissioni è fondamentale per la valutazione dell'esposizione locale delle popolazioni nelle aree adiacenti alle strutture aeroportuali.

### 1.2.1 CALCOLO DEL FATTORE DI CORREZIONE PER LA DILUIZIONE

Il campionamento all'interno del cono di emissione di un turbofan introduce un fattore di variabilità nelle misure dovuto alle disomogeneità spaziali del cono. Inoltre, nel nostro caso, le prove tra fossile e miscela bio sono state effettuate in giorni differenti introducendo un'ulteriore variabilità dovuta alle diverse condizioni anemologiche e di posizionamento dell'aeromobile.

Per il confronto delle emissioni in atmosfera dei due tipi di combustibile è stato necessario quindi effettuare una correzione dei dati.

Allo scopo è stato utilizzato un fattore di correzione per la diluizione derivato dal rapporto tra l'indice emissivo (EI) totale della CO<sub>2</sub> (tutto il carbonio del combustibile completamente convertito in CO<sub>2</sub>), 3160 g/kg (Herndon et al., 2004), e la concentrazione di CO<sub>2</sub> media sottratta del fondo.

Per le misure dei monitor i fattori di correzione per la diluizione **FD<sub>pr</sub>**, per prova motore (**p**) e RPM (**r**), sono stati calcolati utilizzando l'equazione (1)

$$FD_{pr} = \left( \frac{EI_{CO_2}}{CO_{2pr}} \times C_{pr} \right) / V_r \quad (1)$$

dove **V<sub>r</sub>** è il volume di diluizione per RPM dato dall'equazione (2)

$$V_r = \left[ \sum_{p=1}^n \left( \frac{EI_{CO_2}}{CO_{2pr}} \times C_{pr} \right) \right] / n \quad n = 5 \quad r = 50\% \text{ e } 70\% \quad (2)$$

dove  $EI_{CO_2}$  è l'indice di emissione totale per la  $CO_2$ ,  $CO_{2pr}$  e  $C_{pr}$  sono rispettivamente la concentrazione media della  $CO_2$  sottratta del fondo e i chilogrammi di combustibile consumato per RPM per prova motore.

Per le misure ottenute dalle analisi sui filtri i fattori di correzione per la diluizione  $FD_p$ , per prova motore (p), sono stati ottenuti con l'equazione (3):

$$FD_p = \left( \frac{EI_{CO_2}}{CO_{2p}} \times C_p \right) / V \quad (3)$$

dove  $V$  è il volume di diluizione dato dall'equazione (4)

$$V = \left[ \sum_{p=1}^n \left( \frac{EI_{CO_2}}{CO_{2p}} \times C_p \right) \right] / n \quad n = 5 \quad (4)$$

dove  $CO_{2p}$  e  $C_p$  sono rispettivamente la concentrazione media della  $CO_2$  sottratta del fondo e i chilogrammi di combustibile consumato per prova motore.

### 1.2.2 CALCOLO INDICI DI EMISSIONE

L'indice di emissione (EI), esprime l'unità di massa dell'inquinante emesso in funzione della massa di combustibile bruciato. Tra i differenti metodi usati per ottenere gli EI è stato utilizzato quello basato sull'assunzione che il carbonio contenuto nel combustibile bruciato sia costante e completamente bruciato (Herndon et al., 2004).

Per il calcolo degli indici di emissione (EI) per i vari parametri  $x$  è stata utilizzata l'equazione (5) (Moore et al., 2017):

$$EI_x = \frac{x_{fd} \times S(x_{fd})}{CO_{2fd}} \times EI_{CO_2} \quad (5)$$

dove  $El_{CO_2}$  è l'indice di emissione totale della  $CO_2$  (vedi equazione 1),  $x_{fd}$  e  $CO_{2fd}$  sono le concentrazioni in massa del parametro  $x$  e della  $CO_2$  con fondo sottratto e corretto per la diluizione e  $S(x_{fd})$  è un fattore di conversione dimensionale.

### 1.2.3 MISURE ONLINE

Di seguito sono presentati i valori medi, con fondo sottratto e relative deviazioni standard (std) o errori quadratici (err), delle misure online effettuate durante le due fasi di RPM di ogni prova motore per combustibile fossile e miscela bio (bio) (Tabelle 1a-2a-3a-4a). I dati di concentrazioni del monossido di azoto ( $NO$ ) non sono riportati a causa di un malfunzionamento nel rilevatore del monitor.

Le concentrazioni medie del fondo sono state ottenute da misure effettuate in intervalli poco prima dell'inizio e poco dopo il termine di ogni prova (Tabelle 1b-2b-3b-4b).

**TABELLA 1: TNMHC,  $SO_2$ ,  $NO_2$ ,  $CO_2$ , ESPRESSI COME CONCENTRAZIONI IN MASSA MEDIE PER OGNI RPM E PER OGNI PROVA MOTORE (A). I DATI IN TABELLA SONO SOTTRATTI DELLE CONCENTRAZIONI DEL FONDO (B).**

(a)

Prova	RPM	TNMHC	std	$SO_2$	std	$NO_2$	std	$CO_2$	std	
	%	mg/m <sup>3</sup>	mg/m <sup>3</sup>	μg/m <sup>3</sup>	μg/m <sup>3</sup>	μg/m <sup>3</sup>	μg/m <sup>3</sup>	mg/m <sup>3</sup>	mg/m <sup>3</sup>	
fossile	I	50	10.6	3.4	8.1	2.2	332	61	585	92
	I	70	9.8	4.7	14.9	1.4	710	146	1002	84
	II	50	10.2	2.4	5.6	1.8	316	54	478	124
	II	70	9.1	2.9	12.4	2.5	745	228	1057	219
bio	I	50	10.9	2.5	105.7	9.1	467	100	687	212
	I	70	10.5	3.1	256.0	76.8	1231	210	1465	201
	II	50	16.9	3.2	209.5	60.0	697	278	788	293
	II	70	10.6	4.2	459.9	75.4	1521	190	1740	157
	III	50	19.4	4.5	406.0	86.5	826	175	1069	351
	III	70	13.7	4.9	662.6	72.8	1861	166	2004	121
	IV	60	12.0	3.3	234.6	41.9	519	204	621	142
	IV	95	7.7	1.6	455.5	68.6	1108	127	1334	139

(b) concentrazioni fondo

prova	TNMHC	std	$SO_2$	std	$NO_2$	std	$CO_2$	std	
	mg/m <sup>3</sup>	mg/m <sup>3</sup>	μg/m <sup>3</sup>	μg/m <sup>3</sup>	μg/m <sup>3</sup>	μg/m <sup>3</sup>	mg/m <sup>3</sup>	mg/m <sup>3</sup>	
fossile	I	2.3	0.6	6.6	1.1	27	10	1046	139
	II	2.5	0.4	8.1	0.9	25	6	1015	95
bio	I	1.9	0.7	6.4	0.7	24	6	998	55
	II	2.2	0.5	8.9	0.8	19	11	983	54
	III	2.1	0.7	6.2	1.2	27	7	976	109

**TABELLA 2: CONCENTRAZIONE IN NUMERO (#/CM<sup>3</sup>) DEL PM DA 7 NM A 300 NM (PM<sub>0.3</sub>) E DEL PM DA 0.3 μM A 1.7 μM PM(0.3÷1.7), ESPRESSI COME MEDIE PER OGNI RPM E PER OGNI PROVA MOTORE (A). I DATI IN TABELLA SONO SOTTRATTI DELLE CONCENTRAZIONI DEL FONDO (B).**

(a)

Prova	RPM	PM <sub>0.3</sub>	std	GMD	std	PM(0.3÷1.7)	std	
	%	#/cm <sup>3</sup>	#/cm <sup>3</sup>	nm	nm	#/cm <sup>3</sup>	#/cm <sup>3</sup>	
fossile	I	50	1.03E+6	3.20E+5	29.1	1.4	14.2	2.8
	I	70	1.66E+6	2.47E+5	23.3	1.5	23.1	5.5
	II	50	1.17E+6	2.01E+5	28.7	1.1	13.5	2.4
	II	70	2.00E+6	3.00E+5	22.9	2.4	25.8	10.6
bio	I	50	2.62E+6	1.93E+5	24.0	1.2	13.0	2.9
	I	70	6.13E+6	8.14E+5	21.5	0.6	35.3	7.1
	II	50	3.54E+6	3.37E+5	22.6	1.0	22.0	5.7
	II	70	6.43E+6	2.52E+6	21.5	2.0	48.2	11.3
	III	50	5.24E+6	7.70E+5	23.4	1.0	23.7	5.6
	III	70	8.60E+6	2.88E+5	23.8	0.3	67.8	14.3
	IV	60	2.89E+6	5.12E+5	22.3	1.8	29.1	6.5
	IV	95	6.87E+6	5.69E+5	21.7	0.6	41.8	11.4

(b) concentrazioni fondo

prova	PM <sub>0.3</sub>	std	PM(0.3÷1.7)	std	
	#/cm <sup>3</sup>	#/cm <sup>3</sup>	#/cm <sup>3</sup>	#/cm <sup>3</sup>	
fossile	I	5522.5	741.6	18.4	2.3
	II	5517.8	643.9	14.2	1.6
bio	I	7258.7	3025.7	21.4	2.2
	II	6645.5	2768.5	24.6	2.0
	III	7452.4	2444.7	22.8	3.2
	IV	8873.7	1391.3	37.7	3.8

**TABELLA 3: OM, NO<sub>3</sub>, SO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>, ESPRESSI COME CONCENTRAZIONI MEDIE PER OGNI RPM E PER OGNI PROVA MOTORE (A). I DATI IN TABELLA SONO SOTTRATTI DELLE CONCENTRAZIONI DEL FONDO (B).**

(a)

Prova	RPM	OM	Std	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Std	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	std	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	std
	%	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>
bio III	50	107.5	32.3	0.9	0.3	2.3	0.7	7.1	2.1
	70	320.0	85.7	2.9	1.1	5.6	0.9	20.5	3.3
IV	60	99.2	29.8	0.7	0.2	3.1	0.9	8.9	2.7
	95	128.8	5.3	3.4	0.6	2.6	0.1	7.8	2.1

(b) concentrazioni fondo

Prova		OM	std	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	std	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	std	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	std
		µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>
bio	III	6.1	1.1	0.6	0.5	0.9	0.3	1.5	1.2
	IV	7.8	1.2	1.0	0.4	1.8	0.4	1.8	1.6

**TABELLA 4: OC, EC, TC, ESPRESSI COME CONCENTRAZIONI MEDIE PER OGNI RPM E PER OGNI PROVA MOTORE (A). I DATI IN TABELLA SONO SOTTRATTI DELLE CONCENTRAZIONI DEL FONDO (B), EFFETTUATE PER OGNI GIORNO DI PROVA.**

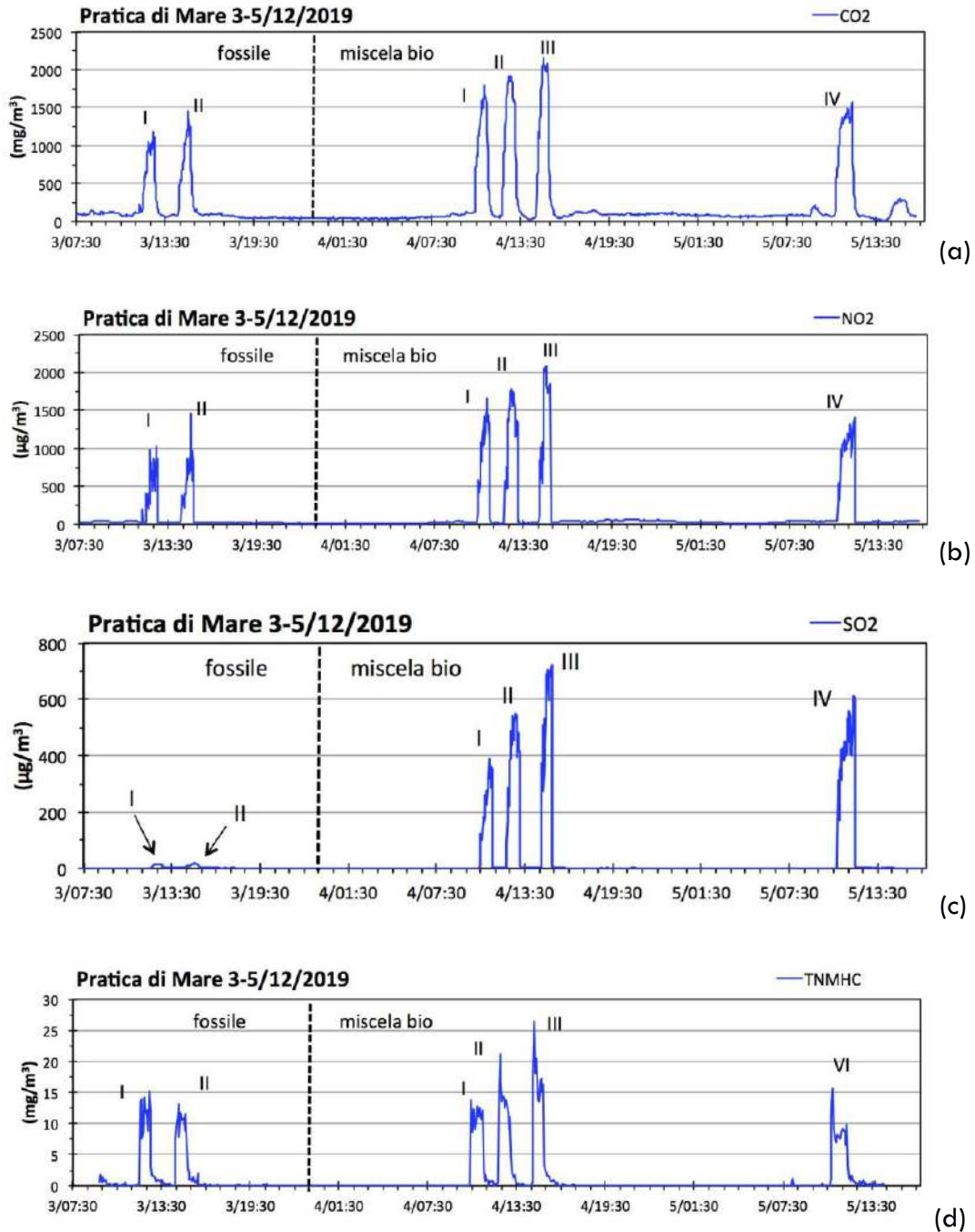
(a)

Prova	RPM	OC	err	EC	err	TC	err	OC/TC	EC/TC
	%	$\mu\text{gC}/\text{m}^3$	$\pm \mu\text{gC}/\text{m}^3$	$\mu\text{gC}/\text{m}^3$	$\pm \mu\text{gC}/\text{m}^3$	$\mu\text{gC}/\text{m}^3$	$\pm \mu\text{gC}/\text{m}^3$		
fossile I	50	28.6	6.9	48.1	6.9	76.7	20.3	0.37	0.63
	70	35.4	11.0	25.3	11.6	60.7	34.9	0.58	0.42
	50	24.9	8.3	59.1	7.4	106.3	31.8	0.23	0.56
	70	37.6	10.4	26.3	13.8	63.9	39.6	0.59	0.41
bio I	50	64.7	8.7	52.7	7.9	117.4	23.9	0.55	0.45
	70	102.4	11.8	66.2	8.9	168.6	30.0	0.61	0.39
	50	50.8	6.5	39.9	6.6	90.6	19.4	0.56	0.44
	70	126.6	14.6	66.4	11.6	193.0	40.7	0.66	0.34
	50	148.7	12.0	66.0	8.1	214.6	31.7	0.69	0.31
	70	154.6	17.7	52.1	10.8	206.7	49.3	0.75	0.25
	60	101.3	9.8	37.2	6.2	138.5	27.4	0.73	0.27
	95	95.2	13.4	32.9	8.4	128.2	38.5	0.74	0.26

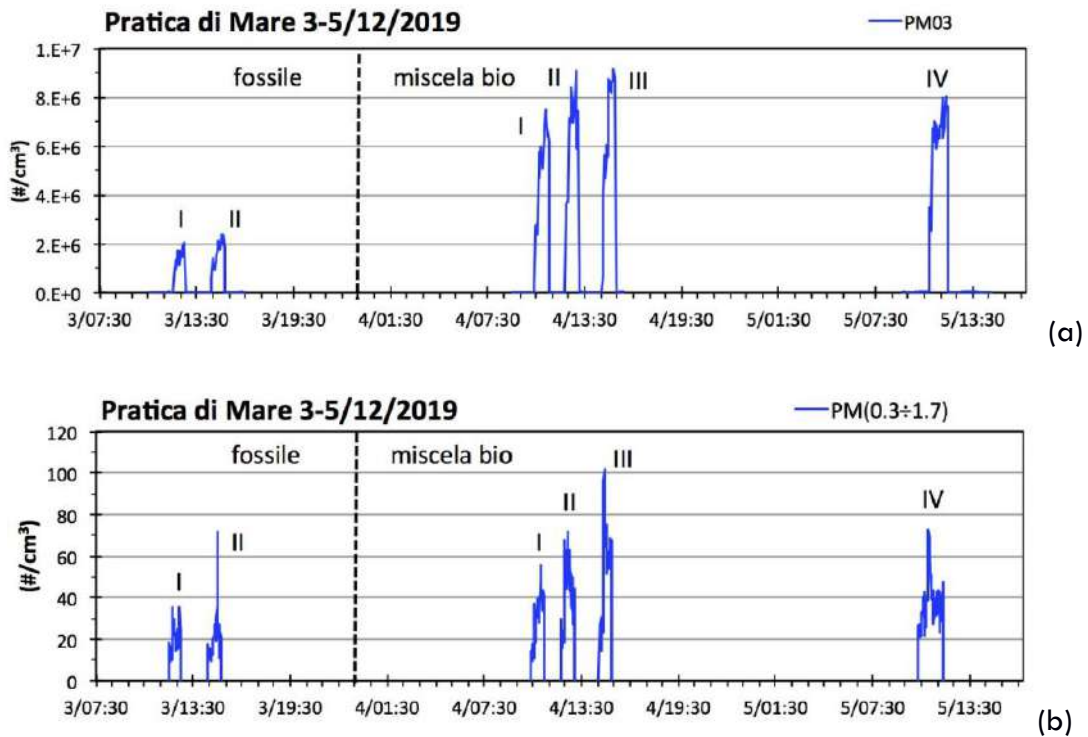
(b) concentrazioni fondo

prova	OC	err	EC	err
	$\mu\text{gC}/\text{m}^3$	$\pm \mu\text{gC}/\text{m}^3$	$\mu\text{gC}/\text{m}^3$	$\pm \mu\text{gC}/\text{m}^3$
fossile I - II	9.7	1.0	3.4	0.3
bio I - II - III	6.9	0.7	1.8	0.2
bio IV	8.6	0.9	6.5	1.1

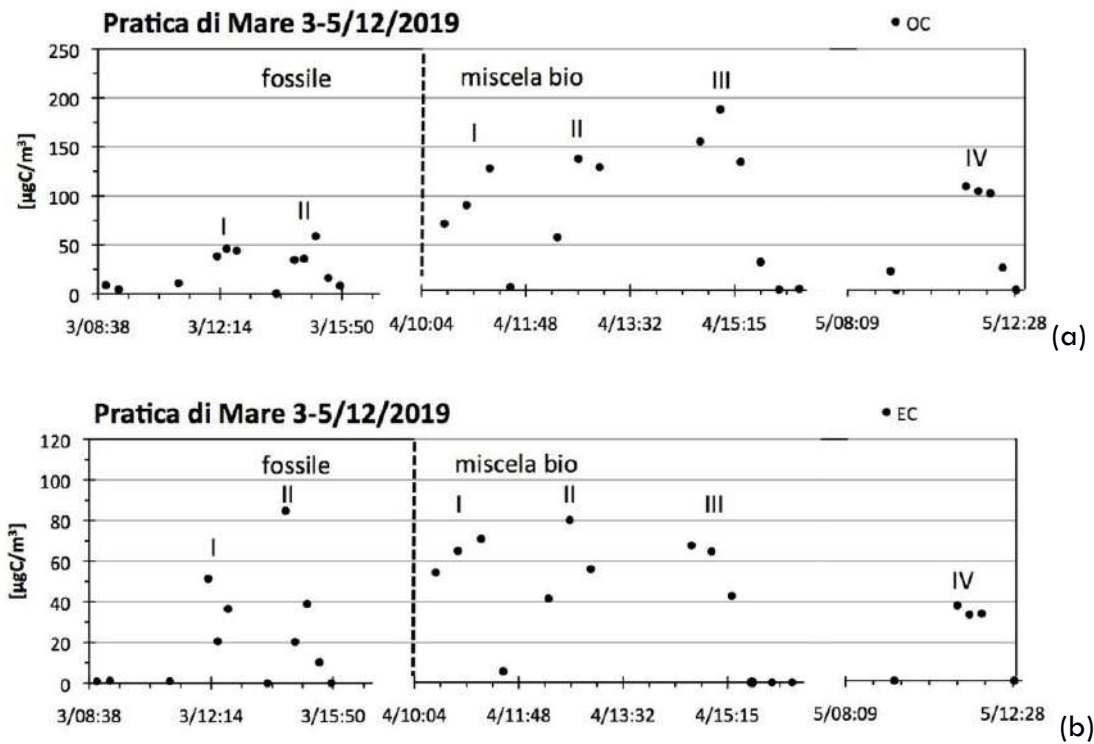
Nelle seguenti Figure da 1 a 4 sono riportati gli andamenti temporali dei parametri i cui dati medi sono elencati nelle precedenti Tabelle da 1 a 4.



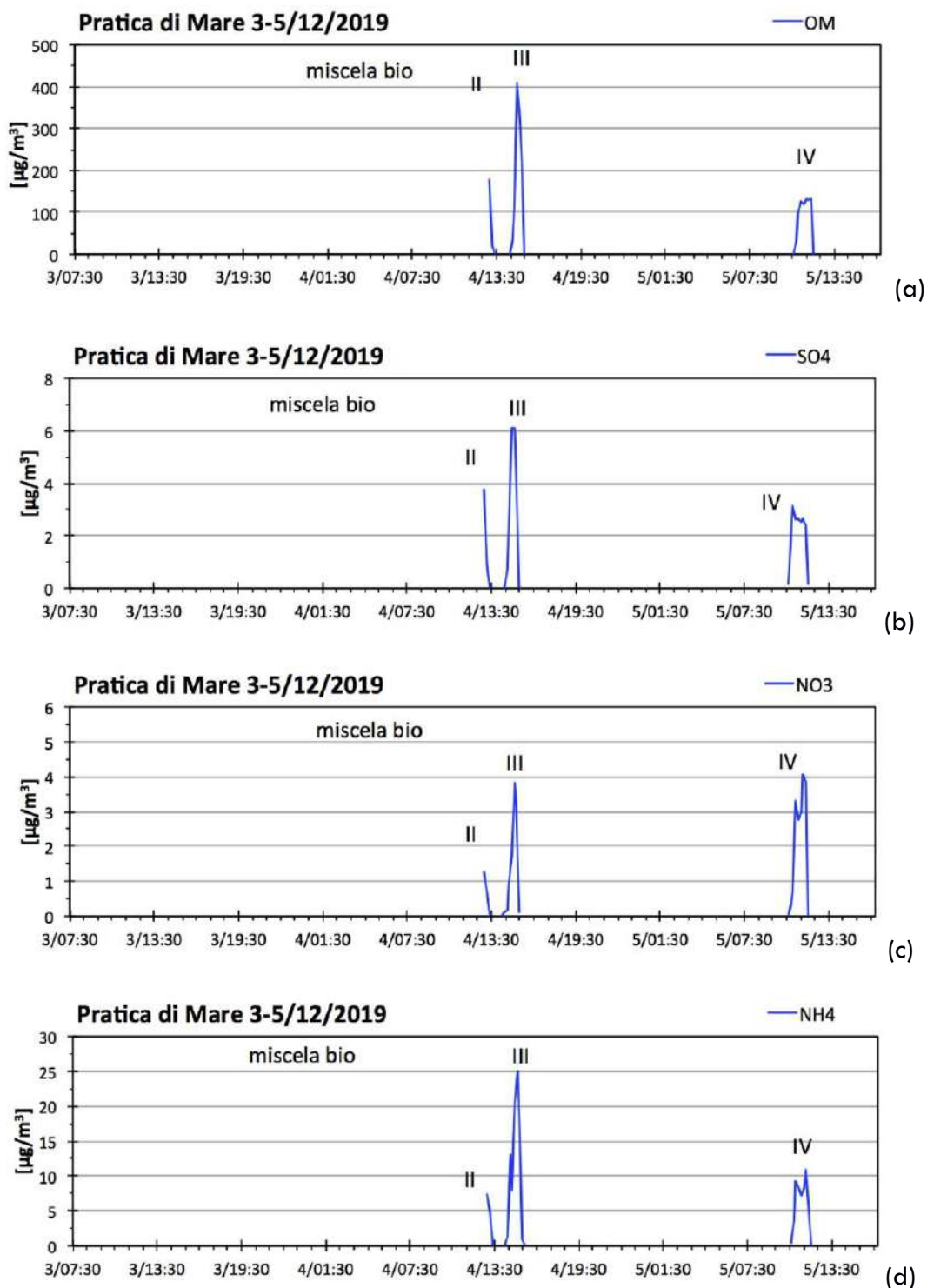
**FIGURA 1: ANDAMENTO TEMPORALE DELLE CONCENTRAZIONI DI CO<sub>2</sub> (A), NO<sub>2</sub> (B), SO<sub>2</sub> (C), TNMHC (D), DAL 3 AL 5 DICEMBRE 2019.**



**FIGURA 2: ANDAMENTO TEMPORALE DELLE CONCENTRAZIONI IN NUMERO (#/CM<sup>3</sup>) DEL PM<sub>0.3</sub> E DEL PM(0.3÷1.7) (B) DAL 3 AL 5 DICEMBRE 2019.**



**FIGURA 3: CONCENTRAZIONE DI OC (A) E EC (B) NEL PM<sub>2.5</sub> DETERMINATE ONLINE CON METODO TOT NEL CORSO DELLE PROVE MOTORE**



**FIGURA 4: CONCENTRAZIONE DI OM (A), SO<sub>4</sub> (B), NO<sub>3</sub> (C), NH<sub>4</sub> (D) NEL PM<sub>1</sub> MISURATE CON ACSM DURANTE LE PROVE MOTORE II, III E IV CON MISCELA BIO.**

## 1.2.4 MISURE INTEGRATE

Nella Tabella 5 sono riportate le concentrazioni in massa, con fondo sottratto e relativi errori di misura (err), di tutti i parametri determinati sui campioni di PM<sub>2.5</sub> per ogni prova motore con combustibile fossile e con miscela bio (bio). Per OC, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> sono riportati anche i valori delle concentrazioni determinate sui filtri QBQ (Tabella 5 (f)).

**TABELLA 5: DATI DI CONCENTRAZIONE CON FONDO SOTTRATTO (TABELLE A-C-D-E), DATI DI CONCENTRAZIONE DEL FONDO (TABELLA B), CONCENTRAZIONI DEI FILTRI QBQ (TABELLA F).**

(a)

Prova	PM <sub>2.5</sub>	err	EC	err	OC	err	IPA	err
	µg/m <sup>3</sup>	± µg/m <sup>3</sup>	µgC/m <sup>3</sup>	± µgC/m <sup>3</sup>	µgC/m <sup>3</sup>	± µgC/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	± µg/m <sup>3</sup>
fossile I	112.6	7.0	44.0	5.8	25.2	3.5	2.2	0.2
II	141.8	8.6	51.4	6.7	36.7	5.0	2.3	0.2
bio I	241.0	16.0	69.9	8.7	69.7	9.3	1.9	0.2
II	322.8	21.3	64.8	8.2	100.1	16.0	1.6	0.2
III	290.2	19.3	65.8	8.4	143.5	19.0	2.4	0.2
IV	154.2	8.9	38.4	8.3	65.4	8.7	1.6	0.2

(b) concentrazioni fondo

prova	OC	err	EC	err	PM <sub>2.5</sub>	err
	µgC/m <sup>3</sup>	± µgC/m <sup>3</sup>	µgC/m <sup>3</sup>	± µgC/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	± µg/m <sup>3</sup>
fossile I - II	9.7	1.0	3.4	0.3	19.5	1.0
bio I - II - III	6.9	0.7	1.8	0.2	16.5	1.0
bio IV	8.6	0.9	6.5	1.1	27.0	1.4

Segue Tabella 5

(c)

IPA	fossile		miscela bio	
	ng/m <sup>3</sup>	± ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	± ng/m <sup>3</sup>
Fenantrene	60.5	6.1	28.9	2.9
Antracene	6.3	0.6	6.1	0.6
Fluorantene	109.5	10.9	121.4	12.1
Pirene	84.8	8.5	146.7	14.7
Benzo[a]antracene	92.3	9.2	54.6	5.5
Crisene	145.2	14.5	116.4	11.6
Benzo[b+j]fluorantene	363.6	36.4	314.0	31.4
Benzo[k]fluorantene	152.0	15.2	126.2	12.6
Benzo[a]pirene	324.8	32.5	277.0	27.7
Indeno[1,2,3-cd]pirene	407.4	40.7	323.3	32.3
Dibenzo[a,h]antracene	17.0	1.7	16.3	1.6
Benzo[ghi]perilene	473.6	47.4	415.5	41.6

(d)

Prova	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>		NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>		SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>		NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	
	μg/m <sup>3</sup>	± μg/m <sup>3</sup>	μg/m <sup>3</sup>	± μg/m <sup>3</sup>	μg/m <sup>3</sup>	± μg/m <sup>3</sup>	μg/m <sup>3</sup>	± μg/m <sup>3</sup>
fossile I	36.0	1.0	7.5	0.4	0.35	0.01	nd	nd
II					0.42	0.03	nd	nd
bio I	6.1	0.6			1.0	0.2	nd	nd
II					1.9	0.3	0.43	0.03
III					1.5	0.2	0.38	0.02
IV			2.1	0.5	3.5	0.4	1.48	0.05
Fondo	0.114	0.003	0.71	0.08	0.79	0.04		

Segue Tabella 5

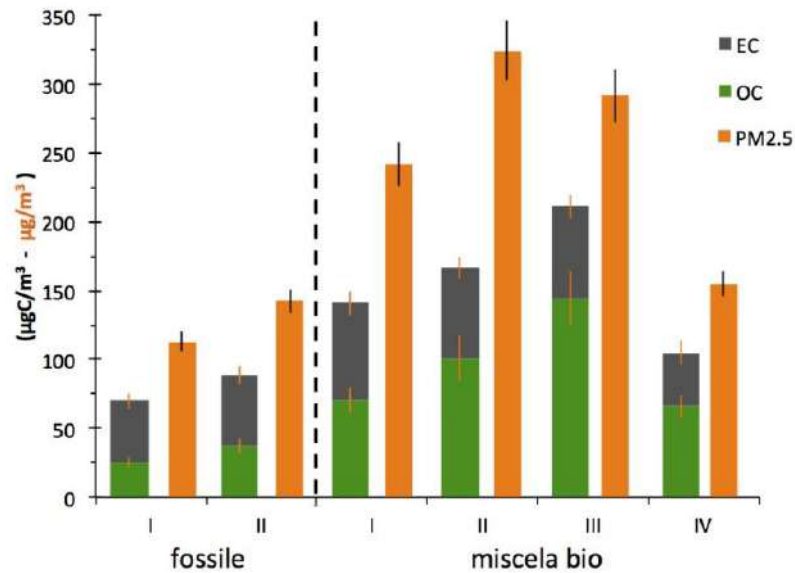
(e)

Prova	V		Cr		Ni		Sb		Ba	
	$\mu\text{g}/\text{m}^3$	err	$\mu\text{g}/\text{m}^3$	err	$\mu\text{g}/\text{m}^3$	err	$\mu\text{g}/\text{m}^3$	err	$\mu\text{g}/\text{m}^3$	Err
fossile I	0.0025	0.0004	0.12	0.01	0.08	0.01	0.12	0.02	1.0	0.1
II	0.0023	0.0004	0.11	0.01	0.021	0.003	0.13	0.03	1.26	0.07
bio I	0.0051	0.0008	0.11	0.01	0.048	0.008	0.085	0.008	0.29	0.03
II	0.004	0.001	0.103	0.009			0.08	0.01	0.68	0.09
III	0.007	0.001	0.126	0.006			0.11	0.02	0.87	0.07
IV			0.086	0.007			0.042	0.005	0.42	0.03

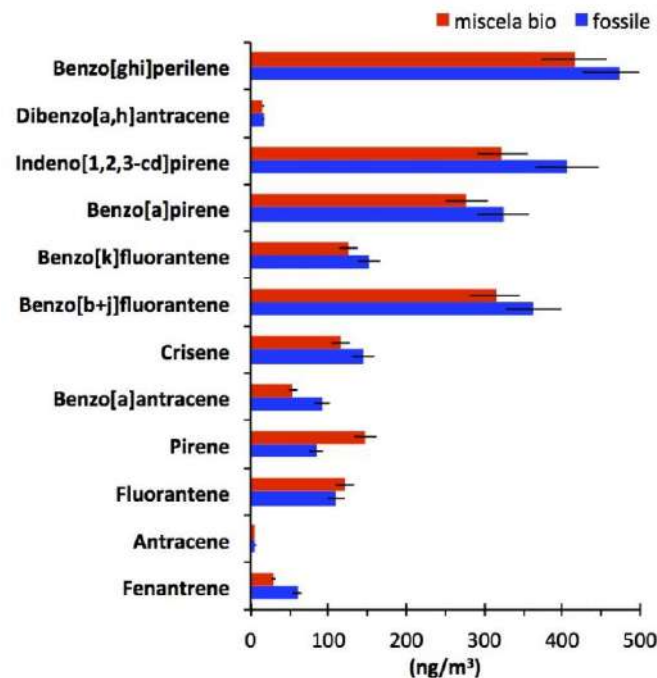
(f) concentrazioni filtri QBQ

Prove	$\text{NO}_2^-$		$\text{NO}_3^-$		$\text{SO}_4^{2-}$		$\text{NH}_4^+$	
	$\mu\text{g}/\text{m}^3$	$\pm \mu\text{g}/\text{m}^3$	$\mu\text{g}/\text{m}^3$	$\pm \mu\text{g}/\text{m}^3$	$\mu\text{g}/\text{m}^3$	$\pm \mu\text{g}/\text{m}^3$	$\mu\text{g}/\text{m}^3$	$\pm \mu\text{g}/\text{m}^3$
fossile I	15.8	0.3	7.8	0.4	17	0.4	nd	nd
II	3.8	0.2	7	1	18	1	nd	nd
bio I	2.12	0.09	7	1	17	2	nd	nd
II	13.7	0.3	9	1	18	0.4	nd	nd
III	33.2	0.7	17.9	0.4	21	0.5	nd	nd
IV	11.0	0.3	5.9	0.3	13	0.3	nd	nd
Fondo	7.34	0.2	4.3	0.2	8.7	0.7	nd	nd

Nei grafici delle Figure 5 e 6 sono riportati i confronti tra i dati delle concentrazioni in massa dei parametri elencati nella Tabella 5.

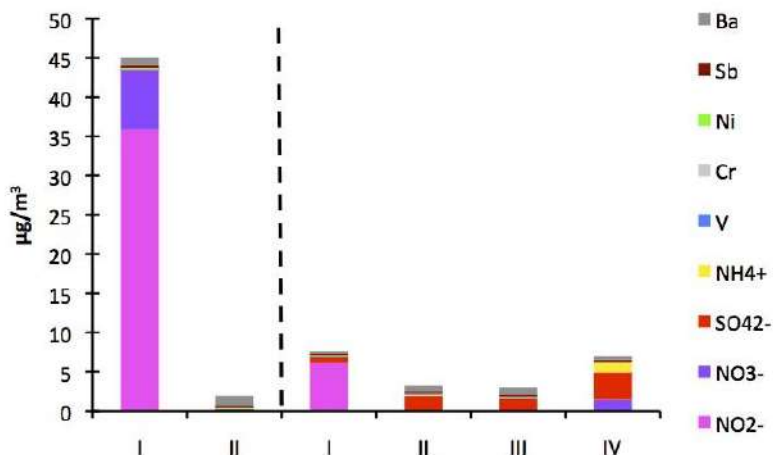


a)



b)

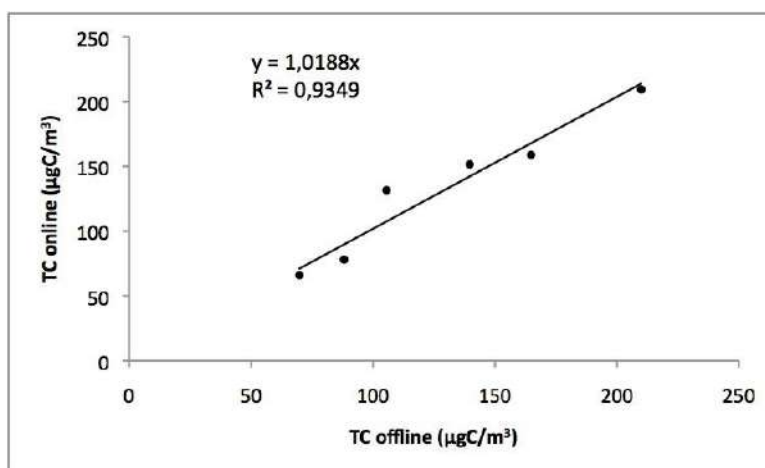
**FIGURA 5: (A) CONFRONTO TRA LE CONCENTRAZIONI IN MASSA DI PM<sub>2.5</sub> (µg/m<sup>3</sup>), OC E EC (µgC/m<sup>3</sup>) PER LE PROVE MOTORE CON COMBUSTIBILE FOSSILE (FOSSILE I, II) E CON MISCELA BIO (I, II, III, IV MISCELA BIO); (B) CONFRONTO TRA LE CONCENTRAZIONI IN MASSA (NG/M<sup>3</sup>) DELLE SPECIE IPA IDENTIFICATE PER LE PROVE MOTORE CON COMBUSTIBILE FOSSILE (FOSSILE I, II) E CON MISCELA BIO (I, II, III, IV MISCELA BIO).**



**FIGURA 6: CONFRONTO TRA LE CONCENTRAZIONI IN MASSA ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) DEGLI IONI INORGANICI IDROSOLUBILI E DEGLI ELEMENTI IN TRACCIA NEL  $\text{PM}_{2.5}$  CORRISPONDENTI ALLE DUE PROVE MOTORE CON COMBUSTIBILE FOSSILE (I, II) E ALLE QUATTRO PROVE MOTORE CON MISCELA BIO (I, II, III, IV)**

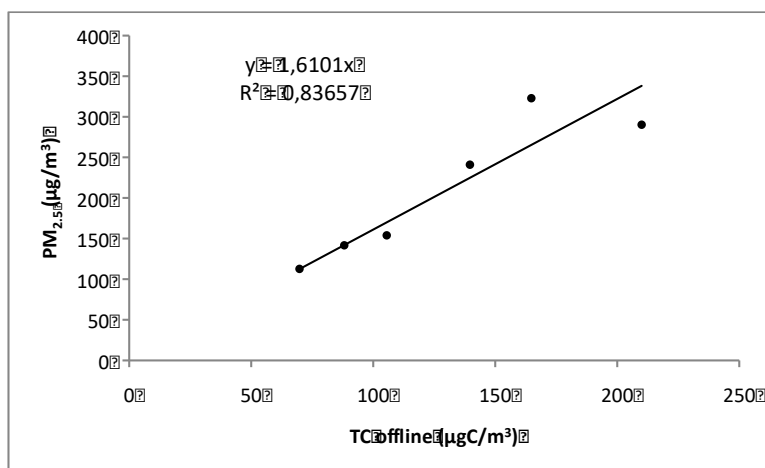
### QA/QC misure online e offline della frazione carboniosa del $\text{PM}_{2.5}$

Il confronto delle concentrazioni di TC online, mediate per la durata di ogni prova, con le concentrazioni di TC offline (misura integrata per ogni prova) è rappresentato in Figura 7.



**FIGURA 7: CORRELAZIONE DELLE CONCENTRAZIONI DI TC MISURATE CON METODO ONLINE IN CAMPO E CON METODO OFFLINE SUI CAMPIONI RACCOLTI SU FILTRO.**

Il dato di TC online non è soggetto ad artefatti positivi dovuti all'adsorbimento della frazione carboniosa volatile (COV), per la presenza sulla linea di campionamento di un denuder (parallel plate denuder). Il dato di TC offline, utilizzato per il confronto, deriva dalla concentrazione del filtro frontale sottratta della concentrazione di OC del filtro di quarzo sottostante (filtro QBQ). L'elevata correlazione ( $R^2=0.93$ ) evidenziata dalla regressione lineare, oltre che la corrispondenza dei dati paralleli indicata dallo slope (1.02), dimostrano la buona qualità dei dati prodotti utilizzando i diversi sistemi di misura e campionamento oltre che l'affidabilità del metodo del back-up filter applicato per la correzione degli artefatti positivi.



**FIGURA 8: CONFRONTO TRA CONCENTRAZIONE IN MASSA DI PM<sub>2.5</sub> (METODO GRAVIMETRICO) E LA CONCENTRAZIONE DI TC MISURATA CON METODO TERMO-OTTICO SU FILTRO IN FIBRA DI QUARZO.**

In Figura 8 sono messe a confronto la concentrazione in massa di PM<sub>2.5</sub> determinata con metodo gravimetrico sui filtri in PTFE e la concentrazione di TC (corretta con il metodo del back-up filter) determinata sui filtri in fibra di quarzo campionati parallelamente per ogni prova. L'elevata correlazione ( $R^2=0.84$ ) indica ancora una volta l'affidabilità dei dati ottenuti.

## 1.2.5 CONCENTRAZIONI IN MASSA E CONFRONTO PER RPM E TIPOLOGIA DI COMBUSTIBILE

### Distribuzione dimensionale in numero e in volume del PM

Per il confronto tra i dati di concentrazione, ottenuti per i due tipi di combustibile, le misure sono state corrette per diluizione come descritto nel paragrafo 2.1.4

Nelle Figure 9 e 10 sono riportati gli spettri medi dimensionali in numero, con fondo sottratto e corretti per diluizione rispettivamente del  $PM_{0.3}$  e del  $PM(0.3 \div 1.7)$ , per i due combustibili fossile e miscela bio (bio) e per gli RPM 50% e 70%.

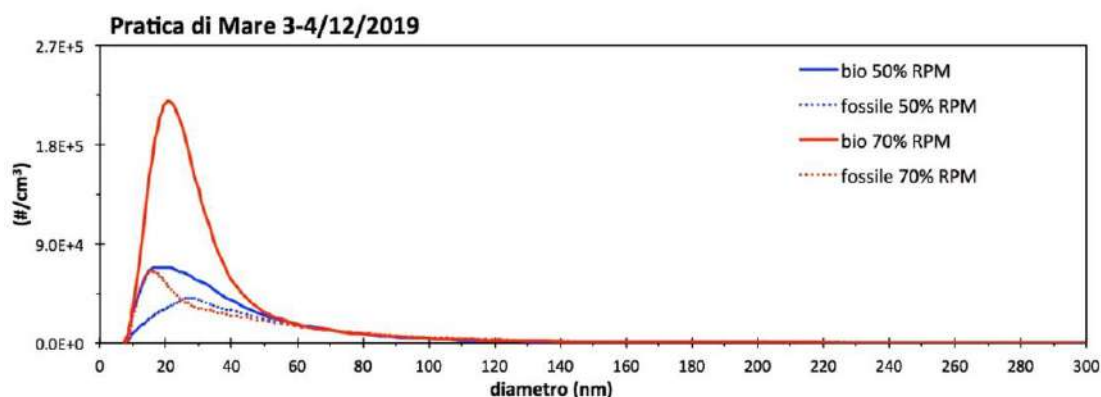


FIGURA 9: CONFRONTO DELLO SPETTRO MEDIO DIMENSIONALE IN NUMERO DEL  $PM_{0.3}$  PER TIPO DI COMBUSTIBILE (FOSSILE E MISCELA BIO) E PER RPM (50% E 70%).

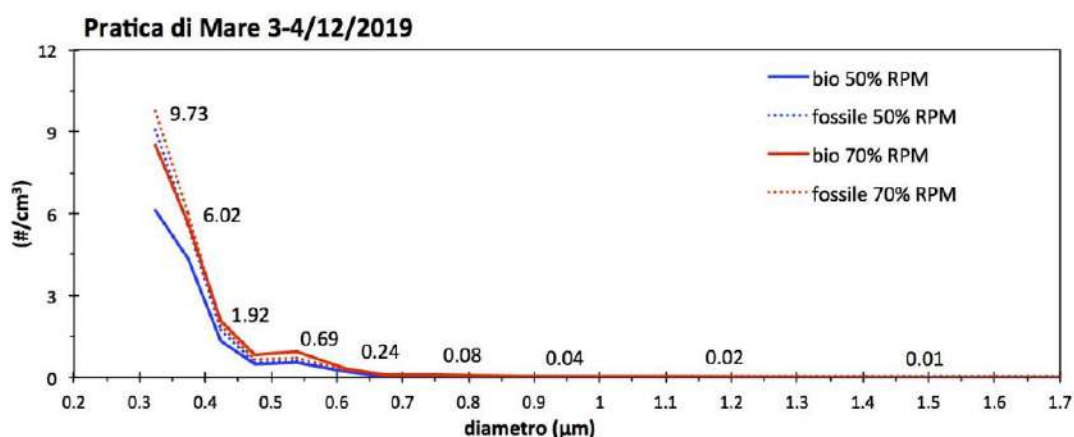


FIGURA 10: CONFRONTO DELLO SPETTRO MEDIO DIMENSIONALE IN NUMERO DEL PM DA  $0.3 \mu m$  A  $1.7 \mu m$  PER TIPO DI COMBUSTIBILE (FOSSILE E MISCELA BIO) E PER RPM (50% E 70%).

La Figura 10 evidenzia concentrazioni in numero molto basse per diametri superiori a 1  $\mu\text{m}$ .

In Tabella 6 sono riportati i valori medi degli integrali delle distribuzioni dimensionali in numero e dei rispettivi diametri medi geometrici in numero (NGMD) ottenuti dalla somma degli spettri del  $\text{PM}_{0.3}$  e del  $\text{PM}(0.3 \div 1.7)$  ( $\text{PM}_{1.7}$ ).

**TABELLA 6: VALORI MEDI DELLE CONCENTRAZIONI IN NUMERO E RISPETTIVI NGMD PER TIPO DI COMBUSTIBILE E RPM E RELATIVI ERRORI QUADRATICI (ERR).**

prova		$\text{PM}_{1.7}$ #/cm <sup>3</sup> x 1.E5	err $\pm$ #/cm <sup>3</sup> x 1.E5	NGMD nm	err $\pm$ nm
fossile	50%	15.4	5.5	28.9	1.8
	70%	21.9	4.6	23.1	2.8
bio	50%	27.5	5.2	23.3	1.8
	70%	60.3	18.4	22.3	2.2

I valori in Tabella 6 evidenziano maggiori concentrazioni in numero di PM in atmosfera con l'utilizzo di miscela bio, di un fattore 1.8 per RPM 50% e di un fattore 2.8 per RPM 70%, rispetto alle concentrazioni delle prove con fossile. Per entrambi i combustibili le concentrazioni in numero di particelle risultano maggiori per RPM 70% di un fattore 2.2 per la miscela bio e di un fattore 1.4 per il fossile. Questi risultati sono in controtendenza rispetto ad altre sperimentazioni con combustibile fossile e bio dove, a favore della miscela bio, si riscontra una minore concentrazione in numero del PM (Moore et al., 2017).

Nello spettro in numero del PM sono predominanti le particelle con diametri inferiori a 40 nm (vedi Tabella 9) per cui i valori dei NGMD risultano tutti inferiori a 30 nm.

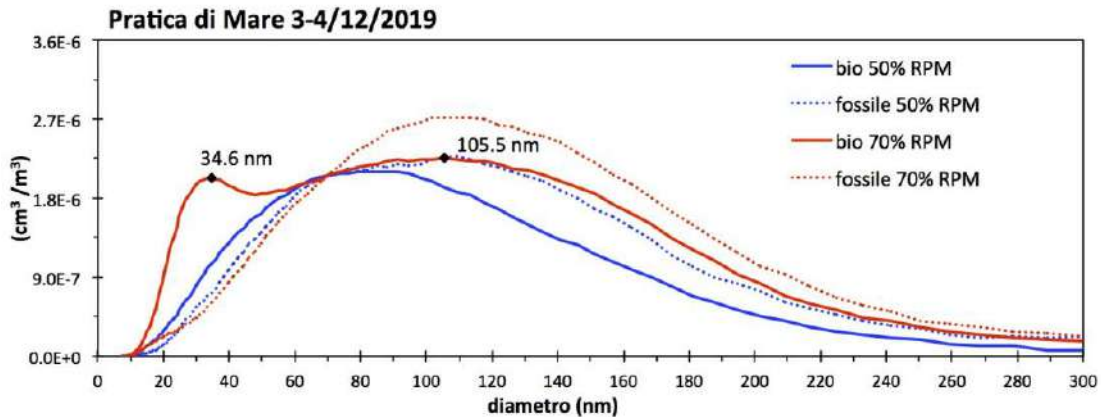
**TABELLA 7: CONTENUTO PERCENTUALE DEL NUMERO DI PARTICELLE PER FRAZIONI DIMENSIONALI**

prova		PM < 40nm %	40 < PM < 100nm %	<100 PM < 300 nm %	PM > 300 nm %
fossile	50%	69	24	2	1.E-5
	70%	81	16	2	9.E-6
bio	50%	84	15	1	8.E-6
	70%	92	8	1	5.E-6

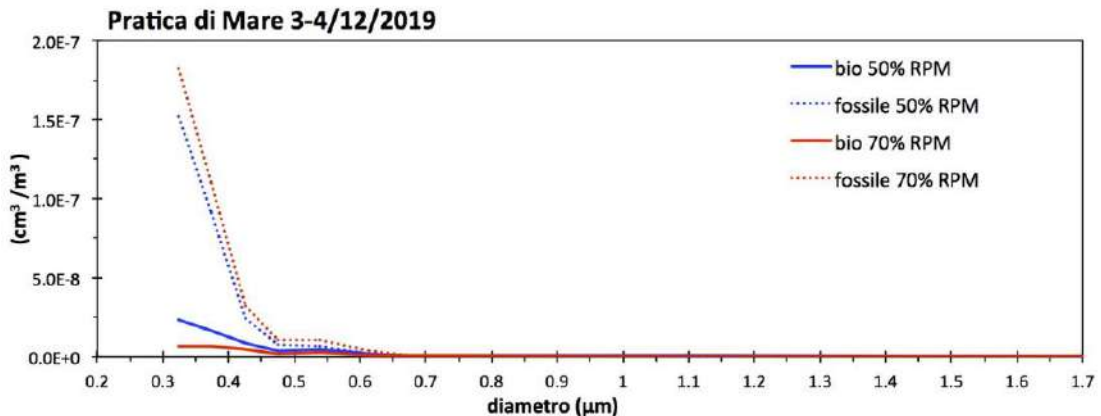
I valori di Tabella 6 del NGMD per RPM 70%, nell'errore standard, risultano equivalenti per i due tipi di combustibile con una media di  $22.7 \pm 0.4$  nm. Per RPM 50% il valore del NGMD, delle prove con il fossile ha un valore maggiore rispetto agli altri dovuto al contenuto maggiore di particelle con diametri > 40 nm. Nelle prove con miscela bio si osserva, nell'errore standard, un'equivalenza dei valori di NGMD per i due RPM.

Le particelle emesse a RPM 70% hanno in media dei diametri più piccoli rispetto a quelle emesse con RPM 50%.

Nelle Figure 11 e 12 vengono riportati gli spettri medi dimensionali in volume con fondo sottratto e corretti per diluizione rispettivamente del  $PM_{0.3}$  e del  $PM(0.3\div 1.7)$ , per i due combustibili, fossile e miscela bio (bio) e per i due RPM, 50% e 70%.



**FIGURA 11: CONFRONTO DELLO SPETTRO MEDIO DIMENSIONALE IN VOLUME DEL  $PM_{0.3}$  PER TIPO DI COMBUSTIBILE (FOSSILE E MISCELA BIO) E PER RPM (50% E 70%).**



**FIGURA 12: CONFRONTO DELLO SPETTRO MEDIO DIMENSIONALE IN VOLUME DEL  $PM(0.3\div 1.7)$  PER TIPO DI COMBUSTIBILE (FOSSILE E MISCELA BIO) E PER RPM (50% E 70%).**

Gli spettri dimensionali in volume per densità costante sono equivalenti a quelli in massa.

Dal confronto delle Figure 11 e 12 è evidente che il volume delle particelle con diametri superiori a 300 nm contribuisce in maniera trascurabile al volume totale del PM, che risulta essenzialmente formato da particelle inferiori a 250 nm. In base a questi dati si può ipotizzare che, per entrambi i tipi di combustibile, il  $PM_{2.5}$  campionato durante le prove motore sia costituito prevalentemente da  $PM_{1.0}$ .

La Figura 11 mostra, per le prove con miscela bio con RPM 70%, una distribuzione dimensionale media in volume del particolato bimodale, con massimi a 35 nm e 105 nm. Questo evidenzia una differenziazione nella natura (densità) delle particelle campionate, avvenuta durante e/o dopo il processo di combustione, che potrebbe essere attribuita a fenomeni di nucleazione legati alla presenza nelle emissioni di H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in forma gassosa (vedi appendice A).

In Tabella 8 sono riportati i valori medi degli integrali delle distribuzioni dimensionali in volume (Figure 11 e 12) e dei rispettivi diametri medi geometrici in volume (VGMD) ottenuti dalla somma degli spettri del del PM<sub>0.3</sub> e del PM(0.3÷1.7) (PM<sub>1.7</sub>).

**TABELLA 8: VALORI MEDI IN VOLUME DELLE PARTICELLE CON I RISPETTIVI VGMD PER TIPO DI COMBUSTIBILE E RPM E RELATIVI ERRORI QUADRATICI (ERR).**

prova		PM <sub>1.7</sub> cm <sup>3</sup> /m <sup>3</sup> x 1.E-5	err ± cm <sup>3</sup> /m <sup>3</sup> x 1.E-5	VGMD nm	err ± nm
fossile	50%	9.7	2.9	83.8	12.7
	70%	10.9	3.2	89.3	10.2
bio	50%	9.4	2.7	74.5	5.8
	70%	13.3	5.5	64.1	13.1

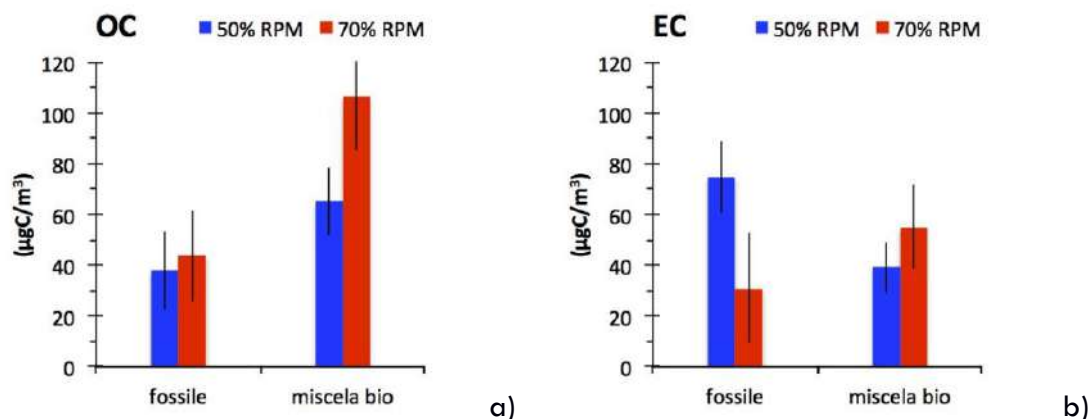
Se si confrontano i dati medi di concentrazione in numero delle particelle, tra i due tipi di combustibile di Tabella 8, con quelli medi dei volumi delle particelle (Tabella 10), si nota come le differenze in volume si siano notevolmente ridotte e, nella variabilità dell'errore standard, si possono considerare equivalenti. Questo risultato è attribuibile al maggiore contributo in volume delle particelle di dimensioni più grandi (Tabella 9), emesse dal combustibile fossile rispetto alla miscela bio. Ne consegue un valore più elevato del VGMD per il combustibile fossile rispetto alla miscela bio.

### Concentrazioni di OC, EC

In Tabella 9 sono riportati i valori corretti per diluizione delle concentrazioni medie di OC e EC con i rispettivi errori quadratici, per combustibile fossile e per miscela bio e per i due RPM. Nella Figura 13 sono rappresentati i dati di Tabella 11.

**TABELLA 9: VALORI CONCENTRAZIONI MEDIE DI OC, EC E TC PER TIPO DI COMBUSTIBILE E PER RPM E ELATIVI ERRORI QUADRATICI.**

prova		OC µgC/m <sup>3</sup>	err ± µgC/m <sup>3</sup>	EC µgC/m <sup>3</sup>	err ± µgC/m <sup>3</sup>	TC µgC/m <sup>3</sup>	err ± µgC/m <sup>3</sup>
fossile	50%	37.6	15.5	74.8	14.3	112.4	51.0
	70%	43.7	18.1	30.8	21.5	74.5	60.4
bio	50%	65.1	13.2	39.2	10.0	104.2	34.0
	70%	106.6	21.2	55.0	16.6	161.5	58.5



**FIGURA 13: CONFRONTO DELLE CONCENTRAZIONI MEDIE ( $\mu\text{gC}/\text{M}^3$ ) DI OC (A) E EC (B) PER TIPO DI COMBUSTIBILE E RPM.**

In Figura 13 (a) si evidenzia come le concentrazioni di OC sono maggiori a RPM 70% rispetto a RPM 50% per la miscela bio mentre per il fossile, considerando gli errori, le concentrazioni sono equivalenti per i due RPM; nel confronto tra i due combustibili la miscela bio rispetto al fossile ha concentrazioni di OC maggiori del 73% e del 142% rispettivamente per RPM 50% e 70%.

Per quanto riguarda EC (Figura 13 b) le concentrazioni sono maggiori a RPM 50% rispetto a RPM 70% per il solo combustibile fossile, mentre per la miscela bio le concentrazioni, se si tiene conto dell'errore, sono equivalenti per i due RPM. Nel confronto tra i due combustibili, la miscela bio ha una concentrazione media minore (-91%) soltanto per RPM 50% mentre per RPM 70%, se si tiene conto dell'errore, non ci sono differenze tra i due tipi di combustibile.

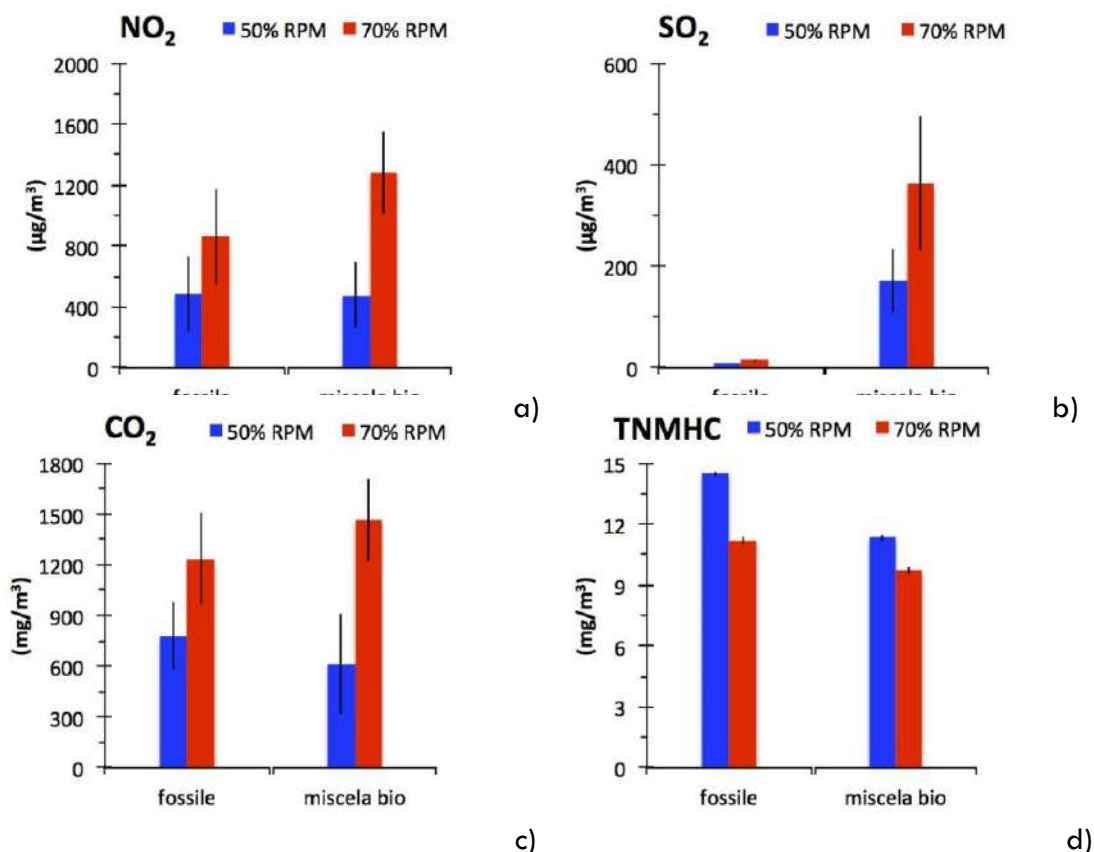
### Concentrazioni gas

In Tabella 10 sono riportati i valori corretti per diluizione delle concentrazioni medie, con i rispettivi errori quadratici (err), per ognuno dei due tipi di combustibile e per RPM.

Si riportano per la miscela bio (bio) anche i valori delle concentrazioni ottenute nella IV prova con RPM 60% e 95% anche se non confrontabili con le altre prove a causa dei diversi RPM.

**TABELLA 10: CONCENTRAZIONI MEDIE DI NO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> E TNMHC PER TIPO DI COMBUSTIBILE E PER RPM.**

prova	NO <sub>2</sub>	err	SO <sub>2</sub>	err	CO <sub>2</sub>	err	TNMHC	err
	$\mu\text{g}/\text{m}^3$	$\pm \mu\text{g}/\text{m}^3$	$\mu\text{g}/\text{m}^3$	$\pm \mu\text{g}/\text{m}^3$	$\text{mg}/\text{m}^3$	$\pm \text{mg}/\text{m}^3$	$\text{mg}/\text{m}^3$	$\pm \text{mg}/\text{m}^3$
fossile 50%	447.1	112.6	7.7	4.0	737.1	223.7	14.48	0.16
70%	868.3	320.1	14.7	3.4	1229.4	274.5	11.18	0.17
bio 50%	487.6	243.6	172.0	63.3	630.5	368.4	11.33	0.16
70%	1283.1	294.8	363.3	131.3	1464.7	255.9	9.76	0.18
60%	510.0	200.2	224.7	40.3	610.5	139.5	11.58	3.19
95%	2046.9	234.0	454.1	68.6	2464.0	256.8	14.26	2.99



**FIGURA 14: CONFRONTO DELLE CONCENTRAZIONI MEDIE (µG/M<sup>3</sup>) DI NO<sub>2</sub> (A), SO<sub>2</sub> (B), (MG/M<sup>3</sup>) CO<sub>2</sub> (C) E TNMHC (D) PER TIPO DI COMBUSTIBILE (FOSSILE E MISCELA BIO) AI DIVERSI RPM (50% E 70%).**

In Figura 14 (a) e (c) si osserva che le concentrazioni di NO<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> sono maggiori per RPM 70% rispetto a RPM 50% in linea con quanto riportato in letteratura riguardo alla relazione diretta tra l'emissione di NO<sub>2</sub> e RPM (EASA, 2013; Masiol et al., 2014) e la diminuzione delle emissioni di CO<sub>2</sub> ai bassi RPM legata a un minor consumo di combustibile oltre che a una eventuale combustione incompleta (Wey et al., 2006; Stettler et al., 2011). Nel confronto tra i due combustibili le concentrazioni per i due RPM sono, nei limiti degli errori standard, confrontabili tra loro.

Le concentrazioni medie di TNMHC (Figura 14 (d)) sono per entrambi i combustibili maggiori per RPM 50% rispetto a RPM 70%, in linea con quanto riportato in letteratura (Cross et al., 2013); nel confronto tra i due combustibili le concentrazioni per la miscela bio risultano sempre inferiori a quelle del fossile del 28% e del 15% rispettivamente per RPM 50% e RPM 70%.

Le concentrazioni medie di SO<sub>2</sub> (Figura 14 (b)), sono per entrambi i combustibili minori a RPM 50% rispetto a RPM 70%; nel confronto tra i due combustibili si evidenzia che la miscela bio presenta concentrazioni marcatamente maggiori (circa un fattore 24) rispetto al fossile. Poiché la concentrazione di SO<sub>2</sub> emessa è direttamente correlata al contenuto di zolfo nel combustibile (Hunton et al., 2000), la differenza è spiegata dal diverso contenuto di zolfo del combustibile della miscela bio a cui potrebbe essere legata anche la maggiore concentrazione in numero di PM con diametro inferiori a 40 nm (Vedi Appendice B).

## 1.2.6 CONCENTRAZIONI IN MASSA MEDIE E CONFRONTO PER TIPOLOGIA DI COMBUSTIBILE

In Tabella 11 vengono riportate le medie, per tipologia di combustibile, delle concentrazioni in massa di PM<sub>2.5</sub>, EC, OC, IPA (a), NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (b) V, Cr, Ni, Sb e Ba (c), ottenute dalle analisi dei filtri delle prove fossile I-II e miscela bio I-II-III (bio) con i rispettivi errori quadratici (err).

**TABELLA 11. CONCENTRAZIONI IN MASSA MEDIE DELLE PROVE MOTORE CON FOSSILE E CON MISCELA BIO.**

(a)

Prova	PM <sub>2.5</sub>	err	EC	err	OC	err	IPA	err
	µg/m <sup>3</sup>	± µg/m <sup>3</sup>	µgC/m <sup>3</sup>	± µgC/m <sup>3</sup>	µgC/m <sup>3</sup>	± µgC/m <sup>3</sup>	± µg/m <sup>3</sup>	± µg/m <sup>3</sup>
fossile	159.0	13.8	59.7	14.0	38.6	9.5	2.8	0.4
bio	233.4	26.9	55.6	10.2	82.2	17.1	1.6	0.3

(b)

Prova	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	err	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	err	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	err	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	err
	µg/m <sup>3</sup>	± µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	± µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	± µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	± µg/m <sup>3</sup>
fossile	23.6	1.5	4.5	1.3	0.48	0.04	0.00	0.00
bio	2.1	0.2	0.0	0.0	1.2	0.2	0.20	0.04

(c)

Prova	V	err	Cr	err	Ni	err	Sb	err	Ba	err
	µg/m <sup>3</sup>	± µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	± µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	± µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	± µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	± µg/m <sup>3</sup>
fossile	0.0030	0.0007	0.145	0.018	0.065	0.012	0.157	0.045	1.41	0.16
bio	0.0043	0.0014	0.093	0.012	0.048	0.008	0.074	0.018	0.47	0.09

In Figura 15 è rappresentato il bilancio di massa medio del particolato campionato durante le prove con combustibile fossile (fossile I-II) e con miscela bio (miscela bio I-II-III). Per la ricostruzione della massa del PM<sub>2.5</sub> sono state utilizzate tutte le specie chimiche riportate in Tabella 13. Per il bilancio di massa il valore di OC è stato convertito in OM, moltiplicandolo per il fattore di conversione 1.7, per tenere conto, oltre che della concentrazione di carbonio, anche delle concentrazioni di idrogeno, azoto e ossigeno. Il fattore di conversione, ottenuto sperimentalmente dal rapporto tra la concentrazione in massa media di OM e la corrispondente concentrazione di OC, misurati nelle

prove motore III e IV con miscela bio, è stato applicato anche ai dati delle prove con fossile. La differenza tra la massa di  $PM_{2.5}$  gravimetrica e la somma delle diverse componenti chimiche corrisponde alla massa non identificata chimicamente (ND, vedi Figura 15)

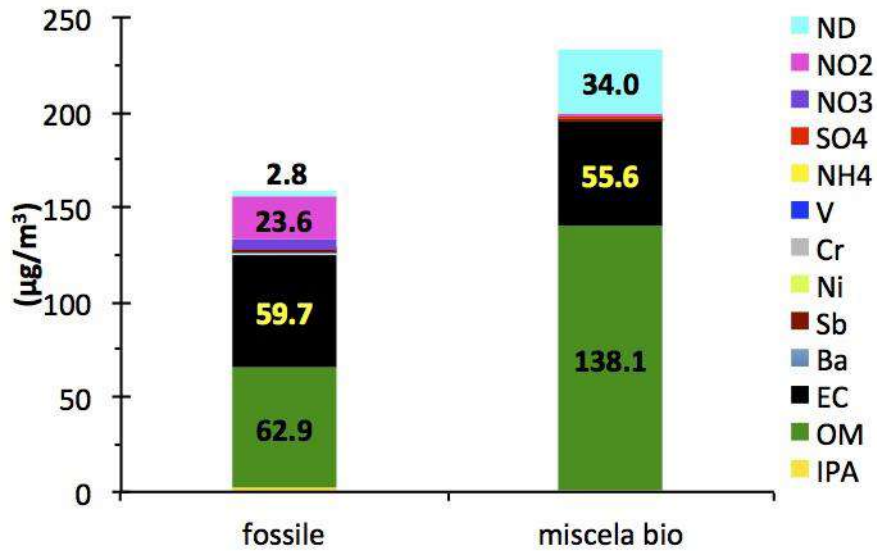
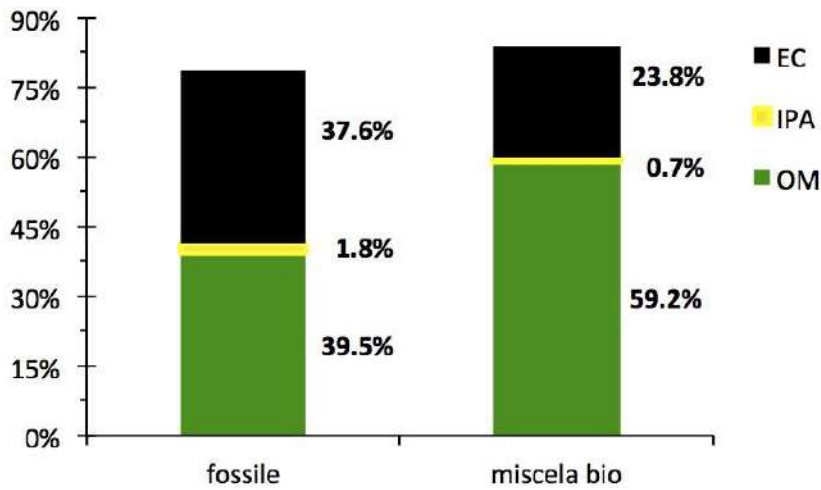
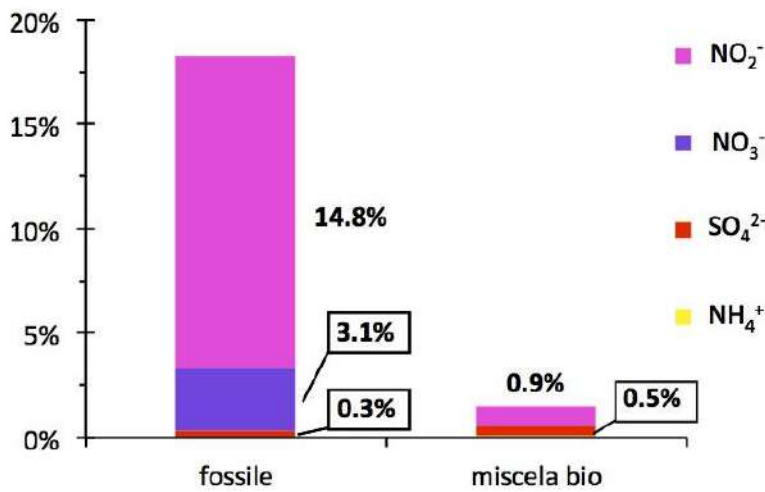


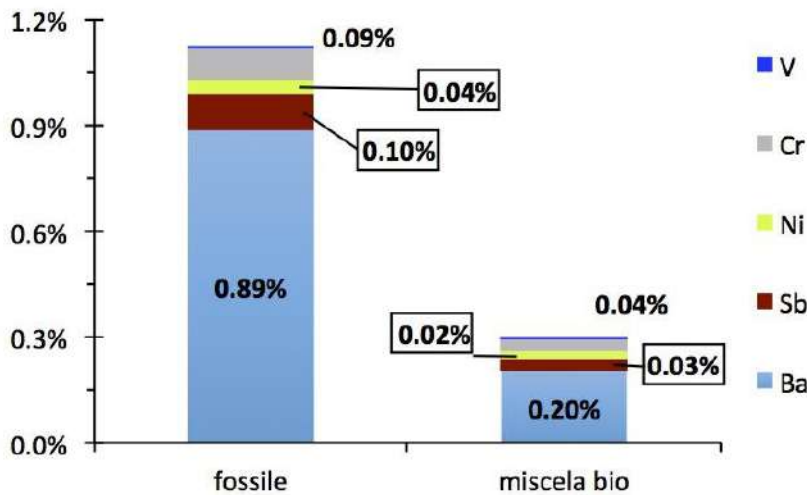
FIGURA 15. CONFRONTO DELLA COMPOSIZIONE MEDIA IN MASSA DEL  $PM_{2.5}$  PER TIPO DI COMBUSTIBILE (FOSSILE E MISCELA BIO)



a



b



c

**FIGURA 16. CONFRONTO DELLA COMPOSIZIONE PERCENTUALE MEDIA DEL PM<sub>2.5</sub> PER TIPO DI COMBUSTIBILE (FOSSILE E MISCELA BIO); FRAZIONE CARBONIOSA (A), FRAZIONE IONICA INORGANICA IDROSOLUBILE (B), METALLI ED ELEMENTI IN TRACCIA (C).**

Dalla Tabella 12 (a) e dalla Figura 15 si evidenzia come le emissioni della miscela bio siano caratterizzate da una concentrazione in massa media di  $PM_{2.5}$  ( $233.43 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) maggiore (+47%) rispetto alla massa media di  $PM_{2.5}$  del fossile ( $158.98 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ).

Il contributo maggiore alla massa di particolato per entrambi i combustibili è dato dalla frazione carboniosa (OM, IPA, EC) che nel suo insieme costituisce 78.9% e 83.7% del  $PM_{2.5}$  rispettivamente per fossile e miscela bio (Figura 16 (a)). I restanti parametri sono, in diverse misure, comunque sempre presenti in minori concentrazioni per la miscela bio rispetto al fossile.

Nel confronto di Figura 15 si osserva che le differenze principali tra i due combustibili sono maggiori concentrazioni di OM e di ND e minore concentrazione di  $NO_2^-$  nella miscela bio rispetto al fossile. Più in dettaglio, le concentrazioni di OC (Tabella 13) che sono  $82.17 \mu\text{gC}/\text{m}^3$  e  $38.63 \mu\text{gC}/\text{m}^3$  rispettivamente per miscela bio e fossile, corrispondono a un contributo di OM nel bilancio di massa (Figura 16 a) di 60% ( $139.7 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) e 41% ( $65.67 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) rispettivamente per miscela bio e fossile.

La concentrazione in massa di EC (Tabella 11), tenendo conto degli errori, è equivalente per i due carburanti ma, in termini di contributo percentuale al PM emesso (Figura 16 a) risulta inferiore per la miscela bio dove contribuisce alla massa per il 24% rispetto al 38% per il fossile.

La concentrazione in massa degli IPA totali, pur rimanendo in un range medio-basso, è minore per la miscela bio ( $1.6 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , 0.7% del PM) rispetto al fossile ( $2.8 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , 1.8% del PM).

La concentrazione di  $NO_2^-$  per la miscela bio ( $2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , 1% del PM) è inferiore rispetto al fossile ( $23.6 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , 15% del PM) di un fattore 10.

Gli ioni  $NO_3^-$  risultano assenti per la miscela bio e sono presenti nelle emissioni del fossile con  $4.9 \mu\text{g}/\text{m}^3$  pari al 3% del PM.

Lo ione  $SO_4^{2-}$  è presente in misura maggiore nelle emissioni della miscela bio ( $1.18 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , 0.51% del PM) rispetto al fossile ( $0.48 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , 0.3% del PM).

Lo ione  $NH_4^+$  è presente soltanto nelle emissioni della miscela bio anche se in concentrazioni molto esigue ( $0.2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , 0.09% del PM).

Metalli ed elementi in traccia (Figura 16c) sono presenti in concentrazioni molto basse e nel loro insieme rappresentano una piccola frazione del  $PM_{2.5}$  che per il fossile è circa 1% e per la miscela bio è 0.3%.

La massa di particolato non identificata chimicamente (ND, Figura 15) è minore per il fossile ( $2.82 \mu\text{g}/\text{m}^3$  pari al 2% del PM) rispetto alla miscela bio ( $33.58 \mu\text{g}/\text{m}^3$  pari al 15% del PM), la differenza potrebbe essere ascrivibile ad una maggiore igroscopicità del PM emesso dalla miscela bio, legata ai composti organici solubili presenti nella frazione organica (Rojo et al., 2015) e alla maggiore concentrazione di zolfo (Gysel et al., 2003) presente nella miscela bio rispetto al combustibile fossile (Tabella 3).

## 1.2.7 INDICI DI EMISSIONE (EI)

### El monitor: confronto rispetto a RPM e tipologia di combustibile

In Tabella 12 sono riportati i valori degli EI, calcolati utilizzando l'equazione (5), per i due combustibili, fossile e miscela bio, per i due RPM e il corrispondente rapporto tra EI della miscela bio rispetto all'IE del fossile.

**TABELLA 12: VALORI DEGLI EI PER COMBUSTIBILE FOSSILE E MISCELA BIO PER I DUE RPM (IN PARENTESI L'ERRORE QUADRATICO) E IL RAPPORTO TRA EI MISCELA BIO E EI FOSSILE.**

Indici di emissione per kg di combustibile	miscela bio		fossile		Rapporto	
	50%	50%	50%	70%	50%	70%
numero particelle totali ( $D_p > 7\text{nm}$ )	1.4E+16 (2.6E+15)	1.4E+16 (2.6E+15)	6.4E+15 (2.3E+15)	5.6E+15 (1.2E+15)	2.2	2.3
numero particelle $D_p < 40\text{ nm}$	1.2E+16 (2.2E+15)	1.2E+16 (2.2E+15)	4.5E+15 (1.6E+15)	4.5E+15 (1.2E+15)	2.6	2.6
numero particelle $40\text{ nm} < D_p < 100\text{ nm}$	2.1E+15 (7.6E+14)	2.1E+15 (7.6E+14)	1.6E+15 (6.8E+14)	9.1E+14 (2.7E+14)	1.4	1.1
numero particelle $100 < D_p < 300\text{ nm}$	1.4E+14 (4.6E+13)	1.4E+14 (4.6E+13)	1.2E+14 (3.5E+13)	1.0E+14 (4.5E+13)	1.1	0.7
numero particelle $D_p > 300\text{ nm}$	7.3E+10-- (5.8E+10)	7.3E+10 (5.8E+10)	8.0E+10 (4.4E+10)	7.5E+10 (3.0E+10)	0.9	1.2
organici non metanici TNMHC (g)	58.5 (22.0)	58.5 (22.0)	60.1 (23.8)	28.9 (16.7)	1	0.7
biossido di azoto NO <sub>2</sub> (mg)	2460.4 (1229.2)	2460.4 (1229.2)	1867.5 (470.5)	2225.0 (820.4)	1.3	1.3
biossido di zolfo SO <sub>2</sub> (mg)	842.4 (309.4)	842.4 (309.4)	39.1 (16.4)	41.9 (9.3)	21.6	19.3
carbonio organico OC* (mgC)	313.6 (63.7)	313.6 (63.7)	153.7 (63.2)	111.7 (46.3)	2.0	2.1
carbonio elementare EC (mgC)	199.1 (50.8)	115.2 (34.8)	312.8 (59.7)	78.9 (55.0)	0.6	1.5

\* OM = OC x 1.7

Il valore dell'EI per il numero di particelle totali del PM della miscela bio risulta più del doppio per entrambi i RPM rispetto a quello del combustibile fossile. La frazione dimensionale del PM con EI maggiore di un fattore 2.6, per la miscela bio rispetto al fossile, è quella con diametro ( $D_p$ ) inferiore a 40 nm.

L'EI di NO<sub>2</sub> non mostra differenze, considerando gli errori, ai diversi RPM; il confronto tra i due combustibili evidenzia valori in media maggiori rispetto al fossile del 30% ma, considerando gli errori, si possono considerare equivalenti.

L'EI di SO<sub>2</sub> non è influenzato dai diversi RPM ma dal contenuto di zolfo del combustibile (Tabella 3), infatti, nel confronto tra i due combustibili (Tabella 12) si osserva una concentrazione nelle emissioni della miscela bio maggiore di un fattore 20.

Gli EI per i TNMHC sono maggiori per RPM 50% rispetto a RPM 70%; il confronto tra i due combustibili evidenzia, negli errori, valori medi equivalenti.

L'EI di OC è sempre maggiore a RPM 50% rispetto a RPM 70%,; il confronto tra i due combustibili evidenzia valori maggiori (+100%) per la miscela bio rispetto al fossile per entrambi i RPM.

L'EI di EC è sempre maggiore a RPM 50% rispetto a RPM 70%,; il confronto tra i due combustibili evidenzia per la miscela bio valori minori (-40%) rispetto al fossile per RPM 50%, mentre, per RPM 70% l'EI della miscela bio risulta maggiore rispetto al fossile (+46%) ma nei limiti degli errori si possono considerare equivalenti.

### **El misure integrate: confronto rispetto a tipologia di combustibile**

Per il calcolo degli EI degli ioni inorganici sono state utilizzate le concentrazioni in massa rilevate nel filtro frontale sottratte delle concentrazioni rilevate sul filtro di back-up (QBQ). Le concentrazioni di ioni inorganici ( $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ , e  $\text{SO}_4^-$ ) ottenute dall'analisi del QBQ, attribuite agli acidi inorganici  $\text{HNO}_2$ ,  $\text{HNO}_3$ , e  $\text{H}_2\text{SO}_4$  emessi in fase gas (vedi Appendice A), sono state utilizzate per la stime dei corrispondenti EI.

Nelle Tabelle 13 e 14 sono riportati i valori degli EI delle misure ottenute rispettivamente da campionamenti su filtro e da misure con monitor mediate per tipologia di combustibile.

**TABELLA 13: VALORI DEGLI EI DEI PARAMETRI DETERMINATI SU FILTRO MEDIATI PER TIPO DI COMBUSTIBILE, (IN PARENTESI L'ERRORE QUADRATICO) E RAPPORTO TRA MISCELA BIO E FOSSILE.**

Indici di emissione per kg di combustibile	miscela bio	fossile	Rapporto
PM2.5 (mg)	612.0 (70.4)	455.6 (39.5)	1.3
Carbonio organico OC (mgC)	219.7 (54.1)	109.9 (21.4)	2.0
Carbonio elementare EC (mgC)	145.6 (31.8)	169.4 (31.5)	0.9
IPA (mg)	4.2 (2.5)	8.0 (3.9)	0.53
Nitriti NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg)	5.1 (0.5)	65 (4)	0.08
HONO (mg)	4.8 (0.6)	0.9 (0.1)	5.4
Nitrati NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg)	0 (0)	12.3 (3.6)	-
HNO <sub>3</sub> (mg)	4.2 (0.8)	6.7 (2.4)	0.6
Solfati SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg)	3.1 (0.5)	1.4 (0.1)	2.3
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (mg)	20 (4)	27 (3)	0.7
Ammonio NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg)	0.80 (0.08)	-	-
Vanadio (V) mg	0.010 (0.001)	0.008 (0.0005)	1.3
Cromo (Cr) mg	0.12 (0.02)	0.21 (0.03)	0.57
Nichel (Ni) mg	0.07 (0.02)	0.1 (0.02)	0.7
Antimonio (Sb) mg	0.11 (0.02)	0.28 (0.07)	0.39
Bario (Ba) mg	0.4 (0.1)	2.8 (0.7)	0.25

Gli EI risultati significativamente maggiori per miscela bio rispetto al fossile sono relativi a  $PM_{2.5}$  (+34%), OC (+100%), HONO (+433%) e  $SO_4^{2-}$  (+121%).

EI significativamente minori per la miscela bio rispetto al fossile sono risultati per IPA (-48%),  $NO_2^-$  (-92%), e  $HNO_3$  (-37%),

Per i metalli le differenze significative riguardano Ba (-86%), Sb (-61%) e Cr (-43%).

Nei limiti degli errori risultano equivalenti gli EI di EC,  $H_2SO_4$ , Ni e V.

Gli EI di  $NO_3^-$  per la miscela bio di  $NH_4^+$  per il fossile sono stati riportati per completezza di calcolo.

**TABELLA 14: VALORI DEGLI EI DELLE MISURE CON MONITOR MEDIATE PER TIPO DI COMBUSTIBILE, (IN PARENTESI L'ERRORE QUADRATICO) E RAPPORTO TRA MISCELA BIO E FOSSILE.**

Indici di emissione per kg di combustibile	miscela		Rapporto
	bio	fossile	
numero particelle totali ( $D_p > 7nm$ )	1.3E+16 (7.2E+15)	5.7E+15 (2.2E+15)	2.4
numero particelle $D_p < 40 nm$	1.2E+16 (6.9E+15)	4.5E+15 (2.1E+15)	2.7
numero particelle $40 nm < D_p < 100 nm$	1.2E+15 (5.6E+14)	1.0E+15 (3.3E+14)	1.2
numero particelle $100 < D_p < 300 nm$	8.1E+13 (4.6E+13)	1.1E+14 (5.5E+13)	0.8
numero particelle $D_p > 300 nm$	8.7E+10 (6.2E+10)	7.4E+10 (4.3E+10)	1.2
organici non metanici TNMHC (g)	32.3 (16.1)	43.5 (17.7)	0.7
biossido di azoto $NO_2$ (mg)	2722 (955)	2.157 (872)	1.3
biossido di zolfo $SO_2$ (mg)	830.6 (484.0)	41.9 (19.0)	19.8

In Tabella 14 l'EI per il numero di particelle totali del PM della miscela bio risulta maggiore di un fattore 2.4 rispetto a quello del combustibile fossile, con un fattore massimo di 2.7 per la frazione con diametro ( $D_p$ ) inferiore a 40 nm.

L'EI medio per TNMHC della miscela bio risulta inferiore rispetto al fossile (-30%), ma, nei limiti degli errori, risulta equivalente.

L'EI medio del  $NO_2$  risulta per la miscela bio maggiore rispetto al fossile (+30%) ma, nei limiti degli errori, risulta equivalente.

L'EI medio del  $SO_2$  risulta maggiore per la miscela bio rispetto al fossile di un fattore 20.

## 1.2.8 CONCLUSIONI

Tra le finalità del progetto ABC le attività del task 1.2 “Campionamento e misure per la caratterizzazione chimico-fisica di biocarburanti per aerotrazione” sono state completate, per la parte sperimentale, con la campagna di misure da prova motore velivolo condotta dal 3 al 5 dicembre 2019. Quest’ultima ha rappresentato un’esperienza innovativa a livello nazionale per la valutazione delle emissioni in atmosfera di un aeromobile in generale e in particolare per l’utilizzo di una miscela di bio-cherosene come combustibile.

Sono state confrontate le emissioni tra un combustibile fossile e una miscela cherosene fossile/bio-cherosene contenente una percentuale di bio-cherosene dal 13% al 17%. Le prove, ciascuna della durata media di 50 minuti, sono state effettuate per la prima parte (circa 15 minuti) a un basso regime di potenza motore (50% RPM) e successivamente (circa 35 minuti) ad un regime di potenza motore intermedio (70% RPM).

Il diverso contenuto di zolfo tra il cherosene fossile, usato come base blend per la miscela bio, e il cherosene fossile usato tal quale, ha influenzato la quantità e la qualità delle emissioni di PM, limitando il corretto confronto tra le emissioni dei due tipi di combustibile.

Sono state eseguite misure ad alta risoluzione temporale dello spettro dimensionale della concentrazione in numero del PM da 7 nm a 1.7  $\mu\text{m}$  e della concentrazione in massa di CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>, TNMHC, OC ed EC, ottenendo anche informazioni sulle emissioni per due diversi regimi di potenza del motore (RPM 50 e 70%).

Inoltre, per ogni prova motore, sono stati eseguiti campionamenti su filtro per la misura integrata della concentrazione in massa del PM<sub>2.5</sub>, di OC, EC, IPA, ioni inorganici idrosolubili, metalli e degli elementi in traccia.

Il confronto tra i due combustibili è stato effettuato sia in termini di concentrazioni emesse in atmosfera che di indici di emissione (EI).

Le differenze tra le concentrazioni emesse in atmosfera, evidenziano valori maggiori, per la miscela bio rispetto al fossile, per il PM<sub>2.5</sub> (concentrazione in massa +46%, EI +30%), OC (concentrazione in massa +12%, EI +100%) e PM con diametro inferiore a 40nm (EI concentrazione in numero +170%) e valori minori, rispetto al fossile, per gli IPA (concentrazione in massa -75%, EI -53%).

Nel confronto tra gli EI degli ioni e degli acidi inorganici si sono evidenziate differenze significativamente maggiori, per miscela bio rispetto al fossile, per HONO (+433%) e SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> (+121%), mentre valori minori per la miscela bio si sono ottenuti per EI NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (-92%) e HNO<sub>3</sub> (-37%).

Per i parametri EC, TNMHC e NO<sub>2</sub> le differenze tra i valori medi, sia per le concentrazioni in atmosfera che per gli EI, rientrano nei limiti degli errori.

## 1.3 RISULTATI ANALISI TOSSICOLOGICA COMPARATIVA

### 1.3.1 ESPOSIZIONE IN CAMPO

Le dosi di esposizione determinate per le singole prove motore, come descritto in Gualtieri et al (2018), sono riportate in tabella 1.

**TABELLA 1. DOSI DI ESPOSIZIONE CALCOLATE PER LE DIVERSE PROVE MOTORE E TEMPO DI RECUPERO PER LE DIVERSE PROVE.**

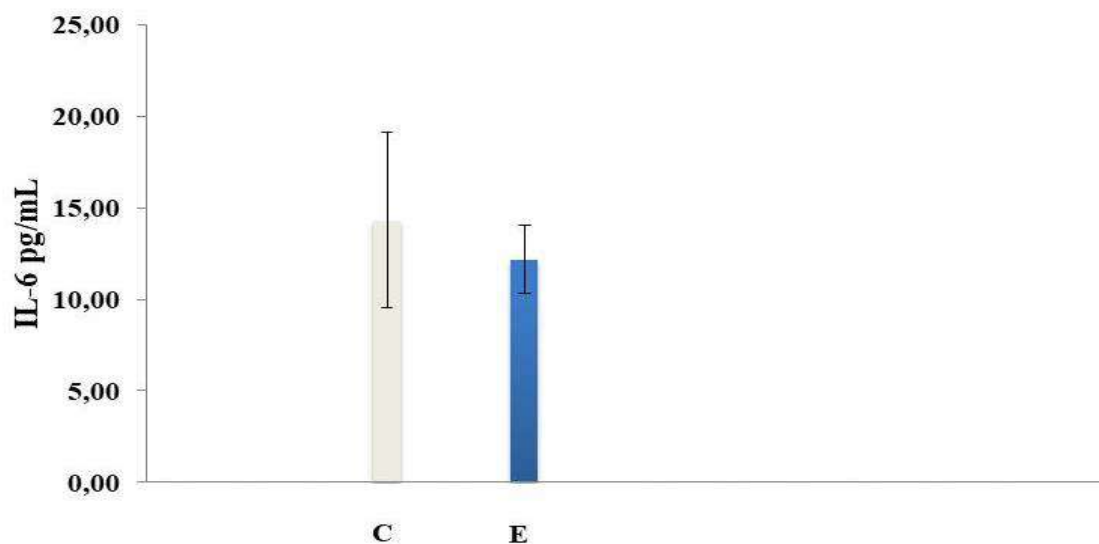
Prova combustibile	Dose esposizione (# particelle / cm <sup>2</sup> )	Dose esposizione (µg/cm <sup>2</sup> )	Recupero	% particelle ultrafini (# UPF/ # PM totale)	% particelle ultrafini (µg UPF/ µg PM totale)
Fossile 1	129.756	2,32E-06	-	99,56%	70,83%
Fossile 2	167.516	2,66E-06	-	99,64%	73,85%
Biocombustibile 1	538.233	5,21E-06	-	99,86 %	82,73%
Biocombustibile 2	614.318	5,85E-06	1 h	99,87 %	84,01%
Biocombustibile 3	678.636	7,46E-06	-	99,89 %	87,37%
Biocombustibile 4	630.000	5,00E-06	1 h	99,94%	89,27%

La composizione delle emissioni, e in particolare delle particelle a cui le cellule sono state esposte, è riportata nelle tabelle del precedente paragrafo 2.2.1. In accordo alla caratterizzazione delle prove emmissive, le prove con biocombustibile hanno determinato una maggiore percentuale di deposizione di particolato ultrafine (UFP, ossia particelle con diametro aerodinamico inferiore a 100 nm) sugli inserti esposti ai fumi di combustione. Questa differenza è supportata dai valori caratteristici del diametro medio geometrico in numero riportati nel precedente paragrafo “Distribuzione dimensionale in numero e in volume del PM”. È opportuno infine ricordare che gli inserti esposti direttamente in campo hanno risentito anche delle concentrazioni di gas e altri composti volatili organici (COVs).

Dai risultati relativi al rilascio di LDH risulta che la vitalità delle cellule esposte con o senza recupero di 1 h non viene alterata rispetto a quella dei controlli (dati non mostrati).

I risultati relativi alla misura delle proteine infiammatorie non hanno evidenziato rilascio delle citochine nel mezzo di coltura delle cellule subito dopo esposizione a aria filtrata, a emissioni del carburante fossile o della miscela bio. Al contrario i

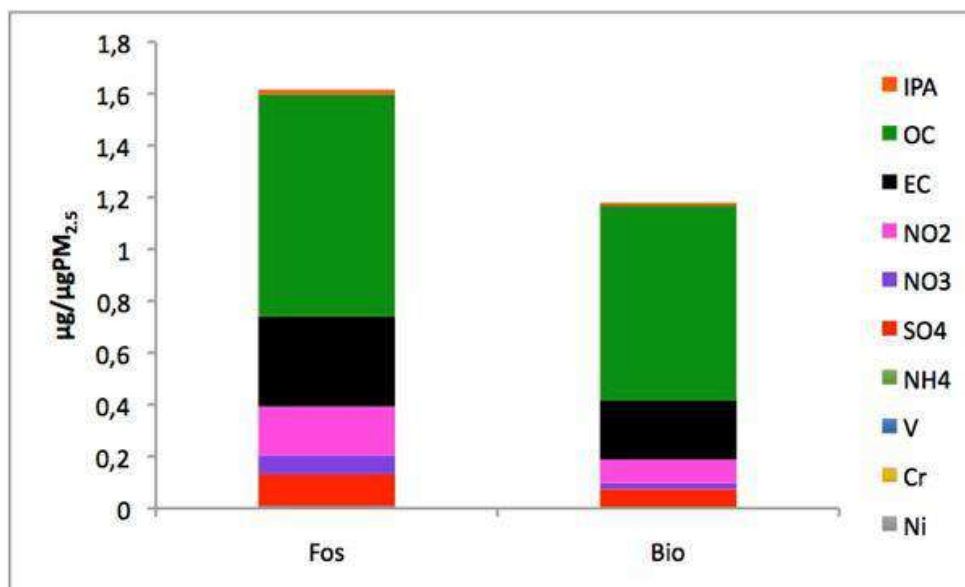
sovrantanti delle cellule esposte alla miscela bio che, subito dopo l'esposizione sono state rimesse in incubatore per 1 h, hanno mostrato il rilascio della sola citochina interleuchina 6 (IL-6), tuttavia lo stesso livello di IL-6 è stato osservato nei controlli e il rilascio sembra quindi indipendente dal trattamento (Fig.2).



**FIGURA 2. RILASCIO DELLA INTERLEUCHINA 6 NEI SOVRANATANTI DELLE CELLULE DI CONTROLLO (C) ED ESPOSTE (E) IN CAMPO ALLA MISCELA BIO CON RECUPERO DI 1 H DOPO L'ESPOSIZIONE**

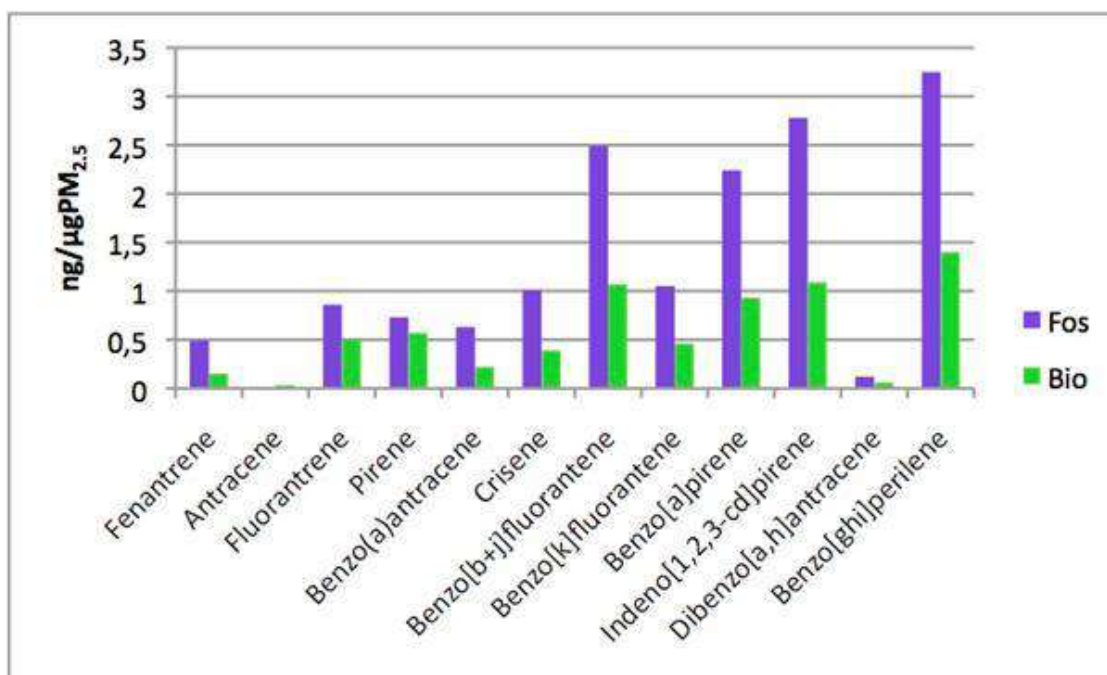
### 1.3.2 ESPOSIZIONE IN LABORATORIO

In figura 3 è riportata la composizione del PM2.5 presente sui filtri di quarzo dopo le prove con combustibile fossile e con miscela bio.



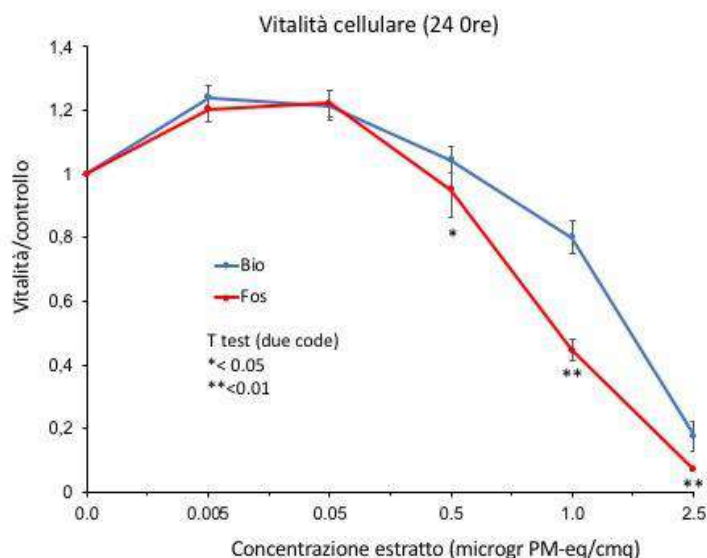
**FIGURA 3. CONFRONTO DELLA COMPOSIZIONE DEL PM2.5 MISURATA SUI FILTRI DI QUARZO DOPO LE PROVE CON COMBUSTIBILE FOSSILE E CON MISCELA BIO. CARBONIO ORGANICO (OC) E CARBONIO ELEMENTARE (EC) SONO ESPRESSI COME µGC/µG PM2.5, TUTTI GLI ALTRI PARAMETRI SONO ESPRESSI COME µG/µG PM2.5**

La composizione dei principali IPA presenti nella componente organica estratta dai filtri di quarzo e utilizzata per le esposizioni in laboratorio dei sistemi cellulari, è riportata nella figura 4. I risultati mostrano che la concentrazione degli IPA analizzati è maggiore nell'estratto ottenuto da carburante fossile rispetto a quello ottenuto dalla miscela bio.



**FIGURA 4: DETTAGLIO COMPOSIZIONE IPA NEGLI ESTRATTI ORGANICI PROVENIENTI DA FILTRI ESPOSTI A CARBURANTE FOSSILE (FOS) E MISCELA BIO (BIO)**

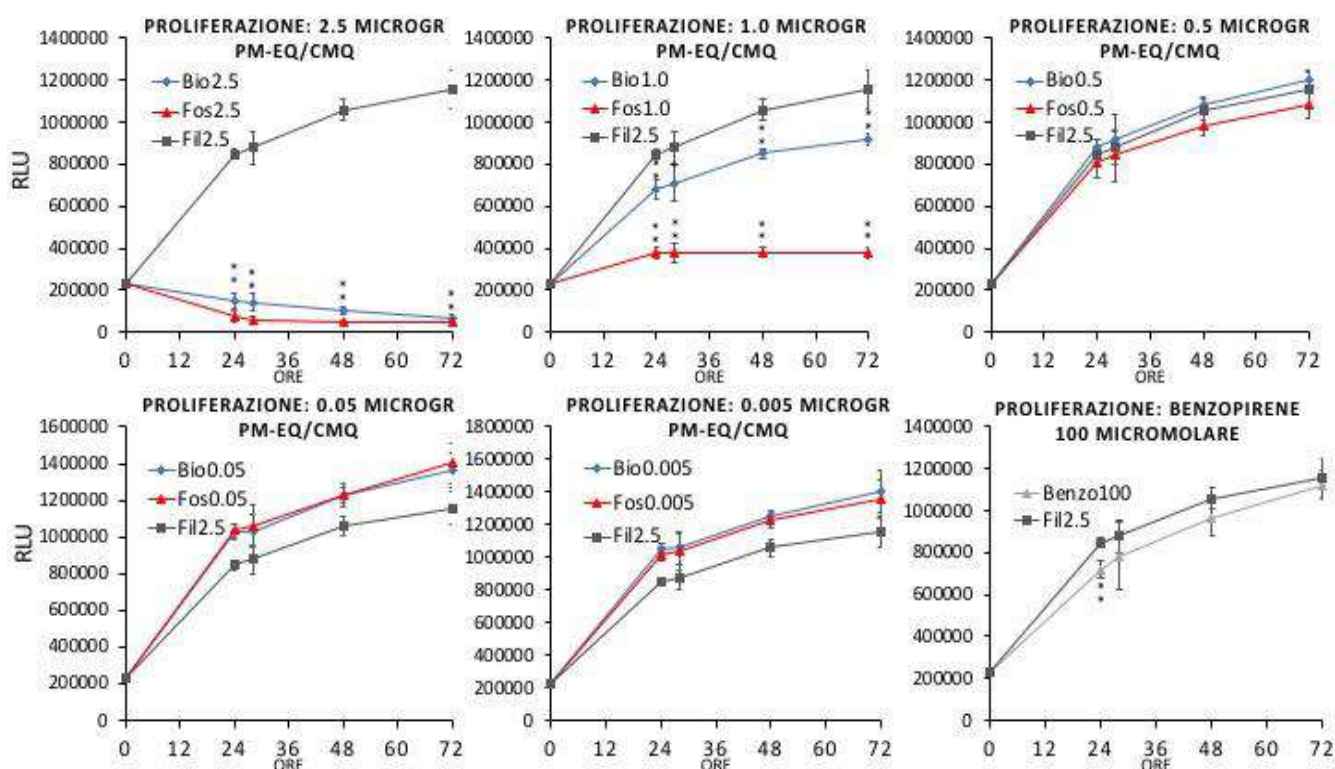
La vitalità cellulare risulta significativamente ridotta, rispetto al controllo (filtro bianco), nelle cellule trattate sia con EO fossile che con EO miscela bio alle concentrazioni più elevate (2.5, 1, 0.5 μg PM-eq/cm<sup>3</sup>), mentre non si osserva alcun effetto alle concentrazioni 0.05 e 0.005 μg PM-eq/cm<sup>3</sup> per entrambi gli estratti. Il confronto tra i valori di vitalità ottenuti dopo i due tipi di trattamento ha messo in evidenza, alle concentrazioni di 2.5, 1.0, 0.5 μg PM-eq/cm<sup>3</sup>, una vitalità significativamente ridotta nelle cellule esposte all'estratto fossile rispetto a quelle esposte a miscela bio, suggerendo una maggiore citotossicità del carburante fossile (Fig. 5).



**FIGURA 5: LA VITALITÀ CELLULARE DOPO 24 ORE DI ESPOSIZIONE AGLI ESTRATTI FOSSILE È STATA CALCOLATA FACENDO IL RAPPORTO FRA IL VALORE DI CHEMIO-LUMINESCENZA DI UN DETERMINATO CAMPIONE E QUELLO DEL CONTROLLO AL TEMPO 0. IL GRAFICO È STATO RICAIVATO UTILIZZANDO I DATI DI 2 ESPERIMENTI INDIPENDENTI REALIZZATI IN TRIPPLICATO.**

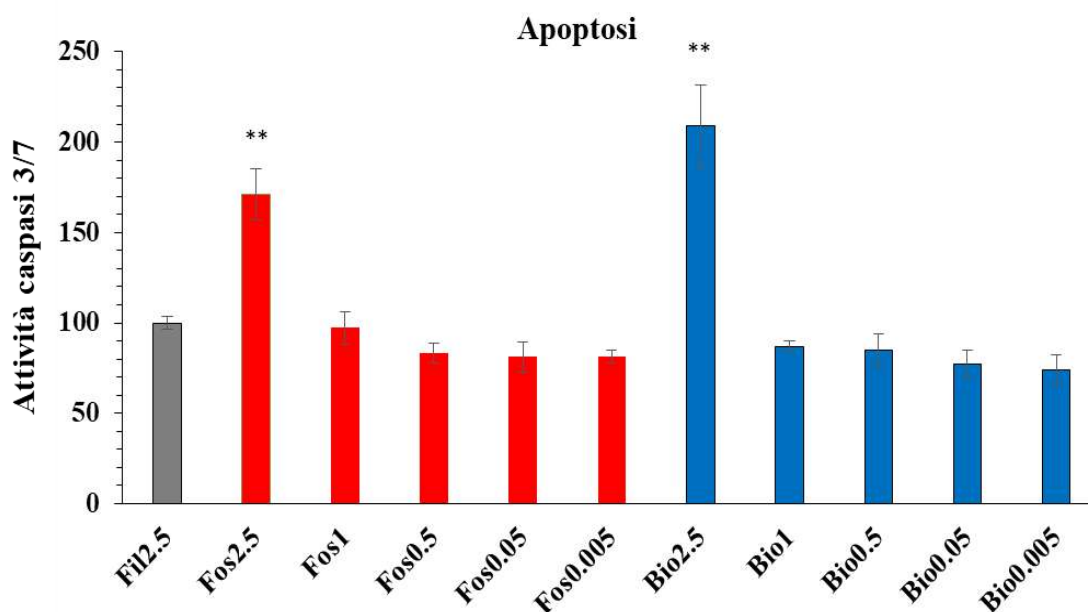
La proliferazione cellulare risulta ridotta significativamente dopo trattamento con entrambi gli estratti organici alle concentrazioni di 2.5 e 1.0  $\mu\text{gPM-eq/cm}^3$ . Da notare inoltre che, a queste concentrazioni, la proliferazione dopo trattamento con l'estratto da carburante fossile risulta significativamente inferiore a quella dopo trattamento con l'estratto da miscela bio ( $p < 0.05$  per il trattamento di 72 ore con 2.5  $\mu\text{g PM-eq/cm}^3$  e  $p < 0.001$  per tutti gli altri punti sperimentali).

Questo risultato suggerisce una maggiore presenza di composti con effetto inibitorio sulla proliferazione cellulare negli estratti da carburante fossile rispetto a quelli presenti nel carburante bio ( Fig. 6 ).



**FIGURA 6: LA PROLIFERAZIONE CELLULARE È STATA VALUTATA ESPONENDO FINO A 72 ORE LE CELLULE AGLI ESTRATTI IN PRESENZA DI UN AGENTE CHEMIO-LUMINESCENTE VITALE (REAL-TIME GLO CELL VIABILITY ASSAY –PROMEGA) LA CUI ATTIVITÀ (RELATIVE LUMINOMETRIC UNITS: RLU) È DIRETTAMENTE PROPORZIONALE AL NUMERO DI CELLULE VIVE. LA SIGNIFICATIVITÀ STATISTICA È STATA CALCOLATA UTILIZZANDO IL TEST T DI STUDENT A DUE CODE ED È RIFERITA AL CONTROLLO (FIL2.5). NEI GRAFICI È INDICATA CON DOPPIO ASTERISCO ( $P < 0.001$ ) O SINGOLO ASTERISCO ( $P < 0.05$ ). I GRAFICI SONO STATI RICAIVATI DAI DATI DI 2 ESPERIMENTI INDIPENDENTI REALIZZATI IN TRIPPLICATO.**

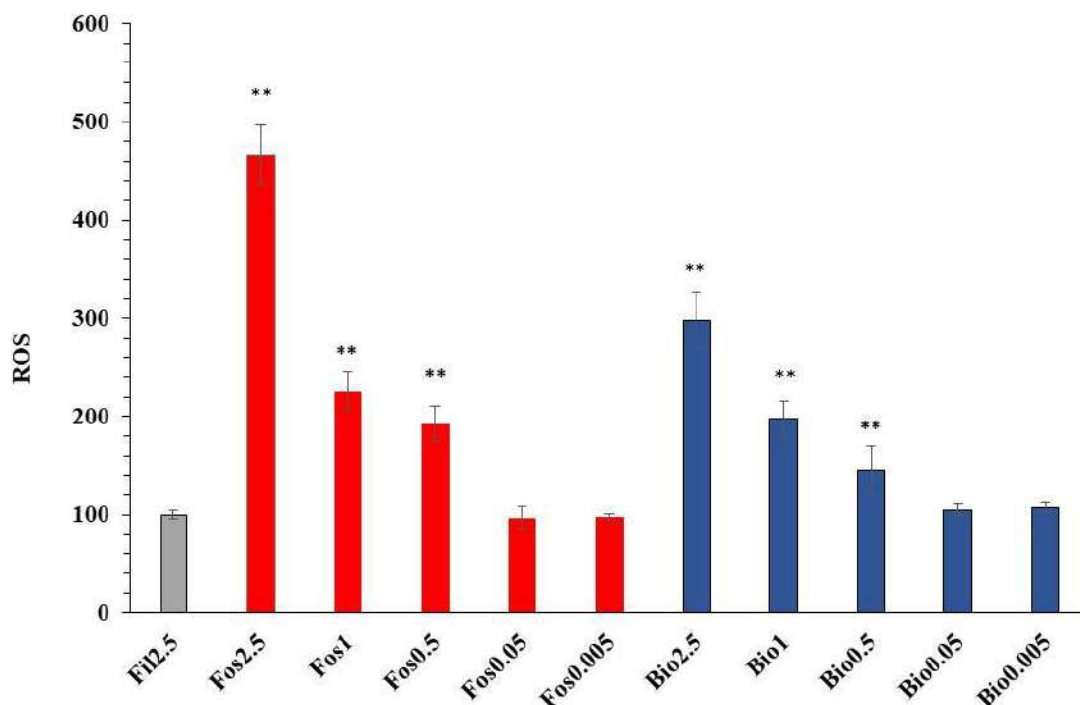
I risultati relativi all'induzione di apoptosi sono riportati in figura 7. Dopo 24 h di trattamento con entrambi gli estratti organici si osserva un aumento significativo, rispetto al filtro controllo, dell'attività delle caspasi 3/7, alla concentrazione più elevata (2.5  $\mu\text{g}$  PM-eq/cm $^2$ ). Alle altre concentrazioni le caspasi non vengono attivate ne' dopo il trattamento con estratti da carburante fossile ne' dopo trattamento con la miscela bio. Il confronto tra i filtri campionati con fossile e con miscela bio alla concentrazione 2.5  $\mu\text{g}$  PM-eq/cm $^2$  ha mostrato una maggiore induzione di apoptosi ( $p \leq 0.05$ ) da parte della miscela bio rispetto al carburante fossile.



**FIGURA 7: MISURA DELL'ATTIVITÀ DELLE CASPASI 3/7 (APOPTOSI). TRATTAMENTI DI CELLULE BEAS-2B CON ESTRATTI ORGANICI DA CARBURANTE FOSSILE E DA MISCELA BIO (RANGE: 2.5-0.005  $\mu\text{G PM-EQ/CMQ}$ ) PER 24 ORE. CIASCUN ISTOGRAMMA MOSTRA I DATI COMPLESSIVI DI DUE ESPERIMENTI INDIPENDENTI ESEGUITI IN TRIPPLICATO. L'ATTIVITÀ DELLE CASPASI 3/7 È STATA POSTA = 100 NEL CONTROLLO FILTRO BIANCO (FIL 2.5). LA SIGNIFICATIVITÀ STATISTICA DELLA DIFFERENZA FRA I SINGOLI PUNTI SPERIMENTALI RISPETTO AL VALORE DEL CONTROLLO È STATA CALCOLATA CON IL TEST T DI STUDENT (A DUE CODE). IL LIMITE MINIMO DI SIGNIFICATIVITÀ STATISTICA UTILIZZATO È  $P \leq 0,05$ . \*\* $P \leq 0,01$ .**

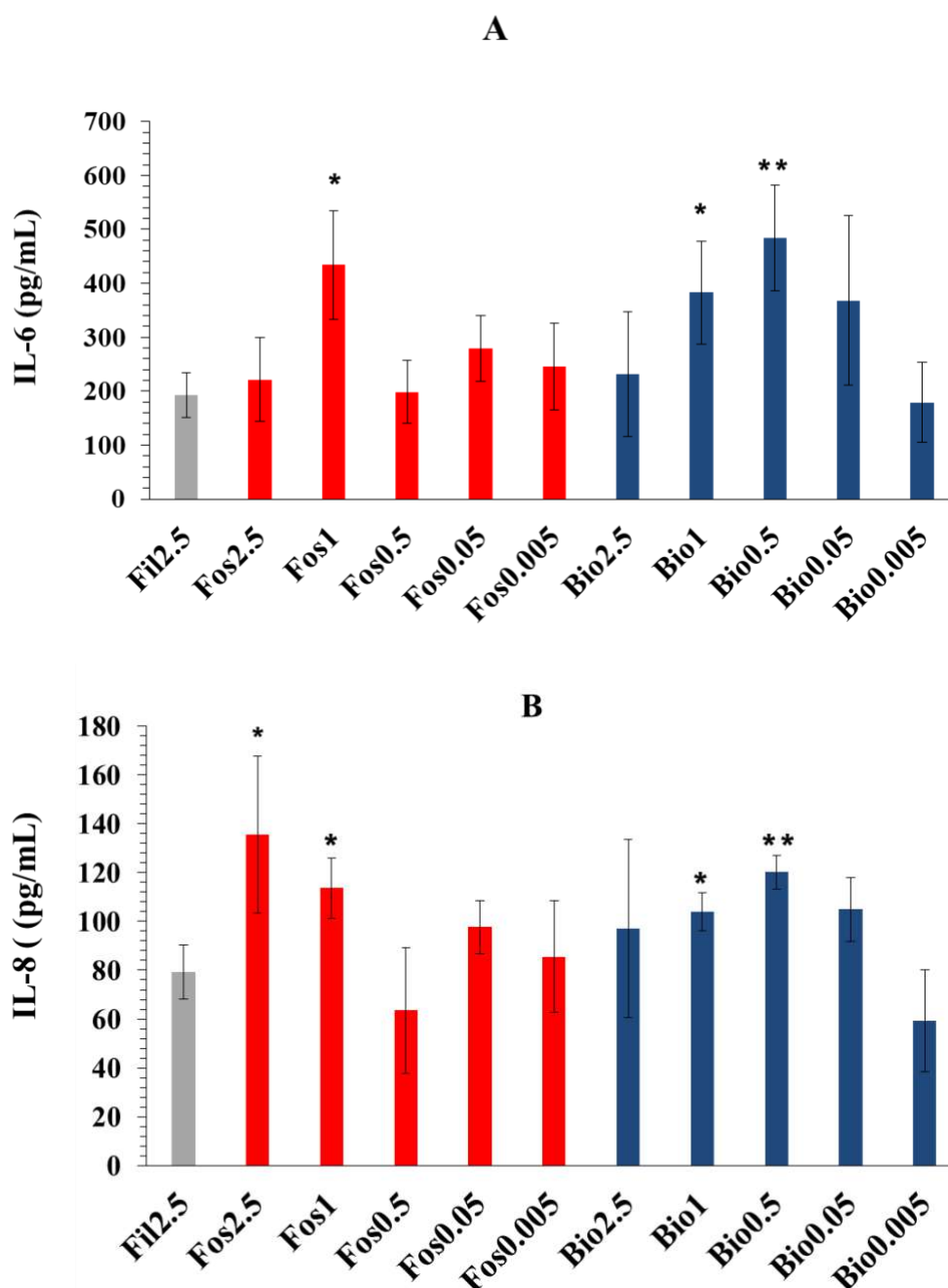
Come riportato in figura 8, i risultati relativi all'induzione di ROS mostrano un incremento della luminescenza dopo trattamento con EO da fossile e con EO da miscela bio, rispetto al controllo, indicativo di produzione di specie reattive dell'ossigeno. L'effetto risulta statisticamente significativo alle concentrazioni 2.5, 1.0, 0.5  $\mu\text{g PM-eq/cm}^2$ . Il confronto tra i valori relativi all'induzione di ROS dopo i due tipi di trattamento ha messo in evidenza, alle concentrazioni di 2.5, 1.0, 0.5  $\mu\text{g PM-eq/cm}^2$  una produzione di ROS significativamente più elevata nelle cellule esposte all'estratto fossile rispetto a quelle esposte a miscela bio.

### Induzione ROS



**FIGURA 8: MISURA DELLE SPECIE REATTIVE DELL'OSSIGENO (ROS). TRATTAMENTI DI CELLULE BEAS-2B CON ESTRATTI ORGANICI DA CARBURANTE FOSSILE E DA MISCELA BIO (RANGE: 2.5-0.005  $\mu\text{G PM-EQ/CMQ}$ ) PER 24 ORE. CIASCUN ISTOGRAMMA MOSTRA I DATI COMPLESSIVI DI DUE ESPERIMENTI INDIPENDENTI ESEGUITI IN TRIPLICATO. IL LIVELLO DELLE ROS È STATO POSTO = 100 NEL CONTROLLO FILTRO BIANCO (FIL 2.5). LA SIGNIFICATIVITÀ STATISTICA DELLA DIFFERENZA FRA I SINGOLI PUNTI SPERIMENTALI RISPETTO AL VALORE DEL CONTROLLO È STATA CALCOLATA CON IL TEST T DI STUDENT (A DUE CODE). IL LIMITE MINIMO DI SIGNIFICATIVITÀ STATISTICA UTILIZZATO È  $P \leq 0.05$ . \*  $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$**

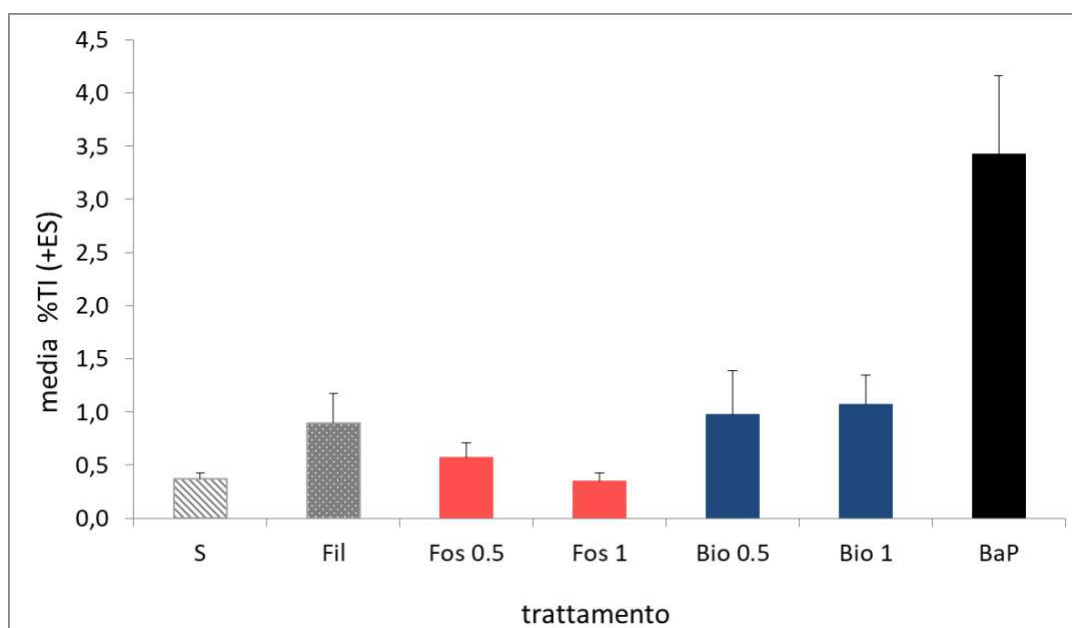
I risultati relativi alla misura delle citochine infiammatorie, hanno evidenziato che, nel sovrantante delle cellule esposte per 24 h agli estratti organici dei due tipi di carburante, vengono escrete due citochine, IL-6 e IL-8, delle sei analizzate. I livelli di queste proteine risultano più elevati rispetto a quelli del controllo, l'aumento è significativo ad alcune delle concentrazioni più alte, mentre non è evidente alcun effetto a quelle più basse (Fig. 9).



**FIGURA 9: LIVELLI DI INTERLEUCHINA-6 (PANNELLO A) E INTERLEUCHINA-8 (PANNELLO B) SECRETE DALLE CELLULE BEAS-2B ESPOSTE AGLI ESTRATTI ORGANICI DA CARBURANTE FOSSILE E DA MISCELA BIO (RANGE: 2.5-0.005  $\mu\text{g PM-EQ/CMQ}$ ) PER 24 ORE. LA SIGNIFICATIVITA' STATISTICA DELLA DIFFERENZA FRA I SINGOLI PUNTI SPERIMENTALI RISPETTO AL VALORE DEL CONTROLLO (FIL 2.5) È STATA CALCOLATA CON IL TEST T DI STUDENT (A DUE CODE). IL LIMITE MINIMO DI SIGNIFICATIVITÀ STATISTICA UTILIZZATO È  $P \leq 0.05$ . \*  $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$**

I risultati ottenuti con il test della cometa sono riportati nella figura 10. I valori di %TI ottenuti dopo esposizione all'EO da filtro non esposto (Fil) sono risultati leggermente superiori rispetto a quelli ottenuti con il controllo solvente (S). Questa differenza potrebbe essere dovuta all'effetto dei componenti utilizzati nella procedure di estrazione dell'EO. Come atteso, il trattamento con BaP ha indotto un aumento

evidente del danno rispetto al controllo. Al contrario, nessuna differenza è stata evidenziata dopo trattamento con le diverse concentrazioni di entrambi gli estratti rispetto all'EO del filtro bianco. Questo risultato suggerisce che, in questa linea cellulare, il trattamento di 24 ore con EO da carburante fossile o da miscela bio non induce rotture al DNA anche a concentrazioni che producono un effetto citotossico.



**FIGURA 10: RISULTATI OTTENUTI CON IL TEST DELLA COMETA SU CELLULE BEAS-2B TRATTATE PER 24 ORE CON DUE DIVERSE CONCENTRAZIONI DI ESTRATTO ORGANICO DA FILTRI ESPOSTI A CARBURANTE FOSSILE O MISCELA BIO. CIASCUNA COLONNA RAPPRESENTA LA MEDIA (+/- ES) DEI VALORI DELLA PERCENTUALE DI DNA NELLA CODA (%TI) OTTENUTI IN DUE ESPERIMENTI INDIPENDENTI. S = SOLVENTE (DMSO); FIL = FILTRO BIANCO; FOS 0.5 E FOS 1 = EO DA CARBURANTE FOSSILE ALLA CONCENTRAZIONE DI 0.5 O 1 µG PM-EQ/CMQ; BIO 0.5 E BIO 1 = EO DA MISCELA BIO ALLA CONCENTRAZIONE DI 0.5 O 1 µG PM-EQ/CMQ. BAP = BENZO(A)PIRENE 5 MM.**

### 1.3.3 CONCLUSIONI

L'esposizione all'interfaccia aria-liquido delle cellule bronchiali umane BEAS-2B direttamente alle emissioni da combustibile fossile e dalla miscela bio, mediante espositore portatile, non ha evidenziato un effetto citotossico e/o proinfiammatorio.

Diversa è la risposta delle stesse cellule trattate con la componente organica estratta dai filtri esposti all'emissione dei due tipi di carburante, con una riduzione dose-dipendente della vitalità e della proliferazione cellulare, rispetto al controllo non esposto, statisticamente significativa alle concentrazioni comprese tra 2.5 e 0.5  $\mu\text{g PM-eq/cm}^3$ . A queste stesse concentrazioni di EO, è inoltre evidente una significativa produzione di ROS. Non si è osservato invece alcun effetto citotossico alle concentrazioni più basse (0.05 e 0.005  $\mu\text{g PM-eq/cm}^3$ ) per entrambi i tipi di carburante.

Nonostante le diverse condizioni espositive, i dati di vitalità ottenuti nei sistemi cellulari esposti agli estratti alle concentrazioni più basse, concordano con l'assenza di citotossicità rilevata nel modello cellulare esposto all'interfaccia aria liquido. Va infatti considerato che le concentrazioni minime impiegate nelle prove di laboratorio sono di tre ordini di grandezza maggiori di quelle misurate nelle prove espositive effettuate presso l'aeroporto di Pratica di Mare.

Per quanto riguarda le differenze di tossicità indotte dai due EO, l'estratto da fossile risulta essere quello con la maggiore capacità di indurre una citotossicità e un effetto inibitorio sulla proliferazione e di produrre specie reattive dell'ossigeno in confronto alla miscela bio. Entrambi gli estratti organici mostrano un effetto pro-infiammatorio alle concentrazioni più alte. La riduzione della vitalità alle concentrazioni più elevate osservata per entrambi i carburanti, non sembra dipendere soltanto da un fenomeno apoptotico, evidente in modo significativo alla concentrazione di 2.5  $\mu\text{g PM-eq/cm}^3$  per entrambi i carburanti, ma anche da altri meccanismi di morte cellulare come ad es. necrosi o blocco del ciclo cellulare.

La valutazione dei risultati ottenuti suggerisce che le differenze quantitative tra gli effetti biologici osservati confrontando i due tipi di carburante, verosimilmente non siano imputabili esclusivamente alla classe di IPA caratterizzati nei due EO (Fig. 4). E' possibile ipotizzare che la presenza di altri IPA, di altri componenti organici (ad es. chinoni) o di una frazione non-organica (composti acidi come nitriti, nitrati e solfati presenti sul filtro in fibra di quarzo e sul particolato raccolto durante le prove motore (Fig. 3), possibilmente estratti dal solvente di estrazione), non caratterizzati per una limitata disponibilità dei due EO, contribuiscano alla diversa tossicità osservata.

## BIBLIOGRAFIA

Cross, E.S., Hunter, J.F., Carrasquillo, A.J., Franklin, J.P., Herndon, S.C., Jayne, J.T., Worsnop, D.R., Miake-Lye, R.C., Kroll, J.H. Online measurements of the emissions of intermediate-volatility and semi-volatile organic compounds from aircraft. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 13, 7845-7858, doi:10.5194/acp-13-7845-2013, 2013.

Cheng, Y., He, K.B., Duan, F.K., Zheng, M., Ma, Y.L., Tan, J.H. Positive sampling artifact of carbonaceous aerosols and its influence on the thermal-optical split of OC/EC. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 9, 7243-7256, 2009.

EASA (European Aviation Safety Agency), ICAO Aircraft Engine Emissions Databank), updated April 2013, <http://easa.europa.eu/environment/edb/aircraft-engine-emissions.php>, 2013

Gysel, M., Nyeki, S., Weingartner, E., Baltensperger, U., Giebl, H., Hittenberger, R., Petzold, A., Wilson, C.W., Properties of jet engine combustion particles during the PartEmis experiment: hygroscopicity at subsaturated conditions. *Geophys. Res. Lett.* 30, 1566., <http://dx.doi.org/10.1029/2003GL016896>, 2003.

Herndon, S., Shorter, J., Zahniser, M., Nelson, D., Jayne, J., Brown, R., Miake-Lye, R.C., Waitz, I., Silva, P., Lanni, T., Demerjian, K., Kolb, C. NO and NO<sub>2</sub> ratios measured from in-use commercial aircraft during taxi and takeoff. *Environ. Sci. Technol.* 38, 6078e6084, 2004

Hwang, I.J., Na, K. Filter- and Denuder-Based organic carbon correction for positive sampling artifacts. *Asian Journal of Atmospheric Environment*, Vol11, No.2, 107-113, 2017.

Hunton, D.E., Ballenthin, J.O., Borghetti, J.F., Federico, G.S., Miller, T.M., Thorn, W.F., Viggiano, A.A., Anderson, B.E., Coffey, W.R., McDougal, D.S., Wey, C.C. Chemical ionization mass spectrometric measurements of SO<sub>2</sub> emissions from jet engines in flight and test chamber operations. *Journal of Geophysical Research*. 105 (D22), 26841-26855, 2000.

Gualtieri M, Grollino MG, Consales C, Costabile F et al. [Is it the time to study air pollution effects under environmental conditions? A case study to support the shift of in vitro toxicology from the bench to the field.](#) *Chemosphere*. 2018, doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.05.130

Masiol, M., Harrison, R.M.: Aircraft engine exhaust emissions and other airport-related contributions to ambient air pollution: A review. *Atmospheric Environment* 95, 409-455 <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2014.05.070>, 2014.

Moore, R.H., Thornhill, K.L., Weinzierl, B., Sauer, D., D'Ascoli, E., Kim, J., Lichtenstern, M., Scheibe, M., Beaton, B., Beyersdorf, A. J., Barrick, J., Bulzan, D., Corr, C. A., Crosbie, E., Jurkat, T., Martin, R., Riddick, D., Shook, M., Slover, G., Voigt, C., White, R., Winstead, E., Yasky, R., Ziemba, L.D., Brown, A., Schlager, H. & Anderson, B. E., Biofuel blending reduces particle emissions from aircraft engines at cruise conditions. *Nature*, 543, 411-415, doi:10.1038/nature21420, 2017.

OECD, 2016. Test No.487: in Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test. OECD Publishing, Paris. OECD doi: <https://doi.org/10.1787/9789264264861-en>

Rapporto Finale Task 1.2. Campionamento e misure per la caratterizzazione chimico-fisica di biocarburanti per aerotrazione. Progetto ABC, Attività ENEA, Aprile 2020

Rojo, C., Vancassel, X., Mirabel, P., Ponche, J.-L. Garnier, F., Impact of alternative jet fuels on aircraft-induced aerosols, *Fuel*, 144, 335-341, <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2014.12.021>, 2015.

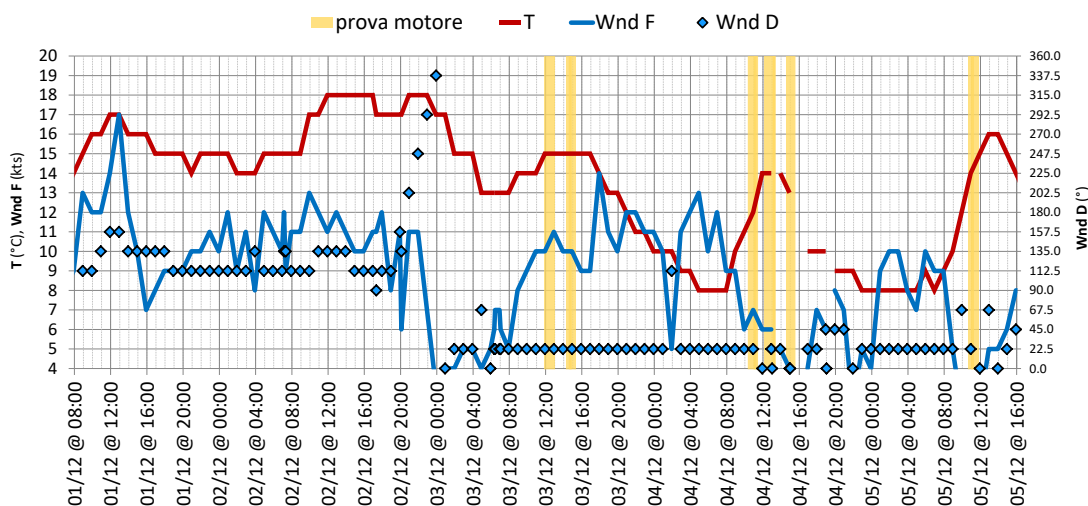
Stettler, M.E.J., Eastham, S., Barrett, S.R.H. Air quality and public health impacts of UK airports. Part I: emissions. *Atmos. Environ.* 45, 5415e5424. 2011.

Wey, C.C., Anderson, B.E., Hudgins, C.H., Wey, C., Li-Jones, X., Winstead, E., Thornhill, L., Lobo, P., Hagen, D., Whitefield, P.D., Yelvington, P.E., Herndon, S.C., Onasch, T.B., Miake-Lye, R.C., Wormhoudt, J., Knighton, B., Howard, R., Bryant, D., Corporan, E., Moses, C., Holve, D., Dodds, W. Aircraft Particle Emissions eXperiment (APEX). NASA/TM-2006-214382, 2006, ARL-TR-3903. 2006.

## 1.4 RISULTATI MISURE DEL SISTEMA-SENSORI MULTIPARAMETRICO

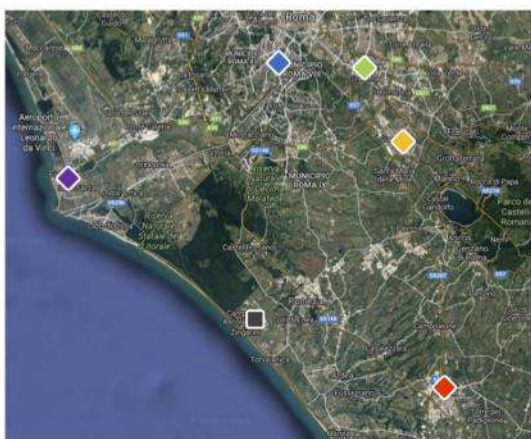
### 1.4.1 CONTESTO METEOROLOGICO

Durante la permanenza a Pratica di Mare e nel corso delle giornate di misura le condizioni meteo (fonte AM) sono state sintetizzate in Figura 1



**FIGURA 1: CONDIZIONI METEO (FONTE AM) DURANTE LE PROVE MOTORE (PERIODI DI ESECUZIONE EVIDENZIATI IN GIALLO).**

Nei giorni in cui è stato eseguito l'allestimento della strumentazione la ventilazione aveva provenienza prevalente<sup>2</sup> dai settori ESE-SE (stazioni ARPA presenti nel settore: Aprilia 2) mentre nei giorni in cui si sono svolte le prove motore aveva provenienza prevalente dai settori NNE-N (stazioni ARPA presenti nel settore: Ciampino, Cinecittà).

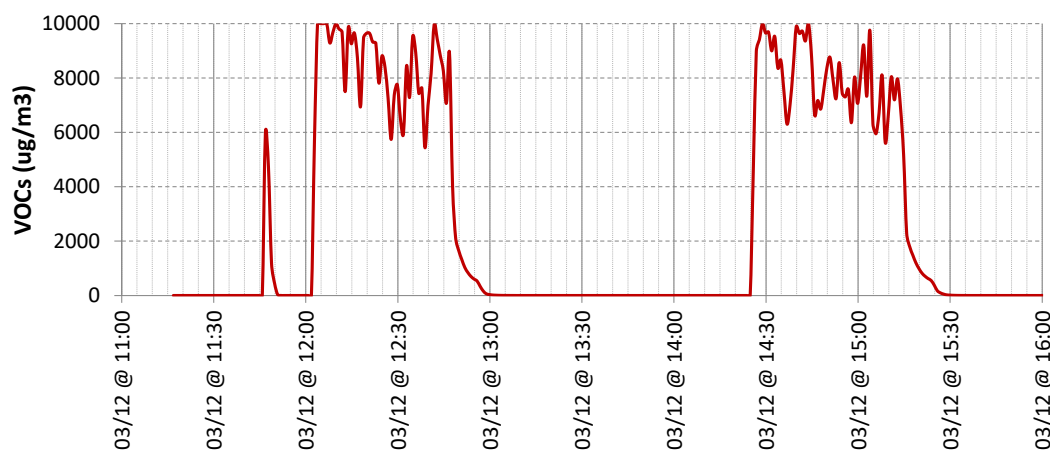


**Figura 2: ubicazione delle stazioni della rete regionale ARPA Lazio.**

<sup>2</sup> La direzione di provenienza del vento è riportata sull'asse verticale indicando i gradi sessagesimali a partire da 0° (Nord) in senso orario (90° Est, 180° Sud, 270° Ovest).

## 1.4.2 SERIE TEMPORALI

Nelle Figure 3 e 4 è riportato l'andamento dei valori medi delle misure di concentrazione dei tVOCs rispettivamente per le prove motore con combustibile solo fossile del 3/12 e per le prove motore con combustibile bio del 4/12.



**FIGURA 3: MEDIE AL MINUTO PRIMO DEI tVOCs DURANTE LE PROVE CON COMBUSTIBILE FOSSILE (03/12/2019).<sup>3</sup>**



**FIGURA 4: MEDIE AL MINUTO PRIMO DEI tVOCs DURANTE LE PROVE CON COMBUSTIBILE BIO (04/12/2019).**

In occasione dell'utilizzo del combustibile fossile, per entrambe le prove, dopo lo spegnimento del motore è stata registrata presenza di tVOCs per un periodo di circa 10 minuti primi, evenienza non ripetuta nel secondo giorno di prove. In Figura 3 si osserva come alla rapida diminuzione della concentrazione per lo spegnimento del motore fa seguito un graduale raggiungimento dei valori di fondo. Per contro l'andamento delle concentrazioni al termine delle prove motore con utilizzo della miscela di combustibile con presenza del bio (Figura 4) vede il raggiungimento del fondo in tempi rapidi.

<sup>3</sup> Il picco che precede l'esecuzione della prima prova è dovuto ad una prima accensione del motore.

La sintesi dei dati di misura delle prove, con distinzione tra le due fasi di prova al 50% RPM e al 70% RPM, è riportata in Tabella 1. I valori calcolati traducono in termini quantitativi la diminuzione delle concentrazioni tra le due fasi riscontrabile anche nelle Figure 3 e 4.

Per le due prove motore del 3/12/2019 in cui è stato utilizzato il combustibile fossile, la seconda fase a potenza maggiore ha visto una diminuzione delle concentrazioni di tVOCs del 14 e 17% mentre per le due prove motore del 4/12/2019 con combustibile bio tale diminuzione è stata più pronunciata con valori del 28 e 34%.

**TABELLA 1: SINTESI DEI DATI DI MISURA DELLE PROVE DEL 3 DICEMBRE E 4 DICEMBRE**

		Fossile		Bio	
		I	II	I	II
Intera prova	Valore medio (mg/m <sup>3</sup> )	8377	7926	1281	1354
	Deviazione standard (mg/m <sup>3</sup> )	1468	1336	486	468
	Coeff. di variazione (%)	17.5	16.9	37.9	34.5
	Minuti con valori sopra il massimo <sup>4</sup>	5	2	0	0
1a fase (50% RPM)	Valore medio (mg/m <sup>3</sup> )	9210	8715	1570	1723
	Deviazione standard (mg/m <sup>3</sup> )	1105	1414	627	433
	Coeff. di variazione (%)	12.0	16.2	39.9	25.1
2a fase (70% RPM)	Valore medio (mg/m <sup>3</sup> )	7676	7535	1123	1142
	Deviazione standard (mg/m <sup>3</sup> )	1367	983	283	337
	Coeff. di variazione (%)	17.8	13.1	25.2	29.5
	Decremento (%) dei valori medi tra le 2 fasi	17	14	28	34

Con riferimento al periodo intero di esecuzione della prova, il confronto dei valori medi delle concentrazioni di tVOCs delle due prove motore di ciascun giorno mostra, Tabella 2, variazioni contenute in termini percentuali presentando un coefficiente di variazione in entrambi i casi pari al 2,8%.

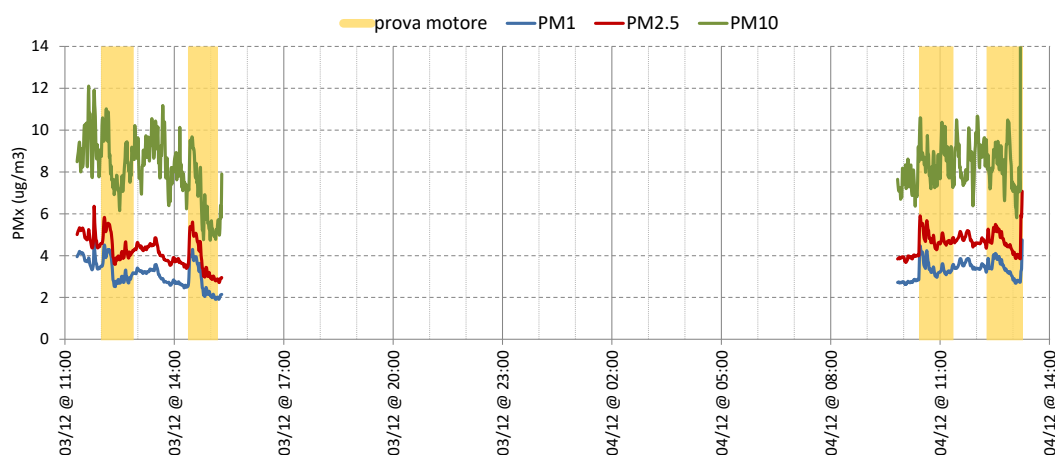
**TABELLA 2: CONFRONTO DEI VALORI MEDI DELLE PROVE MOTORE TRA COPPIE OMOLOGHE (SOLO COMBUSTIBILE FOSSILE E SOLO COMBUSTIBILE BIO AL 13%).**

Prove	riferimento periodo della prova	avg (µg/m <sup>3</sup> )	sd (µg/m <sup>3</sup> )	CV (%)
I-II (fossile)	<b>intero</b>	8151	225	<b>2.8</b>
	inizio	8963	248	2.8
	fine	7606	71	0.9
I-II bio	<b>intero</b>	1317	37	<b>2.8</b>
	inizio	1646	76	4.6
	fine	1132	10	0.8

Relativamente ai dati di PM rilevati dal OPC-N2, posto sullo scivolo (Figura 5) durante le prove del primo giorno, si sono riscontrate variazioni più marcate nella parte iniziale di ciascuna prova (a potenza ridotta), con variazioni più evidenti per PM<sub>1</sub> e PM<sub>2.5</sub>. Nella successiva parte a potenza superiore le concentrazioni sono scese.

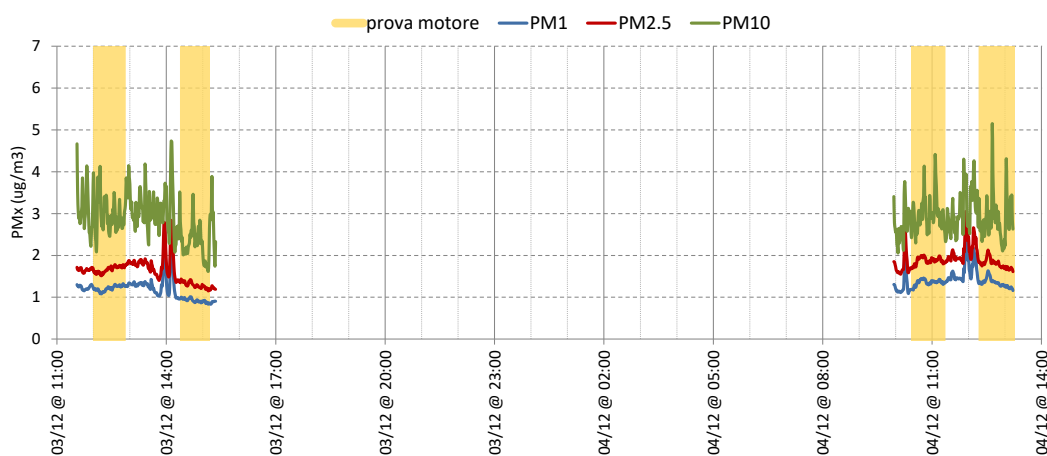
Durante il secondo giorno di prove non sono state registrate particolari variazioni.

<sup>4</sup> L'odorimetro palmare OMX-TDM della Shinyei Technology per la misura delle emissioni di composti organici totali ha un campo di rilevamento 0÷9999 µg/m<sup>3</sup>.



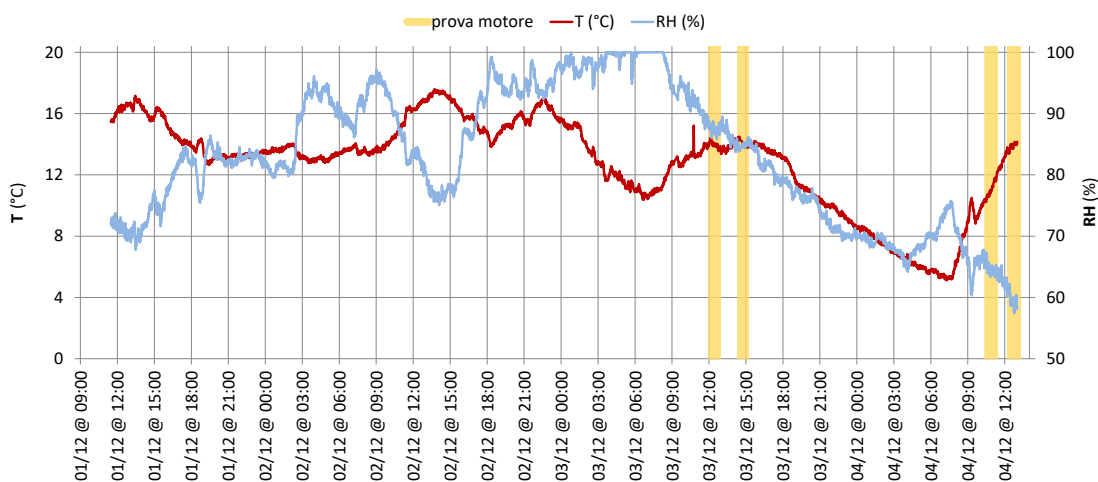
**FIGURA 5: ANDAMENTO DELLE CONCENTRAZIONI DI PM IN CORRISPONDENZA DELLO SCIVOLO (PERIODI DI ESECUZIONE DELLE PROVE EVIDENZIATI CON SFONDO GIALLO).**

I dati del dispositivo per la misura del particolato del fondo (Figura 6) non hanno mostrato variazioni direttamente collegate all'esecuzione delle prove mentre sono state registrate variazioni (anche in questo caso per  $PM_1$  e  $PM_{2.5}$ ) legate, con buona probabilità, ad operazioni eseguite dal personale a diverso titolo presente durante le prove.

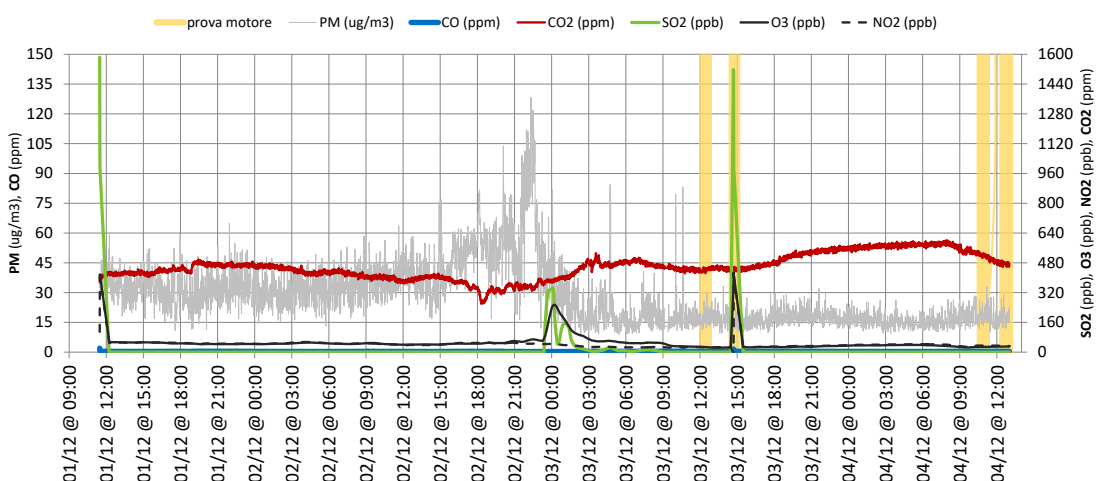


**FIGURA 6: ANDAMENTO DELLE CONCENTRAZIONI DI PM IN CORRISPONDENZA DEL FONDO (PERIODI DI ESECUZIONE DELLE PROVE EVIDENZIATI CON SFONDO GIALLO).**

**Misure del dispositivo multi sensore** L'andamento dei parametri ambientali T e RH rilevati dal dispositivo multi sensore (Figura 7) è coerente con i dati meteo forniti da AM e riportati in (Figura 1). Durante l'esecuzione delle prove motore il dispositivo multisensore ha registrato variazioni significative rispetto al fondo in corrispondenza della seconda prova motore con combustibile fossile del 3/12/2019, (Figura 29). mostrando variazioni significative nelle concentrazioni di  $NO_2$  e  $SO_2$ . In concomitanza delle altre prove motore non sono state riscontrate variazioni rispetto al fondo degne di rilievo.



**FIGURA 7: ANDAMENTO DEI PARAMETRI AMBIENTALI, T E RH, RILEVATI DAL DISPOSITIVO MULTISENORE.**



**FIGURA 8: ANDAMENTO DELLE MISURE DEGLI INQUINANTI (MISURE DI FONDO) RILEVATI DAL DISPOSITIVO MULTISENORE.**

## APPENDICE A

### ACIDO SOLFORICO, NITROSO E NITRICO

Acidi inorganici quali l'acido solforico ( $H_2SO_4$ ), l'acido nitrico ( $HNO_3$ ) e l'acido nitroso ( $HNO_2$ ) sono emessi in forma gassosa direttamente dai motori a reazione degli aerei (Masiol et al. 2006, Lukachko et al., 2005). Le emissioni degli acidi inorganici, ed in particolare di  $H_2SO_4$  contribuiscono alla formazione di PM fine volatile già all'interno del motore su una scala temporale compresa tra 10 ms e 1 s. Inoltre sono precursori di PM secondario, che può rimanere presente nelle masse d'aria che si spostano su scala regionale per centinaia di km dalla sorgente per un range temporale di giorni o settimane (Lukachko et al. 2005). L'emissione e la formazione di  $H_2SO_4$  dipendono quasi esclusivamente dal contenuto di zolfo del combustibile mentre la formazione di  $HNO_3$  e  $HNO_2$  sono dovute alla reazione tra ossidi di azoto ( $NO + NO_2$ ), derivanti da  $N_2$ , presente in aria, con radicali OH.

Secondo alcuni studi riportati in una review di Masiol et al. 2006, una frazione di  $SO_2$  può trasformarsi in  $SO_3$  e quindi rapidamente, in presenza di vapore acqueo, in  $H_2SO_4$  già all'interno del combustore e prima che le emissioni escano dal motore. Studi recenti (Arnold et al., 2006, Olin et al., 2020) effettuati su motori diesel di autoveicoli, hanno messo in evidenza che in atmosfera ossidante (favorita anche da catalizzatori presenti nel combustibile) e temperatura idonea si può avere passaggio da S(IV) a S(VI) con formazione di  $SO_3$ . In presenza di vapore acqueo,  $SO_3$  si trasforma in  $H_2SO_4$ . Durante la fase di rapido raffreddamento  $H_2SO_4$  può dare origine a fenomeni di nucleazione e quindi formazione di particolato ultrafine da considerare come una sorta di "delayed primary" (Figura 1A). Diversi studi (Ronkko et al. 2007, Ronkko et al. 2013, Pirjola et al. 2015, Arnold et al. 2006) riportano per  $H_2SO_4$  in forma gassosa la simultanea presenza di due processi durante la diluizione e il raffreddamento delle emissioni da motori diesel, la formazione di nuove particelle, attraverso la nucleazione omogenea ( $H_2SO_4$  in fase gas e acqua) e la condensazione di  $H_2SO_4$  su particelle solide appartenenti all'Accumulation Mode (agglomerati carboniosi su cui si adsorbono o condensano specie semivolatili). Le particelle che derivano dai processi di nucleazione in questa tipologia di emissioni, consistono principalmente di acqua, solfati e idrocarburi, ma anche composti non volatili. Il diametro medio di queste particelle è tipicamente compreso tra 3 e 30 nm, mentre quello delle particelle che compongono l'Accumulation Mode è compreso tra 40 e 100 nm. A differenza delle particelle che appartengono all'Accumulation Mode, che non cambiano in dimensione e numero al variare delle condizioni di diluizione e alla concentrazione di  $H_2SO_4$  in forma gassosa, il diametro e il numero di particelle che derivano da processi di nucleazione cambiano fortemente al variare delle condizioni di diluizione. (Ronkko et al. 2013).

In base a questi studi si può ipotizzare che la distribuzione bimodale dello spettro dimensionale in volume del  $PM_{0.3}$  (Paragrafo 4.1.1, Figura 11), nelle emissioni della miscela bio, possa essere imputabile anche alla formazione di nuove particelle per fenomeni di nucleazione legati alla presenza di  $H_2SO_4$  in forma gassosa.  $HNO_2$  e  $HNO_3$ , avendo una maggiore pressione di vapore saturo rispetto a  $H_2SO_4$ , hanno una minore tendenza a fenomeni di nucleazione, quindi contribuiscono alla formazione di PM principalmente attraverso l'adsorbimento su particelle già esistenti (Lukachko et al. 2005).

La presenza di  $\text{HNO}_2$ ,  $\text{HNO}_3$  e  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , in forma gassosa è confermata dalle analisi in cromatografia ionica dei filtri di backup (Paragrafo 3.2, Tabella 7f).

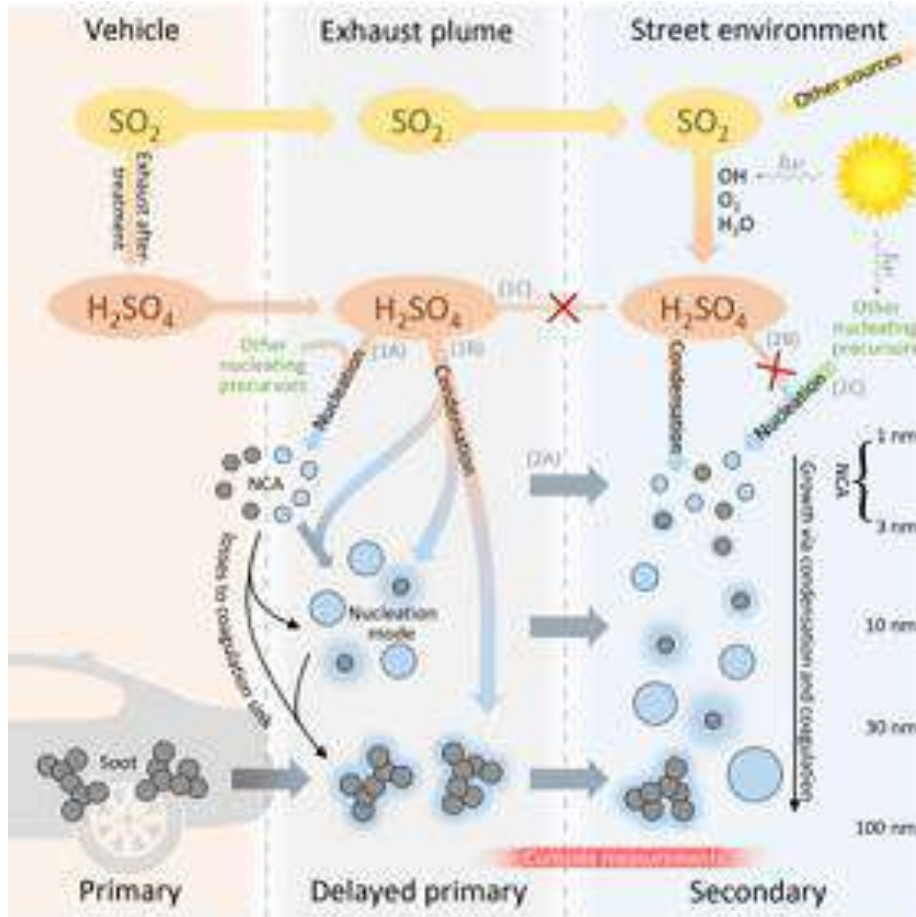


FIGURA 1°: FORMAZIONE DI  $\text{H}_2\text{SO}_4$  DA PROCESSI SIMULTANEI DI NUCLEAZIONE E CONDENSAZIONE IN EMISSIONI DA MOTORE DIESEL PER AUTOVEICOLI (OLIN ET AL. 2020)

## BIBLIOGRAFIA:

Arnold, F., Pirjola, L., Aufmhoff, H., Schuck, T., Lähde, T., Hämen, K.: First online measurements of sulfuric acid gas in modern heavy-duty diesel engine exhaust: Implications for nanoparticle formation, *Atmospheric Environment* 40, 7097–7105, <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2006.06.038>, 2006.

Lukachko S. P., Waitz I. A., . Mlake-Lye R.C, Brown, R.C.: Engine design and operation impacts on particulate matter precursor emissions, *Proceedings of GT2005 ASME Turbo Expo 2005: Power for Land, Sea and Air June 6-9, 2005, Reno-Tahoe, Nevada, USA*.

Masiol, M., Harrison, R.M.: Aircraft engine exhaust emissions and other airport-related contributions to ambient air pollution: A review. *Atmospheric Environment* 95 , 409-455 <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2014.05.070>, 2014.

Olin, M., Kuuluvainen, H., Aurela, M., Kalliokoski, J., Kuittinen, N., Isotalo, M., Timonen, H. J., Niemi, J. V., Rönkkö, T., and Dal Maso, M.: Traffic-originated nanocluster emission exceeds H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-driven photochemical new particle formation in an urban area, *Atmos. Chem. Phys.*, 20, 1–13, <https://doi.org/10.5194/acp-20-1-2020>, 2020.

Pirjola, L., Karl, M., Rönkkö, T., and Arnold, F.: Model studies of volatile diesel exhaust particle formation: are organic vapours involved in nucleation and growth?, *Atmos. Chem. Phys.*, 15, 10435–10452, <https://doi.org/10.5194/acp-15-10435-2015>, 2015.

Rönkkö, T.; Virtanen, A.; Kannosto, J.; Keskinen, J.; Lappi, M.; Pirjola, L. Nucleation mode particles with a nonvolatile core in the exhaust of a heavy duty diesel vehicle. *Environ. Sci. Technol*, 41, 6384–6389. <https://doi.org/10.1021/es0705339> , 2007.

Rönkkö, T., Lähde, T., Heikkilä, J., Pirjola, L., Bauschke, U., Arnold, F., Schlager, H., Rothe, D., Yli-Ojanperä, J., and Keskinen, J.: Effects of gaseous sulphuric acid on diesel exhaust nanoparticle formation and characteristics, *Environ. Sci. Technol.*, 47, 11882–11889, <https://doi.org/10.1021/es402354y>, 2013.



Agenzia nazionale per le nuove tecnologie,  
l'energia e lo sviluppo economico sostenibile

## APPENDICE B

### CONTENUTO DI ZOLFO NEL COMBUSTIBILE E EMISSIONI DI PM

Nelle prove motore è stato utilizzato cherosene con diversa concentrazione di zolfo che ha prodotto una differente emissione primaria in atmosfera di SO<sub>2</sub>.

In contemporanea si è registrato anche un aumento della concentrazione in numero della frazione fine e ultrafine del PM e della massa del PM<sub>2.5</sub>. Al fine di valutare un'eventuale correlazione è stata effettuata un'analisi di regressione lineare tra le misure delle concentrazioni di SO<sub>2</sub> e le concentrazioni in numero e in massa del PM, riportate nelle Tabelle 1B e 2B.

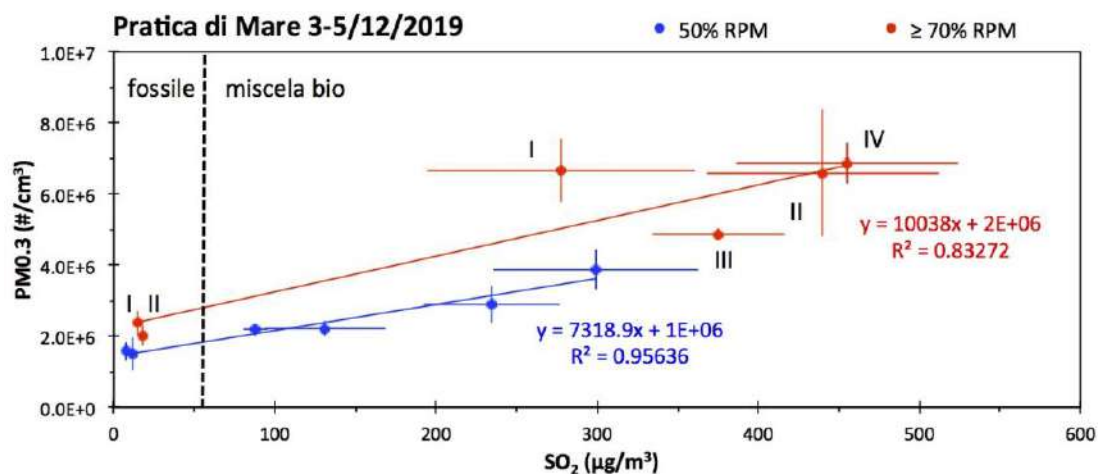
Nelle Figure 1B, 2B e 3B sono mostrati i risultati delle regressioni tra le serie di dati.

**TABELLA 1B: VALORI CORRETTI PER LA DILUIZIONE DELLE CONCENTRAZIONI MEDIE IN NUMERO DEL PM<sub>0.3</sub>, DEL PM(0.3÷1.7) E IN MASSA DI SO<sub>2</sub> PER PROVA MOTORE E RPM.**

Prova	RPM	PM <sub>0.3</sub>		PM(0.3÷1.7)		SO <sub>2</sub>		
		%	#/cm <sup>3</sup>	± #/cm <sup>3</sup>	#/cm <sup>3</sup>	± #/cm <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	± µg/m <sup>3</sup>
fossile	I	50	1.51E+06	4.67E+05	20.7	4.1	11.8	3.3
	I	70	2.01E+06	2.99E+05	33.5	9.0	18.0	1.7
	II	50	1.57E+06	2.70E+05	19.7	10.2	7.6	2.4
	II	70	2.36E+06	3.55E+05	37.6	11.1	14.7	2.9
bio	I	50	2.18E+06	1.61E+05	19.0	11.8	88.0	7.5
	I	70	6.65E+06	8.83E+05	51.5	12.4	277.7	83.4
	II	50	2.22E+06	2.11E+05	32.1	12.0	131.3	37.6
	II	70	6.58E+06	1.80E+06	70.3	11.9	440.0	72.2
	III	50	3.86E+06	5.67E+05	34.6	11.7	299.2	63.7
	III	70	4.87E+06	1.63E+05	98.8	11.4	375.0	41.2
	IV	60	2.89E+06	5.12E+05	42.4	10.5	234.6	41.9
	IV	95	6.87E+06	5.69E+05	60.9	10.1	455.5	68.6

**TABELLA 2B: VALORI CORRETTI PER LA DILUIZIONE DELLE CONCENTRAZIONI MEDIE IN MASSA DEL PM<sub>2.5</sub> E DI SO<sub>2</sub> PER PROVA MOTORE.**

Prova	PM <sub>2.5</sub>		SO <sub>2</sub>	
	μg/m <sup>3</sup>	± μg/m <sup>3</sup>	μg/m <sup>3</sup>	± μg/m <sup>3</sup>
fossile I	147.4	9.1	16.9	4.6
	170.6	11.2	12.7	4.6
bio I	239.8	21.0	221.8	92.0
	274.0	27.9	342.3	108.5
	186.5	25.3	364.8	94.5
	181.2	11.6	428.6	102.2



**FIGURA 1B: REGRESSIONE LINEARE TRA I DATI DI CONCENTRAZIONE IN MASSA DI SO<sub>2</sub> E DELLA CONCENTRAZIONE IN NUMERO DEL PM<sub>0.3</sub>.**

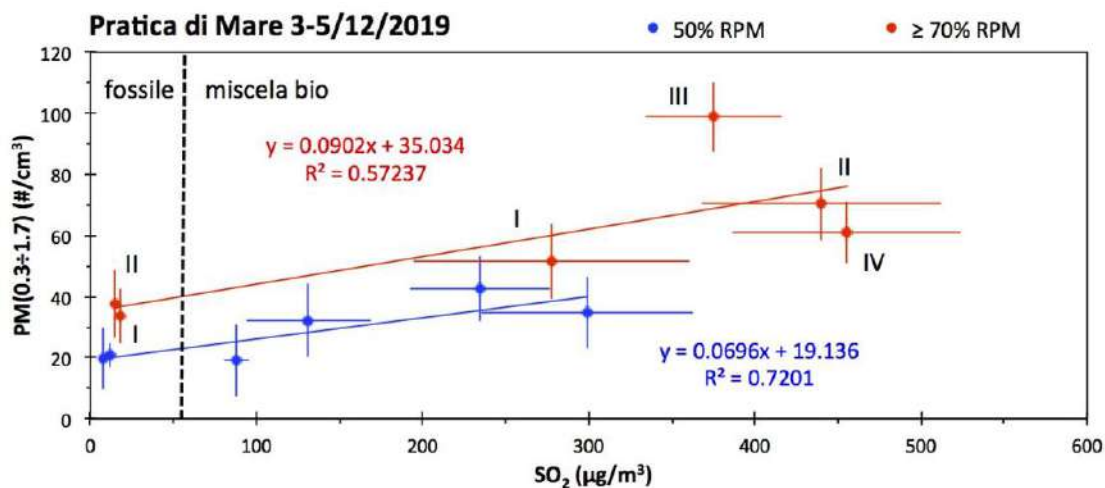


FIGURA 2B: REGRESSIONE LINEARE TRA I DATI DI CONCENTRAZIONE IN MASSA DI SO<sub>2</sub> E DELLA CONCENTRAZIONE IN NUMERO PM(0.3÷1.7).

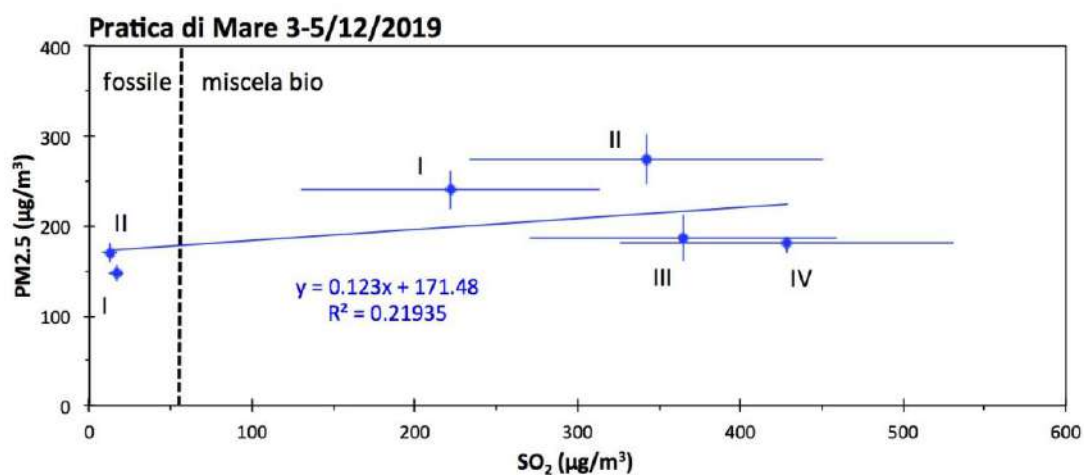


FIGURA 3B: REGRESSIONE LINEARE TRA I DATI DI CONCENTRAZIONE IN MASSA DI SO<sub>2</sub> E DI PM<sub>2.5</sub>.

L'analisi di regressione ha evidenziato un'elevata correlazione tra la concentrazione in massa di SO<sub>2</sub> e la concentrazione in numero del PM<sub>0.3</sub> con R = 0.92 e 0.91 rispettivamente per RPM 50% e ≥70% (Figura 1A); una correlazione medio alta tra SO<sub>2</sub> e numero di particelle del PM(0.3÷1.7) con R = 0.85 e 0.76 rispettivamente per RPM 50% e ≥70% (Figura 2A); mentre la correlazione tra SO<sub>2</sub> e la massa del PM<sub>2.5</sub> è risultata bassa con R = 0.47 (Figura 3A).

In base ai dati ottenuti risulta evidente come il contenuto di zolfo nel combustibile abbia avuto una maggiore influenza sulla concentrazione in numero del PM, in particolare, sulla frazione PM<sub>0.3</sub> che risulta composta (vedi p.4.2 Tabella 9) per più del 84% da particelle con diametro inferiore a 40 nm. Le concentrazioni in massa del PM<sub>2.5</sub> sembrano meno direttamente influenzate dal contenuto di zolfo del combustibile.



Agenzia nazionale per le nuove tecnologie,  
l'energia e lo sviluppo economico sostenibile

## **2. RAPPORTO CONCLUSIVO WP2: VALUTAZIONE DI MATRICI VEGETALI IDONEE ALLA PRODUZIONE DI BIOCARBURANTI E DELLA SOSTENIBILITÀ ECONOMICA AMBIENTALE DELLA PRODUZIONE DI BIOCOMBUSTIBILI PER AVIOTRAZIONE.**

**Task 2.1 Identificazione, valutazione, selezione, confronto varietale e caratterizzazione chimica di colture dedicate, idonee, nel contesto italiano, alla produzione di biocarburanti per avio trazione**

**Task 2.4 Valutazione degli scenari di ciclo di vita**

**Task 2.5 Valutazione di sostenibilità dei biocarburanti**

## 2.1 IDENTIFICAZIONE, VALUTAZIONE, SELEZIONE, CONFRONTO VARIETALE E CARATTERIZZAZIONE CHIMICA DI COLTURE DEDICATE, IDONEE, NEL CONTESTO ITALIANO, ALLA PRODUZIONE DI BIOCARBURANTI PER AVIOTRAZIONE

### 2.1.1. INTRODUZIONE E SCOPO DELLE ATTIVITÀ

Il presente rapporto inquadra ed analizza il tema della produzione di biocarburanti per aviazione, a partire da colture vegetali dedicate, nel contesto pedoclimatico e socioeconomico italiano, approfondendo quali siano le soluzioni potenzialmente più promettenti in relazione alle caratteristiche strutturali del nostro sistema agricolo. Vengono descritte inoltre le sperimentazioni effettuate nel corso del progetto denominato *ABC Biojetfuel*, finanziato dal Ministero Ambiente, inerenti prove di coltivazione e selezioni genotipiche di alcune specie vegetali selezionate e le analisi di caratterizzazione quali-quantitativa degli olii di seme ottenuti. La ricerca, condotta negli anni 2018 e 2019, nei Centri di Ricerca ENEA di Casaccia e Brindisi nasce e si sviluppa a valle di un ampio dibattito nazionale ed internazionale e di numerose ricerche ed esperienze, accumulate in numerosi progetti europei e nazionali, che hanno indagato molteplici elementi delle filiere di produzione agricola ad uso energetico (*energy crops*) facendone emergere le opportunità ma anche le criticità. Si è cercato al fine di rispondere, almeno in parte, alle criticità emerse di impostare le attività in modo da definire un quadro di elementi innovativi che consentano di identificare soluzioni che possano integrarsi con il contesto socioeconomico e pedoclimatico italiano per fornire biofuel per l'aviazione.

Le colture dedicate alla produzione di energia sono state oggetto di grande attenzione a partire dalla fine degli anni '80, quando è stata implementata una ampia serie di studi per valutare colture e soluzioni idonee a produrre bioenergia tramite diverse filiere tecnologiche (progetto IDEA - Innovative Dimension in Energy and Agriculture - ENEA, 1988). Un nuovo e rinnovato interesse è poi cresciuto alla fine dello scorso decennio, quando le normative incentivanti approvate nella finanziaria, l'entrata in vigore della direttiva comunitaria RED (Renewable Energy Directive, 28/2009) e gli ambiziosi obiettivi UE di produzione bioenergetica hanno creato nuove opportunità di mercato e di sviluppo tecnologico. Oggi, dopo oltre un decennio di ricerche e sperimentazioni portate avanti dai principali enti di ricerca italiani e da numerose Università, le colture dedicate nel nostro Paese occupano uno spazio esiguo in termini di superficie. Si annoverano infatti poche migliaia di ettari di colture arboree da energia (prevalentemente pioppo SRF) per produrre *chips* di legno, concentrate nel Nord Italia, diverse migliaia di ettari dedicati a colture da insilare per l'impiego nei digestori anaerobici, prevalentemente mais, sorgo e triticale e una piccola quota di colture oleaginose. Le colture per la produzione di bioetanolo sono *de facto* assenti mentre quelle da olio (oleaginose) sono neglette e una larga quota di biocarburanti consumati in Italia, in virtù degli obblighi di legge di incorporazione nel biodiesel previsti dalle direttive, sono importati da paesi extraeuropei (GSE, 2017) o prodotti da residui di grassi ed olii.

Il dibattito pubblico negli ultimi anni ha riguardato sia l'opportunità di dedicare terreno a colture *no-food*, ipotizzando un conflitto non solo etico ma soprattutto economico con il *made in Italy* agroalimentare, il quale già oggi non è autosufficiente per molte produzioni primarie, sia la possibilità di raggiungere livelli produttivi che remunerano effettivamente gli agricoltori dando quindi una prospettiva di sostenersi nel tempo al di là degli eventuali e necessariamente temporanei incentivi disponibili.

La ricerca nazionale ha focalizzato la sua attenzione su alcune specifiche colture e filiere tecnologiche che sono sembrate le migliori per il contesto pedoclimatico italiano, trascurandone altre che hanno avuto maggiore attenzione in altri paesi europei e concentrandosi sulla selezione di cultivar idonee, specifiche per l'uso energetico o per un determinato modello colturale o per disporre di cultivar adatte a suoli e regimi idrici differenti. Le ricerche sulle filiere agroenergetiche prodotte in Italia hanno riguardato non solo il miglioramento genetico ma soprattutto l'agronomia, la fertilizzazione, la meccanizzazione e la remuneratività, tutti elementi importanti per l'effettiva sostenibilità economica ed ambientale delle filiere proposte.

Più in dettaglio, i “modelli” di *energy crop* studiati hanno visto la ricerca indirizzata verso la “messa a punto” di colture specializzate a fini energetici e solo dopo alcuni anni di prove ed analisi sono emersi percorsi di ricerca più articolati che hanno messo al centro l'uso integrale della pianta per produrre materie prime di diversa natura e per differenti applicazioni industriali, valorizzando anche la multifunzionalità di alcune colture, e ipotizzando la creazione di vere e proprie bioraffinerie a partire da materie prime vegetali. (es il Cardo)

Nel progetto ABC, relativamente all'attività 2.1, si sono volute indagare specie vegetali alternative a quelle tradizionalmente utilizzate per bioenergia o specie già in parte indagate precedentemente assumendo però un punto di vista differente rispetto alla loro idoneità, integrabilità, adattabilità ad uso integrale della biomassa. Si tratta di specie potenzialmente:

- integrabili negli ordinamenti colturali prevalenti in Italia;
- a multipla attitudine ed uso integrale;
- a limitata richiesta di input idrici e chimici;
- adattabili a differenti contesti pedoclimatici;
- per le quali la ricerca offre un panorama d'informazioni sufficiente per valutarne l'idoneità ai nuovi scopi.

La parte sperimentale, estremamente limitata nel tempo e nelle superfici, ha voluto integrare con dati originali le informazioni di letteratura al fine di consentire una valutazione in riferimento ai criteri sopraindicati. La limitatezza del tempo e delle risorse ha permesso di indagare solo alcuni elementi della complessa valutazione della idoneità alla produzione di *Jet fuels* un tema sostanzialmente mai indagato prima nel nostro paese. Nessuna “soluzione” è idonea di per se in quanto deve confrontarsi comunque con la realtà agricola ma anche con quella industriale e con le contingenze economiche ed in questi processi è stato ben dimostrato che le economie di scala sono rilevanti e solo in pochi casi la dimostrazione ha avuto successo mentre numerosi sono stati gli insuccessi avvenuti soprattutto in quei paesi dove vi è stata una vera e propria “bolla” dei biofuel, del tutto immemori delle esperienze del decennio precedente. Le nostre prove, assolutamente preliminari hanno seguito un percorso concettualmente diverso che merita di essere indagato con maggior dettaglio.

## 2.1.2. STATO DELL'ARTE DELLE COLTURE PER BIOENERGIA IN ITALIA

Negli ultimi anni, nel nostro Paese, le bioenergie (biomasse, biogas e biodiesel) sono state, tra le fonti energetiche rinnovabili, quelle con il maggior potenziale di crescita (Romano e Plutino, 2018). Tra le varie tipologie di biomasse con un possibile utilizzo a scopi energetici, hanno ricevuto particolare attenzione a livello mondiale quelle ottenute dalla coltivazione di piante oleaginose e da colture zuccherine e cerealicole, utilizzate rispettivamente per la produzione di biodiesel e di bioetanolo. La principale funzione delle colture energetiche consiste nel sostituire i combustibili fossili contribuendo quindi a mitigare le emissioni di GHGs. L'Italia che ha siglato e adottato il protocollo di Kyoto e i successivi adempimenti internazionali ed europei ha promosso la sostituzione (*switch*) dei combustibili fossili con quelli di origine biologica come una delle soluzioni concorrenti al raggiungimento degli obiettivi nazionali di riduzione delle emissioni. Lo sviluppo delle filiere agro-energetiche si basa essenzialmente su tre criteri/obiettivi: l'aumento della sicurezza energetica, la diminuzione delle emissioni di gas serra ed il contributo offerto allo sviluppo economico rurale sostenibile. In Italia tale sviluppo potrebbe interessare superfici fino a un decimo dell'area agricola (~ 1 milione e più di ettari) ed è fondamentale verificare la sostenibilità complessiva delle colture energetiche e non solo quella energetica. Nel settore specifico dei trasporti, nel 2017 sono state complessivamente immesse in consumo circa 1,2 milioni di tonnellate di biocarburanti (definiti dal Decreto Legislativo 28/2011 come i carburanti liquidi o gassosi per i trasporti ricavati dalla biomassa) quasi esclusivamente sostenibili e poco meno del 97% di tali volumi era costituito da biodiesel (Tab. 1); l'incidenza del bio-ETBE era assai più contenuta (3,2%) mentre quella del bioetanolo era trascurabile (GSE 2018 b).

**TABELLA 1: BIOCARBURANTI IMMESSI IN CONSUMO IN ITALIA PER ANNO (TONNELLATE)**

	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
<b>Biodiesel</b>	1.455.705	1.429.137	1.332.748	1.193.955	1.292.079	1.141.334	1.164.023
<b>Bioetanolo</b>	428	3173	2274	1483	4690	606	20
<b>ETBE</b>	132.322	120.255	84.904	10.556	25.730	37.202	38.435
<b>TOTALE</b>	1.588.455	1.552.565	1.419.926	1.205.994	1.322.499	1.179.142	1.202.478

Fonte GSE 2017

Meno di un terzo dei biocarburanti sostenibili immessi in consumo in Italia nel 2017 è stato prodotto nel nostro Paese (27,5%); la quota è in flessione rispetto a quella del 30,4% rilevata nel 2016, principalmente per la contrazione del biodiesel di produzione nazionale pari a -28.000 tonnellate. Mentre per le superfici impegnate in colture ad uso energetico è difficile costruire un quadro statistico chiaro, è invece possibile conoscere i consumi e le provenienze dei biocarburanti oggi consumati in Italia grazie ai controlli resi necessari dal monitoraggio degli obiettivi europei delle direttive. I dati, prodotti annualmente dal GSE, evidenziano che i dati tra paesi di origine del biocarburante e quelli di origine della materia prima sono estremamente diversificati.

Se per importazione e provenienza del biocarburante il primo paese è la Spagna, il 58% circa delle materie prime utilizzate proviene da Paesi europei mentre il restante 42% da Paesi

extraeuropei (Fig. 1). Il primo paese di origine della materia prima è l'Indonesia (con la produzione di olio di palma) che rappresenta ben il 38 % del totale, segue la Spagna con il 14,5% e l'Italia con il 9,5% con una produzione di 114.195 tonnellate di biocarburanti nel 2017.

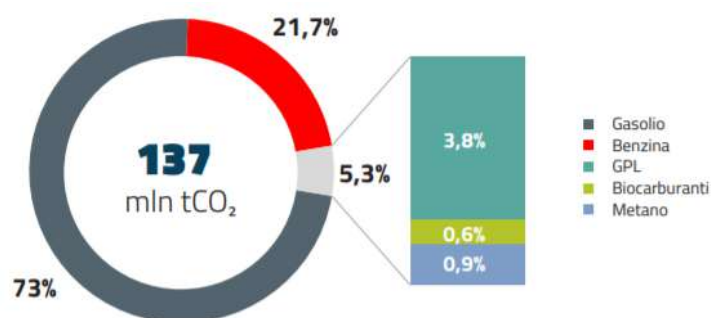


**FIGURA 1. BIOCARBURANTI SOSTENIBILI IMMESSI AL CONSUMO NEL 2017 PER PAESI DI ORIGINE DELLE MATERIE PRIME (%)**

Secondo il rapporto GSE 2018, le materie prime più utilizzate per la produzione dei biocarburanti sostenibili immessi in consumo nel 2017 sono risultate essere: acidi grassi (46,7%), grassi animali di cat.1 e 2 (25,4%), olio di palma (11,4%), oli alimentari esausti (7,4%), altre coltivazioni alimentari (5,1%), colza (1,7%), acidi grassi saponificati (1,6%) e altri rifiuti e sottoprodotti (0,7%). Complessivamente, l'87% circa dei biocarburanti utilizzati in Italia nel 2017 è stato prodotto in Europa. Solo il 9,5% dei biocarburanti sostenibili immessi in consumo in Italia nel 2017 è stato prodotto con materie prime di origine nazionale e per gran parte si tratta di biodiesel ottenuto da prodotti e grassi animali e da colture oleaginose. Di questo quantitativo, la maggiore quantità è originata da derivati della lavorazione di olii vegetali (GSE, 2018 a e b).

Dal rapporto Biofuel Barometer 2019, la produzione di biocarburanti in Europa è arrivata nel 2018 a 17 Mtep (milioni di tonnellate equivalenti di petrolio) di cui l'82% è biodiesel. Tale cifra rappresenta una crescita del 10,1% rispetto al 2017. In Italia, il recepimento della Red II (Renewable Energy Directive 2018/2001/EU), la nuova direttiva delle energie rinnovabili, per il periodo 2020-2030, porterà in breve tempo il consumo di biocarburanti dall'attuale 7 al 9%. Tale direttiva stabilisce per tutti gli Stati membri l'obbligo nel 2020 di coprire il 10% del fabbisogno energetico del settore trasporti attraverso fonti rinnovabili, ad oggi principalmente costituite da biocarburanti. Si prevede che il consumo di biocarburanti di prima generazione (ovvero prodotti con materie prime edibili) possa raggiungere i 23 Mtep nel 2022, per scendere fino ai 20 Mtep entro il 2030. Tale discesa è motivata in parte dallo sviluppo tecnologico, ma il movente principale è costituito dagli incentivi ad investire nella produzione di biocarburanti avanzati. La direttiva Red II infatti penalizza l'utilizzo di materie prime reputate insostenibili per il fenomeno dell'ILUC (*Indirect Land Use Change*, ovvero conversione di superficie coltivata per produzione alimentare in superficie coltivata a scopo energetico).

In merito all'impatto ambientale della produzione di biocarburanti e in ottemperanza a quanto previsto dalla Direttiva 2009/30/CE, il D.Lgs. 55/2011 (che ha integrato il D.Lgs. 66/2005) ha stabilito che i soggetti obbligati dovranno assicurare che le emissioni di gas a effetto serra, prodotte durante il ciclo di vita dei carburanti per autotrazione, dovranno essere inferiori almeno del 6% rispetto al valore di riferimento stabilito dalla Direttiva stessa. In Fig. 2 sono riportati i valori delle emissioni di gas a effetto serra (CO<sub>2</sub>eq), correlate alle quantità dei carburanti e dei biocarburanti immessi in consumo (Rapporto GSE, 2018).



**FIGURA 2: EMISSIONI DI CO<sub>2</sub> RELATIVE AI CARBURANTI IMMESSI IN CONSUMO NEL 2017 (%)**

Inoltre, secondo un'indagine FAO (2010), il 10% circa di tutta l'energia primaria mondiale viene prodotta utilizzando le biomasse, che costituiscono la quarta fonte di energia dopo carbone, petrolio e gas naturale. Dal Rapporto OECD/FAO del 2019 emerge che a livello mondiale circa il 77% delle materie prime utilizzate per la produzione di biodiesel sono oli vegetali, in particolare di soia (30%), di palma (25%) e di colza (18%). Nel nostro Paese le principali colture industriali da olio sono soia, girasole, colza e, in minor misura, ravizzone (dati ISTAT, 2019). Una valida fonte rinnovabile di olio è rappresentata da altre colture oleaginose industriali, quali cardo e cartamo, che consentono anche la valorizzazione di aree marginali e/o abbandonate (Sallustio *et al.*, 2018) e possono fornire oltre all'olio anche una vasta gamma di sottoprodotti utili in settori industriali diversi, minimizzando così la produzione di scarti in un'ottica di bioeconomia circolare. Dal 6° Censimento Generale dell'Agricoltura effettuato dall'ISTAT (<https://www4.istat.it/it/censimento-agricoltura/agricoltura-2010>) emerge che in Italia la superficie dedicata alle colture energetiche (1.382 ha, di cui il 78% localizzato nelle regioni settentrionali) è assolutamente esigua rispetto a quella dei seminativi (circa 7 milioni di ettari) anche se il dato non contempla le colture per produrre insilati che sono impiegate negli impianti di DA.

Le produzioni di biocarburanti cosiddette sostenibili, cioè quelle che usano come materia prima scarti e residui, sono in crescita ma sono ancora poche quelle che usano colture ad uso integrale e che sono state chiamate da diversi autori di "seconda" e "terza" generazione. L'uso integrale della biomassa di una pianta e non solo del suo prodotto primario (seme), oltre a ridurre la richiesta di suolo per scopi *no food*, ha un senso nella capacità di avviare percorsi di bioeconomia che valorizzino tutta la biomassa prodotta in modo avanzato per usi multipli.

Questo è sicuramente l'elemento che, passata la bolla di attenzione sulle biomasse per energia, merita di essere analizzato e approfondito attraverso attività di ricerca e sperimentazione ed è con questo assunto che ci siamo indirizzati nella scelta delle colture da indagare.

### 2.1.3 OSTACOLI ALLO SVILUPPO DI FILIERE AD HOC IN ITALIA

Le motivazioni per cui in Italia non si sono affermate e sviluppate filiere biomassa-energia nazionali di grande rilievo è da ascrivere a motivazioni di ordine sociale, economico e tecnico. Numerosi progetti europei hanno analizzato gli ostacoli allo sviluppo di determinate filiere produttive che assumono però un peso diverso secondo il tipo di coltura ed il tipo di prodotto energetico.

Il primo elemento di cui tener conto è che alcune delle biomasse di cui parliamo sono delle *commodities* e come tali il loro prezzo si forma sui mercati internazionali, altre invece sono strettamente legate alle condizioni del territorio o ad economie di scala nella produzione che trovano la loro convenienza rispetto agli investimenti necessari solo in aziende di medio-grandi dimensioni. Di fronte a scenari poco incoraggianti sul fronte dei prezzi, vi è una vera e propria necessità per il mondo agricolo di sviluppare un'importante opportunità di diversificazione produttiva e di reddito con le colture energetiche e con la valorizzazione dei residui colturali. In generale, il settore primario italiano è sinora marginalmente interessato alla produzione dei biocarburanti e questi potranno avere maggiore rilevanza con l'eventuale incremento delle superfici dedicate per effetto del quadro normativo comunitario e nazionale e delle molteplici iniziative avviate nel territorio. In tale contesto si collocano i diversi progetti finanziati dal MiPAAF che cercano di rispondere alla domanda di ricerca proveniente dal settore realizzando anche attività divulgative e dimostrative per gli operatori. Non si può tuttavia trascurare come l'attività energetica si presenti come atipica, rispetto alle normali e tradizionali attività agricole. È proprio questa atipicità che, in aggiunta ad una serie di problematiche connesse ad un quadro giuridico di riferimento piuttosto complesso, limitano ancora oggi il potenziale di crescita delle filiere della bioenergia. Di seguito riportiamo alcune criticità legate allo sviluppo delle colture energetiche a livello nazionale:

- spiccata vocazione alle produzioni agro-alimentari di qualità e alto reddito, che rendono le colture energetiche poco interessanti;
- insufficiente livello di consapevolezza sulle reali opportunità del settore;
- struttura e organizzazione del sistema agricolo (alta densità abitativa e ridotta superficie arabile, scarsa disponibilità di acqua in alcune zone, dimensione ridotta delle aziende agrarie, proprietà polverizzata);
- clima fortemente differenziato poiché influenzato da numerosi fattori e dalla complessa orografia del Paese. In una situazione così specifica, la conversione delle produzioni a favore delle colture energetiche o da biomassa non potrà evidentemente non tenere conto delle specifiche condizioni pedoclimatiche in cui si realizza, della disponibilità idrica, e quindi delle tipologie di colture di sostituzione;
- disponibilità potenziale di terreni marginali, più adatti dal punto di vista ecologico alle colture energetiche, che però sono frammentati e difficilmente accessibili; sarebbero più indicati terreni fertili e ad alte rese, che attualmente sono già usati per coltivazioni alimentari;
- ridotta dimensione media delle aziende italiane; le colture energetiche hanno invece bisogno di ampie superfici per cui è necessario pensare a distretti energetici di migliaia di ettari. I rischi di questa operazione sono una maggiore pressione sul settore agricolo, un eccessivo consumo di acqua in caso di colture irrigue, la perdita di biodiversità, l'omogeneizzazione del paesaggio costruito in secoli di agricoltura;
- emissioni indirette di CO<sub>2</sub> dovute a cambiamenti di uso del suolo;

- scarsa riconversione delle imprese agricole verso la produzione di bioenergie, nonostante i solleciti della politica comunitaria; le imprese, infatti, sono prudenti in quanto ignorano la potenzialità e i rischi (agronomici, ambientali ed economici) dell'introduzione di specie da energia nei sistemi colturali. Questo indica che i futuri studi agronomici non dovranno essere focalizzati su un'unica specie, come generalmente è avvenuto finora, ma sui sistemi colturali e le tecniche agronomiche. Questo orientamento è in linea con le raccomandazioni dell'UE che specifica che le bioenergie non devono competere con le colture alimentari. La riconversione delle aziende agricole deve pertanto riguardare principalmente quelle destinate a coltivazioni non più sostenibili economicamente o alle aziende ricadenti in ambienti marginali;
- mancanza di sostenibilità economica delle colture energetiche annuali ed esigenza di aggiungere risorse pubbliche per integrare i redditi;
- carenze sul piano delle certezze normative che non aiutano la diffusione delle energie rinnovabili, che necessitano di un mercato stabile, nel medio lungo periodo;
- limitata diffusione delle conoscenze a livello scientifico e tecnico;
- carenza di idonea progettualità di filiera a livello territoriale;
- carenza di efficaci attività dimostrative, basate su realizzazioni in scala reale adeguatamente monitorate ed accessibili da parte di imprenditori e cittadini;
- sottovalutazione (o assenza) del comparto biomasse all'interno della programmazione energetica regionale, anche per la carenza di un quadro conoscitivo di base sufficientemente approfondito in termini di potenzialità della risorsa e dei suoi possibili impieghi;
- esigenza di finanziamenti per interventi incisivi di aggiornamento nella definizione dei suddetti programmi;
- incongruenze e lacune nella legislazione sui rifiuti (Testo Unico Ambientale e successive modifiche ed integrazioni) e sui fertilizzanti che causano spesso equivoci e interpretazioni contrastanti sulla natura di alcune biomasse residuali (es. potature del verde urbano) e/o dei prodotti finali dei processi di conversione (digestato, ecc.);
- insufficiente attenzione del settore verso le opportunità offerte da nuovi sbocchi di mercato.

In Tabella 2 sono riportati i principali punti di forza, debolezza, opportunità e minacce che caratterizzano il sistema delle bioenergie riferito alla filiera dei biocarburanti liquidi.

**TABELLA 2: FILIERA DEI BIOCARBURANTI E BIOLQUIDI (ANALISI SWOT DA MIPAAF, PIANO DI SETTORE PER LE BIOENERGIE. LE FILIERE BIOENERGETICHE E L'AGRICOLTURA ITALIANA, LUGLIO 2014)**

Forza	Debolezza	Opportunità	Minacce
Riduzione dei consumi di combustibili fossili nel settore dei trasporti	Costi di produzione legati ai prezzi di mercato delle <i>commodities</i> agricole e fortemente dipendenti dalle economie di scala che avvantaggiano gli impianti di grandi dimensioni	Produzione di energia rinnovabile a livello di azienda agricola da colture finalizzate all'estrazione di oli vegetali puri (bioliquidi sostenibili)	Sottoutilizzazione/chiusura di impianti per la produzione di biocarburanti o energia da bioliquidi per costi elevati e/o difficoltà di approvvigionamento delle materie prime agricole
Tecnologie di produzione industriale mature e affidabili per i biocarburanti attualmente utilizzati, con l'ottenimento di co-prodotti a destinazione zootecnica o di interesse dell'industria chimica (glicerina)	Necessità di notevoli estensioni di terreni agricoli per la produzione delle materie prime, con conseguente scarsa capacità dell'agricoltura nazionale di contribuire significativamente al raggiungimento degli obiettivi fissati dalle Direttive CE	Diversificazione produttiva delle aziende agricole, con l'inserimento in rotazione di oleaginose o nuove colture a basso input per lo sviluppo di filiere locali di produzione di biocarburanti e/o energia da bioliquidi	Ripercussioni negative, a livello ambientale (deforestazione) e sociale della produzione su larga scala di colture a destinazione energetica in paesi economicamente fragili
Normativa tecnica di riferimento e standard qualitativi ben definiti e in grado di assicurare la compatibilità delle miscele con benzina e gasolio con il parco veicolare attuale	Sviluppo ancora insufficiente delle tecnologie per la produzione di biocarburanti di nuova generazione più innovativi e necessità di aumentare ulteriormente la potenzialità di produzione degli impianti già esistenti	Valorizzazione di terreni marginali o degradati, aree agricole sottoutilizzate, con la produzione di colture da biomassa adatte alla conversione in biocarburanti di seconda generazione	Rallentamento e possibile arresto dello sviluppo del settore per ritardi nell'avvio della produzione industriale dei biocarburanti di nuova generazione
Uso di materie prime agricole provenienti da colture ampiamente diffuse (oleaginose, canna da zucchero, cereali) e disponibili sul mercato	Disciplina autorizzativa rigida e costi elevati per la produzione di biocarburanti di nuova generazione	Presenza di una filiera italiana all'avanguardia relativamente alla produzione di macchine agricole con alimentazione ibrida (biodiesel, OVP, biometano)	Rallentamento e possibile arresto dello sviluppo del settore per la percezione negativa da parte della pubblica opinione del consumo di suolo legato alla produzione di biocarburanti e conseguente conflitto <i>food vs energy</i>
Sistemi volontari europei di certificazione di sostenibilità e tracciabilità già realizzati e validi a livello internazionale	Disciplina fiscale complessa e in corso di adeguamento per quanto concerne l'impiego di biocarburanti autoprodotti (es. oli vegetali puri) nelle macchine agricole	Valorizzazione industriale di materie prime residuali (oli esausti, grassi animali, sottoprodotti dell'industria alimentare ecc.)	
Programmabilità e stabilità delle produzioni di energia	Sistema Nazionale di Certificazione valido solo sul territorio italiano e normativa sulla certificazione in continua evoluzione.  Necessità di una migliore gestione delle competenze tra i Ministeri e gli Enti coinvolti.	Sviluppo e internazionalizzazione dell'industria nazionale del settore, con l'esportazione di tecnologie avanzate per la produzione di biocarburanti di nuova generazione e/o la realizzazione di impianti produttivi in altri paesi.  Disponibilità di significative quote di aree/superfici agricole contaminate da destinare eventualmente a colture energetiche.	

Occorre perciò superare l'attuale frammentazione normativa, sia tecnica che giuridica, introducendo norme ed incentivi che mirino a premiare l'innovazione tecnologica ed il costante miglioramento dell'efficienza (Aspetti legislativi Progetto "Biomassa e Bioenergia" 1.1 LA BIOENERGIA IN ITALIA. ITABIA <https://www.progettobiomasse.it/software/pdf/introduzione/01.pdf>). In tal senso, la DIRETTIVA RED II consolida i risultati della Direttiva 2009/28/CE sulla "promozione dell'uso dell'energia da fonti rinnovabili" e ne prevede l'abrogazione a partire dal 01/07/2021. Pone l'obiettivo vincolante di raggiungere con energie rinnovabili almeno il 32% dei consumi energetici finali lordi dell'UE entro il 2030. La direttiva concede agli Stati membri di attuare regimi di sostegno, garantendo la minore distorsione possibile nel funzionamento dei mercati dell'energia elettrica e delle materie prime. Ciò assume importanza per le biomasse, i bioliquidi e i biocarburanti dove oltre alla disponibilità sostenibile delle materie prime vanno considerati i principi dell'economia circolare e della gerarchia dei rifiuti. Per agevolare la produzione di biocarburanti avanzati fissa un limite nell'uso di biocarburanti e di bioliquidi ottenuti da colture, così da ridurre il cambiamento diretto di destinazione d'uso dei terreni e la spinta a estendere i terreni agricoli in aree forestali e zone umide. L'art. 29 definisce i "Criteri di sostenibilità e di riduzione delle emissioni di gas a effetto serra per i biocarburanti, i bioliquidi e i combustibili da biomassa".

Occorre inoltre attivare una domanda stabile, sia tramite un'adeguata campagna di informazione e promozione, sia tramite la standardizzazione dei prodotti finali (con particolare riferimento ai biocombustibili) allo scopo di dare stabilità al mercato e adeguate garanzie ai consumatori (Aspetti di mercato "Biomassa e Bioenergia" 1.1 LA BIOENERGIA IN ITALIA. ITABIA <https://www.progettobiomasse.it/software/pdf/introduzione/01.pdf>).

A tal proposito, la CIA (Confederazione Italiana Agricoltori) ha avanzato alcune proposte per rendere le colture agro-energetiche più competitive:

- promuovere le intese di filiera nel campo dei biocarburanti che prevedono la valorizzazione delle materie prime nazionali e una oggettiva convenienza per le imprese agricole circa il prezzo della materia prima. Le politiche di defiscalizzazione devono essere riequilibrare a favore di misure che rendano obbligatoria l'immissione sul mercato di percentuali crescenti di biocarburanti per il trasporto, attraverso contratti di coltivazione o intese di filiera;
- snellire le norme attuative ed autorizzative per le imprese agro-energetiche nella fase di realizzazione degli impianti;
- concentrare attenzione e pressione politica a livello comunitario per ottenere l'innalzamento dell'aiuto per ettaro per le colture a fini energetici, in modo da renderlo economicamente appetibile.

In definitiva, le colture energetiche possono costituire, anche per il nostro Paese, un'occasione importante di integrazione del reddito agricolo, di sviluppo economico sostenibile e di creazione di nuovi sbocchi occupazionali, di investimenti a condizione che si sappia indirizzare le priorità e gli incentivi sulle filiere più idonee al contesto pedo-climatico e sociale italiano.

La stima del beneficio che può derivare dallo sviluppo delle filiere bioenergetiche è funzione soprattutto della potenza degli impianti e dell'eventuale impatto ambientale, a loro volta dipendenti del livello di scala dell'approvvigionamento.

Per aumentare la sostenibilità delle filiere agro-energetiche è necessaria la realizzazione di bioraffinerie, caratterizzate da un'efficiente integrazione fra il processamento delle biomasse, le trasformazioni biologiche/biochimiche/chimiche ed il recupero e purificazione dei prodotti, messi a

punto specificamente sulla base della tipologia di biomasse trattate, con un livello di flessibilità e di controllo dei processi che al momento attuale necessita di importanti interventi di innovazione.

La PAC per il periodo 2014-2020 non si pronuncia espressamente sul tema delle bioenergie ma tuttavia presenta interessanti opportunità per lo sviluppo di filiere bioenergetiche in quanto vincola gli aiuti economici da destinare agli agricoltori per lo svolgimento di “pratiche verdi” (mantenimento di prati e pascoli permanenti, istituzione di aree di interesse ecologico ecc.) benefiche per l'ambiente e per il clima, prevedendo esplicitamente che gli Stati membri possano optare, con impegni di sviluppo rurale, per delle “pratiche equivalenti” a quelle più propriamente “verdi”, a condizione che queste assicurino ricadute in termini di qualità dell'acqua e del suolo, biodiversità, preservazione del paesaggio, mitigazione dei cambiamenti climatici. Di conseguenza, si può pensare di inserire tra le “pratiche equivalenti” alcune colture dedicate per la produzione di energia e/o biocombustibili, opportunamente individuate in considerazione delle minori necessità di input colturali e dell'assenza di rischi per la biodiversità del territorio interessato e compatibili con la funzione primaria del sistema agricolo, insieme all'attivazione di filiere bioenergetiche basate sul recupero di biomasse residuali a seguito degli interventi di manutenzione delle formazioni vegetali spontanee (Rapporto Mipaaf in collaborazione con Inea, Ispra, Istat (2012)).

#### **2.1.4 LE COLTURE POTENZIALMENTE IDONEE PER IL CONTESTO ITALIANO**

L'Italia è caratterizzata da un'ampia gamma di ambienti agroclimatici, dalle fredde aree alpine alle zone caldo-aride del bacino del Mediterraneo (Metzger *et al.*, 2005), che determinano una varietà di sistemi agro-forestali, ricchi in biodiversità. Se agli elementi climatici, determinati in parte da una orografia complessa, uniamo la grande eterogeneità dei suoli abbiamo una grande varietà di ambienti pedoclimatici.

Non disponiamo, ad esclusione di poche aree del paese, di ampie zone omogenee dove produrre su larga scala delle energy crops in modo da raggiungere quei volumi produttivi capaci di sostenere impianti di trasformazione in biocarburanti ed anche qualora disponessimo di una coltura “cosmopolita” per i diversi ambienti pedoclimatici sarebbe necessario avere una base genetica ampia per disporre di cultivar adatte ai diversi regimi idrici ed al pedoclima diverso.

Necessariamente dobbiamo pensare ad un sistema basato su più colture capaci di esprimere le loro potenzialità produttive ognuna in uno specifico ambiente ed i cui feedstock prodotti possano poi essere trattati chimicamente e/o biologicamente ed essere uniti a formare il blend che possa originare il biojetfuel.

Molteplici sono le colture che per esperienza recente sappiamo potersi adattare a produrre biomassa per usi energetici ma poche sono quelle che sono sia capaci di produrre quantitativi elevati di biomassa sia di integrarsi nei nostri ordinamenti produttivi ed idonee a produrre biocarburanti. Nel seguito descriviamo brevemente le piante scelte nella nostra sperimentazione.

##### **Ideotipo di colture per il contesto pedoclimatico italiano**

Lo sviluppo di filiere bioenergetiche deve (i) innanzitutto identificare le specie vegetali più adatte ad uno specifico contesto pedo-climatico, privilegiando quelle già presenti nel territorio o facilmente introducibili e ben adattabili; (ii) valutare l'ampiezza della base genetica e la disponibilità di varietà capaci di esprimere le potenzialità produttive in ambienti diversi (iii) individuare e adottare

le pratiche agronomiche e produttive ottimali; (iii) dimensionare gli impianti rispetto alle reali capacità di approvvigionamento locale ed ottimizzare la logistica. L'intensificazione di sistemi agricoli destinati anche alla produzione di bioenergia non può comunque prescindere dal concetto di sostenibilità ambientale, economica e sociale (Buckwell *et al.*, 2014; Romano e Plutino, 2018) che sono alla base del successo di qualsiasi iniziativa.

In tale contesto è fondamentale lo sviluppo di adeguate attività di ricerca finalizzata e di successiva assistenza per il trasferimento operativo delle conoscenze che coprano diversi aspetti quali mappatura dei suoli, identificazione dei migliori sistemi produttivi e delle tecniche di meccanizzazione agricola, sviluppo di filiere corte ed innovative, pianificazione degli approvvigionamenti, sviluppo di tecnologie di lavorazione/trasformazione delle biomasse, ottimizzazione dei processi. Rispetto ad altri paesi europei e non-europei, il sistema agricolo italiano presenta una limitata disponibilità di terreni da destinare alle colture per energia ed elevati costi di produzione. A riguardo, esistono infatti due milioni di ettari coltivati a frumento, condizione che potrebbe aprire la strada allo sviluppo di rotazioni con filiere produttive locali in cui le colture oleaginose da energia potrebbero interrompere le monosuccessioni di cereali (Lazzeri *et al.*, 2009; Basili e Rossi, 2018). Per bilanciare il minor potenziale produttivo di tali colture si dovrebbe puntare all'utilizzo dell'intera pianta così da fornire più prodotti, incrementando la sostenibilità economica ed ambientale (Bezzi *et al.*, 2007).

La produzione di biocarburanti per i trasporti è principalmente e tradizionalmente legata a colture annuali quali ad esempio la soia (*Glycine max*), la colza (*Brassica napus*) e il girasole (*Helianthus annuus*), ma un crescente interesse si sta manifestando per la canapa (*Cannabis sativa*), il cavolo d'Abissinia (*Brassica carinata*), il cartamo (*Carthamus tinctorius*) e il cardo (*Carduus sp.*) (Zegada-Lizarazu e Monti, 2011; Gutiérrez *et al.*, 2018). In molti casi, colture convenzionalmente utilizzate per la produzione di cibo possono essere utilizzate anche come *energy crops* scegliendo genotipi alternativi meno adatti all'alimentazione e che richiedono meno *input* rispetto alle varietà *food* (Zegada-Lizarazu e Monti, 2011). Questo approccio potrebbe essere applicato ad esempio per il carciofo (*Cynara cardunculus* subsp. *Scolymus (L.) Hegi*), coltura tradizionale mediterranea di cui l'Italia è il primo produttore mondiale e di cui vanta un germoplasma amplissimo (Ciancolini *et al.*, 2012).

Le diverse colture da energia dovrebbero essere coltivate in un sistema versatile e sostenibile di rotazioni (Diehl e Mateo Box, 1985). Il potenziale per lo sviluppo di produzione di *biofuel* in un contesto di rotazioni non è stato ancora esplorato accuratamente (Zegada-Lizarazu e Monti, 2011). La rotazione delle colture energetiche tuttavia desta particolare interesse considerando (a) l'attuale utilizzo diffuso delle terre per la monocoltura, (b) l'interesse per la produzione nazionale di biocarburanti in un contesto politico caratterizzato dalla progressiva eliminazione di biocarburanti di prima generazione e (c) le preoccupazioni per il cambiamento d'uso del terreno. I vantaggi agronomici delle rotazioni sono ben noti e molteplici quali la riduzione dell'erosione del suolo, il miglioramento della sua struttura e permeabilità, l'incremento dell'attività del microbioma e dell'accumulo di sostanza organica, il miglior controllo di erbe infestanti e parassiti. Per definire un sistema efficiente e produttivo di rotazioni con colture energetiche occorre conoscere le necessità colturali in termini di acqua e nutrienti, ma anche i fattori di stress biotico che possono compromettere le produzioni. Occorre quindi scegliere le specie più adatte ad un determinato contesto ed adottare tecniche di coltivazione altrettanto idonee.

L'impiego di colture energetiche in rotazione con colture da alimentazione può dunque contribuire ad aumentare la biodiversità nell'azienda agricola, migliorando la resa quali-quantitativa delle produzioni e la sostenibilità aziendale.

### 2.1.5 SELEZIONE DELLE MATRICI IDONEE

Le specie oggetto di indagine sono state scelte sulla base di una serie di elementi di natura agronomica e biologica che attengono a sostanzialmente ai seguenti principi:

- Adattabilità
- Inserimento nelle rotazioni
- Ampiezza del germoplasma
- Produzione di biomassa
- Multifunzionalità

Naturalmente data l'esiguità delle risorse a disposizione e la ristrettezza dei tempi per la sperimentazione nella scelta hanno giocato un ruolo anche fattori di natura pratica in relazione alla disponibilità di seme, cultivar e di esperienza diretta. Non ultimo la necessità di concentrarci su colture che ad oggi hanno ricevuto una minore attenzione dal punto di vista della ricerca proprio a causa dei diversi obiettivi rispetto a quelli perseguiti nel decennio precedente da numerosi gruppi di ricerca italiani ed internazionali.

Le specie scelte sono state la Brassica carinata, Il Cartamo, il Carciofo e la Canapa di seguito descritte brevemente.

***Brassica carinata*** A. Braun, è una Brassicacea autoctona degli altopiani etiopici con un apparato radicale fittonante e fusti fioriferi più o meno ramificati alti fino a oltre 160 cm. I fiori hanno corolle di colore giallo o bianco con fioritura scalare che procede dal basso verso l'alto e fecondazione prevalentemente autogama. Il frutto è una siliqua contenente da 15 a 20 semi piccoli, rotondi, di colore bruno o giallastro; è molto più resistente alla deiscenza rispetto alla colza. La pianta è a ciclo autunno-primaverile (al Centro-Sud) o primaverile (al Nord). Le semine autunnali sono da preferire perché permettono di sfuggire meglio alla siccità estiva dando inoltre semi più grandi. La pianta è molto resistente alla siccità, al freddo, alle malattie e presenta elevata rusticità e produzione. L'interesse recente per questa specie non ha ancora permesso il necessario lavoro di miglioramento genetico in grado di donarle il corredo di caratteri necessario e farla apprezzare concorrenzialmente rispetto alla colza (Del Gatto e Di Candilo, 2012).



**FIGURA 3: BRASSICA CARINATA: IN FIORITURA (A SINISTRA) E IN PRODUZIONE CON ABBONDANZA DI SILIQUE (A DESTRA)**

*B. carinata* è poco diffusa in Europa dal momento che la maggior parte delle popolazioni e cultivar oggi disponibili contengono acido

erucico e glucosinolati che ne impediscono il loro uso come olio alimentare e in mangimistica. La specie è stata invece presa in considerazione come nuova coltura potenziale da olio negli Stati Uniti, Canada, India, Spagna e Italia (Warwick *et al.*, 2006) in quanto produce seme di grandi dimensioni (Genetic *et al.*, 1996) con contenuto in olio compreso tra il 26 e il 40%, variabile con il genotipo e con le condizioni pedoclimatiche di coltivazione. La pianta energetica ideale, con cicli biologici brevi e resa elevata, è in grado di crescere in condizioni avverse marginali e aride o semi-aride; nel 2006-2008, è stata coltivata in Sicilia per produzione di biodiesel nell'ambito del progetto Fi.Sic.A. e, nel 2007-2013, per introdurre colture oleaginose nell'ambito del Progetto E.Ri.C.A (<mailto:www.isafom.cnr.it/index.php/progetti/progetti-terminati/126-erica>).

La specie è diventata recentemente oggetto di crescente interesse (Cardone *et al.*, 2003); il suo uso ai fini energetici è stato studiato fin dai primi anni del 2000. Le proprietà fisico-chimiche dell'olio estratto dai semi (elevato contenuto di acido erucico e linolenico; Velasco *et al.*, 2013) rendono la specie particolarmente adatta per le applicazioni industriali (Atabani *et al.*, 2013) e per l'uso come carburante. Dalle paglie può essere inoltre recuperato il furfurolo, una sostanza moderatamente tossica che, idrogenato per produrre alcool tetraidrofurfurilico (THFA), può essere utilizzabile come biocarburante ad alta densità di energia (Stamigna *et al.*, 2012).

In Italia, Basili e Rossi (2018) hanno studiato la fattibilità economica e la sostenibilità ambientale della produzione di biocarburanti di seconda generazione da *B. carinata* in un contesto di rotazione con il frumento. Questo è estremamente rilevante in un paese in cui la monocoltura del frumento è molto diffusa e vi è un elevato grado di dipendenza dalle importazioni estere sia di biocarburanti che di materie prime legate ai biocarburanti. In particolare, in Sicilia *B. carinata* ha evidenziato un inserimento perfetto nelle rotazioni con il frumento duro con ottime rese in olio. A questo risultato si aggiungono i bassi costi di coltivazione, la naturale predisposizione della pianta alla trebbiatura meccanica, la consistente produzione di massa vegetale e la capacità di mantenere i semi per diverso tempo anche in condizioni climatiche avverse. *B. carinata* si rivela infatti particolarmente adatta per la produzione di biocarburanti se si pensa che, con un ettaro di terra utilizzata per la produzione di semi, si possono produrre oltre 400 litri di biocarburante e 1.400 litri di diesel rinnovabile. Inoltre dopo l'estrazione dell'olio, le parti restanti possono essere utilizzate per la produzione di farine proteiche per mangimi animali (<https://notiziescientifiche.it/primo-volo-transpacifico-aereo-alimentato-biocarburante-base-semi-senape>). Il 30 gennaio 2017 è stato portato a termine, con successo, il primo volo al mondo di un aereo Qantas (tratta Los Angeles-Melbourne di 15 ore) alimentato con un biocarburante contenente il 10% di biofuel, miscela ottenuta dalla *Brassica carinata*, che ha consentito di ridurre le emissioni di CO<sub>2</sub> del 7% rispetto al tradizionale carburante (1 febbraio 2018, Rinnovabili.it).

La sostenibilità economica ed ambientale della filiera consiste nella valorizzazione di tutti i prodotti e co-prodotti ottenibili e tenendo in considerazione anche gli effetti positivi sulle colture cerealicole in successione. Si tratta infatti di una coltura da rinnovo e quindi miglioratrice in quanto libera presto il terreno (luglio-agosto) ed ha un buon potere di contenimento delle infestanti; può essere pertanto inserita in rotazione tra due cereali con rese conseguibili di 3,5 – 4,5 t/ha. E' un'ottima alternativa al frumento nelle colline del Centro-Sud.

Il **cartamo** (*Carthamus tinctorius* L.) è un'Asteracea annuale e multifunzionale diffusa esclusivamente nelle zone settentrionali dell'Italia. Il germoplasma è caratterizzato da una grande variabilità genetica che è stata utilizzata nel tempo per selezionare varietà diverse da destinare soprattutto all'industria alimentare e dolciaria, a quella energetica (biodiesel) e farmaceutica ed alla produzione di vernici e resine. Originario del Medio e vicino Oriente, il cartamo è stato coltivato da

tempi remoti in Cina e in tutta l'area del Mediterraneo dove è stato generalmente confinato in piccoli appezzamenti di terreno. Negli ultimi anni si sta assistendo ad un rinnovato interesse per questa coltura, principalmente per le interessanti proprietà salutistiche dell'olio ricavabile dai suoi acheni (20-40%, in funzione del genotipo e delle condizioni di coltivazione), ricco in acidi grassi polinsaturi tra cui gli omega-3, utili all'organismo umano.

Il cartamo ha piante con un apparato radicale fittonante molto profondo (120-150 cm) e altezza di 80-150 cm; ogni ramificazione termina con un'infiorescenza a capolino i cui fiori tubulari sono solitamente gialli-arancio ma anche rossi o bianchi che costituiscono una fonte importante di coloranti naturali (la cartamina per il rosso e i chinocalconi, appartenenti al gruppo dei flavonoidi, per il giallo) utilizzati sia nella tintura del tessile sia come coloranti alimentari. La pianta ha un ciclo autunno-primaverile ma le semine autunnali sono da preferire perché consentono di sfuggire meglio alla siccità estiva. Le piante richiedono temperature piuttosto elevate e luce ad alta intensità, prediligono terreni a pH neutro o sub-alcalino e profondi in modo da ritenere più acqua possibile; pur richiedendo molta acqua, non tollerano tuttavia umidità elevata nell'ambiente. Il cartamo si configura dunque come un buon candidato per una coltivazione estensiva a bassi *input* esterni che si inserisce bene in successione a un cereale autunno-vernino. I semi sono acheni biancastri, perlacei che a maturità possono contenere un 4-7% d'acqua, l'11-17% di proteine e il 20-45% d'olio in funzione del genotipo e delle condizioni pedoclimatiche (Arslan, 2007).



FIGURA 4: FIORI E SEMI DI CARTAMO

Attualmente il cartamo è importante soprattutto come pianta oleifera. I semi sono ricchi di olio, ricco di acidi insaturi, *in primis* linoleico e oleico; le percentuali di acido oleico ottenute nell'olio di cartamo sono in assoluto le più elevate tra tutti gli oli vegetali. Si possono raggiungere anche rese in seme di 40 quintali/ha, utilizzati quasi esclusivamente per la produzione di olio. La composizione in acidi grassi dell'olio di cartamo è molto variabile; nei tipi più comuni l'acido linoleico è presente per il 70% ma esistono anche varietà con elevato acido oleico. Per la trasformazione in biodiesel, sia l'acido oleico (C18:1), che linoleico (C18:2) hanno facilità di combustione e buona stabilità ossidativa. Per tale motivo il cartamo può rappresentare una fonte alternativa ai combustibili fossili.

Essendo una coltura da rinnovo e quindi miglioratrice, liberando presto il terreno (luglio-agosto) ed avendo un buon potere di contenimento delle infestanti, può essere inserita in rotazione tra due cereali con rese conseguibili di 1,5 - 2,0 t/ha, grazie soprattutto alla sua tolleranza allo stress idrico e salino. La scelta della varietà e l'epoca di semina possono influenzare le *performance* produttive e qualitative della coltura.

La coltura del cartamo potrebbe offrire interessanti opportunità per molti sistemi agricoli, rappresentando un valido strumento per aumentare la sostenibilità agro-ambientale, la differenziazione dei sistemi colturali tradizionali e, conseguentemente, concorrere a diversificare ed elevare il reddito aziendale. Inoltre il cartamo è da sempre una coltura multifunzionale, sfruttata non solo per la produzione di olio, ma anche per l'ottenimento di tinture a partire dai suoi fiori, oltre che

La coltura del cartamo potrebbe offrire interessanti opportunità per molti sistemi agricoli, rappresentando un valido strumento per aumentare la sostenibilità agro-ambientale, la differenziazione dei sistemi colturali tradizionali e, conseguentemente, concorrere a diversificare ed elevare il reddito aziendale. Inoltre il cartamo è da sempre una coltura multifunzionale, sfruttata non solo per la produzione di olio, ma anche per l'ottenimento di tinture a partire dai suoi fiori, oltre che

per una lunga serie di utilizzi tradizionali degli acheni e corolle (industria alimentare per colorare e profumare cibi e bevande, industria dei coloranti, produzione di olio).

La **canapa** (*Cannabis sativa* L.) è una pianta legnosa appartenente alla famiglia delle *Cannabaceae* caratterizzata da una fibra molto resistente e da semi ricchi di principi attivi, il cui utilizzo può vantare origini antichissime. Originaria dell'Asia centrale, era largamente coltivata in Italia sino agli anni '50, ma da allora è praticamente scomparsa dagli ordinamenti colturali. E' tuttavia considerata una potenziale coltura energetica grazie alle sue caratteristiche quali il limitato costo di coltivazione, l'elevato tenore di biomassa (Li et al., 2010), l'elevata efficienza di uso del suolo, la resa in sostanza secca, la bassa richiesta di nutrienti e nessun uso di pesticidi (Prade et al., 2011). La specie può essere coltivata efficacemente in diversi climi, presenta una forte resistenza alla siccità e agli attacchi microbici e può essere utilizzata in rotazione con colture alimentari (es. cereali), aspetto molto importante per la sostenibilità nella produzione di bioenergia (Kreuger et al., 2011; Börjesson et al., 2011).

Fra le colture agro-industriali soprattutto non alimentari, la canapa è oggetto di crescente interesse sia per la destinazione tradizionale del tessile sia per gli altri molteplici impieghi a cui si presta (produzione di biocomposti, isolanti per la bioedilizia, carta, geotessili, substrati colturali, cosmetici e medicinali, pasta e alimenti da forno) compresa la produzione di seme per uso mangimistico e/o per ottenere olio da impiegare nei settori alimentare, farmaceutico, cosmetico e nella produzione di biocarburanti. Thomas Prade, della Swedish University, ha riportato alla ribalta la questione circa l'opportunità di coltivare la canapa per la produzione di biodiesel. Rispetto alle altre colture destinate alla produzione di biocarburante, la canapa sembra avere un più alto rendimento energetico e un minor impatto ambientale. Inoltre, il rendimento per ettaro è il più elevato e, in Italia, si raggiungono valori di circa 20 tonnellate di biomassa in un periodo di quattro mesi.

I semi di canapa contengono il 20-25% di proteine, il 20-30% di carboidrati, il 10-15% di fibre, minerali tra i quali soprattutto fosforo, potassio, magnesio, zolfo, calcio, ferro e zinco (Deferne and Pate 1996) e un alto contenuto di olio che varia tra il 26 e il 38% (Kriese et al., 2004). I lipidi, contenuti nei semi, vengono transesterificati impiegando acidi, basi o enzimi per produrre biodiesel (Ma and Hanna 1999; Zhang et al., 2003; Meher et al., 2006). Secondo Li et al. (2010), l'efficienza di conversione dell'olio è superiore al 99,5% e il rendimento in biodiesel è di circa il 97%. Inoltre, il biodiesel prodotto dalla canapa ha mostrato caratteristiche che soddisfano le norme ASTM 6751-09.

Dal punto di vista agricolo e agro-ecologico, si tratta di una coltura miglioratrice del terreno per cui si può inserire nelle rotazioni (es. con i cereali) portando valore al suolo dell'azienda agricola dove richiede molta meno acqua e fertilizzanti rispetto ad altre colture da biomassa. Inoltre ha un effetto depurativo del suolo in quanto riesce a smaltire eventuali sostanze inquinanti che contaminano il terreno. Oltre a ciò, la canapa può essere coltivata praticamente ad ogni temperatura, e cresce più rapidamente di ogni altra coltura attualmente in uso raggiungendo un'altezza di quattro metri in circa cento giorni. La quantità di olio prodotta per pianta è il doppio che nella colza. L'unico vero limite dell'utilizzo della canapa come fonte di biocarburante è la sua mancanza di competitività economica a causa della sua attuale ridotta scala di produzione.

Alla fine della prima metà del secolo scorso, l'Italia disponeva del più importante pool genico di canapa rappresentato da: a) popolazioni eterogenee, fornite di buone capacità di adattamento anche a condizioni di stress ambientali; b) popolazioni abbastanza uniformi ottenute per selezione massale (Carmagnola, Bolognese, Toscana, Ferrarese); c) varietà ottenute per selezione (Fibranova, C.S., Eletta Campana, T4, Superfibra). Successivamente la coltura è stata abbandonata sia per il

mancato adeguamento alle nuove esigenze socio-economiche, sia perché richiedeva un grande impiego di manodopera. Durante il lungo periodo di abbandono della coltura (oltre mezzo secolo) gran parte del germoplasma è andato perduto per mancata riproduzione e conservazione in purezza del seme. Nell'ultimo quindicennio si è però verificato un grande ritorno d'interesse per la canapa grazie alla riscoperta delle sue elevate potenzialità produttive, ridotte esigenze colturali, versatilità d'impiego, buona rusticità e capacità fitodepurativa dei terreni inquinati da metalli pesanti (Przemyslaw *et al.*, 1995; Giovanardi *et al.*, 2002; Ciurli *et al.*, 2002; Di Candilo *et al.*, 2004). La più coltivata e utilizzata nel settore industriale è la *Canapa sativa* per la percentuale di THC quasi assente.



**FIGURA 5: COLTURA DI CANAPA A SX E OLIO ESTRATTO DAI SEMI A DX**

La canapa può essere una risorsa molto preziosa se inserita in rotazione per combattere l'erosione, l'inquinamento, l'utilizzo di erbicidi e pesticidi, e per interrompere le monoculture. La criticità principale al suo reintegro in agricoltura è la mancanza di adeguata meccanizzazione e selezione delle cultivar adatte ai nostri pedoclimi.

Il **carciofo** (*Cynara cardunculus subsp. scolymus* L.) è un'Asteracea originaria del bacino del Mediterraneo dove è pertanto bene adattata. Si tratta di una delle colture più diffuse nell'Italia centro-meridionale dove i capolini commerciabili e utilizzati per l'alimentazione umana rappresentano circa il 20% della biomassa totale. Dopo il loro raccolto, quindi, rimane in campo un'elevata quantità di biomassa residua compresi i capolini non commercializzabili. Questi residui agricoli potrebbero costituire un'importante fonte di energia sia a fini domestici che industriali. Raccuia *et al.* (2013), hanno infatti dimostrato su 12 accessioni di carciofi che, oltre alla produzione di capolini, sono state ottenute oltre 15 t ha<sup>-1</sup> di sostanza secca di biomassa residua (foglie, steli e capolini non commercializzabili) in aree ristrette di Puglia, Sicilia e Sardegna dove l'uso dei residui di biomassa di carciofo per produrre bioenergia potrebbe avere il vantaggio di ridurre anche i costi di trasporto.



**FIGURA 6: OLIO ESTRATTO DAI SEMI DI CARCIOFO**

Il germoplasma italiano di carciofo è per lo più costituito da popolazioni locali tradizionalmente coltivate soprattutto per le loro unicità culinarie. Alcune di queste mostrano una buona produzione di biomassa, ma hanno capolini non apprezzati da un punto di vista commerciale ed edule e che potrebbero quindi essere potenzialmente indirizzati verso eventuali usi alternativi a quello alimentare. L'ampia diversità genetica del germoplasma coltivato in Italia dimostra il ruolo chiave degli agricoltori nella sua conservazione, fondamentale per il lavoro di miglioramento genetico.

Trattandosi di una pianta multifunzionale, il carciofo potrebbe possedere delle potenzialità anche per lo sviluppo di biocarburanti nei paesi che circondano il Mediterraneo, dove non richiede significativi apporti idrici oltre a quello delle piogge. Il carciofo può inoltre rappresentare una risorsa genetica importante da cui poter attingere per il miglioramento genetico di caratteri specifici, soprattutto qualitativi, che possono alimentare filiere produttive alternative.

### **2.1.6 PROVE SPERIMENTALI E RISULTATI**

La presente ricerca si è proposta di valutare l'idoneità dell'olio estratto dal seme di alcune specie quali *Brassica carinata*, cartamo, canapa e carciofo (sottospecie di *Cynara cardunculus* in questo ambito meno studiata), alternative alle oleaginose tradizionalmente utilizzate, per l'eventuale sfruttamento in applicazioni industriali, in particolare per la produzione di biocombustibile per aviotrazione.

In una prima fase è stato effettuato il reperimento di germoplasma di ogni specie, per lo più proveniente da precedenti programmi di miglioramento genetico ENEA o in coltivazione presso aziende specializzate. Alcune accessioni locali e varietà, linee e ibridi sono stati opportunamente caratterizzati da un punto di vista morfologico e selezionati soprattutto per la produzione in semi, per poi essere valutati per la resa in olio e per alcune caratteristiche chimico-fisiche dell'olio stesso.

Per *B. carinata* e cartamo durante la prima annualità è stata effettuata la moltiplicazione del seme di linee precedentemente sviluppate in ENEA; per il carciofo sono stati utilizzati dei cloni già presenti nel campo sperimentale presso l'Azienda Dimostrativa ARSIAL di Cerveteri e nuovi ibridi carciofo x cardo realizzati allo scopo; per la canapa si è fatto riferimento a varietà già in coltivazione presso diversi campi della provincia di Lecce, Taranto e Salerno, seguiti da SOUTH HEMP Tecno (Taranto), azienda che fornisce agli agricoltori le sementi.

Il germoplasma disponibile è stato caratterizzato utilizzando descrittori morfologici accettati a livello internazionale in modo da selezionare il materiale genetico per resa in seme e in biomassa. Il seme è stato quindi analizzato per le caratteristiche quali-quantitative dell'olio in modo da valutarne l'eventuale idoneità all'utilizzo come biocarburante.

La strategia seguita nel corso delle attività è di seguito schematizzata ed è stata applicata a ciascuna delle 4 specie prese in considerazione.



### STRATEGIA SEGUITA NEI DUE ANNI DI ATTIVITÀ

## Caratterizzazione morfologica delle specie considerate

- **BRASSICA CARINATA**

### IMPORTANZA

*Brassica carinata* A. Braun, appartenente alla famiglia delle *Brassicaceae*, è poco diffusa in Europa dal momento che la maggior parte delle popolazioni e cultivar oggi disponibili contengono acido erucico e glucosinolati che ne impediscono il loro uso come olio alimentare e in mangimistica.

La specie è stata invece presa in considerazione come nuova coltura potenziale da olio negli Stati Uniti, Canada, India, Spagna e Italia (Warwick *et al.*, 2006) in quanto, rispetto ad altre *Brassicaceae*, ha semi di grandi dimensioni (Genetic *et al.*, 1996) ed un contenuto in olio compreso tra il 26 e il 40% in base al genotipo/cultivar e alle condizioni pedoclimatiche di coltivazione. *B. carinata* presenta piante energetiche ideali, con cicli biologici brevi e resa elevata, in grado di crescere in zone aride e marginali; nel 2006-2008, è stata coltivata in Sicilia per produzione di biodiesel nell'ambito del progetto Fi.Sic.A. e, nel 2007-2013, per introdurre colture oleaginose nell'ambito del Progetto E.Ri.C.A (<mailto:www.isafom.cnr.it/index.php/progetti/progetti-terminati/126-erica>).

Il 30 gennaio 2017 è stato portato a termine, con successo, il primo volo al mondo di un aereo Qantas, tratta Los Angeles-Melbourne di 15 ore, alimentato con un biocarburante contenente il 10% di biofuel, miscela ottenuta da *B. carinata*, permettendo di ridurre le emissioni di CO<sub>2</sub> del 7% rispetto al tradizionale carburante (1 febbraio 2018, Rinnovabili.it).

Quello che in generale proponiamo per *B. carinata* è un sistema integrato che permetta di ridurre i costi di produzione e la quantità di acqua e fertilizzanti utilizzati per la coltura. La chiave di volta è rappresentata dallo sviluppo di nuove linee in grado di crescere in condizioni di arido-coltura e di presentare un'elevata resa di produzione in olio e biomassa. Tali linee potrebbero entrare in rotazione con particolari leguminose impedendo il depauperamento dell'azoto contenuto nel terreno ed evitando l'uso di fertilizzanti organici.

I dati di letteratura indicano che *B. carinata* e *B. juncea* potrebbero diventare potenziali alternative alla colza come valide fonti di materie prime per la produzione di biocarburanti (Hossain *et al.*, 2019) rappresentando una potenziale soluzione per mitigare le emissioni di carbonio nel settore dell'aviazione, attualmente responsabile del 2,6% delle emissioni globali di carbonio (Alam e Dwivedi, 2019). *B. carinata* è infatti considerata una futura oleaginosa di interesse per molti paesi; l'ibridazione interspecifica risulta inoltre promettente per l'introggressione di caratteri agronomicamente desiderabili da una specie all'altra in contesti d'*élite* per migliorare l'adattabilità in diverse aree di coltivazione (Thakur *et al.*, 2019).

Gli studi sinora condotti hanno inoltre evidenziato l'alto potenziale delle piante della famiglia delle *Brassicaceae* per il fitorisanamento delle terre contaminate (Anjum *et al.*, 2012) e la loro elevata adattabilità nel caso in cui i contaminanti non possono essere degradati.

L'attività di ricerca svolta ha inteso selezionare nuovi genotipi di *B. carinata* ad uso energetico da affiancare al girasole, colza, cardo, colture oleaginose coltivate oggi in Italia. *B. carinata* (Fig. 7) è importante perché, oltre all'olio dai semi, può essere recuperato anche il furfurolo dalle paglie. La grande quantità di emicellulosa (16%) nella paglia di *B. carinata* rende infatti la produzione di furfurolo da questa coltura particolarmente interessante per applicazioni energetiche. Il furfurolo è una sostanza moderatamente tossica che può essere utilizzata come precursore di una nuova generazione di carburanti rinnovabili; può essere, infatti, idrogenato per produrre alcool tetraidrofurfurilico (THFA), utilizzabile come biocarburante ad alta densità di energia (Stamigna *et al.*, 2012).



FIGURA 7: COLTIVAZIONE DI *B. CARINATA*



FIGURA 8: *BRASSICA CARINATA* IN PRODUZIONE CON ABBONDANZA DI SILIQUE

La pianta di *B. carinata* (Fig. 8) ha un apparato radicale fittonante, con fusti fioriferi più o meno ramificati alti fino a oltre 160 cm. I fiori hanno corolle di colore giallo o bianco con fioritura scalare che procede dal basso verso l'alto e fecondazione prevalentemente autogama. Il frutto è una siliqua contenente da 15 a 20 semi rotondi, di colore bruno o giallastro; è molto più resistente alla deiscenza rispetto a quella di colza. La pianta è a ciclo autunno-primaverile (al Centro-Sud) o primaverile (al Nord). Sono da preferire le semine autunnali perché permettono di sfuggire meglio all'aridità estiva e danno inoltre semi più grandi. La pianta è resistente alla siccità, al freddo, alle malattie e presenta elevata rusticità e produzione.

Si tratta di una coltura da rinnovo e quindi miglioratrice in quanto libera presto il terreno (luglio-agosto) ed ha un buon potere di contenimento delle infestanti; può essere pertanto inserita in rotazione tra due cereali con rese conseguibili di 3,5–4,5 t/ha. Rappresenta un'ottima alternativa al frumento nelle colline del Centro-Sud.

#### PRATICHE COLTURALI

*B. carinata* è una pianta a ciclo autunno-vernino e primaverile al Centro-Sud o primaverile al Nord. Si tratta di una specie che predilige i terreni a pH neutro o subalcalino e profondi che possano far approfondire le radici e che ritengano più acqua possibile. Il terreno deve essere preparato con aratura medio-profonda (30-40 cm) per permettere infatti un buon approfondimento delle radici e la formazione di una buona scorta idrica.

Per il diserbo è possibile utilizzare gli stessi principi attivi registrati per la colza (trifluralin e metazaclor) sia in pre-semina che in pre- e post-emergenza.

Per la raccolta, l'umidità del seme deve essere del 9-10%. Le rese in seme conseguibili sono di 3,5–4,5 t/ha.

Di seguito viene presentata una scheda colturale che riepiloga le principali tecniche colturali adottate.

---

#### Tecnica colturale

---

- ✓ Aratura e fresatura con trattore (Goldoni 945 RS/DT cv 45)
  - ✓ Concimazione di fondo con 100 Kg/ha di azoto, 80 di fosforo, 70 di potassio; con distribuzione frazionata di N anche in copertura a fine inverno
  - ✓ Squadro manuale del campo
  - ✓ Semina manuale mese di dicembre (30-40 pianta/mq)
  - ✓ Distanza tra le fila: 20-25 cm. Distanza lungo la fila: 15 cm. Profondità di semina: 2-3 cm
  - ✓ Diserbo e trattamenti insetticida
  - ✓ Raccolta manuale delle piante a luglio
  - ✓ Trebbiatura
- 

#### CARATTERIZZAZIONE MORFOLOGICA E SELEZIONE GENOTIPICA

Presso il C.R. ENEA Casaccia, da una popolazione etiope di 480 piante di *B. carinata*, valutata in un precedente programma di ricerca, sono state selezionate 94 progenie/pianta in base a caratteri fenotipici quali altezza pianta (110-200 cm), colore del fusto (verde, rosso), data di fioritura, colore del fiore (giallo o bianco), indeiscenza della siliqua (scala 0-10; 0 = indeiscenza 10 = deiscenza), colore del seme (rosso o giallo), peso seme/pianta (11-62 g). Tale materiale è stato selezionato fino ad ottenere 4 linee, denominate n. 4, 35, 70 e 98, che sono state inserite nelle attività del presente accordo di programma. Inoltre, da un precedente programma di *breeding*, erano stati ottenuti 4 ibridi *B. oleracea* x *B. carinata* e 5 ibridi *B. carinata* x *B. napus* allo scopo di migliorare il contenuto in olio e i caratteri agronomici utili a scopi energetici; questo materiale, è attualmente in generazione F<sub>5</sub> ed è stato inserito nelle attività del presente accordo di programma.

Durante il I anno, presso i campi sperimentali del C.R. Casaccia, è stato moltiplicato il seme di tali materiali in modo da poter effettuare nell'annata agraria 2017/18 (Il anno di attività) una prova parcellare per valutare la loro omogeneità fenotipica in base a precocità di fioritura, altezza pianta, peso dei semi, peso seme/pianta, produttività e contenuto in sostanza secca (descrittori secondo il Supplemento ordinario n. 70 G.U. del 14.05.2009), tutti rilievi effettuati su 3 piante centrali/parcella. Per la determinazione quantitativa della sostanza secca, effettuata nella fase finale di raccolta della coltura, sono state considerate le 3 piante centrali/parcella caratterizzate morfologicamente. Le biomasse aeree sono state pesate prima allo stato fresco e poi a quello secco, dopo essiccamento in stufa a 103°C per 2-3 giorni, fino a raggiungimento di un peso costante per determinare il contenuto in sostanza secca dell'intera pianta. La raccolta effettuata fino ai primi 15 giorni di luglio ha consentito di ottenere biomassa con un livello basso di umidità (circa 11%).

I tredici genotipi di *B. carinata* sono stati seminati in autunno, sempre presso i campi sperimentali del C.R. Casaccia dove sono state effettuate 3 repliche per ciascun genotipo e ogni parcella aveva le dimensioni di 2 m<sup>2</sup>. La distanza tra le file era di 20-25 cm, la distanza lungo la fila era di 15 cm. L'obiettivo era di ottenere 30-35 piante/m<sup>2</sup> (Fig. 8). Il campo è stato diserbato dalle infestanti e concimato con azoto (80-100 kg/ha). Inoltre, sono stati effettuati dei trattamenti con insetticida per la presenza della cavolaia (*Pieris brassicae*) le cui larve, divorando le foglie delle piante, causano ingenti danni qualitativi e produttivi.

**FIGURA 9: FASI VEGETATIVE DALL'EMERGENZA ALL'INDUZIONE FIOREALE**

Nel mese di aprile sono iniziati i rilievi delle parcelle per i caratteri agronomici fino alla fase di maturazione delle piante (Fig. 10); nel mese di luglio le linee sono state raccolte e successivamente trebbiate per determinare il peso del seme per pianta, la produttività e il contenuto in sostanza secca. Tutte le linee sono risultate indeiscenti permettendo di evitare notevoli perdite di seme in fase raccolta (Fig. 9).

**FIGURA 10: FASE DI MATURAZIONE E RACCOLTA**

In Tab. 1 sono riportati i risultati della caratterizzazione morfologica delle linee analizzate. L'analisi statistica ANOVA ci ha permesso di osservare differenze statisticamente significative solo per la data di fioritura, il peso del seme/pianta, la sostanza secca. Inoltre, la variabilità osservata tra le linee per la produzione (q/ha) non è risultata significativa.

**TABELLA 1: CARATTERI MORFOLOGICI DI PROGENIE E IBRIDI DI *B. CARINATA*, ANNATA AGRARIA 2017-2018.**

Progenie/ ibridi	Tipologia	Color. antoc. fusto	Colore fiore	Data fior. (gg. dal 1 aprile)	Altezza pianta (cm)	Peso seme/pt( g)	Peso 100 semi (g)	Prod. (q/ha)	ss (%)
70	<i>B. carinata</i>	debole	bianco	23 a	120	13,2 ab	0,6	30,27	90,79 ab
98	<i>B. carinata</i>	debole	bianco	32 de	130	6,8 a	0,5	39,53	90,44 a
35	<i>B. carinata</i>	debole	bianco	27 ac	120	10,7 ab	0,4	34,92	92,19 be
4	<i>B. carinata</i>	debole	bianco	26 ac	115	15,8 ab	0,7	45,16	91,69 ac
2	<i>B. oleracea</i> x <i>B. carinata</i>	assente	bianco	30 cd	130	13,8 ab	0,5	34,96	91,94 bd
5	<i>B. oleracea</i> x <i>B.</i> <i>carinata</i>	forte	bianco	23 a	115	6,9 a	0,4	36,66	92,74 ce
14	<i>B. oleracea</i> x <i>B.</i> <i>carinata</i>	assente	bianco	28 bc	120	17,8 b	0,5	28,13	93,41 e
18	<i>B. oleracea</i> x <i>B.</i> <i>carinata</i>	forte	bianco	36 e	160	14,9 ab	0,6	29,51	91,03 ab
32	<i>B. carinata</i> x <i>B.</i> <i>napus</i>	assente	giallo	23 a	110	28,4 c	0,5	40,89	90,80 ab
38	<i>B. carinata</i> x <i>B.</i> <i>napus</i>	assente	bianco	26 ac	130	14,7 ab	0,4	42,24	92,74 ce
47	<i>B. carinata</i> x <i>B.</i> <i>napus</i>	assente	bianco	30 cd	130	11,0 ab	0,4	28,05	93,20 de
57	<i>B. carinata</i> x <i>B.</i> <i>napus</i>	assente	bianco	25 ab	130	28,7 c	0,5	47,57	91,80 ad
58	<i>B. carinata</i> x <i>B.</i> <i>napus</i>	assente	bianco	26 ac	120	17,2 ab	0,5	44,39	91,64 ac
<b>Media</b>				27,30	125,38	15,37	0,46	34,26	91,87
<b>Dev. st</b>				3,89	12,49	6,8	0,09	6,77	0,95
<b>p</b>				0,000014	n.d.	0,00057	n.d.	n.s	0,00044

Secondo il test di Duncan, le medie corrispondenti a lettere diverse differiscono significativamente tra loro

La colorazione antocianica del fusto era assente per i genotipi n. 2, 14, 32, 38, 47, 57 e 58, era debole per i quattro genotipi 70, 98, 35, 4 mentre era forte per i genotipi n. 5 e 18 (Fig. 11). Soltanto la linea 32 aveva il colore giallo del fiore mentre tutte le altre l'avevano bianco (Fig. 12). Per quanto riguarda l'epoca di fioritura, i genotipi più precoci sono quelli indicati come n. 70, 5, 32.



FIGURA 11: PRESENZA/ASSENZA DI ANTOCIANI NEL FUSTO



FIGURA 12: DIVERSA COLORAZIONE DEL FIORE

L'altezza delle piante era contenuta tranne per genotipo n. 18 (110-160 cm). Il peso del seme per pianta aveva una media di 15,37 grammi (6,8-28,7 g). Il peso di 100 semi aveva una media di 0,46 grammi (0,4-0,7 g) con una maggiore resa mostrata dalle linee 32 e 57. La produttività stimata per ettaro dei genotipi ha mostrato una media di 34,26 q/ha (28,05-47,57 q/ha). La sostanza secca ha evidenziato variazioni con una media di 91,87% (90,44-93,41 %); la migliore produttrice di s.s. è stata la linea 14.

Un giudizio relativo ai genotipi analizzati, formulato in base ad un solo anno di prova (2017-2018), ci ha permesso di individuare i più produttivi e adatti a condizioni climatiche tipiche del centro-Italia. Si tratta della **linea n. 4** e dell'**ibrido n. 57**, entrambi selezionati per elevata produttività in seme (Fig. 13), rispettivamente di 45,16 e 47,57 q/ha. Il peso di 100 semi (0,7 e 0,5 g) ed il peso del seme prodotto per pianta (15,8 e 28,7 g) sono risultati medio-alti. L'altezza della pianta era contenuta (115 e 130 cm), la data di fioritura era sufficientemente precoce (25-26 giorni) e la percentuale del contenuto in sostanza secca ha mostrato un valore medio di 92%.



FIGURA 13: SEME DELLE 2 LINEE PIÙ PRODUTTIVE

## • CARTAMO

### IMPORTANZA

L'uso di fonti energetiche rinnovabili come il cartamo è interessante in quanto si tratta di una oleaginosa a ciclo colturale breve, con produzione elevata e adattamento ottimale a diversi climi, tra cui quello mediterraneo (Kniphoff de Oliveira, 2018). L'olio di cartamo è inoltre una fonte promettente per la produzione di biodiesel. Indipendentemente dal genotipo usato e rispetto ad altri oli comunemente usati per la produzione di biodiesel, produce esteri metilici le cui proprietà fisiche e chimiche mostrano valori conformi alle norme della National Agency of Petroleum, Natural gas and Biofuels (ANP) (Kniphoff de Oliveira, 2018) con basse concentrazioni di inquinanti tossici.

Il cartamo (*Carthamus tinctorius* L.), appartenente alla famiglia delle *Asteraceae*, presenta piante con apparato radicale fittonante molto profondo (120-150 cm) e alte 80-150 cm; ogni ramificazione termina con un'infiorescenza a capolino. I fiori sono solitamente di colore giallo-arancio (Fig. 14), ma possono essere anche rossi o bianchi. La fecondazione è prevalentemente autogama.



**FIGURA 14: FIORI DI CARTAMO DELLE LINEE SELEZIONATE**

La pianta ha un ciclo autunno-primaverile, ma sono da preferire le semine autunnali perché permettono di sfuggire meglio alla siccità estiva. Si tratta di piante tolleranti alla siccità, al freddo (fino a  $-7^{\circ}\text{C}$ ) e alla salinità e prediligono terreni a pH neutro o sub-alcantino e profondi in modo da far approfondire le radici e ritenere più acqua possibile. Essendo una coltura da rinnovo e quindi miglioratrice, liberando presto il terreno (luglio-agosto) ed avendo un buon potere di contenimento delle infestanti, può essere inserita in rotazione tra due cereali con rese conseguibili di 1,5 - 2,0 t/ha.

I semi sono acheni biancastri, perlacci che a maturità possono contenere un 4-7% d'acqua, l'11-17% di proteine e il 20-45% d'olio in funzione della varietà e delle condizioni pedoclimatiche (Arslan, 2007). Inoltre, esiste variabilità tra i genotipi sia per lo spessore che per il peso del tegumento del seme. La composizione in acidi grassi dell'olio di semi di cartamo è molto variabile; nei tipi più comuni l'acido linoleico è presente per il 70% ma esistono anche varietà con elevato acido oleico. Per la trasformazione in biodiesel sia l'acido oleico, C18:1, che linoleico, C18:2, hanno facilità di combustione e buona stabilità ossidativa. Per tale motivo il cartamo può rappresentare una fonte alternativa ai combustibili fossili.

## PRATICHE COLTURALI

Il cartamo è una specie longidiurna a ciclo autunno-vernino e primaverile al Centro-Sud o primaverile al Nord. Predilige terreni a pH neutro o subalcalino profondi che possano far approfondire le radici e che ritengano più acqua possibile. Il terreno deve essere preparato con aratura medio-profonda (30-40 cm) per permettere un buon approfondimento delle radici. Per la raccolta, l'umidità max. del seme deve essere 9-10%. Le rese in seme conseguibili sono di 1,5 - 2,5 t/ha.

Di seguito viene presentata una scheda colturale che riepiloga le principali tecniche colturali adottate.

---

### Tecnica colturale

---

- ✓ Aratura e fresatura con trattore (Goldoni 945 RS/DT cv 45)
  - ✓ Concimazione di fondo con 100 Kg/ha di fosfato biammonico; in copertura con 80-120 unità di azoto prima della levata
  - ✓ Squadro manuale del campo
  - ✓ Semina manuale mese di dicembre (30-40 pianta/mq)
  - ✓ Distanza tra le fila: 20-25 cm. Distanza lungo la fila: 15 cm. Profondità di semina: 2-3 cm.
  - ✓ Diserbo e trattamenti insetticida
  - ✓ Raccolta manuale delle piante alla fine di luglio-agosto
  - ✓ Trebbiatura (Fig. 15)
- 



**FIGURA 15: TREBBIATRICE PARCELLARE “CICORIA” E PICCOLA TREBBIA DA BANCO (A DESTRA) UTILIZZATE SIA PER B. CARINATA SIA PER CARTAMO.**

## CARATTERIZZAZIONE MORFOLOGICA E SELEZIONE GENOTIPICA

Da 45 accessioni spinescenti di cartamo provenienti da diversi Paesi (Iran, Irak, India, USA) è stato possibile selezionare presso il C.R. ENEA Casaccia, in un precedente programma di ricerca, 75 progenie/pianta per assenza di spine sia sulle foglie che sulle infiorescenze, in modo da agevolare il

successivo lavoro di selezione e coltivazione. Si è proceduto quindi ad effettuare le autofecondazioni su 6 linee migliori, denominate come n. 1, 12, 14, 32, 33, 19, di cui è stato moltiplicato il seme in modo da poter effettuare, nell'annata agraria 2017/18, una prova parcellare in cui valutare l'omogeneità dei caratteri. Nel presente lavoro è stata utilizzata come controllo la varietà Oscar, la prima varietà italiana di cartamo registrata nel 2015 ad alto contenuto in acido linoleico e valutata per scopi energetici (produttività 2,3 t/ha, contenuto in olio 28,3%; Brevetto n° 122017000006386 – Stamigna C., Chiaretti D., Chiaretti E., Tassinari E.).

La caratterizzazione morfologica ha riguardato la precocità di fioritura, l'altezza pianta, il peso dei semi, il peso del seme/pianta, la produttività e il contenuto in sostanza secca (descrittori secondo la direttiva UPOV TG/134/3 del 12.10.1990). Per la determinazione quantitativa della sostanza secca si è proceduto come descritto per *B. carinata*. La raccolta, effettuata fino ai primi giorni di agosto, ha consentito di ottenere biomassa con un livello basso di umidità (circa 11%).

Le sette linee di cartamo sono state seminate in autunno, presso i campi sperimentali del C.R. Casaccia, considerando 3 repliche per ciascuna linea e una dimensione parcellare di 2 m<sup>2</sup>. L'interfila era di 20-25 cm mentre la distanza lungo la fila era 15 cm; la densità delle piante era 30-35 piante /m<sup>2</sup> (Fig. 16).



**FIGURA. 16: FASI VEGETATIVE DALL'EMERGENZA ALLA FIORITURA**

Il campo è stato diserbato dalle infestanti e concimato con azoto (80-100 kg/ha). Inoltre, è stato effettuato il trattamento con insetticida per la presenza della mosca (*Acanthiophilus helianthi*) e del curculionide (*Larinus flavescens*) che causano danni qualitativi e produttivi.

A giugno sono iniziati i rilievi delle parcelle per i caratteri morfo-agronomici. Alla fine del mese di luglio ed inizio agosto sono state raccolte le linee di cartamo e successivamente trebbiate per determinare il peso del seme per pianta, la produttività e il contenuto in sostanza secca.

In Tab. 2 sono riportati i caratteri morfo-agronomici delle sette linee. La colorazione dei petali variava dal colore giallo all'arancio (Fig. 17). L'altezza delle piante aveva una media di 147,85 cm (130-165 cm), il peso dei semi per pianta presentava una media di 12,64 gr (9,2-16,0 gr) e il peso di 100 semi aveva una media di 3,85 gr (3,2-4,9 gr). I valori di produttività, con una media di 21,08 q/ha, variano tra 6,54 e 26,81 q/ha. La percentuale di sostanza secca ha mostrato una media di 75,58% (67,59-86,75 %).



**FIGURA 17: COLORI DELL'INFIORESCENZA**

**TABELLA 2: CARATTERI MORFOLOGICI DELLE LINEE DI CARTAMO, ANNATA AGRARIA 2017-2018**

Linea	Colore petali	Data fioritura (gg. dall'1 giugno)	Altezza pianta (cm)	Peso seme/pt. (g)	Peso 100 semi (g)	Prod. (q/ha)	ss (%)
1	giallo-arancio	22 b	150	9,8	3,9	24,91	70,71
12	giallo-arancio	18 a	150	13,2	3,9	22,89	81,64
14	giallo-arancio	20 ab	140	10,6	4,1	25,32	76,33
32	giallo	21 b	130	15,1	3,4	6,54	70,00
33	giallo-arancio	20 ab	160	14,6	3,6	19,11	67,59
19	arancio	18 a	165	16,0	4,9	26,81	76,09
cv. Oscar	giallo-arancio	18 a	140	9,2	3,2	21,96	86,75
Media		19,57	147,85	12,64	3,85	21,07	75,58
Dev. st		1,42	12,19	2,7	0,55	6,89	6,84
p		0,0194	n.d.	n.s.	n.d.	n.s.	n.s.

Secondo il test di Duncan, le medie corrispondenti a lettere diverse differiscono significativamente tra loro

L'analisi statistica ANOVA ha permesso di osservare differenze statisticamente significative soltanto per la data di fioritura rilevando la maggiore precocità delle linee n. 12 e 19 analogamente alla cv. Oscar. Inoltre, la variabilità osservata tra le linee per la produzione (q/ha), peso del seme/pianta e sostanza secca non è risultata significativa.

Sebbene le differenze tra le medie non siano risultate statisticamente significative, le linee n. 14 e 19 sono state selezionate per produttività (25,32 e 26,81 q/ha) superiore anche alla varietà Oscar (21,96 q/ha). Inoltre, il peso dei 100 semi è stato maggiore rispetto alle altre linee (4,1 e 4,9 g) e il peso del seme per pianta è risultato medio-alto con valori di 10,6 e 16,0 g (Fig. 18). La linea 19 ed a seguire la linea 14 sono risultate inoltre le più precoci per la fioritura assieme ai genotipi n. 12, 19 e 33. Nel presente lavoro le due **linee (n. 14 e n. 19)** sembrano quindi più produttive della varietà Oscar e sicuramente adatte ai nostri ambienti di coltivazione; il loro olio di semi è stato successivamente caratterizzato da un punto di vista chimico-fisico.



**FIGURA 18: FASE DI MATURAZIONE DELLE PIANTE E SEME DELLE 2 LINEE PIÙ PRODUTTIVE DI CARTAMO**

## • CANAPA INDUSTRIALE

### IMPORTANZA

La canapa industriale (*Cannabis sativa* L.) è considerata una potenziale coltura energetica grazie alle sue caratteristiche, quali il basso costo di coltivazione, l'elevato tenore di biomassa (Li *et al.*, 2010), l'elevata efficienza di uso del suolo, la resa in sostanza secca, la bassa richiesta di nutrienti e nessun uso di pesticidi (Prade *et al.*, 2011). La specie può essere coltivata efficacemente in diversi climi, presenta una discreta resistenza alla siccità e agli attacchi microbici e può essere utilizzata in rotazione con colture alimentari (es. cereali), aspetto molto importante per la sostenibilità nella produzione di bioenergia (Kreuger *et al.*, 2011; Börjesson *et al.*, 2011).

Thomas Prade, della Swedish University, ha riportato alla ribalta l'opportunità di coltivare la canapa da destinare alla produzione di biodiesel. Rispetto alle altre colture destinate alla produzione di biocarburante, la canapa sembra avere un più alto rendimento energetico e un minor impatto ambientale. Inoltre, il rendimento per ettaro è il più elevato e, in Italia, si raggiungono valori di circa 20 tonnellate di biomassa in un periodo di quattro mesi.

I semi di canapa contengono il 20-25% di proteine, il 20-30% di carboidrati, il 10-15% di fibre, minerali tra i quali soprattutto fosforo, potassio, magnesio, zolfo, calcio, ferro e zinco (Deferne and Pate 1996) e un alto contenuto di olio che varia tra il 26 e il 38% (Kriese *et al.*, 2004). I lipidi, contenuti nei semi, vengono transesterificati impiegando acidi, basi o enzimi per produrre biodiesel (Ma and Hanna, 1999; Zhang *et al.*, 2003; Meher *et al.*, 2006). Li *et al.* (2010) hanno esaminato l'applicabilità dell'olio di semi di canapa per produrre biodiesel. L'efficienza di conversione dell'olio è stata superiore al 99,5% e il rendimento del biodiesel è stato di circa il 97%. Inoltre, il biodiesel prodotto dalla canapa ha mostrato caratteristiche che soddisfano le norme ASTM 6751-09.

### PRATICHE COLTURALI

La Tab. 3 riporta schematicamente le principali pratiche colturali eseguite per le cultivar di canapa nei terreni delle diverse località considerati per la sperimentazione. I semi usati per le semine erano dell'annata precedente.

**TABELLA 3. PRATICHE COLTURALI EFFETTUATE PER I TERRENI COLTIVATI A CANAPA**

	Superficie di terreno coltivato	Quantità seme utilizzato (kg/ha)	Concimazione (q/ha)	Irrigazione
Novoli (Le)	1 ha	50	3 di pollina organica	no
Manduria (Ta)	2 ha	50	no	no
Mottola (Ta)	2 ha	50	120 di letame	no
Acerra (Sa)	2 ha	32	concime organico con pennone	no
Scorrano (La)	2 ha	50	no	no

### CARATTERIZZAZIONE MORFOLOGICA E SELEZIONE GENOTIPICA

Nell'ambito delle attività di sperimentazione, a cura del C.R. ENEA di Brindisi, mediante diverse ispezioni in campo, è stata effettuata la caratterizzazione morfologica delle piante di differenti

cultivar di canapa. La Tab. 4 mostra in dettaglio le località interessate dalla sperimentazione, il numero di piante campionate per cultivar di canapa ed il numero totale di piante considerate per la sperimentazione.

**TABELLA 4: GENOTIPI DI CANAPA CONSIDERATI E LOCALITÀ DI COLTIVAZIONE**

Genotipo	Località	Piante (n.)
Futura 75 (1° anno)	Novoli (Le)	6
Futura 75 (2° anno)	Novoli (Le)	10
Futura 75	Manduria (Ta)	10
Futura 75	Mottola (Ta)	10
Uso 31	Acerra (Sa)	12
Codimono	Scorrano (Le)	10
<b>Totale</b>		<b>58</b>

Tutte le cultivar di canapa considerate nel presente lavoro sono monoiche sviluppate per la produzione di semi. Nel caso della cv. Futura 75 coltivata a Novoli (Le) si può fare un confronto tra due annate, mentre le altre cultivar sono state caratterizzate per una sola annata agraria.

Di seguito sono riportate le immagini relative ai campi considerati per la sperimentazione (Fig. 19, 20, 21, 22, 23).



**FIGURA 19: CAMPI DI NOVOLI (LE) (A) E DI MANDURIA (TA) (B) COLTIVATI CON LA CV. FUTURA 75**



**FIGURA 20: CAMPO DI MOTTOLA (TA) COLTIVATO CON LA CV. FUTURA 75 DI CANAPA**



**FIGURA 21: PIANTE FEMMINA (A) E MASCHIO (B) DELLA CV. FUTURA 75 DI CANAPA**

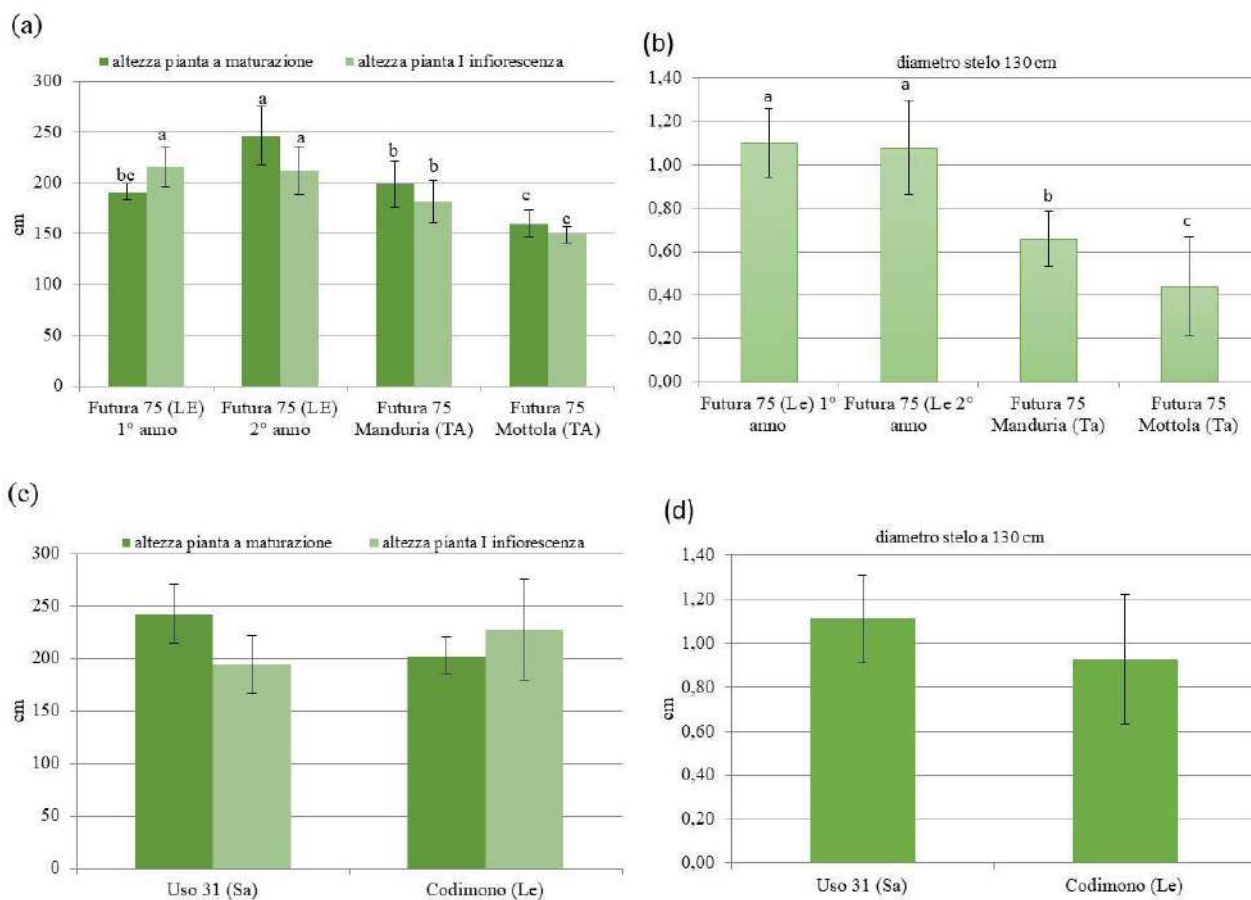


**FIGURA 22: CAMPI DI ACERRA (SA) COLTIVATI CON LA CV. USO 31**



**FIGURA 23: CAMPO DI SCORRANO (LE) COLTIVATO CON LA CV. CODIMONO DI CANAPA.**

La Fig. 24 a, b, c, d mette in evidenza le differenze tra le caratteristiche morfologiche associate all'altezza della pianta a maturazione, all'altezza della 1<sup>a</sup> infiorescenza e del diametro dello stelo nelle varietà di canapa coltivate in diverse località. In particolare, in Fig. 24 a, b è evidenziato il comportamento delle piante di Futura 75 coltivate in quattro diverse località delle provincie di Lecce e Taranto ma, come già detto, solo nel caso dei campi di Novoli (Le) si può fare il confronto per i due anni presi in esame (2017 e 2018). Dai rilievi effettuati si evince che le piante della varietà Futura 75 coltivate a Novoli (Le) nel 2<sup>o</sup> anno, erano più grandi rispetto alle piante della stessa cultivar esaminata sia a Novoli nel 1<sup>o</sup> anno sia a Manduria (Ta) e a Mottola (Ta). Questo aspetto può essere messo in relazione con le diverse condizioni pedoclimatiche delle località stesse. Il diametro dello stelo, uguale nelle due annate agrarie a Novoli, è comunque risultato significativamente maggiore rispetto a quello mostrato dalla stessa cv. Futura 75 a Manduria e Mottola.



Secondo il test di Duncan, le medie corrispondenti a lettere diverse differiscono significativamente tra loro

**FIGURA 24: DIMENSIONE DELLE PIANTE (A) DELLA CV. FUTURA 75 COLTIVATA NELLE PROVINCE DI LECCE E TARANTO E (B) DI ALTRE CULTIVAR COLTIVATE NELLE PROVINCE DI SALERNO E LECCE**

Inoltre, sebbene le differenze non siano state significative per i parametri considerati, il confronto tra le altre due cultivar di canapa dà indicazioni che la varietà Uso 31 coltivata ad Acerra (Sa) presenti una maggiore altezza della pianta a maturazione e un maggior diametro dello stelo rispetto alla cv. Codimono (Le), che invece ha mostrato una maggiore altezza della pianta alla 1<sup>a</sup> infiorescenza (Fig. 24 c, d). Nel complesso, possiamo considerare che le cvs Futura 75 (Le) (in base alle caratteristiche rilevate durante il 2° anno) e potenzialmente anche Uso 31 (Sa) hanno presentato le migliori caratteristiche morfologiche relative a parametri associati alla biomassa rispetto alle altre cultivar.

La Tab. 5 riporta i dati relativi al numero di infiorescenze e alle dimensioni delle infiorescenze apicali e laterali delle piante delle tre cultivar esaminate nelle diverse cinque località. Quelli relativi alle dimensioni delle infiorescenze apicali si riferiscono solo ai campi delle cultivar analizzate nel 2018; mancano i dati relativi al 2017, in quanto l'annata è stata caratterizzata da forte siccità che ha comportato l'impossibilità di valutare anche la produzione di seme per pianta.

Riguardo al numero di infiorescenze delle diverse cultivar di canapa, Futura 75 coltivata a Novoli (Le) nel 2° anno e Codimono (Le) si sono differenziate statisticamente rispetto alle altre varietà con il maggior numero di infiorescenze, seguite dalle cvs Uso 31 (Sa), Futura 75 - Novoli 1° anno e Manduria. La cv. Futura 75 coltivata a Mottola ha invece evidenziato il valore più basso di infiorescenze (10,7). Per gli altri parametri relativi alle dimensioni delle infiorescenze apicali e laterali, si è distinta la cv. Uso 31 per lunghezza dell'infiorescenza apicale mentre non ci sono state

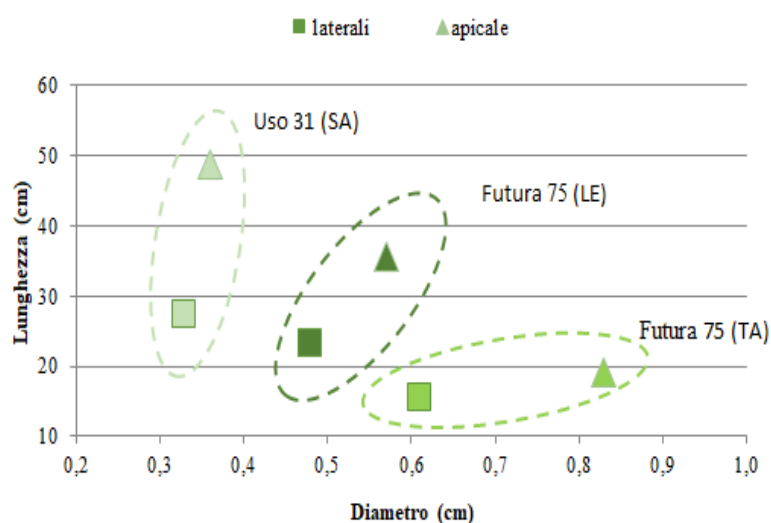
differenze significative tra le cultivar per l'altezza della stessa infiorescenza. La cv. Codimono si è invece differenziata dalle altre per le dimensioni dell'infiorescenza laterale.

**TABELLA 5: CARATTERISTICHE MORFOLOGICHE DELLE INFIORESCENZE RILEVATE SULLE DIVERSE CULTIVAR DI CANAPA**

Genotipo	Infiorescenze (n.)	Altezza	Lunghezza	Altezza	Lunghezza
		infiorescenza laterale (cm)	infiorescenza laterale (cm)	infiorescenza apicale (cm)	infiorescenza apicale (cm)
Futura 75 (Novoli, Le) 1° anno	17,0±3,7 ab	0,6±0,2 b	24,0±7,0 b	-	-
Futura 75 (Novoli, Le) 2° anno	21,0±2,9 a	0,5±0,1 b	23,3±3,7 b	0,6±0,1	35,7±6,3 b
Futura 75 (Manduria, Ta)	17,3±4,0 ab	0,6±0,6 b	15,5±5,0 c	0,8±0,1	19,2±3,0 c
Futura 75 Mottola (Ta)	10,7±5,8 b	2,3±0,7 a	23,2±5,8 b	-	-
Uso 31 (Acerra, Sa)	18,6±3,0 ab	0,3±0,1 b	27,3±6,2 b	0,4±0,1	48,7±11,7 a
Codimono (Scorrano, Le)	21,7±5,09 a	2,0±1,0 a	38,6±13,5 a	-	-

Secondo il test di Duncan, le medie corrispondenti a lettere diverse differiscono significativamente tra loro

Nella Fig. 25 sono state messe a confronto le dimensioni delle infiorescenze laterali ed apicali delle cultivar esaminate nell'anno 2018. In essa si evidenzia che le piante di Futura 75 valutate a Manduria (Ta) hanno mostrato un'altezza delle infiorescenze laterali (valutato al 6° internodo) e dell'infiorescenza apicale maggiore rispetto alle altre cultivar, mentre hanno presentato una minore lunghezza dell'infiorescenza stessa. La cv. Uso 31 (Sa) è stata invece caratterizzata da una maggiore lunghezza sia dell'infiorescenza laterale che apicale rispetto alla cv. Futura 75.



Durante le ispezioni in campo, da ogni pianta analizzata da ogni pianta state

**FIG. 25: CONFRONTO TRA LE DIMENSIONI DELLE INFIORESCENZE LATERALI ED APICALI DELLE DIVERSE CVS DI CANAPA PRESE IN ESAME**

sono state

prelevate le infiorescenze apicali (Fig. 26) dalle quali, una volta seccate, sono stati raccolti i semi per valutare la quantità di seme prodotta per pianta (Fig. 27).



**FIGURA 26: INFIORESCENZA APICALE DI PIANTE DI CANAPA**



**FIGURA 27: SEMI DELLE CVS FUTURA 75 (A) E USO 31 (B)**

La Tab. 6 riporta i dati relativi alla produzione in seme per pianta solo per le cultivar prese in esame nell'anno 2018; come già riferito, l'anno 2017 è stato caratterizzato da forte siccità, che ha comportato una mancata produzione di semi.

**TABELLA 6: RESA PRODUTTIVA PER INFIORESCENZA APICALE DELLE CULTIVAR ANALIZZATE**

Genotipo	Semi/infiorescenza apicale (n)	Produzione seme per infiorescenza apicale (g)
Futura 75 (Le)	134,0 ± 22,5 b	1,4 ± 0,3 b
Futura 75 (Ta)	69,8 ± 26,5 c	0,9 ± 0,5 b
Uso 31 (Sa)	196,9 ± 52,0 a	2,6 ± 1,0 a

Secondo il test di Duncan, le medie corrispondenti a lettere diverse differiscono significativamente tra loro

I dati mostrano che, per i parametri produttivi presi in esame, la cv. Uso 31 (Sa) si è statisticamente differenziata rispetto alla cv. Futura 75 coltivata nelle province di Lecce e Taranto. Tuttavia, in base ai rilievi effettuati durante le ispezioni in campo nelle diverse province di Lecce, Taranto e Salerno, la cultivar Futura 75 coltivata a Novoli (Le) e la cv. Uso 31 coltivata ad Acerra (Sa) hanno evidenziato le migliori caratteristiche morfologiche relative ai parametri associati alla biomassa rispetto alle altre cultivar considerate nella sperimentazione. Pertanto, **Futura 75 (Le)** e **Uso 31 (Sa)** si prestano meglio alla coltivazione per produzione di seme. I semi delle cvs Futura 75 e Uso 31 (Fig. 21) sono stati utilizzati per estrarre l'olio che è stato successivamente caratterizzato dal punto di vista chimico-fisico.

## • CARCIOFO

### IMPORTANZA

La presente ricerca si è proposta di studiare alcune caratteristiche morfologiche della pianta e chimico-fisiche dell'olio di semi di carciofo, sottospecie di *C. cardunculus* poco studiata per lo sfruttamento in applicazioni industriali. In un contesto di bioeconomia ed agricoltura sostenibile, la coltivazione di specie multifunzionali sta mostrando un notevole interesse dovuto alla possibilità di utilizzare in diversi ambiti produttivi i differenti organi che compongono la pianta (radici, fusto, foglie, fiori, frutti e semi) permettendo una valorizzazione della filiera dei sottoprodotti e di conseguenza un guadagno sia da un punto di vista economico che ambientale (Campanini *et al.*, 2018). In particolare, l'impiego dell'olio vegetale, anche di carciofo, è in accordo con la necessità di utilizzare nuove fonti rinnovabili per soddisfare le future richieste di energia (Pesce *et al.*, 2020). A nostra conoscenza, non è stato condotto alcuno studio né per massimizzare la resa dell'olio di semi di carciofo né sulla correlazione delle caratteristiche chimiche dell'olio con le diverse condizioni pedoclimatiche delle aree di coltivazione. Ulteriori ricerche su questi argomenti sarebbero interessanti per sviluppare genotipi adatti all'avvio di filiere alternative.

Il carciofo [*Cynara cardunculus* var. *scolymus* (L.) Fiori] è un'Asteracea che, assieme al cardo coltivato (*C. cardunculus* var. *altilis* DC), rappresenta il risultato di processi di domesticazione indipendenti avvenuti nel bacino del Mediterraneo, luogo di origine della specie, a partire da un progenitore comune che è il cardo selvatico *C. cardunculus* var. *sylvestris* (Lamk) Fiori (Pignone e Sonnante, 2009). Entrambe le specie, carciofo e cardo, sono infatti interfertili.

Con la sua grande riserva di biodiversità genetica per entrambe le specie, l'Italia svolge un ruolo predominante producendo attualmente 389.813 t di capolini che rappresentano circa il 55% dell'intera produzione europea e 1/3 di quella mondiale (FAO data 2018; <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>).



FIGURA 28: PIANTA DI CARCIOFO

Il carciofo è costituito da piante erbacee poliennali alte circa 50-150 cm con un rizoma sotterraneo e un fusto robusto, ramificato e fornito di foglie alterne grandi; il fusto principale e le sue ramificazioni portano delle infiorescenze (capolini) in posizione terminale (Fig. 28). Queste sono costituite da una parte basale (ricettacolo) su cui sono inseriti i singoli fiori azzurri ermafroditi e tubolosi. Il frutto è un achenio allungato e di sezione quadrangolare, di colore grigio-bruno e screziato. Si tratta di piante allogame ad impollinazione entomofila (Fig. 29) per cui la morfologia florale ed il meccanismo di antesi impediscono normalmente l'autofecondazione.



FIGURA 29: INFIORESCENZA DI CARCIOFO E IMPOLLINAZIONE ENTOMOFILA DEI FIORI

La moltiplicazione del carciofo avviene tradizionalmente per via agamica ma è ormai una realtà la produzione di varietà e ibridi  $F_1$  più produttivi e vigorosi ottenuti via seme.

Tradizionalmente coltivato per i suoi capolini eduli, il carciofo si presta bene anche ad ulteriori utilizzi tra cui l'estrazione di olio dai semi con buone caratteristiche

nutrizionali (Hassanein *et al.*, 2001) ma anche di possibile utilizzo come biocarburante (Ciancolini *et al.*, 2013; Raccuia *et al.*, 2013). Riguardo al contenuto di olio nei semi, questo varia tra il 19%, in condizioni di stress, e il 23%, in assenza di stress (Nouraei *et al.* 2016) e, secondo quanto riportato da Nouraei *et al.* (2016), è presente in maniera predominante acido linoleico (52%) rispetto all'oleico (34%), al palmitico (10%) e allo stearico (4%). Potrebbe essere ipotizzato di coltivare tale specie per la produzione di biomassa e di olio per biodiesel in terreni marginali e a bassa produttività, utilizzando genotipi i cui capolini potrebbero non garantire la qualità al livello richiesto dal mercato alimentare. L'ampio germoplasma di carciofo presente nel bacino del Mediterraneo e soprattutto in Italia, andrebbe quindi valutato e caratterizzato proprio per individuare i genotipi non apprezzabili per l'aspetto edule che potrebbero invece essere sfruttati per l'obiettivo in questione, soprattutto se tolleranti a condizioni di stress (idrico, salino) e con bassa richiesta di input.

Nell'ambito di un'iniziativa finanziata dall'UE ([http://cordis.europa.eu/result/rcn/87134\\_it.html](http://cordis.europa.eu/result/rcn/87134_it.html)), la specie *C. cardunculus* è stata studiata per le sue potenzialità di sviluppo di biocarburanti nei paesi del bacino del Mediterraneo, soprattutto dove sono richiesti scarsi o nessuno apporto idrico (Mauromicale e Ierna, 2004). Vista l'affinità con il cardo, anche per il carciofo se ne potrebbe ipotizzare l'uso per produrre biocarburante in determinate condizioni.

#### PRATICHE COLTURALI

Per quanto riguarda le caratteristiche pedologiche, l'Azienda Dimostrativa ARSIAL di Cerveteri presentava un terreno pianeggiante sabbioso-argilloso (classificazione USDA, 1975) con sabbia 65%, argilla 24% e limo 11%. Il contenuto in sostanza organica (S.O.) era dell'1,1%, il pH era 6,3 e la conducibilità era pari a 0,15 mS. Per quanto riguarda la tecnica colturale, le piante sono state allevate in condizioni non limitanti (assenza di stress) per consentire l'espressione del massimo potenziale genetico di ogni accessione ed evitare differenze di risultati dovute alla componente ambientale.

Durante la II annualità, le informazioni relative alle pratiche colturali del carciofo sono state trasmesse ai colleghi che si occupano di LCA e riepilogate nella scheda colturale di seguito riportata.

## Scheda colturale applicata al carciofo

I anno	II anno
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Aratura e fresatura con trattore</li> <li>✓ Concimazione di fondo con NPK 11/22/16 (11% azoto, 22% anidride fosforica, 16% ossido di potassio): 4 q/ha</li> <li>✓ Squadro manuale del campo</li> <li>✓ Trapianto manuale delle piantine tra il 15 luglio e il 15 agosto (1 pianta/mq)</li> <li>✓ Impianto irrigazione</li> <li>✓ Concimazione con urea 46%: 2 q/ha</li> <li>✓ Raccolta manuale dei capolini</li> <li>✓ Trebbiatura dei capolini mediante trebbia Cicoria mod. Plot 2375 (Fig. 30).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Dicioccatura manuale tra il 15 giugno e il 15 luglio</li> <li>✓ Irrigazione con impianto a pioggia (fino all'arrivo delle piogge)</li> <li>✓ Concimazione con NPK 11/22/16 nell'interfila: 4 q/ha</li> <li>✓ 1<sup>a</sup> scarducciatura manuale a fine settembre-fine ottobre</li> <li>✓ 2<sup>a</sup> scarducciatura a dicembre</li> <li>✓ 3<sup>a</sup> scarducciatura a gennaio (se necessario)</li> <li>✓ Concimazione con urea al 46% (gennaio): 2 q/ha</li> <li>✓ Altra concimazione con urea 46% (marzo): 2 q/ha</li> <li>✓ Raccolta manuale e trebbiatura dei capolini.</li> </ul>



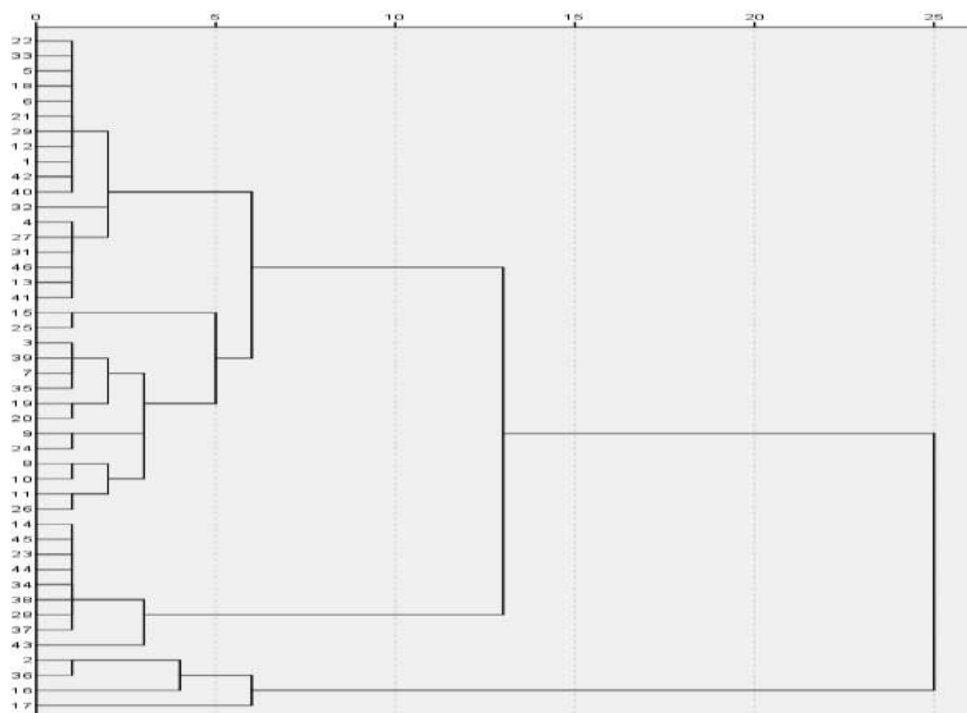
**FIGURA 30: TREBBIATRICE UTILIZZATA PER IL RECUPERO DEGLI ACHENI DI CARCIOFO**

### CARATTERIZZAZIONE MORFOLOGICA E SELEZIONE GENOTIPICA

Sulla base di un precedente reperimento di 45 genotipi diffusi per lo più a livello locale sul territorio italiano ma anche su quello europeo, le attività svolte su carciofo hanno previsto l'allestimento di un campo catalogo presso l'Azienda dimostrativa ARSIAL di Cerveteri (Roma), il cui personale ha curato la gestione agronomica; ogni parcella, non replicata, era costituita da 20 piante per genotipo. Si

trattava di genotipi tradizionalmente propagati per via vegetativa e di cui, per la prima volta, è stata valutata la potenzialità a produrre seme.

In aprile-maggio 2017 si è provveduto alla caratterizzazione dei genotipi con descrittori morfologici UPOV (Globe artichoke, Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability, TG/184/4 del 2011) accettati a livello internazionale in modo da selezionarli in base alla produttività in capolini, e quindi presumibilmente, in seme. Sulla base dei risultati della caratterizzazione morfologica, è stato ottenuto il dendrogramma riportato in Fig. 31 sulle distanze genetiche tra i genotipi.



**FIGURA 31: DENDROGRAMMA DELLA DISTANZA GENETICA TRA I GENOTIPI DI CARCIOFO CARATTERIZZATI MORFOLOGICAMENTE NEL CAMPO CATALOGO DI CERVETERI (ROMA).**

In seguito alla caratterizzazione morfologica effettuata, sono stati scelti 6 genotipi, denominati Camard, Locale di Fano, Leonardo, Mazzaferrata, Nostrano di Pesaro, Violetto di Putignano (Fig. 32), in quanto sembravano più adatti al tipo di attività da svolgere per la dimensione e aspetto generale della pianta ed idonei alla produzione di biomassa e di capolini. In Tab. 7 sono riportati le loro principali caratteristiche morfologiche. In particolare, Violetto di Putignano, Nostrano di Pesaro e Locale di Fano hanno mostrato piante grandi con altezza pari a 95-116 cm e Violetto di Putignano, assieme a Mazzaferrata e Camard, avevano anche un diametro dello stelo maggiore (entrambi questi parametri sono importanti ai fini della produzione di biomassa). Il minore peso totale dei capolini assieme a quello del capolino principale, osservato soprattutto per Violetto di Putignano, Locale di Fano, Nostrano di Pesaro e Camard, deponeva a favore dell'utilizzo di tali genotipi per scopi diversi da quello edule tradizionale per il carciofo.



**FIGURA 32: GENOTIPI DI CARCIOFO SELEZIONATI PER PRODUZIONE DI CAPOLINI E ANALIZZATI PER CARATTERISTICHE DELL'OLIO**

**TABELLA 7: CARATTERISTICHE MORFOLOGICHE PRINCIPALI DEI GENOTIPI DI CARCIOFO SELEZIONATI**

Genotipo	Alt. pianta (cm)	Diam. stelo (cm)	Lungh. foglia (cm)	Lungh. capol. (mm)	Altezza capol. (mm)	Color e brattee	Peso cap. princ. (g)	Peso totale capolini (g)
<b>Mazzaferrata</b>	76,3± 4,73 c	23,9± 2,45 ab	97,0± 3,61 ab	76,4± 4,24 c	84,2±3,51 a	verde- viola	243,7±15,95 bc	1.037,3± 107,94 a
<b>Nostrano di Pesaro</b>	99,7± 4,51 b	19,9± 1,98 cd	107,8± 20,89 a	101,6± 5,99 ab	73,0±5,23b	verde- viola	231,7±41,28 c	538,0± 175,00 bc
<b>Leonardo</b>	73,8± 3,82 c	20,7± 2,38 bc	82,9± 7,73 b	93,8± 5,32 ab	87,4±5,74a	viola- verde	305,0±51,10 a	708,3± 27,74 b
<b>Camard</b>	70,7± 8,50 c	23,1± 1,75 ab	102,0± 7,00 ab	69,6± 7,07 c	83,7±3,30a	verde	192,0±1,73 cd	595,0± 89,00 bc
<b>Violetto di Putignano</b>	116,0± 8,00 a	24,7± 1,30 a	82,3± 10,25 b	102,7± 3,15 a	82,8±2,10a	viola- verde	294,0±32,00 ab	425,5± 42,03 cd
<b>Locale di Fano</b>	96,0± 2,00 b	16,8± 1,58 d	88,0± 7,94 ab	92,4± 5,07 b	59,5±1,58 c	verde	148,7 ± 16,44 d	276,3 ± 260,24 d

Secondo il test di Duncan, medie corrispondenti a lettere diverse differiscono significativamente tra loro.

Dal momento che i genotipi considerati si propagano tradizionalmente per via vegetativa, è stato necessario far produrre seme da destinare alle successive analisi di determinazione chimica dell'olio. I capolini ancora chiusi di tre piante/genotipo sono stati pertanto isolati con appositi sacchetti di rete antiafidica per evitare possibili inquinamenti di polline estraneo e poter procedere quindi all'impollinazione manuale controllata. Al momento della fioritura (maggio-giugno) (Fig. 33) sono stati effettuati degli interincroci tra piante sorelle (Tab. 8) per simulare una libera impollinazione ed assicurare un'adeguata produzione in seme.



FIGURA 33: IMPOLLINAZIONE MANUALE DEI CAPOLINI DI CARCIOFO

I dati relativi alla resa di capolini e alla produzione di semi sono riportati in Tab. 8 da dove si evince che la resa di acheni per pianta è risultata compresa tra 39,12 (Camard) e 194,14 g (Violetto di Putignano), con una media di 85,32 g/pianta. A riguardo, bisogna considerare che si tratta di ecotipi che si propagano tradizionalmente per via agamica e che quindi la produzione forzata di seme non è facile da ottenere.

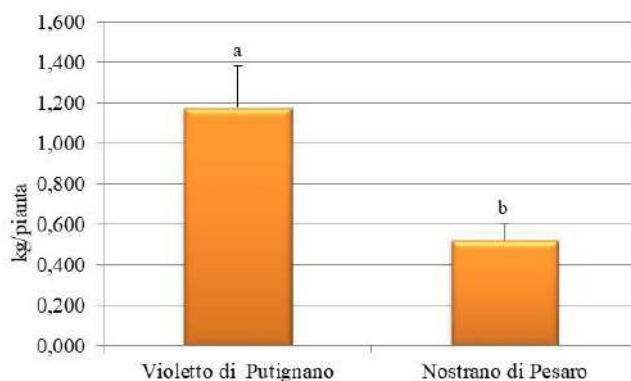
TABELLA 8: IMPOLLINAZIONI EFFETTUATE SUI GENOTIPI SELEZIONATI E PRODUZIONE IN SEME

Genotipo	Capolini isolati (n.)	Interincroci (n.)	Capolini/pianta (n.)	Semi/pianta (g)	Produzione stimata (t/ha)
Camard	10	4	4,0±0,87 c	39,12±12,98 c	0,39
Leonardo	7	5	5,0±0,91 b	68,20±17,65 b	0,68
Locale di Fano	7	5	4,0±1,02 c	56,64±15,67 bc	0,57
Mazzaferrata	9	2	8,0±3,01 b	62,80±19,34 b	0,63
Nostrano di Pesaro	6	5	8,0±2,56 ab	158,25±23,14 a	1,58
Violetto di Putignano	6	6	12,0±4,65 a	194,14±26,01 a	1,94

Secondo il test di Duncan, medie corrispondenti a lettere diverse differiscono significativamente tra loro.

Attraverso la resa di seme per pianta è stata effettuata una stima approssimativa della produzione per ettaro di ogni genotipo (considerando una densità di 10.000 piante/ha) la quale è risultata compresa tra 0,39 e 1,94 t/ha, con una media di 0,85 t/ha in linea con i dati di letteratura (Mauromicale e Ierna, 2004). I due genotipi **Violetto di Putignano** e Nostrano di Pesaro hanno mostrato le produzioni più elevate in termini sia di numero di capolini (12 e 8) sia di peso dei semi/pianta (194 e 158 g), seguiti da Mazzaferrata.

È stata inoltre valutata la produzione in biomassa epigea dei due genotipi di carciofo selezionati per produzione di semi, da cui è emerso che Violetto di Putignano è anche un buon produttore di biomassa, con valori medi di 1,175 kg/pianta (Fig. 34), quindi circa il doppio rispetto al peso osservato per Nostrano di Pesaro (0,520 kg/pianta). Tale genotipo di carciofo è stato quindi selezionato per procedere alla caratterizzazione chimico-fisica dell'olio di semi.



Secondo il test di Duncan, medie corrispondenti a lettere diverse differiscono significativamente tra loro.

**FIGURA 34: BIOMASSA PRODOTTA DAI GENOTIPI SELEZIONATI DI CARCIOFO**

Nella seconda annualità progettuale sono stati seminati e successivamente trapiantati (settembre 2017), sempre presso l'Azienda Dimostrativa ARSIAL di Cerveteri (Roma), anche 7 ibridi carciofo x cardo, realizzati durante la stagione precedente. La scelta è ricaduta su genotipi da seme e non a propagazione vegetativa per cercare di migliorare la resa in seme e conseguentemente l'estrazione di olio. Da un punto di vista colturale, il nuovo materiale vegetale è stato trattato come quello a propagazione vegetativa.

Caratterizzati da un punto di vista morfologico (Tab. 9), gli ibridi si sono differenziati tra loro solo per il diametro e, soprattutto, per l'altezza della pianta, entrambi parametri importanti in quanto indicatori della produzione di biomassa. Nel dettaglio, gli ibridi ICC4 e ICC9 hanno presentato piante significativamente più grandi con rese in capolini e in seme non significativamente diverse tra loro.

**TABELLA 9:. CARATTERI MORFOLOGICI DI IBRIDI CARCIOFO X CARDO**

Ibrido	Altezza pianta (cm)	Diametro pianta (cm)	Diametro stelo (mm)	Totale capolini (n.)	Peso totale semi (g)	Semi (n.)
ICC6	215,0±2,52 b	267,3±4,81 ab	72,7±5,36	20,7±3,33	239,4±60,87	4.178,5±870,07
ICC7	210,7±11,35 bc	262,7±20,83 ab	75,4±13,11	20,3±4,70	220,8±15,91	4.136,2±438,91
ICC8	208,7±5,82 bc	297,7±16,23 a	63,3±0,74	29,3±2,85	295,7±23,55	5.561,2±418,34
ICC3	157,3±2,19 d	246,3±7,36 b	59,9±2,41	28,7±2,40	194,8±39,93	4.163,5±1.057,45
ICC9	246,7±3,85 a	269,7±23,67 ab	58,9±3,46	25,0±3,79	198,3±52,79	3.992,9±896,64
ICC5	196,7±2,34 c	266,3±13,25 ab	58,8±5,38	19,7±1,20	207,3±38,59	4.183,6±699,97
ICC4	234,7±3,94 a	266,0±8,08 ab	62,2±2,94	22,7±5,49	307,2±40,96	5.896,0±1.244,07

Secondo il test di Duncan, medie corrispondenti a lettere diverse differiscono significativamente tra loro.

Sebbene non si siano evidenziate differenze significative tra i genotipi per gli altri parametri, **ICC4** ha prodotto un numero maggiore di semi/pianta per cui è stato scelto per valutare la resa in olio e procedere alla sua caratterizzazione chimico-fisica.

## Caratterizzazione chimico-fisica degli oli

Le analisi di caratterizzazione degli oli hanno inizialmente riguardato il profilo degli acidi grassi nei differenti genotipi per ognuna delle 4 specie considerate per poi proseguire, limitatamente al materiale selezionato per resa in seme, alle analisi di caratterizzazione chimico-fisica di alcuni parametri che possono contribuire a valutarne l'uso come biocarburante. Su tali campioni è stata quindi effettuata anche la determinazione della resa di estrazione in olio.

### MATERIALI E METODI

Le analisi del profilo di acidi grassi hanno riguardato in particolare 13 genotipi di *B. carinata*, 7 di cartamo, 7 di carciofo e 11 di canapa. La Fig. 35 mostra i semi delle diverse specie (*B. carinata*, cartamo, canapa, carciofo) e di alcuni genotipi oggetto di studio. Ai fini delle analisi i semi sono stati essiccati in stufa a 60°C per 48 ore e polverizzati mediante l'utilizzo di un mortaio.



**FIGURA 35: SEMI DELLE DIVERSE SPECIE OGGETTO DI STUDIO**

La caratterizzazione è stata effettuata mediante la determinazione di vari parametri chimico-fisici, quali il profilo in acidi grassi, la resa in olio, il numero di perossidi, la viscosità, il numero di iodio, l'acidità, secondo lo schema rappresentato nella Fig. 36.



**FIGURA 36: SCHEMATIZZAZIONE DELLE ATTIVITÀ DI CARATTERIZZAZIONE CHIMICO-FISICA DEGLI OLI DI SEME**

#### a) DETERMINAZIONE DEL PROFILO IN ACIDI GRASSI

Per la messa a punto del protocollo di estrazione degli acidi grassi è stato utilizzato il metodo Phippen (Phippen *et al.*, 2006) opportunamente modificato, scelto perché permette di effettuare contestualmente l'estrazione degli acidi grassi e la loro transesterificazione (transesterificazione *in situ*) in esteri metilici, fase quest'ultima necessaria per rendere gli acidi grassi volatili e analizzabili per via gascromatografica. Le fasi del protocollo sviluppato sono riportate nel dettaglio di seguito. Ai fini dell'estrazione della frazione lipidica da seme, a 200 mg di campione precedentemente liofilizzato e pestellato in azoto liquido sono stati aggiunti in sequenza:

- lo standard acido nonadecanoico (C19) metilato e 2 ml di Idrossido di Potassio (KOH) a concentrazione 0,5 M (in metanolo), vortexando poi per 1 min e ponendo in stufa a 60°C per 60 min la soluzione ottenuta;
- 2 ml di Acido Solforico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 1M (in metanolo), facendo seguire poi un'altra incubazione in stufa a 60°C, per 15 min;
- 2 ml di H<sub>2</sub>O bidistillata e raffreddando poi sotto acqua corrente e agitando su Vortex;
- 2 ml di N-esano, vortexando e lasciando poi separare le due fasi (lipidica e acquosa) per 1h.

Alla fine, la fase superiore della miscela, contenente la componente lipidica estratta, è stata recuperata e un'aliquota di essa (1 ml) trasferita in una vial per le analisi gascromatografiche.

Si è proceduto quindi alla messa a punto del protocollo per la caratterizzazione gascromatografica del profilo lipidico delle specie oggetto di analisi. L'analisi cromatografica degli estratti è stata condotta utilizzando un gascromatografo (Agilent 7890) con rivelatore a Ionizzazione di Fiamma (FID) ed autocampionatore (Fig. 37). Le analisi sono state eseguite in triplicato.



FIGURA 37: GASCROMATOGRAFO AGILENT 7890 CON AUTOCAMPIONATORE

Di seguito sono riportate le condizioni analitiche messe a punto per l'analisi in gascromatografia:

Colonna	Omegawax®, 30 m x 0,25 mm I.D., 0,25 µm
Carrier	Elio, 1,2 mL/min
Forno	170 °C, 1 °C/min fino a 225 °C
Rivelatore	260 °C
Iniezione	250 °C

#### b) ESTRAZIONE DELL'OLIO

L'estrazione dell'olio dai semi è stata effettuata utilizzando un sistema con solvente organico a caldo (Metodo Randall) mediante l'impiego di un estrattore semi-automatico "VELP SCIENTIFICA™ SER 148" (Fig. 38).

È stato messo a punto un metodo di estrazione articolato in 3 fasi, tutte eseguite ad una temperatura costante di 180°C e di seguito riportate:

1. immersione del campione macinato nel solvente di estrazione (esano);
2. lavaggio del campione con il solvente condensato;
3. concentrazione e recupero dell'olio estratto per evaporazione del solvente.

L'utilizzo del solvente caldo ha garantito una rapida solubilizzazione dell'olio, permettendo di completare l'intero ciclo di estrazione in 90 minuti. Il solvente evaporato dal campione è stato recuperato al termine di ciascuna estrazione per ricondensazione.

Dopo aver eseguito l'estrazione, si è proceduto alla determinazione della resa in olio, espressione della quantità di olio estraibile dal seme ottenuta rapportando la quantità (in peso) di olio estratto al peso (5-7 grammi) del campione di semi utilizzato per l'analisi.



FIGURA 38: ESTRATTORE RANDALL IMPIEGATO PER L'ESTRAZIONE DELL'OLIO DI SEMI

#### c) DETERMINAZIONE DEL NUMERO DI PEROSSIDI

La stabilità ossidativa degli oli estratti, indice della loro “conservabilità”, è stata valutata per via indiretta attraverso la determinazione dell'indice dei perossidi, espressione del grado di irrancidimento di un olio. Il test determina quantitativamente il numero di perossidi (NP), espresso come meq O<sub>2</sub>/kg, indice della quantità di prodotti primari di autossidazione degli acidi grassi. Sono stati utilizzati un kit di reagenti Hanna per la determinazione dei perossidi nell'olio di oliva ed un fotometro portatile (Hanna HI-83730-20, HI-83730-02).

#### d) DETERMINAZIONE DELLA VISCOSITÀ

In generale, la viscosità è una grandezza fisica che indica la resistenza di un fluido allo scorrimento. L'unità di misura della viscosità assoluta è il Pa×s oppure kg/m×s o mm<sup>2</sup>/s ma viene anche usato il “centipoise” [cP] o il “milliPascal-secondo” [mPa s].

Le prove reologiche sui campioni di olio sono state effettuate utilizzando un reometro rotazionale a piatti paralleli Stresstech (Reologica), alla temperatura di 25°C, alla pressione di 1 atm e in un range di *shear rate* compreso tra 1 s<sup>-1</sup> e 10<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>.

Dopo aver effettuato lo zero dello strumento alla temperatura di lavoro, il campione di olio è stato posto sulla geometria ed eseguito il test in regime dinamico valutando la viscosità al variare della velocità di *shear*.

Per verificare la linearità, la ripetibilità e la riproducibilità delle misure sono state effettuate tre prove per ogni campione. I dati sono stati espressi in mm<sup>2</sup>/s.

#### e) DETERMINAZIONE DEL NUMERO DI IODIO

Il Numero di iodio (Ni) indica il grado di insaturazione dell'olio: più è alto l'indice e maggiore è il grado di insaturazione. Tale parametro è definito come la massa di iodio assorbita dal campione nelle condizioni specificate dalla norma internazionale e si esprime in grammi di iodio che reagiscono in 100 g di prodotto analizzato.

La determinazione del numero di iodio è stata eseguita secondo la metodica dell'Allegato XVI del Regolamento (CEE) n. 2568/91 della Commissione dell'11 luglio 1991 relativo alle caratteristiche degli oli d'oliva e degli oli di sansa d'oliva nonché ai metodi ad essi attinenti (GU L 248 del 5.9.1991). Per ogni campione sono state effettuate due determinazioni.

Sono stati utilizzati i seguenti reagenti: Ioduro di potassio, soluzione di 100 g/l; Amido, soluzione; Tiosolfato di sodio, soluzione volumetrica standard c (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.5H<sub>2</sub>O); Solvente, preparato miscelando volumi eguali di cicloesano e di acido acetico; Reagente di Wijs, contenente monocloruro di iodio in acido acetico.

Un'aliquota della sostanza da analizzare è stata pesata e sciolta in 20 ml del solvente, preparato miscelando volumi eguali di cicloesano e di acido acetico. Sono stati aggiunti esattamente 25 ml del reagente di Wijs. La beuta, contenente il campione e i solventi, è stata riposta al buio per 1 ora.

Analogamente è stato preparato un bianco con il solvente ed il reagente ma senza la sostanza da analizzare. Trascorso il periodo necessario, sono stati aggiunti 20 ml della soluzione di ioduro di potassio e 150 ml di acqua a ciascuna delle beute.

I campioni sono stati successivamente titolati con una soluzione volumetrica standard di tiosolfato di sodio finché la colorazione gialla dovuta allo iodio non era quasi scomparsa. A questo punto sono state aggiunte alcune gocce della soluzione di amido che fanno virare il colore verso il blu e si è continuata la titolazione finché la colorazione blu non è scomparsa a seguito di agitazione molto vigorosa.

Il numero di iodio viene dato dalla seguente espressione:

$$\text{Numero di iodio} = \frac{12.69 c (V_1 - V_2)}{m}$$

dove:

$c$  = concentrazione esatta (0,1 mol/l) della soluzione di Tiosolfato di sodio utilizzata per la titolazione;

$V_1$  = volume in ml della soluzione di Tiosolfato di sodio utilizzato per la determinazione del bianco;

$V_2$  = volume in ml delle soluzioni di Tiosolfato di sodio utilizzato per la determinazione della sostanza da analizzare;

$m$  = peso in grammi della sostanza da analizzare.

Sono state effettuate due determinazioni per ogni campione e il risultato è stato dato dalla relativa media aritmetica.

#### f) DETERMINAZIONE DELL'ACIDITÀ

L'acidità totale si esprime in milligrammi di idrossido di potassio (KOH) necessari per neutralizzare tutti gli acidi grassi presenti in 1 grammo di olio.

L'analisi di acidità è stata eseguita secondo la metodica dell'Allegato II del Regolamento (CEE) n. 2568/91 della Commissione dell'11 luglio 1991 relativo alle caratteristiche degli oli d'oliva e degli oli di sansa d'oliva nonché ai metodi ad essi attinenti (GU L 248 del 5.9.1991). Per ogni campione sono state effettuate due determinazioni.

Sono stati utilizzati i seguenti reagenti: Etere dietilico - etanolo al 95 % (V/V), miscela 1 - 1 in volume; Idrossido di potassio, soluzione etanolica titolata  $c(\text{KOH})$  all'incirca 0,1 mol; Blu timolo, soluzione di 20 g/l in etanolo al 95-96 % (V/V).

Un'aliquota della sostanza da analizzare è stata pesata e sciolta in una miscela di etere etilico/etanolo precedentemente neutralizzata. Si è proceduto alla titolazione del campione agitando con la soluzione di idrossido di potassio di 0,1 mol/l fino a viraggio dell'indicatore (blu timolo) persistente.

L'acidità, espressa come percentuale in massa, era pari a:

$$\% \text{ di acido oleico} = V c \frac{M}{1000} \frac{100}{m} = \frac{V c M}{10 m}$$

dove:

V = volume in ml della soluzione titolata di idrossido di potassio usata;

c = concentrazione esatta in moli/l della soluzione titolata di idrossido di potassio usata;

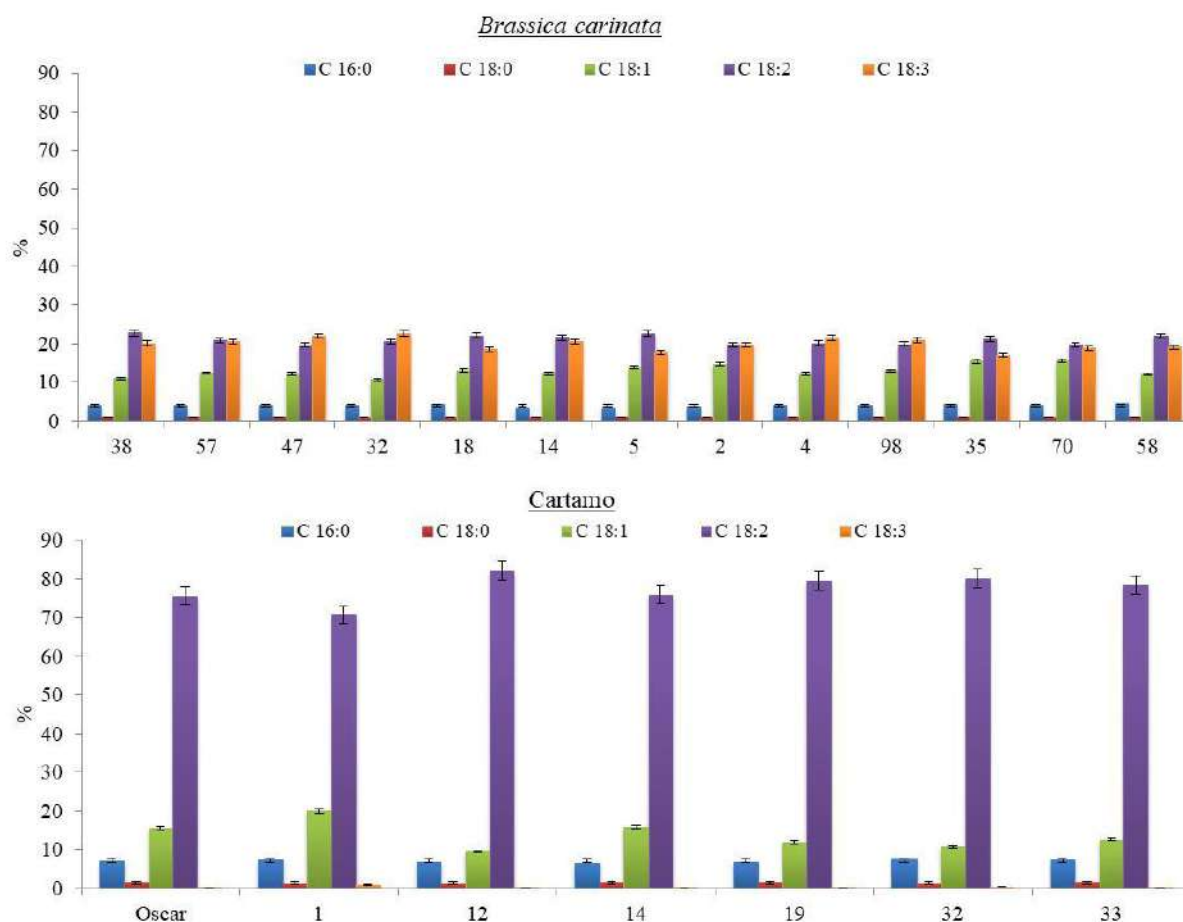
M = peso molare in g/mole dell'acido adottato per l'espressione del risultato (acido oleico = 282);

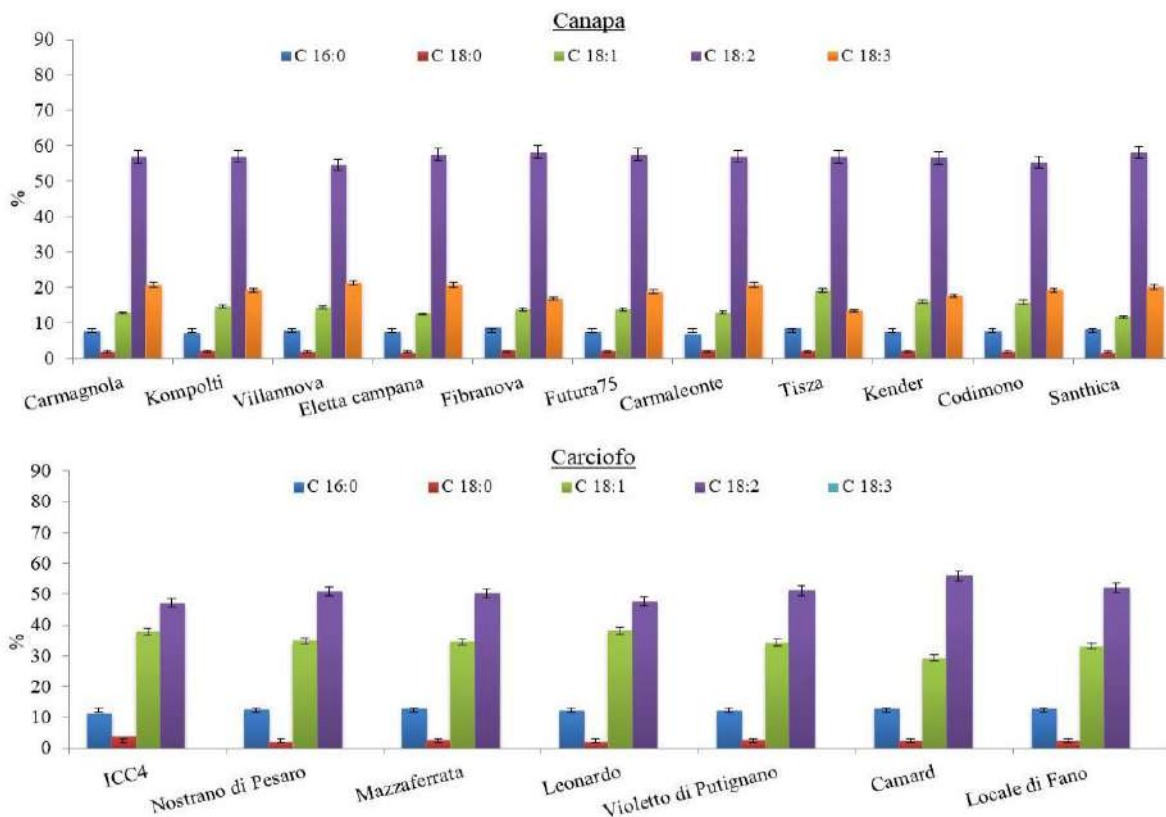
m = peso in grammi della sostanza da analizzare.

Mediante calcoli stechiometrici i valori di acidità sono stati convertiti in mg KOH/g di olio. Il risultato è stato dato dalla media aritmetica di due determinazioni per ogni campione.

## risultati e discussione

In Fig. 39 sono mostrati i profili degli acidi grassi di interesse analitico per tutti i genotipi delle quattro specie vegetali inizialmente considerati. Le differenze riscontrate all'interno di ogni specie erano dovute soprattutto alla variabilità inter-genotipica esistente (v. *B. carinata*, cartamo, canapa e carciofo), ma anche alle diverse condizioni pedoclimatiche e agronomiche in cui sono state condotte le prove di coltivazione (v. canapa).





**FIG. 39: COMPOSIZIONE PERCENTUALE IN ACIDI GRASSI DEI SEMI DEI GENOTIPI DI B. CARINATA, CARTAMO, CANAPA E CARCIOFO**

Dai

risultati non sono emerse differenze significative nel profilo in acidi grassi tra i differenti genotipi analizzati nell'ambito di una stessa specie, mentre sono state evidenziate differenze nella comparazione dei profili lipidici delle 4 specie vegetali considerate (Tab. 10). La composizione in percentuale degli acidi grassi è in linea con i dati di letteratura, confermando l'assenza dell'acido linolenico in carciofo e la presenza solo in tracce di tale acido in cartamo.

**TABELLA 10: ANALISI COMPARATIVA DEI PROFILI LIPIDICI DI B. CARINATA, CARTAMO, CANAPA, CARCIOFO**

Specie	Composizione in percentuale			
	saturi	monoinsaturi	C 18:2	C 18:3
<i>B. carinata</i>	3-4	11-15	20-22	17-20
Cartamo	7-9	10-14	75-79	0,2-0,3
Canapa	8-10	13-16	54-58	16-19
Carciofo	14-17	27-37	48-54	

In dettaglio, nei semi di carciofo e cartamo è stato riscontrato il più alto contenuto in acidi grassi saturi e insaturi a catena medio-lunga, con una prevalenza di acido oleico (C18:1) e linoleico (C18:2) rispetto agli acidi grassi polinsaturi. Nei semi di *B. carinata* e di canapa sono stati invece rilevate elevate percentuali di acido linolenico, un acido polinsaturo meno stabile dal punto di vista chimico. La presenza prevalente di un acido rispetto ad altri determina infatti la variazione di parametri quali la viscosità e l'indice di stabilità ossidativa. In base ai dati di letteratura (Toscano e

Maldini, 2007) la scelta di un olio per trasformazione in biocarburante dovrebbe ricadere su un olio caratterizzato da un'alta percentuale di acidi grassi monoinsaturi e da una catena di carbonio di media lunghezza. Nel nostro caso, i risultati ottenuti sui profili in acidi grassi suggeriscono quindi che cartamo e carciofo siano le specie più idonee, perché permettono di ottenere oli con un'alta stabilità ossidativa e quindi idoneità alla combustione.

Nella valutazione complessiva della qualità dell'olio occorre comunque considerare anche altri parametri chimico-fisici, quali numero di perossidi, viscosità, numero di iodio e acidità. Dopo uno screening iniziale riguardante tutte le linee di ciascuna specie, tali analisi di caratterizzazione chimico-fisica sono state effettuate su una selezione di linee risultate maggiormente produttive in termini di quantità di seme prodotta. La Tabella 11 riporta i risultati delle analisi chimico-fisiche condotte sugli oli dei genotipi selezionati come maggiormente produttivi in termini di seme.

**TABELLA 11: CARATTERIZZAZIONI CHIMICO-FISICHE CONDOTTE SUGLI OLI VEGETALI ESTRATTI DAI GENOTIPI SELEZIONATI**

Genotipo	Resa in olio (%)	Numero perossidi (meq O <sub>2</sub> /kg olio)	Viscosità	Ni (g iodio/100 g olio)	Acidità (mg KOH/g olio)
			(25 °C, 1 atm) (mm <sup>2</sup> /s)		
Carciofo Violetto di Putignano	20,8 ± 0,7	4,5	47,4 ± 0,03	105	7,6
Carciofo x cardo ICC 4	22,0 ± 0,5	2,0	42,3 ± 0,07	116	4,2
Canapa Futura 75	28,0 ± 0,1	2,5	40,8 ± 0,02	135	15,7
Canapa Uso 31	30,7 ± 0,3	3,5	32,3 ± 0,08	150	9,2
Brassica Linea 4	20,2 ± 0,4	5,0	52,7 ± 0,04	111	1,2
Brassica Linea 57	43,5 ± 0,7	3,8	49,4 ± 0,004	117	0,8
Cartamo Linea 14	27,6 ± 0,04	3,9	39,5 ± 0,003	129	3,1
Cartamo Linea 19	28,7 ± 0,07	4,1	42,9 ± 0,02	137	1,4

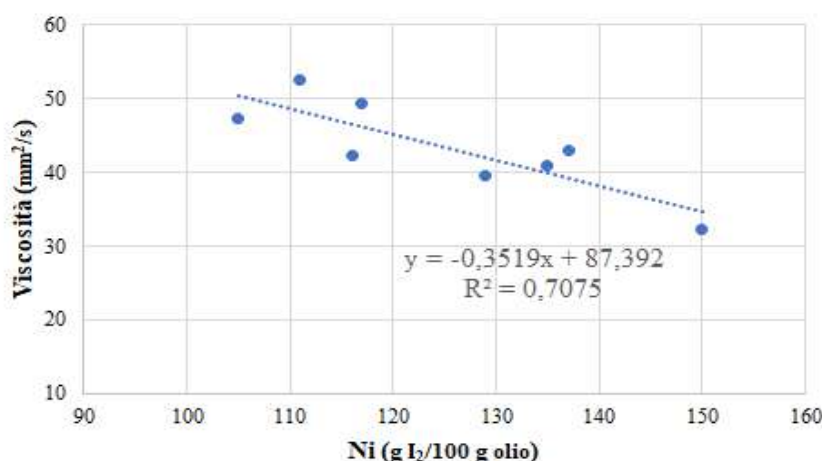
La resa in olio dei campioni è risultata compresa tra il 20,2% (Brassica Linea 4) ed il 43,0% (Brassica Linea 57), probabilmente per motivi legati alla variabilità genetica. Il carciofo, unica specie non oleaginosa tra quelle considerate, ha mostrato comunque una buona resa media intorno al 21%. Per le varietà di canapa e di cartamo sono state ottenute rese in olio molto simili tra loro, con valori medi pari rispettivamente al 29 e 28%. I valori delle rese in olio per le 4 specie considerate sono in linea con quanto riportato in letteratura (ad eccezione della Brassica Linea 4).

La determinazione del numero di perossidi ha evidenziato in tutti gli oli analizzati una buona stabilità ossidativa, compresa tra 2 (carciofo x cardo ICC4) e 5 (Brassica linea 4) meq O<sub>2</sub>/kg. I valori più bassi sono stati comunque riscontrati per l'ibrido carciofo x cardo ICC4 e per la cv. Futura 75 di canapa.

Dalle regolamentazioni tecniche (Toscano e Maldini, 2007), i valori di viscosità cinematica, determinata a 40 °C, richiesti ad un olio vegetale per la sua trasformazione in biodiesel dovrebbero essere preferibilmente inferiori a 38 mm<sup>2</sup>/s o cSt (centiStokes). Quelli riscontrati nei campioni

analizzati nel presente lavoro (a 25°C e 1 atm) sono variati da un minimo di circa 32 mm<sup>2</sup>/s (canapa Uso 31) ad un massimo di circa 53 mm<sup>2</sup>/s (Brassica linea 4) e, rispetto ai dati di letteratura (Bouaid et al., 2005; Toscano e Maldini, 2007), sono confrontabili per *C. cardunculus* mentre sono più bassi per quanto riguarda *B. carinata*. Le differenze sono probabilmente dovute ai diversi genotipi considerati ed alle differenti condizioni pedoclimatiche in cui sono state condotte le prove di coltivazione, rispetto a quanto riportato in letteratura. Valori inferiori a 38 mm<sup>2</sup>/s sono stati riscontrati solo per Canapa Uso 31 (32,3 mm<sup>2</sup>/s) che pertanto risulta interessante per questo parametro. La viscosità è influenzata dalla composizione acidica dei trigliceridi: dati di letteratura (Knothe, 2005; Knothe and Steidley, 2005) mostrano che la viscosità degli oli generalmente tende a diminuire quando aumenta la presenza di doppi legami e cresce con l'aumento della lunghezza della catena idrocarburica degli acidi grassi. I semi della canapa infatti sono caratterizzati da elevate percentuali sia di acido linoleico che linolenico (Tab. 10). Occorre comunque sottolineare che i trattamenti di transesterificazione a cui vengono sottoposti gli oli per la trasformazione in biodiesel riescono a ridurre il valore di viscosità che pertanto, nel nostro caso, non sembra essere molto discriminante nella scelta della specie più idonea. La viscosità più bassa è stata mostrata dalla cv. Uso 31 di canapa che però presenta altri parametri non ottimali, quali numero di iodio e soprattutto acidità.

I risultati ottenuti per il numero di iodio (*Ni*) rientrano nel range di valori 0-140 riportato in regolamentazioni tecniche e da produttori di motori (Toscano e Maldini, 2007), ad eccezione della canapa Uso 31 che ha un valore superiore (150). Un numero di iodio elevato indica un maggior contenuto in acidi grassi insaturi dell'olio vegetale; il valore maggiore rilevato è infatti proprio nel campione di canapa caratterizzato, come già detto, da elevate percentuali sia di acido linoleico che linolenico (Tab. 10). I valori ottimali dovrebbero, comunque, essere compresi tra 100 e 120, in base ai valori fissati da uno specifico standard (pre-norma DIN-51605) per l'olio vegetale di colza ad uso combustibile. Pertanto, entrambi i genotipi di carciofo e di *B. carinata* risultano i più interessanti. Un elevato valore del *Ni*, e quindi di doppi legami, comporta una diminuzione lineare della viscosità (Toscano e Maldini, 2007). Tale correlazione tra viscosità e numero di iodio (*Ni*) è stata osservata anche per gli oli caratterizzati nella nostra attività sperimentale (Fig. 40).



**FIGURA 40: RETTA DI CORRELAZIONE TRA VISCOSITÀ (MISURATA A 25°C E 1 ATM) E NUMERO DI IODIO**

L'acidità è un indice della tendenza dell'olio ad alterarsi e dovrebbe quindi essere più bassa possibile. Inoltre, gli acidi presenti in eccesso possono provocare la corrosione dei metalli e, a

temperature elevate, possono formare con essi dei sali che danneggiano il motore o i serbatoi (Donkor et al., 2016). I valori di acidità degli oli analizzati nel nostro studio sono variati da un minimo di 0,8 (Brassica linea 57) ad un massimo di 15,7 (canapa Futura 75) mg KHO/g olio, risultando più elevati di quelli riportati in letteratura (Toscano e Maldini, 2007) per *C. cardunculus* e confrontabili per *B. carinata*, che mostra i valori più bassi di tale parametro insieme alle linee di cartamo. I nostri dati mostrano infatti che l'olio di carciofo Violetto di Putignano e quello delle due linee di canapa hanno valori superiori al limite richiesto di 5 mg KOH/g; considerando il valore soglia più stringente di 2 mg KOH/g (Toscano e Maldini, 2007), solo i due genotipi di *B. carinata* ed una linea di cartamo mostrano valori di acidità più idonei per la produzione di biodiesel.

In base ai dati di letteratura, la scelta dovrebbe ricadere su un olio caratterizzato da un'alta percentuale di acidi grassi monoinsaturi e una catena di carbonio di media lunghezza. I profili in acidi grassi suggeriscono che cartamo e carciofo siano le più idonee all'impiego come biomasse per biocarburanti, perché permettono di ottenere oli con un'alta stabilità ossidativa e quindi idoneità alla combustione. Le due linee di cartamo e la linea di carciofo ICC4 inoltre hanno mostrato parametri fisico-chimici idonei all'uso come biodiesel, in particolare in termini di acidità, numero di perossidi e viscosità. Il numero di iodio delle linee di cartamo, in particolare la linea 19, pur essendo tra i valori più elevati, rimane comunque al di sotto di 140 g iodio/100 g olio.

## 2.1.7. CONSIDERAZIONI FINALI SUI RISULTATI SPERIMENTALI

L'esigenza di sviluppare fonti energetiche alternative è un'importante priorità per i paesi il cui approvvigionamento energetico dipende fortemente dai combustibili fossili. La domanda di biocarburanti è in crescita e l'Unione Europea, tra l'altro, sta puntando ad uno sviluppo più consona della produzione interna, ad un aumento delle possibilità di importazione sia dei biocarburanti sia delle rispettive materie prime, nonché allo sviluppo della loro praticabilità economica (<https://cordis.europa.eu/article/id/25382-biofuels-for-transport-provide-a-rosy-future-according-to-draft-report/it>). In generale, le fonti energetiche rinnovabili e i biocarburanti in particolare sono al centro delle politiche ambientali comunitarie ([https://www.europarl.europa.eu/ftu/pdf/it/FTU\\_2.4.9.pdf](https://www.europarl.europa.eu/ftu/pdf/it/FTU_2.4.9.pdf)).

Riguardo al settore dei trasporti, l'utilizzo di biocarburanti ottenuti da materie prime rinnovabili quali gli oli vegetali rappresenta una via realisticamente praticabile per ridurre nel breve-medio termine la dipendenza dai combustibili fossili. Le materie prime impiegate per la loro produzione possono derivare dalle colture oleaginose dedicate che, in Italia, sono oggi rappresentate soprattutto da girasole e colza e in minor misura da soia ma sono in corso studi per ampliare la gamma delle possibili specie da utilizzare per tale scopo.

Nell'attività sperimentale svolta nel presente progetto, sono state indagate le caratteristiche agronomiche e chimico-fisiche di quattro specie che ben si adattano alle condizioni climatiche del bacino del Mediterraneo e che si prestano all'introduzione negli ordinamenti colturali. Carciofo, canapa e in minor misura cartamo sono specie che già tradizionalmente vengono coltivate nel territorio nazionale, ma che necessitano di iniziative per la loro valorizzazione nel campo energetico; l'utilizzo e l'introduzione del cavolo d'Abissinia (*B. carinata*) risulta invece innovativo e promettente, essendo tale specie adatta alle condizioni pedo-climatiche delle aree mediterranee con modesto fabbisogno idrico.

Nelle condizioni pedoclimatiche dei siti in cui sono state condotte le prove sperimentali, è stato possibile caratterizzare e selezionare i genotipi più idonei e produttivi in termini di seme per ognuna delle quattro specie considerate; in particolare sono stati individuati come promettenti i genotipi di carciofo Violetto di Putignano e l'ibrido carciofo x cardo ICC4, i genotipi di canapa Futura 75 e Uso 31, due linee di *B. carinata* denominate 4 e 57 e due di cartamo denominate 14 e 19. Di questi genotipi è stata quindi valutata l'idoneità alla produzione in olio per biocombustibili.

Ai fini dell'impiego energetico, uno dei principali parametri che differenzia gli oli vegetali dal gasolio è la loro maggiore viscosità, un importante parametro per il carburante e per l'alimentazione dei motori a iniezione. Un olio vegetale da utilizzare per la produzione di biocombustibile dovrebbe avere valori di viscosità più bassi possibile tali da garantire, anche alle basse temperature estreme dell'alta quota, il corretto funzionamento del motore. Alla riduzione della temperatura infatti la viscosità tende ad aumentare con effetti negativi. Valori elevati di viscosità di un olio vegetale sono inoltre causa di una combustione incompleta e della conseguente formazione di depositi e usura del motore (Knothe and Steidley, 2005; Krisnangkura et al., 2006; Berkhou, 2007). Dalla caratterizzazione chimico-fisica degli oli di semi ottenuti, è emerso che i campioni analizzati hanno mostrato in generale una viscosità medio-alta, che potrebbe comunque essere ridotta durante i processi di trasformazione in biocarburante. Il processo di esterificazione degli oli determina infatti un abbassamento positivo della viscosità a valori analoghi a quelli del gasolio, per effetto della scomposizione delle molecole di trigliceridi in molecole di metilesteri, più piccole e quindi meno viscosi (Peterson et al., 1997). Nella valutazione dell'idoneità di un olio vegetale alla sua trasformazione in biocarburante vanno comunque considerati anche gli altri parametri chimico-fisici.

Considerando i risultati generali della caratterizzazione chimico-fisica, **le due linee di cartamo e l'ibrido carciofo x cardo ICC4** hanno mostrato parametri chimico-fisici maggiormente idonei all'uso come biodiesel.

Concludendo, la produzione di biocarburante dipende direttamente dalle coltivazioni di piante oleaginose che possono crescere con una quantità relativamente ridotta di acqua. Questo significa che possono essere coltivate in terreni semi-aridi, evitando così una forte competizione per la risorsa idrica e al tempo stesso forniscono una materia prima per la produzione di biodiesel. Questi dati ci indicano che ci sono delle piante poco o per nulla indagate in Italia che hanno caratteristiche che le rendono idonee ad essere inserite in programmi di ricerca più ampi per valutarne altre loro caratteristiche e la adattabilità a contesti diversi.

### 2.1.8 PROSPETTIVE DI RICERCA

La ricerca nel settore delle filiere biomassa/processo/tecnologia per la produzione di biojet fuel ha avuto uno sviluppo limitato rispetto ad altri settori della generazione di energia da biomasse tenuto conto che i prodotti ricercati hanno un costo estremamente più elevato dei combustibili fossili anche in virtù della necessità di raggiungere degli standard estremamente stringenti di qualità. La ricerca, sia quella agronomica che quella di processo e tecnologica, deve necessariamente cercare soluzioni che non attengono solo alla componente biologica, chimica ed ingegneristica ma anche ai modelli organizzativi ed agli strumenti di mercato innovativi per favorire il raggiungimento di volumi produttivi elevati capaci di sostenere gli ingenti investimenti richiesti. Non è sufficiente raggiungere risultati nel miglioramento genetico o nei rendimenti di conversione dei processi ma devono essere

messi a sistema i molteplici passaggi della filiera creando valore per i diversi attori. L'uso integrale della biomassa di una coltura e l'impiego di biotecnologie avanzate sembrano le strade più interessanti per dare risposta alle richieste dell'aeronautica circa prezzi, qualità e sicurezza dei biocombustibili richiesti ma nel seguire tali strade giocano un ruolo fattori quali: gli usi alternativi della biomassa prodotta, la remunerazione dei produttori, la scala dei processi ed il sistema normativo e incentivante disponibile.

Le ricerche svolte hanno esplorato quattro colture tra le meno indagate in Italia per la produzione di biomasse per energia e si sono evidenziate alcune opportunità interessanti che necessitano di ulteriori approfondimenti. La produzione di feedstock a basso costo ed in grandi quantità rimane il problema prioritario ma questo assume un diverso peso nel momento in cui vi sono ulteriori elementi di valore alimentare e non per altri prodotti della medesima coltura. Esplorare il *global harvest index* delle colture appare la strada migliore per rispondere alla sfida di produrre *raw materials* per dare una base solida alle ambizioni della strategia europea per la bioeconomia.

### 2.1.9. CONCLUSIONI

La produzione di energia dalle biomasse può dare un contributo al miglioramento delle emergenze ambientali del nostro Paese, e dell'Europa in genere, e favorire lo sviluppo di un'agricoltura concretamente multifunzionale ovvero che oltre a fornire alimenti, possa anche fornire risorse (scarti agricoli, residui dell'industria agroalimentare, reflui agro-zootecnici, ecc.) per attivare filiere alternative per la produzione di energia e/o per la protezione e la tutela ambientale. Una agricoltura multifunzionale può, quindi, fornire un contributo strategico alla riconversione ecologica di molte filiere produttive e contribuire ad una maggiore autonomia da un'economia basata sul petrolio.

L'utilizzo della biomassa come fonte rinnovabile può essere realizzato nell'ambito di due sistemi: quello in cui si recupera materia prima vegetale residuale (manutenzione forestale, residui agricoli, industria del legno, industria agro-alimentare), e quello in cui la materia prima vegetale deve essere prodotta tramite apposite coltivazioni energetiche prima di essere raccolta, trasformata ed impiegata. Le biomasse residuali sono una risorsa preziosa su cui far affidamento per la produzione di energia, potendo contare su ingenti quantitativi annui potenzialmente disponibili. Lo studio condotto nell'ambito del "Progetto biomasse ENAMA" finanziato dal MiPAAF, ha esaminato il potenziale di alcune tipologie di biomasse, stimando che a livello nazionale se ne producono all'incirca 30 milioni di tonnellate annue, corrispondenti a circa 10 milioni di tonnellate equivalenti di petrolio.

Le colture dedicate incidono in modo limitato sul "consumo" di suolo agricolo (ad oggi queste non superano l'1% della SAU). Allo stato attuale, infatti, le produzioni di biomassa vegetale a finalità energetica interessano meno di 150.000 ettari, destinate alle diverse filiere dei biocombustibili (solidi, liquidi e gassosi). Occorre quindi valutare attentamente gli effettivi rischi di competizione tra le colture a destinazione alimentare (*food*), mangimistica (*feed*) e alla produzione di fibre tessili (*fiber*) e materiali rispetto a quelle a destinazione energetica (*fuel*).

Una corretta pianificazione per lo sviluppo delle filiere bioenergetiche dovrà assicurare una equa distribuzione di tali colture su tutto il territorio nazionale, puntando in particolar modo su avvicendamenti colturali o sulla ripresa produttiva di terreni a riposo o a rischio di

marginalizzazione. In tale ottica è possibile immaginare uno scenario di medio termine dell'ordine del milione di ettari, con un impatto rilevante sull'intero sistema socio-economico nazionale e sensibili benefici ambientali in quanto la diffusione di queste coltivazioni, anche in zone attualmente improduttive, contribuisce alla protezione del suolo dall'erosione e dal dissesto, nonché alla conservazione delle risorse idriche. Va rilevato, infine, che l'utilizzo in impianti energetici di colture dedicate e, più in generale, di biomasse "prodotto" comporta elevati costi del combustibile che pesano spesso in maniera determinante sui costi di generazione, rendendo quindi gli impianti dipendenti dall'erogazione di incentivi al funzionamento. D'altronde la SEN prevede un progressivo ingresso delle fonti rinnovabili nel mercato energetico e una graduale riduzione degli incentivi tariffari che accompagni tali fonti verso il raggiungimento della c.d. "grid-parity". Tenendo conto di tali premesse, andrà privilegiato l'utilizzo energetico di biomasse residuali (sottoprodotti e rifiuti). Il modello di sviluppo delle filiere agro-energetiche si basa sulla stretta interazione tra la produzione e la sua valorizzazione energetica e, in tale ottica, l'impresa agricola può esplicitare le sue potenzialità valorizzando le caratteristiche ambientali e sociali presenti a livello locale.

## BIBLIOGRAFIA

- Alam A., Dwivedi P. 2019. Modelling site suitability and production potential of carinata-based sustainable jet fuel in the south eastern United States. *Journal of Cleaner Production* 239, 117817.
- Anjum N.A., Ahmad I., Pereira M.E., Duarte A.C., Umar S., Khan N.A., 2012. The plant Family Brassicaceae: Contribution towards Phytoremediation. Springer Science & Business Media.
- Arslam B., 2007. The determination of oil content and fatty acid composition of domestic and exotic safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes and their interactions. *Journal of Agronomy*, 6 (3): 415-420.
- Basili M., Rossi A. (2018). *Brassica carinata*-derived biodiesel production: economics, sustainability and policies. The Italian case. *Journal of Cleaner Production* 191: 40-44
- Börjesson, P., Tufvesson, L. M. 2011. Agricultural crop-based biofuels - resource efficiency and environmental performance including direct land use changes. *J Cleaner Prod*, 19(2-3): 108-120.
- Berkhous S.K. 2007. Thermal oxidative stability of coal-based jp-900 jet fuel: impact on selected physical properties. PhD dissertation, The Pennsylvania State University.
- Bouaid A., Diaz Y., Martinez M., Aracil J. 2005. Pilot plant studies of biodiesel production using *Brassica carinata* as raw material. *Catalysis Today* 106: 193-196.
- Campanini I., Fumagalli S., Stoppani I., Trenti S. 2018. La Bioeconomia in Europa. 4° Rapporto, Direzione Studi e Ricerche Intesa San Paolo.
- Cardone M., Mazzoncini M., Menini S., Rocco V., Senatore A., Seggiani M., Vitolo S. (2003). *Brassica carinata* as an alternative oil crop for the production of biodiesel in Italy: Agronomic evaluation, fuel production by transesterification and characterization. *Biomass and Bioenergy* 25(6): 623-636
- Ciancolini A., Alignan M., Miquel J., Vilarem G., Pagnotta M.A., Crinò P. 2013. Biomass and biocompound production for valorizing Italian spring globe artichoke genotypes. *Acta Horticulturae* 983, pp. 55-62.
- Del Gatto A. e Di Candilo M. 2012. Colture per la filiera biodiesel. Potenzialità produttive in vari ambienti italiani. In: Progetti di Ricerca SUSCAVE e FAESI. Recenti acquisizioni scientifiche per le colture e energetiche. Suppl. n. 2 a SHERWOOD – Foreste e Alberi Oggi n. 183 Anno 18 n. 14 maggio 2012 – ISSN 1590-7805. pp. 31-37.
- Deferne, J. L., Pate, D. W. 1996. Hemp seed oil: a source of valuable essential fatty acids. *Journal International Hemp Association*, 3: 4-7.

- Donkor A., Nyarko S., Asemanni K.O., Bonzongo J.C., Kyeremeh K., Ziwu C. 2016. A novel approach for reduction of total acidity in kerosene based on alkaline rich materials readily available in tropical and sub-tropical countries. *Egyptian Journal of Petroleum*, 25(4), 473-480.
- Genetic A., Rakow, G. And Downey, R.K. 1996. Agronomic performance and seed quality of Ethiopian mustard in Saskatchewan. *Can J Plant Sci*, 76: 387-392.
- Hassanein M.M.M., El-Shami S.M., El-Mallah M.H. (2001). Investigation of lipids profile of nigella, lupin and artichoke seed oil. *J. oleo Sci.* 60 (3): 99-107.
- Hossain Z., Johnson E.N., Wang Li, Blackshaw R.E., Cutforth H., Gan Y. 2019. Plant establishment, yield and yield components of Brassicaceae oilseeds as potential biofuel feedstock. *Industrial Crops and Products* 141, 111800.
- Ierna A., Mauromicale G. 2010. *Cynara cardunculus* L. genotypes as a crop for energy purposes in a Mediterranean environment. *Biomass and bioenergy* 34 (5), 754-760
- Kniphoff de Oliveira C.V., Ferreira Santos R., Cruz Siqueira J. A. Aparecido Bariccatti R., Barchinski Galant Lenz N., Salmazo Cruz G., Kazue Tokura L., Fernandes Klajn F. 2018. Chemical characterization of oil and biodiesel from four safflower genotypes. *Industrial Crops & Products* 123, 192-196.
- Knothe G. 2005. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. *Fuel Processing Technology* 86, 1059-1070.
- Knothe G., Steidley K.R. 2005. Kinematic viscosity of biodiesel fuel components and related compounds. Influence of compound structure and comparison to petrodiesel fuel components. *Fuel*, 84, 1059-1065.
- Kreuger, E., Sipos, B., Zacchi, G., Svensson, S.-E., Bjornsson, L. 2011. Bioconversion of industrial hemp to ethanol and methane: the benefits of steam pretreatment and co-production. *Bioresource Technology*, 102: 3457-65.
- Kriese, U., Schumann, E., Weber, W.E., Beyer, M., Brühl, L., Matthäus, B. 2004. Oil content, tocopherol composition and fatty acid patterns of the seeds of *Cannabis sativa* L. genotypes. *Euphytica*, 137: 339–51.
- Krisnangkura K., Yimsuwan T., Pairintra R. 2006. An empirical approach in predicting biodiesel viscosity at various temperatures. *Fuel*, 85, 107-113
- Li, S-Y, Stuart, J.D., Li, Y., Parnas, R.S. 2010. The feasibility of converting *Cannabis sativa* L. oil into biodiesel. *Bioresource Technology*, 101: 8457–60.
- Ma, F., Hanna, M.A. 1999. Biodiesel production: a review. *Bioresource Technology*, 70:1–15.
- Mauromicale G., Sortino O., Pesce G. R., Agnello M., Mauro R. P., 2014. Suitability of cultivated and wild cardoon as a sustainable bioenergy crop for low input cultivation in low quality Mediterranean soils. *Industrial Crops and Products* 57, pp. 82–89.

- Mauromicale G. e Ierna A. 2004. Biomass and grain yield in *Cynara cardunculus* L. genotypes grown in a permanent crop with low input. *Acta Horticulturae* 660, pp. 593-598
- Meher, L.C., Sagar, D., Naik, S.N. 2006. Technical aspects of biodiesel production by transesterification—a review. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 10: 248–68.
- Nouraei S., Rahimmalek M., Saeidi G., Bahreininejad B., 2016. Variation in Seed Oil Content and Fatty Acid Composition of Globe Artichoke Under Different Irrigation Regimes. *Journal of the American Oil Chemist's Society* 93, pp. 953-962.
- Pappalardo, Helena & Toscano, Valeria & Puglia, Giuseppe & Genovese, Claudia & Raccuia, Salvatore. (2020). *Cynara cardunculus* L. as a Multipurpose Crop for Plant Secondary Metabolites Production in Marginal Stressed Lands. *Frontiers in Plant Science*. 11. 10.3389/fpls.2020.00240.
- Pesce R.G., Fernandes M., Mauromicale G. 2020. Globe artichoke crop residues and their potential for bioethanol production by dilute acid hydrolysis. *Biomass and Bioenergy* 134, 105471.
- Peterson C.L., Reece D.L., Hammond B.L., Thompson J., Beck S.M. 1997. Processing, characterization, and performance of eight fuels from lipids. *Applied Engineering in Agriculture*. 13(1): 71-79. doi: 10.13031/2013.21578 www.asabe.org
- Phippen W.B., Isbell T.A., Phippen M.E. 2006. Total seed oil and fatty acid methyl ester contents of *Cuphea* accessions. *Industrial Crops and Products*, 24: 52–59.
- Pignone D., Sonnante G. 2009. Origine ed evoluzione. In: *Il Carciofo e il Cardo*. Collana Coltura & Cultura Bayer Crop Science, pp. 2-11.
- Prade, T., Svensson, S.-E., Andersson, A., Mattsson, J.E. 2011. Biomass and energy yield of industrial hemp grown for biogas and solid fuel. *Biomass and Bioenergy*, 35: 3040-9.
- Raccuia, S.A., Melilli, M.G., Calderaro, P., Scandurra, S. 2013. Globe artichoke genetic variability for residual biomass production as renewable resources of energy in South Italy. *Acta Horticulturae* 983, pp. 129-132.
- Stamigna C., Chiaretti D., Chiaretti E., Proisini P.P., 2012. Oil and furfural recovery from *Brassica carinata*. *Biomass and Bioenergy* 39: 478-483.
- Thakur AK., Singh K,H, Sharma D., Parmar N., Nanjundan J., 2019. Breeding and genomic interventions in Ethiopian mustard (*Brassica carinata* A. Braun) improvement – A mini review (Short Survey). *South African Journal of Botany* 125, 457-465.
- Toscano G., Maldini E. 2007. Analysis of the Physical and Chemical Characteristics of Vegetable Oils as Fuel. *J. of Ag. Eng. - Riv. di Ing. Agr.*, 3, 39-47.
- Warwick S. I., Gugel, R. K. McDonal, T. and Falk K. C. 2006. Genetic variation of Ethiopian mustard (*Brassica carinata* A. Braun) germoplasm in western Canada. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53: 297-312.



Agenzia nazionale per le nuove tecnologie,  
l'energia e lo sviluppo economico sostenibile

Zhang, Y., Dubè M. A., McLean, D.D., Kates, M. 2003. Biodiesel production from waste cooking oil: 1. Process design and technological assessment. *Bioresource Technology* 90 (3), pp. 229-240.

## **RIFERIMENTI NORMATIVI E STATISTICHE**

Direttiva 2009/28/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 23 aprile 2009 , sulla promozione dell'uso dell'energia da fonti rinnovabili, recante modifica e successiva abrogazione delle direttive 2001/77/CE e 2003/30/CE

GSE 2017: Rapporto Statistico 2017: fonti rinnovabili. GSE Dicembre 2018

GSE 2018: Rapporto Statistico 2018: Fonti rinnovabili. GSE 2019

## **2.2 STUDI DI LIFE CYCLE ASSESSMENT (LCA), CARBON FOOTPRINT E WATER FOOTPRINT DI UN BIOCOMBUSTIBILE PER AVIAZIONE**

### **2.2.1 INTRODUZIONE**

Il presente lavoro si propone di effettuare studi di Life Cycle Assessment (LCA), Carbon Footprint e Water Footprint, relativa al processo di produzione di un biocombustibile per aviazione, per valutarne gli impatti ambientali, gli impatti sui gas climalteranti e relativi all'uso della risorsa idrica nel ciclo di vita. L'analisi degli impatti sarà condotta mediante la metodologia LCA, in accordo con gli standard ISO 14040 e ISO 14044. Gli studi sono stati condotti con il software SimaPro. Tutti gli studi sono da intendersi from Cradle to Gate, in quanto non sarà considerata la fase di uso del biocarburante (fase di volo). Saranno quindi analizzate le fasi di produzione della biomassa, di estrazione e raffinazione dell'olio e quelle relative ai processi di bioraffineria dove l'olio raffinato viene trasformato in vari prodotti tra cui il biocarburante per aviazione. Gli studi sono inseriti all'interno dell'accordo di cooperazione stipulato tra Ministero dell'ambiente e della tutela del territorio e del mare (MATTM), il Consiglio nazionale delle ricerche (CNR), l'Agenzia nazionale per le nuove tecnologie, l'energia e lo sviluppo economico sostenibile (ENEA) e Ministero della Difesa.

### **2.2.2 APPROCCIO METODOLOGICO**

Lo studio viene effettuato adottando lo stato dell'arte delle metodologie LCA, Carbon Footprint e Water Footprint, in accordo con i seguenti standard e linee guida:

- UNI EN ISO 14040: 2006
- UNI EN ISO 14044: 2006

La quantificazione degli impatti ambientali secondo gli indicatori significativi rispetto al prodotto studiato (potenziale di riscaldamento globale, eutrofizzazione, acidificazione, consumo di risorse, ecc.), dell'impronta di carbonio e dell'impronta idrica, con l'analisi dei contributi delle singole fasi, è effettuata con il supporto del software SimaPro.

Gli anni di riferimento adottati per lo studio sono il 2018 e il primo semestre del 2019.

### **2.2.3 DEFINIZIONE DELL'OBIETTIVO E CAMPI DI APPLICAZIONE DELLO STUDIO**

#### **obiettivo dello studio**

L'obiettivo principale di questo studio è quello di valutare gli impatti ambientali, l'impronta di carbonio e l'impronta idrica derivanti dalla produzione di biocarburante per aviotrazione. I risultati ottenuti permetteranno di fornire indicazioni su quale fase del ciclo di vita sia la più impattante, al fine di valutare possibili azioni di miglioramento.

## ambito dello studio: descrizione del sistema

Il biocombustibile viene prodotto a partire da olio di palma (70%), oli usati derivanti da pratiche di cottura (15-20%), residui della lavorazione dell'olio di palma, più una piccola parte di grassi animali ed altre biomasse.

Il processo di produzione del biocombustibile si articola in tre step:

- Hydrotreating (idroconversione)
- Hydro-isomerization (idroisomerizzazione)

Il processo di idroconversione degli oli vegetali consiste nel far reagire i trigliceridi ad alte temperature e pressioni (260-400°C a 35-70 bar), per ottenere n-paraffine, propano, , CO<sub>2</sub>, acqua.

Il processo lavora in eccesso di idrogeno, per il quale è previsto riciclo.

Entrando più nel dettaglio, l'hydrotreating è caratterizzato da più step reattivi in sequenza:

- rottura della dorsale del trigliceride in presenza di idrogeno con produzione di propano (originato dallo scheletro di glicerolo) e di tre molecole di acidi grassi;
- Idrogenazione degli acidi grassi insaturi;
- Rimozione dell'ossigeno che può avvenire mediante tre diverse reazioni: idrodeossigenazione (HDO), decarbossilazione (HDCx), decarbonilazione (HDCn). La reazione ideale è l'idrodeossigenazione, in quanto, dallo stesso trigliceride, si producono idrocarburi con un atomo di carbonio in più (stesso numero rispetto all'acido grasso di partenza), che nel caso degli altri due meccanismi va a costituire un ossido di carbonio (CO, CO<sub>2</sub>) che ha scarso valore come co-prodotto ma soprattutto è difficile da separare.

Questa reazione è favorita ad alte pressioni di idrogeno.

Per incontrare le specifiche del carburante avio, il biocarburante prodotto non solo deve avere un alto flash point ma anche buone proprietà di scorrimento a freddo. Motivo per cui sono richiesti processi aggiuntivi, quali l'idroisomerizzazione e l'idrocracking.

L'idroisomerizzazione, processo di isomerizzazione in presenza di idrogeno, trasforma gli idrocarburi a catena lineari in idrocarburi a struttura ramificata migliorandone le proprietà a freddo alle elevate temperature del processo avviene anche la reazione di idrocracking, che comporta la rottura delle molecole più pesanti con produzione di liquidi più leggeri (mediante riduzione della lunghezza delle catene di atomi di carbonio aumentando la resa in biocombustibile per aviazione), oltre a prodotti gassosi.

In uscita dallo stadio di reazione si avrà una fase di frazionamento per separare i prodotti ottenuti: gas leggeri (idrocarburi da C<sub>1</sub> a C<sub>4</sub> incluso il propano prodotto dalla rottura della dorsale del trigliceride e CO<sub>2</sub>), nafta (da C<sub>5</sub> a C<sub>8</sub>), cherosene paraffinico di sintesi con catene di atomi di carbonio da C<sub>9</sub> a C<sub>15</sub>, diesel rinnovabile (da C<sub>16</sub> a C<sub>22</sub>).

Occorre fare attenzione a non effettuare un cracking eccessivo che ridurrebbe la resa in biocombustibile per aviazione, aumentando la resa di gas più leggeri e di nafta.

La resa in biocombustibile per aviazione sarà inoltre influenzata dalla scelta dei catalizzatori utilizzati nelle varie fasi. Nell'hydrotreating si usano catalizzatori bifunzionali, quali solfuri di NiMo o CoMo supportati su  $\gamma$ -allumina, catalizzatori metallici. Nel caso in esame si usano catalizzatori di tipo Ni-Mo (nichel-molibdeno). Per l'isomerizzazione si usano catalizzatori bifunzionali contenenti siti acidi e metallici, quali quelli Platino-Palladio. Per pretrattare il catalizzatore del primo stadio con

zolfo nella fase di primo startup dell'impianto (o comunque a valle di ogni sostituzione del catalizzatore con nuovo), si usa Di-metil-di-solfuro. E' previsto l'utilizzo del Di-metil-di-solfuro anche nel corso della marcia normale per evitare la disattivazione del catalizzatore.

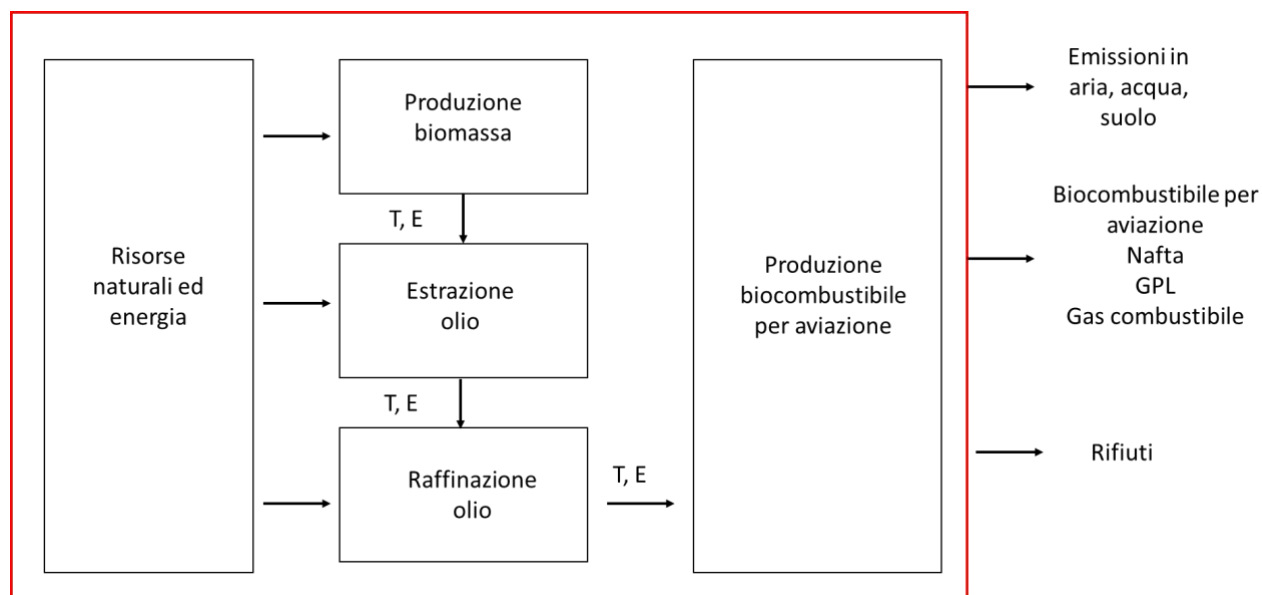
## unità funzionale

L'unità funzionale è 100 kg di biocombustibile per aviazione prodotto. Nello studio è stato applicato un approccio attribuzionale in accordo con l'obiettivo dello studio. Il flusso di riferimento, nel caso del biocombustibile per aviazione coincide con l'unità funzionale.

## confini del sistema

In Figura 1 sono illustrati i confini del sistema della produzione di biocombustibile per aviazione.

**FIGURA 1: CONFINI DEL SISTEMA**



## cut-offs

Non sono stati applicati cut-off.

## definizione dell'ambito per la fase di valutazione degli impatti ambientali

Per la fase di valutazione degli impatti dello studio LCA, si sono utilizzate gli indicatori di categoria di impatto del metodo Environmental Footprint 2.0, disponibili nel software SimaPro 9.0.0.48 (Fazio et al., 2018). La Tabella 1 include la lista delle categorie di impatto e i relativi metodi di valutazione.

Per quanto riguarda la valutazione degli impatti relativi ai gas climalteranti (Carbon Footprint), si è utilizzato il potenziale di riscaldamento globale che utilizza i fattori di caratterizzazione sviluppati dall'IPPC (Intergovernmental Panel on Climate Change) nel 2013, per un orizzonte temporale di 100 anni (GWP100) in kg CO<sub>2</sub> equivalenti.

Per quanto riguarda la Water Footprint, si è utilizzato il metodo di valutazione degli impatti AWARE v1.02, raccomandato da UNEP e dal Joint Research Centre della Commissione Europea (Boulay et al., 2018).

Al fine di agevolare l'analisi dei risultati e la loro comunicazione, i risultati sono stati normalizzati, ossia divisi per un "valore di riferimento" che viene di norma rappresentato da dati medi su scala europea (ad esempio le emissioni di un cittadino medio europeo, o di una data area geografica), riferiti ad un determinato intervallo di tempo relativi alla categoria stessa presa in esame.

Le norme ISO riportano infatti la definizione della normalizzazione come "calcolo dell'entità dei risultati di indicatore di categoria in rapporto all'informazione di riferimento".

Attraverso la normalizzazione si può quindi esprimere l'entità dell'impatto ambientale del sistema studiato rispetto a quello di riferimento. Il metodo di normalizzazione prescelto è Environmental Footprint 2.0, disponibile nel software SimaPro 9.0.0.48.

**TABELLA 1. LISTA DELLE CATEGORIE DI IMPATTO E RELATIVI METODI PER LA VALUTAZIONE DEGLI IMPATTI.**

IMPACT CATEGORY	EU CLASS	UNIT	SOURCE
Climate change	I	kg CO <sub>2</sub> eq.	IPPC 2013
Ozone depletion	I	kg CFC-11 eq.	WMO 1999
Human toxicity – Cancer effects	II/III	CTUh	USEtox (Rosenbaum et al., 2008)
Human toxicity – Non-cancer effects	II/III	CTUh	USEtox (Rosenbaum et al., 2008)
Particulate matter	I	kg PM2.5 eq.	UNEP (2016)
Ionizing radiation – Human Health	II	kBq U <sup>235</sup> eq.	Frischknecht et al. (2000)
Photochemical ozone formation	II	kg NMVOC	Van Zelm et al. (2008)
Acidification	II	Mol H <sup>+</sup> eq.	Seppala et al 2006, Posch et al (2008)
Eutrophication terrestrial	II	Mol N eq.	Seppala et al.2006, Posch et al 2008
Eutrophication freshwater	II	kg P eq.	ReCiPe2008
Eutrophication marine	II	kg N eq.	ReCiPe2008
Ecotoxicity freshwater	II/III	CTUe	USEtox (Rosenbaum et al., 2008)
Land use	III	Pt.	LANCA (Beck et al. 2010 e Bos et al. 2016)
Water scarcity	III	m <sup>3</sup> depriv.	Swiss Ecoscarcity 2006
Resource use, minerals and metals	II	Kg Sb eq.	CML Guinée et al. (2002) and van Oers et al. (2002)
Resource depletion – energy carriers	II	MJ	CML Guinée et al. (2002) and van Oers et al. (2002)

## 2.2.4 ANALISI DI INVENTARIO

La raccolta dati è stata effettuata utilizzando le seguenti modalità:

- Specifiche schede di raccolta dati elaborate per tutte le fasi del processo produttivo.
- Riunioni telefoniche ed email con esperti di biocombustibile.

Le schede utilizzate per la raccolta sono disponibili in Allegato A.

I dati utilizzati non sono specifici per la produzione di biocombustibile per aviazione ma si riferiscono ad un bio-combustibile generico. Non essendo disponibili dati specifici si è utilizzato questo tipo di processo come proxy del processo reale.

Per quanto riguarda i dati secondari, la lista completa dei datasets utilizzati e relativa fonte viene riportata in Allegato B.

Il sistema è stato modellizzato prendendo come anno di riferimento il 2018 e il primo semestre del 2019, ed effettuando poi una media semestrale dei dati raccolti, sempre riferita a 100 kg di biocombustibile generico. In Tabella 2 sono illustrati i dati raccolti relativi alla produzione di biocombustibile generico. La biomassa in input è costituita da olio di palma (70%) e olio di cucina usato più una piccola parte di grasso animale e di residui della lavorazione dell'olio di palma. (30%). Il gas combustibile prodotto viene riutilizzato all'interno dell'impianto.

**TABELLA 2: DATI RACCOLTI RELATIVAMENTE ALLA PRODUZIONE DI BIOCOMBUSTIBILE.**

<b>Materie prime</b>		<b>1° semestre 2018</b>	<b>2° semestre 2018</b>	<b>1° semestre 2019</b>
Biomassa	kg	138.10	138.76	136.47
Idrogeno	kg	5.32	5.05	5.06
Catalizzatore	kg	0.07	0.07	0.07
Di-metil-di-solfuro	kg	0.19	0.17	0.16

<b>Consumi di energia/acqua</b>				
Elettricità	kWh	12.67	9.43	9.55
Gas combustibile	kg	3.35	2.52	2.97
Acqua di raffreddamento	litri	4249.7	2972.3	3366.7
Vapore a media pressione	kg	26.20	13.65	15.04

<b>Co-Prodotti</b>				
Gas combustibile	kg	2.47	2.00	1.94
GPL	kg	5.39	7.14	6.96
Nafta	kg	19.42	18.15	15.76

<b>Rifiuti</b>				
Acqua	kg	15.04	14.55	13.39
Catalizzatori usati	kg	0.07	0.07	0.07

<b>Prodotti</b>				

Biocombustibile per aviazione	kg	100.00	100.00	100.00
-------------------------------	----	--------	--------	--------

## valutazione della qualità dei dati

Nello studio si sono utilizzati dati primari forniti da esperti di produzione di biocombustibili, e sono riferiti agli anni 2018 e 2019. Tali dati sono riferiti a condizioni geografiche e tecnologiche specifiche del sistema oggetto dello studio. Per i dati di background si è utilizzato il database Ecoinvent v3.5 ([www.ecoinvent.org](http://www.ecoinvent.org)).

## gestione della multifunzionalità

Dal processo di produzione del biocombustibile per aviazione si producono:

- Biocombustibile per aviazione, con potere calorifico inferiore pari a 44 MJ/kg.
- Gas combustibile, con potere calorifico inferiore pari a 48,1 MJ/kg.
- GPL con potere, calorifico inferiore pari a 46,4 MJ/kg.
- Nafta con potere, calorifico inferiore pari a 45 MJ/kg.

I poteri calorifici sono stati forniti da un esperto di produzione di biocombustibile.

È stata effettuata un'allocazione energetica secondo il potere calorifico inferiore di ogni co-prodotto.

## assunzioni

Durante la fase di modellizzazione dell'inventario sono state effettuate le seguenti assunzioni

- Poiché la produzione del catalizzatore a base di nichel-molibdeno non è disponibile nella banca dati di Ecoinvent, si è utilizzata zeolite come proxy, come indicato in Amin (2019), in quanto questo materiale è utilizzato come catalizzatore per il biodiesel FAME (Fatty Acid Methyl Ester).
- Poiché il gas combustibile prodotto viene riutilizzato all'interno dell'impianto, si è considerato che la quantità di gas naturale acquistato sia pari alla differenza tra il consumo e l'autoproduzione.
- 

### 2.2.5 VALUTAZIONE DEGLI IMPATTI E INTERPRETAZIONE

La fase di valutazione degli impatti ambientali consiste nella classificazione e caratterizzazione delle emissioni di inquinanti calcolate nella fase di analisi di inventario come previsto dalla ISO 14044.

In accordo con quanto definito nei campi dall'applicazione dello studio, la valutazione degli impatti degli studi LCA, Carbon Footprint e Water Footprint è stata eseguita rispetto alle categorie d'impatto e relativi modelli di caratterizzazione raccomandati.

Ai fini dell'interpretazione, i risultati dello studio LCA sono stati anche normalizzati.

## **classificazione e caratterizzazione**

La Tabella 3 mostra i risultati di caratterizzazione dello studio LCA relativo alla produzione di 100 kg di biocombustibile. La produzione e il trattamento della biomassa per ottenere l'olio e gli altri grassi utilizzati in input al processo produttivo sono le fasi con i maggiori impatti ambientali: esse infatti contribuiscono da un minimo del 64% nella categoria Ionising radiation ad un massimo del 99,6% in Land use. La produzione di idrogeno contribuisce dal 0,1% in Land use fino a circa il 16% in Resource use, energy carriers. Il contributo del consumo di elettricità varia dal 0,2% in Land use e Resource use, mineral and metals al 24% in Ionising radiation, mentre la produzione di vapore ha un contributo pari al 5% in Ozone depletion. Tutte le altre fasi presentano contributi nulli o trascurabili.

La Tabella 4 include i risultati di caratterizzazione dello studio di Carbon Footprint relativo alla produzione di 100 kg di biocombustibile. La produzione e il trattamento della biomassa per ottenere l'olio e gli altri grassi utilizzati in input al processo produttivo sono le fasi con i maggiori impatti ambientali: esse infatti contribuiscono alla produzione di gas climalteranti per una percentuale pari al 93,2%. La produzione di idrogeno contribuisce per il 3,4% ai risultati della Carbon Footprint, mentre il contributo del consumo di elettricità e del vapore sono pari all'1,4% e all'1,3%, rispettivamente. Tutte le altre fasi presentano contributi nulli o trascurabili.

La Tabella 5 include i risultati di caratterizzazione dello studio di Water Footprint relativo alla produzione di 100 kg di biocombustibile. La produzione e il trattamento della biomassa per ottenere l'olio e gli altri grassi utilizzati in input al processo produttivo sono le fasi con i maggiori impatti ambientali: esse infatti contribuiscono agli impatti ambientali relativi all'uso delle risorse idriche per una percentuale pari al 97,9%. La produzione di idrogeno contribuisce per il 1,8% ai risultati della Water Footprint, tutte le altre fasi presentano contributi nulli o trascurabili.

**TABELLA 3: RISULTATI DI CARATTERIZZAZIONE RELATIVI ALLO STUDIO LCA DELLA PRODUZIONE DI 100 KG DI BIOCOMBUSTIBILE.**

<b>Categoria d'impatto</b>	<b>Biomassa</b>	<b>Idrogeno</b>	<b>DMDS</b>	<b>Catalizzatore</b>	<b>Gas naturale</b>	<b>Elettricità</b>	<b>Vapore</b>	<b>Acque reflue</b>	<b>Catalizzatore esausto</b>
<b>Climate change (kg CO2 eq.)</b>	93.2%	3.4%	0.1%	0.1%	0.3%	1.4%	1.5%	0.0%	0.0%
<b>Ozone depletion (kg CFC11 eq.)</b>	73.4%	14.8%	0.6%	0.7%	2.4%	2.8%	5.1%	0.0%	0.0%
<b>Ionising radiation, HH (kgBq U-235 eq)</b>	64.0%	8.3%	0.3%	0.3%	0.7%	24.4%	2.0%	0.0%	0.0%
<b>Photochemical ozone formation, HH (kg NMVOC eq)</b>	93.7%	3.5%	0.1%	0.1%	0.4%	1.3%	1.0%	0.0%	0.0%
<b>Acidification terrestrial and freshwater (mol H+ eq)</b>	93.4%	2.5%	0.1%	0.2%	0.3%	2.3%	1.2%	0.0%	0.0%
<b>Eutrophication freshwater (kg P eq)</b>	83.9%	4.2%	0.2%	0.4%	0.5%	9.6%	1.1%	0.0%	0.0%
<b>Eutrophication marine (kg N eq)</b>	99.0%	0.5%	0.0%	0.0%	0.0%	0.3%	0.2%	0.0%	0.0%
<b>Eutrophication terrestrial (mol N eq)</b>	96.1%	1.6%	0.0%	0.1%	0.1%	1.5%	0.5%	0.0%	0.0%
<b>Land use (Pt)</b>	99.6%	0.1%	0.0%	0.0%	0.0%	0.2%	0.1%	0.0%	0.0%
<b>Water scarcity (m<sup>3</sup> depriv.)</b>	98.2%	1.6%	0.0%	0.0%	0.0%	0.2%	0.0%	0.0%	0.0%
<b>Resource use, energy carriers (MJ)</b>	74.5%	15.8%	0.5%	0.2%	1.9%	4.1%	3.0%	0.0%	0.0%
<b>Resource use, mineral and metals (kg Sb eq.)</b>	97.4%	1.8%	0.2%	0.3%	0.0%	0.2%	0.0%	0.0%	0.0%

**TABELLA 4: RISULTATI DI CARATTERIZZAZIONE RELATIVI ALLO STUDIO DI CARBON FOOTPRINT DELLA PRODUZIONE DI 100 KG DI BIOCOMBUSTIBILE.**

<b>Categoria d'impatto</b>	<b>Biomassa</b>	<b>Idrogeno</b>	<b>DMDS</b>	<b>Catalizzatore</b>	<b>Gas naturale</b>	<b>Elettricità</b>	<b>Vapore</b>	<b>Acque reflue</b>	<b>Catalizzatore esausto</b>
<b>Climate change (kg CO2 eq.)</b>	93.2%	3.4%	0.1%	0.1%	0.3%	1.4%	1.5%	0.0%	0.0%

**TABELLA 5: RISULTATI DI CARATTERIZZAZIONE RELATIVI ALLO STUDIO DI WATER FOOTPRINT DELLA PRODUZIONE DI 100 KG DI BIOCOMBUSTIBILE.**

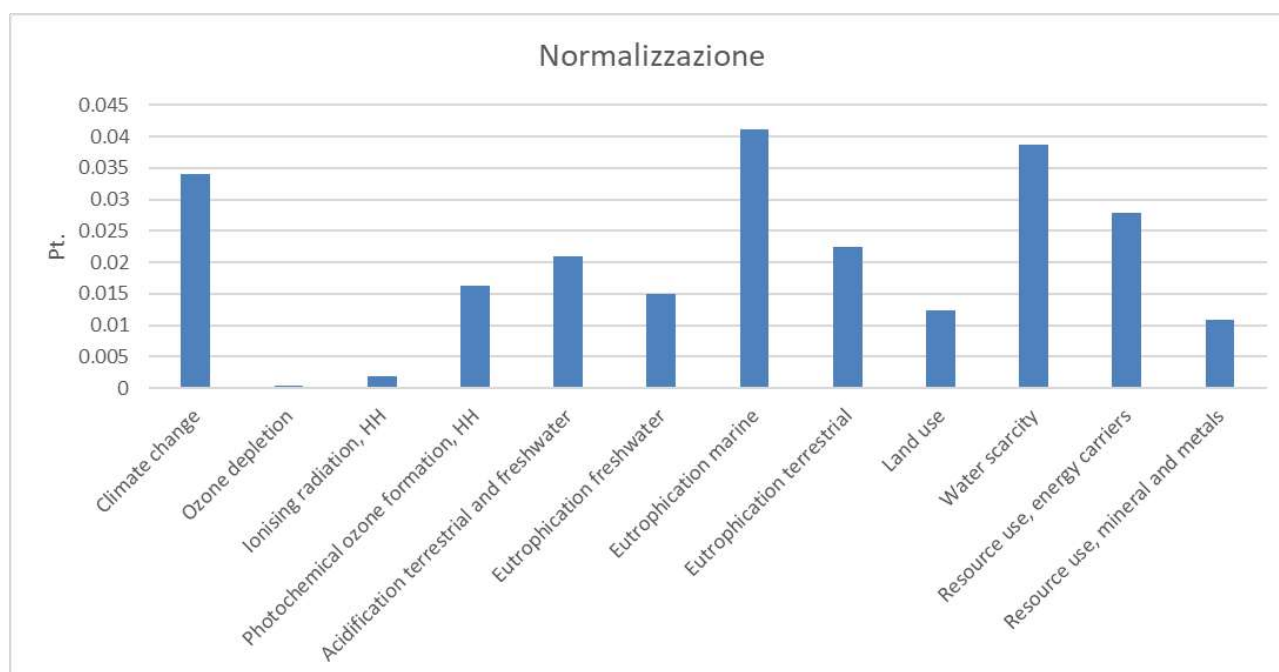
<b>Categoria d'impatto</b>	<b>Biomassa</b>	<b>Idrogeno</b>	<b>DMDS</b>	<b>Catalizzatore</b>	<b>Gas naturale</b>	<b>Elettricità</b>	<b>Vapore</b>	<b>Acque reflue</b>	<b>Catalizzatore esausto</b>
<b>Water scarcity (m<sup>3</sup> depriv.)</b>	97.9%	1.8%	0.0%	0.0%	0.0%	0.3%	0.0%	0,0%	0.0%

## normalizzazione

Il metodo di normalizzazione prescelto per lo studio LCA è quello definito dal metodo Environmental Footprint 2.0, disponibile in Simapro.

La Figura 2 illustra i risultati di normalizzazione dello studio LCA relativo alla produzione di 100 kg di biocombustibile. Le categorie di impatto più significative risultano essere Climate change, Eutrophication marine, Eutrophication terrestrial, Water scarcity, Resource use, energy carriers.

**FIGURA 2: RISULTATI DI NORMALIZZAZIONE RELATIVI ALLO STUDIO LCA DELLA PRODUZIONE DI 100 KG DI BIOCOMBUSTIBILE.**



## 2.2.6 CONCLUSIONI

Gli studi LCA, Carbon Footprint e Water Footprint della produzione del biocombustibile hanno evidenziato come la fase di produzione della biomassa (olio di palma e grasso vegetale), e l'estrazione dell'olio da tali materiali, sia la fase che presenta i maggiori impatti ambientali, anche relativamente alla produzione di gas climalteranti e all'uso delle risorse idriche. La produzione di idrogeno e il consumo di elettricità e vapore presentano impatti ambientali minori. Possibili azioni di miglioramento potrebbero includere un maggior utilizzo di scarti vegetali e/o animali in sostituzione dell'olio di palma, evitando quindi in tal modo gli impatti ambientali relativi alla produzione primaria, specialmente alla parte agricola di coltivazione della biomassa.

## BIBLIOGRAFIA

Amin A., 2019. Review of diesel production from renewable resources: Catalysis, process kinetics and technologies. *Ain Shams Engineering Journal*, Volume 10, Issue 4, December 2019, Pages 821-839.

Boulay A.M., Bare J., Benini L., Berger M., Lathuillière M.J., Manzardo A., Margni M., Motoshita M., Núñez M., Pastor A.V., Ridoutt B., Oki T., Worbe S., Pfister S. (2018). The WULCA consensus characterization model for water scarcity footprints: Assessing impacts of water consumption based on available water remaining (AWARE). *Int J LCA* 23(2):368–37.

Fazio, S. Castellani, V. Sala, S., Schau, EM. Secchi, M. Zampori, L., Supporting information to the characterisation factors of recommended EF Life Cycle Impact Assessment methods, EUR 28888 EN, European Commission, Ispra, 2018, ISBN 978-92-79-76742-5, doi:10.2760/671368, JRC109369.

International Organisation for Standardisation (ISO), 2018. ISO 14047 - Gas ad effetto serra - Impronta climatica dei prodotti (Carbon footprint dei prodotti) - Requisiti e linee guida per la quantificazione

International Organisation for Standardisation (ISO), 2016. ISO 14046 - Environmental management - Water footprint - Principles, requirements and guidelines. Geneva, Switzerland.

International Organisation for Standardisation (ISO), 2006a. ISO 14040 - Environmental management—life cycle assessment— principles and framework. Geneva, Switzerland.

International Organisation for Standardisation (ISO), 2006b. ISO 14044 - Environmental management—life cycle assessment— requirements and guidelines. Geneva, Switzerland.

## ALLEGATO A

Per poter effettuare gli studi LCA, Water Footprint e Carbon Footprint della produzione biocombustibile per aviazione, avremmo bisogno dei seguenti dati, riferiti a una definita quantità di biocombustibile prodotta (es. 100 kg o 100 l, 1000 kg o 1000 l).

**Indicare la quantità di biocombustibile per aviazione di riferimento per i dati forniti.**

Es: per produrre 100 kg di biocombustibile, sono necessari X l/kg di grasso animale; oppure: per 100 kg di biocombustibile, si producono Y l/kg di GPL

Fase	Parametro	UdM	Quantità	Note
Input	Grasso animale utilizzato (indicare anche se è grasso già raffinato)	l o kg		
	Grasso vegetale utilizzato, indicando anche la tipologia (es. soia,...)	l o kg		
	Altro			
Processo di raffinazione	Energia elettrica utilizzata	kWh		
	Gas naturale o GPL o altri combustibili utilizzati	l o m <sup>3</sup> o kg		
	Idrogeno utilizzato	l o kg		
	Acqua utilizzata (se esistente)	l o m <sup>3</sup>		
	Prodotti chimici utilizzati e loro tipologia (es. soda caustica)	kg		
	Altro			
Output	Quantità di GPL prodotto e suo potere calorifico	l o kg		
	Quantità di Nafta prodotta e suo potere calorifico	l o kg		
	Quantità di biocombustibile per aviazione prodotto e suo potere calorifico	l o kg		
	Quantità di (altro combustibile) prodotto e suo potere calorifico	l o kg		
	Eventuale scarto	l o kg		

## ALLEGATO B

### Lista dei dataset utilizzati

Processo	Banca Dati	Processo in DB
Olio di palma	Ecoinvent v3.5	Palm oil, refined {GLO}   market for   Cut-off, U
Oli di cottura usati + grasso animale + residui della lavorazione dell'olio di palma	Ecoinvent v3.5	Esterquat {RoW}   treatment of tallow to   Cut-off, U
Idrogeno	Ecoinvent v3.5	Hydrogen, liquid {RER}   market for   Cut-off, U
Catalizzatore	Ecoinvent v3.5	Zeolite, powder {RER}   production   Cut-off, U
Di-metil-di-solfuro	Ecoinvent v3.5	Dimethyl sulfide {RER}   production   Cut-off, U
Elettricità	Ecoinvent v3.5	Electricity, medium voltage {RER}   market group for   Cut-off, U
Gas combustibile acquistato	Ecoinvent v3.5	Natural gas, from low pressure network (<0.1 bar), at service station {RoW}   processing   Cut-off, U
Vapore a media pressione	Ecoinvent v3.5	Steam, in chemical industry {RER}   production   Cut-off, U
Acque reflue	Ecoinvent v3.5	Wastewater, average {RoW}   market for wastewater, average   Cut-off, U
Catalizzatori usati	Ecoinvent v3.5	Spent catalyst base from ethyleneoxide production {GLO}   market for   Cut-off, U