



CNR Consiglio Nazionale delle Ricerche

Istituto per lo Studio degli Ecosistemi (Firenze)

Graziella Chini Zittelli [graziella.chinizittelli@ise.cnr.it](mailto:graziella.chinizittelli@ise.cnr.it)



# COME SFRUTTARE LO STRESS FISIOLOGICO E AMBIENTALE DELLE MICROALGHE PER LA PRODUZIONE DI SOSTANZE UTILI

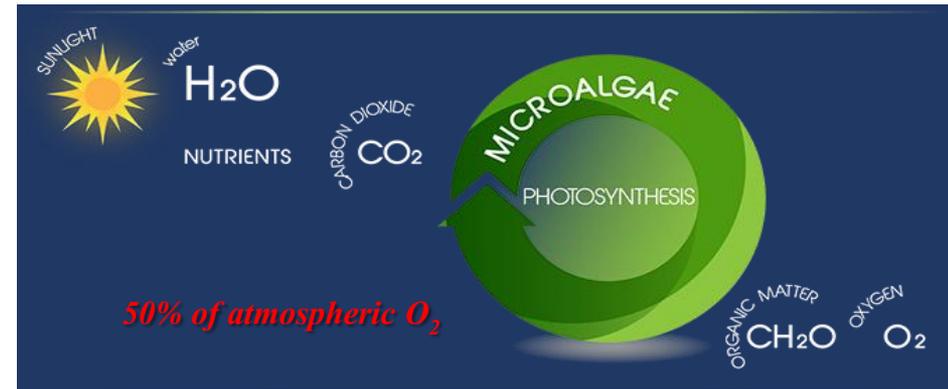
## ALGOCOLTURA



# MICROALGHE: una ricchezza da sfruttare

*Luce come fonte di energia, CO<sub>2</sub> come substrato carbonioso*

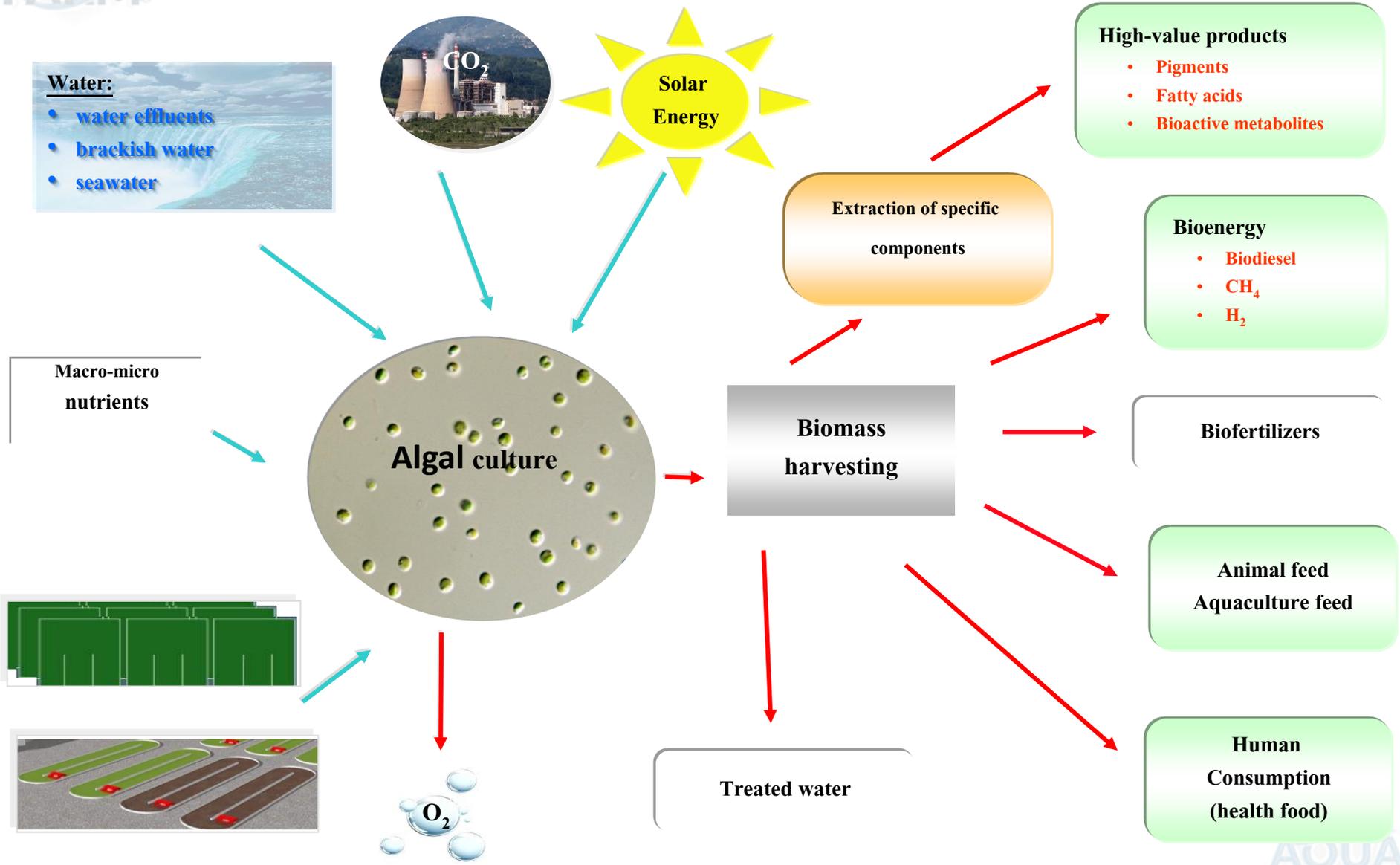
- Organismi unicellulari - **fotosintetici autotrofi**
- Ecosistemi acqua dolce, salata, suolo
- 1° anello della catena alimentare
- Elevata biodiversità morfologica e metabolica

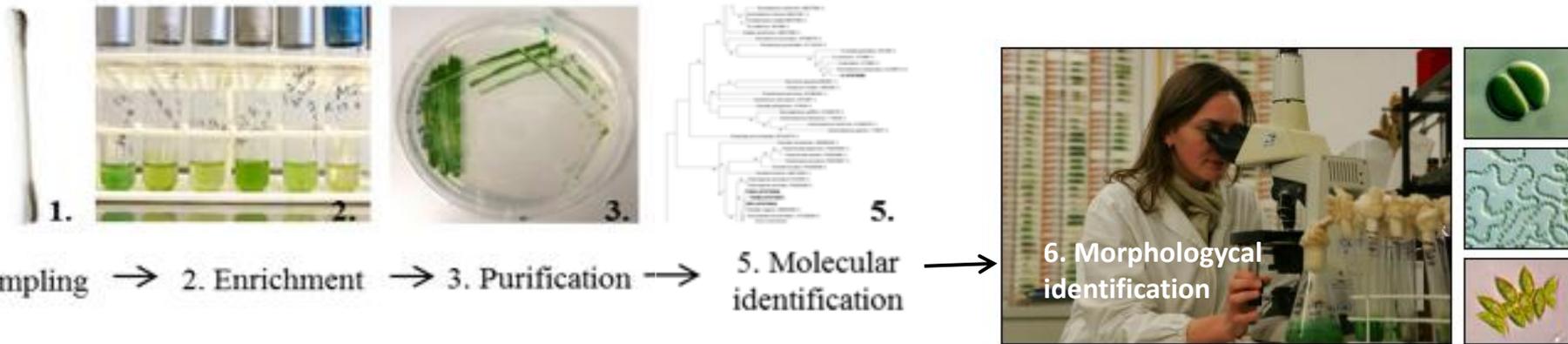


➤ > **60,000** specie esistenti, **40,000** conosciute di cui pochissime sfruttate commercialmente

➤ sono fonte di una enorme varietà di **chemicals pregiati** per applicazioni nel settore agroalimentare, farmaceutico e cosmetico e delle bioenergie

# FABBISOGNI E POTENTIALI APPLICAZIONI





*Condizioni ottimali di crescita.....*

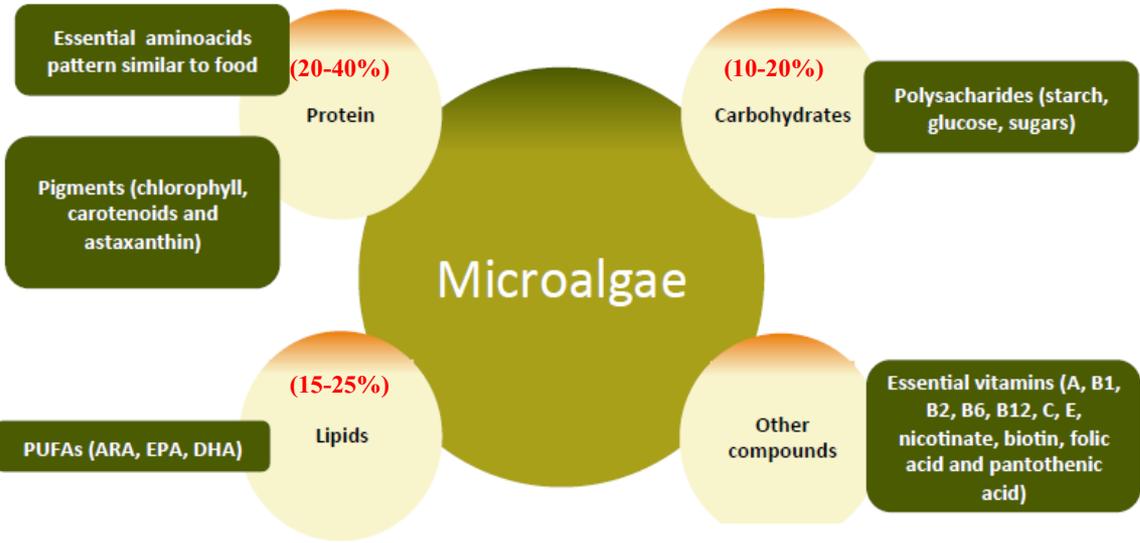
- pH
- Temperatura
- Salinità
- Luce (qualità e quantità)
- Sistema di coltura

Genetically identified on molecular level via 18S rDNA sequencing

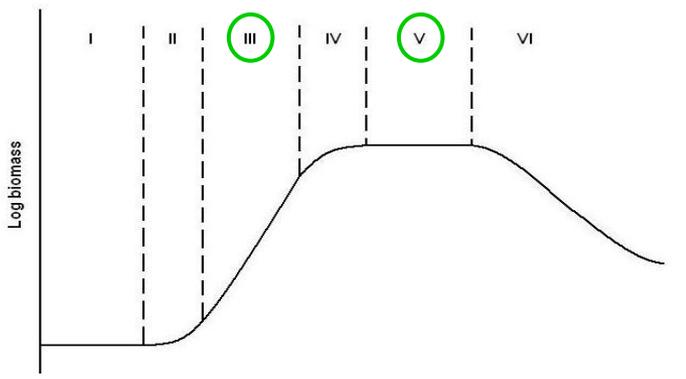
Based on structural and ultrastructural characteristics

*Analisi biochimica*

# Composizione biochimica delle microalghe



I, lag; II accelerating growth; III, exponential growth; IV decelerating growth, V, stationary; VI, decline



## Condizioni di stress.....

correlata alla fase di crescita e alla disponibilità nutrizionale, s...

elevata versatilità e capacità di produrre specifici metaboliti secondari

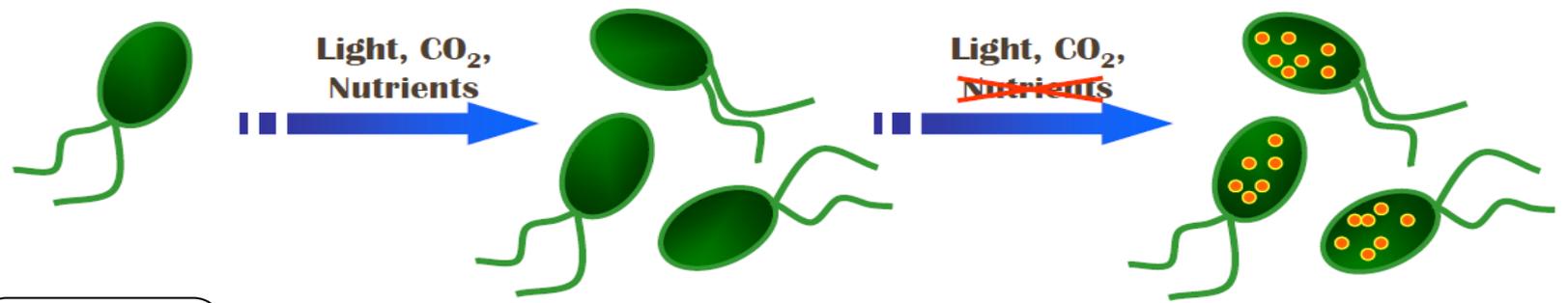
- Alta luce
- Temperatura sovraottimale
- Salinità elevata
- Carenza nutrienti (N, P, S, Fe)

non vengono utilizzati per la produzione di biomassa in condizioni sfavorevoli (an...

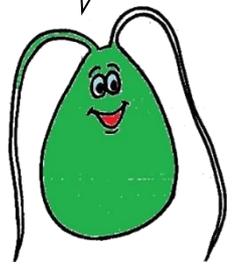
atura,

irati e/o

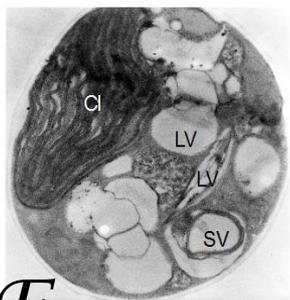
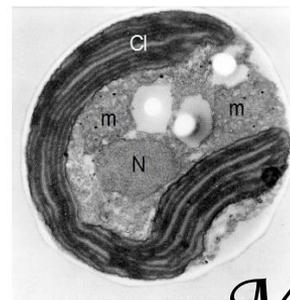
## Lipid production



sintetizzo proteine  
e mi divido

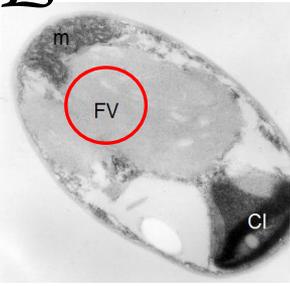
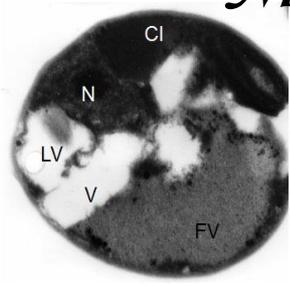


+ N

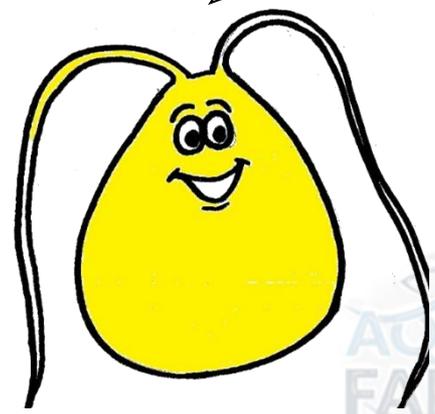


*ME*

- N



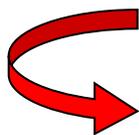
Non sintetizzo proteine utilizzo l'energia  
in eccesso per accumulare lipidi, non mi  
posso dividere ed ingrasso



*vacuolo contenente grasso (FV) e un cloroplasto in degenerazione*

# BIODIESEL da *Nannochloropsis*

Lipidi **70%** ss



**50%** Trigliceridi



**Biodiesel**

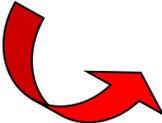
Produzione olio stimata **15 tons/ha/anno**



➤ *Tetraselmis* coltivata all'aperto **in carenza di N**



CH 50% ss



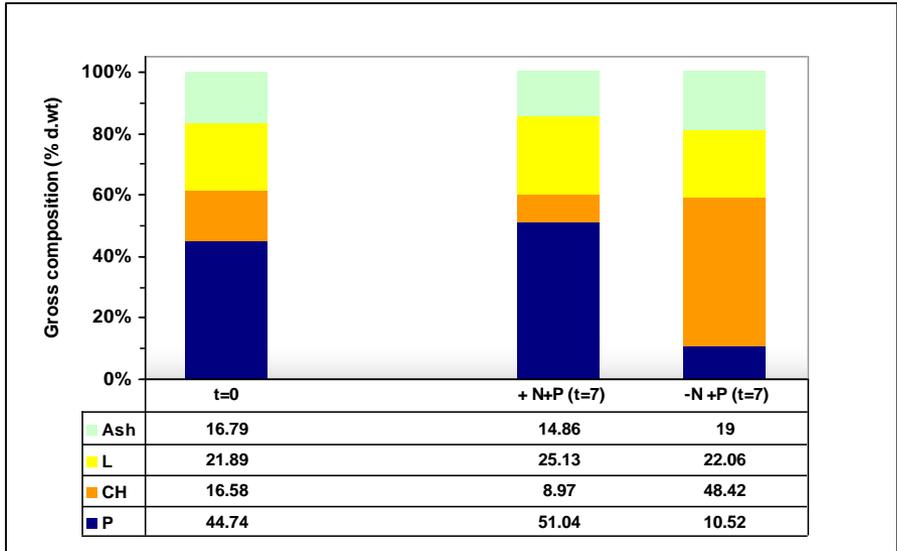
40% amido



*Tetraselmis suecica*



(7° giorno)



# BIOIDROGENO ..... *Chlamydomonas reinhardtii*

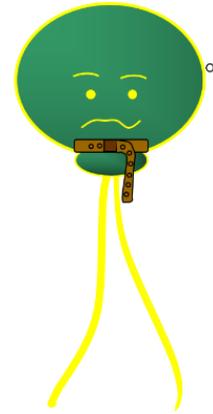
+ luce - S - O<sub>2</sub>



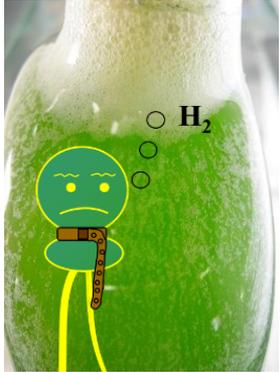
H<sub>2</sub>



O<sub>2</sub>



Sulfur Removed  
(Transitional Stage)

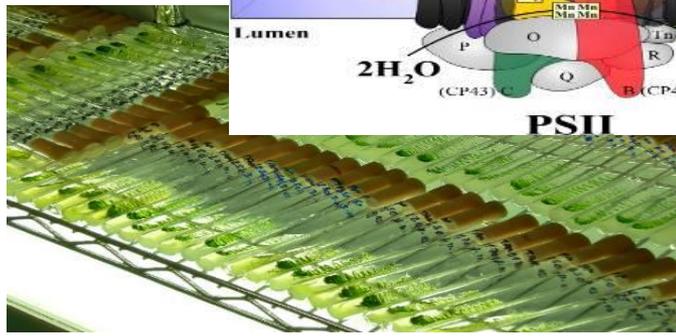
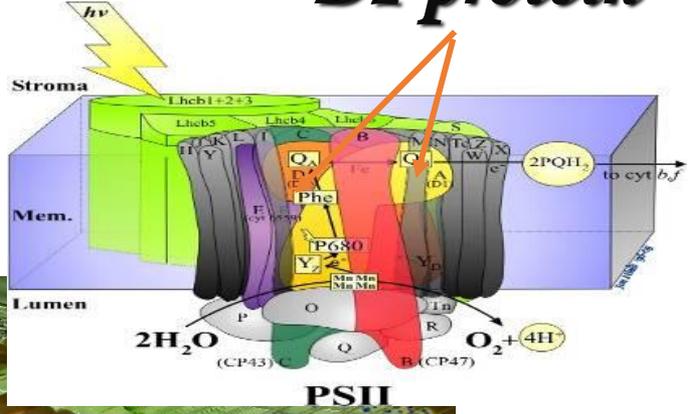


H<sub>2</sub>

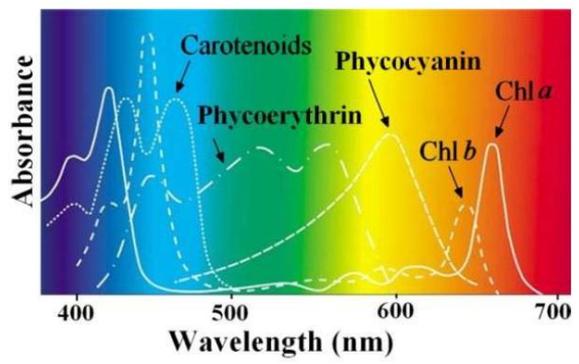
Severe Sulfur Stress  
(H<sub>2</sub> Production)



## D1 protein



# Le Microalghe: fonte naturale di pigmenti



- **Clorofilla/e (verde)**
- **Carotenoidi (rosso, arancio, giallo)**
- **Ficobiliproteine (rosso, blu) solo cianobatteri**

➤ **Primari** (legati strutturalmente e funzionalmente ad apparato fotosintetico)

—

➤ **Secondari** (non legati strutturalmente e funzionalmente ad apparato fotosintetico)

—

## Ruolo generale



sopravvivenza in condizioni di scarsa (subsaturating) o eccessiva (oversaturating) intensità luminosa

## Ruoli specifici



Cattura della luce (primari ed accessori)

—

Fotoprotezione (filtering, quenching and/or scavenging)

— — —

# Il contenuto in pigmenti dipende dalle **condizioni di coltura**

**In condizioni di stress**

- Clorofilla e Ficobiliproteine degradano
- Carotenoidi si accumulano

Bacteria,  
algae,  
fungi, plants  
**No animals**

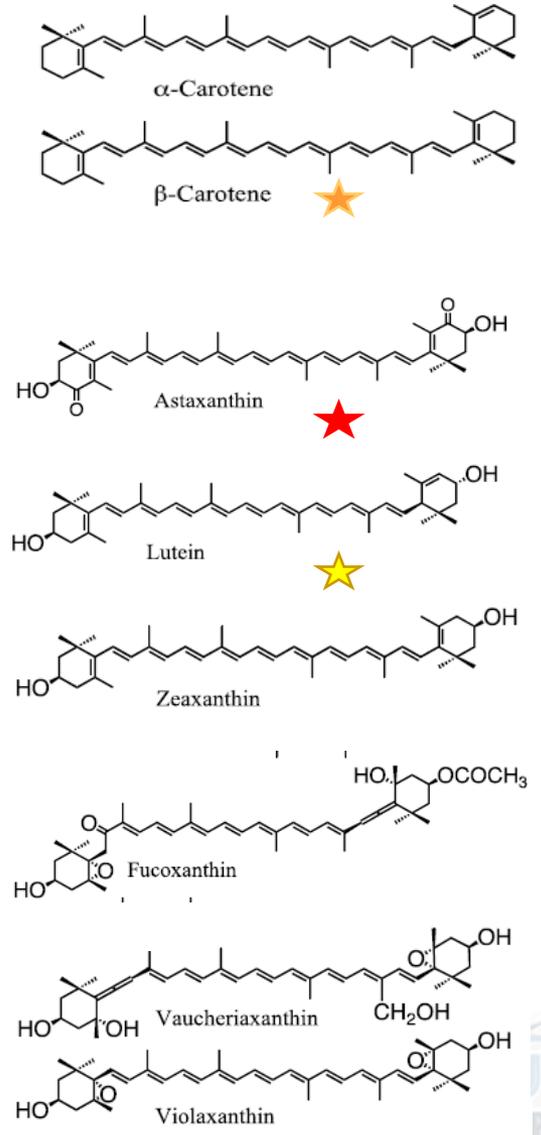
## Carotenoidi

### Caroteni

- $\alpha$ -carotene
- **$\beta$ -carotene**

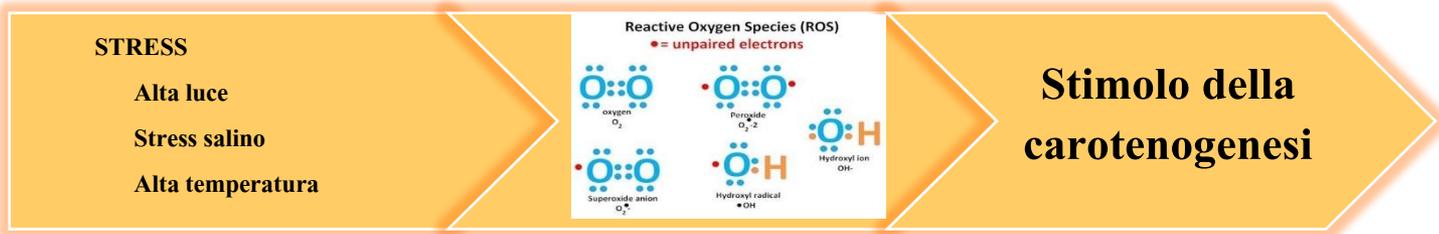
### Xantofille

- **astaxantina**, luteina, zeaxantina, licopene, **fucoxantina**



# Principali microalghe produttrici di pigmenti

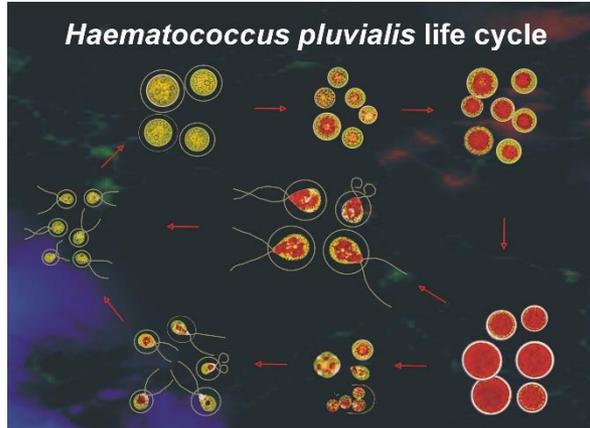
Color	Microalgal Species	Pigment type	Pigment content (% d. wt)
Red	<i>Haematococcus pluvialis</i> <i>Chlorella zofingensis</i>	Astaxanthin ★	<u>Up to 4</u> 0.37
Orange	<i>Dunaliella salina</i>	β-carotene	Up to 12



Luteina e fucoxantina non si accumulano sotto stress

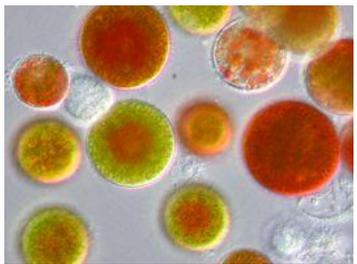
Primari	Secondari
Luteina	Astaxantina
β-carotene	β-carotene under stress conditions
Chls	-
PBP	-

# ASTAXANTINA da *Haematococcus pluvialis*

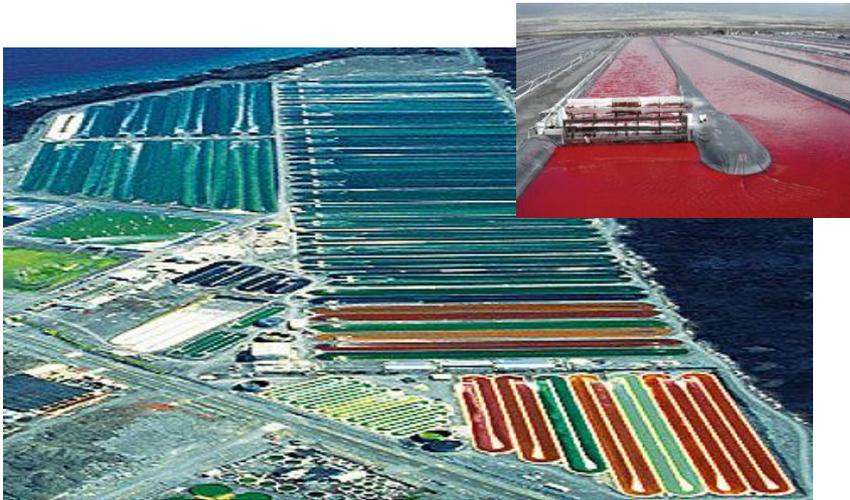


- Sintetizzata in presenza di alta luce + stress nutrizionale (carenza N)
- Accumulata nel citoplasma (5% ss): fase verde e rossa
- Produzione commerciale
  - fase verde e rossa in FBR
  - fase verde in FBR e fase rossa in vasche

## Algatechnologies Ltd (Ketura, Israel)



## Cyanotech (Hawaii, USA)

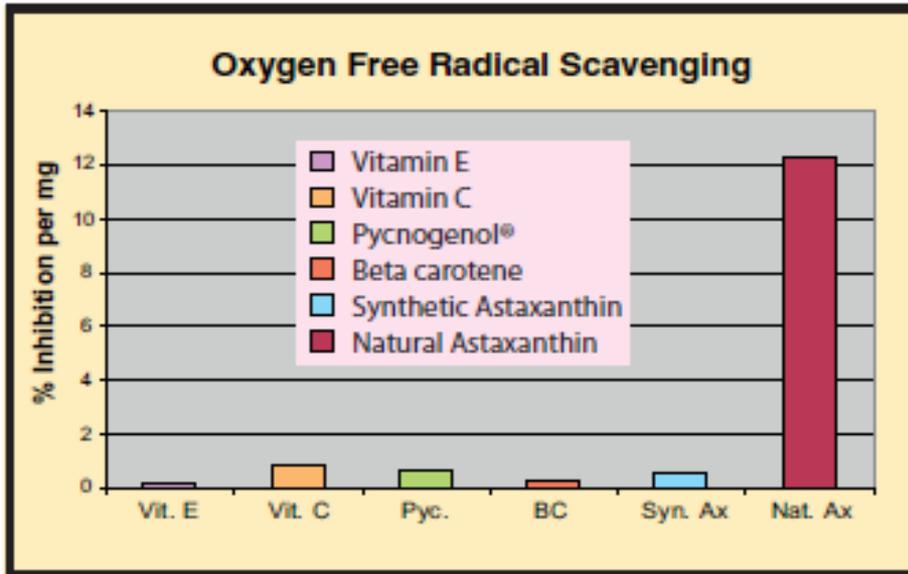


40 ha at Kona Coast of Hawaii



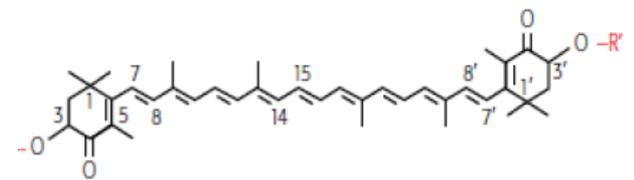
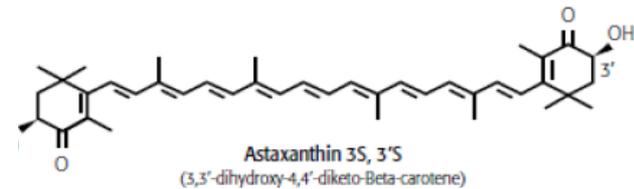
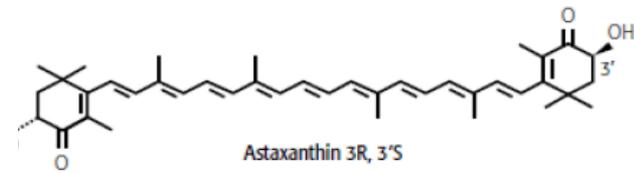
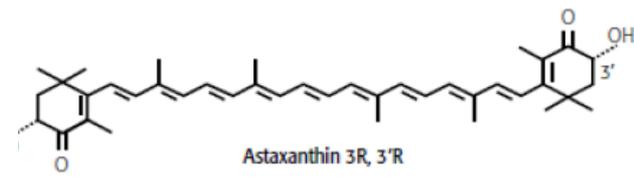
# ASTAXANTHIN in natura

Antioxidant	Superior antioxidant	Carbon double bond (C=C)
Vitamin C		1
Vitamin E		3
Astaxanthin		9+4 = 13



D. Bagchi, Creighton University. 2001

## Naturale vs sintetica



	(3S,3'R) and (3R,3'S)	(3R,3'R)
	<2%	>98%
	---	---
	50%	25%
6	2-6%	12-17% <sup>1</sup>

## Allevamento salmonidi

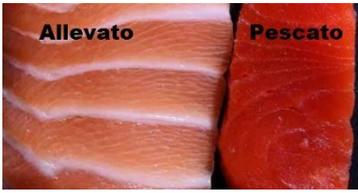
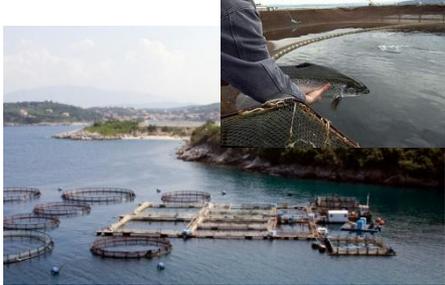
### Funzioni



- La legislazione europea ammette l'impiego di due carotenoidi per salmonidi: **astaxantina** e **cantaxantina**
- L'impiego dell'astaxantina nell'alimentazione dei salmonidi è autorizzato nell'Unione Europea alla dose massima di 100 mg/kg di mangime

➤ Fonti di astaxantina ammesse:

- Carophyll Pink di sintesi
- Lieviti (*Phaffia rodozyma*)
- Biomassa di *Haematococcus pluvialis* (anche trattata)



**if you buy salmon that is not clearly labe**

€130-200/kg

1.5% Ast

**NatuRose**  
Natural Astaxanthin  
Tienda de Caballeros.es

**Astaxanthin cost**

**1536 €/kg (*H. pluvialis*)**  
**880 €/ kg (sintesi)**

(Panis and Rosales, **Algal Research** - 2016)

## *Allevamento pesci ornamentali*

**Pigmentazione**



**Prezzo di mercato**

<b>Pesci ornamentali</b>	<i>Arthrospira, Haematococcus, Chlorella</i>	Pigmenti (PC, B-carotene, Astax)	Carotenoidi fondamentali per intensificare il colore
--------------------------	--	-------------------------------------	--



[www.hkwdmt.com](http://www.hkwdmt.com)

**Q Brand Algae Feed of Koi**

submicron powder and natural Spirulina platensis

➤ **NatuRose astaxantina naturale**

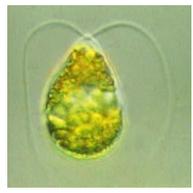
Ottimi risultati di pigmentazione

Carpa e pesci ornamentali



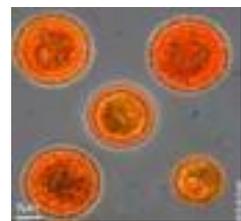
# $\beta$ -CAROTENE da *Dunaliella salina*

## Culture conditions



→  $\beta$ -carotene typically 0.5-1% dry weight

**Under high salinity, stress temperature, high light intensity, nitrogen limitation**



→  $\beta$ -carotene up to 12% of dry weight

**Optimum salinity (NaCl)**

22% for growth

>30% for  $\beta$ -carotene



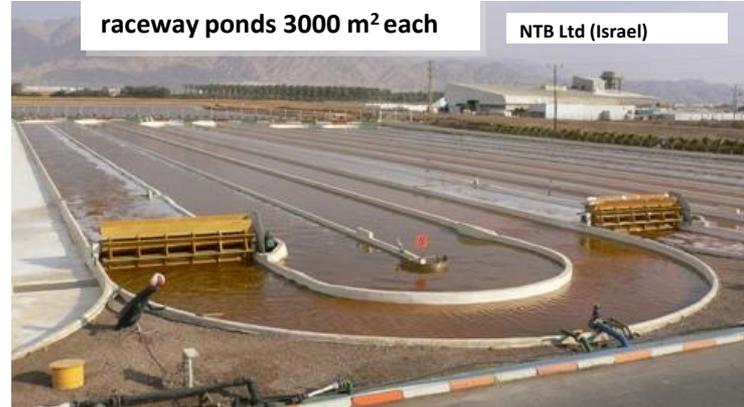
Factor	Biomass	$\beta$ -carotene
Increase in salinity	-	+++
Decrease in salinity	+	- <sup>a</sup>
N deficiency	-	+
P deficiency	-	+
Increase in CO <sub>2</sub> supply	+	0
Increase in irradiance	0	++++
Decrease in irradiance	0	-
Increase in temperature	0	+
Decrease in temperature	-	-
Increase in [O <sub>2</sub> ]	0	-

**Biomass production**  
2000 tons/y  
(250 tons  $\beta$ -carotene)

## Commercial Production

plants in Australia and Israel

**Intensive**



raceway ponds 3000 m<sup>2</sup> each

NTB Ltd (Israel)



very large, unmixed, shallow open ponds

**Extensive**

Cognis Dunaliella salina  $\beta$ -carotene plant at Hutt Lagoon, Western Australia

*Australian plants are the largest commercial microalgae production plants in the world with a total pond area of more than 900 ha*





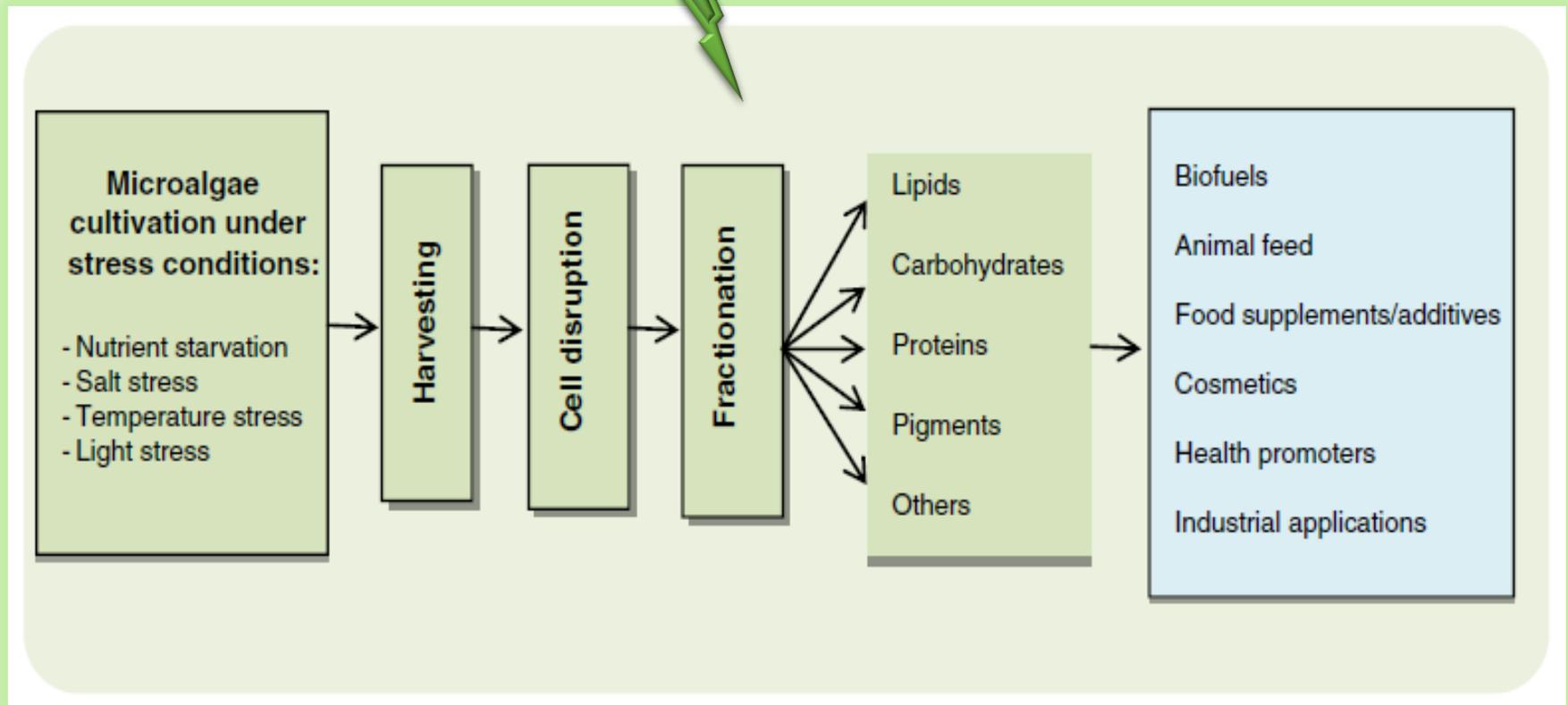




Composto	Microalga	Tipo di stress	Utilizzo
<b>GLICEROLO</b>	<i>Dunaliella</i> (17% ss) <i>Chlamydomonas</i>	Alta salinità Carenza S	Settore alimentare e farmaceutico
<b>POLISACCARIDI (eso)</b>	Cianobatteri <i>Porphyridium</i>	Età coltura Qualità e quantità luce	Bioflocculanti, addensanti, immunostimolanti
<b>POLIIDROSSIALCANOATI (PHA)</b>	Batteri Cyanobatteri	Alta salinità Carenza N, P	<b>BIOPLASTICHE</b>
<b>Poliidrossibutirrato (PHB)</b>  <b>Poliesteri termoplastici naturali</b>	<i>Arthrospira</i> , <i>Nostoc</i> , <i>Synechocystis</i> (10-40 % ss)	Accumulate come fonte C di riserva, sotto forma di granuli	<b>Biodegradabili e Riciclabili</b>



«Migliorare le tecniche di estrazione e separazione di metaboliti diversi  
dalla stessa biomassa»



GRAZIE PER L'ATTENZIONE

