

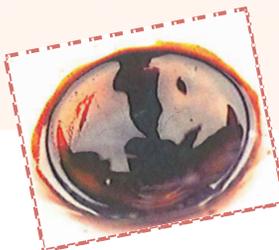


AmBios_{Srl}

Divisione BioEnergetica

Via Gagarin, 3, CORCIANO, 06073 (PG) www.ambios.eu

Tel. +39 075 7827208 – Fax. +39 075 7823717



Prodotti algali da processi estrattivi

L'attività di ricerca degli ultimi mesi della divisione BioEnergetica di AmBios Srl si è focalizzata sullo sviluppo di nuovi prodotti microalgali derivanti da processi di estrazione di vario tipo e relative caratterizzazioni di prodotto.

Dalla collaborazione con il Centro di Eccellenza per la Ricerca sulla Birra dell'Università di Perugia, AmBios Srl ha portato a termine con successo una prima prova estrattiva di olio algale purissimo da *P. tricornutum* attraverso la tecnica della CO₂ supercritica, metodica caratterizzata dalla totale assenza di solventi organici inquinanti.

Continuano le prove di spremitura a freddo da prodotto algale essiccato in diverse forme e diverse modalità di processo.

Nel laboratorio AmBios si procede con lo studio di tecniche estrattive con solventi comuni che permettono l'ottenimento di una elevata resa di olio ricco di acidi grassi polinsaturi.

Promettente e di sicuro interesse, infine, si è rivelato lo sviluppo e lo studio di formulati a base di pasta algale in presenza di argille lamellari, destinati al settore cosmetico. Attualmente sono in corso ulteriori test ed approfondimenti sul prodotto.

CRIF Centro Internazionale di Ricerca sull'Inquinamento e sull'Ambiente "Maurio Falli" **14th CIRIAF National Congress** Energy Environment and Sustainable Development Perugia, April 4-5, 2014

TECNICHE DI PRODUZIONE DI MICROALGHE PER ESTRAZIONE DI COMPOSTI AD ALTO CONTENUTO LIPIDICO

Giancarlo Strati, Daniela Bellotti, Vincenza Nardicchia - AMBIOSSRL, Via Gagarin 3, CORCIANO (PG) Silvia Orlandi - Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Perugia

La divisione BioEnergetica di AmBios Srl, su input di alcuni partner industriali nel settore produzione energia da biomassa, ha iniziato alcuni anni fa un'attività di ricerca nel settore produzione microalghe. Nel laboratorio AmBios di Perugia sono stati selezionati vari ceppi algali, studiato contemporaneamente le migliori tecniche di crescita e le metodiche di realizzazione di fotobiorreattori dedicati a basso costo. I risultati della ricerca applicata hanno portato nel frattempo gli sforzi verso nuove linee di sviluppo: l'individuazione di ceppi di *Phaeodactylum tricornutum* caratterizzati da elevata contenta lipidico (PLFA). Tale valore, soprattutto, particolarmente elevato nell'industria farmaceutica e nutraceutica in genere, ha permesso di realizzare per conto di un'azienda mangroglia un primo impianto di produzione biomassa da microalghe su scala industriale. L'impianto, caratterizzato da fotobiorreattori di basso costo e da completa integrazione del fabbisogno energetico con un'unità dedicata di produzione energia da biomassa, permette di ottenere in modo completamente automatico, una soluzione di microalghe concentrate oppure una pasta algale per le successive lavorazioni di estrazione prodotti lipidi (Omegra-3 e Omegra).

INTRODUZIONE
L'utilizzo delle microalghe per la produzione di composti naturali di vario genere ha ormai storia decennale. Negli ultimi cinquant'anni sono state effettuate intense ricerche di tipo fisiologico e biochimico su questi microrganismi e sul loro metabolismo, studiandone la biodiversità e la possibilità di utilizzarli, come veri e propri reattori naturali, per la produzione di prodotti commercialmente interessanti [1-2]. Molecole sono, oggi, i settori che puntano allo sfruttamento industriale di alcune specie microalgali, come ad esempio i settori farmaceutico, nutraceutico, cosmetico e chimico per la produzione di composti bioattivi e "fine chemicals" (antiossidanti specifici, pigmenti, polifenoli, vitamine, enzimi, etc.) [3-4], applicazioni di bioremediation per il recupero di acque ricche di metalli pesanti, xenobiotici o metalli pregiati [5], biofissazione della CO₂ i settori zootecnico e dell'acquacultura per sviluppo di integratori alimentari e mangimistici e, infine, il settore energetico per produzione di biocombustibili [6]. Nel quadro descritto si inserisce l'esperienza di AmBios Srl, la quale, già presente nel settore energetico e delle energie rinnovabili, ha avuto come obiettivo principale quello di indagare il perfetto connubio tra esigenze biologiche delle microalghe ed aspetti tecnologico-ingegneristici di produzione massale per impianti industriali, gestendo parallelamente sia la ricerca di tipo biologico e fisiologico che quella di tipo tecnologico.

Sviluppo di sistemi PBR indoor di piccola taglia
Le specie algali della cospocota di prima dotazione sono state coltivate in condizioni di laboratorio, effettuando diversi test utili nello scale-up di sistemi di produzione industriale. Lo sviluppo delle colture algali è avvenuto all'interno di sistemi di fotobiorreattori dedicati, progettati dai tecnici dell'azienda, in accordo con le esigenze fisiologiche dei ceppi algali. Sono stati messi a punto PBR (fotobiorreattori) cilindrici in specifico materiale plastico trasparente (PMMA), dotati di camera analitica (Fig. 1), coltivando le microalghe all'interno della corona circolare del PBR, si è ottenuto un maggiore rapporto superficie/volume in termini di assorbimento della radiazione luminosa. Lo spazio interno creato dalla camera analitica è stato utilizzato per l'incrocimento di specifiche lampade LED progettate in collaborazione con azienda specializzata.

I risultati ottenuti dalle diverse sperimentazioni hanno portato AmBios Srl ad approfondire lo sviluppo di pregiati ceppi algali di origine marina, particolarmente interessanti per il loro contenuto lipidico in acidi grassi polinsaturi (PFA), verso i quali sono riconosciute importanti proprietà omeostatiche e salutistiche. La specie alla quale attualmente si rivolge l'attenzione dell'azienda, è *Phaeodactylum tricornutum* (Fig. 2a, b, c), diatomea dal colore bruno-oroato. *P. tricornutum* è una delle microalghe maggiormente ricche di EPA (acido eicosapentaenoico, omega-3), acido altamente polinsaturato dalle spiccate proprietà antiossidanti (Fig. 2 - Tab. 1).

IMPIANTO INDUSTRIALE DI PRODUZIONE MICROALGHE
Di recente AmBios Srl, in collaborazione con un'azienda partner, ha potuto realizzare un primo impianto di produzione di biomassa da microalghe su scala industriale, dove attualmente viene prodotta la specie *P. tricornutum*. L'impianto, totalmente indoor all'interno di capri sera, ha un'estensione di 200 m² e capacità di 5000 litri. È caratterizzato da un sistema di moduli verticali, in materiale plastico trasparente, interconnessi tra loro. L'aerazione e la corretta agitazione della coltura algale è garantita da un sistema di microbubbling a frequenza controllata, oltre che da un impianto idraulico che permette la continua circolazione della massa liquida (Fig. 3a). L'impianto è gestito da sistema computerizzato per la gestione dei parametri tecnici, con accesso e controllo anche da remoto (Fig. 3c). L'impianto di produzione algale è abbinato ad un'unità di recupero termico e CO₂ da combustione di olio vegetale (Fig. 3b). Parte dell'energia termica derivante dal raffreddamento motore viene riutilizzata nell'impianto a microalghe per la stabilizzazione della temperatura nel periodo invernale ed in quello notturno, allo scopo di mantenere la temperatura nel range 20°C +/- 2°C. I gas di combustione del cogeneratore, trattati con sistema SCR per abbattimento NOx, opportunamente raffreddati e filtrati vengono in parte immessi nella soluzione algale per stimolare il processo fotosintetico e per mantenere un pH ottimale nella sospensione cellulare; il tutto attraverso un sistema di elettrovalvole automatico, comandato dal software di gestione dell'impianto.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI
1. Chu, W.T. Biotechnological applications of microalgae. *ALGAE* 2012, 6, 524-537.
2. Sankaran, P., Sankaran, C., Sankaran, S., Sankaran, A. Commercial application of microalgae. *Journal of Bioreactor and Bioengineering* 2008, 2, 87-96.
3. Guadalupe, A.C., Guadalupe, M.S., Sobro, F., Oña Ferrer, A.C., Tamargo, P., Moradas Ferrera, P., Malvar, F.A. Evaluation of the antioxidant activity of cell extracts from *Phaeodactylum tricornutum*. *Journal of Bioreactor and Bioengineering* 2012, 2, 170-175.
4. Guadalupe, A.C., Amor, M.A., Malvar, F.A. Microalgae as source of carotenoids. *Marine Drugs* 2011, 8, 621-644.
5. Phaeodactylum, L. Nishii, S., Nishii, S. Microalgae bioremediation: Current practices and perspectives. *Algal Bio* 2011, 1, 205-204.
6. Ling, S.F.; Malpass, A.; Borewell, M.A.; Mubarezi, N.B. Production of products from microalgae. *Ming Adapt Single Cell Change* 2011, 18, 47-52.

Fig. 1 PBR con camera analitica, in presenza di lampade LED

Fig. 2 Spore *P. tricornutum* al microscopio ottico (ingrandimento 1000x); (a) campione in coltura; (b) (c) Composizione lipidica (spatiogramma) di *P. tricornutum* da anali GC-MS

| Sp. (n°) | Componente | Area (%) | Area (%) |
|----------|------------|----------|----------|
| 1 | 18:0n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 2 | 18:1n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 3 | 18:2n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 4 | 18:3n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 5 | 18:4n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 6 | 18:5n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 7 | 18:6n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 8 | 18:7n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 9 | 18:8n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 10 | 18:9n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 11 | 18:10n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 12 | 18:11n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 13 | 18:12n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 14 | 18:13n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 15 | 18:14n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 16 | 18:15n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 17 | 18:16n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 18 | 18:17n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 19 | 18:18n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 20 | 18:19n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 21 | 18:20n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 22 | 18:21n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 23 | 18:22n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 24 | 18:23n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 25 | 18:24n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 26 | 18:25n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 27 | 18:26n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 28 | 18:27n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 29 | 18:28n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 30 | 18:29n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 31 | 18:30n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 32 | 18:31n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 33 | 18:32n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 34 | 18:33n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 35 | 18:34n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 36 | 18:35n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 37 | 18:36n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 38 | 18:37n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 39 | 18:38n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 40 | 18:39n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 41 | 18:40n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 42 | 18:41n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 43 | 18:42n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 44 | 18:43n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 45 | 18:44n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 46 | 18:45n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 47 | 18:46n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 48 | 18:47n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 49 | 18:48n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 50 | 18:49n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 51 | 18:50n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 52 | 18:51n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 53 | 18:52n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 54 | 18:53n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 55 | 18:54n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 56 | 18:55n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 57 | 18:56n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 58 | 18:57n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 59 | 18:58n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 60 | 18:59n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 61 | 18:60n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 62 | 18:61n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 63 | 18:62n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 64 | 18:63n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 65 | 18:64n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 66 | 18:65n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 67 | 18:66n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 68 | 18:67n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 69 | 18:68n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 70 | 18:69n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 71 | 18:70n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 72 | 18:71n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 73 | 18:72n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 74 | 18:73n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 75 | 18:74n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 76 | 18:75n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 77 | 18:76n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 78 | 18:77n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 79 | 18:78n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 80 | 18:79n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 81 | 18:80n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 82 | 18:81n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 83 | 18:82n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 84 | 18:83n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 85 | 18:84n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 86 | 18:85n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 87 | 18:86n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 88 | 18:87n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 89 | 18:88n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 90 | 18:89n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 91 | 18:90n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 92 | 18:91n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 93 | 18:92n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 94 | 18:93n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 95 | 18:94n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 96 | 18:95n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 97 | 18:96n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 98 | 18:97n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 99 | 18:98n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 100 | 18:99n-7 | 0.00 | 0.00 |
| 101 | 18:100n-7 | 0.00 | 0.00 |

Fig. 3 a) Impianto indoor di produzione microalghe; b) Gruppo cogeneratore ad olio vegetale; c) Pannello di controllo impianto

Fig. 4 a) Pasta algale concentrata umida; b) Microalga essicata in contenitore sottovuoto

Tab. 1 Rilevazione tra diversi olii ricavati nell'impianto (DGL), composizione lipidica (spatiogramma) di *P. tricornutum* da anali GC-MS

Applicazioni estratti algali



Formulazione di campione di pasta microalgale in argille lamellari

Gli estratti da microalghe e i diversi formulati ottenuti possono essere utilizzati in svariati settori applicativi.

Settore alimentare: Farina di alghe come ingrediente ed integratore in prodotti per l'industria alimentare; pigmenti ad attività antiossidante (clorofille e carotenoidi)

Settore medico-diagnostico: Estratti titolati in purezza di acidi grassi poli-insaturi ad elevato valore fisiologico (es. EPA, DHA ecc.), integratori proteici e vitaminici, composti ad elevato valore nutrizionale, principi attivi ad azione antiossidante, composti per la produzione di diagnostici avanzati (es. ficobiliproteine per la realizzazione di biosensori, ecc.).

Industria chimica: Estrazione di pigmenti quali clorofille, carotenoidi, β -carotene, con funzione di coloranti per l'industria alimentare e non solo. Glicerolo usato nei cibi, nelle bevande, in cosmetica, in farmaceutica. Acidi grassi, lipidi, cere, steroli, idrocarburi, amminoacidi, enzimi e vitamine naturali (C, E, provitamina A). Polisaccaridi, come gomme in grado di aumentare la viscosità e gli scambi ionici.

Settore energie rinnovabili: Idrocarburi a catena lunga e lipidi esterificati per uso combustibile. Produzione di idrogeno e biogas.

Settore mangimistico animale: Produzione di ceppi microalgali per avannotteria e per molluschi bivalvi, produzione di integratori e pigmenti (es. astaxantina, ecc.); Integratori ad uso mangimistico.

Settore ambientale: produzione di compost di qualità per ripristino ambientale di aree colpite da eventi franosi, incendi o altri fenomeni di deturpamento dell'habitat boschivo. Utilizzo di *phyla* algali con capacità selettive nel trattenere metalli presenti in soluzioni liquide, sia come contaminati (azoto, cromo esavalente, zinco, ecc.), sia come metalli pregiati (oro, rubinio).



Estrazione Soxhlet con solvente organico



*Olio da microalga
*P.tricornutum**