UNIONE EUROPEA
Fondo europeo di sviluppo regionale

REPUBBLICA ITALIANA

REGIONE AUTÒNOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

POR FESR
SARDEGNA 2014-2020

SARDEGNA RICERCHE

COltivazione di ceppi MIcroalgali SARdi per applicazioni innovative nei settori agro-alimentare, nutraceutico, cosmetico e ambientale - COMISAR

Progetto finanziato con fondi POR FESR 2014/2020 - ASSE PRIORITARIO I "RICERCA SCIENTIFICA, SVILUPPO TECNOLOGICO E INNOVAZIONE"

unic@.it L'UNIVERSITA' DI CAGLIARI ON LINE

CINSA
Centro Interdipartimentale di Ingegneria e Scienze Ambientali

DIMCM
Dipartimento di Ingegneria Meccanica, Chimica e dei Materiali

CRS4
IDEAS BECOME LIFE

Maggio 2020 – 4° Report

Articolazione del progetto

Il progetto prevede 8 obiettivi:

WP 1. Gestione del progetto

WP 2. Individuazione, caratterizzazione e sperimentazione di ceppi microalgali isolati in Sardegna

WP 3. Ottimizzazione dei terreni di coltura

WP 4. Analisi delle cinetiche di crescita in fotobioreattori e/o open ponds

WP 5. Sviluppo e ottimizzazione di tecnologie di estrazione dei composti intracellulari ad elevato valore aggiunto

WP 6. Modelli matematici, tools e software, per la progettazione, il controllo e l'ottimizzazione dei fotobioreattori

WP 7. Realizzazione e messa in opera di un piccolo impianto pilota

WP 8. Disseminazione e sfruttamento dei risultati

Obiettivi:

WP1 – Coordinazione e monitoraggio della corretta evoluzione del progetto secondo i tempi e le modalità previste

WP2.1 - Individuazione di ceppi algali adatti e/o adattati alla coltivazione in Sardegna da utilizzare nel processo produttivo

Attività

Controllo e coordinamento del progetto

Al momento, sono stati selezionati 5 ceppi che vengono mantenuti in vivo presso la ceppoteca sarda SCCA (Malavasi & Cao 2015)

<u>L'obiettivo WP 2</u> è stato completo nei tempi previsti dal progetto. Tuttavia, è stato scelto di proseguire le attività legate a questo obiettivo specifico, ritenuto punto centrale delle attività del progetto, per poter ampliare ulteriormente il numero di ceppi algali sardi investigati. In tale ambito, sono state condotte delle caratterizzazioni sulla composizione biochimica totale e sulla capacità antiossidante di alcune alghe sarde a confronto con due alghe commercializzate con composizione nota

7 ceppi microalgali

2 ceppi di riferimento:

- *Chlorella* Pulver (Algova)

- *Spirulina* (Livegreen srl)

5 ceppi sardi:

SCCA 048

SCCA 024

SCCA 034

SCCA 090

SCCA 008

Parametri di coltivazione sperimentali

- Condizioni autotrofe
- Temperatura
- Intensità luminosa
- pH
- Terreni di coltura:

BBM → pH7.2

Waris-H → pH 6.8

Mcfadden G. I., Melkonian M., 1986 - Culture Medium Waris-H. Phycologia 25: 551-557.
Bischoff, H.W., Bold H.C., 1963 - Phycological studies. IV. Some soil algae from Enchanted Rock and related algal species.

Studio della composizione quali-quantitativa

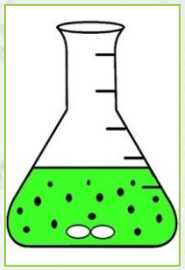
- Analisi proteine totali
- Analisi carboidrati totali
- Analisi lipidi totali
- Analisi clorofilla a
- Test polifenoli totali

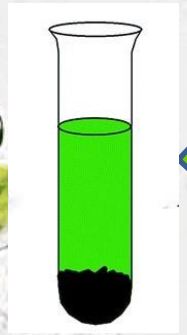
Tecniche spettrofotometriche

Smith, et al., 1985- Analyt. Biochem., 150, 76–85
DuBois M., et al., 1956 - Analytical Chemistry, 28 (3)
Marsh JB, Weinstein DB 1966 - J Lipid Res. Jul; 7(4):574-6
Bligh EG, Dyer W 1959 - Can J Biochem Physiol, 37: 911-917
Brito A, et al., 2009 - Int. Environmental Application & Science, Vol. 4 (1): 42-54
Fernandes de Souza M,et al., 2019 - Journal of Applied Phycology 31, 1, pp 249–254
Ritchie R. J. 2006 – Photosynthesis Research. Volume 89, No. 1, pp. 27-41
Singleton, V. L.; Rossi, J. A. 1965 - Am. J. Enol. Vitic., 16, 144-158

Valutazione dell'attività antiossidante

- Test del DPPH
- Test del Frap





Aggiunta reattivi

Brand–Williams, W.; et al., 1995 - Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity.
Benzie, I. F. F.; Strani, J .J. 1996 - The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power"

Risultati preliminari

- **Contenuto di proteine totali:** il campione SCCA 034 è risultato essere in linea con quello dei prodotti commerciali utilizzati per il confronto, seguito da *Chlorella* cf. *sorokiniana* SCCA 090 e *Coccomyxa melkonianii* SCCA 048. SCCA 024 e SCCA 008 hanno mostrato invece una % inferiore.
- **Contenuto di carboidrati totali**: il campione SCCA 024 ha riportato una % significativamente superiore rispetto a quella presente nelle alghe di riferimento, seguito da *Coccomyxa melkonianii* SCCA 048 e *Chlorella* cf. *sorokiniana* SCCA 090. Il ceppo SCCA 034 in particolare presenta un quantitativo di carboidrati totali paragonabile a quello della *Chlorella* Pulver.
- **Contenuto di lipidi totali:** il campione SCCA 034 ha mostrato una % comparabile con quello della *Chlorella* Pulver, mentre la *Chlorella* cf. *sorokiniana* SCCA 090 è caratterizzata dalla % più bassa ma in linea con quella della *Spirulina* commercializzata.
- **Polifenoli totali**: l'unico ceppo algale che ha manifestato un quantitativo di polifenoli simile a quello dei campioni commerciali è SCCA 034. Tutti gli altri ceppi presentano invece un basso tenore di polifenoli totali.
- **Attività antiossidante e antiradicalica:** tutti i campioni analizzati mostravano un'elevata capacità antiradicalica ad eccezione dei campioni SCCA 024 e SCCA 008. *Chlorella* cf. *sorokiniana* SCCA 090 è risultato il ceppo con una maggiore attività antiossidante.

Conclusioni:

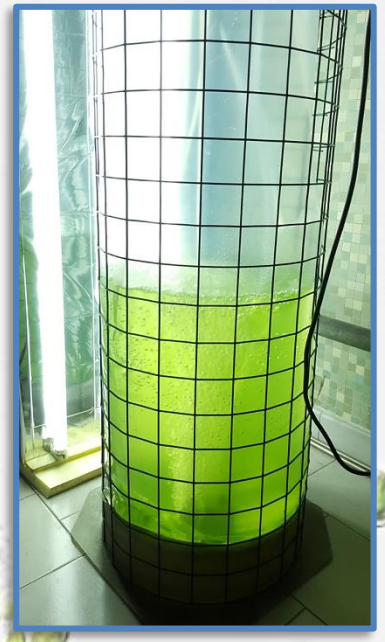
I ceppi di microalghe sarde che sono stati analizzati:

1. Hanno confermato le differenze tra i diversi ceppi

2. Costituiscono ottimi candidati per la produzione di prodotti ad alto valore aggiunto.

WP4.2 - Individuare configurazioni reattoristiche che massimizzano il compromesso tra produttività e costi di gestione

Per quanto riguarda le attività di ricerca connesse al WP 4, relativo alle analisi delle cinetiche di crescita in fotobioreattori e/o open ponds, durante questo quarto semestre si sono concluse le sperimentazioni di ceppi microalgali sardi in diversi sistemi, al fine di ottimizzare la sperimentazione nell'impianto pilota previsto nel WP7.

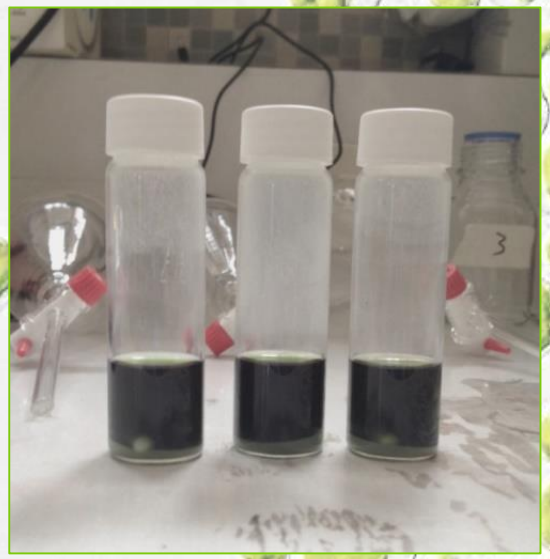


WP5 - Sviluppo e ottimizzazione di tecnologie di estrazione dei composti intracellulari ad elevato valore aggiunto

Le attività legate al WP5 hanno permesso di ottenere nuovi quantitativi di biomassa microalgale di *C. melkonianii* SCCA 048.

La biomassa è stata quindi raccolta, centrifugata e surgelata. Successivamente dalla biomassa decongelata sono stati estratti i composti cellulari ad elevato valore aggiunto appartenenti alla classe dei lipidi.

Le analisi preliminari della resa delle estrazioni effettuate suggeriscono che il metodo messo a punto consente di ottimizzare l'efficienza estrattiva riducendo i costi legati ai quantitativi di solvente necessari all'operazione.



WP6 - Modelli matematici, tools e software, per la progettazione, il controllo e l'ottimizzazione dei fotobioreattori

- L'attività relativa al WP6, condotta nel semestre in esame, è consistita nel debugging, ottimizzazione e riscrittura dei codici di calcolo mediante utilizzo di librerie numeriche open source per l'implementazione di routines di risoluzione dei sistemi di ODEs, degli integrali e dei fitting dei dati sperimentali.

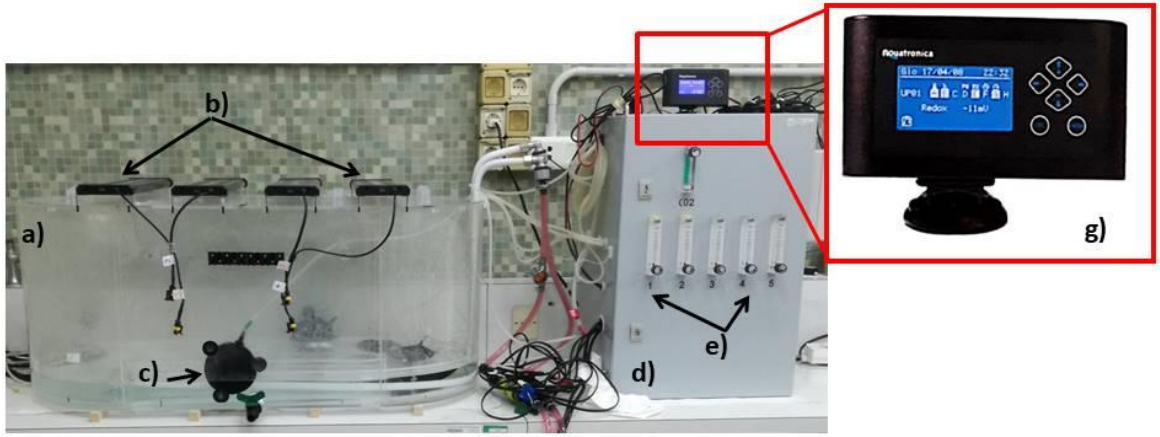
- A questa attività è seguita quella di elaborazione degli scripts di shell e di bash per la sottomissione dei codici sul cluster di calcolo del CRS4 in ambiente sungrid engine. È seguito il test del codice sulle macchine del cluster al fine di verificare l'incremento della velocità e l'attendibilità dei risultati ottenuti. L'obiettivo finale è quello di ottenere dei codici più flessibili, portabili, scalabili ed eventualmente commercializzabili.

- Tali codici saranno utili, inoltre, nel caso di simulazione di fotobioreattori operanti su scale maggiori rispetto a quelle di laboratorio in quanto domini più grandi richiederanno la risoluzione di un numero maggiore di ODEs con potenziali carichi computazionali elevati.

WP7 - Realizzazione e messa in opera di un piccolo impianto pilota

L'attività relativa al WP7, avviata anticipatamente rispetto al cronoprogramma è tuttora in prosecuzione. Il ceppo algale scelto per la sperimentazione è *Coccomyxa melkonianii* SCCA 048. Le prove sperimentali di coltivazione di questo microrganismo, all'interno del mini impianto di tipo raceway chiuso, consentiranno di valutare sia le cinetiche di crescita che le condizioni di coltivazione ottimali per tale microalga, in termini di parametri quali temperatura, intensità luminosa e flusso di CO_2, monitorati e regolati tramite la centralina computerizzata del reattore.

Mini impianto tipo raceway chiuso MEDINLAB S.r.l.



Caratteristiche tecniche: vasca in plexiglass trasparente con coperchio (a), 4 lampade led da 11W ciascuna (b) e aeratori a pastiglia riposizionabili (c); unità di aerazione tramite pompa a membrana (d) collegata a flussimetri meccanici a sfera regolabili (e) e sonda multiparametrica per misurazione del pH e della temperatura; termostatazione tramite unità di condizionamento caldo/freddo (f); centralina collegabile al pc per il monitoraggio dei parametri del reattore (g).

Componenti e caratteristiche tecniche dell'impianto pilota di tipo mini raceway chiuso