

Il Polo delle Microalghe
Le microalghe per il trattamento e la valorizzazione di reflui e
sottoprodotti agro-zootecnici e caseari

Caratterizzazione di microalghe da bioraffineria e loro valorizzazione come biostimolanti

Venerdì, 17 dicembre 2021 Convegno - Polo delle Microalghe

Aldo Tava

CREA Centro di Ricerca Zootecnia e Acquacoltura - Lodi

Progetto finanziato da:













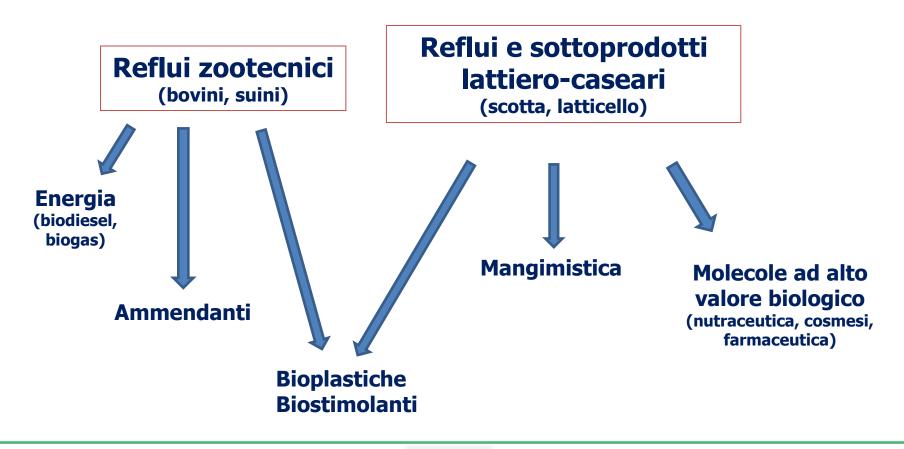








Le <u>specie microalgali</u> utilizzate per il trattamento delle diverse tipologie di reflui possono essere valorizzate per scopi diversi





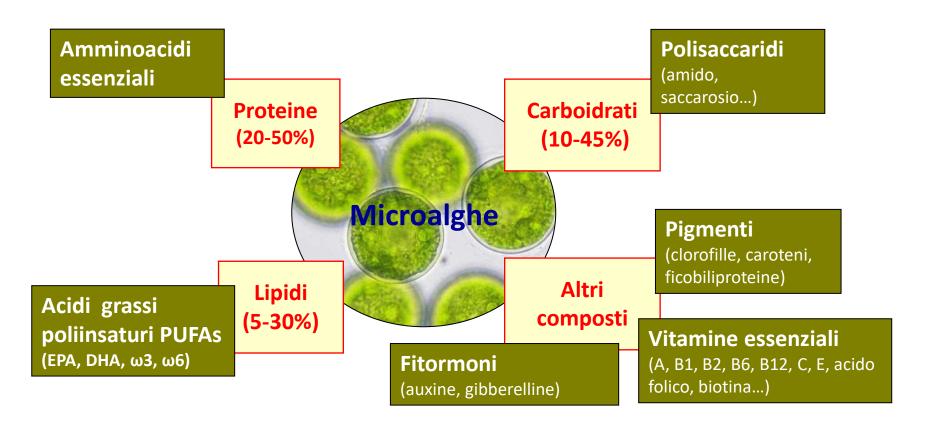
Caratterizzazione della biomassa microalgale

A prescindere dalla destinazione di utilizzo viene valutata la qualità igienica delle biomasse:

- Quantificazione carica batterica: eumiceti, stafilococchi, enterobatteri
- Ricerca di batteri patogeni: Salmonella spp., Listeria monocytogenes, Campylobacter spp.



Composizione biochimica delle microalghe





Caratterizzazione biochimica delle microalghe

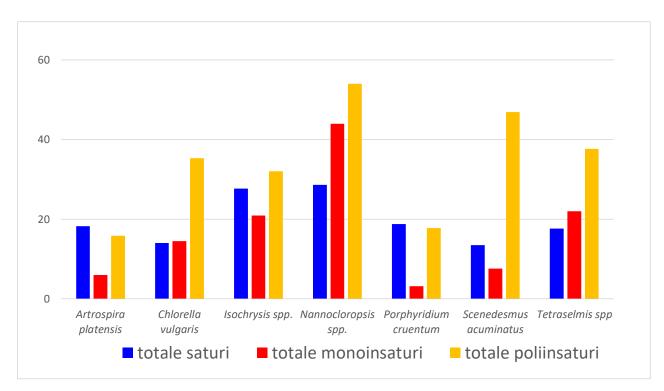
	Proteine	Carboidrati	Lipidi	Ceneri
Arthrospira platensis	56 – 68	9 – 10	10 – 15	10 - 12
Chlorella vulgaris	50 – 62	19 – 25	6 – 8	5 - 7
Isochrysis spp.	40 – 52	9 – 10	30 – 33	12 - 16
Nannochloropsis spp.	50 – 59	14 – 15	22 – 24	9 - 10
Porphyridium cruentum	22 – 31	48 – 49	6 – 7	20 - 22
Scenedesmus acuminatus	50 – 58	27 – 28	8 – 9	6 - 10
Tetraselmis spp.	38 – 40	17 – 18	14 - 16	15 - 21

Contenuti espressi in percentuale sul peso secco (% ss)

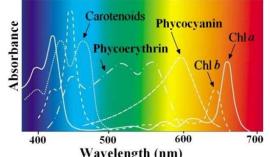


Caratterizzazione biochimica delle microalghe

Composizione acidica (mg/g ss)







Caratterizzazione biochimica delle microalghe Pigmenti

wavelengtn (nm)	Pigme	nti verdi I	Pigmenti gialli	Pigme	enti blu	Pigmenti rossi	
	Clorofilla a mg/g ss	Clorofilla b mg/g ss	Carotenoidi mg/g ss	Ficocianine	Alloficocianine	Ficoeritrine	
Arthrospira platensis	8.6 ± 0.1	2.8 ± 0.1	1.3 ± 0.1	$\mu g/g \text{ ss}$ 60.6 ± 1.1	μg/g ss 9.7 ± 1.0	$\mu g/g ss$ 7.7 ± 0.7	
Chlorella vulgaris	1.7 ± 0.1	0.7 ± 0.0	0.5 ± 0.1	-	-	-	
Isochrysis spp.	10.9 ± 0.2	1.5 ± 0.1	3.7 ± 0.2	-	-	-	
Nannochloropsis spp.	15.9 ± 0.5	1.5 ± 0.2	3.0 ± 0.1	-	-	-	
Porphyridium cruentum	1.9 ± 0.1	0.2 ± 0.0	0.5 ± 0.0	8.3 ± 0.8	3.6 ± 1.0	34.6 ± 1.5	
Scenedesmus acuminatus	12.5 ± 0.4	4.3 ± 0.3	3.2 ± 0.1	-	-	-	
Tetraselmis spp.	12.9 ± 0.3	8.6 ± 0.2	3.6 ± 0.2	-	-	-	



Sul mercato sono già ampiamente commercializzati prodotti a base di microalghe



Kinicer Sedative Shampoo con protezione attiva alle microalghe, contro il prurito e la pelle irritata del cuoio capelluto 100 ml

EUR 15,46



29.90€ / 500 Compresse





LINEAVI Omega 3 vegan acidi grassi Omega 3 di alta qualità da olio d'alghe l'alternativa vegetale ai preparati a base d'olio di pesce - made in Germany –

19.90€ /60 capsule





Microlife - Pasta Bio -Tagliatelle di Grano Duro con Spirulina EUR 4,99

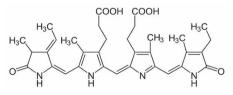


Pigmenti commercializzati

Beta-carotene:

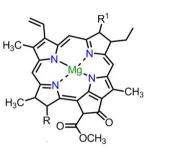
- proprietà antiossidanti e immunomodulanti
- fonte di vitamina A, viene convertito in retinolo





Ficocianina:

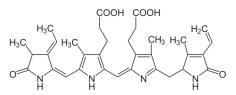
- proprietà epato-protettive e anti-infiammatorie
- attività antiossidante
 (> 40 volte quella della vitamina C)
- utilizzato come colorante alimentare





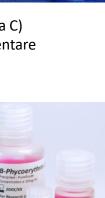
Clorofilla:

- proprietà antiossidanti e antianemiche
- regola il metabolismo del colesterolo



Ficoeritrina:

- utilizzato come indicatore fluorescente e per la marcatura di anticorpi
- utilizzato come colorante alimentare





Attività biostimolante

Secondo il Regolamento (UE) 2019/1009 del 5 giugno 2019 che stabilisce norme e disposizioni sui prodotti fertilizzanti

I <u>biostimolanti</u> sono definiti sulla base dei loro effetti agronomici (cosa fanno/claims) e la loro funzione

NON è

quella di fornire nutrienti (come i fertilizzanti) o proteggere le piante da patogeni e parassiti (come i pesticidi)



La loro funzione primaria è quella di:

- Favorire e regolare l'efficienza d'uso dei nutrienti
- Migliorare le performances della pianta



Efficacia del biostimolante

- Il biostimolante deve entrare in sinergia con il genotipo e con l'ambiente (parametri climatici, parametri chimico-fisici del terreno)
- Importante lo stadio fenologico della pianta e i caratteri morfo-fisiologici (assorbimento fogliare)



Valutazione degli effetti biostimolanti

con estratti acquosi da microalghe (50 mg/L) sono stati effettuati:

- TEST DI GERMINABILITA' in vitro usando semi di crescione
- TEST DI BIOSTIMOLAZIONE in serra e in pieno campo (spray fogliare in presenza e assenza di concimazione) su specie di intereresse



TEST DI GERMINABILITA' in vitro



- Estratti acquosi alla concentrazione di 50 mg/L da biomasse algali liofilizzate
- Test con semi di crescione (*Lepidium sativum*) per 48 ore
- Valutazione attività mediante misurazione della lunghezza radicale



TEST DI GERMINABILITA'

Table 1. Microalgal extracts assessment on cress germination.

Microalgae	рН	EC (ds m ⁻¹)	GI (%)
A. platensis	8.00 ± 0.18	0.01 ± 0.02	152.99 ± 2.00 a
C. vulgaris	8.10 ± 0.03	0.01 ± 0.02	144.51 ± 10.05 ab
I. galbana	8.10 ± 0.04	0.02 ± 0.00	133.72 ± 2.11 b
N. gaditana (=M. gaditana)	8.10 ± 0.06	0.01 ± 0.02	142.58 ± 9.98 ab
P. cruentum (=P. purpureum)	7.90 ± 0.46	0.04 ± 0.00	147.98 ± 3.00 ab
S. acuminatus (=T. lagerheimii)	8.20 ± 0.05	0.00 ± 0.00	$97.30 \pm 7.2 c$
T. suecica	8.10 ± 0.05	0.01 ± 0.02	90.56 ± 13.32 c

Mean values followed by different letters (a, b or c) are different at p < 0.05 according to analysis of variance; \pm , standard deviation.

The number of germinated seeds and the average length of roots were recorded in order to calculate a Germination Index (GI%) according to the following formula [172]:

$$GI\% = 100 \times (Gt/Gc) \times (Rt/Rc)$$
 (1)

where, Gt is the number of germinated seeds of the treatment; Gc is the number of germinated seeds of the control; Rt is the average length (mm) of the roots of the treatment and Rc is the average length (mm) of the roots of the control.

Ronga et al. Microalgal biostimulants and biofertrilizers in crop productions. *Agronomy* **2019**, *9*, 192; doi:10.3390/agronomy9040192.



Test di biostimolazione

Livello agronomico:

- Produttività
- Assorbimento di N
- Superficie fogliare e della biomassa radicale
- Risposta agli stress (aumento della produzione di metaboliti coinvolti nei meccanismi di riparo)

Livello metabolico:

- Proteine
- Carboidrati
- Clorofille e caroteni
- Polifenoli



Effetti agronomici e fisiologici di biostimolanti da microalghe nella coltivazione del radicchio (*Cichorium intybus*)



Piante spruzzate ogni 2 settimane con: acqua (T0), Arthrospira platensis (T1), Chlorella vulgaris (T2), Nannochloropsis gaditana (T3), Scenedesmus acuminatus + Chroococcus spp. (T4)

	T suolo (°C)	T pianta (°C)	Peso fresco (g/pianta)	Peso secco (g/pianta)	Diametro colletto (cm)	Altezza cespo (cm)	Indice clorofilla in foglia (valore CHL)
T0	13.4 a	20.9 ab	88.36 d	6.43 c	1.13 b	18.50 b	35.31 c
T1	12.3 c	21.0 a	147.83 a	5.29 d	1.43 a	19.80 a	35.21 c
T2	12.8 b	20.7 ab	105.53 c	9.85 b	1.17 b	16.67 c	38.13 a
T3	12.8 b	21.3 a	87.67 d	6.57 c	1.06 c	16.83 c	34.15 d
T4	12.6 b	19.6 ab	136.14 b	13.03 a	1.16 b	18.00 b	37.42 b



Piante trattate con *A. platensis*, *C. vulgari*s e *S. acuminatus+Chrococcus* hanno incrementato la produttività del radicchio.



Agronomic and physiological effects of microalgal biostimulants on lettuce production

Piante spruzzate ogni 2 settimane con: acqua (T0), *Arthrospira* platensis (T1), *Chlorella vulgaris* (T2), *Scenedesmus acuminatus* + *Chroococcus* spp. (T3) e *Nannochloropsis gaditana* (T4),





Rispetto al controllo, il trattamento con *A. platensis* fa registrare un aumento del peso fresco della pianta, la sua altezza, ma riduce il contenuto di fenolici nelle foglie.

Inoltre, *A. platensis* incrementa la 'crop water productivity' e l'efficienza dell'utilizzo dell'azoto soprattutto in combinazione con la concimazione.

Table 1. Agronomic parameters recorded at harvest time.

TREATMENT	D (mm)		FW (g plant ⁻¹)		DW (g plant ⁻¹)		H (cm)		H/D (-)		DW/H (g cm ⁻¹)	
(A) Average values for 0-N												
T0	14.40		98.52	c	9.61	a	13.30	bc	9.24	a	0.72	
T1	18.10		117.98	a	10.69	ab	14.50	a	8.01	ab	0.74	
T2	16.59		84.76	d	8.44	bc	12.43	cd	7.53	b	0.68	
T3	17.35		110.35	b	10.92	c	14.00	ab	8.18	ab	0.78	
T4	17.45		89.95	d	9.65	d	11.33	de	6.49	b	0.86	
(B) Average values for +N												
T0	18.2	a	161.6	ab	55.24	ab	14.00	ab	7.76	b	4.09	
T1	17.7	a	194.6	a	65.74	a	15.00	a	8.49	b	4.34	
T2	14.6	ab	110.7	ab	25.21	bc	10.33	c	7.11	b	2.45	i
T3	12.6	b	109.8	ab	29.46	bc	13.93	ab	11.53	a	1.95	i
T4	12.0	b	72.9	b	12.24	c	11.00	bc	9.16	ab	1.11	
(C) Significance of variables a	nd of thei	r inte	ractions									
TREATMENT (T)	n.s.		< 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05	
FERTILIZER (F)	< 0.05		< 0.05		< 0.05		n.s.		< 0.05		< 0.05	
T*F	< 0.05		n.s.		< 0.05		n.s.		< 0.05		< 0.05	_

Table 2. Physiological parameters recorded at harvest time.

TREATMENT	Chl (-)		Flav (-)		NBI (-)		T-L (°C)		CWP (g L ⁻¹)		NUE (-)	
(A) Average values for 0-N												
T0	22.02		1.78	a	12.38	bc	20.20	b	3.43	bc	-	
T1	22.96		1.41	b	16.33	a	22.47	ab	3.82	ab	-	
T2	17.83		1.86	a	9.67	c	22.13	ab	3.01	c	-	
T3	21.12		1.80	a	11.76	bc	22.11	ab	3.90	a	-	
T4	22.41		1.71	ab	13.30	ab	25.27	a	3.45	bc	-	
(B) Average values for +N												
T0	24.29	ab	1.32	ab	18.81	b	15.00	b	19.73	ab	27.62	ab
T1	25.97	a	1.09	b	23.91	a	14.67	b	23.48	a	32.87	a
T2	19.77	b	1.66	a	13.93	c	17.00	a	9.00	bc	12.60	bc
T3	26.55	a	1.34	ab	20.66	ab	14.97	b	10.52	bc	14.73	bc
T4	25.53	a	1.23	ab	20.79	ab	16.50	a	4.37	c	6.12	c
(C) Significance of variables a	and of the	ir int	eraction	ıs								
TREATMENT (T)	< 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05		-	
FERTILIZER (F)	< 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05		-	
T*F	n.s.		n.s.		n.s.		n.s.		< 0.05		-	

0-N = unfertilized, +N = fertilized, D = root collar diameter, FW = fresh weight, DW = dry weight, H = plant height, D = root collar diameter, FW = fresh weight, DW = dry weight, H = plant height

Means followed by the same letter do not significantly differ at P<0.05.



Microalghe su basilico: influenza su resa e qualità





TABELLA 1 - Risultati relativi ai parametri biometrici misurati sulle piante di basilico

Tratta- menti	Altezza pianta (cm)	Peso fresco biomassa aerea (g)	Peso secco biomassa aerea (g)	Peso fresco radici (g)	Peso secco radici (g)	Peso fresco biomassa totale (g)	Peso secco biomassa totale (g)
T1	21,5 c	30,4 a	3,1 d	6,1 d	0,4 d	36,5 a	3,5 с
T2	20,4 d	24,4 b	3,4 c	7,5 c	0,7 b	31,9 b	4,1 b
T3	22,0 b	24,6 b	4,2 a	8,3 b	0,8 b	32,9 b	4,9 a
T4	21,3 c	23,5 b	3,7 b	12,3 a	1,2 a	35,8 a	4,9 a
T5	22,9 a	21,4 c	3,4 с	7,5 c	0,5 c	29 c	3,9 с

T1 = Nannochloropsis gaditana, T2 = Tetraselmis suecica, T3 = Isochrysis galbana, T4 = Porphyridium sp., T5 = piante non trattate. A lettere diverse corrispondo differenze statisticamente significative al Duncan test P < 0,05.

Il peso fresco della biomassa aerea (foglie + fusti) più alto è stato registrato nel trattamento con Nannochloropsis gaditana



TABELLA 2 - Risultati relativi ai parametri qualitativi misurati sulle piante di basilico

Tratta- menti	Clorofilla (a + b) (µg/g)	Azoto in pianta (% s.s.)	Shelf life (%)
T1	5,9 a	2,8 a	0,3 d
T2	5,3 b	2,1 b	0,5 b
T3	4,0 c	1,8 c	0,6 a
T4	4,5 c	2,2 b	0,4 c
T5	5,8 a	2,6 a	0,4 c

T1 = Nannochloropsis gaditana,

T2 = Tetraselmis suecica, T3 = Isochrysis galbana, T4 = Porphyridium sp., T5 = piantine non trattate. A lettere diverse

T5 = piantine non trattate. A lettere diverse corrispondo differenze statisticamente significative al Duncan test P < 0,05.</p>

Le piantine trattate con *Nannochloropsis gaditana* hanno riportato il valore minore di perdita di peso durante la prova di shelf life







Microalghe su pomodoro contro gli stress da freddo

TABELLA 1	- Risultati	relativ	i ai parar	netri misu	ırati sull	e piantin	e in rela	zione ai	trattame	nti effettu	ıati
	Temperatura	Altezza	Foglie	Diametro			fresco anta)		Area fogliare	Danni da stress da freddo	
Trattamenti	foglia (°C)	pianta (cm)	(n./pianta)	colletto (mm)	foglie	stelo	radice	(cm²/ pianta)	valutazione visiva (scala 0-5)	SPAD	
С	23,2 c	15,2 c	3,5 a	2,8 b	0,8 d	0,9 d	1,7 d	3,3 d	10 c	2,8 b	29 b
T1	24,5 b	15,5 c	3,5 a	2,6 c	1 b	1,4 c	2,6 b	5 b	20,5 b	3,4 a	31 a
T2	24,8 a	16,6 b	3,5 a	2,8 b	2 a	1,7 a	2,8 a	6,5 a	32,5 a	2,6 c	27 c
T3	24,3 b	17,5 a	3 b	3,1 a	0,9 с	1,7 b	2,2 c	4,7 c	20 b	3,5 a	32 a

C – controllo (plantine non trattare), T1 – Arthrospira platensis, T2 – Chlorella vulgaris, T3 – Scenedesmus sp. A lettere diverse, corrispondo differenze statisticamente significative (ANOVA, e medie separate con il test di Duncan, P < 0,05). Scala 0-5: 0 – plantine morte; 5 – plantine senza danni da freddo.</p>

I primi risultati dello studio evidenziano come le piantine di pomodoro trattate in vivaio per via fogliare con estratti di microalghe *Arthrospira platensis* e *Scenedesmus* sp. ottengono una migliore tolleranza a un severo stress da freddo (1 °C per un giorno)



 Piantine di pomodoro stressate dal freddo.
 Piantine di pomodoro dopo lo stress da freddo, a sinistra piantina non trattata, a destra piantina trattata con il trattamento numero 3





Plant biostimulants in sustainable potato production: an overview

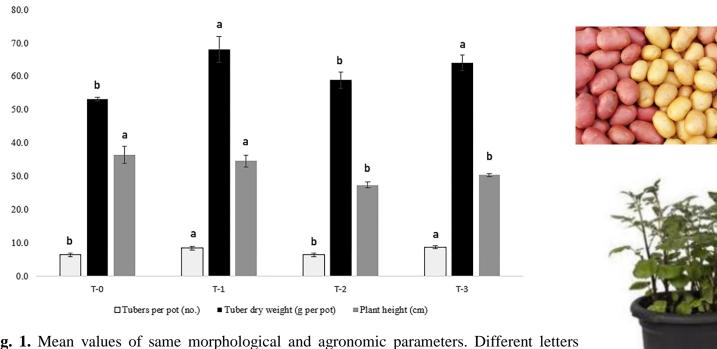
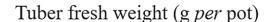


Fig. 1. Mean values of same morphological and agronomic parameters. Different letters denote statistically significant differences between treatments by analysis of variance at p<0.05. Vertical bars represent standard deviation. T0 = Control plant sprayed with distilled water, T1 = Arthrospira platensis, T2 = Chlorella vulgaris, T3 = Nannochloropsis gaditana.



Plant biostimulants in sustainable potato production: an overview



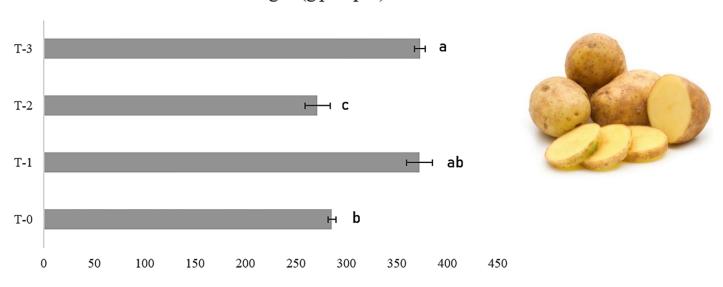


Fig. 2. Mean values of tuber fresh weight *per* pot. Different letters denote statistically significant differences between treatments by analysis of variance at p<0.05. Horizontal bars represent standard deviation. T0 = Control plant sprayed with distilled water, T1 = Arthrospira platensis, T2 = Chlorella vulgaris, T3 = Nannochloropsis gaditana.



Orzo: prova in pieno campo con tre dosi differenti di concimazione (N50, N100, N150 più controllo, N0) con estratto di *Nannochloropsis gaditana* applicato mediante spray fogliare (soluzione 50 mg/L in acqua) a cadenza settimanale

					Paglia		
Trattamento		Altezza media pianta (cm)	Ceneri (% SS)	NDF (% SS)	ADF (%SS)	ADL (%SS)	Proteine totali (% SS)
Non trattato	N0	69.3	6.9 (0.8)	80.0 (1.4)	49.0 (1.1)	5.8 (0.4)	2.4 (0.3)
con	N50	70.8	6.0 (1.0)	81.3 (3.3)	50.9 (3.0)	6.7 (1.1)	2.9 (0.6)
microalghe	N100	74.8	7.0 (0.7)	79.6 (2.5)	49.0 (2.7)	6.1 (0.8)	3.1 (0.5)
	N150	73.2	7.4 (0.7)	77.4 (3.9)	47.2 (3.9)	6.1 (1.0)	4.7 (1.9)
Trattato	Т0	61.3	6.6 (0.7)	77.8 (2.5)	47.6 (3.0)	5.9 (1.0)	2.9 (0.4)
con	T1	66.3	7.4 (1.1)	79.4 (1.5)	48.1 (2.1)	5.8 (0.7)	2.6 (0.5)
microalghe	T2	70.5	7.3 (1.0)	76.7 (2.4)	46.4 (2.2)	5.8 (0.8)	3.7 (0.3)
	T3	73.2	6.3 (0.6)	78.9 (3.7)	48.9 (3.0)	6.8 (0.7)	3.2 (0.8)



				Granella		
Trattamento		Peso 100 semi (g)	Ceneri (% SS)	Proteine totali (% SS)	Carotenoidi totali (mg/kg SS)	Polifenoli totali (mg/g SS)
Non trattato	N0	50.0 (1.9)	2.7 (0.3)	9.2 (0.9)	4.9 (0.3)	2.3 (0.2)
con	N50	48.5 (4.2)	2.6 (0.2)	10.2 (1.6)	4.7 (0.5)	(2.3)0.1
microalghe	N100	52.0 (2.5)	2.8 (0.2)	10.5 (0.8)	4.8 (0.4)	2.3 (0.1)
	N150	47.4 (4.4)	2.7 (0.3)	12.9 (1.7)	4.7 (0.4)	2.3 (0.2)
Trattato	T0	48.6 (4.0)	2.8 (0.3)	8.8 (0.7)	4.8 (0.4)	2.3 (0.2)
con	T1	52.5 (1.9)	2.7 (0.2)	9.5 (0.6)	4.6 (0.4)	2.2 (0.1)
microalghe	T2	59.3 (7.5)	2.8 (0.2)	10.6 (0.9)	4.8 (0.4)	2.4(0.1)
	T3	49.9 (2.9)	2.6 (0.3)	11.6 (0.9)	4.8 (0.4)	2.3 (0.2)







