

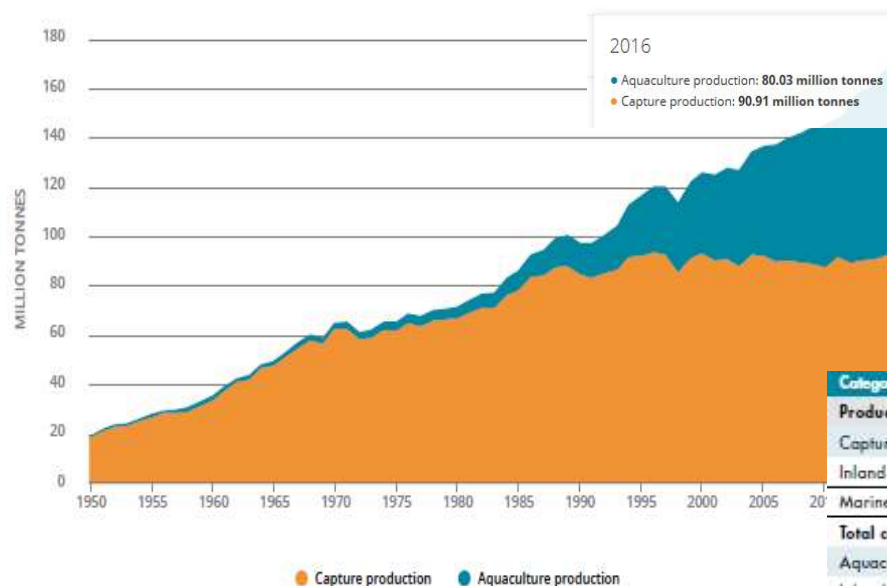
Microalghe da bioraffineria come nuovo ingrediente da includere nel mangime per un'acquacoltura sostenibile

Venerdì, 17 dicembre 2021
Convegno - Polo delle Microalghe

Tiziana Bongiorno
Istituto Sperimentale L. Spallanzani

Progetto finanziato da:

L'industria globale dell'acquacoltura è il settore zootecnico in più rapida crescita



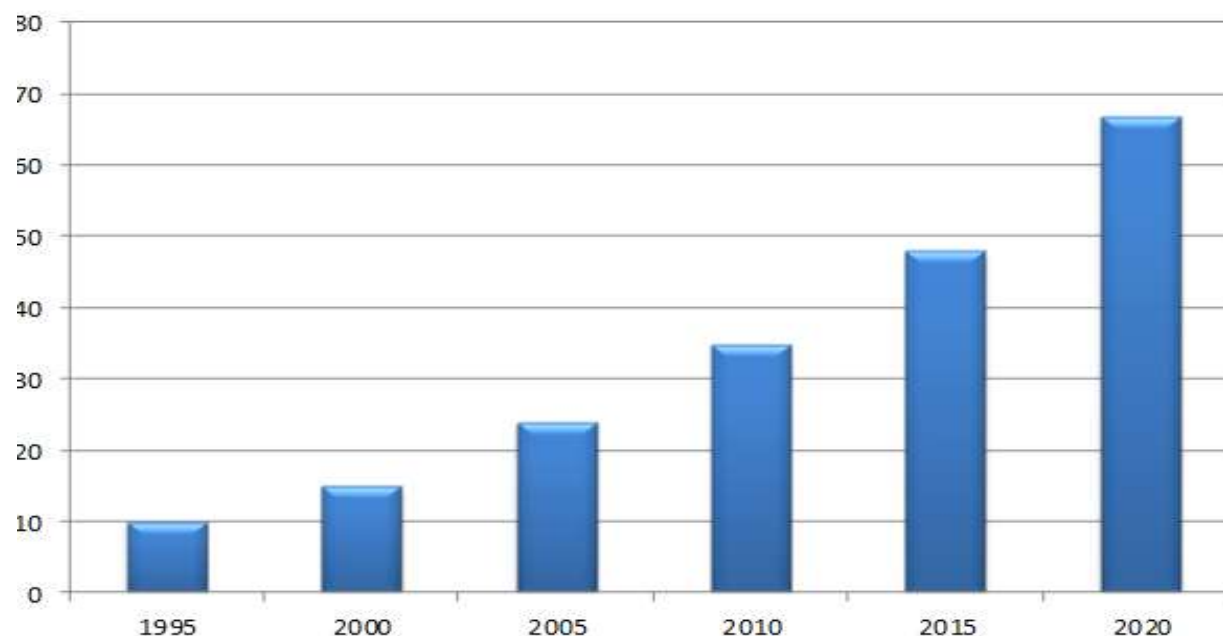
Category	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Production						
Capture						
Inland	10.7	11.2	11.2	11.3	11.4	11.6
Marine	81.5	78.4	79.4	79.9	81.2	79.3
Total capture	92.2	89.5	90.6	91.2	92.7	90.9
Aquaculture						
Inland	38.6	42.0	44.8	46.9	48.6	51.4
Marine	23.2	24.4	25.4	26.8	27.5	28.7
Total aquaculture	61.8	66.4	70.2	73.7	76.1	80.0
Total world fisheries and aquaculture	154.0	156.0	160.7	164.9	168.7	170.9
Utilization^a						
Human consumption	130.0	136.4	140.1	144.8	148.4	151.2
Non-food uses	24.0	19.6	20.6	20.0	20.3	19.7
Population (billions) ^c	7.0	7.1	7.2	7.3	7.3	7.4
Per capita apparent consumption (kg)	18.5	19.2	19.5	19.9	20.2	20.3

^a Excludes aquatic mammals, crocodiles, alligators and caimans, seaweeds and other aquatic plants.

^b Utilization data for 2014–2016 are provisional estimates.

^c Source of population figures: UN, 2015e.

Crescita del settore della mangimistica per pesci



Forecast
(Tacon e Metian 2015)



POLO DELLE
MICROALGHE
WWW.POLOMICROALGHE.IT

Ruolo dell'alimentazione nell'acquacoltura





FARINA E OLIO DI
PESCE



Ingredienti ottimali per i mangimi per pesci

Alto contenuto proteico

Profilo aminoacidico bilanciato e completo

Fonte di LC-PUFA ω 3, vitamine e minerali

Elevata digeribilità e appetibilità



POLO DELLE
MICROALGHE
WWW.POLOMICROALGHE.IT

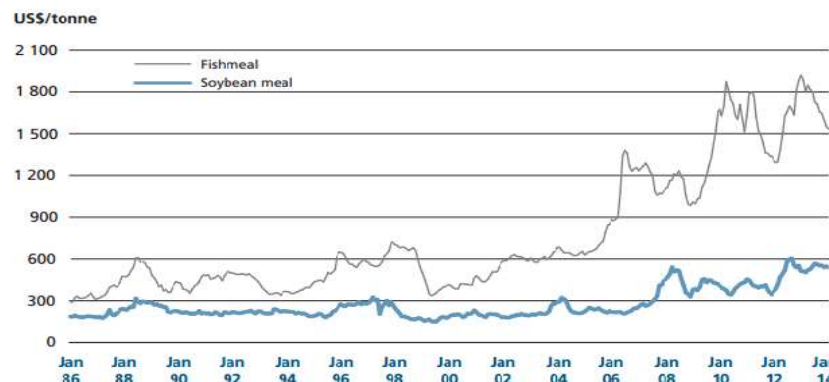
Fonti convenzionali di proteine e lipidi nei mangimi per l'acquacoltura



*...less and less
“wild” fish in
aquafeeds.....*

Non è più sostenibile!!
Fattori ambientali, etici
ed economici

Fishmeal and soybean meal prices in Germany and the Netherlands



Note: Data refer to c.i.f. prices.
Fishmeal: all origins, 64-65 percent, Hamburg, Germany.
Soybean meal: 44 percent, Rotterdam, Netherlands.

Source: Oil World; FAO GLOBEFISH.



PROTEINE E OLI DI
ORIGINE VEGETALE

Maggiore
disponibilità e costi
abbastanza
contenuti



Limiti Nutrizionali

Livelli variabili di proteina ed
energia digeribile

Composizione aminoacidica
sbilanciata

Scarsa presenza di alcuni
minerali e di alcune vitamine

No LC-PUFA n-3

Presenza di Fattori Anti
Nutrizionali (ANFs)

Scarsa appetibilità

Deficit di ingredienti proteici per mangimi degli animali, in EU

EU27 + UK in 2019 : Animal compound feeds = 165 Million Ton

EU AQUAFEED production in 2016 = 5.9 Million Ton

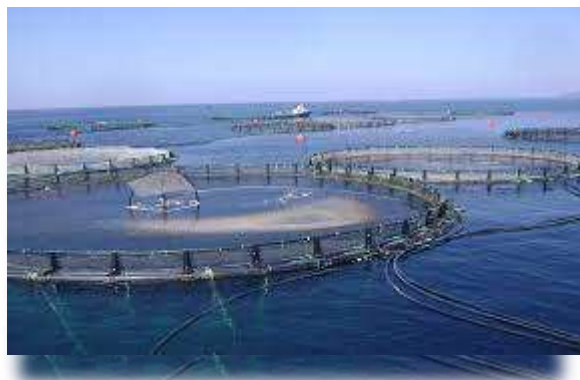
2019/2020	EU total use in feed (Million tons/year)	Feed use EU origin (Million tons/year)	EU self-sufficiency (%)
Soybean meal	29.6	1	3
Sunflower meal	8	4.2	53
Rapeseed meal	12.5	9	72
Cereals (wheat, corn,...)	176.6	156.3	89
Pulses (peas, beans,...)	3.6	3.1	86
Fishmeal	0.6	0.5	83
PAPs	1.9	1.9	100

La crescita sostenibile del settore zootecnico dipende dall'arrivo di nuove fonti proteiche e lipidiche

Alimenta
zione
Umana



Mangimi
per pesci



Mangimi
per la
zootecnia
terrestre



?

... Saranno ancora sostenibili nello scenario
demografico previsto dell'anno 2050

Le microalghe potenziale fonte di lipidi e proteine nei mangimi per l'acquacoltura

MICROALGHE

Nuovo ingrediente per
un'acquacoltura più
sostenibile

J Appl Phycol
DOI 10.1007/s10811-017-1281-5



Microalgae as a potential ingredient for partial fish meal replacement in aquafeeds: nutrient stability under different storage conditions

J. Camacho-Rodríguez¹ · M. D. Macías-Sánchez¹ · M. C. Cerdas-García¹ ·
E. J. Alarcón² · E. Molina-Grima¹

J Appl Phycol (2018) 30:197–213
DOI 10.1007/s10811-017-1294-z



4TH AOAS-WUHAN

Microalgae in aquafeeds for a sustainable aquaculture industry

Mahfuzur Rahman Shah, MD,^{1,2} · Giovanni Antonio Lutz³ · Asraf Ali Alam, MD,⁴ ·
Pallab Sarker⁵ · M. A. Kabir Chowdhury⁶ · Ali Parsaeimehr⁷ · Yuanmei Liang¹ ·
Maurice Daroch¹ 

Microalghe come nuova fonte proteica e lipidica nei mangimi per l'acquacoltura



Caratteristiche nutrizionali della biomassa microalgale

- **LIVELLO PROTEICO MEDIO ALTO**

Range compreso tra 28-71% DM in base alla specie e alle condizioni di coltivazione

- **PROFILO AMINO ACIDICO BILANCIATO E COMPLETO PER MOLTE SPECIE**

- **CONTENUTO LIPIDICO**

Range compreso tra 10 E 60% (DM). E un livello di n-3 PUFAs compreso tra 10-20%

- **CONTENUTO IN VITAMINE MINERALI**

- **CONTENUTO IN PIGMENTI E MOLECOLE BIOATTIVE**

Punti di forza e di debolezza delle microalghe





POLO DELLE
MICROALGHE
WWW.POLOMICROALGHE.IT

Bioraffinerie integrate ai sistemi di allevamento per l'abbattimento dei costi di produzione??

Cultivation of Microalgae on Anaerobically Digested Agro-industrial Wastes and By-Products



Giorgos Markou, Liang Wang, Jianfeng Ye, and Adrian Unc



sustainability



Article

Microalgae from Biorefinery as Potential Protein Source for Siberian Sturgeon (*A. baerii*) Aquafeed

Tiziana Bongiorno¹, Luciano Foglio¹, Lorenzo Proietti¹, Mauro Vasconi², Annalaura Lopez², Andrea Pizzera³, Domenico Carminati⁴, Aldo Tava⁴, Antonio Jesús Vizcaino⁵, Francisco Javier Alarcón⁵, Elena Ficara³ and Katia Parati^{1,*}

PUNI DI DEBOLEZZA

Costi di produzione elevati



BIOMASSE
MICROALGALI
PRODOTTE IN
BIORAFFINERIA

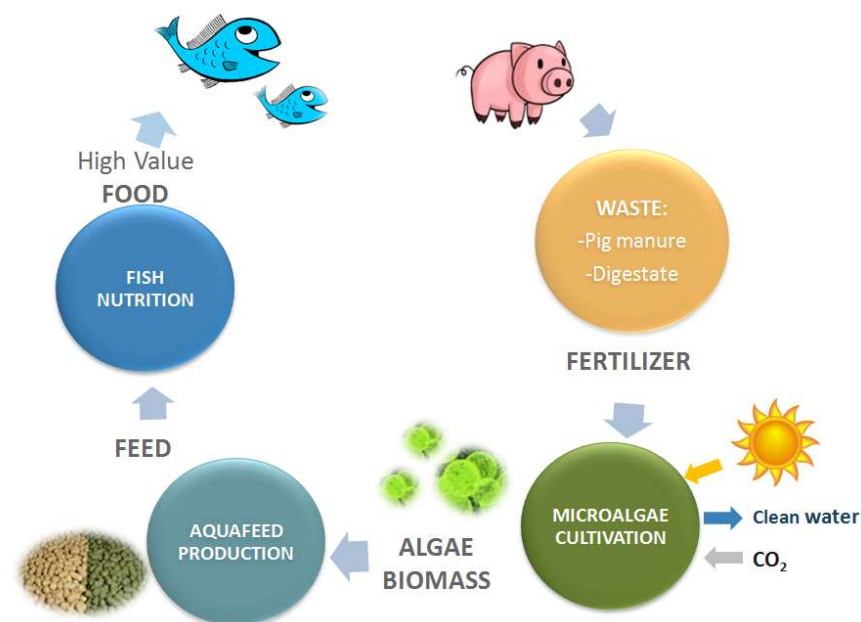


POLITECNICO
MILANO 1863



SCOPO DELLO STUDIO

- ❖ Creare a bioraffinerie basate sull'uso di microalghe per la depurazione dei reflui zootecnici abbattendo del carico di l'azoto.
- ❖ Testare il potenziale uso delle biomasse microalgali ottenute come nuovo ingrediente per l'acquacoltura, con un approccio di Economia circolare



METODOLOGIA



1.

Produzione delle microalghe in bioraffineria e caratterizzazione nutrizionale e microb.



2.

Selezione della specie ittica target



3.

Formulazione del mangime a base di microalghe



4.

Caratterizzazione nutrizionale e microbiologica del mangime



5.

Prova di alimentazione e valutazione della performance di crescita

6.

Valutazione della composizione del muscolo e del benessere del GUT

1. Produzione di Microalghe su digestato alla scala pilota



1. Produzione di Microalghe su digestato alla scala pilota



Caratteristiche del Raceway

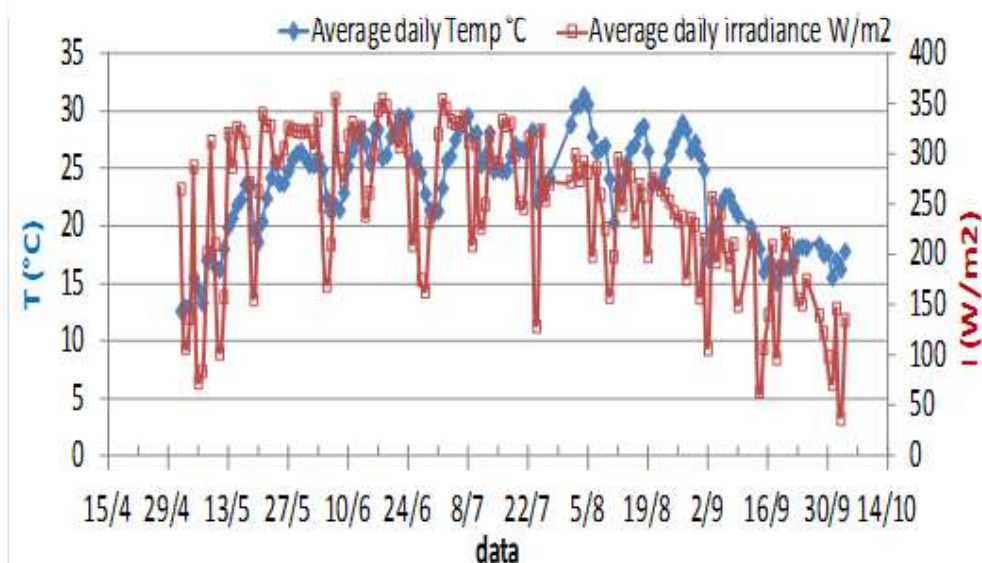
$A = 3.8\text{m}^2$ ($V = 0.9\text{m}^3$)

Pala rotante

Controllo del pH

Sump CO_2

Pompa di alimentazione



Campagna sperimentale
2018: digestato da biogas

Valutazione di:

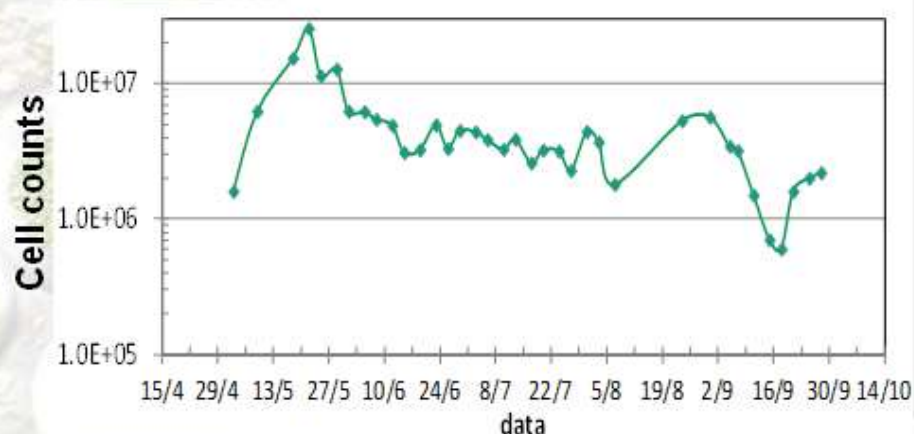
N e P

Contaminazione organica (COD)

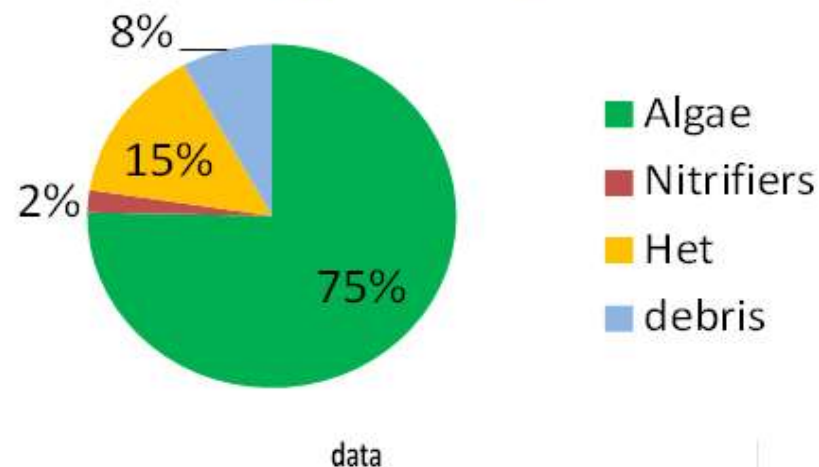
Parametri di crescita algale (conte,
TSS, OD680, torbidità)

1. Produzione di Microalghe su digestato alla scala pilota

Continuous feeding HRT = 10 d



Biomass apportioning



	TSS (g/L)	N-NH ₄ (mg/L)	N-NO ₃ (mg/L)	OD @680 (-)	sCOD (mg/L)	P-PO ₄ (mg/L)	Cond. (mS/cm)
Mean	0.2	200	3.6	0.15	658	20	3.5
Standard dev.	0.28	60	3.6	0.08	314	14	0.3

Resa della bioraffineria

Crescita stabile ma variabile nella composizione della comunità agale

Produttività media= 10gDM/m²/d durante 9 mesi= 27tDM/ha/year

Raccolta della Biomassa: durante giugno e luglio per la produzione di mangime

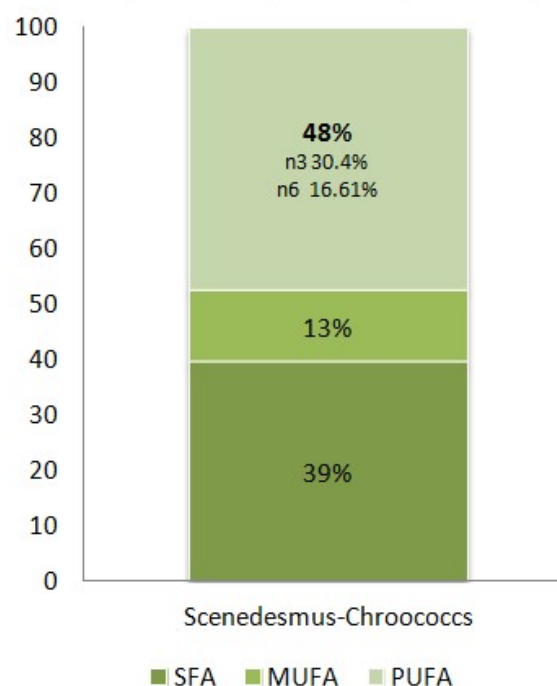


1. Caratterizzazione delle microalghe: Composizione chimica

MICROALGAE	Umidità	Proteina	Lipidi	Ceneri	Carboidrati
<i>Scenedesmus</i> <i>-Chroococcus</i>	10.1	47.4	9.6	6.8	9.7

Composizione
centesimale (g/100g)
(%) della biomassa
microalgale liofilizzata

Contenuto in Acidi Grassi
(%) della biomassa
microalgale liofilizzata



1. Caratterizzazione delle microalghe: Qualità microbiologica

MICROALGAE	<i>Scenedesmus- Chroococcus</i>
Carica batterica totale (log CFU/g)	6.0
<i>Enterobacteriaceae</i> (log CFU/g)	2.7
<i>E. coli</i> (log CFU/g)	2.5
<i>Salmonella</i> spp. (assenza/presenza in 25g)	Assente
Solfiti clostridio riduttori-spore (log CFU/g)	4.0*

* typical colonies positive to acid phosphatase test confirmed as *C. perfringens*

by conventional approach: ISO:
<https://www.iso.org/ics/07.100.30/x/>



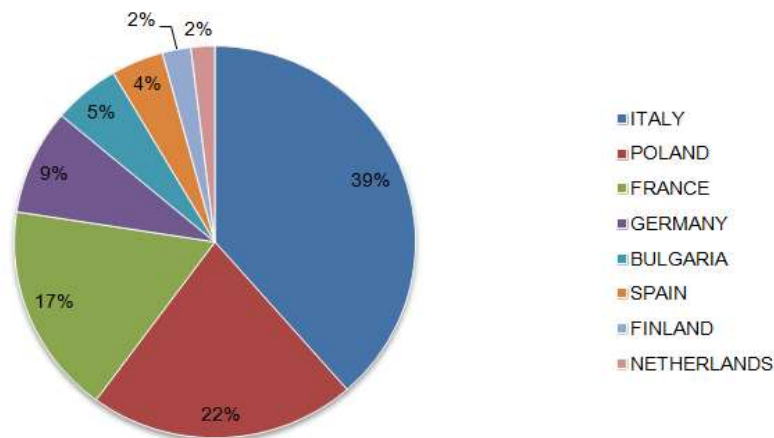
2. Selezione della specie ittica



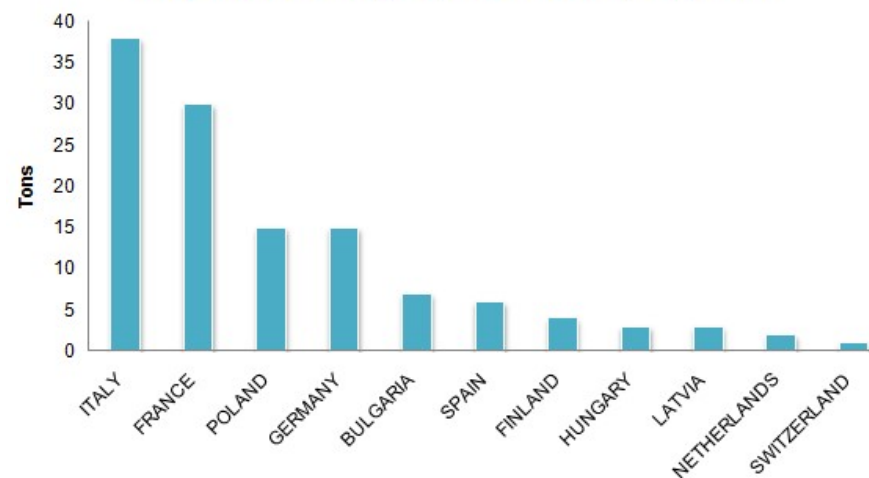
Avannotti di Storione Siberiano
Acipenser baerii

Produzione europea di Sturgeon *spp.* & Caviale

European sturgeon production: 2635 tons during the year 2016



European Caviar -Sturgeon production during the year 2016



Source: FEAP Production Report 2017

3. Formulazione del mangime a base di microalghe

	CT	SC 10
Ingredients (g/100g)		
Fish meal LT94	27.40	19.10
Soy protein oncentration	25.00	25.00
Wheat gluten	15.00	15.00
Dried Scenedesmus Chrococcus	0	10.00
Squid meal	5.00	5.00
Fish solubles CPSP 90	5.0	5.0
Krill meal	5.0	5.0
Starch	4.05	1.95
Fish oil	5.00	5.34
Soybean oil	2.70	2.76
Soy lecithin	1.00	1.00
Vitamins and minerals supplement	1.00	1.00
Guar gum	1.00	1.00
Alginate	1.00	1.00
Choline chloride	0.50	0.50
Betaine	0.50	0.50
Lisine	0.50	0.50
Metionine	0.25	0.25
Stay C Roche 0.2%	0.10	0.10



- **Composizione e contenuto energetico:** 51% proteina grezza. 14% lipidi. 16-17 MJ/kg.
- Tutti i mangimi sperimentali: **isoproteici, isolipidici and isoenergetici** ed estrusi a freddo (70 °C. 1 h)
- **Rapporto olio di pesce/olio di soia:** 60/40
- **Proteine:** 45% proteine da ingredienti di origine vegetale + 55% proteine da fonti proteiche marine e microalghe.

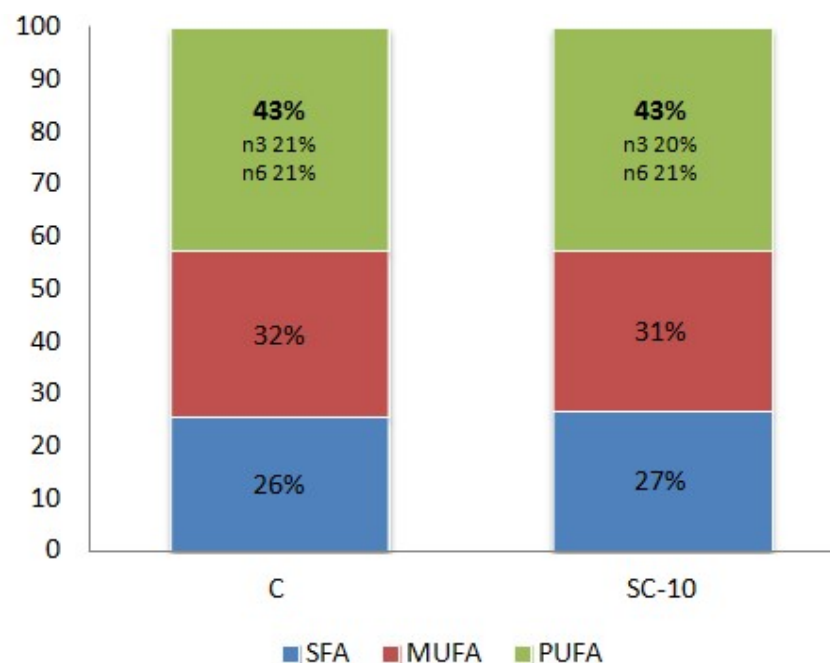


4. Caratterizzazione delle diete sperimentali: composizione nutrizionale

DIETE	Umidità	Proteine	Lipidi	Ceneri	Carboidrati
C	11.1	51.5	14.0	7.6	15.8
SC-10	10.8	51.6	14.3	7.6	15.7

Composizione
centesimale (g/100g)
delle diete
sperimentali

Contenuto in Acidi
Grassi (%) delle diete
sperimentali





4. Caratterizzazione del mangime: Qualità microbiologica

DIETE	CBT	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>E. coli</i>	Clostridi solfito riduttori-Spore	<i>Salmonella</i> spp.
	log CFU/g (SD)				
C	3.7	<2.00	<2.00	<2.00	Assente in 25g
SC-10	4.4	<2.00	<2.00	2.8*	Assente in 25g

* typical colonies positive to acid phosphatase test confirmed as *C. perfringens*

by conventional approach: ISO:
<https://www.iso.org/ics/07.100.30/x/>

5. Prova di alimentazione

Disegno monofattoriale randomizzato 2 trattamenti (diete) testati in triplicato

- Animali



96 A. baerii (IBW 12.9 ± 0.1 g)
Divisi a random in 6 gruppi/vasche

- Impianto sperimentale



6 vasche troncoconiche

(Volume 130 L)
RAS T $18.9 \pm 0.6^{\circ}\text{C}$.
salinità $1 \pm 0.02\text{‰}$.
DO $9.6 \pm 1.2\text{mg/L}$.
pH 8.1 ± 0.1 .
 $\text{NH}_4\text{-N} < 0.06\text{mg/L}$.
 $\text{NO}_2\text{-N} < 0.2\text{mg/L}$.
fotoperiodo 12:12

- Protocollo della sperimentazione

- N. pesci/vasca: 16
- Livello di razionamento: 3% g/w
- Periodo di alimentazione: 6 settimane (6/7)
- Diete offerte in due razioni giornaliere
- Pesata settimanale dei gruppi sperimentali



5. Valutazione della performance di crescita, composizione del muscolo e benessere del GUT



Alla fine della prova di alimentazione alcuni animali per tesi sono stati sottoposti a valutazioni analitiche:

6 pesci per gruppo sono stati utilizzati per la valutazione degli indici biometrici individuali, per le analisi di composizione chimica del muscolo

3 fish per group (9 per dieta) sono stati utilizzati per la valutazione istologica, TEM e SEM del GUT, dell'attività enzimatica.



5. Prova di alimentazione: performance di crescita

Alimento ingerito (AI, g)

Tasso di accrescimento specifico (TAS): $100 \times [(\ln \text{ peso finale} - \ln \text{ peso iniziale}) / \text{giorni}]$

Indice di conversione alimentare (ICA): Alimento ingerito/incremento ponderale

Tasso di ritenzione proteica (PER): Incremento ponderale/ proteina grezza ingerita

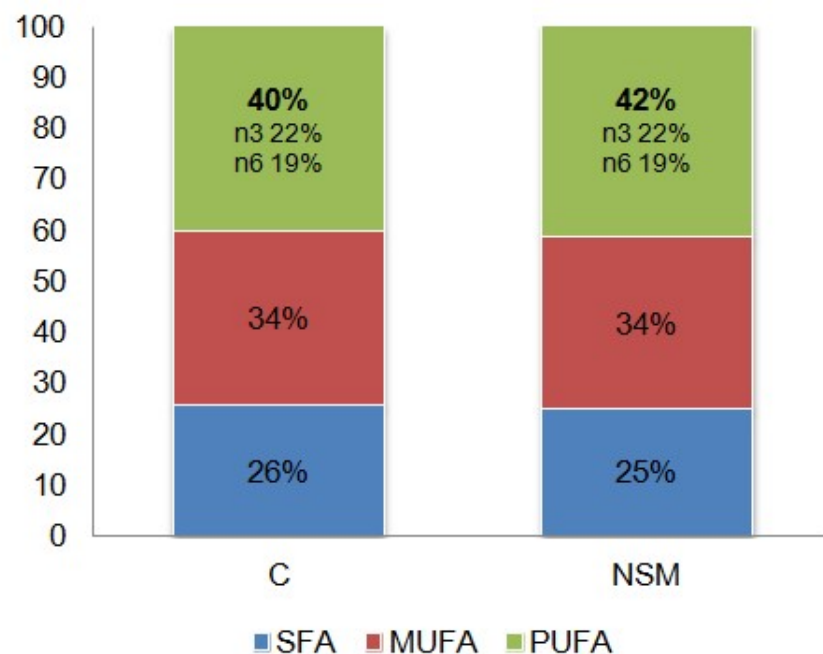
Tasso di sopravvivenza (TS, %)

	Diete	
	C	SC-10
Parametri di crescita		
Peso medio iniziale(g)	12.8±0.2	13.0±0.2
Peso medio finale (g)	44.2±1.7	43.5±2
AI(g)	346.2±3.7	341.5±1.5
TAS	3.1±0.05	3.0±0.08
ICA	0.69±0.02	0.70±0.05
PER	2.8±0.1	2.7±0.05
TS(%)	100±0.0	97.9±4.4
Indici somatici		
Lunghezza totale(cm)	25.2±1.8	23.9±1.9
Fattore di Condizione K	0.30±0.02	0.29±0.03

6. Prova di alimentazione: composizione chimica del muscolo

DIETE	Umidità	Proteine	Lipidi	Ceneri
C	79.05	16.55	3.48	0.92
Sc-10 fillet	79.3	16.6	3.13	0.9

Composizione
centesimale del muscolo
(g/100g)



	C	NSM
<i>Lipidi totali (g/100g)</i>	3.5	3.1
<i>18:2 n-6 LOA</i>	17.0	17.1
<i>20:5 n-3 EPA</i>	5.4	5.6
<i>22:6 n-3 DHA</i>	12.0	12.1
<i>n3/n6</i>	1.2	1.2

Contenuto in Lipidi (g/100g) and
Composition in acidi grassi della
porzione edule (% Lipidi Totali)

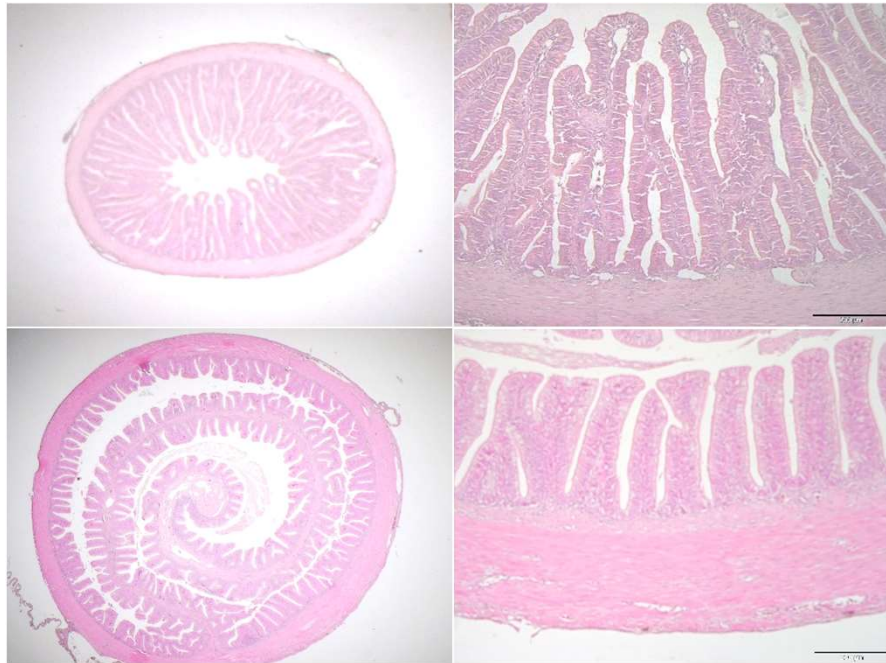
6. Benessere del GUT: attività enzimatica

		Proteasi alcalina totale	Tripsina	Chimotripsina	Leucina aminopeptidasi	Fosfatasi alcalina
PI	CT	618.8 ± 27.9 ^a	1.66 ± 0.31	8.31 ± 0.64	0.16 ± 0.01 ^b	15.8 ± 1.2
	SC 10	713.9 ± 55.3 ^b	1.90 ± 0.04	8.21 ± 0.63	0.10 ± 0.01 ^a	15.1 ± 1.7
DI	CT	673.8 ± 41.9 ^a	2.17 ± 0.20	9.85 ± 0.04 ^b	0.27 ± 0.04 ^b	13.35 ± 1.67
	SC 10	771.5 ± 25.7 ^b	2.01 ± 0.38	7.18 ± 0.26 ^a	0.11 ± 0.02 ^a	11.84 ± 1.11

p < 0.05, n = 6

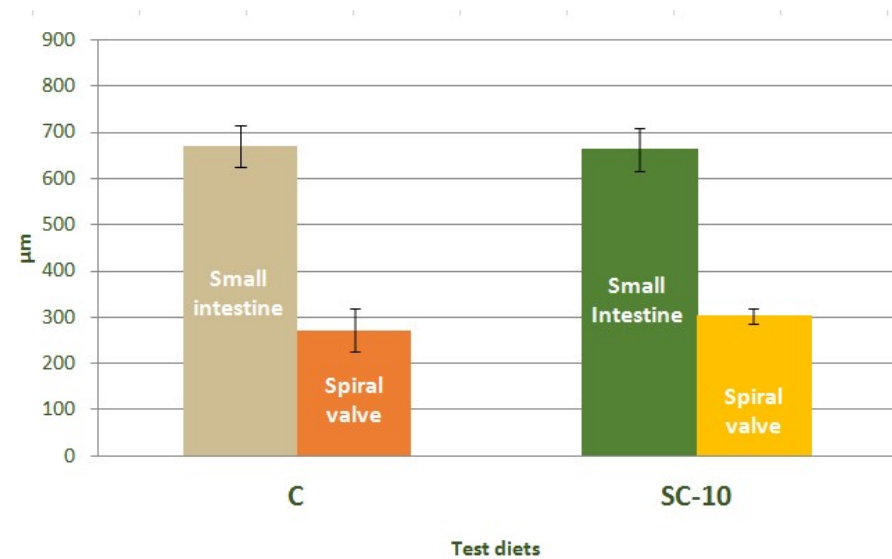


6. Benessere del GUT

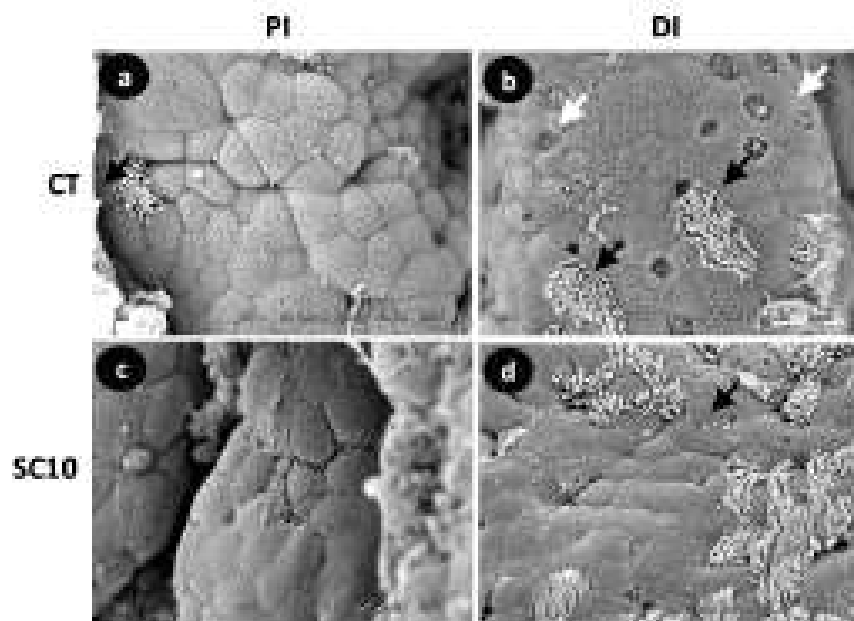


Istometria dei
villi intestinali

Aspetto Morfologico Intestino e valvola spirale di *A. baerii* alla fine della prova di alimentazione di 40 giorni



6. Benessere del GUT

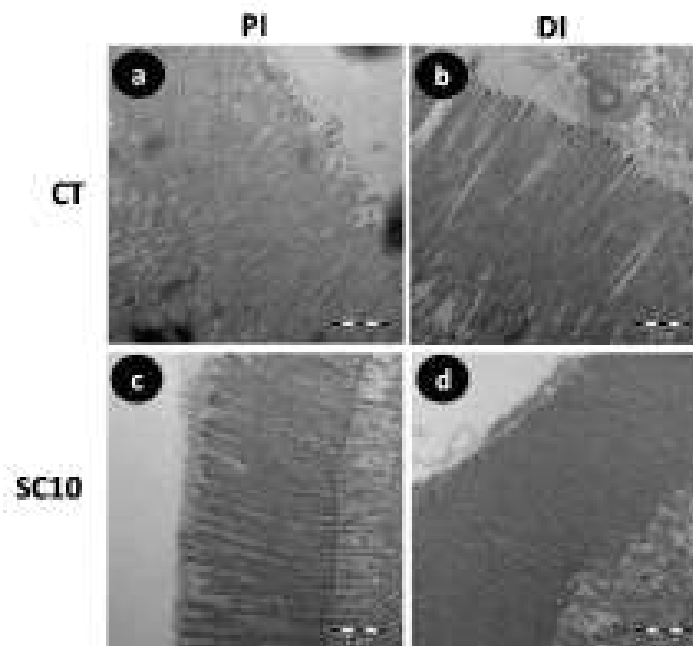


Microscopia elettronica a scansione
SEM

Intestino di avannotti di *A. baerii* alla fine della prova di alimentazione di 40 giorni

Microscopia elettronica a trasmissione
TEM

Intestino (dettaglio dei microvilli) di avannotti di *A. baerii* alla fine della prova di alimentazione di 40 giorni



Finora sono stati condotti pochissimi studi sull'uso delle microalghe negli acipenseridi e nessuno studio riguardo alle microalghe coltivate in bioraffineria, questo studio è il primo su questo argomento

Le microalghe cresciute su digestato hanno mostrato una buona produttività ($6.2 \text{ gDM m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) e capacità di rimuovere nutrienti

I risultati emersi in questo studio confermano il potenziale uso delle microalghe *Scenedesmus-Chroococcus* coltivate in bioraffineria per la produzione di mangimi per *A. baerii*

Le diete sperimentali testate hanno dato un apporto bilanciato e completo di nutrienti, in grado di assicurare sia la crescita, che la composizione muscolare che il benessere degli avannotti di storione.

Ulteriori studi sull'uso di microalghe coltivate in bioraffineria sono in corso su altre specie di interesse commerciale per verificare e confermare i dati ottenuti in questo studio e risolvere anche la criticità della composizione della parete cellulare



Grazie