

## **Colture massive di microalghe: calamità o risorsa?**

*Mario R. Tredici*

Dipartimento di Biotecnologie Agrarie - Università degli Studi di Firenze

P.le delle Cascine, 24 – 50144 Firenze

(da una lettura tenuta in occasione della giornata di studio dedicata a: “Coltura massiva delle microalghe: il contributo della scuola fiorentina” - Accademia dei Georgofili, Firenze, 30.11.2006)

### **INDICE**

<b>Le microalghe</b>	<b>pag. 1</b>
<b>Le prime colture algali ed il potenziale applicativo delle microalghe</b>	<b>pag. 2</b>
<b>I bloom algali: quando le microalghe diventano una calamità</b>	<b>pag. 3</b>
<b>I bloom algali: quando le microalghe sono una risorsa</b>	<b>pag. 6</b>
<b>Le emergenze del pianeta</b>	<b>pag. 7</b>
<b>Le microalghe: una soluzione alle emergenze globali?</b>	<b>pag. 8</b>
<b>Biotecnologia delle colture algali massive: il sistema di coltura</b>	<b>pag. 10</b>
<b>La ficosfera: è necessario comprenderla per sfruttare appieno le colture algali</b>	<b>pag. 11</b>
<b>Colture algali massive: Il contributo della scuola fiorentina</b>	<b>pag. 12</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>pag. 14</b>

### **Le microalghe**

In natura microalghe e cianobatteri sono i produttori primari nelle acque, una componente importante del “biofilm”, entrano in molte simbiosi, colonizzano rocce, suoli desertici, ghiacci polari ed alpini, e sono presenti nel suolo agrario e forestale. Gli ambienti di elezione delle microalghe sono i corpi d’acqua, sia dolce che di mare, salmastra o ipersalina dove costituiscono il fitoplancton e parte del fitobentos; sono cioè il primo anello della catena alimentare.

Le microalghe, compresi i cianobatteri che con le microalghe condividono il metabolismo bioenergetico (la fotosintesi ossigenica), ma ne differiscono per la struttura cellulare (eucariotica nelle prime, procariotica nei secondi), sono direttamente responsabili di poco meno del 50% della fotosintesi sulla terra. Tuttavia, se si considera che, secondo la teoria dell’endosimbiosi, i cianobatteri sotto forma di cloroplasti sono presenti nelle microalghe, così come nelle macroalghe e nei vegetali inferiori e superiori, in realtà tutta la fotosintesi ossigenica sulla terra è opera di questi antichi microrganismi procariotici.

## Le prime colture algali ed il potenziale applicativo delle microalghe

I primi studi sulle colture algali in laboratorio, determinanti per la comprensione dei meccanismi alla base della fotosintesi ossigenica, risalgono agli inizi dello scorso secolo. Da questi studi presero spunto le prime ricerche di carattere applicativo sulle microalghe, in particolare sulle colture massive di *Chlorella* e *Scenedesmus*, in Giappone, Germania e Stati Uniti. In Italia, gli studi sulle colture algali massive sono iniziati nel 1956 presso l'Istituto di Microbiologia Agraria e Tecnica dell'Università degli Studi di Firenze diretto dal Prof. Gino Florenzano e sono stati formalizzati nel 1963 con l'istituzione del Centro di Studio dei Microrganismi Autotrofi del CNR, di recente confluito nell'Istituto per lo Studio degli Ecosistemi (ISE).

L'obiettivo dei primi "micro-algologi applicati" era ambizioso: ottenere proteine da fonti inesauribili (acqua, sali minerali, luce solare) ed a basso costo mediante la fotosintesi algale. Se la speranza di sfamare il mondo con le colture di microalghe è andata, purtroppo, ben presto delusa ed ha in qualche modo rallentato lo sviluppo della biotecnologia delle microalghe per tutta la seconda metà del XX secolo, oggi si assiste ad una rinascita di interesse per questo gruppo microbico, specialmente in relazione al suo enorme potenziale nel campo delle energie rinnovabili, anche se altre applicazioni quali la depurazione delle acque reflue e la produzione di integratori alimentari, mangimi, *chemicals* e farmaci sono altrettanto promettenti (Tab. 1).

**Tabella 1 - Applicazioni commerciali e potenziale delle microalghe (dati 2006)**

Prodotto o processo	Specie e quantità prodotta per anno	Sistema di coltura	Stadio
Integratori alimentari, mangimi	<i>Arthrospira</i> (3000 t) <i>Chlorella</i> (2000 t) <i>Dunaliella</i> (1200 t) <i>Aphanizomenon</i> (500 t) <i>Haematococcus</i> (300 t)	Lagune Vasche "raceway" Vasche circolari Fotobioreattori	Commerciale
Pigmenti (carotenoidi, ficobiliproteine)	<i>Dunaliella</i> <i>Arthrospira</i> <i>Haematococcus</i>	Lagune Vasche raceway Fotobioreattori	Commerciale
Acidi grassi ω3 (DHA)	<i>Schyzochitrium</i> (10 t di olio) <i>Cryptocodinium</i> (240 t di olio)	Fermentatori (10-100 m <sup>3</sup> )	Commerciale
Traccianti fluorescenti, molecole marcate, enzimi di restrizione	<i>Arthrospira</i> <i>Anabaena</i> <i>Anacystis</i>	Fermentatori Fotobioreattori axenici	Commerciale
Trattamenti acque di scarico (HRAP)	<i>Scenedesmus</i> Colture miste	Lagune Vasche raceway	Commerciale
Biomassa per acquacoltura	Varie specie	Vasche, sacchi, cilindri, fotobioreattori	Commerciale
Polisaccaridi			Ricerca
Biofertilizzanti			Ricerca
Molecole bioattive (farmaci, biopesticidi, probiotici, ecc.)			Ricerca
Biosensori e sun-screens			Ricerca
Biorisanamento di acque inquinate da xenobiotici, metalli pesanti, ecc.			Ricerca
Biofissazione della CO <sub>2</sub>			Ricerca
Energia (biodiesel, H <sub>2</sub> )			Ricerca

### **I bloom algali: quando le microalghe diventano una calamità**

Quando nei corpi d'acqua, luce e temperatura sono adeguate ed i nutrienti, specialmente azoto e fosforo, non limitanti, le microalghe possono crescere fino a raggiungere concentrazioni di centinaia di milioni di cellule per millilitro. Questa condizione è ricercata nelle colture artificiali (anche commerciali) dove l'obiettivo primario è mantenere un'unica specie dominante ed una concentrazione cellulare in grado di intercettare tutta la luce incidente e massimizzare la produttività. Quando elevate concentrazioni di cellule di una o poche specie algali si manifestano nei corpi idrici naturali, si hanno le "fioriture" o "bloom", fenomeni che raramente presentano carattere positivo. Il sito della NASA <http://oceancolor.gsfc.nasa.gov/SeaWiFS/> offre un'ampia panoramica di immagini satellitari di estesi bloom oceanici (Fig. 1).

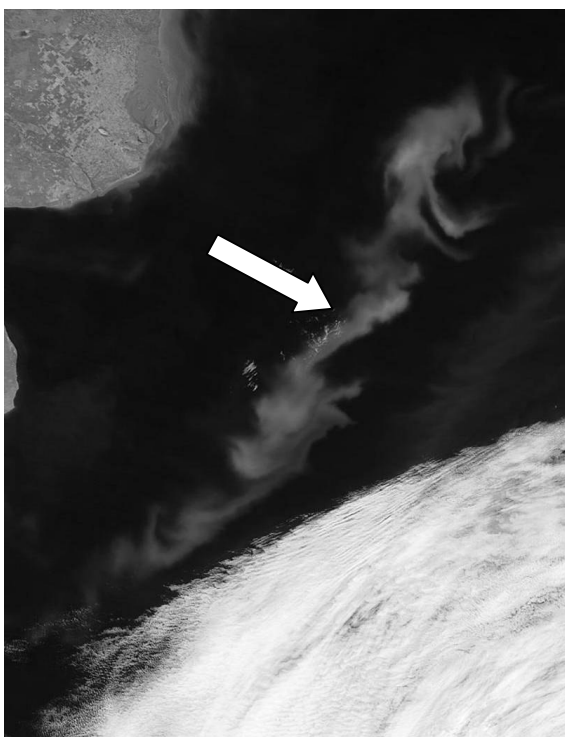


Figura 1 - Bloom algale al largo delle coste argentine (<http://oceancolor.gsfc.nasa.gov/SeaWiFS/>)

Assieme all'eutrofizzazione che porta nutrienti nelle acque, anche il riscaldamento della terra favorisce i bloom algali. Nella dinamica dei bloom e soprattutto nella loro insorgenza, intervengono meccanismi complessi che implicano non solo l'innalzamento della temperatura, ma anche la fertilizzazione degli oceani ad opera delle tempeste di sabbia, più frequenti e di maggiore estensione in questa fase di riscaldamento globale (Jickells et al., 2005). In Italia, fioriture di alghe produttrici di polisaccaridi (mucillagini) hanno interessato le coste del nord Adriatico negli anni '80 con gravi ripercussioni sul turismo, e colpiscono ancora oggi pesantemente alcune zone costiere del Salento la cui economia rischia, per questo motivo, il collasso (Lecce Prima, 12.05.2007). In genere le fioriture hanno carattere stagionale e causano, oltre a danni di natura estetica, gravi alterazioni chimico/fisiche dell'acqua in seguito alla variazione dell'equilibrio dei gas disciolti

ed al rilascio di enormi quantità di sostanza organica, con gravi conseguenze per la vita animale e l'uso civile ed agricolo delle acque interessate.

Non è infrequente che i bloom algali siano costituiti da specie in grado di produrre tossine. Si conoscono numerose tossine di origine algale in grado di aggredire il sistema nervoso (neurotossine) e danneggiare il fegato (epatotossine) ed altri organi e sistemi degli animali superiori (Tab. 2). Due gruppi particolarmente ricchi di specie tossiche sono i cianobatteri ed i dinoflagellati. Tra i primi è da ricordare *Mycrocystis*, una specie coloniale che produce epatotossine (dette microcistine) di elevata potenza e pericolosità. Casi recenti di particolare gravità sono dovuti a *Pfiesteria piscicida*, un dinoflagellato che ha causato la morte di centinaia di milioni di pesci lungo la costa Atlantica degli Stati Uniti. Nei mari di Toscana e Liguria, nelle ultime estati, si sono verificate numerose fioriture di *Ostreopsis ovata*, un dinoflagellato di origine tropicale che produce sostanze tossiche che veicolate dall'aerosol marino aggrediscono le vie respiratorie e causano malori e vertigini. Le conseguenze delle fioriture algali tossiche possono essere molto serie, con danni incalcolabili alla pesca ed alla molluschicoltura, e la necessità di costose campagne di monitoraggio dei bacini di approvvigionamento di acqua potabile al fine di evitare grossi rischi per la salute pubblica.

Il problema più attuale, e per il momento di più difficile interpretazione, che chiama in causa le tossine cianobatteriche è la SLA (sclerosi laterale amiotrofica) (<http://www.cism.unifi.it>). Nota come morbo di Lou Gehrig, giocatore americano di baseball morto di SLA nel 1941, la malattia si manifesta con debolezza generale che progredisce fino a completa paralisi di braccia, gambe e tronco. I malati di SLA muoiono dopo 2-6 anni dai primi sintomi per incapacità a deglutire o respirare. L'autopsia del midollo e del tessuto cerebrale rivela la morte dei neuroni motori. In Italia, questa sindrome è arrivata più volte sulle pagine di cronaca. Uno studio su 24.000 atleti condotto negli anni '90 ha dimostrato che il morbo di Gehrig colpiva i calciatori con una incidenza di oltre 12 volte rispetto alla popolazione. Che rapporto esiste tra SLA e calcio? Sono implicati gli integratori? Sono interrogativi ai quali nemmeno il lavoro puntiglioso del procuratore della Repubblica di Torino, Raffaele Guariniello, è riuscito a dare risposta. Ma perché chiamare in causa i cianobatteri? L'associazione è inevitabile, anche se difficile da provare, visto che ad oggi i cianobatteri sono i soli produttori noti di BMAA ( $\beta$ -N-metilamino-L-alanina), un aminoacido non proteico con azione neurotossica che secondo alcuni ricercatori americani entrerebbe nell'organismo attraverso la catena alimentare e sarebbe all'origine della SLA e di una sua variante, la SLA-demenza di Guam (SLA/PD) (Cox et al., 2005). A sostegno della loro ipotesi gli autori americani citano i numerosi casi di SLA/PD verificatisi tra i Chamorro di Guam. I maschi cacciatori di questa etnia assumerebbero la molecola attraverso una catena alimentare che inizia con i cianobatteri e culmina con pipistrelli frugivori del genere *Pteropus*. E' stato infatti provato che i cianobatteri del genere *Nostoc* simbionti radicali nelle *Cycas* sono i produttori primari della BMAA. La tossina rilasciata dal cianobatterio passa nella radice della pianta ospite per concentrarsi poi nei frutti dei quali si nutrono i pipistrelli. I pipistrelli erano attivamente cacciati (negli ultimi anni tale attività si è molto ridotta o è forse scomparsa) dai Chamorro e mangiati per intero. L'ipotesi che l'introduzione della molecola possa avvenire non per via alimentare, ma infettiva, è stata avanzata di recente (Stipa et al., 2006)

per spiegare casi di SLA legati a sport traumatici (ad esempio il calcio) che si svolgono in presenza di suolo, o ad attività fisica in ambiente rurale. In attesa di chiarire l'eziologia di tanto devastante malattia e nella speranza di scagionare i cianobatteri, microrganismi ubiquitari ed alla base delle catene trofiche marine, le ipotesi di Cox et al. (2005) e di Stipa et al. (2006) costituiscono un motivo in più per cercar di porre un limite alla diffusione dei bloom algali ed alla eutrofizzazione delle acque da cui dipende il loro sviluppo.

**Tabella 2 - Principali tossine da cianobatteri e microalghe e loro azione sull'uomo e sull'ambiente.**

Tossina	Azione della tossina	Organismi produttori	Danni già registrati o potenziali
anatotossine	neurotossina	cianobatteri	intossicazioni e morie di bestiame e fauna selvatica
$\beta$ -metilamino-L-alanina	neurotossina	cianobatteri	possibile coinvolgimento in malattie neurodegenerative (SLA, Alzheimer)
saxitossina e neo-saxitossina	neurotossina (PSP)	cianobatteri e dinoflagellati	intossicazione umana (>2000 casi/anno); contaminazione di allevamenti di molluschi; morie di bestiame e fauna selvatica
microcistine, nodularine e cilindrospermopsina	epatotossine, promotori tumorali	cianobatteri	casi mortali di intossicazione da dialisi con acqua contaminata; possibili danni per esposizione cronica; intossicazione di bestiame; morie di pesci; contaminazione di bacini di riserva idrica e di acque ricreative
lingbiatossina, aplisiatossina, debromoaplisiatossina	dermotossine, promotori tumorali	cianobatteri	dermatiti da contatto in subacquei
ciguatossine	neurotossine (CFP)	dinoflagellati	intossicazione umana (>50000 casi/anno) sia per ingestione che per inalazione; contaminazione di pesci
brevetossina	neurotossina (NSP)	dinoflagellati	intossicazione umana per ingestione e inalazione; contaminazione di allevamenti di molluschi; morie di pesci e fauna selvatica
azaspiracidi	effetti tipo neurotossico e gastrointestinale	dinoflagellati	contaminazione di allevamenti di molluschi; possibile intossicazione umana
acido okadaico, dinofisisistossina, yessotossina, pectenotossina	tossine diarroiche (DSP), promotori tumorali	dinoflagellati	intossicazione umana per ingestione; contaminazione di allevamenti di molluschi
sconosciuta	"sindrome dell'estuario", effetti neurologici e dermatologici	<i>Pfiesteria piscicida</i> (dinoflagellato eterotrofo)	massicce morie di pesci; intossicazione umana per inalazione ancora da confermare
acido domoico	neurotossina (ASP)	diatomee	raramente intossicazione umana per ingestione e inalazione; possibile contaminazione di allevamenti di molluschi; morie di fauna selvatica

PSP, paralytic shellfish poisoning; CFP, Ciguatera fish poisoning; NSP, neurotoxic shellfish poisoning; ASP, amnesic shellfish poisoning; DSP, diarrhetic shellfish poisoning

### **I bloom algali: quando le microalghe sono una risorsa**

Anche se ridotti in numero ed entità rispetto a quelli dannosi, non mancano i casi di bloom algali sfruttati dall'uomo. Ad esempio, i bloom di *Arthrospira platensis* (spirulina) sono abbastanza frequenti nelle acque alcaline di tutti i continenti ed in alcuni casi vengono utilizzati a scopo alimentare dalle popolazioni locali. A Myanmar (ex Burma) la raccolta stagionale del bloom di spirulina da alcuni bacini di origine vulcanica ha dato vita ad una piccola attività industriale. Sulle sponde orientali del lago Ciad, le popolazioni Kanembu sfruttano da secoli questa risorsa con evidenti benefici nutrizionali e sociali (Abdulqader et al., 2000) (Fig. 2). Degno di nota è lo sfruttamento del bloom stagionale di *Aphanizomenon flos-aquae* nel Klamath lake (Oregon, USA) per ottenerne un integratore (le alghe AFA) di largo consumo negli USA e che si va diffondendo anche in Europa. Questa attività suscita qualche preoccupazione sanitaria sia in quanto *A. flos-aquae* in certe condizioni produce tossine, sia perché le biomasse raccolte dal lago potrebbero essere contaminate da altri cianobatteri tossici. I controlli delle aziende che operano sul Klamath sono comunque rigorosi.



Figura 2 - Raccolta di *A. platensis* dal lago Kossorom (Ciad) (da Abdulqader et al., 2000)

### **Le emergenze del pianeta**

Sono quattro le emergenze che l'umanità dovrà affrontare nei prossimi decenni: fame, carenza d'acqua, esaurimento dei combustibili fossili e cambiamento climatico globale. Più per egoismo e miopia che per reale mancanza di alimenti o di adeguate tecnologie, la fame, soprattutto in Africa, è ben lontana dall'essere sconfitta. La carenza di cibo affligge poco meno di un miliardo di persone ed il Direttore Generale della FAO Jacques Diouf non ha potuto che riconoscere il fallimento del piano d'interventi che mirava a dimezzare il numero di sottoalimentati entro il 2015 (<http://www.fao.org>). Un'emergenza che non sempre trova adeguato spazio sui media è la carenza d'acqua. Accedere a risorse d'acqua potabile o da destinare ad usi agricoli ed industriali sarà sempre più difficile e costoso e, nonostante un abitante della terra su cinque non abbia sufficiente acqua potabile per le sue necessità vitali (<http://www.unicef.it>), ancora troppo poco si fa per ridurre l'inquinamento delle fonti di approvvigionamento e combattere gli sprechi. L'emergenza energetica

ed il cambiamento climatico invece, vuoi perché colpiscono l'immaginario collettivo facendo presagire immani catastrofi globali, vuoi perché mettono in discussione il nostro stile di vita, sono sempre più spesso sulle prime pagine dei giornali. Sulle riserve energetiche fossili i pareri sono contrastanti (<http://www.aspoitalia.net>). Secondo alcuni il picco del petrolio (picco di Hubbert) è stato raggiunto e siamo già entrati nella fase di decrescente disponibilità di combustibili fossili dei quali si prevede l'esaurimento nel giro di qualche decennio. Secondo altri non sono da temere crisi energetiche nel breve e medio termine, stante le enormi riserve di carbone e di petrolio negli scisti bituminosi. In ogni caso sono terminati gli anni dell'energia fossile a buon mercato ed è urgente, soprattutto per motivi ambientali, trovare fonti alternative che non possono che essere rinnovabili. La vera emergenza globale che colpisce indiscriminatamente paesi ricchi e meno ricchi e le cui conseguenze sono sotto i nostri occhi quasi quotidianamente sotto forma di alluvioni, isole da evacuare, coste che scompaiono, deserti che avanzano, calotte polari e ghiacciai che arretrano, ed inesorabile perdita di biodiversità, è il riscaldamento climatico. Le conclusioni del *Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC) alla recente Conferenza Internazionale sul Clima e l'Ambiente di Parigi (2-3 Febbraio 2007) non lasciano dubbi quanto a cause e conseguenze: il riscaldamento globale è dovuto all'attività antropica e condizionerà pesantemente lo sviluppo della nostra civiltà nel prossimo futuro (<http://www.qualenergia.it>).

### **Le microalghe: una soluzione alle emergenze globali?**

Le colture algali massive possono darci una mano a ridurre l'impatto delle sopra citate emergenze. Tale mia convinzione si basa su dati di fatto. L'efficienza di conversione dell'energia solare in biomassa delle colture algali, e quindi la produttività per ettaro, è molto maggiore di quella ottenibile con le colture tradizionali. Ad esempio, da un ettaro di girasole o di colza si possono produrre 700-1000 kg di olio per anno, mentre le colture algali, se realizzate in adeguati impianti a reattori chiusi o "fotobioreattori" (Fig. 3), possono superare, nelle nostre regioni centrali e meridionali, le 20 tonnellate di olio per ettaro e per anno ed hanno un potenziale di oltre 30 tonnellate nei paesi tropicali (Rodolfi et al., 2007). Le colture algali non competono con le colture agrarie per terreni fertili, non richiedono pesticidi e si possono realizzare su acqua di mare o su acque reflue da dove, in sinergia con i batteri associati, le microalghe prelevano i nutrienti che riciclano in biomassa dalla quale è poi possibile ottenere mangimi proteici o fertilizzanti oltre che biocombustibili. Le colture algali consumano grandi quantità di CO<sub>2</sub> (circa due chilogrammi di CO<sub>2</sub> per ogni chilogrammo di biomassa algale prodotta) ed è dimostrato che possono efficientemente prelevarla dai fumi di combustione delle centrali termoelettriche. Va infine ricordato come le microalghe produttrici di molecole bioattive (tra cui le citate tossine) siano una fonte di antibiotici, antitumorali, antivirali, antiossidanti ed immunostimolanti a cui l'industria farmaceutica e cosmetica guardano con crescente interesse. Sul versante delle energie rinnovabili, le colture algali costituiscono una delle soluzioni di maggiore potenziale e sostenibilità. Se tecnologie quali la produzione di idrogeno, oggetto di attiva ricerca a Firenze, necessitano ancora di studi di base per superare i limiti insiti nel biochimismo delle idrogenasi (Torzillo et al., 2007), altre applicazioni,

come ad esempio la produzione di olio combustibile (o biodiesel), metano ed etanolo, appaiono alla nostra portata.

Tuttavia, quando si prospettano le colture algali come fonte di biocombustibili o sistemi per abbattere le emissioni di gas serra è necessario premettere, sulla base degli elementi scientifici disponibili, quanto si sia ancora lontani dall'obiettivo. Le numerose iniziative di carattere prettamente commerciale nate a questo proposito negli Stati Uniti (si veda ad esempio: <http://www.greenfuelonline.com>; <http://www.greenshift.com>; <http://www.infinifuels.com>; <http://www.petroalgae.com>; <http://www.solixbiofuels.com>; <http://www.valcent.net>), in Europa (<http://www.algaefuels.org>; <http://www.biofuel-systems.com>) e più di recente anche in Italia (Nuovo Quotidiano di Puglia, 4 Aprile 2007) sono da ridimensionare. L'opinione della maggior parte degli algologi applicati, da me ampiamente condivisa, è che la messa a punto di processi a microalghe competitivi sul mercato dei "biofuels" richiederà non meno di dieci anni ed il verificarsi di una serie di condizioni favorevoli, non tutte di carattere esclusivamente tecnico. Nella maggioranza delle iniziative sopra citate, i bilanci energetici ed economici (quando riportati) si basano su impianti ipotetici o reattori mai sperimentati su scala e per tempi adeguati. Spesso si assume che le efficienze di fotosintesi ottenute in laboratorio a bassa irradianza siano conseguibili anche a pieno sole, ed in qualche caso, più o meno consciamente, si utilizzano nel bilancio energetico ed economico del processo valori di produzione di biomassa algale per unità di superficie impegnata che superano persino il valore teorico di efficienza della fotosintesi ossigenica. Si trascurano problemi come la fotoinibizione (cioè che le elevate irradianze danneggiano i fotosistemi) e la fotoacclimatazione (cioè che le cellule in coltura densa accumulano pigmenti in largo eccesso) che fortemente limitano la produttività delle colture algali massive all'aperto (Tredici, 2006), così come si sottovaluta la difficoltà di mantenere, anche in reattori chiusi, colture unialgali per lunghi periodi. Si trascura in sostanza che le colture algali massive sono una biotecnologia relativamente nuova e complessa, per certi aspetti più vicina all'acquacoltura che alle colture tradizionali su terra, e che pertanto il suo trasferimento su larga scala (centinaia o migliaia di ettari) al mondo agricolo, chiaramente non preparato per riceverla, richiederà ancora anni di ricerca, sperimentazione, formazione ed enormi investimenti. Sostenere che i biocombustibili da microalghe sostituiranno a breve quelli di origine fossile non solo genera false aspettative, sia nel pubblico che nel privato, ma rischia di interrompere lo sviluppo di una biotecnologia che invece merita di essere portata dal laboratorio sul mercato perché molto può fare per alleviare le emergenze che minacciano il nostro futuro. Va detto a chi propone le colture algali a scopi bioenergetici come tecnologia pronta per l'applicazione commerciale, che è ancora da dimostrare che una coltura algale massiva di larga scala possa fissare sotto forma utile più energia di quanta ne consumi. E non parlo dell'energia solare, ma di quella necessaria per agitare la coltura, separare dal mezzo le microscopiche cellule algali, seccare la biomassa ed estrarre l'olio o la frazione combustibile, senza dimenticare l'energia contenuta nei materiali utilizzati per costruire i reattori e le strutture accessorie. Solo una gestione attenta delle risorse, l'impiego di CO<sub>2</sub> da combustione come fonte di carbonio e di acque reflue come fertilizzante, l'adozione di reattori di bassissimo costo di costruzione e gestione per unità di superficie ed un'attenta



valorizzazione di tutti i costituenti della biomassa dopo estrazione dell'olio, potrà far tornare i conti. Il risultato dipenderà anche dal possesso di un solido *know-how* sulla coltura massiva all'aperto della particolare specie algale selezionata per sostenere il processo, da condizioni climatiche estremamente favorevoli, da adeguate infrastrutture e da una accurata messa a punto dell'intero processo in impianti pilota e dimostrativi di opportune dimensioni.

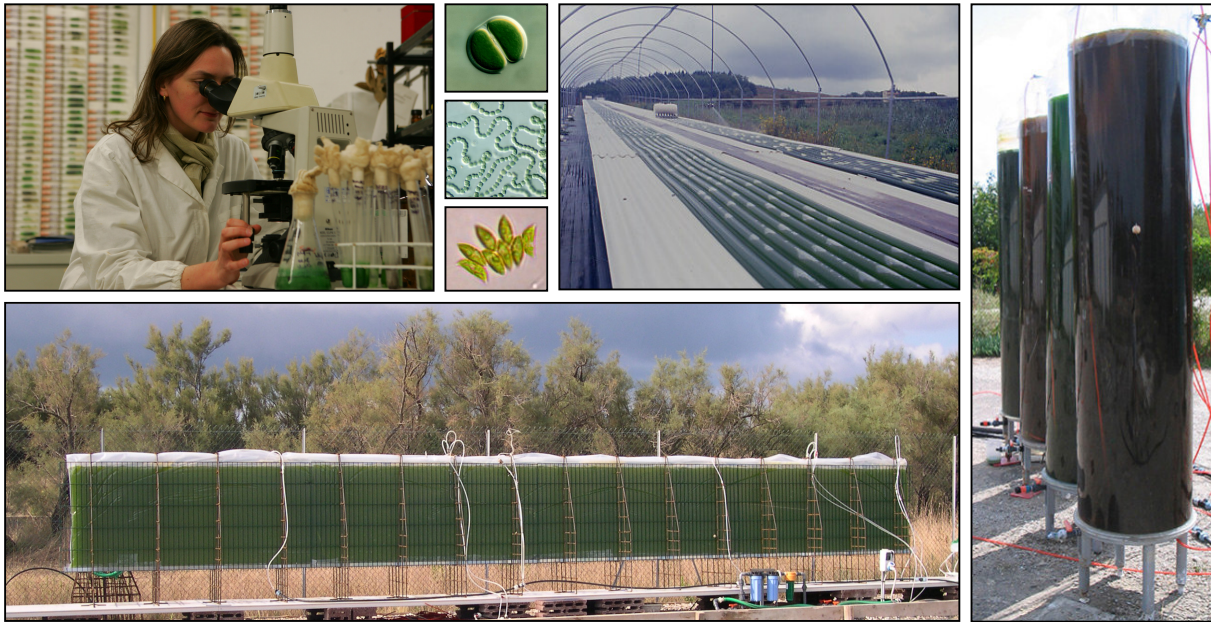


Figura 3- In alto a sinistra: parte della collezione di cianobatteri dell'ISE e del Dipartimento di Biotecnologie Agrarie. In basso ed a destra: fotobioreattori per colture algali massive progettati dai ricercatori del Dipartimento di Biotecnologie Agrarie di Firenze e commercializzati da F&M srl ([www.femonline.it](http://www.femonline.it)).

Convinti del potenziale delle microalghe, ma consci della lunga strada da percorrere, alcuni algologi del Dipartimento di Biotecnologie Agrarie, assieme a ricercatori del Dipartimento di Ingegneria Civile ed Ambientale dell'Università di Firenze, e giovani realtà del mondo imprenditoriale fiorentino (tra cui Agroils S.r.l. e F&M S.r.l.) stanno lavorando al progetto *W to 4F* (*Waste to feed, fertilizer, food and fuel through microalgae cultivation*) con l'obiettivo di valutare, attraverso impianti pilota di adeguate dimensioni, il reale potenziale delle colture algali massive per la produzione di biocombustibili (olio algale e/o biodiesel), mangimi, fertilizzanti ed integratori alimentari utilizzando acque reflue e CO<sub>2</sub> da gas di combustione. Tutte le fasi del processo (dalla selezione di ceppi algali adatti alle condizioni locali, alla scelta dei reflui, alla raccolta ed estrazione della biomassa, alle forme di utilizzo della biomassa residua) sono sottoposte ad attenta valutazione nei vari scenari possibili. Il progetto *W to 4F* pone il gruppo fiorentino tra le realtà europee in grado di competere con le grandi Università e gli spin-off americani nel settore delle energie rinnovabili da colture algali.

### **Biotechnologia delle colture algali massive: il sistema di coltura**

Lo sfruttamento delle microalghe non può prescindere da un adeguato sistema di coltura. Sebbene inizialmente sia stata data preferenza ai reattori chiusi (con tipologie in genere derivate dai dispositivi usati in laboratorio per gli studi sulla fotosintesi), oggi negli impianti commerciali ci si affida prevalentemente ai bacini aperti, più economici e facili da gestire. Tra questi, la vasca “raceway” è la più diffusa (Fig. 6). I bacini aperti, tuttavia, presentano seri limiti tra cui emergono il difficile controllo dei contaminanti, la perdita di ingenti quantitativi di acqua per evaporazione (100-200 m<sup>3</sup> per ha al giorno) e le forti variazioni di salinità conseguenti l’apporto di acqua piovana che compromettono la stabilità del sistema. Di sistemi chiusi (fotobioreattori) ne esistono varie tipologie, distinte per materiale costruttivo (vetro, lastre di plastica rigida, film plastici flessibili), orientamento, inclinazione, sistema di agitazione (Tredici, 2004). Anche se di costo maggiore ed ancora non ottimizzati, la biotecnologia algale sembra ormai puntare sui sistemi chiusi che conseguono più elevate produttività areali e consentono la coltura di quelle specie che, non crescendo su mezzi selettivi, sono difficili da mantenere come colture unialgali nei bacini aperti.

### **La ficosfera: è necessario comprenderla per sfruttare appieno le colture algali**

Una coltura algale costituisce un piccolo ecosistema: i nutrienti (minerali e/o organici) disciolti nel mezzo di coltura o nelle acque di rifiuto utilizzate come substrato colturale, vengono metabolizzati (ed in parte mineralizzati se organici) dai batteri e quindi nuovamente assimilati (organici) dalle microalghe assieme alla CO<sub>2</sub> prodotta dalla respirazione batterica e/o introdotta dall’esterno. A loro volta le microalghe durante la crescita non solo producono nuova sostanza organica, ma anche ossigeno, elemento essenziale per l’attività batterica. Analogamente a quanto avviene nella biosfera, è l’energia solare a sostenere l’intero ciclo e “nobilitare”, riportandoli ad un livello energetico più elevato (la biomassa algale), i nutrienti organici e minerali presenti nelle acque attraverso l’azione delle alghe e dei batteri associati. Oltre a questa interazione di tipo bioenergetico-nutrizionale, altri sottili meccanismi chimico/fisici, che per lo più sfuggono alla nostra comprensione, regolano la funzionalità del consorzio microbico. A questo secondo livello, più intimo e complesso, svolgono un ruolo importante le molecole “bioattive” prodotte dall’alga che stimolano alcuni batteri e ne inibiscono altri (Fig. 4), e molecole segnale che interferiscono con i meccanismi di regolazione *quorum sensing* dei batteri e potrebbero essere responsabili di PCD (*programmed cell death*). Quest’ultimo fenomeno di recente scoperto, che potrebbe spiegare la scomparsa del fitoplancton nei mari non giustificata da predazione e sedimentazione, sembra essere legato a situazioni di stress nutrizionale od ossidativo, ed in alcuni casi (ad es. la scomparsa dei bloom di *Emiliana huxleyi* e gli improvvisi collassi delle colture di *Chlorella*) determinato da infezioni virali. Ne deriva che per conseguire elevata produttività e stabilità di processo e quindi sfruttare appieno le colture massive algali “non axeniche” si dovranno comprendere e volgere a nostro vantaggio le complesse interazioni tra cellule algali, batteri ficosferici (epifiti o che vivono in stretta relazione con le cellule algali) e virus.

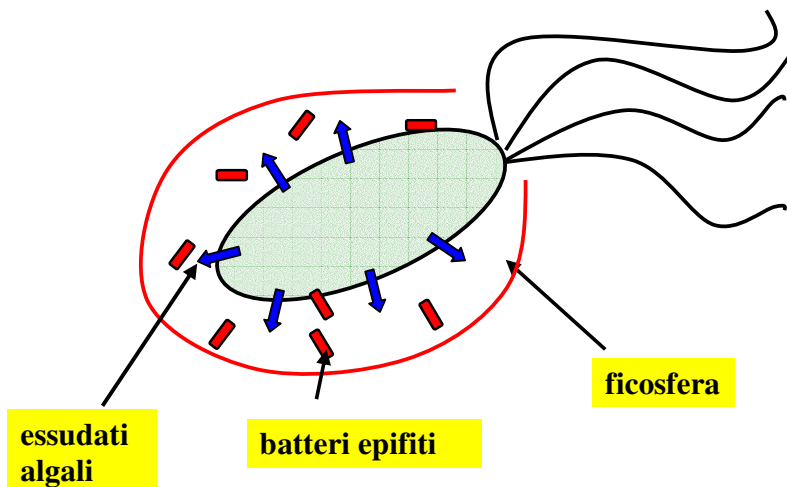


Figura 4 - La ficosfera. Le microalghe rilasciano sostanze (essudati) che favoriscono lo sviluppo dei batteri epifiti che a loro volta producono sostanze stimolanti la crescita algale.

#### **Colture algali massive: Il contributo della scuola fiorentina**

Le ricerche della scuola fiorentina, iniziate a metà degli anni '50 (Florenzano, 1956), hanno interessato tutti i settori della micro-algologia di base ed applicata. Agli studi sulla tassonomia ed eco-fisiologia si sono affiancati studi sulle applicazioni delle microalghe nel trattamento di reflui, in acquacoltura, nella produzione di pigmenti, polisaccaridi, acidi grassi e molecole bioattive. Più di recente sono state attivate linee di ricerca sui combustibili rinnovabili (idrogeno, oli combustibili, biodiesel). Particolare attenzione è stata rivolta alla massimizzazione dell'efficienza fotosintetica ed ai sistemi di coltura. Le ricerche in questo ultimo settore hanno portato alla progettazione e sperimentazione di varie tipologie di fotobioreattori, alcuni dei quali sono stati studiati ed applicati anche in altri paesi tra cui Australia, Israele e Stati Uniti (Fig. 5). Alcuni dei reattori realizzati sono commercializzati da Fotosintetica & Microbiologica S.r.l. (<http://www.femonline.it>), spin-off universitario nato nel luglio del 2004 per valorizzare le tecnologie messe a punto presso il Dipartimento di Biotecnologie Agrarie.

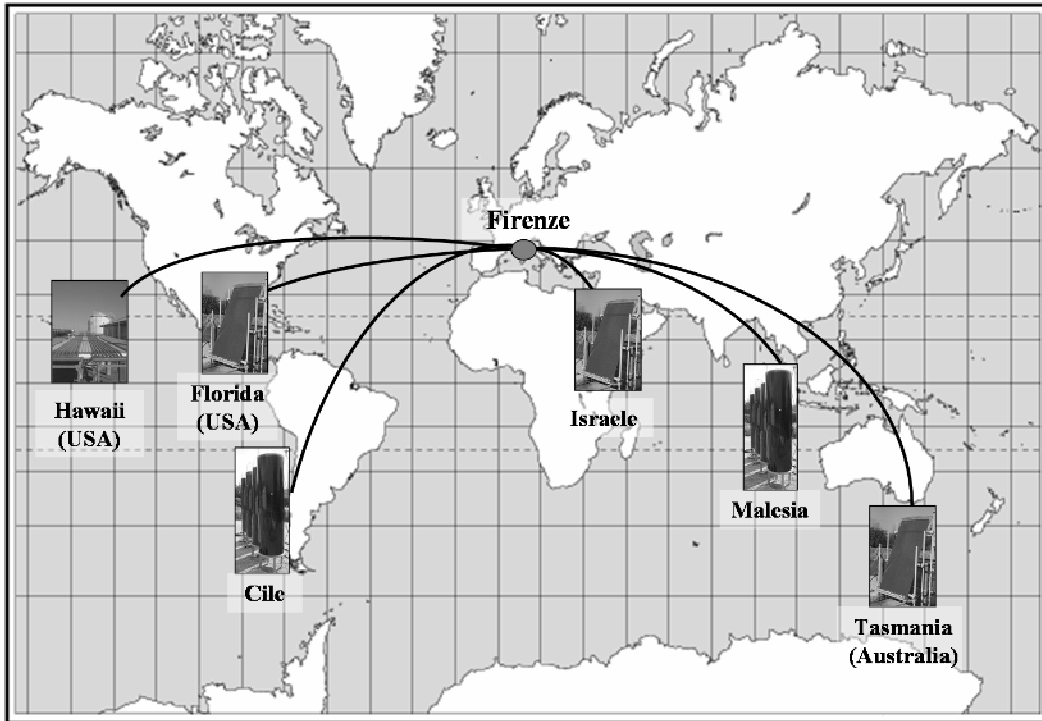


Figura 5 - Diverse tipologie di fotobioreattori (reattori NHTR, pannelli alveolari, colonne anulari) progettati e sperimentati presso il Dipartimento di Biotecnologie Agrarie dell'Università di Firenze che sono stati utilizzati in altri paesi.

I gruppi di ricerca fiorentini del Dipartimento e dell'ISE hanno costituito, negli anni, una collezione di microalghe e cianobatteri (Fig. 3) che oggi conta oltre 600 ceppi, in parte già caratterizzati per attività antibatterica, antifungina, citotossica ed antiossidante. Sicuramente un patrimonio da salvaguardare e valorizzare. Non poteva sfuggire il potenziale delle colture algali alle nostre maggiori compagnie del settore energetico (ENI, ENEL) che da alcuni anni sperimentano, in collaborazione con i ricercatori fiorentini, colture algali in vasche aperte ed in fotobioreattori per ridurre le emissioni di CO<sub>2</sub> nell'atmosfera e produrre combustibili da fonti rinnovabili anche nell'ambito di progetti internazionali (<http://www.co2captureandstorage.info/networks/Biofixation.htm>).

Se la scuola fiorentina è riuscita a cogliere importanti risultati ed ottenere riconoscimenti internazionali nel settore dell'algologia applicata, gran parte del merito va al nostro maestro, il Professor Gino Florenzano, ordinario di Microbiologia Agraria della Facoltà e fondatore del Centro di Studio dei Microrganismi Autotrofi del CNR (Fig. 6). E' con le sue parole profetiche che termina questa mia breve rassegna: *“Di fronte ai problemi ecologici, alimentari ed energetici del nostro tempo, le interazioni tra fotosintesi microbica, salvaguardia dell'ambiente e produzione di alimenti assumono una fondamentale importanza teorica e pratica per i possibili contributi agli equilibri del sistema biosferico, divenuti fragili e delicati”*. Gino Florenzano, 2.10.1977.



Figura 6 - Ricerche sulle applicazioni delle colture algali promosse dal Prof. Florenzano negli anni '80.

## Bibliografia

- Abdulqader G., Barsanti L., Tredici M.R. (2000) Harvest of *Arthrospira platensis* from Lake Kossorom (Chad) and its household usage among the Kanembu. *J. Appl. Phycol.* 12: 493-498.
- Cox PA, Banack S.A., Murch S.J., Rasmussen U., Tien G., Bidigare R.R., Metcalf J.S., Morrison L.F., Codd G.A., Bergman B. (2005) Diverse taxa of cyanobacteria produce  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine, a neurotoxic amino acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 5074-5078
- Florenzano G. (1956) Relazione sulla missione scientifica presso la Forschungsstation e V. di Essen-Bredeneby per lo studio dei processi microbiologici, biochimici e tecnici di colture di alghe *Chlorella* e *Scenedesmus* spp. Istituto di Microbiologia Agraria e Tecnica, Università di Firenze, pp. 1-15.
- Jickells T.D., An Z.S., Andersen K.K., Baker A.R., Bergametti G., Brooks N., Cao J.J., Boyd P.W., Duce R.A., Hunter K.A., Kawahata H., Kubilay N., laRoche J., Liss P.S., Mahowald N., Prospero J.M., Ridgwell A.J., Tegen I., Torres R. (2005) Global iron connections between desert dust, ocean biogeochemistry, and climate. *Science* 308: 67-71.
- Rodolfi L., Bassi N., Parente I., Padovani G., Bonini G., Chini Zittelli G., Biondi N., Tredici M. R. (2007) Lipid production from marine microalgae: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor cultivation in pilot photobioreactors. 8<sup>th</sup> Int. Marine Biotechnology Conference, Eilat (Israel), 11-16 March 2007.
- Stipa G., Taiuti R., de Scisciolo G., Arnetoli G., Tredici M.R., Biondi N., Barsanti L., Lolli F. (2006) Sporadic amyotrophic lateral sclerosis as an infectious disease: a possible role of cyanobacteria? *Medical Hypotheses*, 67: 1363-1371.
- Torzillo G., Scoma A., Faraloni C., Johanningmeier U. (2007) Screening of *Chlamydomonas reinhardtii* mutant strains for photobiological hydrogen production. 7<sup>th</sup> Europ. Workshop on "Biotechnology of Microalgae". June 11-13 2007, Neuthetal, Germany.
- Tredici M.R. (2004) Mass production of microalgae: photobioreactors. In: Richmond A. (ed) Handbook of microalgal culture, Blackwell Publishing, pp. 178-214.
- Tredici M.R. (2006) Photobioreactors: designs and strategies to achieve 10% solar energy conversion efficiency through microalgae cultivation. Aqua 2006, Florence, Italy, 9-13 May 2006.