

## PROGETTO DI RICERCA

Le alghe sono considerate organismi promettenti per applicazioni biotecnologiche in funzione della loro capacità di utilizzare la luce solare come fonte di energia per produrre sostanze bioattive e/o utili con processi sostenibili. *Chlorella*, *Dunaliella*, *Scenedesmus* spp. sono tra le microalghe verdi con maggiore interesse commerciale per la loro capacità di resistere a condizioni ambientali avverse, crescere utilizzando substrati di scarto, come ad esempio acque reflue, abbattendone il carico trofico (biorisanamento), raggiungere produttività elevate, o produrre composti chimici ad alto valore aggiunto. Recentemente, le microalghe sono state anche considerate come punto di partenza per la produzione sostenibile di biomateriali e plastiche rinnovabili in alternativa alle piante terrestri per le quali la problematica di occupazione di suolo è contingente. I polioidrossialcanoati (PHA) sono una famiglia di poliesteri naturali che possiedono diverse proprietà termoplastiche ed elastomeriche, tra questi l'omopolimero polioidrossibutirrato (PHB) risulta essere tra i più comuni. Sono prodotti a livello intracellulare come accumulo di carbonio ed energia da un'ampia varietà di organismi fotosintetici ed eterotrofi (es. batteri, cianobatteri) pertanto sono considerati *biobased*. I PHA sono inoltre *biodegradabili* in condizioni aerobiche ed anaerobiche e biocompatibili. Queste caratteristiche li rendono interessanti e potenziali alternative ai polimeri fossili più convenzionali in un'ampia gamma di applicazioni. I PHA sono principalmente prodotti da batteri ma sono naturalmente presenti anche in organismi fotosintetici, seppur in quantità inferiori. Alcuni ceppi di cianobatteri o microalghe verdi sono in grado di accumulare PHB in quantità paragonabili a quelle dei batteri eterotrofi in risposta alla carenza di nutrienti e in presenza di una fonte di carbonio esogena. Così come per i batteri, la produzione di biopolimeri da parte di microalghe verdi accoppiata a un processo di biorisanamento in un'ottica di economia circolare porterebbe ad un abbassamento dei costi di processo. Recentemente la microalga verde *Desmodesmus communis* è stata studiata dal nostro gruppo di ricerca in colture da 2-10 L poste in condizioni mixotrofiche riportando una buona produzione di PHB. Questo studio preliminare ha evidenziato come il microbiota associato alla microalga possa influenzare la produzione di PHB essendo i batteri stessi potenziali produttori del biopolimero. Il progetto BIOpolGREEN è quindi volto ad i) ottimizzare la produttività di PHB da parte di *D. communis* o della comunità alga-batteri variando le condizioni di crescita, in particolare andando a scalare la coltivazione in fotobioreattore da 10-70L utilizzando un sistema di crescita in semicontinuo che possa aumentarne le produttività in un'ottica di coltivazione industriale; ii) valorizzare l'intera biomassa prodotta separando i metaboliti di interesse quali PHA e proteine con metodi di estrazione sostenibili; iii) caratterizzare il PHB in termini di caratteristiche fisiche e proprietà termiche, confrontandolo con il PHB comunemente prodotto da organismi eterotrofi; iv) valutare l'utilizzo di prodotti di scarto (es. CO<sub>2</sub> o acque) nella coltivazione di *D. communis* per la produzione di PHA; v) studiare l'importanza del microbiota associato alla microalga nella produzione di PHA.

## **PIANO DELLE ATTIVITA'**

BIOpolGREEN si articola in 3 WP complementari, che saranno sviluppati in parallelo durante il progetto.

### **WP1 Coltivazione mixotrofica di *D. communis* per la produzione di PHA**

#### *Task1.1 Coltivazione in PBR in semicontinuo*

La coltura verrà scalata in PBR da 10 o 70 L per valutare la possibilità di una coltivazione semicontinua che permetta una produzione costante di polimero, mantenendo la biomassa a una densità ottimale per produrre PHA.

#### *Task1.2 Coltivazione con substrati reflui e/o insufflazione di CO<sub>2</sub>*

Sarà valutato l'uso di substrati reflui (es. digestato) e insufflazione di CO<sub>2</sub> come fonte nutritiva per la coltivazione di *D. communis* allo scopo di accoppiare la produzione di PHA al biorisanamento di acque reflue.

#### *Task1.3 Preparazione delle colture axeniche di *D. communis**

*D. communis* sarà trattata con un mix di antibiotici per rimuovere la comunità batterica associata e capire il ruolo della stessa nella produzione di PHA.

### **WP2 Estrazione e caratterizzazione dei PHA**

#### *Task2.1 Estrazione dei PHA*

I PHA prodotti verranno estratti utilizzando tradizionali solventi organici o con approcci sostenibili.

#### *Task2.2 Caratterizzazione dei PHA*

Sarà valutato come la diversa fonte di carbonio organico possa influenzare la resa di PHA e la sua composizione.

### **WP3 Caratterizzazione del microbiota associato alla microalga e del suo ruolo nella produzione di PHA**

#### *Task3.1 Caratterizzazione del microbiota associato alla microalga*

Il microbiota associato a *D. communis* sarà caratterizzato tramite metodiche molecolari per valutare la comunità batterica selezionata nelle condizioni risultate più ottimali per la produzione di PHA. I dati ottenuti verranno confrontati con dati di letteratura per valutare la presenza di specie batteriche note per una loro produzione di PHA.

#### *Task3.2 Caratterizzazione del microbiota dopo trattamento antibiotico*

Le colture trattate e non con antibiotici ottenute dal task1.3 dopo la coltivazione mixotrofica saranno utilizzate per la caratterizzazione della comunità batterica associata all'alga o selezionatasi dopo il trattamento. I dati verranno confrontati con le rese di PHB ottenute in modo da capire il ruolo delle varie specie batteriche presenti nel microbiota o di quelle selezionatesi dopo il trattamento con antibiotico nella produzione di PHA.