

Biotechnologie microbiche per la produzione di biolubrificanti e biodiesel da scarti agroalimentari

Task 4.2

SCO (Single Cell Oils) da scarti agroalimentari per biodiesel e biolubrificanti

Laura Bardi, Grazia Federica Bencreciuto, Claudio Mandalà, Carmela Anna
Migliori, Lucia Giansante, Stefano Monaco
CREA-IT Torino

«Energia dall'agricoltura: innovazioni sostenibili per la bioeconomia»
29- 30 Novembre 2023, Roma



Oli da microrganismi: SCO (Single Cell Oils)

VANTAGGI

rispetto

agli

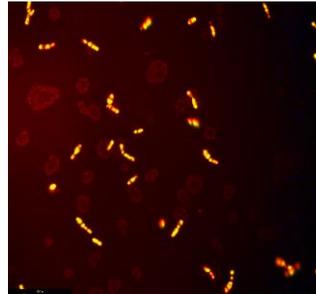
oli

vegetali

- Nessun consumo di **terreni**
- Utilizzo di **biomasse non alimentari** e **biomasse di scarto**
- Miglioramento della **sostenibilità di filiera**
 - **economica** per la valorizzazione degli scarti
 - **ambientale** per la riduzione del carico inquinante degli scarti
- Cicli **brevi** (1-2 settimane *versus* annata agraria)
- Processi **controllabili**, non vincolati dalla stagionalità e dalle condizioni ambientali
- Possibilità di pilotare il processo fermentativo in funzione del **tipo di prodotto** voluto

Microrganismi oleaginosi: capacità di accumulo di lipidi di riserva > 20% del peso cellulare

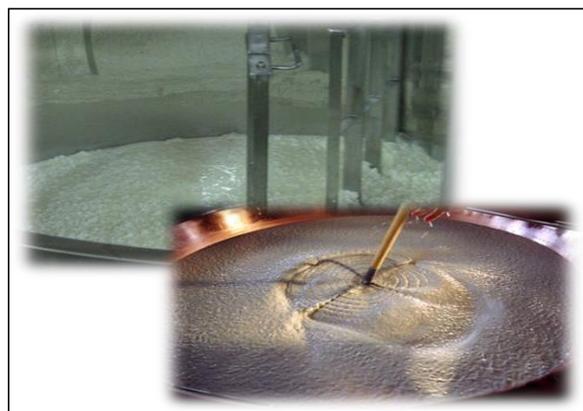
- **Composizione dei lipidi**
migliore rispetto agli oli vegetali e modulabile
- Buona **adattabilità** a vari **substrati**
- Ampia disponibilità di **ceppi "facili"** da coltivare
- Ampia disponibilità di **ceppi GRAS**
- Crescita rapida
- Facile **separazione della biomassa** dal fermentato
- **Alte rese in poco tempo**



- **Lieviti**
- **Funghi filamentosi**
- **Microalghe**
- **Batteri**

	Lipid content (% w/w)
Yeasts	
<i>Candida sp. 107</i>	42
<i>Cryptococcus albidus</i>	65
<i>Cryptococcus curvatus</i>	58
<i>Waltomyces lipofer</i>	64
<i>Lipomyces starkeyi</i>	63
<i>Rhodospidium toruloides</i>	66
<i>Rhodotorula glutinis</i>	72
<i>Rhodotorula graminis</i>	36
<i>Trichosporon beigellii</i>	45
<i>Yarrowia lipolytica</i>	36

Substrato di fermentazione: Effluenti di caseificio



LATTE



SIERO

FORMAGGIO



SCOTTA

RICOTTA



- 200 milioni di tonnellate/anno nel mondo
- > 1 milione di tonnellate/anno in Italia

1 kg formaggio → circa 10 l siero

Composizione e carico inquinante degli effluenti di caseificio

**MOLTI POSSIBILI
RIUTILIZZI**

- Estrazione proteine
- Estrazione lattosio
- Industria alimentare
- Industria cosmetica
- Industria farmaceutica
- Mangimistica
- Produzione di acidi organici
- Produzione di SCP
- Substrato per biomasse microbiche

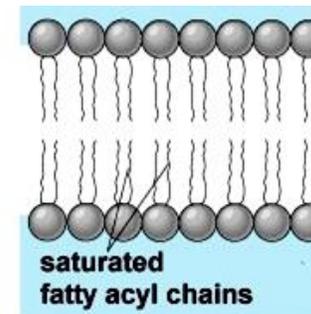
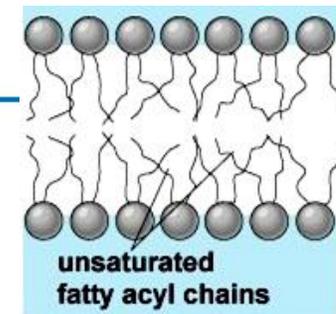
SIERO

Proteine	0,6-1%
Lipidi	0,03-0,1%
Minerali	0,5-0,8%
Acido lattico	0,2-0,8%
Lattosio	4-6%
BOD	30-60 g/l
COD	60-80 g/l

SCOTTA

Proteine	0,2%
Lattosio	4,5-5%
BOD	50 g/l
COD	80 g/l

NESSUN RIUTILIZZO



OBIETTIVO GENERALE

Ottenere oli per la produzione di **biodiesel** e **biolubrificanti** tramite fermentazione di **effluenti di caseificio** con **microrganismi oleaginosi**

OBIETTIVI SPECIFICI

- Mettere a punto processi fermentativi ad elevata **sostenibilità economica** ed **ambientale**
- Gestione del processo fermentativo finalizzata a pilotare la **fisiologia della biosintesi lipidica** per modulare la **composizione** degli oli

- Livello di **insaturazione** degli acidi grassi (**stabilità all'ossidazione** e **viscosità**)
- Contenuto in acidi grassi **saturi a catena media** (**viscosità**)

I° step: Screening di ceppi

Mortierella isabellina

Gliocladium roseum

Aspergillus oryzae

Rhodotorula glutinis

Debaryomyces hansenii

Hansenula anomala

Pichia farinosa

Kluyveromyces marxianus

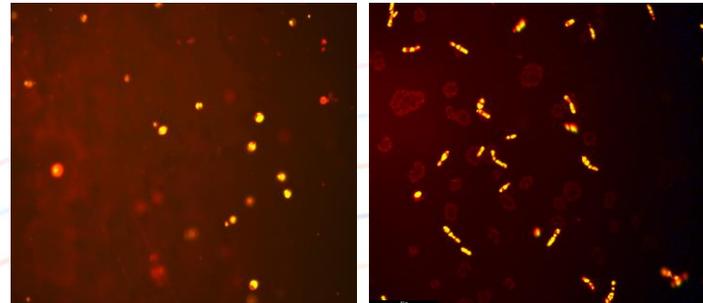
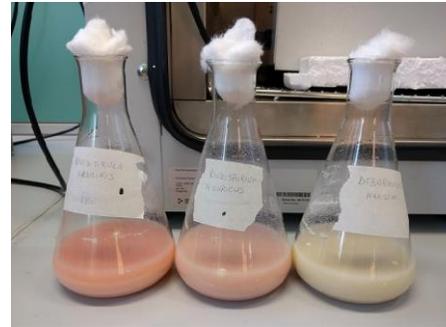
Rhodotorula graminis

Rhodospiridiobolus azoricus

Pichia membranaefaciens

Cutaneotrichosporon oleaginosus

Lipomyces starkeyi



- Crescita in scotta

- Accumulo di lipidi intracellulari (microscopia in fluorescenza)

- Rese di fermentazione

SCO 8-14 g/l

Prove di fermentazione in condizioni controllate (Biofermentatore lab-scale)

di:

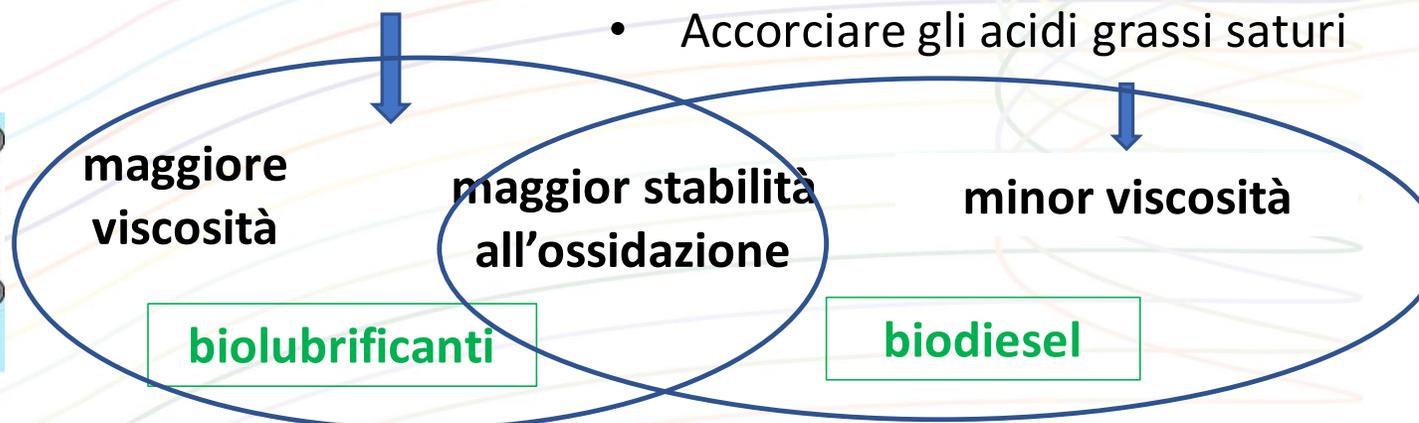
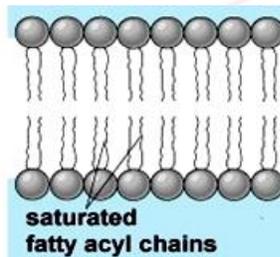
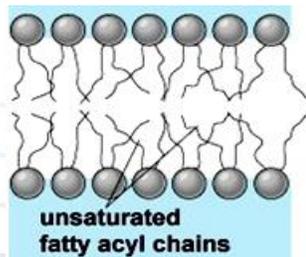
- volume di inoculo
- temperatura
- arieggiamento

Tesi	Ceppo	Temperatura
LS30a	<i>Lipomyces starkey</i>	30°C
LS30b	<i>Lipomyces starkey</i>	30°C
LS25a	<i>Lipomyces starkey</i>	25°C
LS25b	<i>Lipomyces starkey</i>	25°C
CO30a	<i>Cutaneotrichosporon oleaginosus</i>	30°C
CO30b	<i>Cutaneotrichosporon oleaginosus</i>	30°C
CO25a	<i>Cutaneotrichosporon oleaginosus</i>	25°C
CO25b	<i>Cutaneotrichosporon oleaginosus</i>	25°C

OBIETTIVO:

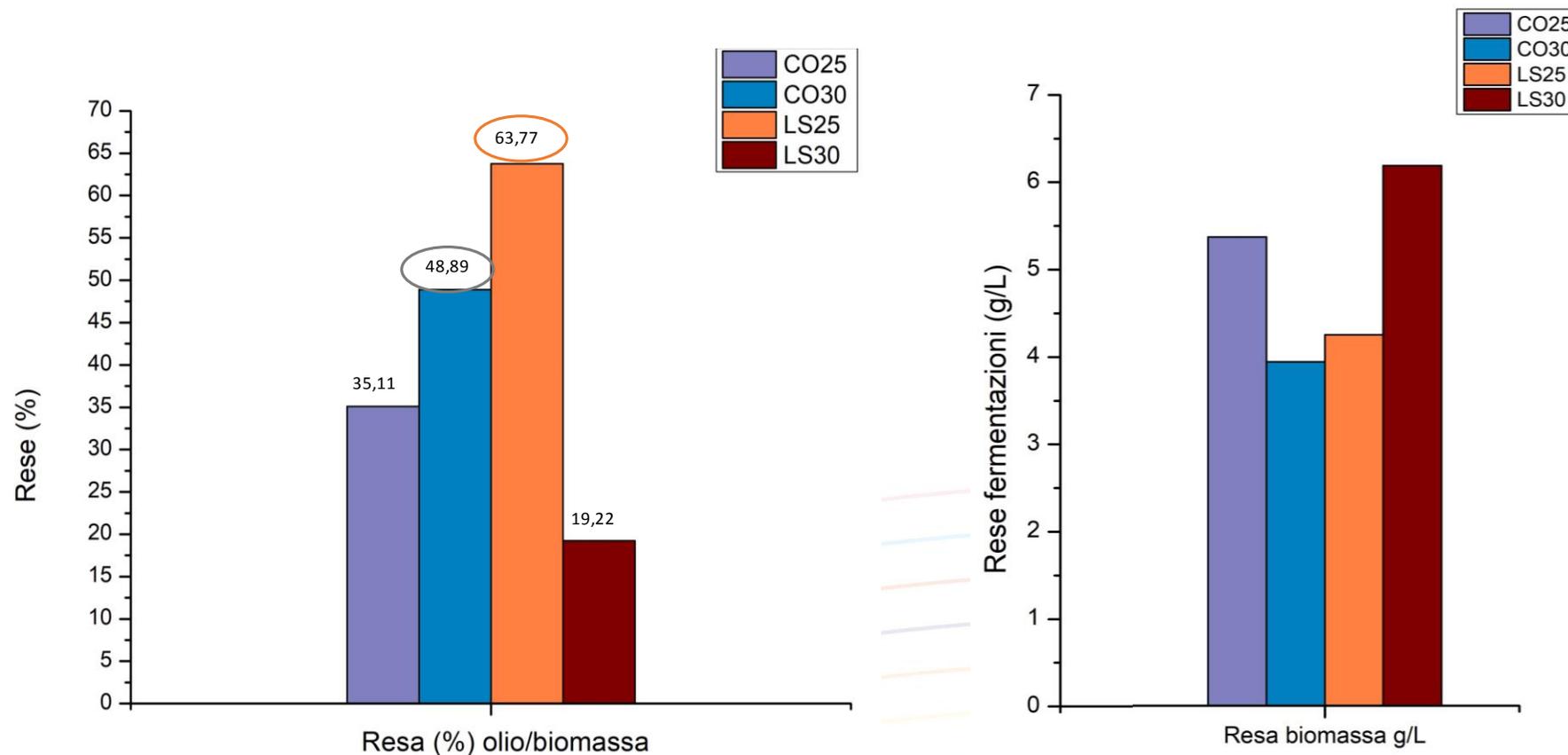
Combinare scarsa disponibilità di **ossigeno** ed alta **temperatura** per:

- Ridurre il grado di insaturazione
- Accorciare gli acidi grassi saturi



Rese di fermentazione

Accumulo di lipidi cellulari e produzione di biomassa



Il maggior accumulo lipidico cellulare è stato prodotto da ***L. starkey*** a **25°C**

C. oleagnosus ha accumulato più lipidi a **30°C** che a 25°C

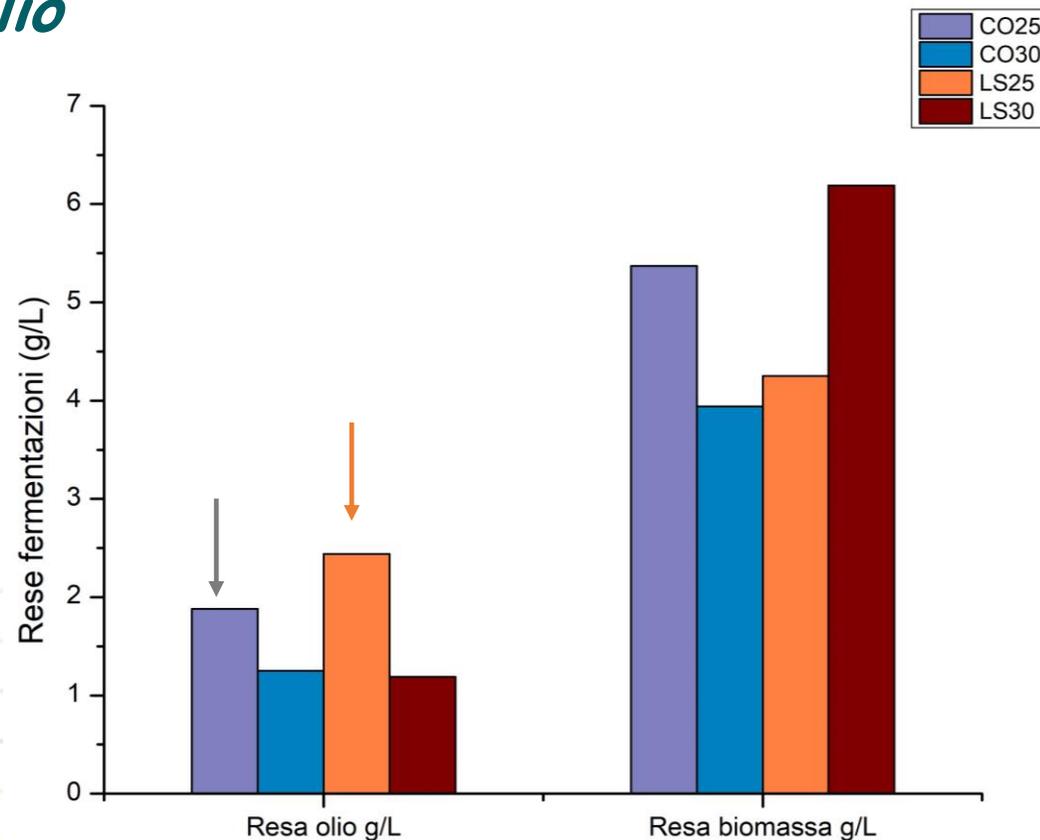
L'accumulo di **lipidi** è inversamente proporzionale all'accumulo di **biomassa**

Produzione di olio

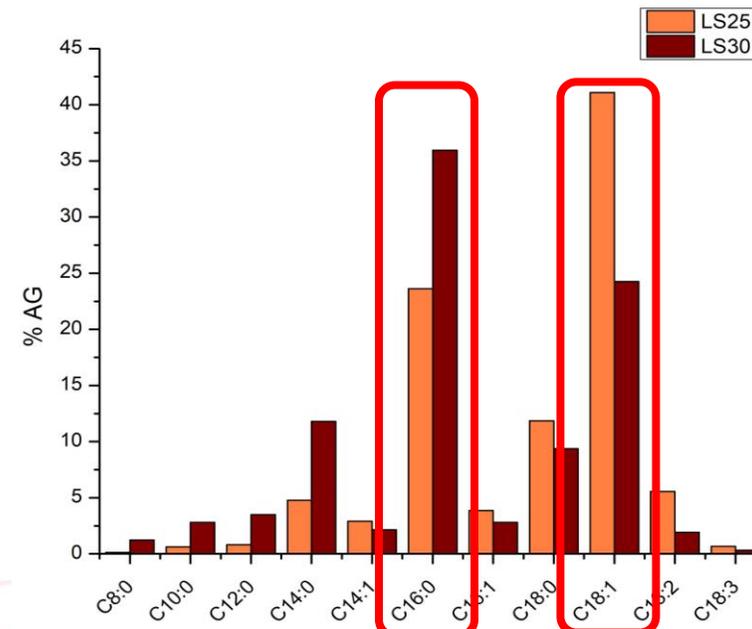
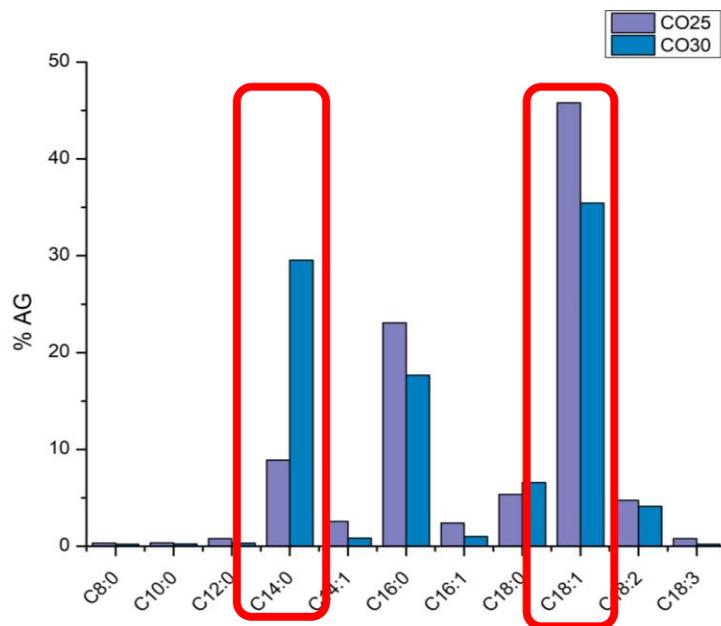
Tesi	Resa olio g/L
CO25	1,88
CO30	1,25
LS25	2,44
LS30	1,19



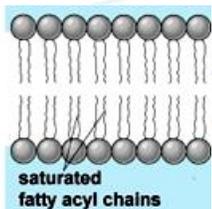
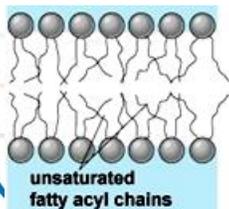
RESA POTENZIALE
10-13 q/100 hl/anno



Migliore resa in olio a temperatura più bassa
Miglior resa in olio ottenuto con *L. starkeyi* a 25°C
Miglior resa in biomassa ottenuta con *L. starkeyi* a 30°C



- Acido oleico (C18:1) e palmitico (C:16:0) sono i prevalenti
- Contenuto in acidi grassi insaturi molto inferiore rispetto a oli vegetali
- A temperature più alte:
 - **diminuiscono** gli acidi grassi **insaturi**
 - **aumentano** gli acidi grassi **saturi più corti**:
 - **Palmitico (C16:0)** in *L. starkeyi*
 - **Miristico (C14:0)** in *C. oleagnosus*



	LCSF	CFPP
CO25	6,158	2,869589
CO30	6,296	3,303143
LS25	10,092	15,22904
LS30	8,965	11,68834

Stabilità all'ossidazione: analisi dei perossidi*

Tesi	Ceppo	Perossidi meqO ₂ /kg	Dev. St.
CO25	<i>C.oleaginosus</i>	0,19	0,07
CO30	<i>C.oleaginosus</i>	0,2	0,01
LS25	<i>L.starkeyi</i>	0,23	0,01
LS30	<i>L.starkeyi</i>	0	0

Origine del grasso	N° di perossidi (m.eq di O ₂ /kg)
Arachide	10
Cartamo	10
Cocco	3
Colza	10
Girasole	10
Mais	10
Palma	5
Palmisto	3
Soia	10
Sego	2
Strutto	2 (extra) 5 (1° q.tà)

- **Stabilità all'ossidazione** molto migliore rispetto agli oli vegetali ed anche animali
- La massima **stabilità all'ossidazione** è ottenuta con ***L. starkeyi*** a **30°C**

*Un elevato numero di perossidi evidenzia un'ossidazione avviata ed irreversibile

Riduzione del carico inquinante degli effluenti: consumo di zuccheri

Tesi	Lattosio			Galattosio			Glucosio	
	Concentrazione iniziale (gr/L)	Concentrazione iniziale (gr/L)	% residua	Concentrazione iniziale (gr/L)	Concentrazione iniziale (gr/L)	% residua	Concentrazione iniziale (gr/L)	Concentrazione iniziale (gr/L)
LS30	36,39	1,81	4,97	0,51	0,02	3,83	0,04	0,14
LS25	41,30	33,86	81,98	0,00	0,00	0	0,03	0,17
CO30	56,45	46,99	83,25	0,50	0,19	37	0,17	0,01
CO25	42,08	36,80	87,44	0,91	0,00	0,00	0,04	0,00

Il maggior consumo di zuccheri è ottenuto con *L. starkeyi* a 30°C

- E' possibile ottenere **oli idonei** per la produzione di **biodiesel** e **biolubrificanti** tramite fermentazione di **effluenti di caseificio** con **lieviti oleaginosi**
- Il **controllo del processo fermentativo** consente di determinare sia la **resa** che la **qualità** dell'olio ottenuto
- Gli **oli** ottenuti presentano un contenuto in **acidi grassi insaturi** molto **inferiore** rispetto agli oli vegetali e sono più **stabili all'ossidazione**
- L'aumento della **temperatura** di fermentazione riduce il **grado di insaturazione** e migliora ulteriormente la **stabilità all'ossidazione**
- **Ceppi microbici diversi** consentono di ottenere risultati diversi relativamente alla **viscosità**

PROSPETTIVE

- **Scale up** del processo fermentativo per ottenere quantità di prodotto sufficienti per **test su banco prova**
- Ulteriore miglioramento del processo fermentativo per aumentare il **consumo di zuccheri** e le **rese**

GRAZIE PER L'ATTENZIONE