

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**

**DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA**

**Corso di Laurea in Biologia**



**ELABORATO DI LAUREA**

**Utilizzo e benefici dei cianobatteri e microalghe  
in campo alimentare**

**Tutor:** Prof.ssa Moro Isabella  
Dipartimento di Biologia

**Laureando:** Pietro Emilio Possamai

**ANNO ACCADEMICO 2022/2023**



## INDICE

Introduzione.....	1
1- Composizione chimica e valori nutrizionali di cianobatteri e microalghe.....	3
1.1 – Cianobatteri e microalghe.....	3
1.1.1 – <i>Spirulina</i> Turpin ex Gomont.....	3
1.1.2 – <i>Chlorella</i> Beijerinck.....	4
1.2 – Composizione chimica.....	6
1.3- Valori nutrizionali.....	7
1.3.1 – Proteine e amminoacidi.....	8
1.3.2 – Carboidrati.....	10
1.3.3 – Lipidi.....	11
1.3.4 – Vitamine.....	12
1.4 – Proprietà salutistiche.....	14
1.4.1 – Salute cardiaca.....	14
1.4.2 – Perdita di peso.....	15
2- Principali utilizzi di cianobatteri e microalghe in ambito alimentare.....	15
2.1 – Integratori alimentari.....	15
3- Crescita e sviluppo di cianobatteri e microalghe.....	17
3.1 – Sistemi di coltivazione.....	18
3.1.1 – Sistemi aperti.....	19
3.1.2 – Sistemi chiusi.....	20
Conclusione.....	21
Bibliografia.....	22

## INTRODUZIONE

*Cianobatteri e microalghe* sono organismi microscopici fotosintetici presenti in ambienti acquatici marini e dolci. Questi microorganismi si possono trovare sia nella colonna d'acqua che nel sedimento, in condizioni ambientali dove la radiazione luminosa consente loro di svolgere la fotosintesi. Questi microorganismi sono fondamentali, poiché producono ossigeno atmosferico e costituiscono la base della rete trofica, fornendo energia e nutrimento ai livelli superiori; ciò permette di mantenere un ciclo trofico regolato e stabile. Tra i microorganismi fotosintetici si distinguono organismi eucariotici e procariotici. Tra i procarioti, i cianobatteri appartengono al phylum Cyanobacteriota Oren, Mareš & Rippka 2022 (Guiry & Guiry, 2023) e sono batteri gram-negativi conosciuti fino a qualche anno fa anche come "alghe blu-verdi", a causa della loro caratteristica colorazione tendente al blu. I cianobatteri, oltre alla clorofilla *a*, possiedono pigmenti fotosintetici accessori idrosolubili chiamati "ficobiliproteine," che conferiscono loro una colorazione variabile in base allo spettro di assorbimento della luce e contribuiscono al trasferimento dell'energia nella reazione fotosintetica. I tre principali pigmenti idrosolubili dei cianobatteri sono ficocianina (che conferisce una colorazione blu-verde), ficoeritrina (che conferisce una colorazione rossa o viola) e alloficocianina (che conferisce una colorazione viola) (Pandey et al., 2013).

A livello morfologico i microrganismi come i cianobatteri, essendo gram-negativi, presentano una parete cellulare principalmente composta da peptidoglicano, un polimero in grado di formare uno strato esterno resistente che fornisce sostegno e protezione alla cellula; nel foglietto esterno, inoltre, sono presenti i lipopolisaccaridi (LPS). La parete cellulare delle alghe verdi invece contiene tipicamente cellulosa, emicellulosa e glicoproteine che possono conferire resistenza all'azione degli enzimi digestivi, in quanto la cellulosa non viene digerita dagli enzimi dell'intestino umano. Questo è il motivo per cui i cianobatteri vengono spesso utilizzati come prodotto alimentare, la loro parete cellulare infatti risulta più digeribile e quindi facilita l'utilizzo per il consumo umano (Niccolai et al., 2019).

Cianobatteri e microalghe stanno emergendo come risorsa chiave in ambito alimentare, grazie alle straordinarie proprietà nutritive delle quali godono. Le microalghe sono in grado di colonizzare un'ampia varietà di ambienti, dai mari agli stagni, e presentano una notevole capacità di adattarsi a condizioni ambientali variabili.

Il primo utilizzo di cianobatteri e microalghe da parte dell'uomo risale a 2000 anni fa, quando i cinesi iniziarono a utilizzare specie appartenenti al genere *Nostoc* per sopravvivere durante la carestia. Tuttavia, la biotecnologia di questi microorganismi ha cominciato a svilupparsi veramente solo a metà del secolo scorso. Al giorno d'oggi, ci sono

numerose applicazioni commerciali di cianobatteri e microalghe. Negli ultimi anni, la crescente consapevolezza delle sfide legate alla sicurezza alimentare e alla sostenibilità ha spinto la ricerca e l'industria a esplorare soluzioni innovative. In questo contesto, cianobatteri e microalghe hanno attirato l'attenzione per la loro capacità unica di sintetizzare una vasta gamma di nutrienti essenziali, tra cui proteine, acidi grassi omega-3, vitamine e antiossidanti (Spolaore et al., 2006).

Questo elaborato esplorerà gli utilizzi innovativi dei cianobatteri e delle microalghe, iniziando con un'analisi della composizione chimica e dei valori biologici delle proteine, degli amminoacidi, dei carboidrati, dei lipidi e delle vitamine. Successivamente, verrà esaminato anche l'aspetto salutistico dell'impiego di cianobatteri e microalghe nel favorire una dieta equilibrata e nutriente. Si analizzerà come questi organismi vengono impiegati nell'industria alimentare sotto forma di integratori e additivi. Infine, saranno illustrate le nuove tecniche adottate per la loro crescita e sviluppo, oltre a esaminare l'impatto ambientale derivante dal loro sfruttamento.

## **CAPITOLO 1 – Composizione chimica e valori nutrizionali di cianobatteri e microalghe**

Cianobatteri e microalghe sono in grado di migliorare il contenuto nutrizionale degli alimenti e quindi influenzare positivamente la salute umana. Vedremo quindi come la composizione chimica estremamente ricca e variegata, conferisce a questi microorganismi una grande importanza in ambiti come la nutrizione aumentando i valori nutrizionali degli alimenti, la medicina e l'industria.

### **1.1 – Cianobatteri e microalghe**

Cianobatteri e microalghe sono microrganismi fotosintetici che presentano diversi tratti morfologici, fisiologici e genetici che conferiscono la capacità di produrre diversi metaboliti biologicamente attivi. Sono organismi microscopici in grado di sfruttare l'energia del sole in modo più efficiente rispetto alle piante superiori. Sono in grado di convertire la luce e l'anidride carbonica attraverso le attività cellulari per produrre sostanze chimiche come carboidrati, proteine, lipidi, vitamine e pigmenti. Cianobatteri e microalghe possono formare filamenti e colonie che hanno un'elevata capacità di adattamento anche ad habitat ecologici estremi.

Tra questi microrganismi, solo pochissimi sono stati selezionati definitivamente per la produzione su larga scala, queste sono le specie *Arthrospira platensis* Gomont e *Chlorella vulgaris* Beijerinck (Becker et al., 2007).

#### **1.1.1 – *Arthrospira platensis***

Questo cianobatterio viene comunemente indicato con il nome *Spirulina* (Fig. 1), a causa della sua organizzazione cellulare filamentosa a forma di spirale. In questa tesi quindi farò sempre riferimento al suo nome comune. *Spirulina* è un tipo di cianobatterio che cresce in ambienti di acqua dolce come laghi, stagni e fiumi. Viene impropriamente chiamata alga, anche se è un cianobatterio, appartenente al phylum Cyanobacteriota. *Spirulina* ha un contenuto proteico tra i più alti registrati tra tutti gli alimenti integrali, che può raggiungere fino al 56% del peso secco, la restante percentuale è rappresentata da carboidrati e da fibre che costituiscono rispettivamente il 12% e 10% della sostanza secca (Bleakley et al., 2017).



Fig. 1. *Arthrospira platensis*, *Spirulina* (De Morais et al., 2015)

*Spirulina* è anche una fonte di vitamine del gruppo B, tra cui B1 (tiamina), B2 (riboflavina) e B3 (niacina), nonché vitamina K. *Spirulina* è molto importante in quanto è una delle poche fonti vegetali di vitamina B12, che è fondamentale per il funzionamento del sistema nervoso e la formazione dei globuli rossi. La maggior parte di questi composti svolge un importante ruolo terapeutico nel trattamento di malattie cardiovascolari, ipercolesterolemia, alti valori di glicemia, obesità, ipertensione, tumori e malattie infiammatorie. Oltre alle vitamine, *Spirulina* contiene anche molti minerali come ferro, calcio, magnesio e potassio (Fig. 2). Contiene anche antiossidanti come il beta-carotene e la vitamina E, che possono aiutare a proteggere le cellule dai danni dei radicali liberi (AlFadhly et al., 2022).

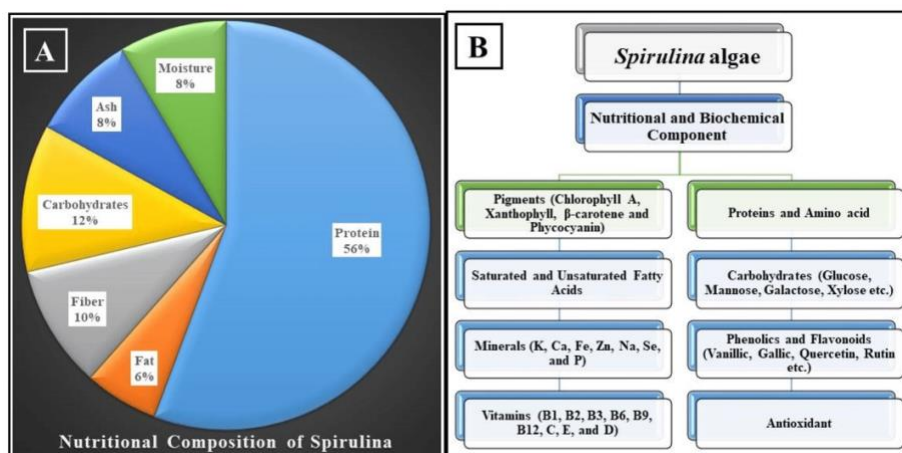


Fig. 2. (A) composizione nutrizionale e (B) composizione chimica di *Spirulina* (AlFadhly et al., 2022)

### 1.1.2 – *Chlorella vulgaris*

*Chlorella vulgaris* (Fig. 3) è chiamata in ambito alimentare comunemente con il nome *Chlorella*, in questa tesi quindi farò sempre riferimento al suo nome comune. È un'alga verde unicellulare che cresce in ambienti di acqua dolce. È considerata uno dei supercibi verdi grazie al suo elevato valore nutrizionale. *Chlorella* è composta principalmente da proteine, carboidrati, grassi, vitamine e minerali. Questa alga è ricca di clorofilla a e

b, che le conferiscono il caratteristico colore verde, e contiene anche una buona quantità di antiossidanti.



Fig. 3. *Chlorella vulgaris* (De Morais et al., 2015)

*Chlorella* è particolarmente apprezzata per il suo alto contenuto proteico, che può variare dal 50% al 60% del suo peso secco (Fig. 4). Questo la rende una fonte di proteine completa e di alta qualità; infatti i profili amminoacidici sono ben bilanciati e simili a fonti proteiche di alta qualità, come lattoglobulina, albumina d'uovo e soia (Barkia et al., 2019).

*Chlorella* contiene anche molti altri nutrienti benefici, tra cui, vitamine (complesso B e acido ascorbico), minerali (potassio, sodio, magnesio, ferro e calcio),  $\beta$ -carotene, clorofilla (Bleakley et al., 2017). Il composto bioattivo più importante di *Chlorella* è il  $\beta$ -1,3 glucano, un immunostimolatore attivo che riduce i radicali liberi e il colesterolo nel sangue (De Morais et al., 2015).

Macronutrients (Per 100 g Dry Weight)	A	B	C	D	E
Proteins (g)	50-65	61	63	65	57
Fats (g)	7-14	10	13	12	11
Carbohydrates (g)			15	11	
Sugars (g)	5-21	7	5	0-1	
Dietary fibers (g)	7-14	11	10	11	11

Fig. 4. Contenuto nutritivo di 5 prodotti a base di *Chlorella* disponibili in commercio (Bito et al., 2020)

Gli esseri umani non possono digerire le cellule di *Chlorella* nel loro stato naturale perché le loro pareti cellulari sono costituite da cellulosa.

Pertanto, nella maggior parte degli integratori alimentari, le pareti cellulari di *Chlorella* vengono distrutte meccanicamente (Bito et al., 2020).



## 1.2 - Composizione chimica

Le microalghe producono una serie di molecole biochimiche (Fig. 5), inclusi carboidrati, proteine di alta qualità che conferiscono tutti gli amminoacidi essenziali, lipidi e acidi nucleici, nonché vitamine e carotenoidi (Fig. 6). Sono rinomate per la presenza di acidi grassi omega-3, fondamentali per la salute cardiaca e cerebrale.

Species	Class	% Protein	% Carbs	% Fat
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Bacillariophyceae	34.8	16.8	16.1
<i>Nitzschia closterium</i>	Bacillariophyceae	26	9.8	13
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Chlorophyceae	48	17	21
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	Chlorophyceae	11	-	-
<i>Dunaliella primolecta</i>	Chlorophyceae	12	-	-
<i>Dunaliella salina</i>	Chlorophyceae	57	32	6
<i>Dunaliella</i> sp.	Chlorophyceae	34.17	14.57	14.36
<i>Scenedesmus obliquus</i>	Chlorophyceae	48-56	10-17	12-14
<i>Scenedesmus</i> sp.	Chlorophyceae	31	28	15
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	Coscinodiscophyceae	34	6.0	16
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	Coscinodiscophyceae	40	37	23
<i>Chaetoceros gracilis</i>	Coscinodiscophyceae	12	4.7	7.2
<i>Chaetoceros muelleri</i>	Coscinodiscophyceae	59	10	31
<i>Skeletonema costatum</i>	Coscinodiscophyceae	25	4.6	10
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	Coscinodiscophyceae	34	8.8	19
<i>Arthrospira platensis (spirulina)</i>	Cyanophyceae	60-71	13-16	45-113
<i>Synechococcus</i> sp.	Cyanophyceae	63	15	11
<i>Nannochloropsis</i> sp.	Eustigmatophyceae	30	10	22
<i>Nannochloropsis granulata</i>	Eustigmatophyceae	18-34	27-36	24-28
<i>Pavlova</i> sp.	Pavlovophyceae	24-29	6-9	9-14
<i>Porphyridium cruentum</i>	Porphyridiophyceae	28-39	40-57	9-14
<i>Tetraselmis chuii</i>	Prasinophyceae	31-46	25	12
<i>Tetraselmis</i> sp.	Prasinophyceae	36	24	-
<i>Prymnesium</i> sp.	Prymnesiophyceae	28-45	25-33	22-38

<i>Isochrysis galbana</i>	Prymnesiophyceae	27	34	11
<i>Schizochytrium</i> sp.	Thraustochytriaceae	-	-	50-77
<i>Botryococcus braunii</i>	Trebouxiophyceae	39-40	19-31	25-34
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Trebouxiophyceae	57	26	2
<i>Chlorella vulgaris</i>	Trebouxiophyceae	51-58	12-17	14-22

Fig. 5. Composizione generale delle diverse alghe (% della sostanza secca) (Barkia et al., 2019)

La composizione della biomassa algale è eterogenea e soggetta a variazioni tra le diverse specie, influenzata in maniera significativa dai parametri ambientali di crescita. Questi fattori includono la temperatura, il residuo fisso dell'acqua di coltivazione (ossia la quantità di minerali contenuti), il pH, l'esposizione alla luce e l'agitazione. Poiché tali parametri differiscono a seconda del sistema di coltivazione impiegato, essi esercitano un impatto significativo sulla composizione chimica delle microalghe (Koyande et al., 2019).

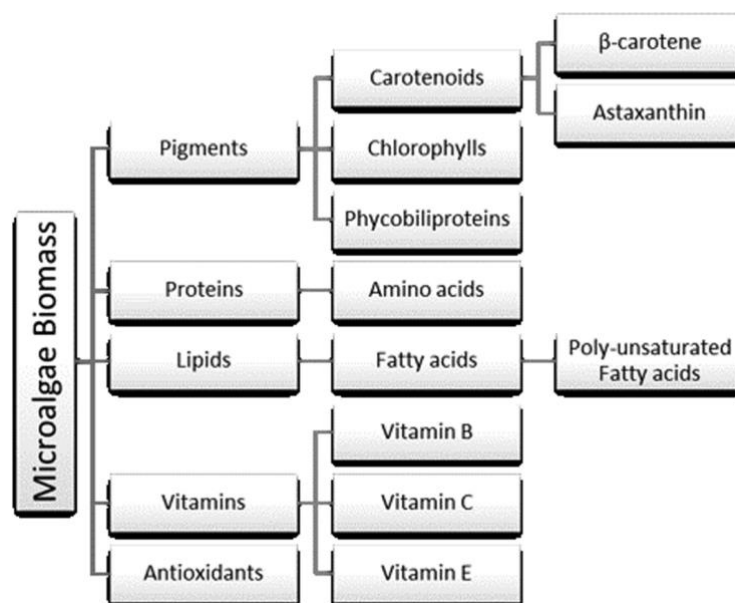


Fig. 6. Estrazione da componenti di biomassa algale (Koyande et al., 2019)

### 1.3- Valori nutrizionali

Il valore intrinseco degli alimenti risiede nella capacità dell'organismo di estrarre i nutrienti necessari per il proprio apporto energetico. Un nutriente rappresenta una sostanza alimentare che può essere assorbita direttamente ed interamente senza subire alterazioni durante il processo

di digestione. I nutrienti si dividono in due principali gruppi: i macronutrienti e i micronutrienti. I macronutrienti sono rappresentati da proteine, carboidrati e lipidi, mentre i micronutrienti da vitamine e minerali che hanno un ruolo funzionale per l'organismo. Per valore nutrizionale si intende la quantità e la qualità di un certo nutriente, macronutriente o micronutriente, presente in un determinato alimento.

I cianobatteri e le microalghe, grazie ai loro valori nutrizionali, costituiscono una fonte abbondante di acidi grassi essenziali, antiossidanti e altri metaboliti secondari che offrono benefici significativi per la salute. Cianobatteri e microalghe sono stati definiti "l'oro verde", grazie al loro alto contenuto proteico e completezza di amminoacidi essenziali utili per l'organismo umano. I loro valori di macronutrienti (proteine, carboidrati e lipidi) sono molto simili, se non addirittura migliori, di molti nutrienti utilizzati quotidianamente nelle nostre tavole (Spolaore et al., 2006). Nella tabella sottostante si possono notare, a confronto, i macronutrienti di carne, latte, uova, riso, lievito e soia con quelli di alcuni cianobatteri e microalghe più comuni (Fig. 7).

Merce	Proteina	Carboidrato	Lipidi
Lievito di panetteria	39	38	1
Carne	43	1	34
Latte	26	38	28
Riso	8	77	2
Soia	37	30	20
Anabaena cilindrica	43-56	25-30	4-7
Chlamydomonas reinhardtii	48	17	21
Chlorella vulgaris	51-58	12-17	14-22
Dunaliella salina	57	32	6
Porphyridium cruentum	28-39	40-57	9-14
Scenedesmus obliquus	50-56	10-17	12-14
Spirulina maxima	60-71	13-16	6-7
Synechococcus sp.	63	15	11

Fig. 7. Confronto di macronutrienti di cianobatteri e microalghe con quelli di alcuni alimenti (Spolaore et al., 2006)

### 1.3.1 – Proteine e amminoacidi:

Le proteine consistono in polimeri di amminoacidi, nei quali ogni amminoacido è connesso al successivo e al precedente attraverso un legame peptidico. Dato che gli amminoacidi costituiscono le proteine, la qualità di queste dipenderà dal loro valore biologico, ovvero dalla quantità, dalla qualità e dal rapporto reciproco degli amminoacidi essenziali presenti.

Uno degli aspetti che ha richiamato maggiormente l'attenzione delle industrie è il contenuto proteico di cianobatteri e microalghe, non solo per le ottime percentuali di proteine ma anche per il valore biologico di queste. Questo è un aspetto molto importante, in quanto l'esistenza di un fabbisogno proteico è in notevole aumento. Al giorno d'oggi, circa un miliardo di persone hanno un apporto proteico inadeguato e si prevede che le fonti di proteine saranno insufficienti anche in vista del fatto che gli alimenti ad alto contenuto proteico convenzionali nel 2050 non saranno in grado di soddisfare la popolazione mondiale, che si stima raggiungerà i 9.8 miliardi di persone (Caporgno et al., 2018).

Il concetto di valore biologico riflette la qualità delle proteine mediante il calcolo della quantità di azoto impiegato per la formazione dei tessuti, diviso per l'azoto assorbito attraverso l'alimentazione. Il risultato, moltiplicato per 100 ed esposto come percentuale di azoto utilizzato, fornisce una valutazione dell'efficienza con cui il corpo sfrutta le proteine ingerite. L'alta qualità di un alimento è associata a un significativo apporto di aminoacidi essenziali. Le fonti proteiche di origine animale tendono a presentare un valore biologico superiore rispetto a quelle di origine vegetale, principalmente a causa della carenza di uno o più aminoacidi essenziali in queste ultime (Hoffman et al., 2004).

La tabella sottostante (Fig. 8) indica come il valore biologico di *Spirulina* (68.0-77.6) e *Chlorella* (52.9-76.6) siano molto vicini al valore biologico per definizione rappresentato da quello dell'uovo, valore massimo dal quale si fa riferimento per tutti gli altri alimenti.

Alga	in lavorazione	BV
Caseina		87,8
Uovo		94,7
<i>Scenedesmus obliquus</i>	GG	75,0
<i>Scenedesmus obliquus</i>	SD	72,1
<i>Scenedesmus obliquus</i>	Cotto-SD	71,9
<i>Chlorella</i> sp.	ANNO DOMINI	52,9
<i>Chlorella</i> sp.	GG	76,6
<i>Prochlorococcus</i> del celestro	GG	76,0
<i>Spirulina</i> sp.	SD	77,6
<i>Spirulina</i> sp.	GG	68,0

Fig. 8. Dati comparativi sul valore biologico (BV) di microalghe e cianobatteri lavorati in diversi modi e alimenti ad alto contenuto proteico (Spolaore et al., 2006).

Gli aminoacidi essenziali (EAA), non sintetizzati ex-novo nell'organismo umano, devono essere introdotti attraverso l'alimentazione. Alcune fonti comuni di questi EAA includono uova, carne di pollame, carne rossa, latticini, soia/tofu e pesce, i quali offrono un profilo completo di aminoacidi essenziali. Tuttavia, per coloro che seguono una dieta vegetariana o vegana, le opzioni sono limitate, poiché molte proteine di origine vegetale non presentano un profilo completo di EAA. Microalghe e cianobatteri, d'altra parte, rappresentano un'eccellente fonte di EAA. Secondo le raccomandazioni dell'OMS/FAO/UNU, microalghe come *Chlorella* sp. e cianobatteri come *Spirulina* sp. contengono un equilibrato contenuto di aminoacidi essenziali idoneo per il consumo umano. Nella tabella riportata qui sotto (Fig. 9) vengono riportati il contenuto di aminoacidi essenziali espresso in g/100g di sostanza secca in alcune microalghe e cianobatteri tra cui *Chlorella* e *Spirulina* (Koyande et al., 2019).

source	<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Nannochloropsis</i> sp.	<i>Dunaliella</i>	<i>Spirulina</i> sp.
Histidine	2.4	2.6	2.6	2.0
Isoleucine	4.4	4.7	4.5	5.8
Leucine	9.2	9.4	9.4	9.0
Lysine	8.9	6.8	6.8	5.1
Methionine	2.2	2.3	2.4	2.9
Phenyl-alanine	5.5	5.5	5.5	4.8
Threonine	4.7	4.8	4.9	5.1
Valine	6.1	6.0	6.0	6.4

Fig. 9. Contenuto di aminoacidi essenziali presenti nelle differenti specie microalgali e nel cianobatterio *Spirulina* sp. (g/100g di sostanza secca) (Koyande et al., 2019)

### 1.3.2 – Carboidrati

Il valore nutrizionale di cianobatteri e microalghe è influenzato, seppur in misura minore rispetto alle proteine, anche dalla presenza di carboidrati. In cianobatteri e microalghe, i carboidrati si presentano sottoforma di amido, glucosio, zuccheri e altri polisaccaridi. Microalghe e cianobatteri sono ricchi di carboidrati costituiti da una combinazione di mono-, oligo- e polisaccaridi. In generale, i carboidrati e l'amido costituiscono rispettivamente quasi il 20% e il 10% della biomassa cianobatterica e microalgale.

I polisaccaridi estratti da microalghe e cianobatteri sono stati associati a effetti positivi sul microbiota intestinale, agendo come prebiotici, cioè come ingredienti fermentati capaci di indurre cambiamenti nella composizione e nell'attività della microflora gastrointestinale. Ricerche hanno dimostrato il potenziale dei prebiotici di origine microalgale e cianobatterica non solo come possibili componenti antimicrobici negli alimenti, ma anche come agenti antimicrobici *in vivo* da integrare regolarmente nella dieta, in grado di inibire la proliferazione batterica patogena nell'intestino (Pina-Pérez et al., 2017).

### 1.3.3 – Lipidi

I lipidi si trovano in ogni organismo vivente e la loro definizione è ampia in quanto includono diverse molecole. Tra queste, particolare rilevanza dal punto di vista alimentare è data ai trigliceridi o triacilgliceroli, che rappresentano la principale forma di apporto degli acidi grassi. In microalghe e cianobatteri, questi composti svolgono un ruolo cruciale non solo come riserva energetica ma anche come supporto strutturale e isolante termico.

I lipidi da microorganismi fotosintetici sono composti da glicerolo, zuccheri o basi esterificate con acidi grassi saturi o insaturi.

Tra tutti gli acidi grassi presenti in microalghe e cianobatteri, di particolare interesse sono alcuni acidi grassi delle famiglie  $\omega 3$  e  $\omega 6$  (Spolaore et al., 2006). La quantità totale e la proporzione relativa degli acidi grassi possono essere influenzate da diversi fattori ambientali, quali la luce. Regimi di luce diversi favoriscono la produzione di acidi grassi essenziali, tra cui  $\omega 3$  e  $\omega 6$ . Studi hanno dimostrato che la luce imposta ad una coltura è un fattore ambientale fondamentale, poiché determina la resa e la produttività di acidi grassi (Tzovenis et al., 2003). *Spirulina* è l'unica fonte alimentare che contiene grandi quantità di acidi grassi essenziali, in particolare acido linolenico, che è un tipo di omega-6 che aiuta a regolare gli ormoni e ha proprietà antinfiammatorie. In confronto, il latte materno è l'unica fonte alimentare che contiene grandi quantità di acidi grassi essenziali (AlFadhly et al., 2022).

Le piante superiori e gli animali non dispongono degli enzimi necessari per la sintesi degli acidi grassi polinsaturi (PUFA), che contengono più di 18 atomi di carbonio; pertanto, questi organismi devono procurarseli attraverso l'alimentazione. Sebbene il pesce e l'olio di pesce siano fonti comuni di PUFA a catena lunga, emergono preoccupazioni per la sicurezza umana a causa del possibile accumulo di tossine nei pesci. Dato che i PUFA si trovano nei pesci che consumano microorganismi fotosintetici in ambienti oceanici, è ragionevole considerare cianobatteri e microalghe come potenziali fonti di PUFA (Spolaore et al., 2006) (Fig. 10).

PUFA	Structure	Microalgae producer
------	-----------	---------------------

$\gamma$ -Linolenic acid (GLA)	18:3 $\omega$ 6, 9, 12	<i>Arthrospira</i>
Arachidonic acid (AA)	20:4 $\omega$ 6, 9, 12, 15	<i>Porphyridium</i>
Eicosapentaenoic acid (EPA)	20:5 $\omega$ 3, 6, 9, 12, 15	<i>Nannochloropsis</i> , <i>Phaeodactylum</i> , <i>Nitzschia</i>
Docosahexaenoic acid (DHA)	22:6 $\omega$ 3, 6, 9, 12, 15, 18	<i>Cryptocodinium</i> , <i>Schizochytrium</i>

Fig. 10. PUFA da cianobatteri e microalghe di maggior rilevanza (Spolaore et al., 2006).

### 1.3.4 – Vitamine

La classe delle vitamine comprende una varietà di composti organici che rappresentano micronutrienti essenziali per la vita. Queste molecole coprono una vasta gamma di funzioni biologiche, agiscono infatti come coenzimi, intervengono nella regolazione ormonale, hanno proprietà antiossidanti, agiscono da mediatori della segnalazione cellulare e regolatori della crescita o differenziazione di cellule e tessuti. La carenza di vitamine nell'uomo rappresenta una grave minaccia in tutto il mondo e le vitamine sono probabilmente una delle punte di diamante dei composti prodotti dalla diversità cianobatterica e microalgale (Del Mondo et al., 2020).

Cianobatteri e microalghe possono fornire utilmente molte delle vitamine necessarie agli esseri umani, più delle piante terrestri. *Chlorella*, ad esempio, fornisce una vasta gamma di vitamine come:  $\beta$ -carotene, (il  $\beta$ -carotene è un precursore della vitamina A), vitamine del gruppo B (B1, B2, B3, B5, B6), vitamina E e vitamina K. L'analisi di 10 integratori alimentari a base di *Chlorella* in commercio ha confermato la presenza di queste vitamine e inoltre la presenza di vitamina D2, B9 e B12. Il contenuto di vitamina B12 riportato nei prodotti a base di *Chlorella* varia da <0,1 a 400  $\mu$ g per 100 g di peso secco (Fig. 11) (Rauma et al., 1995).

Vitamins	A	B	C	D	E	F	G	H	I	L
Vitamin B1 (mg)		1.9	2.5		6.5	1.0-3.0	1.0-3.0	1.8		1.6
Vitamin B2 (mg)	3-8	5.6	5.0	5.7	5.5	2.0-9.0	4.0-8.0	5.0	5.0	4.8
Vitamin B6 (mg)		0.9	2.5		1.7	1.0-3.0	1.0-3.0	1.0-3.0		1.8
Vitamin B12 ( $\mu$ g)		20.0					6.0-30.0	200.0-500.0		230.0
Niacin (mg)		20.4	50.0			40.0-80.0	20.0-50.0	10.0-40.0		45.9
Folate (mg)		0.3	2.0			1.2-3.6				1.4
Biotin ( $\mu$ g)										227.0
Pantothenic acid (mg)								1.0-6.0		1.8

Vitamin C (mg)		7.0	50.0		30.0	10.0–200.0				14.0
Vitamin D2 (mg)										1.4
Vitamin E (mg)		3.0	25.0			10.0–45.0				6.2
Vitamin K (mg)		1.4	1.1	0.3				0.5–3.5		1.2
Carotenoids (mg)				25.0		36.0–150.0		100.0–500.0		31.5

Fig. 11. Componenti di vitamine in 10 integratori alimentari a base di *Chlorella* (per 100g di peso secco) (Rauma et al., 1995)

Uno studio sperimentale ha dimostrato come il consumo sostanziale di integratori a base di specie appartenenti al genere *Chlorella* possa fornire quantità sufficienti di vitamina B12 anche a soggetti vegani che non consumano carne o derivati di essa (Rauma et al., 1995). Un altro studio a sostegno di questa teoria ha testato 17 individui (età compresa tra i 26 e i 57 anni) vegani e vegetariani con bassi livelli di vitamina B12; a questi individui sono stati somministrati 9 grammi al giorno di pellet ottenuto da colture della specie *Chlorella pyrenoidosa* per un periodo di 60 giorni. In seguito a questo periodo di tempo si è potuta osservare una crescita dei livelli di vitamina B12. I risultati di questo lavoro suggeriscono che la vitamina B12 in questa specie di *Chlorella* è biodisponibile e tale integrazione alimentare è un modo naturale per vegetariani e vegani di ottenere la vitamina B12 di cui hanno bisogno (Merchant et al., 2015).

Anche *Spirulina* a livello nutrizionale offre un ottimo apporto di vitamine, sia dal punto di vista qualitativo che quantitativo (Fig. 12). In base ai risultati emersi da numerosi studi che hanno fatto riferimento all'analisi delle vitamine, *Spirulina* essiccata contiene 3,6 mg/g di vitamina B12 ed è un'ottima fonte di  $\beta$ -carotene con un contenuto pari a 5,8 mg/g. Il  $\beta$ -carotene (pro vitamina A) viene assorbito dall'organismo e trasformato in vitamina A. Il consumo di 1-2 g di *Spirulina* al giorno è sufficiente per soddisfare il fabbisogno giornaliero di vitamina A dell'organismo, che si aggira intorno a 1 mg/giorno, mentre è stato suggerito che 4-5 g al giorno di *Spirulina* è il quantitativo che si dovrebbe consumare quotidianamente per soddisfare i propri bisogni di acido folico e vitamina B12 (Liestianty et al., 2019).



Vitamins composition	
Biotin	0.55 µg
Folic Acid	0.71 µg
Pantothenic Acid	2 µg
Cyanocobalamin (Vitamin B12 )	3.6 µg
Pyridoxine (Vitamin B6)	8 µg
Thiamine (Vitamin B1)	48 µg
riboflavin (Vitamin B2)	55 µg
Niacin (Vitamin B3)	0.15 mg
Tocopherol (Vitamin E)	0.41 mg
Inositol Acid	0.7 mg
Beta-carotene (pro-vitamin A)	5.8 mg
Bioflavonoids	10 mg

Fig. 12. Composizione di vitamine in *Spirulina* (per 1 g) (Liestianty et al., 2019)

## 1.4 – Proprietà salutistiche

Cianobatteri e microalghe costituiscono una ricca fonte di numerosi composti benefici per il nostro organismo, rappresentati da proteine, acidi grassi, carboidrati, vitamine e minerali. Questi elementi, oltre a potenziare le caratteristiche nutrizionali dei prodotti alimentari in cui vengono addizionati, manifestano notevoli impatti positivi sulla salute, grazie alla loro azione a livello cardiaco e sulla perdita di peso, oltre ad avere attività antiossidante, antitumorale e antimicrobica.

### 1.4.1 – Salute cardiaca

Le patologie cardiovascolari rappresentano una delle principali cause di decesso a livello globale, una connessione che è stata associata a elementi ambientali identificati come una dieta molto ricca di calorie, mancanza di attività fisica, uso di tabacco e alcol, insieme a una predisposizione genetica. Alcuni studi hanno esaminato gli effetti di *Spirulina* sulla salute cardiaca, dimostrando la sua capacità di ridurre i livelli di colesterolo nel sangue e di trigliceridi, fattori di rischio per le malattie cardiache. In un recente studio clinico, condotto su 36 volontari sani, di età compresa tra 18 e 65 anni, l'assunzione giornaliera di 4,5 g di *Spirulina* per 6 settimane ha portato a una diminuzione del 10% del colesterolo totale e del 28% dei trigliceridi nel plasma (Torres-Duran et al., 2007).

### 1.4.2 – Perdita di peso

L'indice di obesità sta aumentando a livello globale, rappresentando una delle principali sfide per la salute sia nei paesi sviluppati che in quelli in via di sviluppo. Questa crescente incidenza è associata a una stima di circa 4 milioni di decessi all'anno e a costi sanitari che si avvicinano ai 2 trilioni di dollari in tutto il mondo. Alcuni studi hanno esaminato gli effetti di *Spirulina* sulla perdita di peso. Si ritiene che la sua elevata concentrazione proteica e la capacità di ridurre l'appetito possano contribuire a una diminuzione dell'assunzione calorica e favorire pertanto la perdita di peso. Inoltre, si ipotizza che *Spirulina* agisca prevenendo l'accumulo di grasso epatico, riducendo lo stress ossidativo e migliorando la sensibilità all'insulina. Uno studio ha confermato gli effetti positivi di *Spirulina* sulla perdita di peso, evidenziando che gli adulti obesi che hanno assunto 1-2 g di integratori a base di *Spirulina* al giorno per tre mesi hanno registrato una riduzione del peso corporeo, dell'indice di massa corporea (BMI) e della circonferenza della vita (DiNicolantonio et al., 2020).

## CAPITOLO 2 - Principali utilizzi delle microalghe in campo alimentare

Cianobatteri e microalghe sono utilizzate in diversi settori industriali. Nell'industria alimentare, la crescente domanda di prodotti salutistici e naturali, derivante dall'incremento della consapevolezza collettiva verso la preservazione della salute e del benessere attraverso le abitudini alimentari, trova un prezioso alleato in questi microorganismi, in grado di fornire un'elevata gamma di composti bioattivi. Principalmente impiegati per la produzione di integratori alimentari, cianobatteri e microalghe fungono da ingredienti per migliorare il profilo nutrizionale di un alimento o come additivi.

### 2.1 – Integratori alimentari

Gli integratori alimentari fungono da concentrati di sostanze nutritive, inclusi minerali e vitamine, o di altre componenti con impatti nutrizionali o fisiologici, commercializzati in forme dosate come compresse, pillole, capsule o liquidi con dosi predefinite. La loro finalità consiste nel correggere eventuali carenze nutrizionali, garantire un adeguato apporto di specifici nutrienti o assistere in particolari funzioni fisiologiche (EFSA, autorità europea per la sicurezza alimentare).

Uno dei principali produttori di integratori alimentari è la Cina, che coltiva principalmente *Chlorella* e *Spirulina* (Fig. 13). Inizialmente, vengono prodotti sotto forma di biomassa microalgale o cianobatterica per poi essere utilizzati come integratori e additivi.

Microalga	Major Producers	Products
<i>Spirulina</i> ( <i>Arthrospira</i> )	Hainan Simai Pharmacy Co. (China) Eartrise Nutritionals (California, USA) Cyanotech Corp. (Hawaii, USA) Myanmar Spirulina factory (Myanmar)	powders, extracts tablets, powders, extracts tablets, powders, beverages, extracts tablets, chips, pasta and liquid extract
<i>Chlorella</i>	Taiwan Chlorella Manufacturing Co. (Taiwan) Klötze (Germany)	tablets, powders, nectar, noodles powders
<i>Dunaliella salina</i>	Cognis Nutrition and Health (Australia)	powders b-carotene
<i>Aphanizomenon</i> <i>flos-aquae</i>	Blue Green Foods (USA) Vision (USA)	capsules, crystals powder, capsules, crystals

Fig. 13. Microalghe e cianobatteri maggiormente commercializzate per la nutrizione umana (Priyadarshani et al., 2012)

La forma di commercializzazione più comune di cianobatteri e microalghe è sotto forma di integratori alimentari, che rappresentano fonti concentrate di nutrienti come proteine, acidi grassi, vitamine o altre sostanze. Vengono introdotte nel mercato in diverse forme, come polveri, compresse, capsule e liquidi. Ad esempio, *Chlorella* è molto popolare come integratore alimentare per i vegetariani, poiché è ricca di vitamina B12. Questo ha portato a un incremento nelle vendite e nella produzione di *Chlorella* che ha fruttato oltre 164 milioni di dollari solo negli USA nel 2021 (Kaur et al., 2023).

Oltre all'impiego come integratore alimentare, microalghe e cianobatteri sono usati come ingredienti per potenziare i valori nutrizionali e proprietà di altri alimenti come pasta, snack, barrette di cioccolato, gomme da masticare e bevande (Fig. 14) (Spolaore et al., 2006).

I prodotti lattiero-caseari possono essere arricchiti con microalghe e cianobatteri al fine di fornire composti bioattivi. Ad esempio, alcune specie come *Arthrospira platensis* (chiamata comunemente *Spirulina*) possono favorire la crescita dei batteri probiotici presenti negli yogurt e nei latti fermentati, potenziando la vitalità di tali probiotici (Fig. 14). La presenza di vitamine e altri composti bioattivi nelle polveri di microalghe e cianobatteri contribuisce a favorire lo sviluppo dei batteri desiderati. Si stabilisce quindi una sinergia tra questi microorganismi e i batteri, poiché le prime rilasciano esopolisaccaridi nel mezzo che stimolano la crescita batterica. Anche *Chlorella* è stata con successo integrata in yogurt e formaggi (Fig. 14) (Caporgno et al., 2018).



Fig. 14. Prodotti contenenti *Spirulina* e *Chlorella* disponibili sul mercato (Lafarga, 2019)

### CAPITOLO 3 - Crescita e sviluppo delle microalghe

L'accelerato incremento della popolazione globale e la limitazione delle terre agricole rendono necessario l'utilizzo di fonti rinnovabili economicamente convenienti come alternativa alle coltivazioni agricole che richiedono risorse eccessive. Cianobatteri e microalghe sembrano costituire una promettente alternativa, poiché generano rapidamente una biomassa significativa, che può rappresentare una ricca fonte di vari ingredienti funzionali non prodotti internamente nell'organismo umano, nonché di preziosi composti bioattivi (Fig. 15). Inoltre, questi microorganismi sono in grado di prosperare in qualsiasi luogo caratterizzato da umidità e luce, e spesso dimostrano una sorprendente capacità di sopravvivenza anche in ambienti estremi. Microalghe e cianobatteri possono essere coltivati in differenti condizioni fisico-chimiche ambientali, come ad esempio in acque salmastre o marine, o in terreni non idonei alla coltivazione tradizionale, evitando così di competere con le risorse necessarie per la produzione aggiuntiva di colture alimentari. Oltre a ciò, sia le microalghe che i cianobatteri svolgono un ruolo cruciale, fornendo energia a tutti gli stadi trofici e contribuendo alla produzione di circa il 50% dell'ossigeno, rappresentando così la spina dorsale della rete alimentare (Kaur et al., 2023).

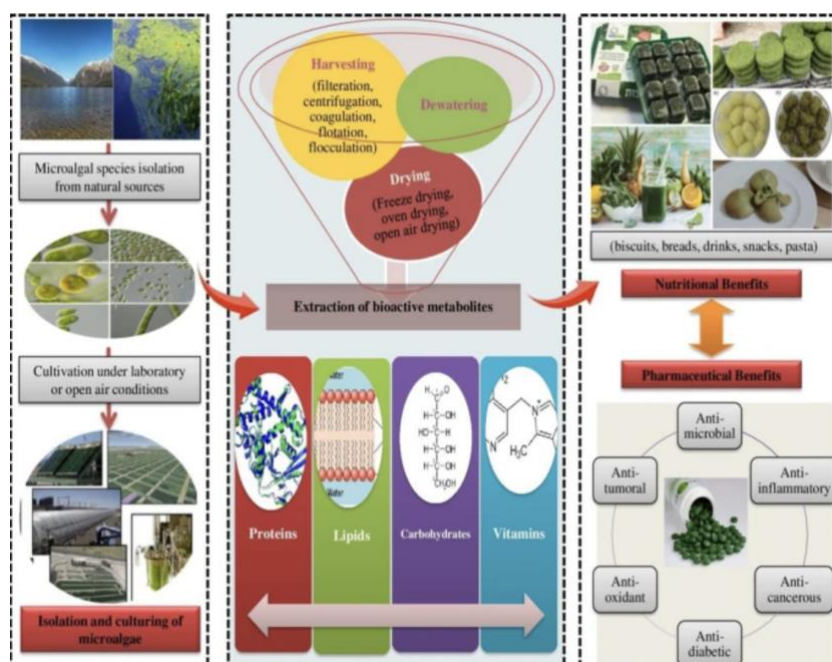


Fig. 15. Ingredienti funzionali non prodotti nell'organismo umano e composti bioattivi generati dalla biomassa microalgale e cianobatterica (Kaur et al., 2023)

### 3.1 – Sistemi di coltivazione:

Cianobatteri e microalghe possono essere coltivati utilizzando diverse metodologie e in varie condizioni. Richiedono principalmente la luce come fonte energetica per convertire l'acqua assorbita e la CO<sub>2</sub> in biomassa attraverso il processo fotosintetico. Sebbene le diverse specie di microalghe e cianobatteri possono differire nelle loro esigenze di crescita, i requisiti fondamentali sono sostanzialmente gli stessi per la maggior parte delle specie, compresi nutrienti essenziali, una fonte di carbonio organico o inorganico, azoto, fosforo e ferro. Le acque reflue costituiscono una valida fonte di nutrienti necessari per la coltivazione di microorganismi, in particolare di microalghe (Khan et al., 2018). Inoltre, l'utilizzo di effluenti organici provenienti dalle industrie alimentari e agricole può fornire il nutrimento necessario per questi microorganismi. Anche l'acqua marina rappresenta un ambiente favorevole per la coltivazione di cianobatteri e microalghe, riducendo i costi dei nutrienti e potenziando la produzione di lipidi e altri composti utili nella biomassa (Khan et al., 2018).

Nella coltivazione di cianobatteri e microalghe si distinguono due principali metodi: sistemi aperti e sistemi chiusi.

I sistemi aperti sono rappresentati dagli “stagni con canalette” mentre quelli chiusi da “fotobioreattori (PBR)” (Barkia et al., 2019).

### 3.1.1 – Sistemi aperti

I sistemi aperti, definiti anche stagni con canalette, sono i più diffusi in quanto risultano più semplici da costruire e gestire rispetto alla maggior parte dei sistemi chiusi. Inoltre, presentano un vantaggio economico, essendo più accessibili dal punto di vista finanziario.

Anche se gli stagni aperti sono considerati l'unico sistema di coltivazione economicamente sostenibile per la produzione di biomassa microalgale a basso costo, affrontano sfide emergenti come una minore produttività e rendimenti di biomassa inferiori a causa della contaminazione. In genere, i cianobatteri e le microalghe coltivate in vasche con canalette aperte mostrano una produttività della biomassa significativamente inferiore rispetto alle colture di laboratorio e ai sistemi chiusi di fotobioreattori (PBR) (Barkia et al., 2019).

Questi stagni di solito non superano i 30 centimetri di profondità. La movimentazione dell'acqua con nutrienti e microorganismi avviene attraverso un braccio meccanico che miscela con un movimento circolare in bacini circolari (bacini a perno centrale), o più comunemente mediante una ruota a pale nei cosiddetti bacini raceway (Fig. 16). Questi ultimi sono costruiti come canali chiusi a forma di anello, dove la circolazione dell'acqua è facilitata da una ruota a palette, mentre nei sistemi circolari è gestita da un braccio meccanico (Fig. 16). La CO<sub>2</sub> o i gas di scarico contenenti CO<sub>2</sub> possono essere spruzzati nella coltura (European Commission, 2014).

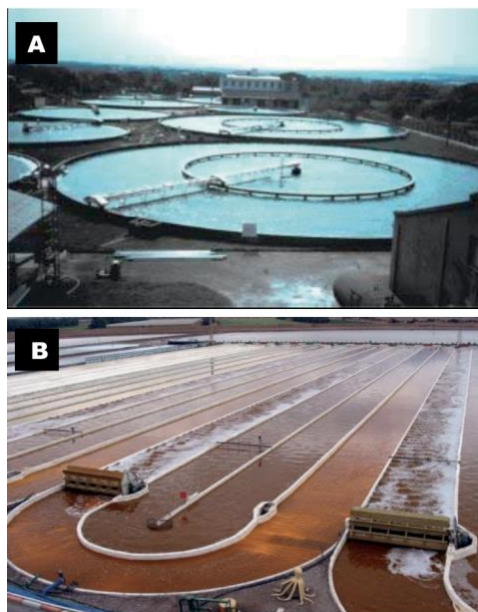


Fig. 16. Sistemi aperti di coltivazione di cianobatteri e microalghe: (A) stagno circolare, (B) stagno raceway (European Commission, 2014)

La movimentazione della coltura è cruciale in quanto permette la distribuzione uniforme dei nutrienti, lo spostamento dell'ossigeno generato dalla fotosintesi, la prevenzione della formazione di gradienti di temperatura e la mitigazione di fenomeni come sedimentazione e



fotoinibizione, conosciuta anche come effetto di auto-ombreggiatura. Quest'ultima avviene in mancanza di agitazione, gli strati superiori di microorganismi fotosintetici proiettano ombra sugli strati inferiori, riducendone l'intensità luminosa e di conseguenza la loro attività fotosintetica. La temperatura è il principale fattore limitante determinando basse produzioni di biomassa (European Commission, 2014).

### 3.1.2 – Sistemi chiusi

I sistemi chiusi, noti anche come fotobioreattori (PBR) (Fig. 17), offrono un controllo più preciso delle condizioni di coltivazione rispetto ai sistemi aperti, garantendo una produttività elevata con una maggiore produzione di biomassa cianobatterica e microalgale per unità di tempo. I fotobioreattori presentano vantaggi quali praticamente nessuna perdita dovuta all'evaporazione, un controllo superiore sulla contaminazione e sulle condizioni fisico-chimiche, una gestione migliorata degli scambi gassosi tra la coltura e l'atmosfera, un ingombro più contenuto e la possibilità di ottenere colture di elevata purezza (De Morais et al., 2015). Esiste una vasta gamma di sistemi chiusi impiegati per la crescita e produzione di microorganismi fotosintetici, tra cui fotobioreattori tubolari, cilindrici, a piastre, elicoidali, a tubo verticale e orizzontale (Fig. 17). Quelli verticali e orizzontali sono i più comunemente adottati. Rispetto ai sistemi aperti, questi sistemi chiusi offrono notevoli vantaggi, poiché i parametri di coltura come temperatura, pH, pressione, nutrienti,  $CO_2$  e  $O_2$  sono costantemente e finemente controllati. Inoltre, essi non sono suscettibili a contaminazioni da parte di altri organismi, poiché non sono esposti all'aria aperta come nel caso dei sistemi aperti.

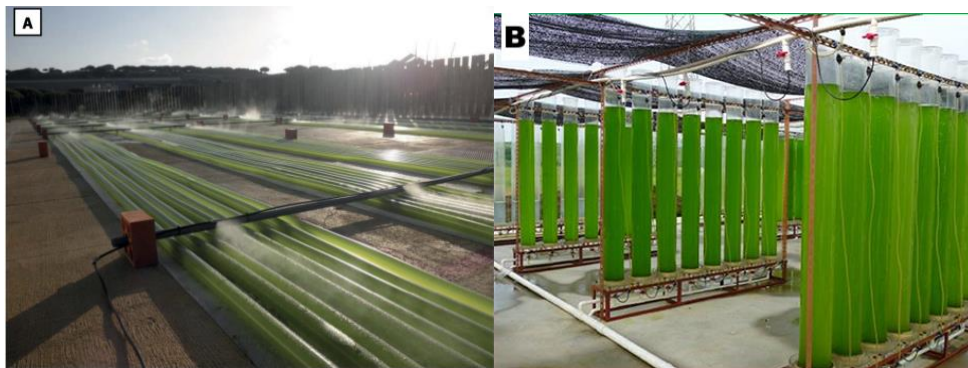


Fig. 17. (A) Tubi orizzontali (European Commission, 2014)  
,(B) tubi verticali (Huo et al., 2018)

I fotobioreattori tubolari orizzontali e verticali sono costituiti da tubi trasparenti in cui la coltura di microorganismi fotosintetici è mantenuta ed esposta alla luce solare. I tubi sono collegati tra loro tramite collettori, e il flusso di liquido viene continuamente pompato attraverso i tubi. Questo processo è necessario per due motivi: prevenire la sedimentazione delle cellule fotosintetiche e promuovere la movimentazione dell'ossigeno accumulato a causa dell'intensa attività fotosintetica. Data la bassa solubilità dell'ossigeno nell'acqua, la pressione parziale dell'ossigeno

aumenterà rapidamente a livelli molto superiori a quelli in equilibrio con l'aria. Per questo motivo, la coltura di microrganismi viene continuamente pompata attraverso un cosiddetto dispositivo di degassaggio (degasser), dove l'ossigeno fuoriesce (Fig. 18). All'interno di questo dispositivo, la degassificazione dell'ossigeno è di solito aiutata da delle bolle d'aria finemente disperse (European Commission, 2014).

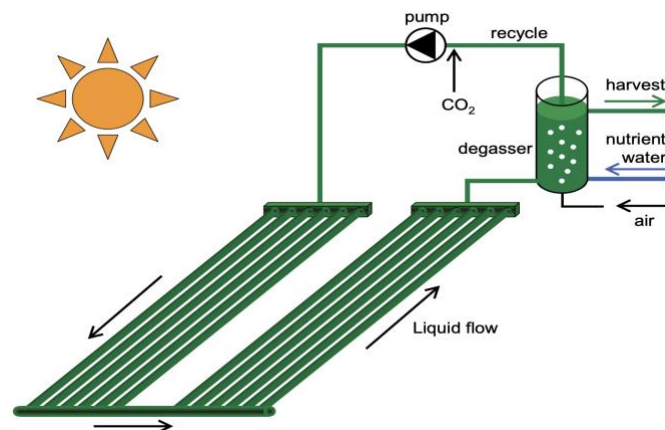


Fig. 18. Schema semplificato del funzionamento di un fotobioreattore tubolare orizzontale (European Commission, 2014)

## CONCLUSIONE

Cianobatteri e microalghe, grazie alla loro composizione chimica e ai nutrienti presenti, costituiscono una ricca fonte di sostanze, quali aminoacidi essenziali, acidi grassi e vitamine. Questi elementi contribuiscono ad un'azione antiossidante e hanno effetti positivi sulla salute umana, come la perdita di peso, cura per l'obesità e il miglioramento della salute cardiaca. La reputazione dei microrganismi fotosintetici è principalmente legata alla loro abbondante e qualitativa presenza di proteine, attirando l'attenzione di diverse industrie farmaceutiche e alimentari. Queste industrie hanno sviluppato una vasta gamma di prodotti a base di cianobatteri e microalghe, contribuendo così ad arricchire il valore nutrizionale degli alimenti. I microrganismi fotosintetici rappresentano una risorsa di notevole potenziale per il futuro, soprattutto considerando l'imminente aumento della popolazione mondiale. Tale incremento potrebbe portare a una crescente problematica di malnutrizione e a una diminuzione delle fonti alimentari tradizionali. Inoltre, cianobatteri e microalghe potrebbero contribuire positivamente all'ambiente, favorendo lo sviluppo di colture di microrganismi in alternativa a quelle convenzionali più dispendiose a livello di risorse come carne e pollame. Per sfruttare appieno questa risorsa naturale e sostenibile, è essenziale implementare miglioramenti nell'economia di scala, intensificare gli sforzi nella ricerca ma soprattutto portare il consumatore ad una maggior consapevolezza ed accettazione dell'enorme potenziale derivante di questi ancora poco conosciuti microrganismi fotosintetici.



## BIBLIOGRAFIA

- (1) AlFadhly, N. K. Z.; Alhelfi, N.; Altemimi, A. B.; Verma, D. K.; Cacciola, F.; Narayanankutty, A. Trends and Technological Advancements in the Possible Food Applications of Spirulina and Their Health Benefits: A Review. *Molecules* **2022**, 27 (17), 5584. <https://doi.org/10.3390/molecules27175584>.
- (2) Barkia, I.; Saari, N.; Manning, S. R. Microalgae for High-Value Products Towards Human Health and Nutrition. *Marine Drugs* **2019**, 17 (5), 304. <https://doi.org/10.3390/md17050304>.
- (3) Becker, E. W. Micro-Algae as a Source of Protein. *Biotechnology Advances* **2007**, 25 (2), 207–210. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.11.002>.
- (4) Bito, T.; Okumura, E.; Fujishima, M.; Watanabe, F. Potential of Chlorella as a Dietary Supplement to Promote Human Health. *Nutrients* **2020**, 2524. <https://doi.org/10.3390/nu12092524>.
- (5) Bleakley, S.; Hayes, M. Algal Proteins: Extraction, Application, and Challenges Concerning Production. *Foods* **2017**, 6 (5), 33. <https://doi.org/10.3390/foods6050033>.
- (6) Caporgno, M. P.; Mathys, A. Trends in Microalgae Incorporation Into Innovative Food Products With Potential Health Benefits. *Front. Nutr.* **2018**, 5, 58. <https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00058>.
- (7) De Morais, M. G.; Vaz, B. D. S.; De Morais, E. G.; Costa, J. A. V. Biologically Active Metabolites Synthesized by Microalgae. *BioMed Research International* **2015**, 2015, 1–15.
- (8) Del Mondo, A.; Smerilli, A.; Sané, E.; Sansone, C.; Brunet, C. Challenging Microalgal Vitamins for Human Health. *Microb Cell Fact* **2020**, 19 (1), 201. <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01459-1>.
- (9) DiNicolantonio, J. J.; Bhat, A. G.; OKeefe, J. Effects of Spirulina on Weight Loss and Blood Lipids: A Review. *Open Heart* **2020**, 7 (1), e001003. <https://doi.org/10.1136/openhrt-2018-001003>.
- (10) EFSA, autorità europea per la sicurezza alimentare. <https://www.efsa.europa.eu/it/topics/topic/food-supplements>
- (11) European Commission. Joint Research Centre. Institute for Prospective Technological Studies. *Microalgae-Based Products for the Food and Feed Sector: An Outlook for*

Europe.; Publications Office: LU, 2014. [10.2791/3339](https://doi.org/10.2791/3339)

- (12) Guiry, M.D. & Guiry, G.M. **2023**. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <https://www.algaebase.org>
- (13) Hoffman JR, Falvo MJ. Protein - Which is Best? J Sports Sci Med. 2004 Sep 1;3(3):118-30. PMID: 24482589; PMCID: PMC3905294.
- (14) Huo, S.; Wang, Z.; Zhu, S.; Shu, Q.; Zhu, L.; Qin, L.; Zhou, W.; Feng, P.; Zhu, F.; Yuan, Z.; Dong, R. Biomass Accumulation of *Chlorella Zofingiensis* G1 Cultures Grown Outdoors in Photobioreactors. *Front. Energy Res.* **2018**, 6, 49. <https://doi.org/10.3389/fenrg.2018.00049>.
- (15) Kaur, M.; Bhatia, S.; Gupta, U.; Decker, E.; Tak, Y.; Bali, M.; Gupta, V. K.; Dar, R. A.; Bala, S. Microalgal Bioactive Metabolites as Promising Implements in Nutraceuticals and Pharmaceuticals: Inspiring Therapy for Health Benefits. *Phytochem Rev* **2023**, 22 (4), 903–933. <https://doi.org/10.1007/s11101-022-09848-7>.
- (16) Khan, M. I.; Shin, J. H.; Kim, J. D. The Promising Future of Microalgae: Current Status, Challenges, and Optimization of a Sustainable and Renewable Industry for Biofuels, Feed, and Other Products. *Microb Cell Fact* **2018**, 17 (1), 36. <https://doi.org/10.1186/s12934-018-0879-x>.
- (17) Koyande, A. K.; Chew, K. W.; Rambabu, K.; Tao, Y.; Chu, D.-T.; Show, P.-L. Microalgae: A Potential Alternative to Health Supplementation for Humans. *Food Science and Human Wellness* **2019**, 16–24. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.03.001>.
- (18) Lafarga, T. Effect of Microalgal Biomass Incorporation into Foods: Nutritional and Sensorial Attributes of the End Products. *Algal Research* **2019**, 41, 101566.
- (19) Liestianty, D.; Rodianawati, I.; Arfah, R. A.; Assa, A.; Patimah; Sundari; Muliadi. Nutritional Analysis of *Spirulina Sp* to Promote as Superfood Candidate. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* **2019**, 509, 012031. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/509/1/012031>.
- (20) Merchant, R. E.; Phillips, T. W.; Udani, J. Nutritional Supplementation with *Chlorella Pyrenoidosa* Lowers Serum Methylmalonic Acid in Vegans and Vegetarians with a Suspected Vitamin B<sub>12</sub> Deficiency. *Journal of Medicinal Food*

**2015**, 18 (12), <https://doi.org/10.1089/jmf.2015.0056>.

- (21) Niccolai, A.; Chini Zittelli, G.; Rodolfi, L.; Biondi, N.; Tredici, M. R. Microalgae of Interest as Food Source: Biochemical Composition and Digestibility. *Algal Research* **2019**, 42, 101617. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101617>.
- (22) Pandey, V. D., Pandey, A., & Sharma, V. (2013). Biotechnological applications of cyanobacterial phycobiliproteins. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2(9), 89-97.
- (23) Pina-Pérez, M. C.; Rivas, A.; Martínez, A.; Rodrigo, D. Antimicrobial Potential of Macro and Microalgae against Pathogenic and Spoilage Microorganisms in Food. *Food Chemistry* **2017**, 235, 34–44. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.033>.
- (24) Priyadarshani, I.; Rath, B. Commercial and Industrial Applications of Micro Algae – A Review. **2012**.
- (25) Rauma, A. L.; Törrönen, R.; Hänninen, O.; Mykkänen, H. Vitamin B-12 Status of Long-Term Adherents of a Strict Uncooked Vegan Diet (“living Food Diet”) Is Compromised. *J Nutr* **1995**, 2511–2515. <https://doi.org/10.1093/jn/125.10.2511>.
- (26) Spolaore, P.; Joannis-Cassan, C.; Duran, E.; Isambert, A. Commercial Applications of Microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **2006**, 101 (2), 87–96. <https://doi.org/10.1263/jbb.101.87>.
- (27) Torres-Duran, P. V.; Ferreira-Hermosillo, A.; Juarez-Oropeza, M. A. Antihyperlipemic and Antihypertensive Effects of Spirulina Maxima in an Open Sample of Mexican Population: A Preliminary Report. *Lipids Health Dis* **2007**, 6 (1), 33. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-6-33>.
- (28) Tzovenis, I.; De Pauw, N.; Sorgeloos, P. Optimisation of T-ISO Biomass Production Rich in Essential Fatty Acids. *Aquaculture* **2003**, 216 (1–4), 223–242. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00375-7](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00375-7).