

Microalgae cultivation for biofuel production: optimization of environmental conditions for the intensive culture of *Neochloris oleoabundans* (Chlorophyta)

Francesca Bona, Marta Franchino, Elena Bovio, Guido Badino, Giuseppe Maiorana*

DBIOS Università degli Studi di Torino. Via Accademia Albertina, 13 - 10123 Torino

* corresponding author: giuseppe.maiorana@unito.it

Received 3.11.2016; accepted 3.31.2016

Abstract

Microalgae have the potential to produce environmental friendly biofuels, in view of the growing need for alternatives to fossil resource exploitation. Indeed microalgae grown under nitrogen stress may accumulate significant amount of lipids, which are the raw material for biodiesel. The aim of this study was to optimize culture conditions to increase lipid production on the freshwater green alga *Neochloris oleoabundans*. In a first experiment, we supplied growth medium in two different modes, fed batch and batch; for this latter we used increasing salt concentration. In the second part of the study, we tested 4 different operational modes of cultivation (batch, semicontinuous, N-limitation, N-starvation). Experiments have been performed in glass cultivation tubes. We obtained higher concentrations using batch than fed-batch, in term of maximum algal biomass (4-4.7 and 3.8 g L⁻¹ respectively). These results showed that the fed-batch micronutrient depletion limited the growth, while high salt concentration did not affect the algal growth in the batch cultures. The second part of the study showed that the maximum biomass concentration was reached in batch N-limited condition. N-limitation resulted as the preferable culture condition in term of lipid concentration, without a substantial difference between semicontinuous and batch. These findings highlight that *N. oleoabundans* is a halotolerant strain thus being potentially suitable for substrates with high electrolytic concentration, including wastewater and brackish water. Moreover, our results show that N-limitation combines a good increase in the percentage of lipids with adequate biomass productivity, thus being a valid option in microalgae feeding system for energy production.

KEYWORDS: green algae / lipids / algal nutrients / nitrogen limitation / nitrogen starvation

Microalghe per la produzione di biocarburanti: ottimizzazione delle condizioni di coltura di *Neochloris oleoabundans* (Chlorophyta)

Le microalghe hanno delle ottime potenzialità come produttori di biocarburanti, in un'ottica di favorire fonti energetiche alternative allo sfruttamento di idrocarburi fossili. Infatti, le microalghe coltivate in carenza di azoto possono accumulare notevoli quantità di lipidi, che sono la materia prima per il biodiesel. Lo scopo di questo studio è stato quello di ottimizzare le condizioni di coltura per aumentare la produzione di lipidi dell'alga verde *Neochloris oleoabundans*. In un primo esperimento abbiamo fornito terreno di coltura in due modalità differenti, *fed batch* (sistema statico con aggiunta periodica di nutrienti) e *batch* (sistema statico senza aggiunta successiva di nutrienti). Nel *batch* abbiamo testato concentrazioni saline crescenti. Nella seconda parte dello studio abbiamo testato 4 diverse modalità operative di coltura (*batch*, semicontinuo, N-limitazione, N-deprivazione).

Gli esperimenti sono stati condotti in tubi di coltura in vetro aerati con una miscela di aria e CO₂. Abbiamo ottenuto valori più alti di biomassa algale utilizzando colture *batch* piuttosto che *fed-batch* (rispettivamente 4-4,7 g L⁻¹ e 3,8 g L⁻¹). Questi risultati hanno mostrato che l'esaurimento dei micronutrienti nel *fed-batch* ha limitato la crescita, mentre l'alta concentrazione di sali non influenza la crescita delle alghe nelle colture *batch*. La seconda parte dello studio ha evidenziato che la concentrazione massima della biomassa è stata raggiunta in condizioni *batch* N-limitate. L'N-limitazione è quindi risultata la condizione di coltura preferibile in termini di concentrazione di lipidi, senza sostanziali differenze tra semicontinua e *batch*. Questi risultati sottolineano che *N. oleoabundans* è un ceppo alotollerante quindi adatto anche a mezzi di coltura con salinità medio-elevata, come acque reflue e salmastre. Inoltre, i nostri risultati dimostrano che l'N-limitazione combina una buona percentuale di lipidi con una adeguata produttività di biomassa, rappresentando così una valida modalità di coltura finalizzata alla produzione di energia.

PAROLE CHIAVE: alghe verdi / lipidi / nutrienti algali / azoto limitazione / carenza di azoto