

Cofinanciado por:



**Designação do Projeto** | ALLARVAE - Novas formulações de microalgas para larvicultura marinha

**Número do Projeto** | 069971

**Tipologia da Operação** | Sistema de Incentivos I&DT Empresarial – Projetos em Copromoção

**Códigos da Operação** | ALG-01-0247-FEDER-069971

**Objetivo temático** | OT 1 - Reforçar a investigação, o desenvolvimento tecnológico e a inovação

**Região de Intervenção** | Algarve

**Promotor líder** | NECTON – Companhia Portuguesa de Culturas Marinhas, S.A.

**Copromotores** | IPMA – Instituto Português do Mar e Atmosfera; PVL – Piscicultura do Vale do Lama;

UALG – Universidade do Algarve

**Data de início** | 01.12.2020

**Data de conclusão** | 30.06.2023

**Investimento total elegível** | 788.213,66 euros

**Apoio financeiro da União Europeia através do FEDER** | 571.633,99 euros

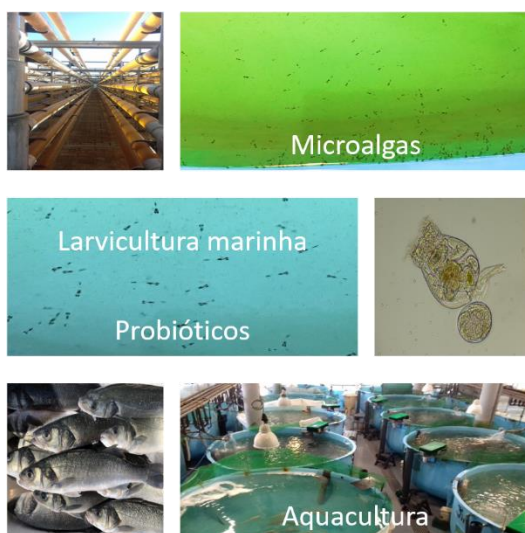
**Investimento total elegível – promotor líder NECTON, S.A** | 273.133,93 euros

**Apoio financeiro da União Europeia através do FEDER – promotor líder NECTON, S.A** | 207.780,30 euros

**Programa financiador** | Programa Operacional Regional do Algarve

## Breve Descrição do Projeto |

A aquacultura encontra-se em crescimento globalmente, pelo que as maternidades necessitam de otimizar a produção de juvenis para suprir as necessidades de mercado. A reduzida sobrevivência larvar associada aos elevados custos da produção de microalgas e alimento vivo nas maternidades, afetam negativamente a eficiência do processo de produção. Pretendemos, portanto, desenvolver produtos baseados em microalgas que permitam aumentar a eficiência em larvicultura, evitando a produção *in loco* de microalgas, suprimindo as necessidades das larvas com microalgas comerciais e probióticos. Os produtos a desenvolver estarão especificamente vocacionados para melhorar 1) a “técnica de água verde”, 2) o cultivo de rotíferos, 3) o enriquecimento de alimento vivo para nutrição larvar e 4) ingredientes de hidrolisados de microalgas para microdietas usadas em co-alimentação. Através deste projeto, o desenvolvimento de inovações metodológicas e uma nova geração de produtos de microalgas para larvas de peixes marinhos irá melhorar a performance dos animais e os processos produtivos, promovendo a bioeconomia circular e o desenvolvimento sustentável da aquacultura.



Website: <https://www.allarvae.com/pt-pt/>

## Resultados Alcançados |

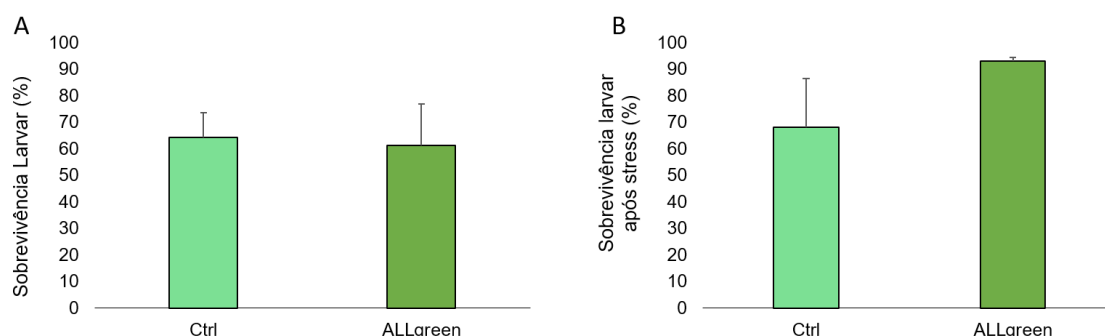
- Desenvolvimento de 5 novos produtos para aplicação em larvicultura de peixes marinhos, dos quais 3 de tipologia em pó (ALLgreen – VitaBloom® Green Water, ALLive-VitaBloom® Rotifers+ e ALLarvae- VitaBloom® Enrich) e 2 de tipologia concentrado líquido (PhytoBloom® ELITE formula e PhytoBloom® RAS formula).
- Desenvolvimento e aplicação de um pipeline analítico a novos produtos à base de microalgas.
- Lançamento de concentrados líquidos dentro da marca PhytoBloom®:
  - **PhytoBloom® ELITE formula:** concentrado líquido de *Nannochloropsis* sp. adaptado para cultivo de rotíferos em sistema standard fechado e modo de produção *batch*.

- **PhytoBloom® RAS formula:** concentrado líquido de *Nannochloropsis* sp. adaptado para cultivo de rotíferos em sistema fechado e modo de produção semi-contínuo para sistemas de aquacultura RAS (Recirculation Aquaculture Systems) e técnica de água verde.
- Lançamento da nova gama VitaBloom® para os produtos de tipologia em pó:
  - **ALLgreen – VitaBloom® Green Water:** Produto para aplicação em técnica de água verde baseado na combinação de microalgas e probióticos.
  - **ALLive – VitaBloom® Rotifers+:** Produto cultivo de rotíferos em sistema de aquacultura standard fechado e modos de produção *batch* e semi-contínuo baseado na combinação de microalgas, probióticos, leveduras e condicionadores de água.
  - **ALLarvae – VitaBloom® Enrich:** Produto para enriquecimento de alimento vivo (rotíferos e Artémia) baseado na combinação de microalgas e probióticos para nutrição de larvas de peixe.

No decorrer do projeto ALLARVAE foram realizadas análises de qualidade de produto e avaliação da performance biológica *in vivo* para cada uma das formulações piloto de cada um dos produtos em larvicultura de peixes marinhos, de modo a avaliar a qualidade dos produtos desenvolvidos, assim como o estabelecimento do seu tempo de prateleira. Todos os produtos foram testados em maternidades de modo a validar o seu desempenho biológico comparativamente a produtos comerciais controlo. Todos os produtos desenvolvidos ao longo do projeto ALLARVAE têm como objetivo melhorar a nutrição em aquacultura e melhorar a performance biológica pela adequada manutenção da qualidade ambiental nos tanques. Este objetivo foi atingido através de duas estratégias diferentes: 1) em concentrados líquidos (ELITE e RAS formula) foi necessário reduzir a carga microbiológica do produto de forma a reduzir o crescimento bacteriano no tanque de rotíferos que aliado a menor aglomeração de microalgas na água leva a redução de detritos no tanque e maior disponibilidade de alimento, potenciando o crescimento de rotíferos e 2) em produtos em pó através da estratégia de combinação de microalgas e probióticos (e no caso de ALLive condicionadores de água) otimizando a nutrição dos animais e ocupando o nicho ecológico com bactérias probióticas, reduzindo o potencial de crescimento de bactérias patogénicas, assim como realizando a inibição do crescimento pelos seus metabolitos. Ambas as estratégias promoveram a otimização da eficiência dos produtos quando aplicados em maternidades de peixes marinhos. A utilização da combinação de toda a gama de produtos em pó VitaBloom® em cultivo larvar de dourada demonstrou benefícios adicionais devido ao efeito sinérgico dos produtos, melhorando a sobrevivência larvar. Durante o projeto desenvolveram-se 5 novos produtos, tendo sido necessário desenvolver 10 formulações piloto até obtenção dos produtos finais.

## ALLgreen – VitaBloom® Green Water

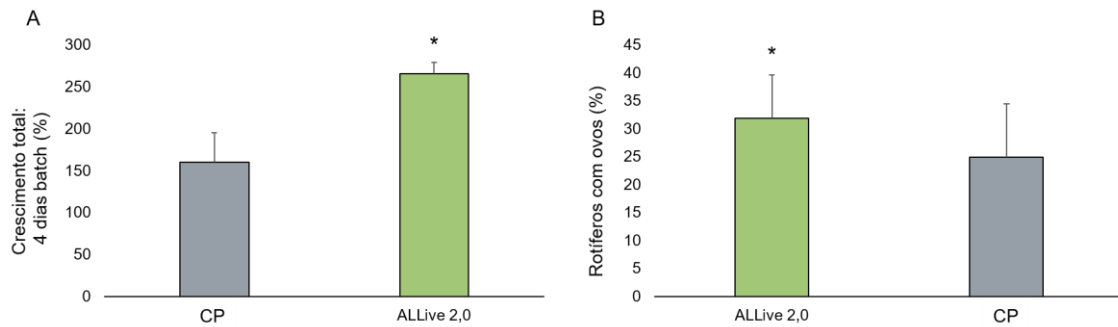
A formulação ALLgreen apresentou sobrevivência larvar de corvina (*Argyrosomus regius*) semelhante ao controlo de cultura viva de *Nannochloropsis* sp. (Ctrl) após fim de co-alimentação (Figura 1) e promoveu uma maior sobrevivência das larvas após submetidas a um teste de stress por transporte (92,98 %) comparativamente ao controlo (68,24 %). A presença de probióticos na formulação ALLgreen apresenta efeitos subtis, mas importantes para aplicação em técnica de água verde e manutenção das larvas de peixe sob efeitos de stress (stress de transporte).



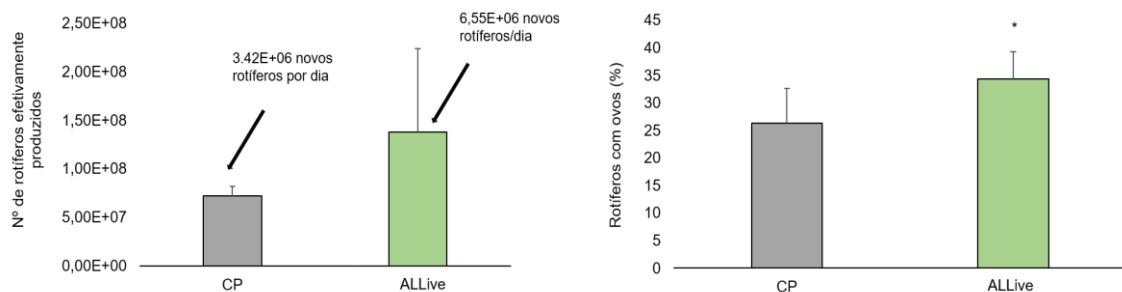
**Figura 1** – Avaliação do desempenho biológico do novo produto ALLgreen comparativamente ao controlo (cultura viva de *Nannochloropsis* sp.) em técnica de água verde: A) avaliação da sobrevivência larvar (%) e B) sobrevivência larvar (%) após indução de stress por transporte.

## ALLive – VitaBloom® Rotifers+

ALLive é uma dieta nutricionalmente equilibrada desenvolvida para promover um elevado desempenho biológico no cultivo de rotíferos (*Brachionus* sp.) nos regimes de produção *batch* e semi-contínuo. ALLive aumentou significativamente o crescimento de rotíferos em *batch*, assim como a percentagem de rotíferos com ovos (Figura 2). A sua validação foi efetuada em regime de produção semi-contínuo, no entanto não foi possível comparar com produtos comerciais controlo já que promoviam o *crash* das populações de rotíferos cultivadas em períodos alargados de tempo. A comparação entre rotíferos produzidos ao longo de 1 mês com ALLive em produção semi-contínua foi comparada com a produção sequencial de rotíferos em *batch* com outro produto comercial (Figura 3). A incorporação de condicionadores de água na formulação permite a utilização desta dieta em ambos os regimes de produção, promovendo melhor qualidade da água de cultivo e aumentando a produção de rotíferos em regime *batch* e semi-contínuo.



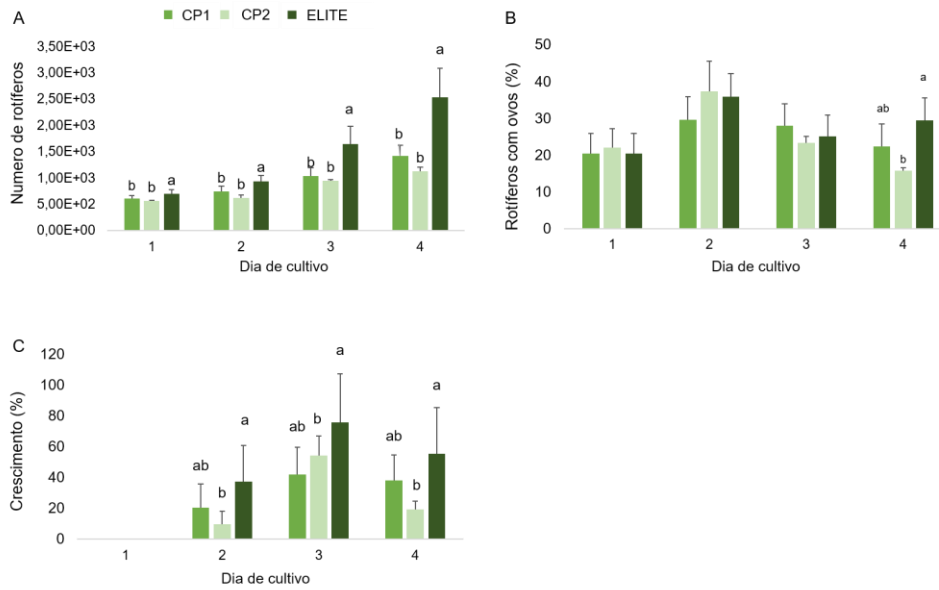
**Figura 2** – Avaliação da eficiência biológica do novo produto ALLive em cultivo de rotíferos em regime de produção *batch* comparativamente a um produto comercial (CP). Em A) crescimento total obtido de rotíferos no final dos 4 dias de cultivo e em B) percentagem de rotíferos com ovos (independent samples t-test,  $p < 0.05$ ).



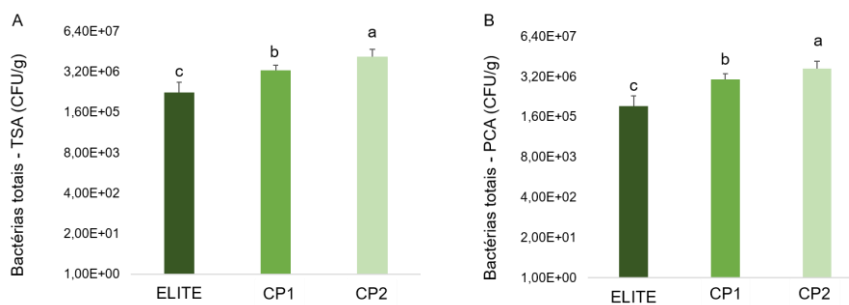
**Figura 3** – Avaliação da eficiência biológica do novo produto ALLive em cultivo de rotíferos em regime de produção semi-contínuo relativamente a produção de rotíferos em *batch* com produto comercial (CP). Em A) número de rotíferos produzidos em B) percentagem de rotíferos com ovos (independent samples t-test,  $p < 0.05$ ).

### PhytoBloom® ELITE formula

PhytoBloom® ELITE formula é um concentrado líquido de *Nannochloropsis* sp. premium (18 % de peso seco) para crescimento de rotíferos em sistema de produção fechado e regime *batch*. PhytoBloom® ELITE formula aumenta significativamente o número e reprodução dos rotíferos (percentagem de rotíferos com ovos (Figura 4). A significativa redução da carga bacteriana da dieta (Figura 5) e a menor decantação do produto na coluna de água, permitiram o aumento significativo do número de rotíferos e seu crescimento durante o cultivo em *batch*. A otimização do crescimento dos rotíferos deveu-se ao melhoramento da qualidade microbiológica do produto e redução e aglomeração de microalgas, que promoveu melhor da qualidade da água de cultivo e maior disponibilidade alimento na coluna de água.



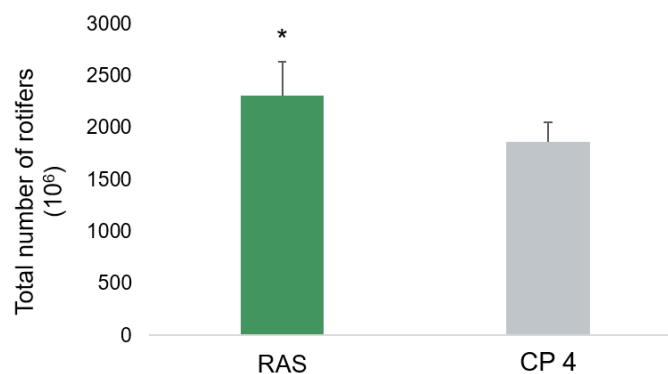
**Figura 4** – Avaliação da eficiência biológica do novo produto PhytoBloom® ELITE formula comparativamente a dois produtos comerciais (CP1 e CP2) no cultivo de rotíferos em sistema fechado e modo de produção *batch*: A) número de rotíferos produzidos ao longo dos dias de cultivo, B) percentagem de rotíferos com ovos e C) percentagem de crescimento (One-way ANOVA, post hoc Tuckey,  $p < 0.05$ ).



**Figura 5** – Quantificação de bactérias totais no novo produto PhytoBloom® ELITE formula relativamente a dois produtos comerciais (CP1 e CP2) em dois meios de cultura: A) meio TSA e B) meio PCA (One-way ANOVA, post hoc Tuckey,  $p < 0.05$ ).

## PhytoBloom® RAS formula

PhytoBloom® RAS formula é um concentrado líquido de *Nannochloropsis* sp. premium com peso seco reduzido (15% PS) especificamente desenvolvido para o cultivo intensivo de rotíferos em regime de produção RAS e técnica de água verde. O novo produto foi testado em cultivo de rotíferos em sistema RotiRas® (IDEE aquaculture, France) em regime de produção semi-contínuo durante uma semana (Figura 6). A diminuição da densidade do produto, resultante da redução do seu conteúdo em peso seco e da salinidade da solução leva a uma maior dispersão na água, permitindo o aumento significativo do número de rotíferos (Figura 6) através de maior disponibilidade de alimento na coluna de água. Adicionalmente, uma das maiores vantagens do produto RAS formula é o facto de prevenir a colmatção dos filtros do sistema RAS e facilitar a manutenção técnica do sistema.

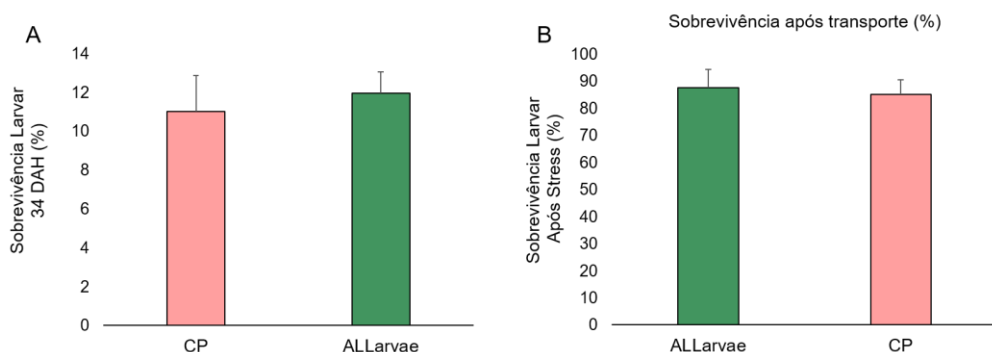


**Figura 6** – Eficiência biológica do novo produto PhytoBloom® RAS formula comparativamente a um produto comercial (CP4) no cultivo de rotíferos em regime de produção RAS (independent samples t-test,  $p < 0.05$ ).

## ALLarvae – VitaBloom® Enrich

VitaBloom® Enrich é um enriquecimento de alimento vivo sustentável com elevada eficiência biológica e um perfil nutricional equilibrado para larvicultura de peixes marinhos. Promoveu uma sobrevivência de larvas de dourada (*Sparus aurata*) cultivadas até fim de co-alimentação (Figura 7A) semelhante ao controlo.

Após a exposição das larvas a um ensaio de stress por transporte (Figura 7B) verificou-se uma sobrevivência semelhante ao melhor produto de enriquecimento de alimento vivo no mercado (CP).



**Figura 7** – Avaliação da eficiência biológica do novo produto ALLarvae comparativamente ao produto comercial (CP) no enriquecimento de rotíferos para nutrição de larvas de dourada relativamente a A) sobrevivência larvar 34 DAH (Dias Após Eclosão) e B) sobrevivência larvar após indução de stress por transporte.

## ALLfeeds

Foi possível desenvolver hidrolisados de microalgas à escala laboratorial através de diferentes condições aplicadas à biomassa das microalgas selecionadas, análise do seu perfil bioquímico e avaliação do potencial valor nutricional que os hidrolisados de diferentes espécies de microalgas (e.g. *Nannochloropsis* sp. e *Skeletonema costatum*) apresentam para aplicação como ingrediente de dietas para peixes marinhos (Tabela 1)

**Tabela 1** – Conteúdo proteico, aminoácidos livres (aa) e proteínas + aminoácidos livres obtidos após submissão da biomassa das diferentes microalgas a diferentes condições: HPH – *Hight-Pressure Homogenization* e HPH + Hidrólise enzimática.

Tratamentos	[proteína] g/L	[aa] g/L	Proteínas + aas (g/L)
----- <i>T. chui</i> -----			
Ctrl	1.34	4.42	5.76
HPH	24.55	6.69	31.25
Enzymatic H.	12.91	15.54	28.45
----- <i>S. costatum</i> -----			
Ctrl	2.58	6.41	8.99
HPH	10.39	6.76	17.15
Enzymatic H.	12.23	16.21	28.44
----- <i>N. oceanica</i> -----			
Ctrl	11.69	2.84	14.53
HPH	14.94	9.41	24.35
Enzymatic H.	14.57	28.65	43.22



## Desenvolvimento final dos produtos do projeto ALLARVAE

Durante o projeto ALLARVAE foram desenvolvidas 5 brochuras técnicas para cada produto, um vídeo promocional da gama VitaBloom® de produtos em pó e foi realizada uma Workshop final do Projeto ALLARVAE organizada pela Necton onde os produtos e os seus resultados laboratoriais e *in vivo* foram divulgados.

Os produtos em concentrado líquido (PhytoBloom® ELITE formula e PhytoBloom® RAS formula) (Figura 8) foram desenvolvidos, lançados no mercado durante o projeto e iniciou-se a sua comercialização.



**Figura 8** – Produtos em concentrado líquido desenvolvidos e lançados no mercado durante o projeto ALLARVAE para aplicação em cultivo de rotíferos e técnica de água verde: A) PhytoBloom® Elite formula e B) PhytoBloom® RAS formula.

Os produtos da gama VitaBloom® (Figura 9) encontravam-se, ao fecho do projeto, em fase final de desenvolvimento de produto. A rotulagem e seleção de embalagem encontravam-se em fase final de desenvolvimento para lançamento no mercado. As amostras dos produtos foram enviadas para avaliação em 3 aquaculturas industriais (*end users*) para avaliação.



**Figura 9** – Produtos em pó desenvolvidos durante o projeto ALLARVAE combinando microalgas e probióticos para aplicações em aquacultura sob a nova marca VitaBloom® nomeadamente: a) VitaBloom® Green water, b) VitaBloom® Rotifers+ e c) VitaBloom® Enrich.

### **Atividades de Disseminação |**

No final do projeto ALLARVAE organizou-se uma workshop presencial e através de webinar para divulgação dos resultados obtidos, assim como a divulgação de 2 novos produtos em concentrado líquido para cultivo de rotíferos comercializadas no decorrer do projeto (PhytoBloom® ELITE formula e PhytoBloom® RAS formula) e início de divulgação do lançamento de 3 novos produtos para larvicultura de peixes marinhos (gama VitaBloom®). Durante o projeto divulgaram-se os resultados através de 9 apresentações por poster, 4 apresentações orais em congressos e 5 seminários. Foi também possível o desenvolvimento de 1 tese de mestrado e 2 relatórios de estágio de mestrado.

# ALLARVAE



## PROJECT DISSEMINATION

Development of target-specific products for marine fish larviculture, as well as post-larvae and juveniles, through the combination and transformation of industrially produced microalgae biomass

### 30 JUNE

Universidade do Algarve, Campus Gambelas, Complexo Pedagógico  
From 9h30 to 17h30

REGISTRATION



necton



Figura 10 – Workshop Final do Projeto ALLARVAE, Universidade do Algarve, 30 de junho de 2023.