

- Algenaquakultur
- Farmingtechnik
- Domestikation

Domestikation von Makroalgen in der Ostsee (Teilprojekt CRM)

Im BALI-Projekt hat CRM versucht die Kultivierung verschiedener Makroalgen (z.B. Blasentang (*Fucus vesiculosus*)) in der Ostsee zu etablieren bzw. zu optimieren. Ziel war es, geeignete Biomassen für die Projektpartner zur Verfügung zu stellen, aus denen dann wertvolle Inhaltsstoffe extrahiert werden können, im BALI-Projekt vor allem Oligosaccharide.

Im Projektverlauf konnte erstmals der Blasentang sexuell vermehrt und über seinen gesamten Lebenszyklus von der Aussaat der befruchteten Eizellen auf Kulturseile über das initiale Wachstum der Keimlinge bis zur Erntegröße von ca. 30 cm kultiviert werden. Dabei wurden verschiedene Optimierungsversuche unternommen, hauptsächlich um das Überleben der Keimlinge bis zu einer Größe von ca. 1 cm zu erreichen.

Außerdem konnte im Projektverlauf die Meersaite (*Chorda filum*), eine heimische Braunalge, erstmals überhaupt erfolgreich vermehrt und kultiviert werden. Der Lebenszyklus dieser Art erstreckt sich von der Aussaat der Sporen bis zur Ernte über ca. 8 - 10 Monate.

Die Meersaite könnte für die Ostseeregion eine vielversprechende Art sein, weil ihre Biologie (Wachstum über nur ein Jahr) und Physiologie (sie kann ganz untergetaucht kultiviert werden und benötigt nicht, wie der Blasentang, regelmäßig Wellen- bzw. Luftexposition um sich gegen ungewollte Konkurrenzalgen auf dem Kulturseil durchzusetzen; sie ist an die hiesigen Temperaturverhältnisse besser angepasst als z.B. der Zuckertang) besonders vorteilhaft für die lokalen Anbaubedingungen sind.



Junger Blasentang (ca. 4- 5 cm) auf dem Kulturseil,
Alter: ca. 8 Monate.

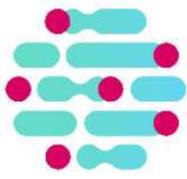


Kulturseil mit Keimlingen des Blasentangs (die kleinen dunklen Punkte).

Die Forschungsarbeiten wurden durch verschiedene Youtube-Formate begleitet:



Dr. Rafael Meichßner
Coastal Research & Management
Tiessenkai 12, 24159 Kiel
rafael.meichssner@crm-online.de



- Extraktentwicklung
- Kosmetikentwicklung
- Hautstudien

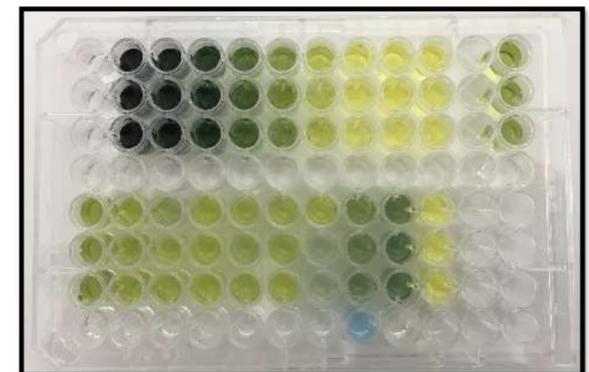
In-vitro und in-vivo Prüfung der hautaufhellenden Wirkung von Algenextrakten (Teilprojekt oceanBASIS)

Algen und ihre Extrakte haben das Potenzial, das Enzym Tyrosinase zu hemmen, welches unter anderem für die Melaninbildung in der Haut verantwortlich ist. Ziel des Teilprojektes ist es, einen hautaufhellenden Extrakt zu entwickeln und seine Wirksamkeit in *in-vivo* Studien zu belegen.

Es wurden mehrere kosmetische Extrakte hergestellt und in *in-vitro* Assays auf Polyphenolgehalte, Anti-Tyrosinase-Aktivität und antioxidative Kapazität gescreent. Der wässrige Extrakt aus *Saccharina latissima* zeigte dabei die größte Tyrosinasehemmung.

Es wurden wässrige und fettige Testrezepturen mit *S. latissima*-Extrakt entwickelt und im Rahmen einer randomisierten, verblindeten und kontrollierten 3-monatigen Studie auf den Unterarmen von Probanden (n=12) getestet. Die Messung der Pigmentierung erfolgte alle 2 Wochen. Wasser (Placebo) sowie ein etablierter Kosmetikstandard dienten dabei als Kontrollen.

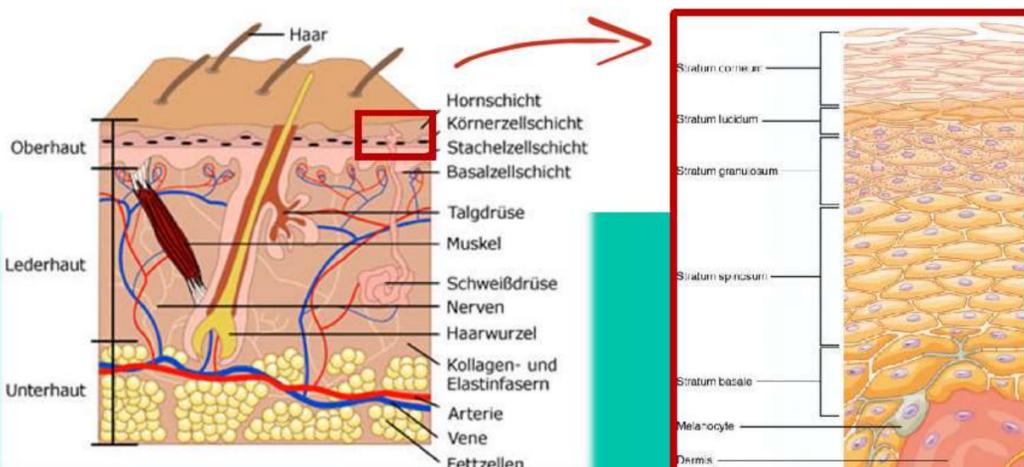
Es konnte keine signifikante Hautaufhellung gegenüber der Placebokontrolle festgestellt werden. Die Positivkontrolle zeigte eine leichte, aber ebenfalls nicht signifikante hautaufhellende Tendenz gegenüber dem Extrakt. Es wird vermutet, dass die Konservierer, welche sowohl im Extrakt als auch in den Rezepturen eingesetzt wurden, ebenfalls eine hautaufhellende Wirkung besitzen. Auf Basis der im Projekt erzeugten Ergebnisse werden weitere Studien angestrebt.



Verschiedene Algenextrakte (oben) wurden in *in-vitro* Assays untersucht (unten).



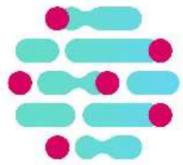
Die Messung basiert auf Absorption/Reflexion. Die Sonde sendet drei spezifische Wellenlängen von Licht aus. Ein Sensor misst, wie viel davon von der Haut reflektiert wird.



Aufbau der Haut. In den Melanozyten wird das Melanin gebildet.

Kontakt:

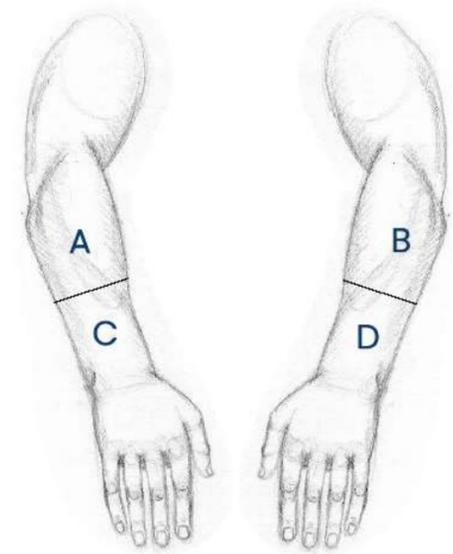
Timo Jensen
oceanBASIS GmbH
Tiessenkai 12, 24159 Kiel
tjensen@oceanbasis.de



Wirksame Kosmetik aus dem Meer

Entwicklung einer Pipeline zur *in-vivo* Prüfung mariner Kosmetikwirkstoffe (Envivomar)

Algenextrakte sowie ihre Inhaltsstoffe gewinnen in der kosmetischen Industrie zunehmend an Bedeutung. Ihre positive Wirkung auf das Hautbild ist dabei oft durch *in-vitro* Experimente („im Reagenzglas“) beschrieben, aber nur selten auch in Humanstudien belegt. Das Projekt Envivomar zielt daher darauf ab, eine Pipeline für die *in-vivo* Prüfung („am lebenden Objekt“) von Algenextrakten und anderen marinen Kosmetikrohstoffen an freiwilligen Probanden zu entwickeln.



Testareale für Prüfrezepturen. Die Prüfung findet doppelt verblindet, randomisiert und kontrolliert gegen einen Placebo statt.

Arbeitspaket 1: Etablierung der Prüfpipeline und des Studiendesign mit bereits marktverfügbaren und gut untersuchten Kosmetikrohstoffen (z. B. Hyaluronsäure)

Arbeitspaket 2: Prüfung von marktverfügbaren Algenextrakten mit etablierter Pipeline

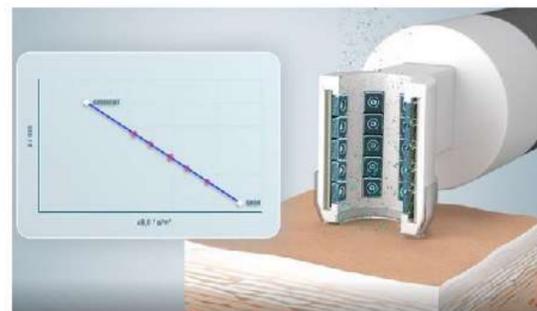
Arbeitspaket 3: Entwicklung von neuen Algenextrakten mit verschiedenen Extraktionsverfahren sowie Vergleich der hautpflegenden Eigenschaften mithilfe der etablierten Pipeline

Messbare Parameter:

- Hautfeuchte
- Hautfett & Aktivität der Talgdrüsen
- Pigmentierung und Hautrötung
- Hautelastizität
- Hautbarrierefunktion (Transepidermaler Wasserverlust)
- Hautstruktur und Falten
- Flecken, Läsionen und Poren
- Schuppigkeit/Desquamation
- Aktivität von Aknebakterien



Hautanalysegerät (Courage & Khazaka electronic GmbH). Die Messung erfolgt nicht-invasiv durch Auflegen der Sonden & Kameras auf die Haut.



Sonde zur Messung des transepidermalen Wasserverlustes: Es wird der Gradient der Luftfeuchtigkeit zwischen Hautoberfläche und Umgebung betrachtet.¹



Aufnahme der Hautstruktur: Faltenanordnung- und -tiefe geben Aufschluss über das Hautalter und den Pflegezustand der Haut.

¹Abbildung von Courage & Khazaka electronic GmbH



Schwimmende Gewächshäuser in Kiel

im Projekt **HaFF**: Halophyten und andere Makrophyten zur Filtration von nährstoffbelastetem Ab- und Oberflächenwasser in Ereilandkultur

Im Rahmen des Projekts wurden essbare, salzliebende und salztolerante Pflanzen (Halophyten) ausgewählt und erfolgreich in schwimmenden Gewächshäusern auf der Ostsee angebaut. Als Substrat diente Strandanwurf. Queller und Strandaster zeigten das vielversprechendste Anbaupotential.



Angebaute Halophyten, v.l.n.r.: Queller, Stranddreizack, Strandaster, Strandwermut

Die Testpflanzen: Zu den im Gewächshaus getesteten Halophyten gehörten Queller, Strandaster, Meerkohl, Stranddreizack, Mönchsbart und Strandwermut. Von allen Pflanzen wurden Proben entnommen und den Projektpartnern zur weiteren Analyse und Verarbeitung übergeben. Queller und Strandaster zeigten unter Gewächshausbedingungen das beste Wachstum.



Ostsee-Strandanwurf als Substrat

Strandanwurf als Substrat: Obwohl die Ostsee immer noch zu 97% überdüngt ist (Umweltministerium Kiel, 2021), sind im Ostseewasser alleine nicht genügend Nährstoffe für den erfolgreichen Anbau höherer Pflanzen gelöst. Um keinen Dünger einzusetzen, wurde daher auf Strandanwurf zurückgegriffen. Er besteht aus Algen und Meeres-Pflanzen, die während ihres Wachstums in der Ostsee Nährstoffe aufnehmen und ihn in ihren Geweben speichern. Wenn der Strandanwurf verrottet, werden diese gespeicherten Nährstoffe freigesetzt, was sich als geeignete und natürliche Nährstoffquelle für die Testpflanzen erwiesen hat.

Die Kieler Meeresfarm stellt sich vor:

Unser Arbeitsschwerpunkt liegt auf der Kultivierung und dem Verkauf von Muscheln, Algen und Queller in und an der Kieler Förde. Zudem beteiligen wir uns aktiv an verschiedenen nationalen und internationalen Forschungsprojekten als Partner, assoziierter Partner und Unterauftragnehmer. Darüber hinaus bieten wir auch Führungen und Vorträge für die interessierte Öffentlichkeit an, um die faszinierende Welt der küstennahen Aquakultur in kleinem Rahmen aus erster Hand erlebbar zu machen.



www.Kieler-Meeresfarm.de

Kontaktdaten:
Dr. Tim Staufenberger,
Kristina Hartwig,
Nikolai Nissen
Kieler Meeresfarm
GmbH & Co. KG
Info@Kieler-Meeresfarm.de



Schwimmende Gewächshäuser in der Kieler Förde

Geschlossenes System: Um keine Nährstoffe in die Ostsee einzubringen, wurde ein geschlossenes Bewässerungssystem gewählt. Es fand kein direkter Wasseraustausch zwischen den Gewächshäusern und der Ostsee statt. Das Ostseewasser, das für die Bewässerung der Versuchspflanzen verwendet wurde, verblieb innerhalb des Systems. Lediglich die Wassermenge, die durch Verdunstung entwich, wurde durch frisches Ostseewasser ersetzt. Dieses Wasser-Recycling führte zu einem Anstieg des Salzgehalts während der Kulturzeit, was sich positiv auf den Geschmack der verschiedenen kultivierten Halophyten ausgewirkt hat.



Kultivierung von Halophyten auf schwimmenden Pflanzeninseln: Multitalent und plastikfrei

Halophyten und andere Makrophyten zur Filtration von nährstoffbelastetem Ab- und Oberflächenwasser in Freilandkultur

Schwimmende Pflanzeninseln bieten vielfältige Ökosystemleistungen, wie die lokale Reduktion von Nährstoffen in eutrophierten Küstengewässern. Im Rahmen von BaMS HaFF testet EUCC-D den Anbau von Halophyten und Heilpflanzen auf Schwimmiseln aus nachhaltigen Materialien.



Schwimmende Pflanzeninsel im IGA Park Rostock, Unterkonstruktion Thermoholz



Strandaster (*Tripolium pannonicum*) und Stranddreizack (*Triglochin maritima*)

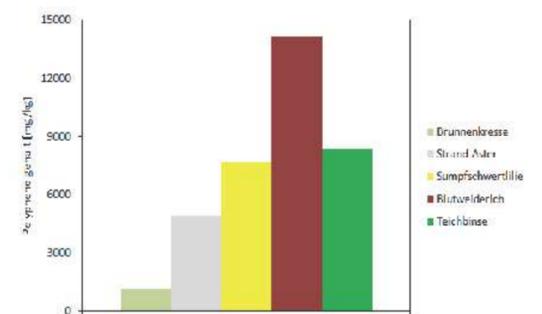


Nachhaltige Materialien

- Thermoholz (Wurzelwachstum nur entlang der Spalten möglich, Seepocken-/Miesmuschelbewuchs verringert Auftrieb)
- Glasschotter in Basaltnetz mit Xylitfasern/in Stahlgitter (gute Ausbreitung des Wurzelraums, Konstruktion in 2023 verbessert)

Getestete Pflanzensubstrate:

- Kokosfaser, Hanffaser, Seegras
- Pflanzenwachstum und Überlebensraten auf Kokosfaser am besten



Polyphenolanalyse der geernteten Pflanzen (Juli 2021): höchste Werte bei Blutweiderich (*Lythrum salicaria*, 14.000 mg kg⁻¹)

Lit.: Karstens, S., Dorow, M., Bochert, R. et al. (2022): Stepping stones along urban coastlines - Improving habitat connectivity for aquatic fauna with constructed floating wetlands. Wetlands 42, 76
Karstens, S., Langer, M., Nyunoya, H. et al. (2021): Constructed floating wetlands made of natural materials as habitats in eutrophicated coastal lagoons in the Southern Baltic Sea. J Coast Conserv 25, 44

Kontakt:

Franziska Stoll

EUCC – Die Küsten Union Deutschland e.V.

stoll@eucc-d.de



Untersuchungen zur Nutzung von Mikroalgen-Biomasse aus Kultivierung auf Biogasanlagen-Oberflächenwasser in Hautpflegeprodukten

Ökonomische Prozessketten der aquatischen Bioökonomie auf Biogasanlagen

Auf Biogasanlagen fällt nährstoffreiches Oberflächenwasser an, das nicht in die Umwelt eingeleitet werden darf. Im Projekt wurde das Oberflächenwasser zur Kultivierung von Mikroalgen genutzt. Für Mikroalgen-Inhaltsstoffe sind vielfältige positive Wirkungen auf die Hautgesundheit bekannt. Bei oceanBASIS wurden Aufbereitungs- und Nutzungsmöglichkeiten der erzeugten Mikroalgen-Biomasse für Hautpflegeprodukte entwickelt.

Mit dem Ziel einer kontinuierlichen lokalen Freisetzung von Algenwirkstoffen über einen längeren Zeitraum in einer feuchten Hautumgebung, wurden Herstellungsmethoden für hydrokolloidale Folien entwickelt, die als Cosmetic Patches eingesetzt werden können. Dazu wurde das Polysaccharid Alginat aus Braunalgen zusammen mit Mikroalgenextrakten verwendet und mittels Gußtechniken sowie elektrophoretischer Deposition zu Patches verarbeitet. Die Löslichkeit konnte durch Crosslinking über Cationen modifiziert werden, die hydrokolloidalen Eigenschaften zusätzlich über den Glycerinanteil.

Die EU-Kosmetikverordnung erfordert vor der Produkt-Markteinführung eine Sicherheitsbewertung. Qualitative und quantitative Angaben zu Inhaltskomponenten sind erforderlich. Verunreinigungen dürfen nur in gesundheitlich unbedenklichen Mengen und soweit technisch unvermeidbar enthalten sein. Die Mikroalgen Biomasse wird daher im Projekt toxikologisch mit Mikroalgen Handelsware verglichen. Mineralölkohlenwasserstoff- und Blei-Konzentrationen erfordern für eine Verwendung in Hautpflegeprodukten Anpassungen im Kultivierungs- und Ernteprozess.



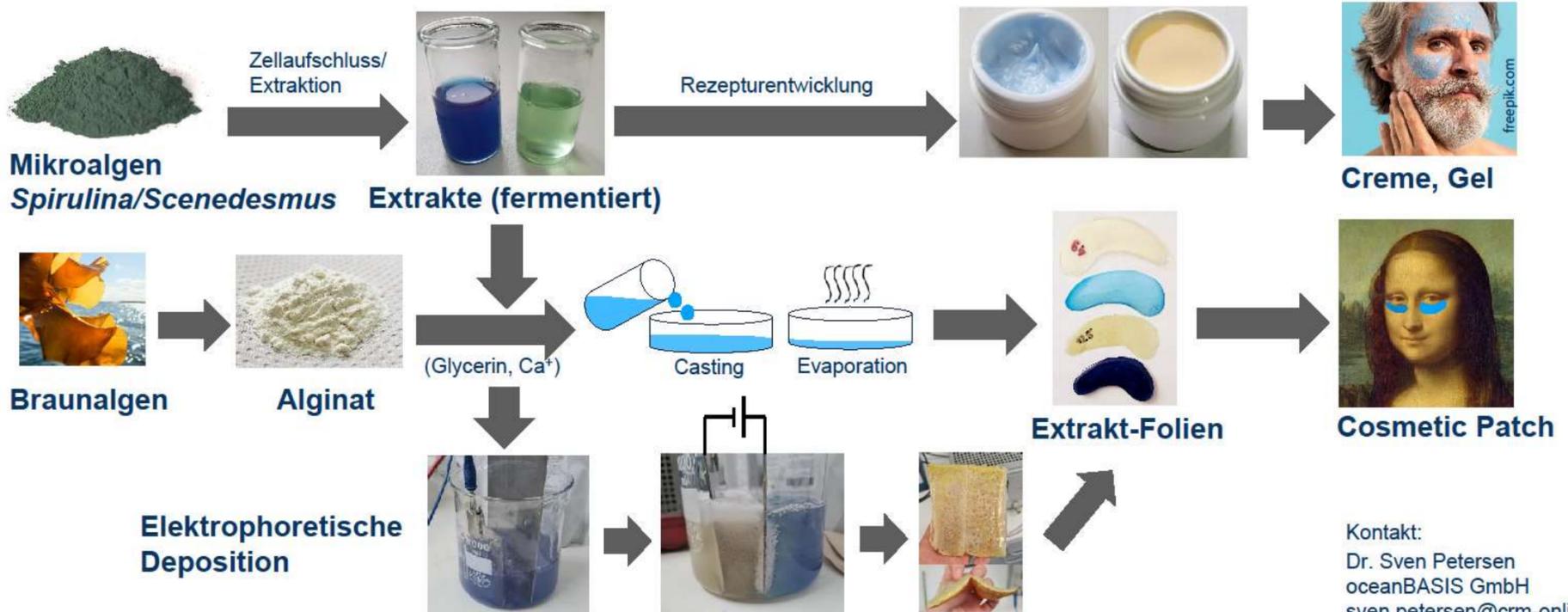
Oberflächenabwasser



Mikroalgenreaktor



Hautpflegeprodukt?



Kontakt:
Dr. Sven Petersen
oceanBASIS GmbH
sven.petersen@crm-online.de

Toxikologie – ein wichtiger Aspekt in der Blauen Bioökonomie

Thekla Schultheiß, Anna Meurer, Marie Wilkes und Edmund Maser

Institut für Toxikologie und Pharmakologie für Naturwissenschaftler, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein

Die Blaue Bioökonomie birgt Lösungen für viele Herausforderungen unserer heutigen Zeit, durch Kreislaufwirtschaft, erneuerbare Energien, Ressourcenschonung, Biodiversität oder Ernährungssicherung. Aus toxikologischer Sicht kann, durch die nachhaltige kreislauf-wirtschaftliche Nutzung aquatischer biologischer Ressourcen, auch deutlich der Eintrag weiterer Schadstoffen in die Umwelt gemindert werden. Zeitgleich stellt der Wandel hin zur biobasierten Wirtschaftsweise neue Herausforderungen und Fragen an Gesellschaft, Wirtschaft und Wissenschaft, aufgrund innovativer Produktionsverfahren und -prozesse, neuer Anwendungsbereiche, der Nutzung von Reststoffströmen oder der Nutzung „neuer“ blauer Rohstoffe. Einige dieser Fragen können durch den Bereich der Toxikologie auf wissenschaftlicher Ebene maßgebend mitbeantwortet werden.

>> Toxikologie beantwortet kritische Fragen

Schadstoffquellen/ -ströme

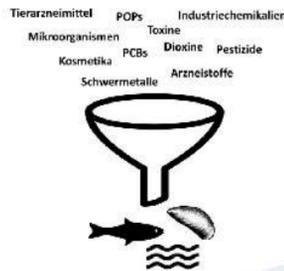
Aufkommen: Wo gelangen welche Schadstoffe ins System/ Prozess?

- Umweltkomponenten (z.B. Vorkommen in der lokalen Umwelt, Atmosphäre)
- Systemkomponenten (z.B. Pumpen, Rohre, Becken, Filter)
- Prozesskomponenten (z.B. Handling, Verarbeitung, Verpackung)

Verteilung: Wie verteilen sich diese Schadstoffe im System?

Akkumulation: Wo reichern sie sich an?

Vermeidung: Wie können Schadstoffe im Prozess vermeiden/ minimiert werden?



Toxikologische Bewertung

Toxikologische Beurteilung: Ist ein Rohstoff/ ein Produkt sicher für die Anwendung?

- Toxizität und Konzentration einzelner relevanter Substanzen
- Ermittlung des Gefährdungspotenzial (Schadstoffarten und -mengen)
- Abschätzung der Exposition

Zulassung: Werden Grenzwerte überschritten?

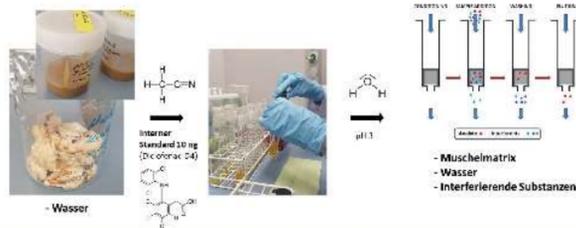
Verwertung: Für welche Anwendung ist ein Rohstoff tox. verwertbar?



Analytik

Quantitative Bestimmung der Konzentrationen von Substanzen

- Entwicklung von Aufarbeitungs- und Extraktionsmethoden (Prä-Analytik)
- Entwicklung von Messmethoden (u.a. Chromatographie, Massenspektrometrie)



Rohstoffe

Produktionsprozesse

Produkte

der Blauen Bioökonomie

Identifikation relevanter Schadstoffe

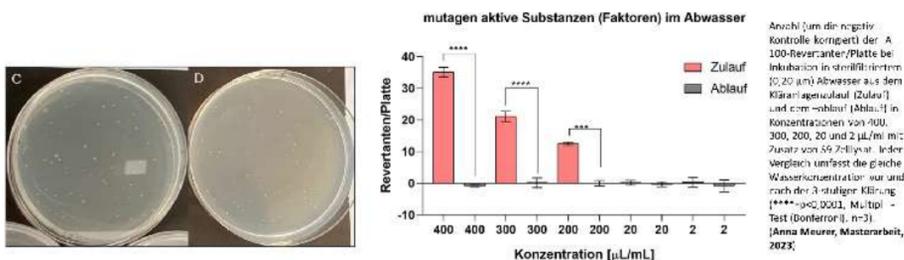
Relevanz: Welche aller vorkommenden Substanzen sind relevant und müssen analysiert und bewertet werden?

- Toxikologische Relevanz: u.a. Toxizität, Persistenz, Bioakkumulation/ Biokonzentration, Halbwertszeit, Biometabolisierung, Bioverfügbarkeit
- Regulative Relevanz: u.a. Art der Anwendung (z.B. Lebensmittel), Exposition, Höchstmengen, Grenzwerte

Toxizität (wirkungsbezogene Analytik)

Welche **toxische Wirkung** hat eine Substanz/ ein Substanzgemisch/ eine Matrix (z.B. Abwasser) bei Exposition auf einen Organismus?

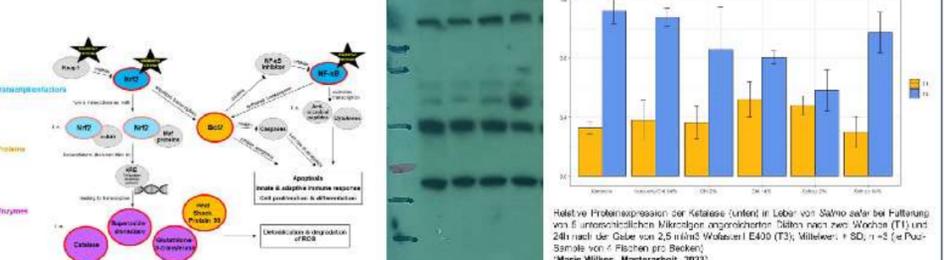
- Parameter: Wachstum, Mortalität, Reproduktion etc.
- Art: Gentoxizität, Mutagenität, Hormonelle Wirkung, Immuntoxizität etc.
- Testverfahren: u.a. Ames, Comet, Akute/ Chronische Toxizitäts Tests



Biomarker (Erkennung adverser Effekte)

Geeignete **molekulare Biomarker** zur Erkennung adverser Effekte

- Welchen Effekt hat ein Stressor / eine Substanz auf exponierte Organismen?
- Faktoren (z.B. funktioneller Futterzusatz) zur Minderung adverser Effekte?



Wasserreinigung durch Mikroalgenkultivierung: Analytischer und toxikologischer Nachweis der quantitativen Reduktion toxischer Substanzen im Oberflächenwasser

Schultheiß, T.¹, Meurer, A.¹, Mudimu, O.², Ecke, M.³, Schulz, R.², Maser, E.¹

¹ Institut für Toxikologie und Pharmakologie für Naturwissenschaftler, UKSH Kiel
² Botanisches Institut, CAU Kiel
³ GICON-Großmann Ingenieur Consult GmbH

Auf Biogasanlagen sind große Flächen versiegelt (Silo- und Fahrflächen), auf welchen u.a. durch Niederschlag Wasser anfällt. Das anorganisch sowie organisch belastete Oberflächenwasser (OW) muss gesammelt, gelagert und umweltgerecht verwertet werden. Hierdurch entstehen Kosten für die Lagerung und letztlich für die Ausbringung. Abhilfe schaffen kann die wirtschaftliche Nutzung der Nährstoffe und Spurenelemente im OW durch die Produktion von verwertbarer Mikroalgenbiomasse. Zusätzlich kann die Mikroalgen-Cyanobakterien Kultivierung, die Wasserqualität schadstofflich verbessern. Der Reinigungseffekt durch die Algenkultivierung auf OW im Algenreaktor (Abb. 1) wurde anhand ausgewählter Schadstoffe analytisch, sowie für die Gruppe der Mutagene toxikologisch nachgewiesen und quantifiziert.

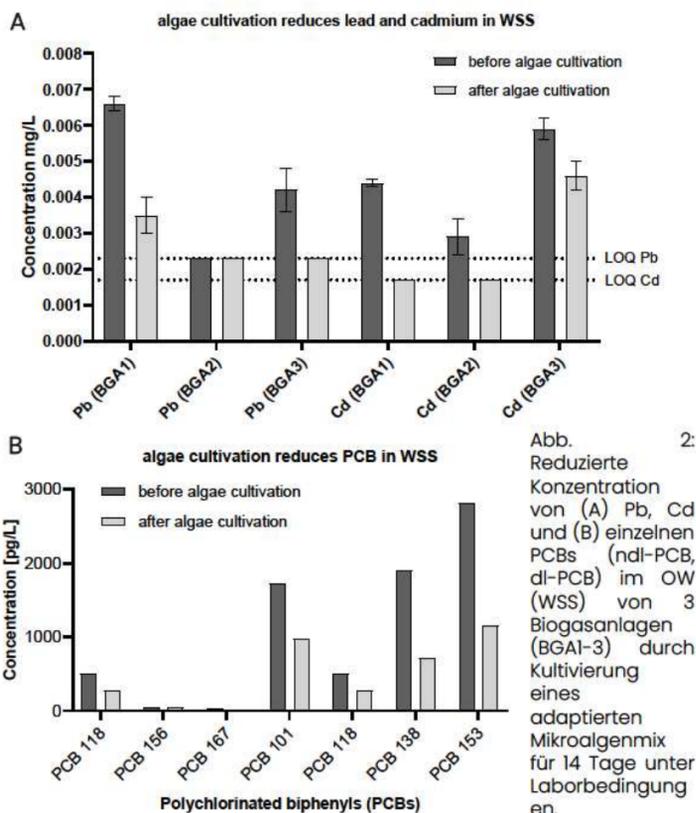


Abb. 1: Kultivierung des auf Oberflächenwasser adaptierten Algenmix im Algenreaktor (GICON) auf der Biogasanlage B.E.S.

Analytischer Nachweis der reduzierten Konzentration an Schadstoffen im OW

Nachweisbare Reduktion einzelner relevanter Schadstoffe durch die Mikroalgenkultivierung (14 Tage) im OW von 3 Biogasanlagen:

- Blei bis -50% (Abb. 2A)
- Cadmium bis -60% (Abb. 2A)
- Polychlorierte Biphenyle bis -60% (Abb. 2B)



Toxikologischer Nachweis der reduzierten Konzentration mutagen aktiver Faktoren im OW

Herausforderung:

- Unbekannter Mix an toxischen Faktoren in belastetem OW
- Quantitativer analytischer Nachweis und toxikologische Bewertung einzelner Substanzen möglich
- Aber Rückschluss auf mögliche toxikologische Effekte des simultanen Vorhandenseins unterschiedlicher Substanzen nur sehr bedingt möglich

Herangehensweise:

Ames-Test (Rückmutationstest mit *Salmonella typhimurium*) mit OW vor und nach der Algenkultivierung im Algenreaktor -> Nachweis mutagen aktiver Substanzen

Ergebnis:

Signifikant weniger Rückmutationen im OW nach der Algenkultivierung -> Abnahme der mutagenen Aktivität des OW

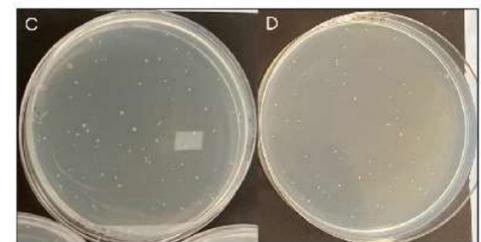
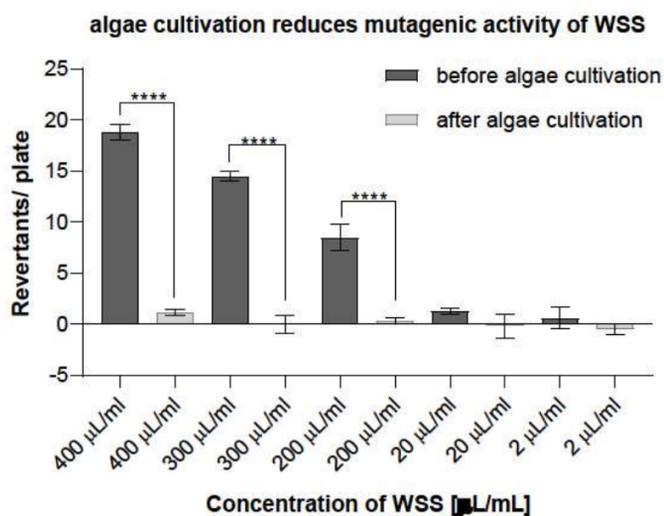


Abb. 3: Kollisionen der TA 100-Revertanten, nach Inkubation in 400 µL/ml sterilfiltriertem (0,20 µm) Oberflächenwasser vor und (D) nach der Kultivierung von Mikroalgen für 14 Tage im Algenreaktor.

Abb. 4: Anzahl (um die negativ Kontrolle korrigiert) der TA 100-Revertanten/Platte bei Inkubation in sterilfiltriertem (0,20 µm) Oberflächenwasser (WSS)-Konzentrationen von 400, 300, 200, 20 und 2 µL/ml mit Zusatz von S9-Zellysat. Jeder Vergleich umfasst die gleiche Wasserkonzentration aus dem WSS vor und nach der Mikroalgenkultivierung für 14 Tage im Algenreaktor (****=p<0,0001, Multipl T-Test (Bonferroni), n=3).

Durch die Kultivierung eines Mikroalgen-Cyanobakterien-Mix auf schadstofflich belastetem Wasser, wie dem OW von Biogasanlagen, können - neben der **Produktion einer wirtschaftlich nutzbaren Mikroalgenbiomasse** - toxische Substanzen aus dem Wasser gereinigt werden. Zusätzlich zur analytisch nachgewiesenen **quantitativen Reduktion einzelner Schadstoffe wie Schwermetalle, PCBs oder Mineralölkohlenwasserstoffe**, konnte eine **reduzierte mutagene Aktivität von im Wasser vorhandenen Substanzen** gezeigt werden.



- Algen in der Landwirtschaft
- Sektorenkopplung
- Nährstoffnutzung

ÖkoPro – Algenproduktion an Biogasanlagen

ÖkoPro – ÖKONOMISCHE PROZESSKETTEN DER AQUATISCHEN BIOÖKONOMIE AUF NORDDEUTSCHEN BIOGASBETRIEBEN

Das Projekt ÖkoPro zielt auf die Etablierung nachhaltiger Prozessketten zur Nutzung von landwirtschaftlichen Reststoffen unter Einbindung von Mikroalgen/Cyanobakterien in Norddeutschland ab.

Die Nährstoffkonzentrationen im Oberflächenwasser von 21 Biogasanlagen wurden über die LUFA über ein Jahr auf alle relevanten Nährstoffe untersucht. Dabei zeigte sich, dass es sowohl auf den einzelnen Betrieben, als auch im jahreszeitlichen Verlauf zu starken Schwankungen hinsichtlich der Mengen an Nährstoffen (kg/m^3) kommt. Diese Schwankungen müssen zwingend zur gleichmäßigen Ernährung der Algen in einem Egalisierungsbecken ausgeglichen werden.

Die Grundlage der Algenproduktion, das Algenmedium „Oberflächenwasser“, befindet sich in einer rechtlichen Grauzone hinsichtlich der Zulassungsvoraussetzungen zur weiteren Nutzung der Algen als Kosmetikgrundstoff, als Pet-Food-Zutat oder als Futterzusatz zur Produktion von Insekten. Hier müssen die rechtlichen Grundlagen noch evaluiert werden.

Die Partner oceanBASIS und microganic haben die grundlegenden Daten zur Nutzung der Algenbiomasse im Kosmetiksektor und Pet-Food-Bereich ermittelt. Der Partner 3N konnte über externe Versuche die gute Eignung von Algenbiomasse als Futterzusatz für Insekten belegen. Weitere Anwendungsbereiche sind denkbar.



Egalisierungsbehälter auf der Biogasanlage B.E.S. von innen
Quelle: Sascha Hermus



Geerntete Algenbiomasse
Quelle: Stefan Meyer



Projektleiter: Sascha Hermus
Telefon: 01525/4782560
Email: Hermus@3-n.info
URL: www.3-n.info



- Sektorenkopplung
- Biogasanlagen
- Landwirtschaft

VACO2

VERRINGERUNG VON AMMONIAK- UND CO₂-EMISSIONEN AN BIOGASANLAGEN UNTER VERWENDUNG LOKALER RESTSTOFFSTRÖME

Das Projekt zielt auf die Etablierung einer Pilotanlage zur Rückgewinnung von Ammoniak unter Verwendung von regionalen CO₂-Emissionen und lokaler wässriger Reststoffströme ab. Der hier zu entwickelnde Prozess dient dazu, die in ÖkoPro (Schwesterprojekt in BaMS) zu entwickelnde Mikroalgenproduktion durch die Bereitstellung eines pH-optimierten und NH₄ und CO₂ angereicherten wässrigen Mediums zu unterstützen.

Im Verlauf des Transferprojektes werden die Feststoffströme des Gärrestes aus der BGA (Pressschnecken- und Dekanter-Separation) mit Kalk versetzt und in einer Fördereinrichtung entgast. Durch die chemisch bedingte Temperaturerhöhung und die pH-Wert-Anhebung wird das enthaltene Ammonium zu Ammoniak und kann als Gas abgesogen werden. Dies Gasgemisch wird über einen stehenden GFK-Tank (25m³) geführt, der gasdicht ist. Dieser Tank ist mit wässrigen Nebenstoffströmen befüllt (Oberflächenwasser, Silagesickerwasser, Kondensatwasser etc.) deren pH-Werte über natürliche Säuren aus bakteriellem Ursprung bei pH-Werten um 5 bis hin zu 3.7 liegen (eigene Messungen).

In welchem Maße das Dissotiationsgleichgewicht zwischen NH₃ und NH₄ in diesen Medien verändert wird und somit das Ammoniak bei durchströmen der wässrigen sauren Phasen zu gelöstem Ammonium umgewandelt werden kann, ist nicht bekannt. Gleichzeitig wird der pH-Wert der Flüssigkeit angehoben und es soll die Eignung als Produktionsmedium für die Algenkultivierung getestet werden.



Biogasanlage, der die Gärreste stammen
Quelle: Sascha Hermus



Gärrestfestphasen (links Pressschnecke; rechts Dekanter)
Quelle: Sascha Hermus



Eberhard Schulte Siering
Zum Golfplatz 3
48455 Bad Bentheim
schulte-siering@t-online.de
Tel 05922 6640



ONLINE-MESSUNG VON ASTAXANTHIN

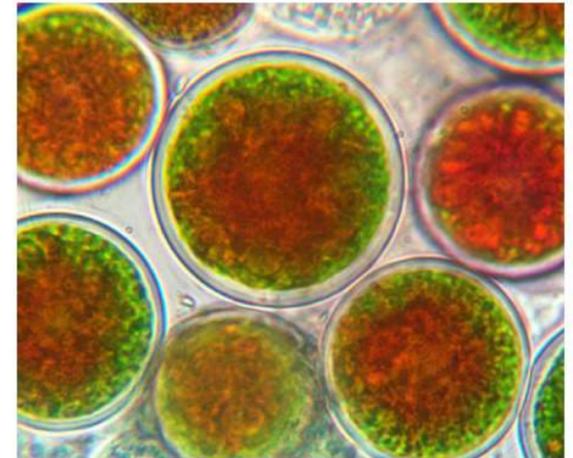
ONLINE-MESSSYSTEM ZUR BESTIMMUNG DER ASTAXANTHINBILDUNGSRATE IN MIKROALGENKULTUREN

Unter Stressbedingungen bildet die Mikroalge *Haematococcus* sp. den Wertstoff Astaxanthin (ASX). Die Analyse der Produktbildungsrate erfolgt bisher zeit- und arbeitsintensiv im Labor. Ziel ist ein optisches Online-Messsystem zur Bestimmung der ASX-Gehalte in Echtzeit.

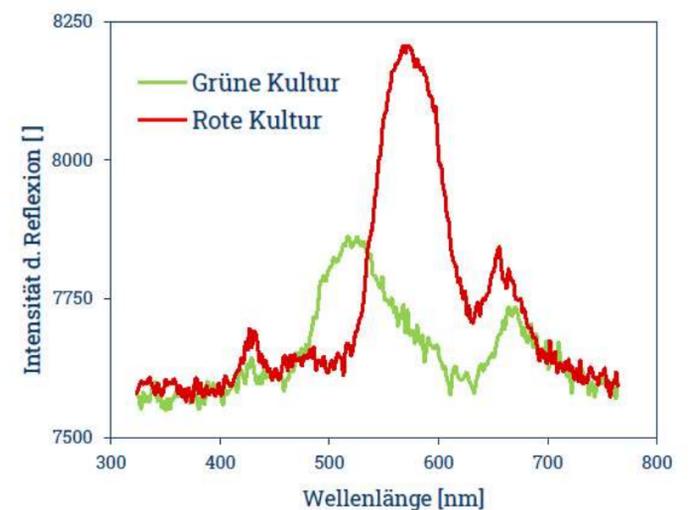
Der entwickelte Sensor mit Vollspektrum-LED misst von außen durch das Glas des Photobioreaktors das von den Zellen reflektierte Lichtspektrum. *In vitro* kann der ASX-Gehalt bereits zuverlässig gemessen werden. Außerdem kann mithilfe des Sensors die Biomassekonzentration bestimmt werden.

Problematisch war zunächst einfallendes Sonnenlicht, das innerhalb der Glasröhren reflektierte und zu Störgeräuschen führte. Auch bei Biomassekonzentrationen über 1 g L^{-1} wurden keine aussagekräftigen Ergebnisse erzielt. Beide Hürden konnten mittlerweile überwunden werden.

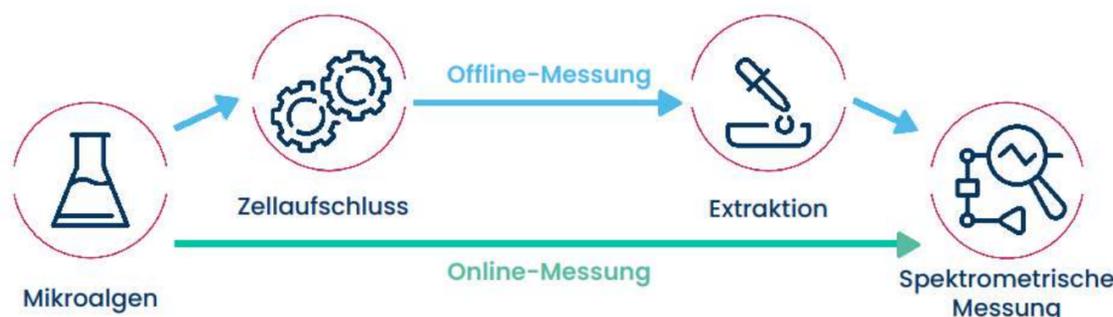
Zukünftig erfolgt die Validierung der Messung *in vivo* sowie die Integration des Sensors in die hauseigene Steuerung. So wird eine Datenbasis geschaffen, die als Grundlage für Prozessoptimierung dient und somit die Wirtschaftlichkeit der ASX-Produktion erhöhen wird.



Die Mikroalge *Haematococcus* sp. bildet unter ungünstigen Umweltbedingungen den roten Farbstoff Astaxanthin, der die Färbung der Zellen verändert.



Die Reflexionsspektren einer grünen und roten Kultur von *Haematococcus* sp., aufgenommen mit dem OnAsta-Prototyp.



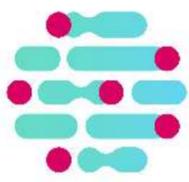
Die bisherige Offline-Messung (blau) erfordert einen Aufschluss der Mikroalgenzellen mit anschließender ASX-Extraktion, bevor die ASX-Konzentration spektrometrisch bestimmt werden kann. Die im OnAsta-Projekt entwickelte Online-Messung (grün) soll diesen Prozess vereinfachen und beschleunigen.

KONTAKTDATEN:

Isabelle Kunert

Sea & Sun Technology GmbH

kunert@sea-sun-tech.com



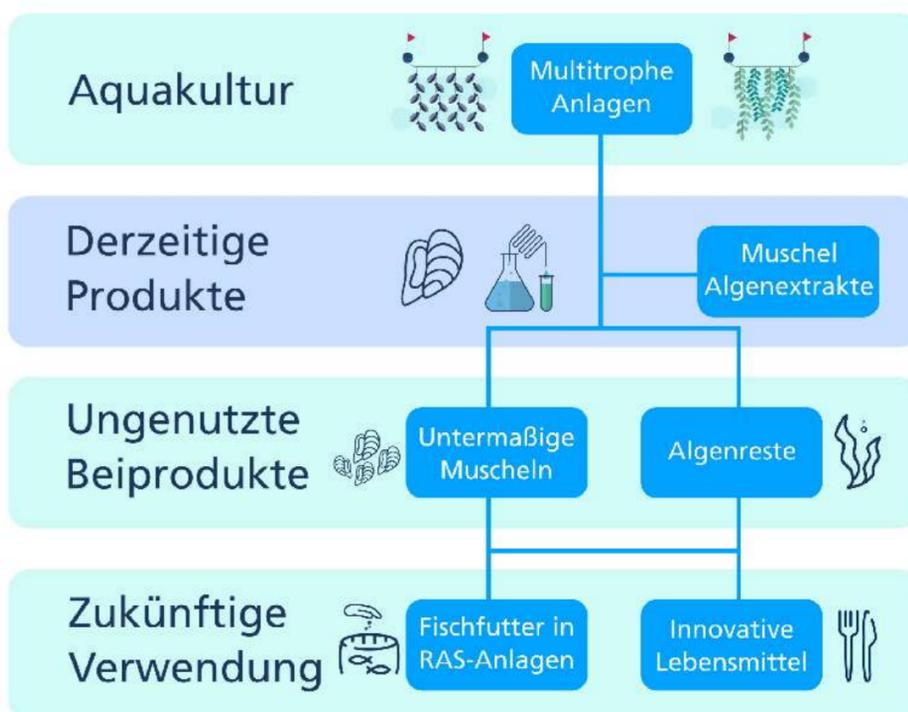
- Aquakultur
- Reststoffverwertung
- Lebens- & Futtermittel

Optimale Verwertung von Muschel- und Algenzucht-Resten

Ganzheitliche Nutzung von Laminaria- und Muschel-Nebenerzeugnissen zur Optimierung von kreislaufbasierter Fischzucht und Produkten für den menschlichen Verzehr

Bei der Algen- und Muschelzucht in Aquakulturanlagen und deren Weiterverarbeitung fallen Nebenprodukte wie beispielsweise Algentrester und für den Verkauf untermaßige Muscheln an, die bislang ungenutzt geblieben sind.

LaMuOpt entwickelt neue Wertstoffströme durch die Nutzung der Beiprodukte und optimiert den Output und somit die Effizienz der Aquakulturanlagen



Grafische Darstellung von Ausgangslage und Zielstellung des Projektes

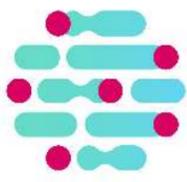


Neue Verarbeitungsformen der ungenutzten Beiprodukte: links: Verarbeitung von Muscheln; rechts: Upscaling des Algenextraktions-verfahrens und Gewinnung weiterer Nebenstromprodukte



Zukunftsprodukte: links: Futtermittelpellets; rechts: Muschelbrotaufstrich

Elke Böhme
Fraunhofer IMTE, Lübeck
Elke.boehme@imte.fraunhofer.de



Algen, Muscheln und die nachhaltige Nutzung als Fischfutter und Lebensmittel



Versuch zur maschinellen Trennung von Muschelfleisch und Schale



Modellart Regenbogenforelle

Im Rahmen des Projekts wurde die Nutzung von Beiprodukten der Algen- und Muschelzucht zur Steigerung der Effizienz von Aquakulturanlagen untersucht

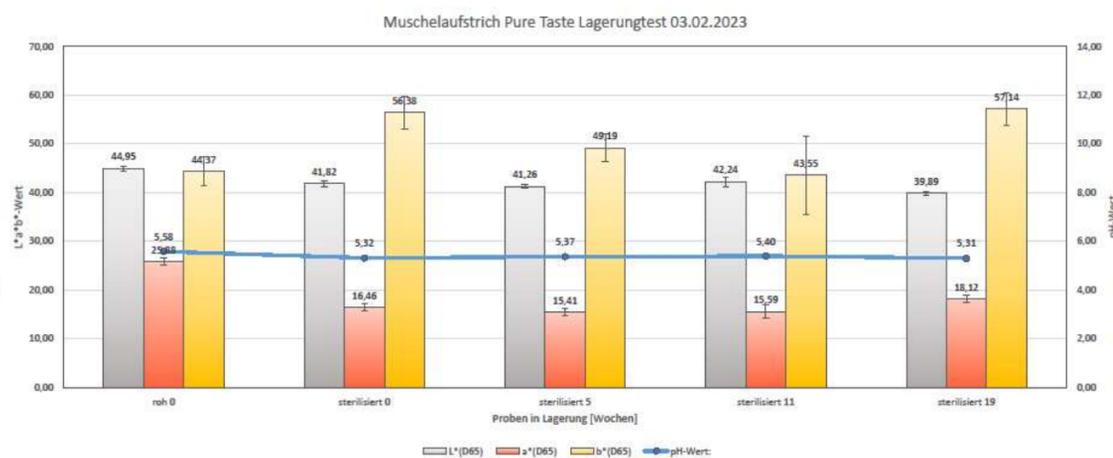
Bereitstellung der Biomasse: Verschiedene Chargen von Muscheln wurden betrachtet und mittels unterschiedlicher Verfahren zu Muschelmehl verarbeitet.

Optimierung von kreislaufbasierter Fischzucht: Die hergestellten Muschelmehle zeigten in verschiedenen Fütterungsversuchen, dass mit ihnen Fischmehl in Futtermitteln zu bis zu 100 % ersetzt werden kann, ohne Einbußen bei der Wachstumsperformance und der Fischgesundheit.

Einsatz als Lebensmittelrohstoff: Prototypen von Algenpesto und Muschel-Brottaufstrich wurden entwickelt und deren Lagerstabilität untersucht.



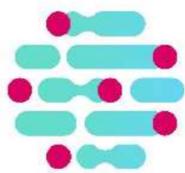
Prototypen aus dem Technikum für angewandte Lebensmittelforschung: links: Muschel-Brottaufstrich; rechts: Algenpesto



Elke Böhme

Fraunhofer IMTE

Elke.boehme@imte.fraunhofer.de



Ein Modellstandort für die Blaue Bioökonomie

RÜBio AP 2: Integration von Mikroalgen

M. Sc. Nadine Sydow, Dr. Niels Holm, Seraphine Piesker, Merlin Grimm, Prof. Dr. Rüdiger Schulz

In der Arbeitsgruppe **Physiologie und Biotechnologie der pflanzlichen Zelle** an der CAU zu Kiel wird an der Schnittstelle Prozesswasser / Mikroalgen / Hydroponik gearbeitet. Je nach Nährstoffgehalt des Fischprozesswassers kommen verschiedene Nutzungsarten infrage.

- Ein grundlegender Kreislauf sieht vor, das mit Ammonium angereicherte Fischwassers durch gezielte Mikroalgenkultur zu **denitrifizieren**, die Biomasse aus dem System leicht zu entnehmen, und das durch die Fotosynthese gleichzeitig mit Sauerstoff angereicherte Wasser dem Fischkreislauf wieder zuzuführen. In Kiel wird das System mit Karpfen erprobt, im BFZR auf Rügen werden die etwas anspruchsvolleren Raubwelse (*Clarias gariepinus*) gehalten.
- Mikroalgen aus ihrem wässrigen Medium zu entfernen, ist in der Regel mit technischem Aufwand verbunden. Die **Limnosystem-Algenmischkultur** hat dabei die Vorteile, a) sich sehr schnell abzusetzen, b) nicht steril gehalten werden zu müssen und c) sich dem Medium immer wieder schnell anzupassen – Vgl. auch BB-Projekt FEMAK.
- Parallel sind weitere Prozesswasser- und Mikroalgenutzungen möglich, siehe AP 4 (Heilpflanzen). Am Standort in Kiel wird vor allem die gezielte **Kultivierung von Frischwasser-Zooplankton** erprobt, um hochwertiges Fischfutter zu erhalten, das Jungfische durch die indirekte Mikroalgen-Diät vollwertig mit **essentiellen Aminosäuren** und Fettsäuren versorgt.
- Der **Mikroalgenreaktor** für Limnosystem-Algen braucht neben den üblichen Anforderungen „nur“ einen speziellen Absetzbehälter, der die Algenernte (= das Entfernen überschüssiger Nährstoffe) besonders wartungsarm und leicht handhabbar macht.



Oben: Der Limnosystem-Algenmix, angepasst auf Karpfen-Prozesswasser. Das Ziel ist, die Biofiltration vollständig durch die Mischkultur zu erreichen.

Links: Demonstration abgesetzter Algenmischkultur nach 30 Minuten.



Oben: Intensive Fischhaltung geht mit sehr nährstoffreichem Wasser einher. Dieses Prozesswasser wird auf vielfältige Weise bioökonomisch eingesetzt. Links: Mit hydroponischen Systemen kann man gelöste Nährstoffe direkt weiterverwenden. Mikroalgen können die Art der Stickstoffverbindungen positiv beeinflussen.

M. Sc. Nadine Sydow
Botanisches Institut, Physiologie und
Biotechnologie der pflanzlichen Zelle
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
D-24118 Kiel
nsydow@bams.uni-kiel.de

Bekämpfung mikrobieller Belastungen in großskaligen Photobioreaktoren und deren Erkennung mit innovativen photonischen Verfahren

Stephanie Schönfelder¹, Regina Storandt¹, Daniel Pleissner¹, Jon Scouten²

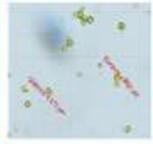
¹ Institut für Lebensmittel- und Umweltforschung (ILU) e.V., Papendorfer Weg 3, 14806 Bad Belzig; ² Institut für Chemie&innoFSPEC Universität Potsdam, 14476 Potsdam

Motivation und Ziele des Vorhabens

Die großskalige Kultivierung von Mikroalgen und Cyanobakterien gewinnt durch das immense Spektrum der durch sie synthetisierbaren, wertvollen Biorohstoffe immer größere Bedeutung. Die Erträge und Verwertungsmöglichkeiten der Biomassen können jedoch durch mikrobielle Kontaminationen reduziert oder vollständig vernichtet werden. Mit dem Verbundprojekt „Optische Softsensorik von Algenkultivierungen in großskaligen Photobioreaktoren - Optimierung durch Prozessführung und Bekämpfung mikrobieller Belastungen - optiPBR“ werden mit den Partnern innovative Maßnahmen dagegen entwickelt.

Ziel des ILU-Teilvorhabens ist die Entwicklung von Maßnahmen zur Prophylaxe und Bekämpfung von Kontaminationen. Auf dieser Grundlage soll eine Sensorplattform für eine automatisierte, speziesunabhängige Erkennung und Bekämpfung von Kontaminanten etabliert werden. Diese Sensorplattform vereint in sich bisher in der Algenkultivierung nicht angewendete optische Detektionstechnologien, wie die Inline-Mikroskopie, Photonendichtewellen- sowie Raman-Spektroskopie, faseroptische Trübungssensoren und spezifische Regelungs-Technik und -Software.

Mikroalge



Chlorella vulgaris

Kontaminanten



Micrococcus luteus



Poterioochromonas malhamensis

Co-Kultivierung



C. vulgaris und *M. luteus* online Aufnahme mit SOPAT-Mikroskop

Wachstums- und Stressversuche



Erlenmeyerkolben auf Schüttler



0,2 und 2 L Blasensäulen



Algoliner-Photobioreaktor

Vorgehen

Mit der Grünalge *Chlorella vulgaris* und den Modell-Kontaminanten *Micrococcus luteus* und *Poterioochromonas malhamensis*, die häufig vorkommen und sehr unterschiedliche Organismengruppen repräsentieren, wurden Kultivierungsversuche durchgeführt und Bekämpfungsmaßnahmen erprobt.

Zur Evaluierung geeigneter Maßnahmen gegen mikrobielle Kontaminationen wurden verschiedene Umweltparameter und deren entsprechend wirksame Bereiche untersucht. Das Spektrum der Parameter umfasste pH, pCO₂, NH₄OH-Dosierung, Nährstoffe und Temperatur. Diese wurden einzeln und in Kombinationen variiert sowie verschiedene Dispositionszeiten hinsichtlich der Wirkung auf das Wachstum von *C. vulgaris* und der Kontaminanten geprüft.

Der Einfluss der Parameter auf den Zustand und das Wachstum der Zellen wurde mittels Messungen der Absorptionen bei 750, 686, 403 nm, der Fluoreszenzquantenausbeute QY sowie In- und Atline-Mikroskopie untersucht.

Zwischenergebnisse

Parameter pH-Wert: In Versuchen mit pH 2 bis 12, Expositionszeiten von 0,25 bis 48 h, zusätzlichem 45°C Temperaturstress bei *M. luteus* zeigten die Kontaminanten bei den Extremvarianten Wachstumsverzögerung oder -hemmung. Nach Rückstellung auf „Normal-pH“ war die Hemmung verschieden schnell reversibel (Abb.1). Irreversibel war die Hemmung bei *P. malhamensis* bei pH 2 und 4 (Abb.2a). Mit Inline-Mikroskopie

wurde der Effekt der pH-Absenkung auf 3 online beobachtet. Die Aggregationen zeigen den sofort einsetzenden Stress und könnten mitverantwortlich für die gemessenen Wachstumsbeeinträchtigungen sein (Abb.3). Die Fluoreszenzquantenausbeute QY erwies sich als sehr sensibler Parameter. Nach 4 h zeigte sich bei einigen *P. malhamensis* Varianten eine deutliche Reduzierung (Abb.4).

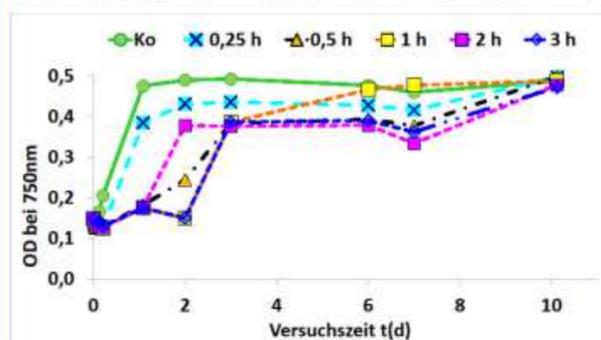


Abb.1: Optische Dichte (Absorption) bei 750nm von *M. luteus* in NaCl-Pepton-Wasser. Einwirkung von pH 3 und T=45°C für 0,25-3h, anschließend Rückstellung auf pH 7 und T=30°C, Kontrolle bei pH 7 und 45°C, Rückstellung nach 3h auf T=30°C.

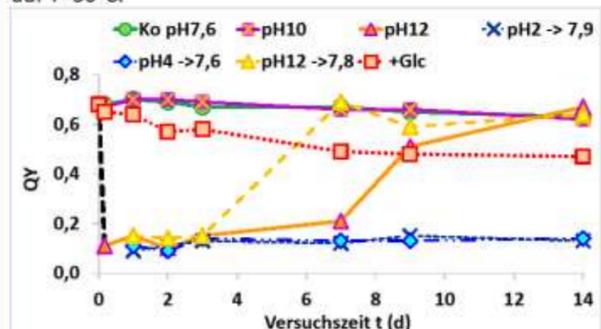


Abb.4: Fluoreszenzquantenausbeute QY (Aquapen100, f-pulse 50%, f-pulse 100%, f-color 450nm) von *P. malhamensis*. Bedingungen entsprechend Abb.2; zusätzlich Variante pH-Wert 12.

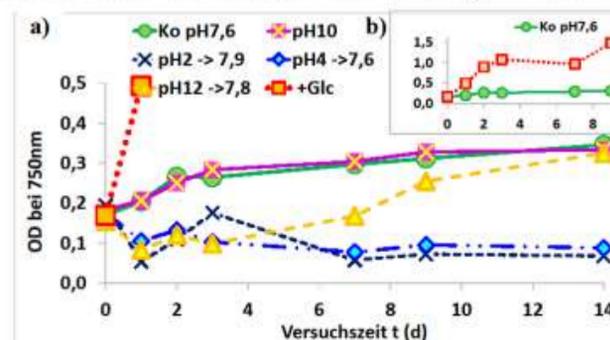


Abb.2: a), b): Optische Dichte (Absorption) bei 750nm von *P. malhamensis* in JM+SE2-Medium, T=20°C; Kontrolle und +Glc bei pH 7,6. **a):** Einwirkung von pH 2, 4 und 12, die nach 4h auf 7,6-7,9 zurückgestellt wurden. **b):** +Glc-Variante mit 5g/L Glucose-Dosierung.

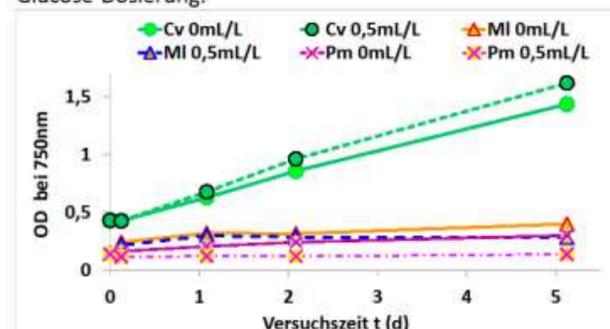


Abb.5: Optische Dichte (Absorption) bei 750nm von *C. vulgaris*, *M. luteus* und *P. malhamensis* bei Standardbedingungen. Einwirkung einmaliger Dosierung von 0,5 mL/L 30%-igem NH₄OH.



Abb.3: Aggregation von *Chlorella*-Zellen nach Absenkung des pH-Wertes auf 3. Online Aufnahme mit SOPAT-Mikroskop (J.Scuten, Uni Pdm)

Weitere Parameter: pCO₂: Das Wachstum von *M. luteus* wurde durch erhöhte CO₂-Dosierung deutlich, aber reversibel gehemmt.

Temperatur: Absenkung der Temperatur auf 20°C bewirkte eine Reduzierung der Wachstumsgeschwindigkeit. Die Erhöhung auf 45°C hatte auf *M. luteus* keinen Effekt.

Nährstoffe: Das Wachstum der Kontaminanten wird durch leicht verfügbare organische Nährstoffe begünstigt. In rein mineralischer *Chlorella*-Nährlösung wuchs *M. luteus* nicht. Bei *P. malhamensis* wurde bei Dosierung von Glucose exponentielles Wachstum gemessen (Abb.2a; 2b).

NH₄OH-Dosierung: 0,5 ml/L NH₄OH bewirkte bei *C. vulgaris* einen Wachstumsschub, bei *M. luteus* eine Hemmung und bei *P. malhamensis* das Absterben (Abb.5), das schon ab 0,2 mL/L NH₄OH messbar war.

Fazit: Es wurden die pH-Werte 2 bis 4, Nährstoff- und NH₄OH-Management als geeignete Parameter zur Bekämpfung der Kontaminanten ermittelt. Im Weiteren werden Gegenmaßnahmen im kleintechnischen Maßstab getestet.

Die Projektpartner:

CLIMAQUA: Utilization of fish residues as nutrient sources for heterotrophic *Galdieria sulphuraria* cultivation

D. Pleissner ^{a,b}, S. Schönfelder ^a, N. Händel ^a, J. Dalichow ^a, J. Ettinger ^a, K. Kvangarsnes ^c, E. Dauksas ^c, T. Rustad ^d, J. Crobotova ^c

^a Institute for Food and Environmental Research e. V., Papendorfer Weg 3, 14806 Bad Belzig, Germany

^b Sustainable Chemistry (Resource Efficiency), Institute of Sustainable Chemistry, Leuphana University of Lüneburg, Universitätsallee 1, 21335 Lüneburg, Germany

^c Norwegian University of Science and Technology, Department of Biological Sciences Ålesund, Larsgårdsvegen 4, 6025 Ålesund, Norway

^d Norwegian University of Science and Technology, Department of Biotechnology and Food Science, Sem Sælandsvei 6/8, Kjemiblokk 3, 163, 7491 Trondheim, Norway

Abstract

In conventional aquaculture, feed production is responsible for 50% of greenhouse gas emission. In order to substantially reduce these, the CLIMAQUA project develops an innovative process for converting and recirculating aquaculture side-streams (sludge and

wastewater) in algae (*Galdieria sulphuraria*)-based feed production for aquacultures. Within this framework it could be demonstrated that, the use of complex side-streams from aquaculture in algae-cultivation is possible, even avoiding the challenges arising from non-sterile

conditions. The results presented here were also recently published [Pleissner et al. (2023) *Heterotrophic growth of Galdieria sulphuraria on residues from aquaculture and fish processing industries*. *Bioresource Technology* 384: 129281], see adjacent QR-code.



Cultivation conditions & treatment of side-streams

- Cultivation at 45 °C and pH 2 → minimised risk of contamination
- Residues:
 - pellet (dried sediments obtained after enzymatic hydrolysis of rainbow trout raw material)
 - wastewater from production line of fish processing factory (consisting of fish blood and water), autoclaved

- Treatment: pellet → aqueous extraction (10% [w/v] suspension), if appl. incl. proteolytic digest → centrifugation → filtration → pH adjustment → autocl. wastewater → filtration → pH adjustment

Results

1: Application of wastewater from fish processing in algae medium and use of hydrolysed pellet extract as source of free amino nitrogen

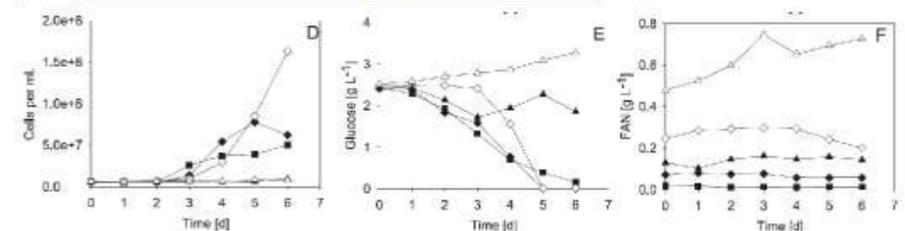
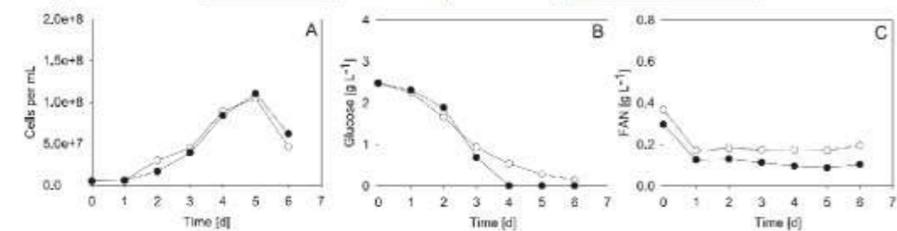


Fig. 1: Growth of *Galdieria sulphuraria* (A) and consumptions of glucose (B) and free amino nitrogen (FAN, C) in cyanidium medium (open circles) as control and a mixture of cyanidium medium and wastewater (50:50, v/v, closed circle). Inserts D, E, and F show the growth of *G. sulphuraria* and consumptions of glucose as well as FAN, respectively, when wastewater (closed square), 20% (v/v) pellet extract (closed diamond), 40% (v/v) pellet extract (closed triangle), or 20% (v/v) hydrolyzed pellet extract (open diamond), or 40% (v/v) hydrolyzed pellet extract (open triangle) were used.

2: Use of glycerol as carbon source

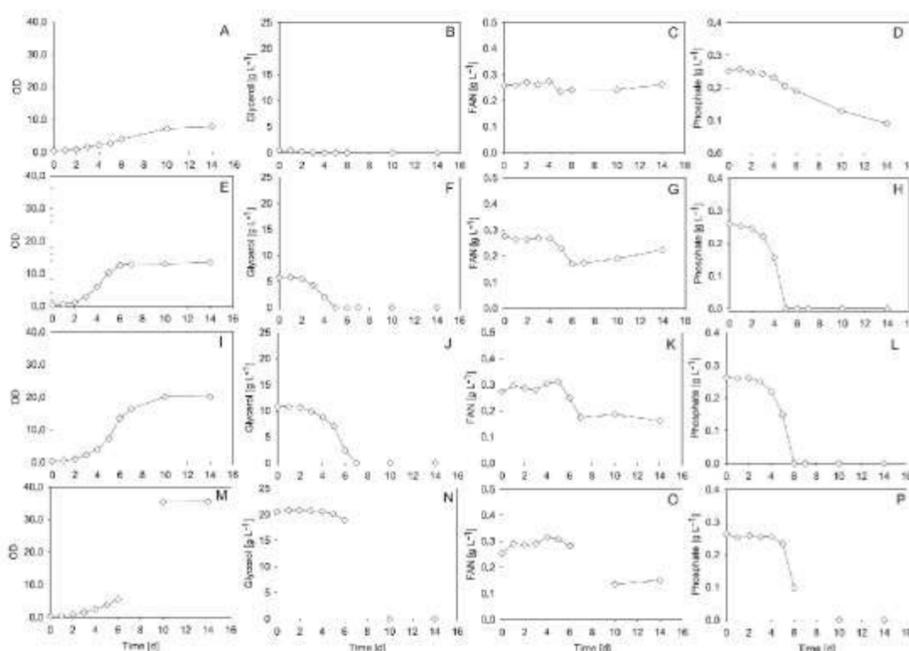


Fig. 2: Growth of *Galdieria sulphuraria* in the presence of 20% (v/v) hydrolyzed pellet extract supplemented with 0 g L⁻¹ (A-D), 5 g L⁻¹ (E-H), 10 g L⁻¹ (I-L), or 20 g L⁻¹ (M-P) glycerol. Development of optical density (OD, A, E, I, M) and consumptions of glycerol (B, F, J, N), free amino nitrogen (FAN, C, G, K, O), and phosphate (D, H, L, P) are shown in inserts.

3: Larger scale fed-batch cultivation on fishery side-streams

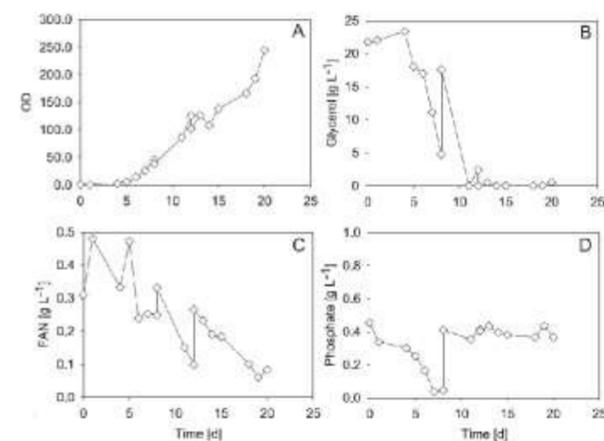


Fig. 3: Fed-batch culture of *Galdieria sulphuraria* in the presence of 20% (v/v) hydrolyzed pellet extract supplemented with 20 g L⁻¹ glycerol. Development of optical density (OD, A) and consumptions of glycerol (B), free amino nitrogen (FAN, C), and phosphate (D) over time are shown. New hydrolysate and 20 g L⁻¹ glycerol were added after Days 8 (0.5 L hydrolysate) and 12 (1 L hydrolysate). From Day 13 onwards 20 g L⁻¹ glycerol was added daily.

Conclusions & outlook

- wastewater from fish processing can replace fresh water for *Galdieria* cultivation
 - pellet (remainder from fish hydrolysis) is a rich source of FAN for *Galdieria*
 - proteolytic hydrolysis further increases FAN content of pellet extract
 - concentrations of 40% [v/v] or higher of pellet extract in cultivation medium do inhibit growth of *Galdieria*
 - glycerol is a suitable carbon source
 - metabolism involves a lag-phase that is prolonged with increasing glycerol concentration
 - fed-batch cultivation in a 5 L-fermenter resulted in a biomass concentration of 80 g L⁻¹
- Obtained results will be applied in technical-scale cultivation of *Galdieria* for production of fish feed to be used in feeding trials

Verwertung von Agrarreststoffen in der Futtermittelproduktion mittels *Galdieria sulphuraria*

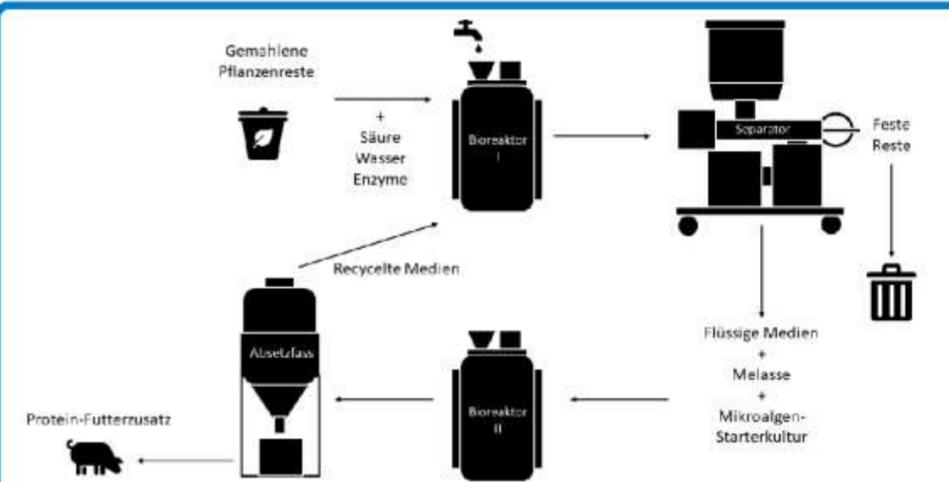
D. Pleissner¹, B. Silva^{2,3}, J. Frieling², S. Smetana^{2,4}

1 ILU Institut für Lebensmittel- und Umweltforschung e.V., 14806 Bad Belzig; 2 DIL Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e.V., 49610 Quakenbrück; 3 CBQF — Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa, Rua Diogo Botelho 1327, 4169-005 Porto, Portugal; 4 Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, 30559 Hannover

Motivation und Ziele des Vorhabens

Der Schwerpunkt ist die Entwicklung einer nachhaltigen und ressourcenschonenden Bioökonomie im ländlichen Raum. Darunter fällt die effiziente Verwendung biologischer, nachwachsender Ressourcen, um nachhaltigere Produkte mit hohem Wert herzustellen. Das Vorhaben „AlgoWert“ will eine nachhaltige, ressourcenschonende Technologie zur Umwandlung von pflanzlichen Nebenströmen in verwertbare Komponenten (insbesondere proteinreiche Algenbiomasse) in unmittelbarer Nähe zu landwirtschaftlichen Betrieben pilotieren und in die tägliche Routine integrieren.

Im Vorhaben werden Nebenströme aus der Gemüseproduktion über die Hydrolyse und Verwendung des Hydrolysats als Nährstoffquelle für die heterogene Mikroalge (*Galdieria sulphuraria*) verwertet. Das Produkt des Verfahrens ist eine proteinreiche Algenbiomasse, die vor Ort als Futtermittel in der Schweinemast genutzt werden kann. Im Mittelpunkt des Vorhabens steht darüber hinaus die Etablierung neuer Wertschöpfungsketten.

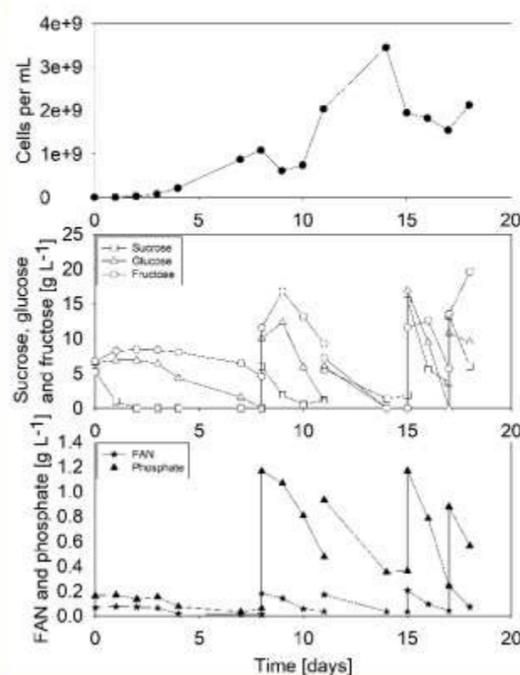


Vorgehen

Die Produktion von alternativen Proteinen erfordert die Entwicklung einer spezifischen Anlage, die große Investitionen und Folgemaßnahmen in Bezug auf Zeit und Aufwand erfordert. Selbst containerbasierte Lösungen, wie sie für Insekten und autotrophe Mikroalgen bereits in Planung sind und auf Plug-and-Play abzielen, sind nicht völlig autonom, können nicht gänzlich in bestehende Verfahrensabläufe integriert werden und erfordern eine aufwendige Prozessführung. Extremophile heterotrophe Mikroalgen, die bei stark sauren oder basischen pH-Werten wachsen, stellen in diesem Bereich eine einzigartige Möglichkeit für die automatisierte Produktion unter nicht sterilen Bedingungen dar.

Im Mittelpunkt des Verfahrens steht die extremophile Mikroalge *G. sulphuraria*, welche bei einem pH-Wert kleiner 4 wächst. Dieser extreme pH-Wert hat in Vorversuchen gezeigt, dass eine energieaufwendige Sterilisation zur Bekämpfung von Kontamination nicht notwendig ist. Der Kultivierung muss jedoch eine Hydrolyse der pflanzlichen Reststoffe vorgeschaltet werden, um Nährstoffe verfügbar zu machen. Im speziellen Fall der Algenkultivierung ist es entscheidend, Kohlenstoff- und Stickstoffverbindungen verfügbar zu machen. Die Notwendigkeit und die Wahl der Vorbehandlung hängt von der individuellen Zusammensetzung der Reststoffe ab. Im Vorhaben wird Roggenkleie eingesetzt und mit einer Zellulase und Protease hydrolysiert. Der flüssige Überstand wird abgetrennt und den Algen als Nährmedium zur Verfügung gestellt. Ein Teil des Feststoffes wird in die Hydrolyse zurückgeführt, um die Nährstoffausbeute zu steigern (Bild oben). Das gesamte Verfahren (200 L Maßstab) soll so kostengünstig wie möglich umgesetzt werden (Bild unten).

Nach der Kultivierung erfolgt die Abtrennung und Aufkonzentrierung der Algenbiomasse mittels Dekanterseparator. Die geerntete Biomasse wird dann als feuchte Biomasse in der Schweinemast verwendet.



Zwischenergebnisse

Das Verfahren beruht momentan auf Roggenkleie als Kohlen- und Stickstoffquelle sowie auf Melasse als zusätzlich hochkonzentrierte Kohlenstoffquelle. Roggenkleie wurde wie oben beschrieben enzymatisch bei 45 °C und pH 5 für 24 Stunden behandelt. Das resultierende Hydrolysat beinhaltet 45,6 g/L Glucose, 4,7 g/L freien Aminostickstoff (FAN) und 5,2 g/L Phosphat. Ähnliche Konzentrationen wurden mit der oben gezeigten Demonstrationsanlage erzielt. Da eine FAN-Konzentration über 0,5 g/L zu einer Wachstumshemmung bei *G. sulphuraria* führt, wurde das Hydrolysat entsprechend verdünnt und den Zellen als Nährstoffquelle zur Verfügung gestellt. Weiterhin wurde Melasse im Verhältnis 1:38 zugegeben, um die Konzentration an Kohlenstoffquellen zu erhöhen. Erste Kultivierungsversuche wurden erfolgreich im Labormaßstab heterotroph als Fed-Batch-Kultur über 18 Tage durchgeführt.

In der Abbildung links sind die Zunahme der Zellkonzentration sowie der Verbrauch an Glucose, Sucrose, Fructose, FAN und Phosphat dargestellt. Die Zellen haben kontinuierlich die zur Verfügung gestellten Nährstoffe verbraucht, was ein regelmäßiges und zum Ende hin tägliches Zufüttern von Hydrolysat und Melasse notwendig machte.

Die Kultivierung im Labormaßstab hat gezeigt, dass *G. sulphuraria* Nährstoffe aus Roggenkleie und Melasse nutzen kann und ähnlich effizient in Biomasse umwandeln kann wie im Fall von reinen, kommerziellen Medien. Die Kultivierung läuft stabil unter nicht sterilen Bedingungen. Dies ist besonders für die dezentrale Umsetzung vor Ort relevant. Die Ergebnisse aus dem Labor werden in weiteren Versuchen genutzt, um die Hydrolyse und Kultivierung in der Demonstrationsanlage weiter zu optimieren und weitestgehend zu automatisieren.

Athanassiou C.G.^{1*}, Smetana S.², Tassoni A.³, Gasco L.⁴, Gai F.⁵, Shpigelman A.⁶, Pleissner D.⁷, Rodríguez-Villa C.⁸, Gastli M.⁹, Conceição L.¹⁰, Gronich E.¹¹, Robinson F.¹², Chalkidis V.¹³, Kuthy M.¹⁴, Stolzenberger R.¹⁵, El Yaacoubi A.¹⁶, Mehlhose C.¹⁷, Petrusán J.-I.², Rumbos C.I.¹

¹ University of Thessaly, Laboratory of Entomology and Agricultural Zoology, Greece; ² Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e.V., Germany; ³ Alma Mater Studiorum-University of Bologna, Italy; ⁴ University of Turin, Italy; ⁵ Italian National Research Council, Italy; ⁶ Technion - Israel Institute of Technology, Israel; ⁷ Institut für Lebensmittel- und Umweltforschung e.V., Germany; ⁸ AlgaEnergy S.A., Spain; ⁹ nextProtein, Tunisia; ¹⁰ SPAROS Lda, Portugal; ¹¹ Flying Spark LTD, Israel; ¹² AquaBioTech Group, Malta; ¹³ ELVIZ S.A., Greece; ¹⁴ RTD TALOS Ltd, Cyprus; ¹⁵ Stolzenberger Bakery, Germany; ¹⁶ Green Development and Innovation Association, Morocco; ¹⁷ University of Göttingen, Germany

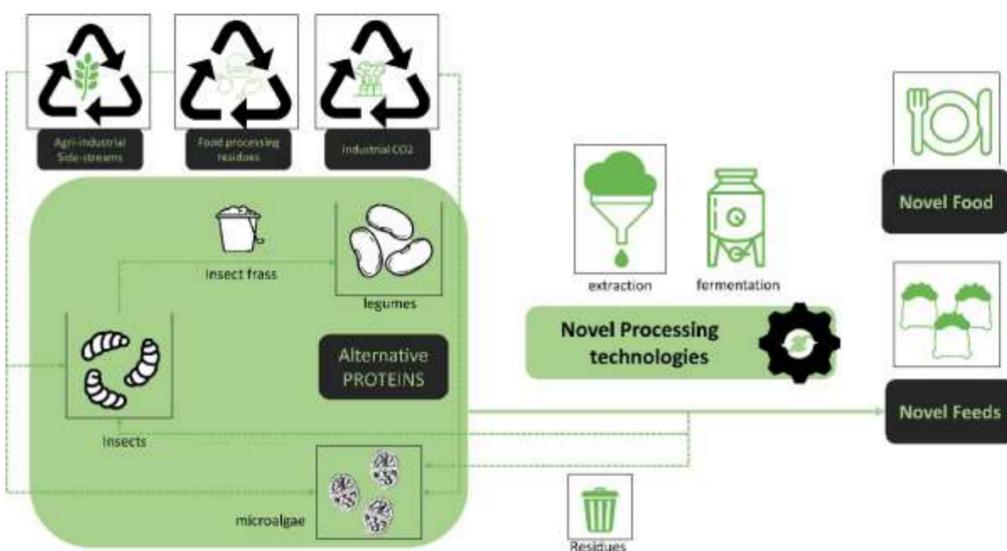
*Correspondence: athanassiou@uth.gr

The problem

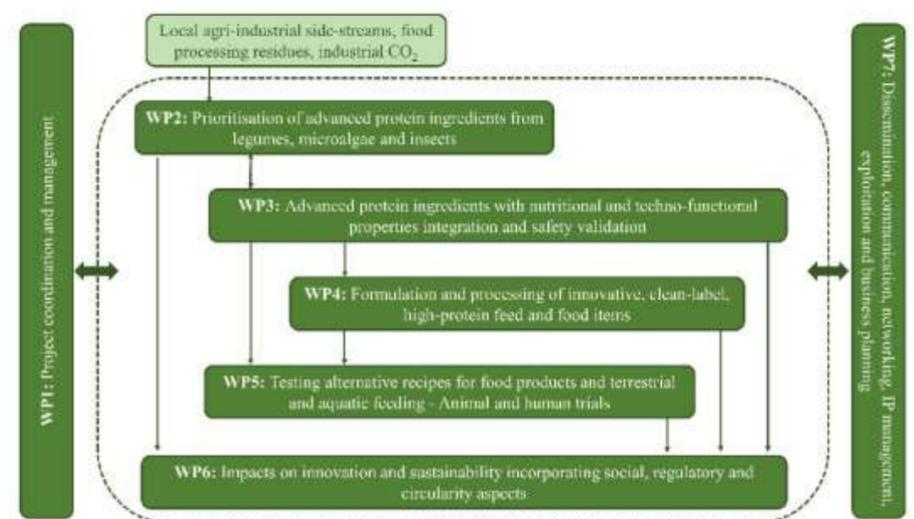
- ✓ **Current European agricultural production systems are heavily dependent on protein imports** to cover mainly the nutritional needs of livestock animals and farmed fish, but also additional needs for human consumption.
- ✓ This dependency renders them unprotected from unforeseen events that disrupt the global supply chains.
- ✓ Therefore, there is an urgent **need for efficient, viable and locally produced alternative protein sources**.

The CIPROMED project

- ✓ Most agricultural farming systems produce a huge amount of livestock and crop residues, as well as a variety of side-streams.
- ✓ CIPROMED aims to **apply, validate and scale up** an integrated array of processes, recovering a significant amount of proteins from **agri-industrial side-streams** (e.g., brewer's spent grain, oilseed presscakes), protein fractions of **insects, microalgae and legume** biomass, whilst **fermentative sources** will successfully enhance the availability of alternative proteins.



CIPROMED concept



CIPROMED Working Package (WP) structure

Consortium

