

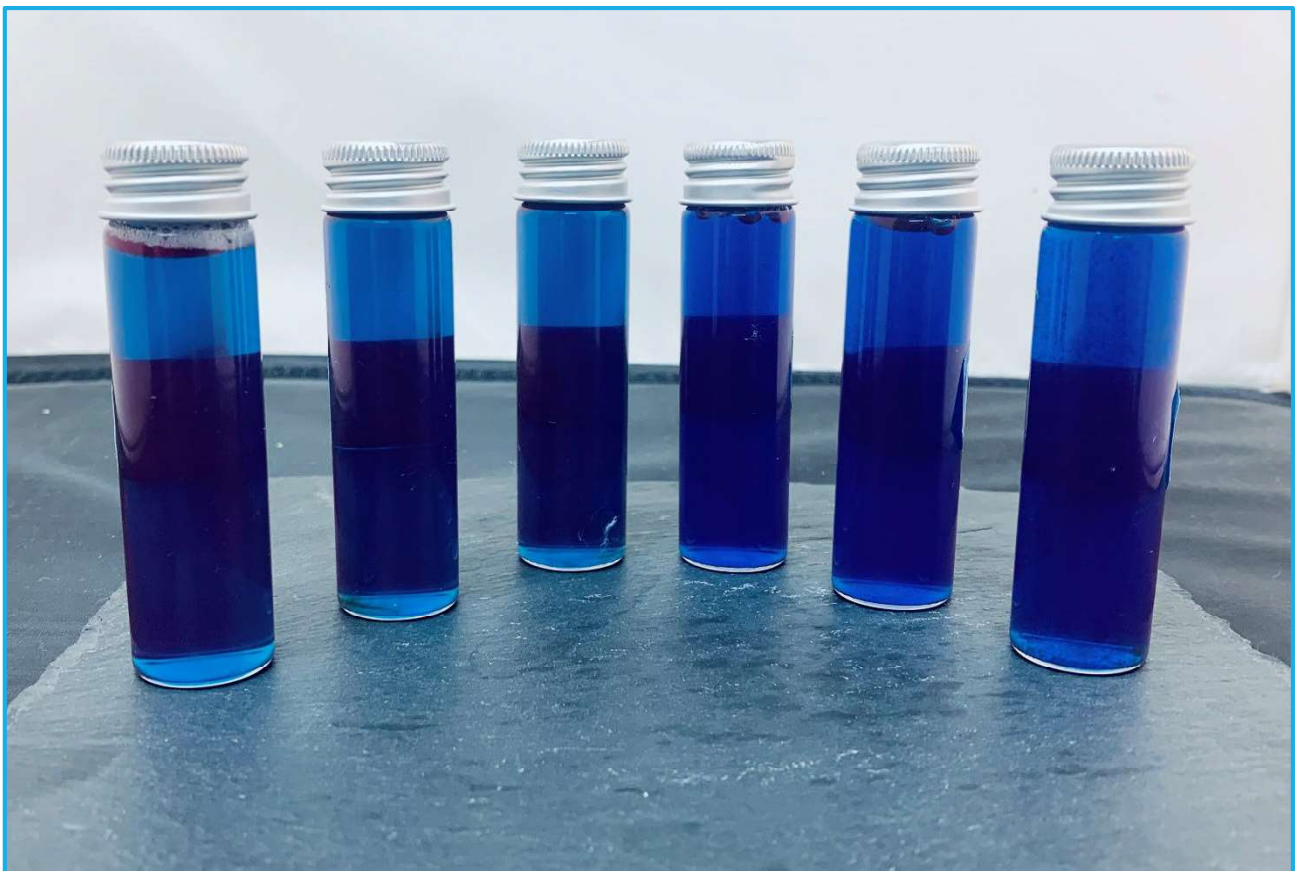
Abschlussbericht EIP Agri (3. Call)

Projektlaufzeit: 20.12.2019 – 30.04.2023

PhycoFarming

-

Landwirtschaftlicher Hochwertstoff: Phycocyanin als Treiber Niedersächsischer Algenproduktion



Autoren:

Maarten Heins, Dr. Joachim Henjes, Dr. Ricardo Pereira, Dr. Ahmed Mohamed

Inhaltsverzeichnis

1. Kurzdarstellung	4
1.1 Ausgangssituation und Bedarf	4
1.2 Projektziel und konkrete Aufgabenstellung und Titel des Projektes	5
1.3 Mitglieder der OG	6
Roval GmbH.....	6
Alfred Wegener Institut.....	7
Mial GmbH.....	7
Aufgabenschwerpunkte.....	8
1.4 Projektgebiet	8
1.5 Projektlaufzeit und Dauer	9
1.6 Budget	9
1.7 Ablauf des Verfahrens	10
1.8 Zusammenfassung der Ergebnisse	10
2. Eingehende Darstellung	11
2.1 Verwendung der Zuwendung	11
2.1.1 Gegenüberstellung der Planung im Geschäftsplan und der tatsächlich durchgeführten und abgeschlossenen Teilschritte	11
2.1.1.1 Alfred Wegener Institut.....	11
2.1.1.2 Roval.....	13
2.1.1.3 Roval und Mial.....	14
2.1.1.4 Gesamte OG	15
2.1.2 Darstellung der wichtigsten finanziellen Positionen.....	16
2.2 Detaillierte Erläuterung der Situation zu Projektbeginn	16
2.2.1 Ausgangssituation	16
2.2.2 Projektaufgabenstellung.....	17
2.3 Ergebnisse der Operationellen Gruppe	18
2.3.1 Wie wurde die Zusammenarbeit im Einzelnen gestaltet?.....	18
2.3.2 Was war der besondere Mehrwert bei der Durchführung des Projekts als OG?	18
2.3.3 Ist eine weitere Zusammenarbeit der Mitglieder der OG nach Abschluss des geförderten Projekts vorgesehen?	19
2.4 Ergebnisse des Innovationsprojektes	20
2.4.1 Zielerreichung	20

2.4.2 Abweichung zwischen Planung und Ergebnis	42
2.4.3 Projektverlauf	43
2.4.4 Beitrag des Ergebnisses zu förderpolitischen EIP – Themen	47
2.4.5 Nebenergebnisse	48
2.4.6 Arbeiten die zu keiner Lösung bzw. keinem Ergebnis geführt haben	48
2.4.7 mögliche weitere Verwendung von Investitionsgütern	49
2.5 Nutzen der Ergebnisse für die Praxis – Sind verwertbare / nutzbare Empfehlungen, Produkte, Verfahren oder Technologien entstanden?	49
2.6 (Geplante) Verwertung und Nutzung der Ergebnisse	50
2.7 Wirtschaftliche und wissenschaftliche Anschlussfähigkeit – Gibt es weitergehende (wissenschaftliche) Fragestellungen aus den Projektergebnissen, die zukünftig zu bearbeiten sind?	53
2.8 Kommunikations- und Disseminationskonzept	54

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Arbeitsschwerpunkte der OG Mitglieder	8
Tabelle 2: Projektverlauf	9
Tabelle 3: Varianz zwischen gespülten Biomassen	29
Tabelle 4: Reinheits - und Konzentrationswerte der Pilotanlage	31
Tabelle 5: Tabellarische Übersicht des Pilot – Extraktionsprozesses	34
Tabelle 6: Antiinflammatorische Wirksamkeit von CPC aus verschiedenen Quellen ..	38
Tabelle 7: Energiebilanzierung der Pilotanlage	40
Tabelle 8: Empfohlene Gerätschaften für den Bau einer weiterentwickelten Extraktionsanlage	51

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: CPC-Produktion von verschiedenen Stämmen bei weißem, blauem und rotem LED Licht in der Laborkultivierung	21
Abbildung 2: Optische Dichte bei 480 nm der Spirulina Kultivierungen bei verschiedenen Lichteinwirkungen über Zeit	23
Abbildung 3: Absorption bei 620 nm der Spirulina Kultivierungen bei verschiedenen Lichteinwirkungen über Zeit	23
Abbildung 4: Optische Dichte bei 480 nm über Zeit des Rockstedter Spirulina Stammes in unterschiedlichen Medien	24
Abbildung 5: Optische Dichte bei 620 nm über Zeit des Rockstedter Spirulina Stammes in unterschiedlichen Medien	25
Abbildung 6: schematischer Extraktionsablauf im Labor	26
Abbildung 7: Mikroskopansicht von Spirulina während des fortschreitenden Aufschlussprozesses	27
Abbildung 8: Konzentration und Reinheit von CPC in Laborextrakt abhängig von der feinsten verwendeten Filtermaschenweite	28
Abbildung 9: Fließdiagramm für die Funktionsweise einer Anlage mit einer Durchsatzmöglichkeit von 10 kg Algensuspension	30
Abbildung 10: Prinzip des verwendeten Kammerphasenabscheiders	33
Abbildung 11: Schematische Darstellung der aufgebauten Extraktionsanlage	35
Abbildung 12: Zunahme der Keimbelastung im CPC Extrakt bei verschiedenen Lagerbedingen nach 3 und zwischen 3 und 6 Wochen Lagerung	36
Abbildung 13: Zunahme der Keimbelastung nach 7 Tagen bei verschiedenen Lagerbedingungen mit und ohne Zuckering	37
Abbildung 14: Relative Veränderung von C-PC Konzentration und Reinheit nach 7 Tagen Lagerung bei verschiedenen Bedingungen mit und ohne Zuckering	38
Abbildung 15: Medien und Lichtversuche des AWIs	44
Abbildung 16: Raceway pond der großskalierten Spirulina Produktion für die CPC Ausgangsmasse	45
Abbildung 17: Teilschritte der Pilotanlage	46
Abbildung 18: Gesamte im kontinuierlichen Ansatz laufende Extraktionsanlage	46
Abbildung 19: Extraktionsaufbau und Produkt des Laboransatzes	47

1. Kurzdarstellung

1.1 Ausgangssituation und Bedarf

Um niedersächsische landwirtschaftliche Betriebe im Zuge klimatischer, sozialer und wirtschaftlicher Veränderungspotentiale konkurrenzfähig zu halten, sind neben der Unterstützung und Verbesserung von gängigen Wertschöpfungsketten die Etablierung neuer Wertschöpfungsketten hilfreich. Zusätzliche neue „Standbeine“, mit denen Landwirte zum Wirtschaftsstandort Niedersachsen beitragen können, erhöhen dessen Resilienz gegenüber globalen Marktveränderungen und bieten die Chance, über einen Pioniereffekt zuerst große Potentiale abzuschöpfen. Ein solch neuer Wirtschaftszweig ist der Anbau von Mikroalgen, wie das EIP Projekt „Spirulina in Norddeutschland“ zeigte. Mikroalgenkultivierung in Niedersachsen erfährt einen zunehmenden Grad an Professionalisierung, sowie erhöhte Nachfrage bei der produzierten Rohware, beispielsweise als Nahrungsergänzungsmittel. Zudem ist sie hochgradig Platz – sowie ressourceneffizient und kann Abwärmequellen produktiv nutzen, was besonders auch in Anbetracht der Ökologisierung von Interesse ist.

Aufgrund von klimatischen Bedingungen sowie höherer Personalkosten ist die Produktionseffizienz von lokalen Mikroalgenbetrieben allerdings um ein Vielfaches geringer als von international führenden Betrieben. Um also ein Skalierungspotential des lokalen Algensektors zu schaffen, ist eine Aufwertung der produzierten Biomasse nötig, da die momentan bediente Konsumentenkohorte, welche bereit ist einen entsprechenden Aufpreis für lokale Produktion zu zahlen, bei erhöhter Produktion schnell gesättigt wäre. Besonders vorteilhaft ist hier die direkte Aufwertung beim Biomasseproduzenten bzw. Landwirt, um dessen Gewinnspanne zu maximieren und ihn somit international konkurrenzfähig zu machen.

Als besonders vielversprechend für die Produktaufwertung hat die Operationelle Gruppe (fortan OG) hier die Extraktion des blauen Proteinpigments C-Phycocyanin (fortan CPC) identifiziert. CPC wird vermehrt in Lebensmittelfärbung eingesetzt, da sich Regularien sowie die Konsumentenwahrnehmung von künstlichen Lebensmittel- und Kosmetikfarbstoffen tendenziell stetig verschärfen. Zusätzlich wirkt CPC anti – oxidativ, hepatoprotektiv, neuroprotektiv, anti – kanzerogen und anti – inflammatorisch. Die Wahrnehmungsverbreitung dieser gesundheitsfördernden Eigenschaften schreitet stetig voran, weswegen der Absatzmarkt für CPC als nutrazeutisches Nahrungsmittelergänzungsmittel ebenfalls wächst. Besonders dieser Markt bietet ein sehr starkes Aufwertungspotential im Vergleich zu unbearbeiteter Biomasse, was ihn für den Zweck der Nischenerschließung für niedersächsische Landwirte optimal macht. Hier eignet sich die Produktion von Flüssigextrakt, in welchem die genannten Bioaktivitäten von CPC durch einen geringeren Denaturierungsgrad deutlich stärker ausgeprägt sind als im gängigerem Pulver. Die entsprechende Nachfrage wird bisher überwiegend aus dem Ausland gedeckt.

Zusätzlich hat die OG die Extraktion von CPC unmittelbar nach der Algenernte ihres Wissenstandes nach als bis dato neuen Ansatz identifiziert. Durch die unterbundenen Stressfaktoren wie beispielsweise während des Transports vom Biomasseproduzenten zum Extraktionsstandort ist das Potential für ein Pionierprodukt mit einem sehr hohen Grad an

erstrebenswerter CPC Bioaktivität gegeben, was eine entsprechende Bepreisung ermöglichen würde. Die proteinreiche Restmasse, welche als Nebenprodukt während des Extraktionsprozesses entsteht, ist zudem mit hoher Wahrscheinlichkeit als Futtermitteladditiv, etwa in der Aquaponik, weiter verwendbar.

Um in der Mikroalgenkultivierung tätigen Landwirten die CPC Marktnische zu erschließen, ist ein Extraktionsprozess vonnöten, welcher neben einer hohen Effizienz ebenfalls eine hohe Robustheit aufweist und ohne das Beschäftigen von teurem biotechnologisch geschultem Personal durchführbar ist. Nach dem Wissensstand der OG war zu Projektanfang kein solcher Extraktionsprozess allgemein bekannt. Außerdem bestand kein fundierter Kenntnisstand, wie Spirulina für die Maximierung von CPC Produktion unter lokalen Bedingungen zu produzieren ist, was eine weitere Stellschraube für die beschriebene Wertschöpfungskette darstellt.

1.2 Projektziel und konkrete Aufgabenstellung und Titel des Projektes

Titel des Projektes

„Landwirtschaftlicher Hochwertstoff: Phycocyanin als Treiber Niedersächsischer Algenproduktion“

Akronym: „PhycoFarming“

Übergeordnetes Ziel

Das übergeordnete Ziel war die Erprobung und, soweit möglich, Etablierung einer neuen, zukunftsorientierten und durch landwirtschaftliche Betriebe realisierbaren Wertschöpfungskette. Diese soll auf der Produktion eines CPC-Extraktes basieren und so die Gewinnspannen der Mikroalgenkultivierung von vor allem in Niedersachsen und ferner Deutschland und Europa lokalisierten Landwirten erhöhen. So soll dazu beigetragen werden, dass der Sektor durch eine zusätzliche Diversifizierungsmöglichkeit an Robustheit gewinnt und bei weiteren positiven Studien zu den Wirkmechanismen des CPC-Produktes, über allgemein zugängliches praktisches Wissen verfügt.

Instrumentalziele und Teilaufgaben

Um die neue Wertschöpfungskette zu schaffen, wurden hierfür nötige Instrumentalziele festgelegt. Der Bearbeitungsschwerpunkt der einzelnen Ziele lag bei unterschiedlichen Mitgliedern der OG und wurde unter enger Kooperation ausgeführt. So konnten die jeweiligen Expertisen der Mitglieder der OG optimal genutzt werden. Die Bearbeitung der einzelnen Instrumentalziele konvergiert in Erkenntnissen zur Wertschöpfungskette allgemein und können so als Teilaufgaben bezeichnet werden, wobei oft auch die individuellen Erkenntnisse wertvoll für lokale Mikroalgenzüchter sein können.

Die wichtigsten Instrumentalziele lauteten:

1. Optimierung der Kultivierungsbedingungen im Hinblick auf die CPC Produktion innerhalb der Algenzelle
2. Etablierung eines neuartigen Extraktionsprozesses von CPC aus Spirulina im Labormaßstab unter dem Gesichtspunkt der machbaren Umsetzung innerhalb eines landwirtschaftlichen Betriebes
3. Skalierung des Etablierten neuartigen Extraktionsprozesses in einer Pilotanlage um Erkenntnisse für eine wirtschaftliche Hochskalierung zu generieren
4. Das Prüfen der im Prozess anfallenden Restbiomasse auf eine mögliche Verwendung als Futtermittel
5. Das Prüfen des produzierten Extraktes auf seine Marktwirtschaftlichkeit und ggf. eine zusätzliche Anpassung
6. Eine Veredelung des produzierten Extraktes
7. Die ökologische und wirtschaftliche Bilanzierung des Gesamtprojektes

1.3 Mitglieder der OG

Roval GmbH

Die Roval GmbH ist ein niedersächsisches, von Landwirten betriebenes Mikroalgenzuchtunternehmen. Sie besteht seit 2016 und trug seitdem maßgeblich dazu bei, das Feld der deutschen Algenzucht voran zu bringen. Sie ist sich bewusst, dass sie in einer bis dato kleinen, dynamischen und jungen Branche agiert, in der sie einen Großteil der Aspekte der Algenwirtschaft selbst erarbeiten muss. Bis zum Projektbeginn hat sie sich in diesem Kontext Expertisen zur Zucht von Chlorella und Spirulina und zur Algenvermarktung angeeignet. Sie spielte (und spielt) zudem in mehreren weiteren innovativen Forschungsprojekten, wie beispielsweise dem EIP-Agri Projekt „Spirulina in Norddeutschland“ oder dem BMEL Projekt „MAK-PAK Scale-Up“, eine zentrale Rolle.

Neben dem Vertrieb von in ihrem 2500 Quadratmeter großen Gewächshaus produzierten Algen sucht die Roval aktiv nach weiteren Optimierungen ihres Geschäftsmodells. Durch ihre landwirtschaftliche Prägung und Expertise im Bereich der Mikroalgenzucht war sie somit ein optimaler Modellbetrieb für die Etablierung der hier behandelten CPC-Wertschöpfungskette: Umsetzungen von hierfür notwendigen, neuartigen Prozessen am Betriebsstandort der Roval sind mit hoher Wahrscheinlichkeit auch bei anderen Mikroalgenproduzenten und Landwirten gut möglich.

Als Unterauftragnehmer der Roval ist die Hochschule Bremen im Projekt impliziert. Diese besitzt weitreichende biotechnologische Erfahrungen, auch im Thema Algen, und sollte in Kooperation das Extraktionsverfahren im Labormaßstab erproben.

Alfred Wegener Institut

Das Alfred Wegener Institut (fortan AWI) ist ein international renommiertes marines Forschungsinstitut, welches in Bremerhaven lokalisiert ist. Es zeigt ein hohes Maß an interdisziplinärem Austausch und sowie meeresbiologischem Know-how. Die Forschungsgruppe Aquakulturforschung bietet hier für den Projektrahmen eine besonders geeignete Kompetenz. Diese hatte zu Projektbeginn bereits weitreichende Erfahrung mit der modifizierten Mikroalgenkultivierung und der Erforschung von Futterergänzungsmitteln in der Fischzucht. Somit sollte das AWI nicht nur für die Etablierung von neuen Verfahren dringend gebrauchte wissenschaftliche Expertise im Bereich Algen im Allgemeinen zur Verfügung stellen, sondern auch dazu in der Lage sein, spezifischere Fragestellungen, welche für die CPC Wertschöpfungskette hochgradig relevant sind, zu bearbeiten. Diese umfassen Restmassenverwertung und eine Optimierung und Anpassung der Spirulina Kultivierung.

Ferner verfügt das AWI über weitreichende wissenschaftlich – technische Ressourcen, was die OG befähigen sollte, bis zu einem gewissen Grad auch unvorhergesehene Komplikationen zu bearbeiten, die sich während des Projektes ergeben.

Mial GmbH

Die Mial GmbH ist eine Mikroalgenproduktionsfirma mit Expertisen im Phycocyanin Markt, welche sich auch maßgeblich auf die Produktentwicklung für den Endverbraucher konzentriert. Zu Projektbeginn war die Mial bereits im CPC-Markt aktiv, und bezog aus Frankreich hochpreisiges flüssiges Phycocyanin, aus welchem sie ein anti – inflammatorisches Produkt generiert. Dieses sollte möglichst mit dem im Kontext des Projektes produzierten CPC ersetzt werden.

Die Mial besitzt somit Wissen zum CPC-Markt und sollte innerhalb der OG dazu beitragen, möglichst marktgerechte Qualitätskriterien für das Endprodukt zu realisieren.

Aufgabenschwerpunkte

TABELLE 1: ARBEITSSCHWERPUNKTE DER OG MITGLIEDER

<u>OG Mitglied</u>	<u>Schwerpunkte</u>
Roval	Koordination, Optimierung und Durchführung der Mikroalgen Großproduktion, Prozessskalierung und Aufbau einer Pilotanlage, Anpassung von Prozessparametern, Wirtschaftlichkeitsoptimierung, Öffentlichkeitsarbeit
Roval (über einen Unterauftrag durch die Hochschule Bremen)	De Novo Konzipierung eines geeigneten Extraktionsprozesses, Laborvalidierung eines geeigneten Extraktionsprozesses
AWI	Labormodifizierung der Mikroalgenkultivierung für eine Optimierung des CPC Gehaltes, Erforschung von Restprozessmasse als Futterergänzungsmittel, Öffentlichkeitsarbeit
Mial	Testen des CPC Extraktes und Begleitung der Prozessoptimierung, Endproduktentwicklung

1.4 Projektgebiet

Das Projekt wurde auf den Betriebsgeländen der Roval (27404 Rockstedt), der Hochschule Bremen (28199 Bremen), des Alfred Wegener Instituts (27568 Bremerhaven) und der Mial (26160 Bad Zwischenahn) durchgeführt.

Die Roval war dabei innerhalb des Gewächshauses, der Betriebswerkstatt und den eigenen Laborräumlichkeiten, befindlich in Bürocontainern, tätig. Die Hochschule Bremen nutzte die eigenen Räumlichkeiten, primär Laboratorien genau wie das AWI und die Mial.

1.5 Projektlaufzeit und Dauer

TABELLE 2: PROJEKTVERLAUF

Datum	Eckpunkt
15.11.2019	Einreichung Projektantrag
12.12.2019	Antrag auf vorzeitigen Projektbeginn
20.12.2019	Vorzeitiger Projektbeginn PhycoFarming
12.02.2020	Offizieller Projektbeginn
11.04.2022	Antrag auf Projektverlängerung bedingt durch Corona-Verzögerungen
15.08.2022	Offizielles Projektende EIP 3. Call
28.11.2022	Änderungsbescheid hinsichtlich Mittelverschiebung Mial an Roval
30.04.2023	Projektende PhycoFarming

Die Projektdauer betrug in Gänze 40 Monate.

1.6 Budget

Das beantragte Gesamtbudget beläuft sich auf 458.855,00€ und ist folgend verteilt:

OG-Mitglied	Beantragte Summe
Z - Ausgaben der Zusammenarbeit	28.929,00€
1 - Roval GmbH	178.275,00€
2 - AWI (Alfred Wegener Institut)	138.951,00€
3 - Mial GmbH	112.700,00€

1.7 Ablauf des Verfahrens

Die wissenschaftliche Projektarbeit begann Anfang 2020 und verlief bis zum März 2023. Hier wurden die Upstream-Optimierungen der Kultivierungsbedingungen für eine Maximierung der CPC-Bildung zuerst vorgenommen, und liefen stetig weiter. Simultan erfolgte erst eine theoretische und dann eine praktische Erarbeitung des verwendeten Extraktionsprozesses im Labor. Nachdem erste vielversprechende Erkenntnisse bezüglich der spezifischen getesteten Algenstämme generiert wurden, wurden diese in einer großskalierten Produktion hochgezogen.

Nach Etablierung eines robusten Extraktionsprozesses im Labormaßstab erfolgte eine intensive Literaturrecherche bezüglich geeigneter Prozesse für den Pilotmaßstab der Extraktionsanlage. Nach Bau der Pilotanlage wurden kontinuierlich Anpassungen vorgenommen, um Daten für eine wirtschaftliche, weitere Hochskalierung zu sammeln und das Extrakt weiter an Marktansprüche anzupassen. In diesem Rahmen wurden ebenfalls Versuche zur Haltbarkeit und Lagerbedingungen von Extrakten aus fortgeschritteneren Entwicklungsstadien durchgeführt. Zudem erfolgten detaillierte Literaturrecherche und Versuche zu Additiven, um das CPC-Extrakt wirtschaftlich tragfähiger zu machen.

1.8 Zusammenfassung der Ergebnisse

Geeignete Kultivierungsbedingungen bezüglich Spirulina Medium, Stamm und Lichteinwirkung für optimale Wachstumsbedingungen und eine möglichst hohe CPC-Produktion zu erreichen sind identifiziert worden.

Es wurde ein robuster, neuartiger Extraktionsprozess für den Hochwertstoff C-Phycocyanin aus Spirulina geschaffen. Dieser kann unserer Auffassung nach in der jetzigen Form so bereits nach erster Einweisung vom algenkultivierenden Landwirt durchgeführt werden, ohne biotechnologisches Personal zu benötigen. Klare Empfehlungen und Erkenntnisse für eine weitere Hochskalierung sind geschaffen. Es werden bereits jetzt verlässlich Reinheiten erzielt, welche die Vermarktung als Lebensmittelfarbstoff und limitierter hochpreisiges Nutraceutical ermöglichen, wobei die CPC-Konzentration des Extraktes unseres Wissens nach stetig über dem von innereuropäischer Konkurrenz liegt. Es konnte erfolgreich eine Haltbarkeitsverbesserung des CPC Extraktes erzielt werden. Somit sind sehr gute Voraussetzungen für die Verfeinerung der CPC Wertschöpfungskette geschaffen.

Sterilisationsmethoden wurden ausführlich behandelt, teilweise getestet und für den Landwirt zunächst ausgeschlossen. Geeignete Lagerbedingungen und eine Weiterverarbeitung des Extraktes durch den Landwirt sind wurden identifiziert, die trotzdem eine Vermarktung des CPC ermöglichen.

Appropriate cultivation conditions regarding growth medium, light induction and strain selection for optimal Spirulina growth conditions and Phycocyanin production in Spirulina are identified.

A new, robust extraction process for the highly valuable protein pigment C-Phycocyanin from spirulina was established. We are of the opinion that this extraction process can be conducted by agriculturally skilled farm workers and without biotechnologically proficient personnel. We are able to make practically informed suggestions for a further upscaling of the process.

The extraction plant, which was built within the framework of this project, reliably achieves higher CPC concentrations and purities than that of European competitors. Its product therefore is highly likely to qualify for use as a food pigment and as a nutraceutical. The operational group successfully achieved an increase in shelf life. Conditions are therefore set for further improvement of the novel CPC product.

Sterilization methods were evaluated and partly tested. It was concluded that these are not conducive to production at the location of low-tech agricultural businesses. Data regarding optimal storage conditions were gathered and due to the successful positive shelf-life modification, this should not restrict Value generation with the described CPC extraction process.

2. Eingehende Darstellung

2.1 Verwendung der Zuwendung

2.1.1 Gegenüberstellung der Planung im Geschäftsplan und der tatsächlich durchgeführten und abgeschlossenen Teilschritte

2.1.1.1 Alfred Wegener Institut

Upstream Processing

Aufgabenpaket 1.1: Auswahl und labormaßstäbliche Untersuchung alternativer Kultivierungsverfahren zur Induktion der Phycocyanin-Bildung in Spirulina

Die Untersuchung verschiedener Kultivierungsverfahren auf CPC-Bildung erfolgte in drei Teilversuchen, wobei verschiedene Lichtzusammensetzungen, Belichtungszyklen und Nährmedien für die Kultivierung verwendet wurden. Ferner wurden ebenfalls verschiedene Spirulina-Stämme kultiviert und den genannten Tests unterzogen. Die Analytische Einordnung und Überwachung der Kultivierungsprozesse erfolgte überwiegend photometrisch und durch Trübungsmessung.

Aufgabenpaket 1.2: Produktion von Spirulina und Induktion der Phycocyanin – Bildung im Technikumsmaßstab nach dem in AP 1.1 ermittelten modifizierten Kultivierungsbedingungen und Erhebung von Messdaten für die Bilanzierung in AP 3

Die für AP 1.1 angesetzten Versuche erfuhren eine stetige Optimierung. Messdaten bezüglich Wachstum, CPC Zunahme und Düngerverbrauch wurden im Kontext von

verschiedenen Kultivierungsumständen generiert. Messmethoden für die Bestimmung von CPC wurde verifiziert.

Aufgabenpaket 1.3: Identifikation von kritischen Kontrollpunkten der Wachstums - und Produktbildungsphase von Spirulina

Das Wachstumsverhalten von Spirulina in den Kultivierungsansätzen sowie Wachstumsphasenübergangspunkte wurden aufgezeichnet. Parallel erfolgte eine relative Quantifizierung des produzierten CPCs für eine Identifikation von Korrelationen mit dem verzeichneten Wachstumsverhalten, wodurch eine Deduktion von Kultivierungsanpassungen für höhere CPC Gehalte ermöglicht werden sollte.

Aufgabenpaket 1.4: Bereitstellung einer Phycocyanin-optimierten Starterkultur von Spirulina für AP 2

Nach ausgiebiger Erkenntnisgenerierung wurde eine alternative Starterkultur zum Rockstedter Stamm bereitgestellt, um Abänderungen und auf mögliche Verbesserungen zum Rockstedter Stamm zu testen.

Formulierung eines Futterergänzungsmittels

Aufgabenpaket 4.1: Analytische Dokumentation der nutritiven Inhaltsstoffe der Spirulina – Restbiomasse

Die Analyse der Inhaltsstoffe der Spirulina – Restbiomasse erfolgte durch eine Verbindung von Flüssigchromatographie und Massenspektrometrie und wurde von wissenschaftlichem Personal des AWIs ausgeführt.

Aufgabenpaket 4.2: Testung des Futterergänzungsmittels in Standard – Futterformulierungen

In AP 4.1 entstand die Erkenntnis, dass die Restbiomasse nicht mehr genug Eiweiß enthält, um wie geplant sinnvoll als Eiweißsupplement in Futterformulierungen verwendet zu werden. Dementsprechend konnte keine Bearbeitung erfolgen.

Aufgabenpaket 4.3: Beständigkeit der nutritiven Inhaltsstoffe in der Futterformulierung (Futteranalyse)

Aufgrund der mangelnden Eignung der Restbiomasse als Proteinsupplement konnte auch dieses Arbeitspaket nicht sinnvoll bearbeitet werden.

2.1.1.2 Roval

Upscaling der CPC-Produktion

Aufgabenpaket 2.1: Anzucht und Inokulation der Kultivierungsbecken

Die aus AP 1.4 bereitgestellte Starterkultur wurde im Industriemaßstab kultiviert und mit der Roval – eigenen Kultur verglichen. Sie wurden gleichen Konditionen ausgesetzt und auf ihre Produktionseffizienz bezüglich Biomasse und CPC getestet.

Aufgabenpaket 2.2: Anpassung und Messung der Produktionsparameter für höhere Pigmentgehalte

Es wurden laufend Abänderungen an der Salinität und dem angewendeten Dünger der Algenproduktion vorgenommen. Des Weiteren wurden im üblichen Betrieb auftretende Varianzen wie etwa pH und Temperatur aufgezeichnet. So sollten für die CPC Produktion im großen Maßstab vorteilhafte Bedingungen identifiziert werden.

Aufgabenpaket 2.3: Unterauftrag HS Bremen: Literaturrecherche, Konzipierung des Prozesses und Testen des Extraktionsprozesses im Labormaßstab, Begleitung Aufbau der Anlage

Zunächst erfolgte durch wissenschaftliches Personal der Hochschule Bremen eine umfassende Literaturrecherche, um die Konzipierung eines Extraktionsprozesses von CPC für den Kontext eines landwirtschaftlichen Betriebes zu ermöglichen. Der daraufhin konzipierte Prozess wurde im Labormaßstab erprobt und validiert, wobei stetig diverse Messparameter untersucht wurden, um die weitere Hochskalierung auf den Pilotmaßstab zu ermöglichen und eine Wissensgrundlage zu schaffen. Es wurde durch wissenschaftlich geschultes Personal eine weitere theoretische Hochskalierung auf den Pilotmaßstab durchgeführt, um die Umsetzung des Aufgabenpaketes 2.4 zu optimieren und einen Planungsrahmen herzustellen.

Aufgabenpaket 2.4: Aufbau der Pilotanlage mit Daten und Empfehlungen des Unterauftrages

Nach ausgiebiger Literaturrecherche Seitens der Roval und Rücksprache mit der Hochschule Bremen zur Umsetzung der weiteren Hochskalierung und dem Bau der Pilotanlage erfolgte die Bestellung der Anlagenbauteile. Die Recherche informierte Abwägungen bezüglich Prozessrobustheit, Finanzierungsmöglichkeiten, Sinnhaftigkeit für den Einsatz in landwirtschaftlichen Betrieben ohne biotechnologische Infrastruktur und Personal, Prozessautomatisierung und Skalierungspotential über die Pilotanlage hinaus. Zusätzlich erfolgten weitere Anpassungen des Prozesses an die Produktionsbedingungen der Roval und an eine lebensmittelgerechte Produktion allgemeiner. Es wurden so weitere

Prozessschritte identifiziert, die in ihrer Umsetzung essentiell für die Funktionsweise der finalen Anlage waren.

Durch die im Zuge der COVID-19 Pandemie entstandenen globalen Belastungen des Lieferkettennetzwerks, welche auch Hersteller von essentiellen Bauteilen der konzipierten Anlage betrafen, kam es zu Verzögerungen des Gesamtaufbaus. Die Arbeitsweise wurde insofern angepasst, als dass der Prozessaufbau und die entsprechende Testung sequentiell und nicht holistisch durchgeführt wurden. Dies erfolgte durch Erprobung der Teilschritte und ihrer Einordnung durch andere Messgrößen als solche von dem letztendlich produzierten Extrakt, wie etwa dem Aufschlussgrad, dem Teilschrittdurchsatz oder dem Massenverlust.

So konnten einzelne Prozessschritte bereits vor der Integration aller Bauteile getestet und angepasst werden, was auch bei einem direkt kompletten Aufbau nötig gewesen wäre. Der Zeitverlust wurde so minimiert, doch da die Produktion von Endprodukt trotzdem zunächst verhindert wurde, war ein effizienter Problemlösungsablauf erschwert.

Aufgabenpaket 2.5: Optimierung und Standardisierung des Extraktionsprozesses

Wie auch der Anlagenbau selbst erfolgte die Optimierung des Extraktionsprozesses aufgrund von Lieferschwierigkeiten sequentiell. Es wurden laufend verschiedene Parameter der eingesetzten Gerätschaften variiert und dokumentiert, um diese mit Zielgrößen wie etwa dem Aufschlussgrad und dem Durchsatz sowie später CPC-Reinheit und CPC-Konzentration in Verbindung zu bringen und somit Rückschlüsse zu ermöglichen. Sich hieraus ergebende Anpassungen wurden mit dem Ziel umgesetzt, ein wirtschaftlich bestandsfähiges CPC-Extrakt zu generieren. Da die große Anzahl an möglichen Betriebskonditionen die Testung aller denkbar sinnvollen Anlagenaufbauten verhinderte, wurde laufend eine intensive Literaturrecherche sowie Rücksprache mit Sachkundigen im Feld der Algenbiotechnologie gehalten.

Die so untersuchten Alternationen bewegten sich im Rahmen von finanzieller Machbarkeit sowie Durchführbarkeit durch den Landwirt, weswegen die Extraktionsversuche neben dem wissenschaftlichen Personal der Roval auch vom landwirtschaftlichen ausgeführt wurde.

Die vielversprechendsten Betriebskonditionen wurden mehrmals angewendet, um Durchschnittswerte zu generieren und eine möglichst verlässliche Wirtschaftlichkeitsrechnung zu ermöglichen.

2.1.1.3 Roval und Mial

Veredelung des extrahierten Phycocyanin und analytische Einordnung

Aufgabenpaket 5.1: Analytische Dokumentation und Haltbarkeitstests des sterilfiltrierten Phycocyanin – Extraktes

Aufgrund der im Rahmen des Projektes als nicht skalierbar durchführbar identifizierten Sterilfiltration wurden Haltbarkeitstests entsprechend angepasst, wobei mehrere Stoffe

getestet wurden. Die Analyse des Phycocyanin Extraktes erfolgte überwiegend photometrisch. Zunächst erfolgte die Bearbeitung dieses Themas über die Mial, welche im späteren Verlauf durch die Roval in enger Zusammenarbeit mit der Hochschule abgeschlossen wurden.

Des Weiteren erfolgten Analysen, die eine Markteinordnung des produzierten Extraktes ermöglichen sollen. Hierzu zählen Stabilitätstests und Tests der antiinflammatorischen Aktivität.

Aufgabenpaket 5.2: Weitere Aufreinigung des Phycocyanin – Extraktes und eine Vermischung mit anderen geeigneten biologisch aktiven Stoffen

In Anbetracht der abzeichnenden Extraktionsproduktes wurden keine Stoffe gefunden, die zu einer Potenzierung der gesundheitsfördernden Qualitäten des Extraktes geführt hätten. Der Arbeitsfokus der Veredelung fokussierte sich stattdessen vor allem auf die Erhöhung der Produkthaltbarkeit.

2.1.1.4 Gesamte OG

Bilanzierung der Wertschöpfungskette

Aufgabenpaket 3.1: Langzeitbetrieb der gesamten Phycocyanin – Wertschöpfungskette

Aufgrund der zeitliche Anordnung nach anderen APs wurde seine langzeitliche Bearbeitung durch die COVID-19 bedingten Verzögerungen nicht in der Form durchgeführt, wie zu Projektbeginn zunächst zu erwarten war. Die Wertschöpfungskette kann trotzdem bilanziert werden, wobei beispielsweise durch die nicht zustande gekommene Futtermittelverarbeitung Teile der Wertschöpfungskette nicht zum tragen kamen.

Aufgabenpaket 3.2: Ermittlung der für die Biomasseproduktion nötigen Mengen an Nährstoffen

Die Bilanzierung erfolgte durch die Dokumentation von Düngereinsatz und Biomassenausbeuten der Produktion im Industriemaßstab.

Aufgabenpaket 3.3: Bilanzierung der nötigen Energie und des Energiebedarfs der einzelnen Prozessschritte (Kultivierungsphase, Biomasseernte, Aufkonzentrierung, Extraktion, Restbiomasseaufbereitung)

Die Energiebilanzierung erfolgte durch Dokumentation des Energieverbrauchs bei den einzelnen Prozessschritten der umgesetzten Wertschöpfungskette.

2.1.2 Darstellung der wichtigsten finanziellen Positionen

OG-Mitglied	Beantragte Mittel	Eingesetzte Mittel	Differenz
Z - Ausgaben der Zusammenarbeit	28.929,00€	24.858,90€	-4.070,10€
1 - Roval GmbH	178.275,00€	199.805,72€	+21.530,72€
2 - AWI	138.951,00€	132.651,38€	-6.299,62€
3 - Mial GmbH	112.700,00€	66.641,41€	-46.058,59€
<u>SUMME</u>	<u>458.855,00€</u>	<u>425.040,11€</u>	<u>-34.897,59€</u>

Die meisten Mittel wurden von Seiten der Roval eingesetzt. Insbesondere durch einen Teil der Aufgabenübertragung von der Mial zur Roval, wurde hier deutlich mehr im Personalbereich verwendet. Insgesamt sind in der OG die Personalausgaben, die mit Abstand größten Positionen. An zweiter Position bei der Roval wurde mit 25.440€ in wissenschaftliche Untersuchungen und Analysen investiert. Hier wurden primär die Mittel zur Vorplanung der Extraktionsanlage durch die Hochschule Bremen eingesetzt. Diese Position belief sich alleine auf 18.000€. Weiteres folgte Ende 2022 bis zu Projektende durch die enge Zusammenarbeit mit der Roval bei der Übernahme eines Mial Aufgabenkontingentes. Die verwendeten Betriebsmittel schlugen bei der Roval mit 1.360,90€ zu buche. Die Reisekosten betragen im Projektzeitraum 1.012,20€. Der Besuch von großen Kongressen fand 2020 und 2021 gar nicht statt und 2022 über eigene Mittel. 12.834,02€ wurden für den Kauf von Instrumenten und Ausrüstungsgegenständen aufgebracht. Insbesondere die Erkenntnis die Sterilfiltration nicht weiter zu verfolgen sparte hier große Budgets ein.

Das AWI verwendete, ähnlich wie die Mial, nahezu die gesamten Mittel für Personalkosten. Auch hier fielen bei beiden nur Reisekosten in gerade einmal der Hälfte der ursprünglich antizipierten Höhe an. Die Mial führte letztendlich diverse Tests in den eigenen Räumlichkeiten durch statt diese an Drittlabore abzugeben, sodass sich diese Mittel in den Personalbereich verlagerten, statt unter der Position 5.3.2. der Skizze zu buche zu fallen. Weitere 5.500€ brachte die Roval in der finalen Projektphase stattdessen noch einmal für Untersuchungen auf.

2.2 Detaillierte Erläuterung der Situation zu Projektbeginn

2.2.1 Ausgangssituation

Die Landwirtschaft blickt auf ungewisse und überwiegend für die vorhandene Tierhaltung schwierige Entwicklungen im Nahrungsmittelmarkt und sieht sich mit der Anpassung an diese neuen Gegebenheiten konfrontiert. Die Algenproduktion ist hierbei seit einigen Jahren ein möglicher Lösungsansatz, jedoch mit bereits genannten Problemen Internationaler Niedrigpreise konfrontiert. Nichtsdestotrotz ist eine Reihe produzierender Betriebe vorhanden, um schnelle und zielgerichtete Implementierung von Innovationen umsetzen zu können. Dies wird hier insbesondere durch die Roval, als von Landwirten geführte

Unternehmung, modelhaft. Algenkultivierung in Niedersachsen erfährt zunehmend Aufmerksamkeit und Interesse, vor allem von Landwirten, die auf der Suche nach alternativen Betriebszweigen sind. Auch Biogasanlagenbetreiber stehen vor großen Herausforderungen nach Ablauf der Einspeisevergütungen und suchen sinnvolle Konzepte für den Fortbestand der Anlagen. Die Aussagen der wenigen bereits produzierenden Betriebe bestätigen die zunehmende Nachfrage und die sich häufenden Betriebsbesichtigungen. Gleichzeitig wird der Markt bis dato von asiatischer, zumeist indisch und chinesischer Ware dominiert. Dies liegt zum einen an Weltmarktpreisen von 6-10\$/kg und zum anderen an omnipräsenter Bio-Zertifizierung, die so in Deutschland nur mit hohem technischen Aufwand umzusetzen wäre. Eine passende Vertriebsstruktur und Markenaufbau scheinen die einzig sinnvolle Lösung. Gleichzeitig könnte es aber andere Möglichkeiten geben, die dem EU-Ausland strukturell eher verschlossen blieben und damit einen echten Wettbewerbsvorteil für hiesige Erzeuger bieten könnte. Stichwort frische Algen. Hier insbesondere die Extraktion aus Frischmasse statt der üblichen Trockenmassextraktion, bei der große Mengen minderwertiger Algen günstig eingekauft und extrahiert werden können. Bieten sich keine passenden Vertriebsmöglichkeiten in den kommenden Jahren bei ausreichender Profitmarge, so werden wohl Ziele der blauen Bioökonomie im Algensektor nicht realisierbar sein.

2.2.2 Projektaufgabenstellung

Aufgabe des Projektes war die Schaffung der Grundlage einer neuen Wertschöpfungskette für niedersächsische und ferner deutsche Algenzüchter durch die Extraktion vom Hochwertstoff Phycocyanin. Es war zu beachten, dass die hier erforschten und etablierten Prozesse auch auf Sektorebene durch mikroalgenkultivierende Landwirte ohne extreme Investitionshürden durchführbar sind, um eine Skalierung der Branche möglich zu machen. Dabei sollten nicht nur Erfahrungen in den Teilprozessen der Wertschöpfungskette gesammelt werden, um den Vorgang durch den Aufbau und die Ausweitung von Expertise zu ermöglichen, sondern auch ein besonderes Augenmerk auf die letztendlichen Vermarktungsmöglichkeiten des produzierten Extraktes gelegt werden, sodass es möglichst an diese angepasst werden konnte.

Aufgrund der ausgeprägten Komplexität dieser Aufgabenstellung wurden für die Erreichung dieses übergeordneten Ziels Teilaufgaben mit Instrumentalzielen definiert. Diese beinhalteten:

- Eine facettenreiche Optimierung des Kultivierungsschrittes
- Die Erarbeitung eines grundlegenden Chemisch - biotechnologischen Extraktionsprozesses
- Den Aufbau einer Pilotanlage und die Bearbeitung von unausweichlich auftretenden Skalierungskomplikationen mit dem Ziel der Produktionsoptimierung und dem Erkenntnisgewinn für eine Anlage mit Industrieskalierung
- Die Evaluation der Weiterverwendung von Abfallprodukt
- Eine genauere Identifikation einer möglichen marktwirtschaftlichen Nische in Anbetracht des erarbeiteten Prozesses
- Eine entsprechende Weiterverarbeitung des Extraktes
- Eine wirtschaftliche und ökologische Bilanzierung

Diese Instrumentalziele ermöglichen im Ganzen die Evaluation der untersuchten Wertschöpfungskette und im Einzelnen zusätzlich den Gewinn von Erkenntnissen, die auch unabhängig von dieser für die niedersächsischen Algenbranche vorteilhaft sein können.

2.3 Ergebnisse der Operationellen Gruppe

2.3.1 Wie wurde die Zusammenarbeit im Einzelnen gestaltet?

Da die Natur des Vorhabens praktische und theoretische bzw. klein – und großskalierte Arbeiten bedingte und die Integration eines breiten Expertisespektrums zu mehreren Instrumentalzielen relevant war, war eine effektive Kommunikation unabdingbar.

Diese erfolgte über persönliche Kommunikationen bei der Biomassenübergabe und Laborbesuchen, besonders auch in der Problemlösungsfindung eines Partners über E-Mail und Telefon und über eine gemeinsame WhatsApp-Gruppe. Neben den Mitgliedern der OG war die Hochschule Bremen als Experten zum Extraktionsprozess stark eingebunden und stetig in engem Kontakt mit der Roval. Zusätzlich fand mit Ausnahme des Februars 2023 halbjährlich ein ausführliches Onlinemeeting statt, wo in der Regel jeder der im Projekt involvierten Mitarbeiter und Personen in Führungspositionen anwesend waren. Die landwirtschaftlichen Betriebe Mial und Roval stellten wissenschaftliche Mitarbeiter an, die dazu beitragen konnten, als Informationsbindeglied wissenschaftliche Erkenntnisse in einen landwirtschaftlichen Kontext zu bringen.

2.3.2 Was war der besondere Mehrwert bei der Durchführung des Projekts als OG?

Die OG bestand aus einem landwirtschaftlichen Algenproduktionsbetrieb, einem Forschungsinstitut und einem Veredelungs- und Vermarktungsunternehmen. Da alle Organisationen unterschiedliche Spezialisierungen vorweisen aber auch im Bereich Mikroalgen tätig sind, konnten breite und gleichzeitig sehr konvergente Kompetenzen zur Etablierung der CPC Wertschöpfungskette beitragen. So war die OG befähigt, Fragestellungen zu bearbeiten, die eine grundlegend andere Herangehensweise erfordern. Dies war unabdingbar, da die Konzeption und Validierung einer neuen Wertschöpfungskette in diesem Fall die Behandlung von mikrobiologischen, biochemischen, biotechnologischen, vermarktungs- und praktischen Themen ablief. Mehrmals wurden Probleme durch gemeinsame Unterstützung mittels Wissenstransfer gelöst. Besonders die Kommunikation der Roval mit dem AWI und der Hochschule Bremen half bei der Bearbeitung von technischen Problemstellungen während des Anlagenbaus.

Die Vertiefung der Kooperation von Forschung und niedersächsischen landwirtschaftlichen (Algen-) Betrieben stellt einen besonderen Mehrwert dar. Zum einen ermöglicht sie eine Informationsgewinnung für Forschungsinstitute über praktische Gegebenheiten und Limitationen, was neben der Datengewinnung vor allem die Konzeption zukünftig relevanter

Projekte und Fragestellungen informieren kann. Zum anderen ermöglicht sie dem Landwirt einen tieferen Einblick in etablierte und sich entwickelnde Informationsfelder sowie das Erhalten von praktischen Tipps, die der Wirtschaftlichkeit seines Unterfangens zutragen können. Beides erfolgte im hier beschriebenen Projekt ausgiebig.

Ferner ist anzunehmen, dass die hier erfolgte Kombination aus Theorie und Praxis der verschiedenen Betriebe auch für die Bearbeitung anderer Projekte hochgradig relevant sein kann. Durch die Ausweitung von Kommunikationen zwischen Landwirtschaft und Wissenschaft ist die Chance erhöht, weitere produktive Projektansätze zu finden und den Wissenstand vor allem der Landwirte immer weiter auszubauen. Im wissenschaftlichen Arbeiten mit den Projektpartnern hat hier besonders die Roval ihre Kompetenzen erweitert, welche sie nun an andere Mikroalgenunternehmen auch durch das beschriebene Disseminationskonzept vermitteln kann.

2.3.3 Ist eine weitere Zusammenarbeit der Mitglieder der OG nach Abschluss des geförderten Projekts vorgesehen?

Das AWI und die Roval stehen auch über das Projekt hinaus in engem Kontakt. Die Zusammenarbeit und der Wissensaustausch wurden durchweg als produktiv wahrgenommen, und die komplementäre Natur ihrer Teilkompetenzen ist den beiden Partnern bewusst. Weitere Projekte sind geplant.

Ferner unterstützen sich auch die Hochschule Bremen und die Roval weiter durch Wissenstransfer und das Bereitstellen von Forschungsproben.

Insgesamt hat das Projekt die Zusammenarbeit langfristig gestärkt und entscheidende Grundlagen geschaffen.

2.4 Ergebnisse des Innovationsprojektes

2.4.1 Zielerreichung

Im Verlauf des Projektes hat die OG erfolgreich eine robuste und sehr weitreichende Grundlage für die weitere Etablierung einer neuen Wertschöpfungskette schaffen können. Es wird verlässlich CPC-Extrakt mit guter Reinheit und Konzentration in hohen Quantitäten erzeugt, was auf ein vermarktbare Produkt und die Möglichkeit einer weiteren Hochskalierung und somit wirtschaftlichen Rationalisierung schließen lässt. Dies bestätigen, kombiniert mit den guten Ergebnissen in der Haltbarkeit, entsprechende Gespräche der Vorvermarktung. Insbesondere die vergleichsweise einfache Handhabung der Pilotanlage und die mit größter Sorgfalt auf Investitionskosten betriebene Geräteauswahl, sind in Gänze auf die Landwirtschaft angelegt.

Das Erreichen dieses Ergebnisses ist durch die Bearbeitung von inhaltlich diversen Instrumentalzielen bedingt, wobei die Zusammenführung deren Ergebnisse während des Projektes diese Etablierung möglich machte. Im Folgenden sind die hierfür wichtigsten Erkenntnisse dargestellt.

2.4.1.1. Optimierte Kultivierungsbedingungen sind identifiziert

Um zum einen die Produktionseffizienz von Spirulina im Allgemeinen und zudem genauer ihre CPC-Produktion pro Zelle zu erhöhen, wurden am AWI Versuche bezüglich Stammselektion, Nährmedium und Lichtanregung durchgeführt. So sollte die bereits seit vor dem Projekt erfolgte Spirulinaproduktion im Kontext der hier erarbeiteten Wertschöpfungskette optimiert werden. Somit kann ausgeschlossen werden, dass unaufwändig nutzbare Hebeleffekte während des Kultivierungsschrittes nicht die notwendige Aufmerksamkeit erhalten haben.

Versuche mit 4 verschiedenen Spirulina Stämmen zeigten einen Vorteil des bereits zu Projektbeginn bei der Roval verwendeten Stammes in Bezug auf die CPC-Produktion. Dieser Stamm zeigte kontinuierlich eine höhere CPC-Ausbeute pro Volumen als andere (Abbildung 1). Dies fiel zum einen in Laborversuchen wie auch in der Realproduktion auf, wo ein Becken mit dem zweit – vielversprechendsten Spirulina Stamm UTEX angeimpft wurde. Die CPC-Produktionsunterschiede der verschiedenen Stämme sind auf verschiedene genetische Expressionsprofile zurückzuführen, wodurch diese ihre CPC-Produktion unterschiedlich regulieren.

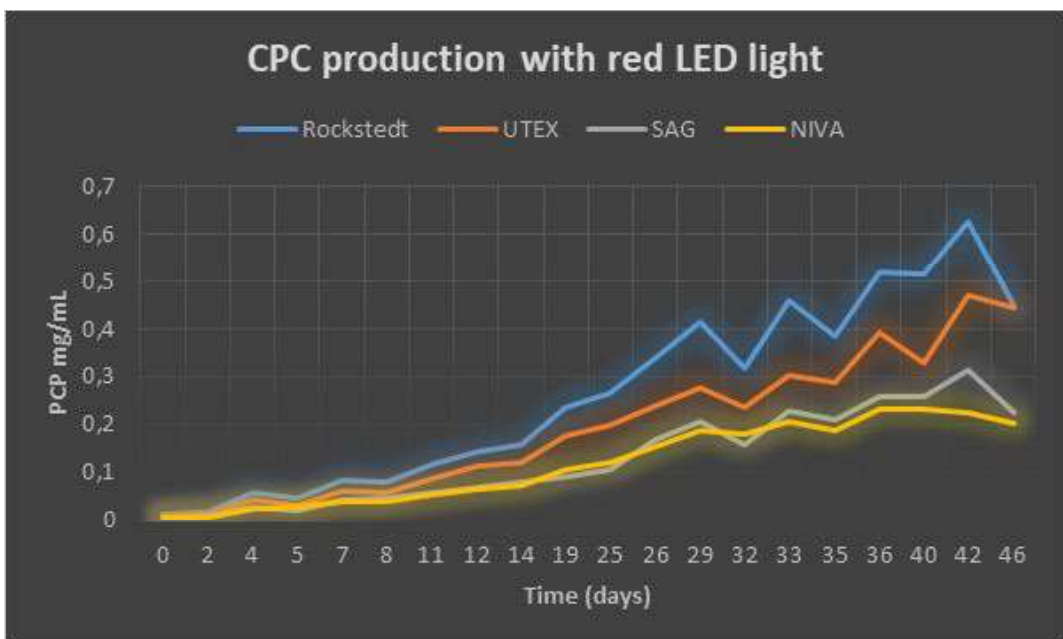
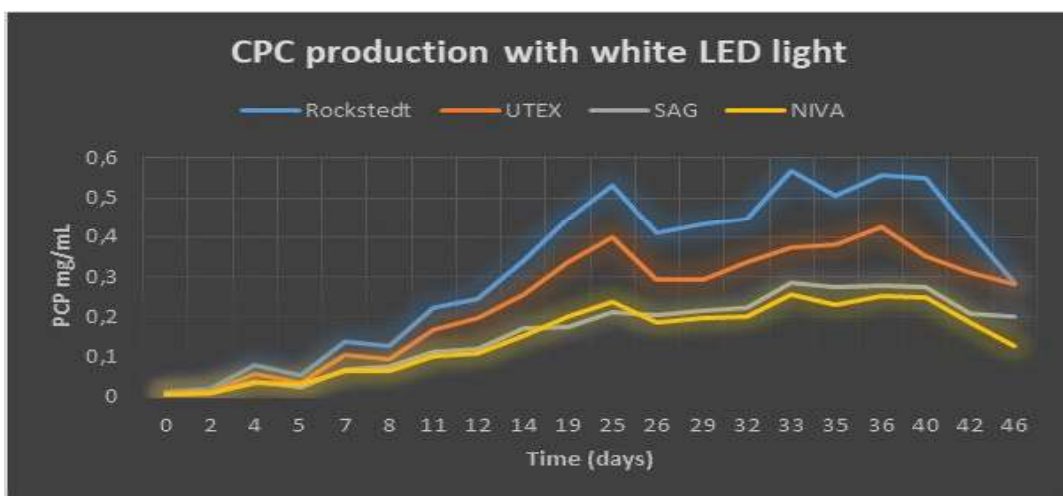
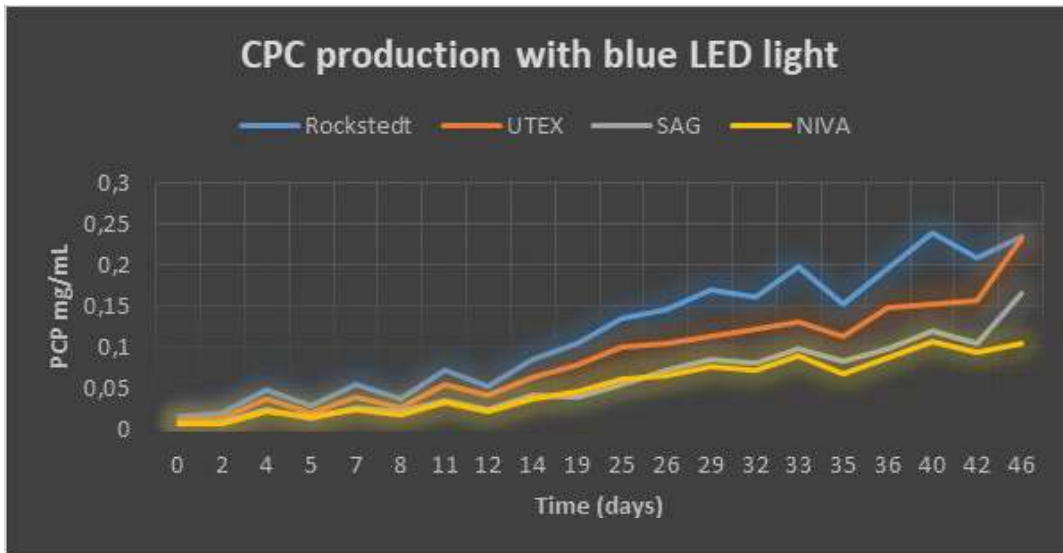


ABBILDUNG 1: CPC-PRODUKTION VON VERSCHIEDENEN STÄMMEN BEI WEIßEM, BLAUEM UND ROTEM LED LICHT IN DER LABORKULTIVIERUNG

Die Lichteinwirkung während der Kultivierung wurde ebenfalls variiert. Dies war ein vielversprechender Ansatz, um verschiedene CPC-Produktionsmuster hervorzurufen. CPC ist in seiner natürlichen Funktion in der (Spirulina -) Zelle im Photosyntheseprozess involviert, was die Hypothese nahe legt, dass eine CPC-Produktion unter bestimmten Lichtbedingungen bevorteilt sein könnte.

Getestet wurden hier weißes, rotes und blaues Licht sowie verschiedene Hell / Dunkel Zyklen. Ausschlaggebend für das Projekt wurde deutlich, dass eine Stimulation mit weißem Licht zu der zunächst wirtschaftlichsten CPC-Produktion führt. In den Kulturversuchen stieg die CPC-Menge (wie auch die Zelldichte) hier zunächst exponentiell mit der kürzesten Verdoppelungszeit von allen Ansätzen, was auch darauf zurückzuführen ist, dass die Spirulina hier am schnellsten wuchsen (Abb. 2). Nach Verlassen der exponentiellen Wachstumsphase stagnierte und schwankte der CPC-Gehalt hier (Abb. 1). Da weißes Licht in realen Produktionsbedingungen als Sonnenlicht am einfachsten eingesetzt werden kann, suggeriert dies, dass eine effiziente und unaufwändige CPC-Produktion durch ein regelmäßiges Ernten erreicht werden kann, damit die Spirulina die exponentielle Wachstumsphase nie verlassen und so der CPC-Gehalt nicht ins Schwanken gerät.

Im Vergleich führt rotes Licht zwar zu einem allgemein langsameren Zellwachstum (Abb. 2), weist zu einem späten Wachstumszeitpunkt aber einen höheren CPC-Gehalt auf als weißes Licht (Abb. 1, Abb. 3), auch da die exponentielle Wachstumsphase hier wahrscheinlich noch nicht komplett verlassen wurde.

Die Anregung mit blauem Licht führte konstant zu weniger Zellwachstum und CPC-Produktion (Abb. 1, Abb. 2). Es ist zu vermuten, dass dies auf eine Limitation der durch CPC bereitstellbaren Energie während des Photosynthesevorgangs zurückzuführen ist. Da CPC hier blaues Licht verwertet, ist dieser Verwertungsvorgang schnell ausgereizt, weswegen für die Zelle kein weiteres CPC nötig ist. Somit kann die Umsetzung von Blaulicht während der Spirulinaproduktion im Kontext dieses Projektes und sehr wahrscheinlich in der Mikroalgenzucht allgemein als nicht sinnvoll eingestuft werden.

Da die CPC-Produktion zunächst mit weißem Licht und mit fortschreitender Zeit bei rotem Licht am besten war, suggerieren wir einen Ansatz mit zunächst weißem Licht und zu einem späteren Zeitpunkt rotem Licht bei der Spirulina Kultivierung, um den CPC-Gehalt pro Zelle insgesamt zu maximieren. Es ist anzumerken, dass eine Kultivierung mit weißem Sonnenlicht und ein vergleichsweise frühes Ernten (beispielsweise bei 0,2 g/L anstatt 0,5 g/L Trockenmassendichte im Kultivierungsbecken) für unsere CPC-Wertschöpfungskette produktiver und robuster ist. Dieses Ergebnis kann trotzdem für Anwendungen hilfreich sein, in der CPC-Menge pro Zelle ausschlaggebend ist.

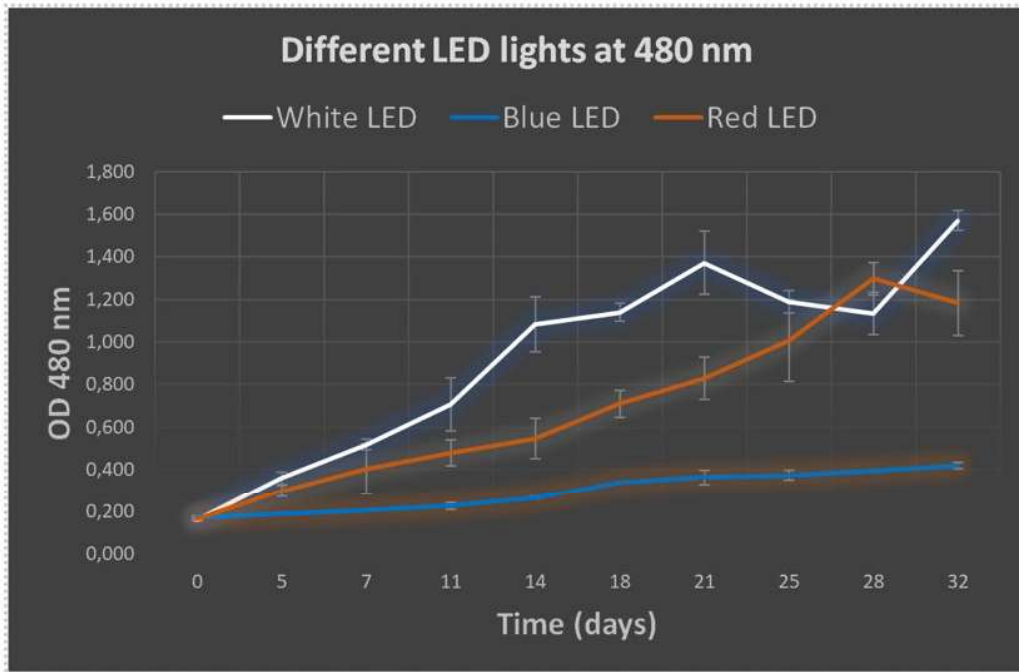


ABBILDUNG 2: OPTISCHE DICHT BEI 480 NM DER SPIRULINA KULTIVIERUNGEN BEI VERSCHIEDENEN LICHT EINWIRKUNGEN ÜBER ZEIT

Die optische Dichte bei 480 Nanometern (nm) Lichtwellenlänge verläuft hier proportional mit der Zellzahl und ist somit ein geeigneter Messwert, um das Wachstum aufzuzeichnen

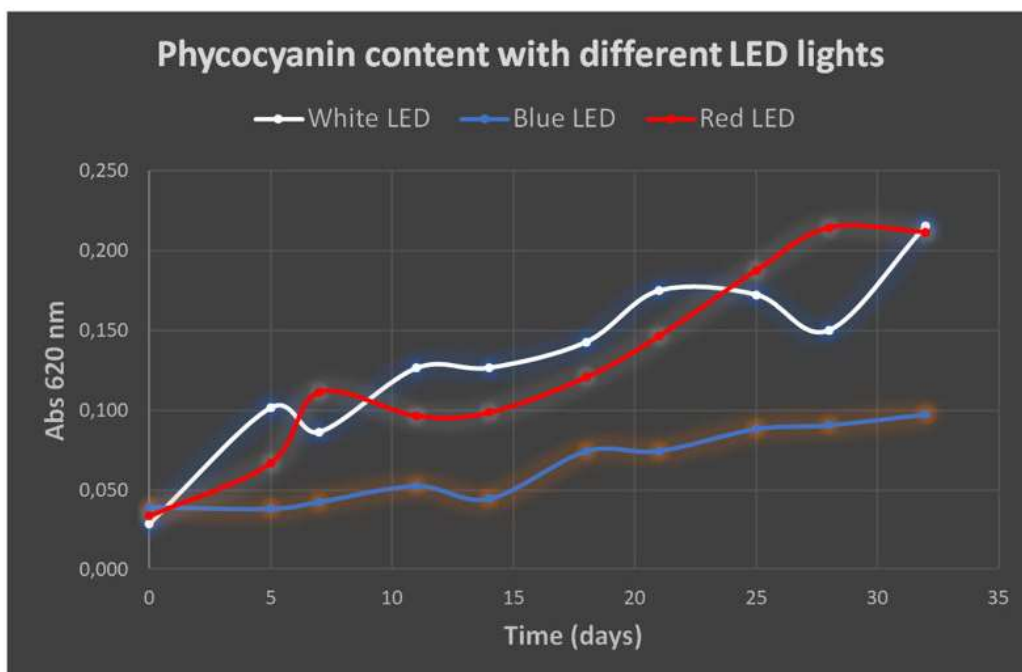


ABBILDUNG 3: ABSORPTION BEI 620 NM DER SPIRULINA KULTIVIERUNGEN BEI VERSCHIEDENEN LICHT EINWIRKUNGEN ÜBER ZEIT

Die Absorption bei 620 nm verläuft hier proportional mit dem CPC-Gehalt

Die Versuche mit verschiedenen Kultivierungsmedien verglichen Laboransätze mit dem in der Großproduktion verwendeten Rockstedter Medium. Darüber hinaus wurden die Stickstoffgehalte in weiteren Kultivierungsansätzen erhöht, um zu testen, ob eine allgemein erleichterte Proteinbiosynthese die CPC-Produktion verbessert. Für die Wertschöpfungskette relevant ist hier vor allem das Ergebnis, dass eine Stickstoffhöhung zu anfangs schnellerem und später verlangsamtem Wachstum führt (Abb. 4). Zudem wird erkennbar, dass die Roval interne Futterformulierung mit einem NPK-Dünger aus handelsüblichen Zutaten keine großen Nachteile gegenüber der vom AWI eingesetzten Laborformulierung zeigt. Weil Labormedien meist besser funktionieren als solche für die Großproduktion, da pro Masse an Nährmedium mehr Geld ausgegeben wird und nähere Expertisen zur genauen Verwertung des Nährmediums durch den Organismus vorliegen, ist anzunehmen, dass das durch die Roval verwendete Medium relativ nahe am Optimum bezüglich einer Abwägung von Preis und Nutzen liegt. Wenn man die Produktion von Gesamt-CPC mit der Zellzahl vergleicht (Abbildung 4 vs. Abbildung 5), fällt auf, dass eine Stickstoffhöhung in Laborkonditionen mittelfristig zu einer erhöhten CPC-Produktion pro Zelle führt. Dies suggeriert, dass diese Modifikation in Verbindung mit früheren Erntezeiten bei geringerer Zelldichte im Produktionsbecken zu einer höheren CPC-Ausbeute führen kann. Nach der entsprechenden Umsetzung haben wir aber keinen erhöhten CPC-Gehalt feststellen können, vermutlich da die Zellen im Kultivierungsbecken anders als im Labor divergente Wachstumsstadien aufweisen.

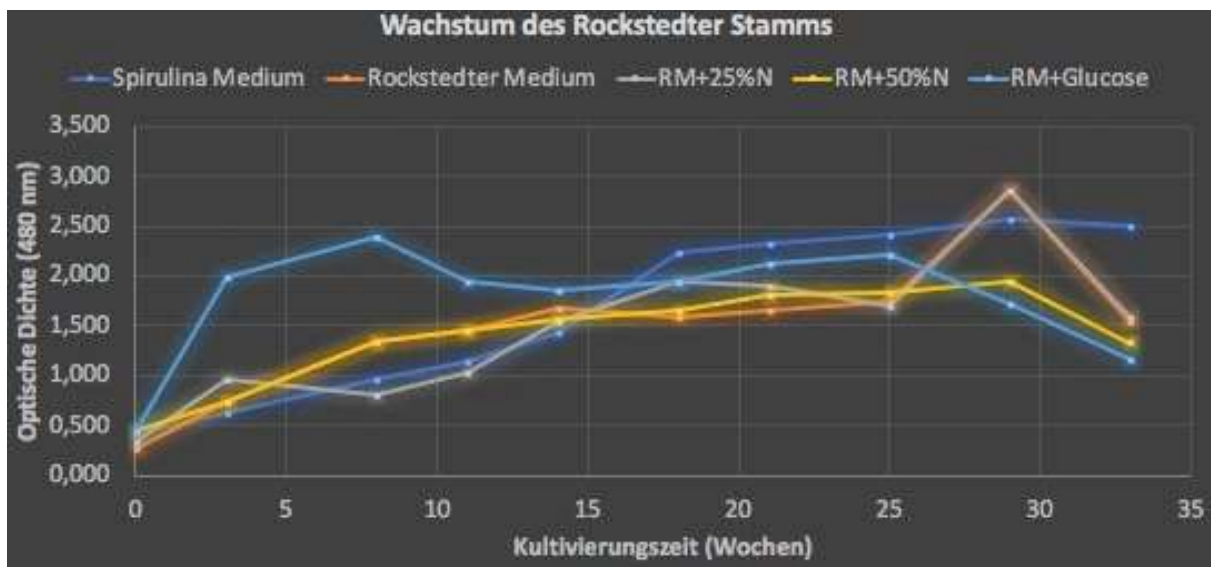


ABBILDUNG 4: OPTISCHE DICHT BEI 480 NM ÜBER ZEIT DES ROCKSTEDTER SPIRULINA STAMMES IN UNTERSCHIEDLICHEN MEDIEN

Die Optische Dichte verhält sich hier proportional zur Zellzahl

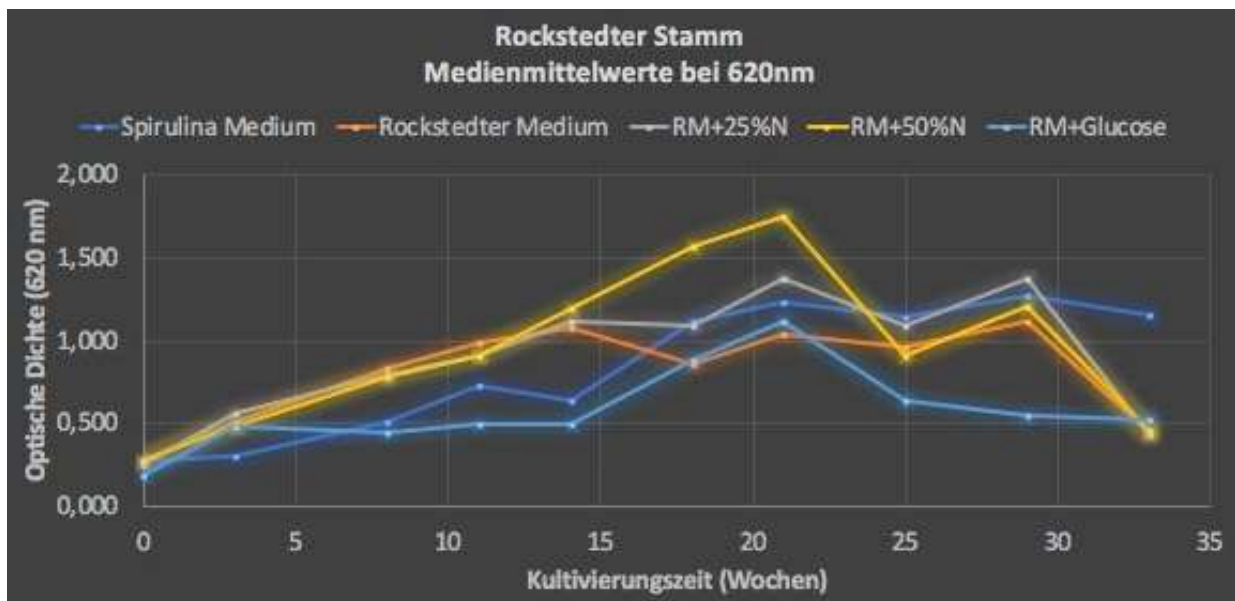


ABBILDUNG 5: OPTISCHE DICHT BEI 620 NM ÜBER ZEIT DES ROCKSTEDTER SPIRULINA STAMMES IN UNTERSCHIEDLICHEN MEDIEN

Die Optische Dichte verhält sich hier proportional zur produzierten CPC Menge. Nach 20 Wochen ist der CPC-Gehalt vor allem bei erhöhten Stickstoffgehalten des Mediums erhöht und gleicht sich anschließend wieder an.

Zusammenfassend ist hier zu sagen, dass die Spirulina Produktion mit weißem Sonnenlicht, dem Rockstedter Medium mit erhöhten Stickstoffgehalt, dem Rockstedter Stamm und regelmäßiger Ernte zur Vermeidung von Wachstumsstagnation für den Kontext der CPC-Produktion als besonders effektiv identifiziert wurde. Der erhöhte Stickstoffgehalt hat in der Praxis nicht zu einer erhöhten CPC-Ausbeute geführt. Es wurden somit keine Anpassungen umgesetzt, die zu einer Verbesserung der CPC-Ausbeute geführt haben, doch es wurde bewiesen, dass die Produktionsweise der Roval zu Projektbeginn bereits für diesen Zweck optimiert war. Dies war keineswegs erwartbar, da vor dem Projekt noch keine vergleichbar intensiven Optimierungsversuche stattgefunden haben. Eine Erhöhung der CPC-Produktion upstream von der Extraktion hätte hier eine große Hebelwirkung erzielt.

Ferner wurden in dieser Versuchsreihe zusätzliche relevante Ergebnisse erzielt, die unter 2.4.5 beschrieben werden.

2.4.1.2. Ein neuer Extraktionsprozess für CPC aus Spirulina ist etabliert

Nach ausgiebiger Literaturrecherche und der Integration von bereits bestehenden Expertisen innerhalb der Forschungsgruppe von Prof. Dr. Anja Noke der Hochschule Bremen, wurde erfolgreich ein Extraktionsprozess konzipiert und in kleinen Volumina ebenfalls durch die Hochschule Bremen validiert. Dies geschah unter Berücksichtigung des Skalierungs- und Anwendungsthemas beim Landwirt und war zentral für den Erfolg des Projektes. Die Literaturrecherche befasste sich hier vor allem mit dem Vergleich mit etablierten Protein- und CPC-Extraktionsprozessen (beispielsweise aus Trockenmasse), um eine neuartige Frischmassextraktion zu erarbeiten. Hier wird deutlich, dass der Erfolg des Projektes neben den Mitgliedern der OG auch der Hochschule Bremen zuzuschreiben ist. Die Literaturrecherche bestätigte zudem die Seltenheit von Frischmassextraktion in diesem Anwendungsfeld.

Prinzipiell funktioniert der entwickelte Prozess wie folgt:



ABBILDUNG 6: SCHEMATISCHER EXTRAKTIONSABLAUF IM LABOR

Zunächst müssen die Spirulinazellen im entwickelten Prozess aufgeschlossen werden, was hier durch Ultraschallbearbeitung erfolgte. Dabei wurden weitere Randbedingungen definiert, die diesen Aufschluss effektiv gestalten sollten und ferner eine Vergleichsgrundlage für die weitere Hochskalierung des Prozesses herstellen. So wurde der Prozess nach einer Verdünnung der 10 – 15%igen gewaschenen initial - Algenmasse auf $1,25 \pm 0,25$ % Trockensubstanz und mit einem Energieeintrag für den Zellaufschluss von 0,4 Wattstunden pro Milliliter bzw. Kilowattstunden pro Liter Suspension etabliert, da ab diesem Punkt die Zellen fast komplett aufgeschlossen waren (Abb. 7).

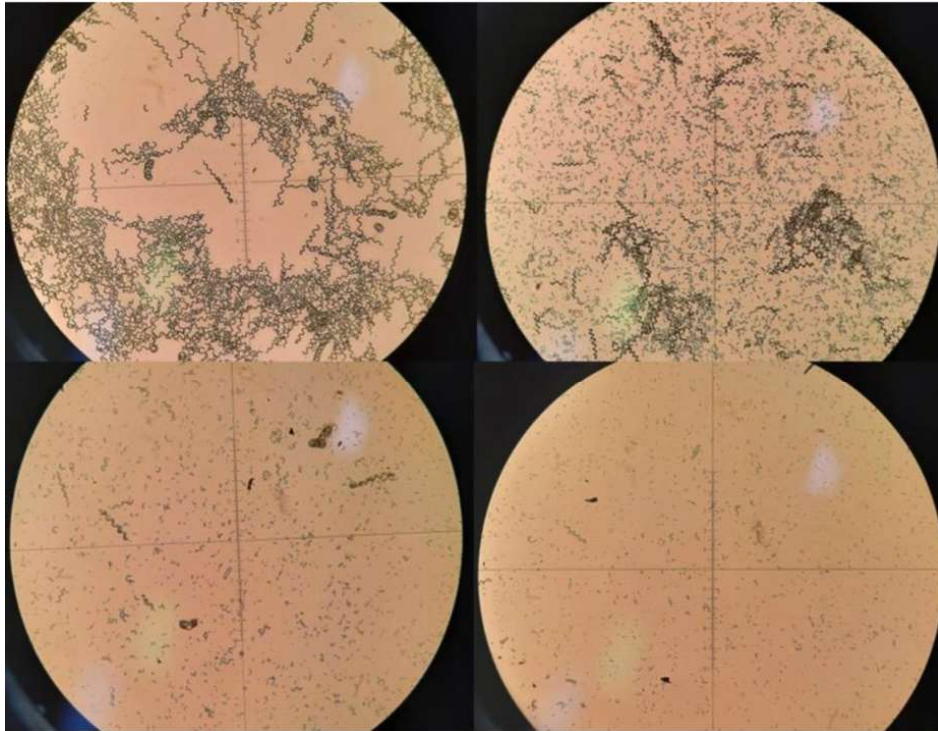


ABBILDUNG 7: MIKROSKOPANSICHT VON SPIRULINALÖSUNG WÄHREND DES FORTSCHREITENDEN AUFSCHLUSSPROZESSES

Der Watteintrag schritt hier von 0 (oben links) über 0,133 (oben rechts) und 0,266 (unten links) zu 0,4 (unten rechts) Kilowattstunden pro Liter fort

Um das nach dem Zellaufschluss in Lösung vorliegende CPC vom Restprotein zu trennen, wurde anschließend das polymere Fällmittel Chitosan verwendet. Dieses wurde als besonders geeignet identifiziert, da es eine effektive Trennung ermöglicht und zudem bereits eine Lebensmittelzulassung aufweist. Der Trenneffekt entsteht hier durch die Interaktion des positiv geladenen Chitosans mit negativ geladenen Regionen von gelösten Proteinen, was abhängig von bestimmten Proteincharakteristika zu Ausfällung führt. CPC ist hier besonders unanfällig, weswegen es auch nach der Addition von Chitosan in Lösung bleibt und somit vom Restprotein getrennt werden kann. Diese Effekte sind stark abhängig vom pH-Wert der Lösung, da der pH-Wert die Ladungsdichte der Proteine und des Chitosans somit ihre Interaktion beeinflusst. Dieser Effekt wurde noch einmal spezifisch für den Kontext des hier erprobten Extraktionsversuches geprüft (Abb. 8), wobei sich ergab, dass der Trennprozesses besser funktioniert, je niedriger der pH-Wert angesetzt wird. Die bessere Fällung führt bei niedrigen pH-Werten zu höheren Reinheiten und Ausbeuten von CPC im Extrakt.

Die Trennung erfolgte zunächst durch das Ansetzen von einer Chitosanstammlösung mit 1%iger Massenkonzentration. Diese wurde eine Stunde lang gesäuert mit Essigsäure aktiviert und in 10%igem Volumenanteil zur Algensuspension gegeben, wonach das Restprotein ausflockte.

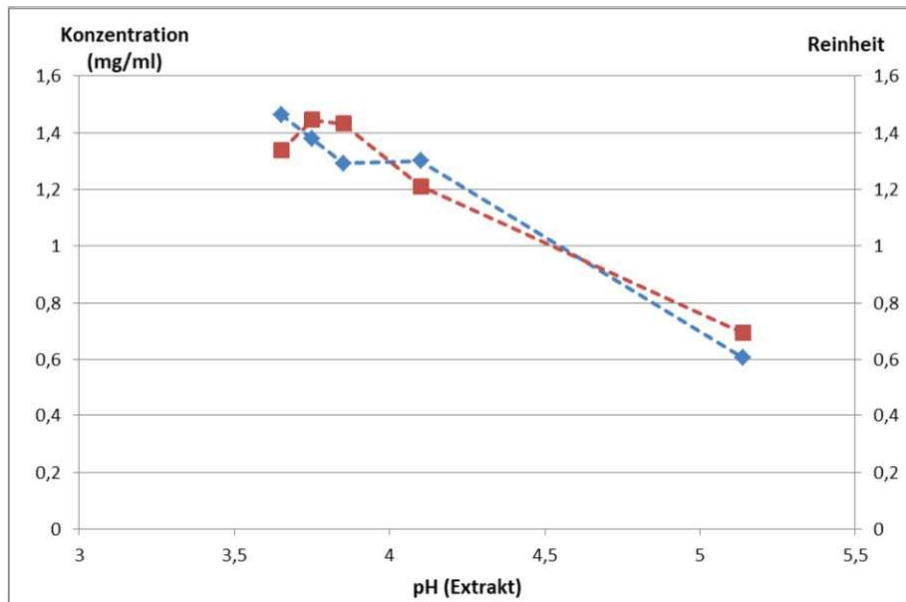


ABBILDUNG 8: CPC REINHEIT UND KONZENTRATION IN LABOREXTRAKT ABHÄNGIG VOM BEI DER FÄLLUNG EINGESETZTEN PH

Die Reinheit (rot) wurde hierbei als Absorption bei 620 nm (für CPC) geteilt durch die Absorption bei 280 nm (für Gesamtproteinanteil) definiert. Die Variation im pH des Extraktes (x – Achse) erfolgte durch eine Variation des pHs während der Fällung

Des Weiteren musste das CPC in Lösung vom durch Chitosan ausgefällten und verklumpten Restprotein getrennt werden. Hier wurde zunächst ein grobes Teesieb verwendet, woraufhin eine feinere Filtration erfolgte. Hierbei ergaben Versuche mit verschiedenen Porengrößen, dass die Verwendung von Poren kleiner als 20 µm keinen Vorteil bezüglich Reinheit und Konzentration erzeugt. Dies ist insofern bedeutsam, als dass in der Hochskalierung größere Porengrößen meist einen höheren Durchsatz erlauben.

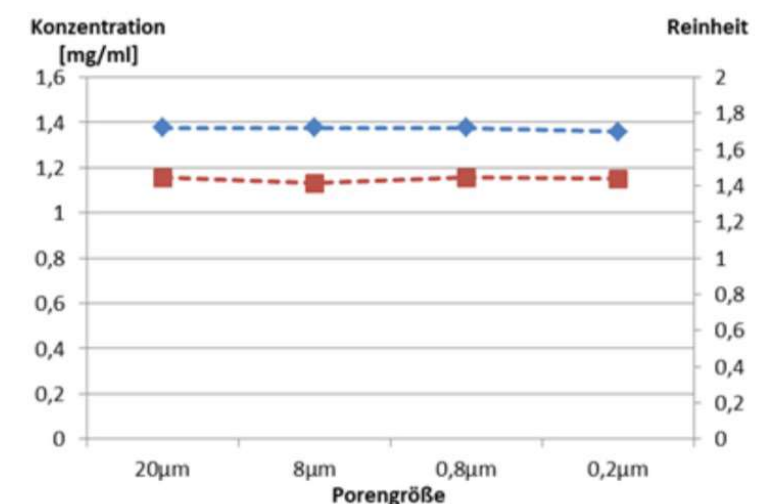


ABBILDUNG 9: KONZENTRATION UND REINHEIT VON CPC IN LABOREXTRAKT ABHÄNGIG VON DER FEINSTEEN VERWENDETE FILTERMASCHENWEITE

Die Reinheit ist Rot und die Konzentration blau dargestellt

Der so erarbeitete Extraktionsprozess ermöglichte die Produktion von Extraktion mit einem CPC-Gehalt von bis zu 1,46 mg/ml und einer CPC Reinheit von bis zu 1,44 A620/A280, was seine Sinnhaftigkeit für den Kontext dieses Projektes beweist. Bei einer Extraktionseffizienz von 80% würde dies einen CPC-Anteil von 11,6 % bedeuten, was die zu Projektbeginn vermuteten möglichen CPC-Produktionskapazitäten übersteigt. Hier wurde eine Extraktionseffizienz von 60-85% bei einem CPC-Anteil von 5-10% veranschlagt. Es ist anzumerken, dass die Extraktionsbedingungen durch wissenschaftliches Personal in kleinen Volumina wahrscheinlich nahezu optimal waren. Trotzdem ist der Extraktionsprozess konzeptionell eindeutig als effektiv bewiesen.

2.4.1.3 Unterschiede zwischen Biomassen bedingen eine große Varianz zwischen Extraktionsbatches

Zudem wurde in dieser Versuchsreihe die starke Ausprägung der Varianz zwischen Biomassen klar, welche sich auf die erhaltene CPC-Reinheit und Konzentration im Extrakt auswirken können. Dabei konnte kein eindeutiger Zusammenhang zwischen messbaren Größen wie etwa der Leitfähigkeit und Eignung der spezifischen Biomasse für die Extraktion hergestellt werden.

Dies erschwert die Produktion von CPC Extrakt durch den Landwirt mit limitierten technischen Möglichkeiten für die Kompensation, bedroht die Wertschöpfungskette aber nicht fundamental, da trotzdem gute „Mindestergebnisse“ erzielt werden (siehe nächstes Kapitel 2.4.1.4).

TABELLE 3: VARIANZ ZWISCHEN GESPÜLTEN BIOMASSEN

	Biomasse 1	Biomasse 2	Biomasse 3	Biomasse 4
Leitfähigkeit (mS/cm)	6,75	5,15	18,14	6,24
pH	7,51	7,35	9,81	8,39
Viskosität (relativ; 1-5)	5	2	1	5
Mikroskopie	Spiralen, geklumpt stark grün	Spiralen, kaputte Zellmasse, leicht braun	Spiralen, geringe Dichte	Zickzackform, geklumpt
CPC Konzentration (mg/ml)	1,42	1,03	1,29	1,44
CPC Reinheit (A620 / A280)	1,42	1	0,96	1,44
Ertrag (CPC /Trockenmasse)	11,7 %	9,1 %	7,8 %	11,6 %

2.4.1.4. Der CPC-Extraktionsprozess wurde am Ort der Algenkultivierung erfolgreich auf den Pilotmaßstab skaliert

Der zuvor im Labormaßstab etablierte Extraktionsprozess für CPC aus Spirulina – Biomasse wurde am Ort der Algenkultivierung hochskaliert und liefert erfolgreich die erstrebte Hochwertlösung mit CPC. Hierfür wurde der Prozess nach verfahrenstechnischer Literaturrecherche weiter angepasst (Abb. 10), um ihn im finanziellen Rahmen des Projektes so skalierbar wie möglich zu gestalten. Die so durch die Roval aufgebaute Anlage liefert verlässlich CPC-Extrakt mit geeigneten Reinheiten für die Lebensmittelindustrie und mit höheren Konzentrationen als uns bekannte vergleichbare Produkte, was sogar auf die schlechtesten Extraktionsansätze zutrifft (Tab. 4). Die Anlage kann 10kg gewaschene Algensuspension mit einem Trockensubstanzgehalt von 1,25% durchsetzen, kann vom Landwirt bedient werden und ist prinzipiell somit funktional und potentiell skalierungsfähig. Hierfür waren diverse Abwägungen zu treffen, da ein Reibungsloser und robuster Durchsatz nicht ohne weiteres mit der Erhaltung der Ergebnisse aus dem Labormaßstab vereinbar war.

Es ist anzumerken, dass die hier erzielten Beobachtungen und Werte qualitativer Natur sind. Die unterschiedlichen Biomassen erzeugen erhebliche Varianz zwischen Versuchen, was die Reproduzierbarkeit von Ergebnissen stark erschwert. Trends in der Produktqualität und Veränderungen in der Durchsatzgeschwindigkeit oder Durchsatzkapazität waren trotzdem identifizierbar, was sich bei der Handhabung von natürlich produzierten Algen wohl nicht vermeiden lässt.

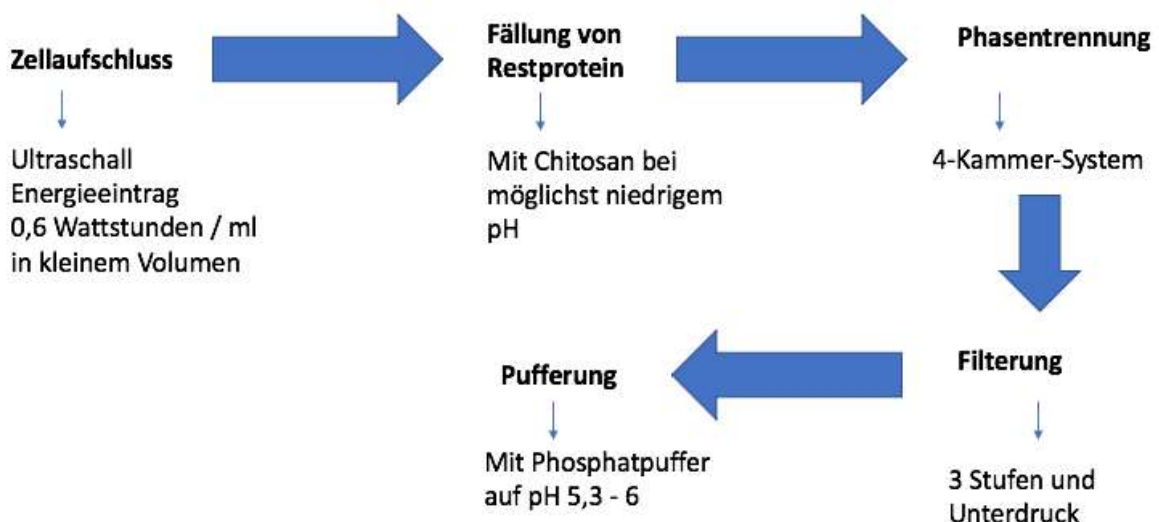


ABBILDUNG 10: FLIEßDIAGRAMM FÜR DIE FUNKTIONSWEISE EINER ANLAGE MIT EINER DURCHSATZMÖGLICHKEIT VON 10 KG ALGENSUSPENSION

TABELLE 4: REINHEITS - UND KONZENTRATIONSWERTE DER PILOTANLAGE

	<u>Reinheit CPC (A620 / A280)</u>	<u>Konzentration CPC (mg/ml)</u>
Finale Anlage	0,93 – 1,2	0,8 – 1,2
Maximalwert aus allen Versuchen	1,32	1,79
Minimalwert aus allen Versuchen	0,78	0,4
Anspruch Lebensmittelindustrie*	0,7	Je höher desto besser
Konkurrenzprodukt Spyrolisat**	0,7	0,4 – 0,6

*Ausreißer die durch unvorhergesehene Probleme bei der Extraktion wie etwa einem löchrigen Filtermesh entstanden sind wurden nicht berücksichtigt. **Die Produkte aus unserem Extraktionsprozess weisen eine etwa 1,5x-fach bessere Reinheit und 2-3-fach höhere Konzentration als das vergleichbare Produkt „Spirulysat“ auf.***

**Der Wert für den Anspruch der Lebensmittelindustrie entnehmen wir dem Ergebnisschreiben der Hochschule Bremen*

***Die CPC-Konzentration des Konkurrenzproduktes „Spyrolisat“ durch die französische Firma Algosource ist uns nicht durch Messungen bekannt, sondern durch den Sachverständigen Dr. Theo Fahrendorf der in der Vergangenheit viel mit diesem Produkt arbeitete.*

Für den Zellaufschluss wurde ein Ansatz erarbeitet, bei dem unbehandelte Algensuspension in einem Sammelgefäß vorgelegt wurde. Für die Bearbeitung wurde diese in ein kleinvoluminäres Reaktionsgefäß gepumpt, wo sie statistisch gesehen 9-fach von einem Ultraschalldesintegrator behandelt und dann ins Fällgefäß gepumpt wurde.

Dieser Ansatz wurde erarbeitet, da ein vollständiger Zellaufschluss eines großen Volumens Algenlösung zu lang gedauert hätte, und das am Anfang des Prozesses freigesetzte CPC in dieser Zeit enzymatischer Zersetzung ausgesetzt war. Zudem wurde die Aufschlussintensität im Vergleich zum Laboransatz 1,5-fach erhöht, was den mikroskopisch ermittelten Aufschlussgrad erhöhte. Die Umsetzung beider Ansätze führte im Schnitt zu einer höheren CPC Ausbeute, insofern die Weiterverarbeitung der aufgeschlossenen Lösung unmittelbar erfolgte.

Zudem erfolgten Versuche zum Aufschluss einer höher konzentrierten Algensuspension mit anschließender Verdünnung vor der Fällung. Hier war die Aufschlussgeschwindigkeit erhöht, die CPC Ausbeute im Schnitt allerdings nicht. Die so erreichte Erhöhung der Aufschlussgeschwindigkeit ist wertvoll für eine weitere Hochskalierung, da der Zellaufschluss durch den Vermeid von Temperaturen über 60 Grad Celsius stark

verlangsamt und geschwindigkeitsbestimmend ist. Dies ist der Fall, da CPC über 60 Grad Celsius thermoinstabil ist.

Die Fällung erfolgte mit 0,1L Chitosanlösung pro Liter aufgeschlossener Biomassensuspension, wobei diese 1% Chitosan enthielt und mit 25 g/L Zitronensäure auf pH 2,75 angesäuert wurde. Als optimale Rührgeschwindigkeit wurden 50 Umdrehungen pro Minute (rpm) ermittelt, wobei diese je nach Anlagenaufbau, Reaktionsgefäß, Rührerform und Größe unterschiedlich ist. Als Mindestvermischungszeit wurden 10 Minuten und als Mindestruhezeit vor dem Absaugen der flüssigen Phase 7 Minuten ermittelt, wobei vor allem die Verkürzung der Letzteren zu niedrigeren CPC-Reinheiten führt.

Nach Ablauf der Ruhezeit wurde die Suspension für die Trennung weitergepumpt.

Ein Ansatz, die Fällung wie auch die Desintegration kontinuierlich zu gestalten, führte zu geringeren CPC-Ausbeuten bei gleichbleibender Reinheit.

Nach einem ausgiebigen Problemlösungsprozess wurde im Trennprozess ein Phasenabscheider integriert, welcher das Dichtsetzen der Filter beim Durchsatz großer Mengen Algensuspension verlangsamt. Die Dichtsetzung von Filterflächen wurde im Laufe des Anlagenbaus als limitierend für die Größe von Produktionsbatches identifiziert, weswegen eine Negierungsstrategie für eine Hochskalierung über die Pilotanlage hinaus unabdingbar ist.

Der Phasenabscheider ermöglicht zudem die Integration einer zweiten, kontinuierlichen Fällung, bei der konstant Chitosanlösung in eine der Fällkammern gepumpt wird. Dies erhöht die Reinheit marginal und ermöglicht gegebenenfalls die Vereinigung von Fäll – und Phasenabscheidungsprozess in größeren Systemen. Die Funktionsweise des hier eingesetzten Phasenabscheiders ähnelt in Klärwerken eingesetzten Systemen. Die Flüssigkeit mit Schwebestoffen wird in eine Kammer gepumpt, bis sie in die nächste Kammer überfließt. Schwerere Stoffe, wie im Kontext der hier beschriebenen Anlage Restbiomasse mit Chitosan, sammeln sich an den Kammerböden, da die Leichtere Flüssigkeit, in diesem Fall CPC Lösung, leichter nach oben steigt und in die nächste Kammer überführt wird. Je mehr Kammern eingesetzt wurden, desto besser war der Trenneffekt. Für die hier vorgenommene Skalierung wurden 4 Kammern als geeignet identifiziert, wobei der Einsatz von zusätzlichen Kammern bei einer weiteren Hochskalierung zu empfehlen ist.

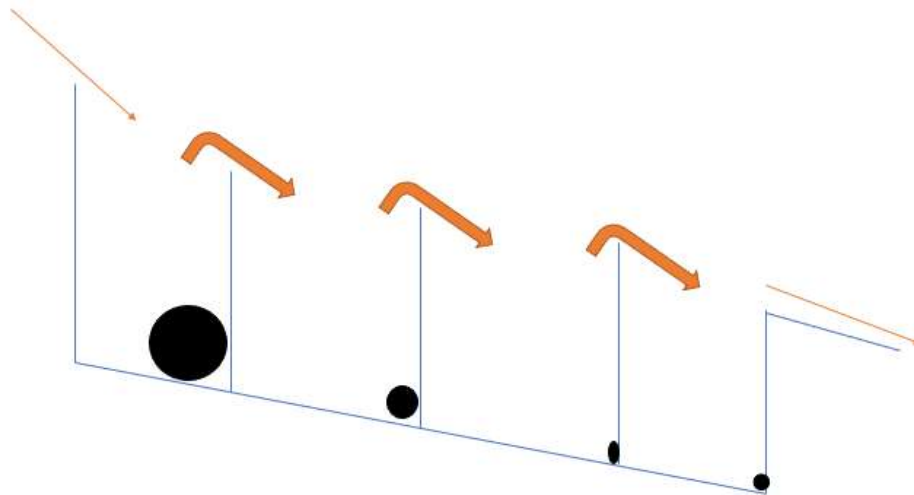


ABBILDUNG 11: PRINZIP DES VERWENDETEN KAMMERPHASENABSCHIEDERS

Flüssigkeitsverlauf ist orange und die Restmassenansammlung Schwarz dargestellt.

Die Filterung erfolgt durch Edelstahlfilter mit 200µm, 50µm und 10µm Maschenweite und Unterdruck. Hier ist anzumerken, dass eine Filterung mit 50µm Maschenweite die gleiche Reinheit erzeugt wie solche mit niedrigeren Maschenweiten, es im Extrakt aber zu einer Klumpenbildung kommen kann, welche das Endprodukt weniger ansprechend machen würde. Diese ist durch den 10 µm Filter verringert, während der 200 µm Filter die Kapazität des Systems erhöht, da größere Klumpen früher entfernt werden und somit die engmaschigeren Filter nicht dichtsetzen. Der Einsatz vom 10µm Filter limitiert oft die durchsetzbare Batch - Größe, weswegen ein Verzicht hier abhängig vom Zielmarkt vorteilhaft sein kann. Ferner kommt es durch den Einsatz vom Phasenabscheider ohne Filter oft zu ähnlichen Reinheiten, was für den Bau einer größeren Anlage interessante Konzeptionsmöglichkeiten bietet. Wir raten trotzdem zur Integration zumindest eines Filters, um schwimmende Flocken im Produkt zu vermeiden.

Die Pufferung erfolgte durch hochkonzentrierten Phosphatpuffer, der in der Unterdruckflasche vorgelegt wurde. Sie erfolgte unproblematisch, wobei anzumerken ist, dass die Werte für die CPC Konzentration durch die Pufferzugabe erniedrigt wurden.

TABELLE 5: TABELLARISCHE ÜBERSICHT DES PILOT – EXTRAKTIONSPROZESSES

Für eine weitere Hochskalierung untersuchte Alternationen sind nicht genannt

Schritt Nr.	Prozessschritt	Bauteile	Werte
0	Übertragung von Lösung	Laborpumpen	Flussgeschwindigkeiten zwischen 0,1 und 9 L/h
1	Sammlung von Algenlg in Vorgefäß	50L Topf	-
2	Desintegration in Gefäß mit kleinem Volumen	Ultraschalldesintegrator, Ultraschall – Durchflussskammer, 500 ml Gefäß	Ein = Ausflussrate = 1 L/h Flussrate zur Ultraschallkammer = 9 L/h
3	Fällung	Rührer, 10 L Gefäß	50 rpm Rührgeschwindigkeit, 1% w/w Chitosanlösung (10% Chitosanflocken in Wasser, pH 2,75 mit Zitronensäure)
4	Phasenabscheidung / Fällung	Phasenabscheider mit 4 Kammern	0,5 L/h chitosan, 5 L/h Lösung von Schritt 3
5	Filtrierung	200 µm, 50 µm und 10 µm Filtermesh Konische Filtersäule Vakuumflasche Vakuumpumpe	-
6	Pufferung	-	1M PBS Puffer bei pH 6; 10 - 50% Puffer in Algensuspension

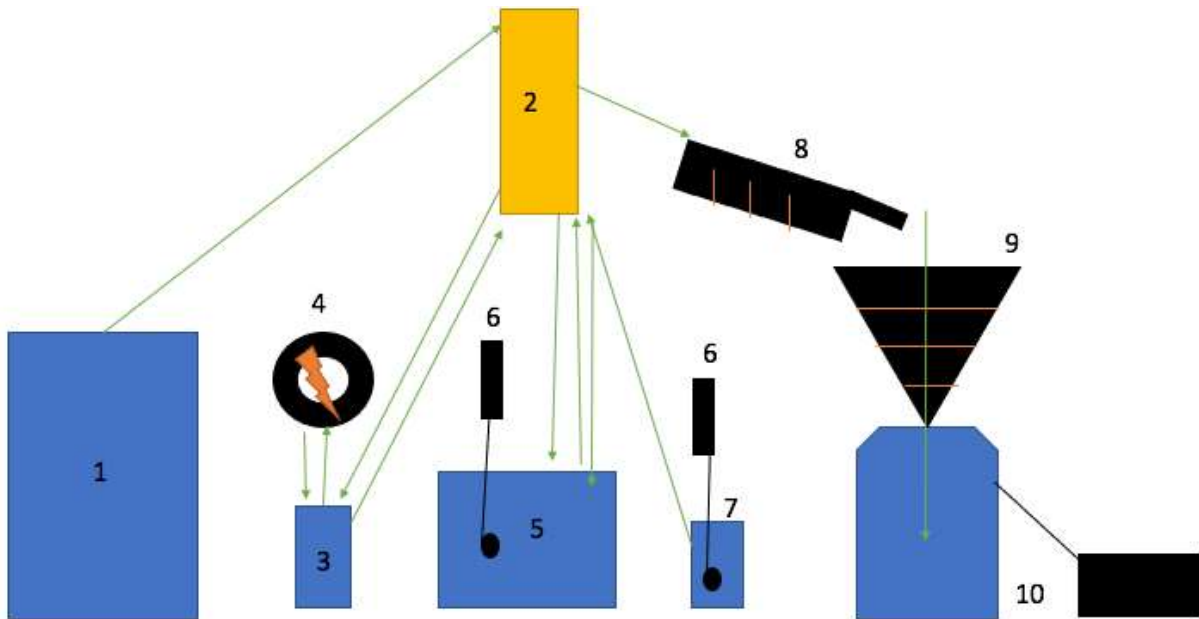


ABBILDUNG 12: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER AUFGEBAUTEN EXTRAKTIONSANLAGE

(1): Vorgefäß (2): Schlauchpumpen (3): Aufschlussgefäß (4): Ultraschalldesintegrator mit Durchflussskammer (5): Fällgefäß (6): Einstellbare Rührer (7): Chitosangefäß (8): Kammer – Phasenabscheider (9): Konischer Zylinder mit mehreren Filterstufen (10): Unterdruckgefäß mit Vakuumpumpe

Es wurde zudem eine Sterilfiltration mit Vordruck und weiteren 5 µm sowie 0,45 µm Vorfiltrern getestet. Diese setzte sich unabhängig von dem Vorfiltrations- und Phasenabscheideraufbau schnell fest. Nach näheren Gesprächen mit Sachkundigen (Nicole Degenhard (zum Zeitpunkt ihrer Arbeit noch Nachname „Schmahl“), Dr. Theo Fahrendorf) wurde dieser Schritt im Kontext einer Anlage beim Landwirt als zunächst nicht umsetzbar identifiziert.

2.4.1.5 Das produzierte Extrakt ist haltbar gemacht und wirtschaftlich verwertbar

Unser erhaltenes Produkt zeigt eine um den Faktor 1,5 höhere Reinheit und um den Faktor 2 – 3 höhere Konzentration auf, als das solche, welches die Mial zu Projektbeginn aus Frankreich bezog (Tab. 4). Des Weiteren sind die Kosten der hier beschriebenen Extraktion vermutlich deutlich niedriger, da bereits bei einem Preis pro VPE (enthält 20 Ampullen a 10ml) von 10€/VPE rentabel auf Größe der Pilotanlage gewirtschaftet werden kann. Der Mial wurden zum damaligem Zeitpunkt ein Preis von 20€/VPE angeboten, sprich doppelt so hoch.

Da wir unser Produkt im Rahmen des Projektes trotz intensiver Auseinandersetzung nicht im skalierbaren Maße steril filtrieren konnten, musste es anderweitig haltbar gemacht werden. Auch Gespräche zu diesem Thema bestätigten, dass selbst Lohnhersteller kaum zu finden waren, die die Sterilfiltration hätten übernehmen können. Daher erfolgten hier zunächst durch die Mial und anschließend durch die Roval in Kooperation mit der Hochschule Bremen Lagerungstests, um Schlüsse auf das Wachstumsverhalten von Mikroorganismen im Produkt, und entsprechend auch die Haltbarkeit, zuzulassen. Diese zeigten Wachstum vor allem bei Raumtemperatur und Licht sowie einem neutralen pH-Wert, während das Wachstum bei einer Kühlschranklagerung eingeschränkt war. Gefriertruhtemperaturen zeigten kein Wachstum (Abb. 13). Eine Kühlschranklagerung wurde hier also als hilfreich identifiziert. Initialbelastungen lagen zwischen zunächst 40.000 und nach fortschreitender Anlagenverbesserung 4.000 Koloniebildenden Einheiten (KbE) pro Milliliter und sind somit marktfähig. Die Rohware getrockneter Spirulina wird vergleichsweise dazu bei einer KbE von maximal 100.000 verkauft und stellt hier bereits die obere Spitze des Marktumfeldes dar.

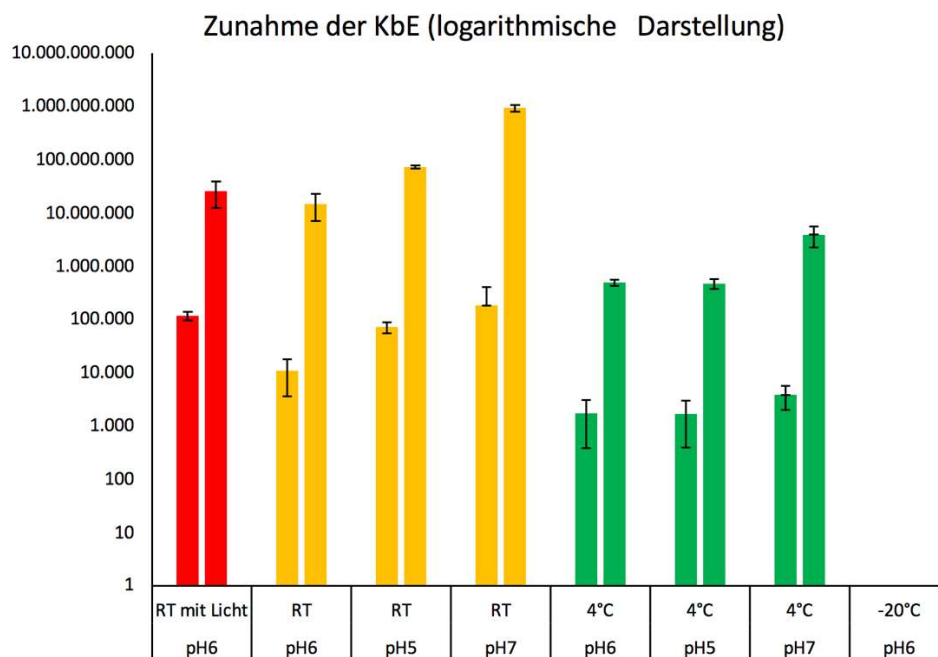


ABBILDUNG 13: ZUNAHME DER KEIMBELASTUNG IM CPC EXTRAKT BEI VERSCHIEDENEN LAGERBEDINGEN NACH 3 UND ZWISCHEN 3 UND 6 WOCHEN LAGERUNG

Da hier vor allem Wachstumsraten relevant sind und das absolute Wachstum exponentiell abläuft, sind die Werte logarithmisch dargestellt. So wird besonders die Differenz zwischen Wachstumsraten klar.

Um die Haltbarkeit des Produktes weiter zu erhöhen und ggf. von den Limitationen einer Kühlkette abzukoppeln wurden des weiteren Haltbarkeitsadditive zuerst von der Mial und dann von der Roval getestet. Hier ergab sich, dass Benzoat und Sorbat nicht geeignet sind, da sie erst bei einem niedrigen pH-Wert aktiv werden und das CPC somit chemisch destabilisieren. Somit wurde sich zudem mit Schutzstoffen auseinandergesetzt, die die

Wasserverfügbarkeit in der Probe verringern. Versuche mit 50% handelsüblichen Zucker erreichten hier erfolgreich die Verhinderung von Mikroorganismenwachstum bei erwärmten Bedingungen, welche besonders gut für Wachstum geeignet wären. Langfristige Lagertests in tatsächlichen Bedingungen sind für die Validierung noch vonnöten, doch es ist sehr wahrscheinlich, dass diese eine langfristige Haltbarkeit ergeben werden, da es im gezuckerten Extrakt **kein** nennenswertes Wachstum gab (Abbildung 14), was überaus positiv überraschend war. Die maximale Lagerdauer über mehrere Monate wird daher fortan weiter unabhängig vom Projektende geprüft.

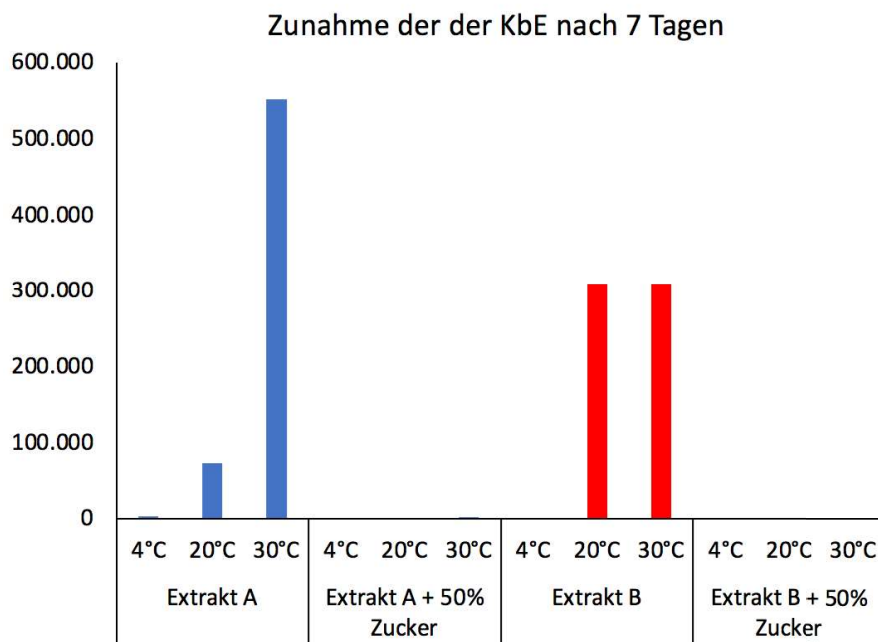


ABBILDUNG 14: ZUNAHME DER KEIMBELASTUNG NACH 7 TAGEN BEI VERSCHIEDENEN LAGERBEDINGUNGEN MIT UND OHNE ZUCKERUNG

Zudem wurden Auswirkungen der vielversprechenden Zuckering auf die CPC Konzentration und Reinheit getestet. Wie zu erwarten war, führte eine Verdünnung der Probe zu einer Abnahme der Konzentration um ca. 25%. Dies kann durch einen kleineren Verdünnungsfaktor im Extraktionsprozess kompensiert werden. Zudem wurde die gemessene Reinheit erniedrigt. Es ist anzumerken, dass es sich hierbei um qualitative Werte handelt und im Laufe der CPC-Produktion leicht abweichende Wertveränderungen möglich sind. Ferner ist die Verringerung der gemessenen Reinheit nicht bedenklich, da sie durch den Zusatz von Reststoffen im verwendeten Zucker und nicht durch eine Verschlechterung der Extraktqualität, also der Verschmutzung durch Restprotein aus Spirulina, bedingt ist. Die Zuckering hat in Bezug auf die Reinheitsstabilität einen protektiven Effekt (Abbildung 15), da sie Mikroorganismenwachstum verhindert.

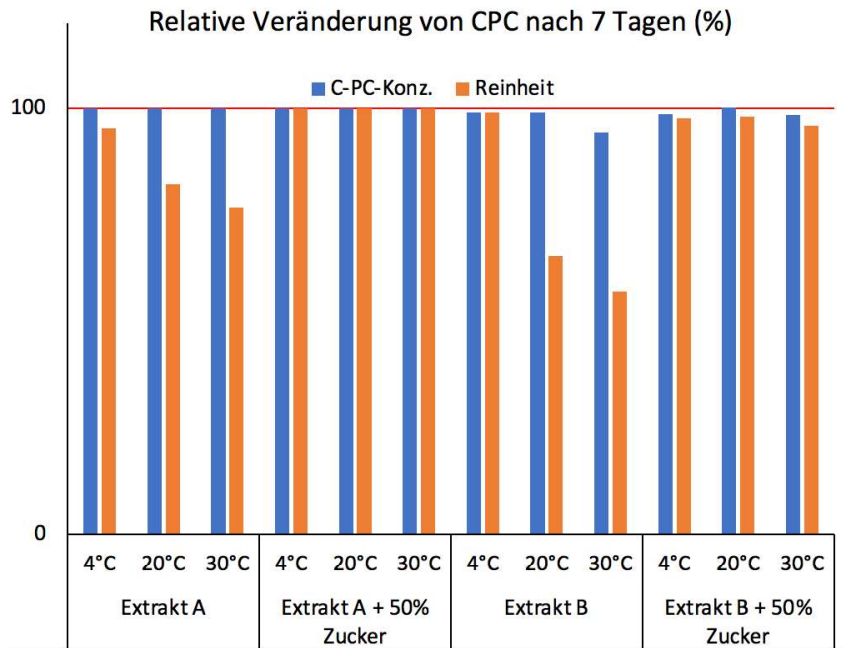


ABBILDUNG 15: RELATIVE VERÄNDERUNG VON C-PC KONZENTRATION UND REINHEIT NACH 7 TAGEN LAGERUNG BEI VERSCHIEDENEN BEDINGUNGEN MIT UND OHNE ZUCKERUNG

Diese Ergebnisse suggerieren ein erfolgreiches Umgehen der Sterilfiltrationsproblematik, da das Produkt trotzdem stabilisiert und somit für einen Transport bzw. eine Lagerung vorbereitet ist.

Tests bezüglich der antiinflammatorischen Aktivität durch Messung eines entzündungsassoziierten Botenstoffes in Zellkultur von CPC aus verschiedenen Quellen zeigen eine erhöhte Aktivität von nativem CPC aus der Flüssigextraktion ohne Trocknung (Tab. 6). Dies bestätigt, dass das hier entwickelte CPC-Extrakt als nutrazeutisches Hochwertprodukt vermarktet werden kann.

TABELLE 6: ANTIINFLAMMATORISCHE WIRKSAMKEIT VON CPC AUS VERSCHIEDENEN QUELLEN

<u>CPC-Quelle</u>	<u>Wirksamkeit (%)</u>
Ofengetrocknete Biomasse	4,7
Gefriergetrocknete Biomasse	35,5
Frische Biomasse (vergleichbar mit unserem Extrakt)	63,8
Sprühgetrocknetes CPC	44,5

Die antiinflammatorische Wirksamkeit der Frischmasseextraktion ist mit Abstand am größten und liegt etwa 50% über dem Sprühtrocknungsverfahren. Dies überraschte uns jedoch und wird weiter geprüft, da Sprühtrocknung eigenen Erkenntnissen nach, ein eher schädliches Verfahren im Umgang mit Spirulina ist.

Nichtsdestotrotz ist mit geringen Investitionsmitteln ein haltbares und sicheres nutrazeutisches Produkt entwickelt worden, welches bis dato nur über geringen Wettbewerb verfügt. Gleichzeitig verlangt die Extraktion eine regelmäßig Überwachung des Prozesses und ist daher sinnvollerweise nun skalierbar, sodass der Arbeitseinsatz in einem passenden Verhältnis zum Ertrag steht. Mit 5.000-10.000€ wäre möglicherweise bereits eine Tagesproduktion von 100 Liter, also eine um den Faktor 10 größere Produktion möglich. Dies entspräche, verglichen mit „Spirulysat“, 10.000 Einzelportionen bzw. 500 Verpackungseinheiten.

2.4.1.5 Wir konnten eine Verwertung von Restmasse als Futterergänzungsmittel ausschließen

Die aus dem Extraktionsprozess der Hochschule Bremen gewonnene Restbiomasse wurde einer ausgiebigen Analyse Mittels Flüssigkeitschromatographie mit anschließender Massenspektrometrie unterzogen. Es zeigt sich ein geringer Gesamtproteinanteil von 2,37% sowie eine fast komplette Abwesenheit einzelner Aminosäuren (siehe Anhang).

Eine Fettsäureanalyse ergab einen gesättigten Fettsäureanteil von 34,6%, einen einfach ungesättigten von 11 % und einen mehrfach ungesättigten von 54,4% (siehe Anhang).

Aufgrund dieser Ergebnisse kam die OG zu dem Schluss, dass die nutritiven Qualitäten der Restbiomasse nicht ausreichen, um sie als Futtermittelzusatz einzusetzen. Folglich konzentrierte sich die Arbeit des AWIs auf die anderen Instrumentalziele.

2.4.1.6 Eine ökologische und wirtschaftliche Bilanzierung ist durchgeführt

Unter Annahme von einer Erntekonzentration von 0,35 g/l, einem Erntevolumen von 5.000 L und einer Aufkonzentrierung auf 10% TS vor der Extraktion errechnen wir pro Extraktion bzw. Pro Produktionseinheit von 10 L Extrakt einen Stromverbrauch von 1497 Wattstunden. Dies gilt für eine Durchführungsweise, bei der alle Prozesse kontinuierlich durchgeführt werden um teure Arbeitszeit zu sparen und stellt somit für den jetzigen Anlagenaufbau einen Maximalwert dar. Er setzt sich wie folgt zusammen:

TABELLE 7: ENERGIEBILANZIERUNG DER PILOTANLAGE

Verbraucher	Leistung (watt)	Gesamtzeitbetrieb (stunden)	Bilanz (wattstunden)
Verbrauch bei der Ernte*	340	2	38,8*
Rührer	40	5	200
Ultraschallgerät	50	5	250
Vakuumpumpe	186	3	558
Laborpumpen	25	18	450
Summe			1496,8

**Da ein Extraktionsdurchlauf bei einem TS gehalt von 10% nur ca 1 kg Biomasse durchsetzen kann, und eine typische Ernte sich auf 17,5 kg beläuft, wurde der Bilanzwert hier durch 17,5 geteilt.*

Ferner ist bei Annahme eines N Gehaltes von 11% und eines P Gehaltes von 1% die Fütterung mit 110g N und 10g P pro 10 L Extrakt nötig. Der Salzverbrauch für die Einstellung eines 1 %igen Salzgehaltes beläuft sich auf 2,86 kg für die gleiche Menge Extrakt.

	Ausfüllbar
	Rechenwerte
TS Algenjoghurt (%)	15
Masse Algenjoghurt (kg)	1
Initialvolumen (l)	12
Volumenverlust (%)	25
Endlösungsvolumen (l)	9
CPC Ertrag (g/l)	0,8
Preis pro 0,4 g/l	30
Endpreis	540
Einheiten	900
VPE	45
€/VPE	450,00 €
Ak/h	5,75
Ansetzen/Vorbereitung	2
Desintegration	0,25
Fällung	0,5
Trennung	1
Säuberung	2
Abfüllung	
Arbeitskosten	172,50 €
Betriebsmittel	5,00 €
Zucker	11,25 €
Verpackung	0,00 €
GuV	261,25 €
GuV p.m.	5.878,13 €
Spirulysat	24,90 €
Konzentration	10mg/10ml

ABBILDUNG 16 GuV KALKULATION DER PILOTANLAGE

Die Abfüllung ist zu Projektende noch unklar, ob diese tatsächlich direkt beim Landwirt erfolgen sollte. Hier sind bei den anvisierten Portionen und der kleinen Volumenzahl je Einzelverpackung eher Spezialmaschinen von Nöten, die wohl kaum unter 15.000€ zu erhalten sind. Aktuell wird daher angestrebt einen Lohnabfüller zu beauftragen, der entsprechend in 10L Einheiten das Flüssigextrakt erhält.

2.4.2 Abweichung zwischen Planung und Ergebnis

Die originäre Projektlaufzeit war von Januar 2020 bis Juni 2022 angesetzt. Die Coronapandemie hat zu erheblichen Verzögerungen geführt, weswegen eine Verlängerung der Projektlaufzeit bis April 2023 nötig war.

Aufgrund von internen Auflagen und allgemeinen Verordnungen, die ein Infektionsrisiko mit dem neuartigen Corona Virus minimieren sollten, wurden zunächst vor Allem die Laborarbeiten durch das Alfred Wegener Institut und die Hochschule Bremen in den Jahren 2020 und 2021 verlangsamt. Sie wurden zwar erfolgreich abgeschlossen, doch da sie grundlegend für den späteren Projektverlauf waren, verspätete sich die Behandlung der Arbeitspakete der Roval und Mial entsprechend ebenfalls. Zudem verkürzte sich der Zeitraum, in dem eine Anlagenoptimierung möglich war, weiter durch Lieferschwierigkeiten von Bauteilen, die auf die globale Lieferkettensituation Ende 2021 bis Mitte 2022 zurückzuführen sind.

Die Arbeitsweise wurde angeglichen, indem für den Anlagenbau relevante Etappenziele wie etwa ein großer Aufschlussgrad oder Massenverlust bei der Fällung definiert wurden und Versuche mit dem Ziel einer Teilloptimierung erfolgten. Dies erlaubte das produktive Nutzen von verlorener Zeit, war letztendlich aber nicht gleich zielführend wie die Optimierung die erfolgen konnte, nachdem die Anlage den gesamten Extraktionsprozess durchführen konnte. Wie die erhaltenen Ergebnisse zeigen, konnte der Extraktionsprozess trotzdem erfolgreich skaliert werden.

Durch diese Zeitverluste resultierte ebenfalls, dass die Wertschöpfungskette nicht über mehrere Jahreszeiten in einem Langzeitbetrieb stattfinden konnte, wie zunächst angestrebt. Eine Optimierung des skalierten Extraktionsprozesses erfolgte bis in das Jahr 2023.

Während des Anlagenbaus wurde zudem deutlich, dass eine skalierbare Sterilfiltration im Kontext des Projektes nicht möglich bzw. sinnvoll war. Diese Erkenntnis entstand zunächst durch bei der Roval durchgeführte Anpassungen der Restmassentrennung, die zeigten, dass keine Veränderung zu einem langsameren Dichtsetzen von kleinen Sterilfilterspritzen führte. Auch ein Sterilfiltersystem mit größerer Oberfläche setzte sich schnell dicht. Diese Anpassungen bestanden aus Veränderungen der Fällungsparameter (Chitosankonzentration und Bearbeitungszeit), der Integration von mehr Kammern im Phasenabscheiderprozess und der Integration von zusätzlichen engmaschigen Vorfiltern (<5 µm). Es wurde zudem Rücksprache mit der sachkundigen Wissenschaftlerin Nicole Degenhard (zum Zeitpunkt der ihrer Arbeit noch Nicole Schmahl) gehalten, welche die informierte Vermutung nahe legte, dass eine Sterilfiltration ohne einen deutlich größeren Investitionsaufwand nicht integrierbar ist. Um trotzdem ein marktfähiges, haltbares Produkt herzustellen wurde eine Zuckering des Extraktes als geeignet identifiziert (siehe 2.4.1), was diese Problematik für die Etablierung einer neuen Wertschöpfungskette umgeht.

Zu Projektbeginn wurde davon ausgegangen, dass die durch den Extraktionsprozess erzeugte Restbiomasse als Futterergänzungsmittel dienen kann. Nach näherer Analyse der Restbiomasse wurde klar, dass dies aufgrund von mangelnden nutritiven Qualitäten nicht der Fall ist. Die Wertschöpfungskette ist nicht hiervon abhängig und aufgrund der problemlos zersetzbaren Natur der Restbiomasse fallen keine wirtschaftlichen oder umweltbelastenden Umstände an.

Die Mial konnte keine geeigneten bioaktiven Stoffe identifizieren, die zu einer Potenzierung (und nicht nur Addition) von den durch das CPC Extrakt vermittelten Gesundheitsvorteile geführt hätten. Folglich bietet sich zwar aus Marketingperspektive an weitere Vitamine und/oder Mineralstoffe beizumengen, diese wären aber dadurch nicht von besserer Wirksamkeit geprägt.

2.4.3. Projektverlauf

Die Licht – und Medienversuche des AWIs wurden durch Kultivierung von Spirulina in Reagenzgläsern mit unterschiedlichen Beleuchtungen durchgeführt.

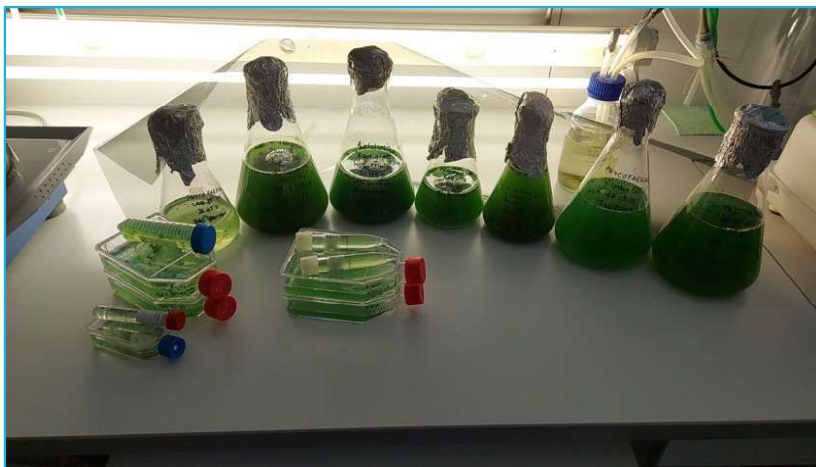




ABBILDUNG 17: MEDIEN UND LICHTVERSUCHE DES AWIS

Die Kultivierung bei der Roval erfolgte in den Hauseigenen Raceway-ponds.



ABBILDUNG 18: RACEWAY POND DER GROßSKALIERTEN SPIRULINAPRODUKTION FÜR DIE CPC AUSGANGSMASSE

Die Extraktion im Pilotprozess erfolgte im Gewächshaus der Roval und erfuhr mehrere Anpassungen. Zunächst wurde hier der Zellaufschluss erprobt, anschließend die Fällung, daraufhin die Trennung und der holistische Aufbau.





ABBILDUNG 19: TEILSCHRITTE DER PILOTANLAGE

Von oben Links nach unten Rechts: Fällung, Lösungsübertragung, Zellaufschluss mit Vorgefäß und Desintegrator, Abpumpen der Chitosanbehandelten Lösung



ABBILDUNG 20: GESAMTE IM KONTINUIERLICHEN ANSATZ LAUFENDE EXTRAKTIONSANLAGE

Die Entwicklung dieses Extraktionsprozesses erfolgte im Labormaßstab.

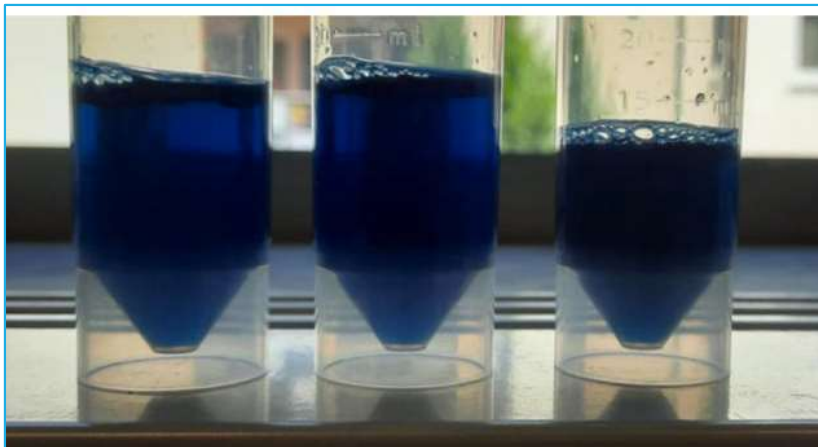


ABBILDUNG 21: EXTRAKTIONSAUFBAU UND PRODUKT DES LABORANSATZES

2.4.4 Beitrag des Ergebnisses zu förderpolitischen EIP – Themen

Durch das Umsetzen des Projektes konnte die Validität einer neuen Wertschöpfungskette bewiesen werden. Dies kann vor allem die Wettbewerbsfähigkeit der Mikroalgenbranche steigern, da eine sehr starke Aufwertung von Spirulina Biomasse zu CPC-Extrakt stattfindet. Es ist eine robuste Grundlage für Landwirte geschaffen, die nach einem neuen Standbein suchen. Dies ist äußerst zukunftsrelevant, da der CPC-Markt wächst und die Produktion ohne nennenswerte Umweltbelastungen stattfinden kann. Das Aufzeigen von CPC-Produktion als mögliches Geschäftsmodell trägt dazu bei, dass Mikroalgenproduzenten den klimatischen Standortnachteil umgehen und einen Markt mit potentiell großen Gewinnspannen bedienen können.

Im Laufe des Projektes wurden bei den Mitgliedern OG durch den interdisziplinären Austausch zwischen Forschern und Betriebs – und Landwirten große Mengen an spezialisierter Expertise aufgebaut worden. Diese erfährt im Rahmen des Projektes eine Verbreitung mit Fokus auf den Niedersächsischen Raum, um hier einen Wettbewerbsvorteil herzustellen. Vor allem die Roval wird hier innerhalb der deutschen Algenbranche Ansprechpartner sein.

Insbesondere die vergleichsweise einfache Handhabung der Pilotanlage und die mit größter Sorgfalt auf Investitionskosten betriebene Geräteauswahl, sind in Gänze auf die Landwirtschaft angelegt und stehen exemplarisch für das hohe Maß an Praxisnähe mit direkter wirtschaftlicher Umsetzung.

2.4.5 Nebenergebnisse

Eine Fütterung der Spirulina mit Glucose erzeugte eine geringer ausgeprägte Spirulina – Färbung. Dies ist vermutlich der Fall, da Spirulina bei Glucosepräsenz eine heterotrophe Ernährungsweise eingehen kann (die Glucose also der Umgebung aufnehmen kann) und dementsprechend weniger Photosynthese betreibt. Somit werden weniger Farbpigmente gebildet, welche in der Photosynthese involviert sind.

Dies könnte denkbarerweise zu der Entwicklung eines differenzierten Spirulinaproduktes führen. Beispielsweise könnten diese leichter überfärbt und dementsprechend in Fleischersatzprodukten Verwendung finden, ohne dass das Produkt blau – grünlich wirkt.

2.4.6 Arbeiten die zu keiner Lösung bzw. keinem Ergebnis geführt haben

Es erfolgten keine Arbeiten, die zu keiner Lösung oder Erkenntnisgewinnen geführt haben. Dies ist nicht überraschend, da bei der Bearbeitung einer neu konzipierten Wertschöpfungskette so viele Unbekannte vorliegen, dass quasi jedes Ergebnis zu ihrer Etablierung beiträgt, insofern die Ergebnisse gedeutet werden können. Die Sterilfiltration wurde zwar in geplanter Form so nicht umgesetzt, doch ihre Identifikation als problematischer Schritt hat die zentrale Aufgabenstellung voran gebracht. Ähnlich erfolgte keine Veredelung der CPC-Lösung mit anderen bioaktiven Stoffen.

2.4.7 mögliche weitere Verwendung von Investitionsgütern

Da für Laborarbeiten lediglich Verbrauchsgegenstände wie Reagenzien angeschafft wurden und bestehende Gerätschaften in der nächsten Ausbaustufe der Extraktionsanlage nur bedingt Anwendung finden dürften, ist keine weitere Verwendung von Investitionsgütern vorgesehen. Aufgrund der bedeutsamen Aufwertungsmöglichkeiten des Prozesses halten wir dies momentan für unwahrscheinlich.

Dies gilt in gleicher Weise für das AWI und die Mial, da lediglich Verbrauchsgegenstände angeschafft wurden.

2.5 Nutzen der Ergebnisse für die Praxis – Sind verwertbare / nutzbare Empfehlungen, Produkte, Verfahren oder Technologien entstanden?

Die hier erarbeiteten Ergebnisse können in der Praxis vor allem von Algenzüchtern verwendet werden, die selbst ein Interesse an dem Aufbau einer CPC-Produktion haben. Unmittelbar sind hier vor allem die Erfahrungen und Daten zur getesteten Pilotanlage relevant, da sie aufzeigen, wie das im Kontext des Projektes entwickelte, neuartige Produkt durch den Landwirt herzustellen ist. Sie ermöglichen es interessierten Betrieben, ihre eigenen Anlagen auf einer robusten Datenbasis umzusetzen oder die beschriebene Anlage nachzubauen und anzupassen. Dies führt praktisch fast direkt zu der Ermöglichung einer neuen Wertschöpfungsweise, wobei anzumerken ist, dass eine weitere Hochskalierung und höheres Investitionsbudget höchstwahrscheinlich zu einer größeren Produktionseffizienz führen würden.

In diesem Kontext hat die OG die praktischen Erfahrungen gemacht, dass besonders der Zellaufschluss und die Abtrennung von Restprotein kritische Punkte für den skalierten, potentiell praktisch verwendeten Extraktionsprozess darstellen. Hier ist mit besonderer Vorsicht und unter Berücksichtigung von einem durchzuführenden Optimierungsprozess zu planen, da der Zellaufschluss geschwindigkeitsbestimmend und die Trennung sowohl geschwindigkeitsbestimmend als auch kapazitäts- und qualitätsbestimmend wirken. Die Fällung mit Chitosan wurde gepulst als effektiver identifiziert als kontinuierlich.

Die Ergebnisse zu CPC können auch außerhalb einer auf Extraktion aufgebauten Wertschöpfungskette Anwendung finden. Mit einer Vergrößerung des CPC-Marktes und der Kundennachfrage ist die Vermarktung von Algenprodukten wie z.B. getrockneten Pellets mit besonders hohem CPC-Gehalt denkbar. Da das Verhalten dieses Hochwertstoffes hier beispielsweise bezüglich Haltbarkeit, Thermostabilität, antiinflammatorischer Aktivität und seiner Produktion in der Zelle untersucht wurde, ist in diesem Kontext eine Anpassung von bestehenden Spirulinaproduktionen denkbar. Diese könnte darauf abzielen, die CPC-Gehalte und Wirksamkeit in bereits etablierten Algenprodukten zu optimieren, um einen Mehrwert und ggf. einen Aufpreis zu generieren. Ein Beispiel wäre die Integration eines schonenderen Trocknungsschrittes, um CPC nicht zu denaturieren, oder den Austausch dieses Schrittes mit einer Zuckering zur Herstellung von Haltbarkeit, um das CPC möglichst nativ zu halten.

Ergebnisse bezüglich des Wachstumsverhaltens von verschiedenen Spirulinastämmen in unterschiedlichen Medien zeigen ein sehr hohes Maß an Produktionseffizienz seitens der Roval. Die Integration von ähnlichen NPK Düngern mit Eisensupplementaion könnte auch für andere Kultivierungsunternehmen Vorteile in der praktischen Produktion bieten. Zudem ist aufgrund der unterschiedlichen Wachstumsgeschwindigkeiten und CPC-Gehalte von unterschiedlichen Stämmen die Durchführung einer Stammselektion für Mikroalgenzüchter zu empfehlen, insofern dies möglich ist. Sie sollte in jedem Fall an die spezifischen Produktionsbedingungen der Betriebe angepasst sein.

Für die Verbesserung des Trennschrittes der Anlage wurde im Projekt eine miniaturisierte Version eines Kammerphasenabscheiders entworfen, der schwere und leichte Partikel sortiert. Er funktionierte gut und es ist denkbar, dass dieses in der Mikroalgenzucht allgemein eingesetzt werden kann, um beispielsweise Verklumpungen in Produktionsbecken abzutrennen.

2.6 (Geplante) Verwertung und Nutzung der Ergebnisse

Der Hauptnutzen der erhaltenen Ergebnisse liegt in der Informierung des Aufbaus einer wirtschaftlich orientierten Produktion von CPC-Extrakt. Mikroalgenzüchtern wird potentiell ein möglicher klimafreundlicher und lukrativer Betriebszweig eröffnet. Die hier geschaffenen Wissensgrundlagen können ferner einen Entwicklungsvorsprung darstellen, wenn der Anreiz für eine CPC-Produktion durch eine Preisänderung weiter steigen sollte. Sie ermöglichen zudem den fast unmittelbaren Aufbau einer funktionalen Extraktionsanlage mit der Skalierung der hier beschriebenen Pilotanlage (Batch – Durchsatz von ca. 10kg Algensuspension bei 1,25% Trockenmasse) und somit bereits jetzt ein Einsteigen von Mikroalgenproduzenten in den CPC-Markt. Wir empfehlen dies interessierten Betrieben ausdrücklich vor dem Aufbau einer größer skalierten Anlage, um Erfahrungen mit dem Prozess und dem Markt sammeln zu können. Wir können erste Aussagen zur Wirtschaftlichkeit des Prozesses treffen, um eine Entscheidungsgrundlage für einzelne Betriebe zu liefern, ob sie eine Umsetzung bei sich für sinnvoll erachten.

Ferner ermöglichen die von der OG erarbeiteten Erfahrungen das Aussprechen von Empfehlungen für die weitere Steigerung der Extraktionseffizienz (Tab. 8), welche nach der ersten Etablierung von Mikroalgenproduzenten im CPC-Markt von ihnen als sinnvolle Investition angesehen werden könnte. Zudem wird entsprechend der verbauten Teile hier auch eine weitere Hochskalierung möglich. Die Verarbeitung von durch mehrere Mikroalgenproduzenten produzierten Biomasse in einer genossenschaftlich organisierten Zentralanlage ist hier denkbar, um die Extraktion möglichst kosteneffizient zu gestalten, ohne durch die Produktionskapazitäten oder Investitionsgrenzen eines einzelnen Betriebes limitiert zu sein.

TABELLE 8: EMPFOHLENE GERÄTSCHAFTEN FÜR DEN BAU EINER WEITERENTWICKELTEN EXTRAKTIONSANLAGE

Extraktionseffizienz und Durchsatz können voraussichtlich erhöht werden

<u>Prozessschritt</u>	<u>Gerätschaften</u>	<u>Rational</u>
Übertragung	Schläuche und Schlauchpumpen	Billig, flexibel aufbaubar
	Zentrale, computergestützte Pumpensteuerung	Kopplung mit Sensorik führt zu Reproduzierbarkeit
Zellaufschluss	Hochdruckhomogenisator	Großtechnisch erprobt, produktschonend
Fällung	pH Monitoring System	Gleichbleibender Fällungs - pH
	Reaktionskammern	Anmischung Chitosan und Vermischung mit Prozesslösung
	Zentrale, computergestützte Rührersteuerung	Leichte Anpassung von Fällparametern
Trennung	Zentrifuge	Großtechnisch erprobt und effektiv, Leicht anpassbar
	Phasenabscheider	Billig und relativ effektiv
	Filtersystem mit Vordruck	Schonender als Sogfiltration
	Crossflow Filtersystem	Verhindert dichtsetzen
Pufferung und Zuckering	Mixkammer mit Rührer	Sicherstellung von gleichbleibendem Produkt
	pH Monitoring System	Sicherstellung des Produkt pHs

Bei einer Weiterentwicklung über den hier etablierten Pilotprozess hinaus empfehlen wir die Implementation einer zentralen Computersteuerung aller einstellbarer Gerätschaften wie Pumpen, Rührern usw. Zudem ist eine geeignete Prozess Sensorik unabdingbar, um Daten zu durchgeführten Extraktionsprozessen sammeln zu können und computergesteuerte Gerätschaften optimal einzustellen. So kann beispielsweise der pH der Gesamtlösung während der Vermischung im Fällungsschritt durch eine Kopplung von pH Sensorik und Pumpe konstant gehalten und so optimale Bedingungen ermittelt und hergestellt werden.

Für die Desintegration der Spirulina – Zellwand empfehlen wir den Einsatz eines Hochdruckhomogenisators. Die von uns verwendete Ultraschall-desintegration ist langsam und führt wie ein mechanischer Ultra Turrax bei höheren Aufschlussgeschwindigkeiten zu Temperaturerhöhung, was für das ab ca. 55 – 60 Grad Celsius thermoinstabile CPC Produkt verheerend ist und somit faktisch die Aufschlussgeschwindigkeit limitiert, was den Durchsatz einer großen Anlage stark limitieren würde.

Die Fällung sollte nach Pumpen von aufgeschlossener Zellsuspension in einer abgeschlossenen Reaktionskammer mit Rührer erfolgen, in die ebenfalls separat sauer aktivierte Chitosanlösung gepumpt wird. Unsere Versuche zeigten, dass hier Ruhephasen ohne Durchmischung und mit anschließendem Weiterpumpen integriert werden sollten, damit Klumpen aus Chitosan und Restprotein nicht durch konstantes Rühren mechanisch zerstört werden, was die Trennungseffizienz verringert. Mittels integrierter Computersteuerung wäre dies sehr genau und reproduzierbar zu variieren und kann zu einem bedeutenden Anstieg der Fällungseffizienz führen.

Im Anschluss empfehlen wir die Integration einer Zentrifuge, in der Partikel ihrer Masse nach abgetrennt werden können. So können schwere, gefällte Chitosanpartikel vergleichsweise schnell von der Lösung gesondert werden. Da die Drehzahl hier anpassbar ist, liegt zudem eine Flexibilität je nach gewolltem Produkt vor. Es sollte ein Kammer – Phasenabscheider integriert werden, da dieser unaufwändig umzusetzen ist und die Pilotanlage maßgeblich verbessert hat. Je nach Ziel – Produkt sind daraufhin verschiedene Filterstufen denkbar. Wir empfehlen bei feineren Filtermaschen den Einsatz einer Crossflow – Filtration, um das Dichtsetzen der Anlage hinaus zu zögern.

Die gefilterte CPC Lösung sollte direkt in eine Vermischungskammer eingeführt werden, wo ein stabiler pH bei ca. 5,5-6 und ein Zuckeranteil von 45% eingestellt wird, was durch die Kopplung von pH – und Lösungspegelsensorik mit Pumpen für hochkonzentrierte Zuckerlösung und Phosphatpuffer reproduzierbar durchführbar ist. Hier sollte allerdings auch eine manuelle Anmischung genügen.

Die hier beschriebenen Empfehlungen sind durch Erkenntnisse informiert, die allmählich während der Anlagenoptimierung beim Standort der Roval entstanden sind. Die Roval hat vor, diese für weitere Extraktionsansätze und ihre Entwicklung des Prozesses über das Projekt hinaus langfristig umzusetzen.

Da die Ergebnisse dieses Projektes vor allem als Etablierungsgrundlage einer neuen CPC-Wertschöpfungskette für Mikroalgenzüchter genutzt werden sollen, ist eine angemessene Verbreitung essentiell.

2.7 Wirtschaftliche und wissenschaftliche Anschlussfähigkeit – Gibt es weitergehende (wissenschaftliche) Fragestellungen aus den Projektergebnissen, die zukünftig zu bearbeiten sind?

Aufgrund der Neuartigkeit des behandelten Prozesses sowie der deutschen Mikroalgenbranche allgemein bestehen forthin Fragestellungen, deren Bearbeitung zur weiteren Solidifizierung einer CPC-Wertschöpfungskette beitragen.

Die Integration und Testung von präziser Sensorik in den Langzeitbetrieb der Extraktionsanlage kann weitere Zusammenhänge offenbaren und den Prozess weiter verbessern. Er sollte bei ersten wirtschaftlichen Umsetzungen durchgeführt werden.

Die unter 2.6 beschriebenen Empfehlungen zur Hochskalierung sind zwar fundiert, doch bei der Umsetzung eines solchen Ansatzes sind weiter empirisch Daten zu sammeln und entsprechende Anpassungen vorzunehmen, da Geräteanpassungen die Extraktionsumstände verändern. Beispielsweise könnte ein veränderter Aufschlussprozess, bei dem Spirulinazellen statistisch gesehen mehr Zellwanddisruptionen erleiden und so zu kleineren Bruchstücken zerfallen, die optimalen Fällparameter ändern.

Weiter ist eine ausführliche Testung von Biomassenlagerung vor der Extraktion in Bezug auf die Auswirkungen auf das erhaltene Extrakt sinnvoll. So kann beispielsweise ermittelt werden, ob die Extraktqualität durch einen Biomassentransport zu einer zentralen Extraktionsanlage gefährdet wird.

Während der Spirulinakultivierung war anfangs bei der Kultivierung mit Weißlicht und später mit Rotlicht ein höher CPC Gehalt ausmachbar (Abb. 3). Es ist somit möglich, dass ein Lichtregime mit zunächst Weißlicht und einem späten Umsteigen auf Rotlicht den CPC Gehalt maximieren könnte. Dies wäre bei Interesse empirisch zu testen, wenn andere Stellschrauben bereits optimiert sind.

Die wissenschaftliche Evidenz für die Gesundheitsvorteile von CPC ist zwar solide, doch gesundheitliche humane Langzeitstudien könnten dazu beitragen, den genauen Vorteil des CPC-Extraktes noch näher zu definieren und ein öffentliches Bewusstsein zu schaffen, was sich in erhöhter Nachfrage widerspiegeln könnte. Im gleichen Zuge könnte weitere Vermarktungsarbeit stattfinden, um optimale Wege zu finden, Phycocyanin an den Endverbraucher zu leiten.

2.8 Kommunikations- und Disseminationskonzept

Die Verbreitung der hier gesammelten Ergebnisse und Erkenntnisse ist zentral, damit der niedersächsische Algenkultivierungssektor von der durchgeführten Arbeit profitieren kann.

Hierfür wurde eine Website erstellt, um ein einfaches Zugreifen zu ermöglichen. Zudem wird über landwirtschaftliche Magazine wie die Land & Forst aufmerksam gemacht. Weitere Öffentlichkeitsarbeit beinhaltete eine Präsentation durch Maarten Heins bei einem Treffen des EIP Netzwerkes im Rahmen der innovate-Convention in Osnabrück.

Es erfolgten Touren der Produktionsanlage der Roval, die ebenfalls den Bau der Extraktionsanlage zeigten. Die Roval wird dies vor allem auch für interessierte Landwirte und Mikroalgenproduzenten mit besonderem Augenmerk auf die Durchführung des Extraktionsprozesses durchführen und die im Kontext dieses Projektes ermittelten Erfahrungen so genau wie möglich vermitteln.

Anhang

Protein / Aminosäurezusammensetzung der Restmasse

Werte wurden mittels LC-MS/MS (also Flüssigkeitschromatographie mit danach in Reihe geschalteten Massenspektrometern) ermittelt.

Parameter	Massenanteil in der Restbiomasse (%)
Asparaginsäure	0,23
Threonin	0,12
Serin	0,12
Glutaminsäure	0,34
Prolin	0,1
Glycin	0,13
Alanin	0,19
Valin	0,16
Metionin	0,06
Isoleucin	0,14
Leucin	0,23
Tyrosin	0,11
Phenylalanin	0,12
Ornithin	Nicht nachweisbar
Gamma Aminobuttersäure	Nicht nachweisbar
Lysin	0,12
Histidin	0,04
Arginin	0,16
Taurin	Nicht nachweisbar
Hydroxy Prolin	Nicht nachweisbar
Cystein	Nicht nachweisbar
Hydroxy Lysin	Nicht nachweisbar
Tryptophan	Nicht nachweisbar

Summe Aminosäuren

2,37

Chemisch/physikalische Untersuchungen

Parameter	Befund	Einheit	Methode
Aminosäure	siehe Tabelle		
Tryptophan	siehe Tabelle		
Fettsäuren, GC *			
(Angaben am Anteil im Gesamtfett in Flächenprozent berechnet als Methylester)	.		Hausmethode PV 207 2018-05; in Anlehnung an DFG C-VI 10a (00)*
gesättigte Fettsäuren	34,6	%	
Palmitinsäure (16:0)	28,6	%	
Margarinsäure (17:0)	0,4	%	
Stearinsäure (18:0)	5,6	%	
einfach ungesättigte Fettsäuren	11,0	%	
Palmitoleinsäure (16:1)	7,0	%	
Heptadecensäure (17:1)	0,2	%	
Ölsäure (18:1) n9	1,4	%	
Eicosensäure (20:1) n9	2,4	%	
mehrfach ungesättigte Fettsäuren	54,4	%	
Linolsäure (18:2) n6	18,7	%	
gamma-Linolensäure (18:3) n6	34,0	%	
Eicosadiensäure (20:2)	0,2	%	
Eicosatriensäure 20:3 n6	1,1	%	
Dokosadiensäure (22:2)	0,2	%	
Dokosahexaensäure (DHA) (22:6) n3	0,2	%	

Parameter	Methode	Einheit	Ergebnis	Bestimmungsgrenze
Aminosäuren (gesamt)				
Asparaginsäure	LC-MS/MS	g/100g	0,23	0,02
Threonin	LC-MS/MS	g/100g	0,12	0,02
Serin	LC-MS/MS	g/100g	0,12	0,02
Glutaminsäure	LC-MS/MS	g/100g	0,34	0,02
Prolin	LC-MS/MS	g/100g	0,10	0,02
Glycin	LC-MS/MS	g/100g	0,13	0,02
Alanin	LC-MS/MS	g/100g	0,19	0,02

Valin	LC-MS/MS	g/100g	0,16	0,02
Methionin, ber. aus Methioninsulfon	LC-MS/MS	g/100g	0,06	0,02
Isoleucin	LC-MS/MS	g/100g	0,14	0,02
Leucin	LC-MS/MS	g/100g	0,23	0,02
Tyrosin	LC-MS/MS	g/100g	0,11	0,02
Phenylalanin	LC-MS/MS	g/100g	0,12	0,02
Ornithin	LC-MS/MS	g/100g	< 0,02	0,02
Gamma Aminobuttersäure	LC-MS/MS	g/100g	< 0,02	0,02
Lysin	LC-MS/MS	g/100g	0,12	0,02
Histidin	LC-MS/MS	g/100g	0,04	0,02
Arginin	LC-MS/MS	g/100g	0,16	0,02
Taurin	LC-MS/MS	g/100g	< 0,02	0,02
Hydroxy- Prolin	LC-MS/MS	g/100g	< 0,02	0,02
Cyst(e)in, ber. aus Cysteinsäure	LC-MS/MS	g/100g	< 0,02	0,02
Hydroxy-Lysin	LC-MS/MS	g/100g	< 0,02	0,02
Tryptophan	LC-MS/MS	g/100 g	< 0,02	0,02
Summe Aminosäuren	berechnet	g/100g	2,37	