

# **Schrittweise Umsetzung eines Bioraffineriekonzeptes vom *up-* zum *downstream* mit dem Protisten *Euglena gracilis***

*D. Cholewa, P. Grimm, J.M. Risse, E. Flaschel*

*Universität Bielefeld, Technische Fakultät, Arbeitsgruppe Fermentationstechnik*

*Postfach 100 131, D-33501 Bielefeld*

In Bezug auf die Anforderungen künftiger Bioraffineriekonzepte wird eine viel Nachhaltigkeit und mehr Nutzen gefordert. Hierzu zählt nicht nur die kommerzielle Verwendung eines Großteils der nachwachsenden Quelle als Endprodukt, sondern auch eine Entwicklung ganzheitlicher und ressourcenschonender verfahrenstechnischer Prozesse beim *up-* und *downstream*.

Sofern recyclebare oder der Nachhaltigkeit zweckdienliche Substrate wie Wasser, Sonnenenergie und kohlenstoffdioxidhaltige Rauchgase oder Rohglycerin und Brachland zur Verfügung stehen, bietet sich als Lösung die Gewinnung phototropher Algenbiomasse an. Als Produktionsorganismus kann eine osmotolerante Zelle die Möglichkeit der Kultivierung bei sauren oder alkalischen pH-Werten bieten und so einen axenischen Zustand einer großen Kultur fördern. Weiterhin ist die Wahl großer phototropher Einzeller von Vorteil, um eine energiearme Ernte großer Volumina beispielsweise durch Sedimentation zu gewährleisten. Die Möglichkeit eines photoheterotrophen Wachstums bietet die Option, unproduktive Nacht-/Dunkelphasen zu kompensieren. Zuletzt sollte beim Produktionsorganismus ein Großteil der Zelle als kommerziell verwendbare/s Endprodukt/e kostengünstig erschließbar sein.

Aus dem Reich der Protisten trifft *Euglena gracilis* die oben genannten Kriterien, welcher sowohl pflanzliche als auch tierische Wachstumszüge aufweisen kann. Die Kultivierung kann bei einem pH < 3,0 bei einem schlichten Nährmedium erfolgen, was den axenischen Zustand der Kultur fördert. Ebenfalls kann die Sanitisierung von Photobioreaktoren einfach umgesetzt werden. Bei einer Länge der Zellen von rund 50 µm ist eine Ernte durch Sedimentation möglich und eröffnet damit eine energiearme Konzentration der Biomasse im Vergleich zu vielen wesentlich kleineren Mikroalgen. Die potentiellen Produkte sind in verschiedenen Kompartimenten lokalisiert und können nacheinander isoliert werden. Hierzu zählen  $\alpha$ -Tocopherol mit mehr als 1 mg g<sup>-1</sup> und Lipide/Fettsäuren mit 15 bis 20 % (w/w) Anteil, welche sich in der lipophilen Phase der Zelle befinden. Weiterhin kann Paramylon, ein  $\beta$ -1,3-Glucan, mit rund 20 % (w/w) Anteil als wasserunlösliches Granula isoliert werden. Weitere Integrationsschritte der einzelnen Prozessstufen stehen bevor.

---

# The Efficiency of Microalgae and their Suitability as Biodiesel Feedstock

Robert Dillschneider, Rosa Rosello-Sastre, Clemens Posten,  
Karlsruhe Institute of Technology, Karlsruhe/Germany

The drawback of first generation biofuel feedstocks was recently demonstrated when competition on the food and energy market for the agricultural primary production gave rise to increasing prices for basic foods. By contrast, phototrophic mass cultivation of oleaginous microalgae for second generation biodiesel does not compete with food production due to its independence from the availability of arable land. Strongest support for photobiotechnology, however, is the high efficiency with regard to the conversion of incident solar light energy to microalgal biomass. Most oleaginous algae strains attain highest lipid contents under nutrient deficiency. Under such stress conditions cells cannot undergo cell division but accumulate storage molecules, mainly triacylglycerides. Little is known about the effect of a nutrient limitation on the photoconversion efficiency (PCE). Yet, the latter is expected to decrease at these non-optimal growth conditions. So far technology assessment models rely on estimated parameters describing the efficiency, but experimental verification is indispensable to promote the transition of this novel technology to the industrial scale.

In batch experiments with *Phaeodactylum tricornutum* we could induce lipid accumulation by a targeted nitrogen limitation. With an improved Nile red quantification method the productivity of lipids was determined. It was constant during a period of several days before it decreased in aging cultures. Moreover, the energy content of biomass varied considerably with the progression of storage molecule accumulation. This was accounted for by analysis of calorific data from cultures with differing lipid contents. Together with spectral data of the LED light source these data allowed for accurate calculation of PCE. High efficiency could be attained in our experiments. Hence, microalgal lipids can be considered as a promising source of biodiesel feedstock. Moreover, the influence of nitrogen availability on PCE was evaluated in batch cultures. To a certain degree increasing nutrient availability resulted in higher productivity and process efficiency. Nutrient availability was thereby identified as an important optimization parameter of process development to attain economically feasible lipid production.

# **Produktion von extrazellulären polymeren Substanzen mit terrestrischen Cyanobakterien im emersen Photobioreaktor**

*S. Kuhne<sup>1</sup>, K. Muffler<sup>1</sup>, M. Lakatos<sup>2</sup>, R. Ulber<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Lehrgebiet für Bioverfahrenstechnik, TU Kaiserslautern, D-67663 Kaiserslautern*

*<sup>2</sup>Experimentelle Ökologie, TU Kaiserslautern, D-67663 Kaiserslautern*

Zur Produktion von biotechnologischen Wertstoffen kommen Mikroalgen in jüngster Zeit immer stärker in den Fokus der Forschung. Verwendung finden dabei vor allem aquatische Stämme bei der Produktion von Biokraftstoffen und in der Nahrungsmittelindustrie. Zudem wurde die Bildung einer Reihe von biologisch aktiven Stoffen beschrieben, die sich für das pharmakologische Hochpreissegment der Biotechnologie eignen. Auf der Seite der terrestrischen Cyanobakterien zählen hierzu unter anderem Cryptophycin, sowie die antiviralen Wirkstoffe Cyanovirin-N & Scytovirin und Scytonemin. Auch Bestandteile der extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) sind von großem pharmakologischem Interesse, wobei besonders Heteropolysaccharide zu nennen sind, die nachweislich sowohl eine anti-koagulierende- als auch eine antivirale Wirkung haben [1].

Photobioreaktoren für die Kultivierung von Mikroalgen und Cyanobakterien variieren stark in ihrem Aufbau und ihren Spezifikationen. Allen Reaktoren gemein ist dabei, dass sie ausschließlich für submerse Fermentationen geeignet sind. Im Rahmen eines DFG-Projektes (UL 170/7-1 und LA 1426/9-1) wird derzeit ein Photobioreaktor entwickelt, mit dem es möglich ist, phototrophe, aerophile Organismen auch emers (luftexponiert) zu kultivieren und so bestimmte Stoffwechselfvorgänge gezielt zu steuern. Untersucht werden vor allem terrestrische Cyanobakterien, da diese aufgrund ihres Sekundärmetabolit-Spektrums ein großes biotechnologisches Potential besitzen.

Vorgestellt wird im Rahmen des Beitrages, neben einer kurzen Darstellung des Konzeptes des emersen Photobioreaktors, vor allem das Screening geeigneter Cyanobakterien und die gezielte Produktion extrazellulärer polymerer Substanzen, sowie der darin ggfs. enthaltenen Heteropolysaccharide. Dabei wird der Fokus auf die Optimierung der EPS-Produktion und deren Analytik gerichtet. Zudem werden Vor- und Nachteile im Vergleich mit bereits etablierten Systemen beschrieben.

[1] Smit, A. J. (2004). "Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: A review." *Journal of Applied Phycology* **16**(4): 245-262

## **Solar Biofuels Research Centre (SBRC) – Research platform for algae bioreactors in Australia**

*Sven Steinbusch, Rosa Rosello Sastre, Clemens Posten,  
Karlsruher Institut für Technologie, Karlsruhe/Deutschland*

The growing demand of petrochemical raw materials has an increasing effect on the global climate and economy so that industry and research has to develop novel solutions. Microalgae with their photosynthetic efficiency and their ability for carbon dioxide fixation are interested as a climate neutral energy source. Besides they are regarded as a supplier of several organic high value products, e.g. pigments or fatty acids. Although several industrial applications for microalgae products are established, the commercial exploitation for biofuels and low value products are still delayed by the energy balance and process costs.

In an international and interdisciplinary consortium of academic and industrial partners the Solar Biofuels Research Centre (SBRC, [www.solarbiofuels.org/sbrc/](http://www.solarbiofuels.org/sbrc/)) was established to improve the potential of the photobiotechnology. Microalgae simultaneously are cultivated in open and closed reactor systems, like open ponds, flat-panels and tubular bioreactors, as well as our own reactors designs. This concept of a parallel operation allows for direct comparison of the different designs under same outdoor conditions. The pilot plant provides furthermore elaborate on-line and off-line analytics to benchmark the reactors with focus on productivity, kinetics and ecological efficiency. Important aspects of our work include the optimization of light distribution and productivity as well as the minimization of energy input, e.g. for cooling or pumping. In addition, the location Brisbane with its sun rich and subtropical climate and the plant structure creates conditions that are close to industrial production facilities. Moreover, newly screened local microalgae strains with more tolerant properties, e.g. of high temperature and sun irradiation, are tested to increase the product yields and to make the process more economical. The collected data and experience of the direct comparison of the design and process parameters contribute to process control optimization and development of optimized bioreactor designs.

In summary, the main target of this international and interdisciplinary project is the development of sustainable high efficiency microalgae production systems for fuel, food and high value products.