

Commercial Production of Carotenoids by Microalgae

Sammy Boussiba

Microalgal Biotechnology Laboratory, Blaustein Institutes for Desert Research, Ben-Gurion University of the Negev, Sede-Boqer Campus, 84990 Israel

The potential of microalgal biotechnology to yield a vast array of products including foodstuffs, industrial chemicals (lipids...), compounds with therapeutic potency and bioremediation solutions, has long been recognized. Two major products have been commercialized so far: carotenoids and poly-unsaturated fatty acids. This presentation will focus on natural carotenoids produced by photosynthetic microalgae.

Carotenoids are responsible for many colors appearing in animals, plants and micro-organisms, and play a major protecting function in photosynthesis. Naturally occurring carotenoids are of commercial interest as coloring agents for food, pharmaceuticals, cosmetics and animal feed. Due to their antioxidant properties, some carotenoids have been proposed for utilization in the prevention of chronic diseases, and thus are commercially produced by total chemical synthesis by conglomerate companies (DSM, BASF).

Today, mainly β -carotene from *Dunaleilla* is produced commercially, consumed mostly by food industry for coloring, but also as a potent antioxidant and pro-vitamin A molecule.

In recent years, commercial production of astaxanthin from the green microalga *Haematococcus* has been launched by few companies. This ketocarotenoid is used mainly to color salmon flesh with a turn over rate of ca 200MUSD. This pigment, produced today by *Haematococcus*, is sold mainly to the nutraceutical market as a strong antioxidant with a high tag price due to its high cost of production. Attempts are carried out to reduce this cost so as to compete the synthetic product used in the aquaculture market.

Cloning of most of the carotenoid biosynthesis genes and elucidation of their biosynthesis pathway will enable, via biotechnological tools, production of new algal strains expressing new and effective carotenoid derivatives. Microalgal biotechnology today confronts the challenge to develop cheaper and efficient production of these new molecules at an attractive price competing synthetic analogs.

β -carotene from *Dunaliella*: qualities, origin and production

Uri Pick

Department of Biological Chemistry, The Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel

The halotolerant alga *Dunaliella bardawil* is recognized as the richest natural source for β -carotene (β C). The special values of this species are that it can be cultured in open raceways with little danger of contaminations and that it is the only species that can accumulate a carotenoid to 10% of its weight. β C from *Dunaliella* is composed of two isomers, *all-trans* and *9-cis*, which are the two forms of β C that humans need. β C is the major pro-vitamin A for humans and gives rise to *11-cis* retinal, our visual pigment and to *9-cis* and to *all-trans* retinoic acids, which control energy metabolism and cell differentiation, the probable reasons for its potential in prevention against degenerative diseases. Natural β C is utilized primarily as health food, as additive to foods and drinks and in cosmetics and its market sales exceeds 250 million \$. Being a halotolerant organism, *Dunaliella* can be commercially cultivated in high salt media in open raceways and in natural lagoons in Australia, Hawaii, China and in Israel.

D. bardawil accumulates β C under high light or nitrogen deprivation and the function of the pigment is to protect the photosynthetic system against photoinhibition stress. β C is localized in small lipid bodies (globules), within the chloroplast consisting of β C and of triglycerides.

In our recent work we tried to clarify the origin of β C lipid globules and to find out the metabolic pathway leading to biosynthesis of *9-cis* and *all-trans* β C. Towards this aim we have isolated these β C globules as well as another type of lipid droplet that accumulates in the cytoplasm, and analyzed their lipid, pigment and protein compositions. These analyzes, combined with detailed electron microscopic studies, have shown that β C globules bud-off from the cytoplasmic oil droplets, which originate in the endoplasmic reticulum. We identified within the β C globules all the enzymes needed for biosynthesis of *9-cis* and *all-trans* β C, which clarifies their complete biosynthetic pathway.

The value of these results and their potential to extend the pigments and lipid products of *D. bardawil* will be discussed.

Herstellung von „Tailor-Made“ Fischfutter für die Aquakultur

Jae-Young Yun, Stephanie Geier, Andreas Perlick, Rainer Buchholz

Universität Erlangen Nürnberg

Die Nachfrage nach Fisch als Lebensmittel allgemein und nach Salzwasserfisch im Besonderen steigt nun schon seit längerem so dramatisch, dass die äußerst negativen ökologischen Auswirkungen auf den Lebensraum Meer nicht mehr akzeptabel erscheinen. Alle Bemühungen, mit Fangquoten die relevanten Fischbestände wieder zu regenerieren, sind vollständig gescheitert, selbst eine Annäherung an nachhaltige Nutzungskonzepte lässt sich nicht beobachten. Erschien die Aquakultur, also die industrielle Fischzucht, zunächst als eine hervorragende Alternative mit dem hohen Potential, die Meerespopulationen zu entlasten und ganz allgemein ökologisch zu sein, so ist inzwischen klar geworden, dass dieses Konzept den Hoffnungen nicht gerecht wird. Antibiotikagaben belasten den Konsumenten, die Zuchtgewässer werden erheblich durch die Fischexkremete belastet. Vor allem aber werden große Mengen Fischmehl und Fischöl für die Zucht gebraucht. Da beides aus Beifang der Fischerei produziert wird, wächst somit die Belastung der natürlichen Fischpopulationen, statt sie zu entlasten. Inzwischen ist schon abzusehen, dass der Bedarf der Aquakultur an Fischmehl und -öl bald nicht mehr zu decken sein wird.

Pflanzliche Proteine, vor allem in Soja- und Leguminosenmehl, können zumindest teilweise als Ersatz für Fischmehl eingesetzt werden. Dies ist jedoch nur bis 40-60% Anteil erfolgreich. Darüber hinaus müssen bestimmte Aminosäuren zugesetzt werden, um Mangelercheinungen zu vermeiden. Eine besondere Bedeutung haben darüber hinaus ungesättigte Fettsäuren, die in Pflanzenmehlen nicht in ausreichender Menge vorhanden sind. Sie werden bisher durch Fischöl zugesetzt. Um auch diese Abhängigkeit vom Fischfang abzubauen, wurden Mikroalgen als Futtersubstitut charakterisiert. Mikroalgen sind hervorragende Produzenten von ungesättigten Fettsäuren. Auch die in Fischen vorkommenden Fettsäuren werden überwiegend in der Nahrungskette aufgenommen, wobei Algen als Primärproduzenten gelten. Es liegt deshalb nahe, pflanzliche Futterkomponenten durch Aminosäuren und Algen (*Chlorella*, *Spirulina*, *Haematococcus*) mit hohem Fettsäuregehalt zu supplementieren.

Für die Mikroalge *Schizochytrium* SR21 wurde ein Produktionsprozess entwickelt, um ökonomisch sinnvoll Algenbiomasse als Futtermitteladditiv zu produzieren. Dabei stellt sich als Grundproblem, dass für die Vermehrung der Algen andere Bedingungen benötigt werden als für die Produktion der Fettsäuren. Wird also ein Aspekt begünstigt, wirkt sich das automatisch negativ auf den anderen aus. Eine fein eingestellte Balance wäre als Kompromiss möglich, würde aber für beide Aspekte suboptimale Bedingungen liefern. Die ökonomisch sinnvolle Lösung stellt ein zweistufiges Kultivierungsverfahren dar. In der ersten Reaktorstufe werden Bedingungen gewählt, die eine optimale Vermehrung von *Schizochytrium* SR21 gewährleistet, z.B. ein hoher gelöster Sauerstoffgehalt. Kontinuierlich wird die hier produzierte Biomasse in die zweite Stufe transferiert, in dem nun optimale Bedingungen für den Sekundärmetabolismus und damit für die Synthese von Fettsäuren eingestellt sind, z.B. reduzierter Stickstoff- und Sauerstoffgehalt und reduzierte Temperatur. Sobald die Parameter dieses Kombinationsprozesses feinjustiert sind, stellt sich bei optimalen Verdünnungsraten ein Gleichgewicht ein, welches eine optimale kontinuierliche Prozessführung erlaubt. Dabei ergab sich beispielsweise eine Produktivität der ungesättigten Fettsäure Docosahexaensäure von 2 g/L/d bei einer Biomasseproduktivität von 18 g/L/d.

Mikroalgen-Produktion in Photobioreaktoren zur Nahrungsergänzung

Thomas Wencker, IGV GmbH, Nuthetal

Mikroalgen sind wegen ihres in geeigneten Photobioreaktoren herausragenden Wachstumspotenzials Gegenstand vielfältiger Forschungsansätze. So wird nach neuen Verfahren zur Biokraftstoff-Erzeugung gesucht, die nicht in Konkurrenz zur landwirtschaftlichen Nahrungsmittel-Produktion stehen, oder es werden Wege zum Ersatz von aus Ausbeutung von natürlichen oder fossilen Quellen stammenden Stoffen, wie Fischfutter oder Erdöl, gesucht.

Ihren Ursprung hat die Nutzung von Mikroalgen allerdings in der Humanernährung, wobei natürliche Vorkommen an erster Stelle standen. Mit der industriellen Entwicklung der Biotechnologie wurden seit Mitte des 20. Jahrhunderts Technologien entwickelt, die die Verwendung von Mikroalgen unabhängig von den natürlichen Vorkommen machte. Aus dem umfangreichen stofflichen Potenzial heraus – Mikroalgen enthalten beispielsweise einen großen Anteil ungesättigter Fettsäuren – sind diese Einzeller von vornherein für die Nahrungsergänzung interessant gewesen. Die erforderliche Reinheit der entsprechenden Produkte hat zur Entwicklung von geschlossenen technologischen Systemen, den Photobioreaktoren, geführt, in denen die Mikroalgen mit Licht, CO₂ und Nährstoffen versorgt Photosynthese betreiben und damit Biomasse aufbauen können. Anlagen mit auf Glasrohr-Photobioreaktoren basierender Produktion von Mikroalgen für die Nahrungsergänzung stehen in Deutschland beispielsweise in Klötze, Sachsen-Anhalt (Fa. Roquette), und in Ritschenhausen, Thüringen (Fa. Salata GmbH).

Die Nutzung der Algenbiomasse in der Nahrungsergänzung ist neben dem hohen Anteil ungesättigter Fettsäuren auch auf die im Pflanzenreich einmalig hohen Gehalte an Vitamin B12 oder den vollständig enthaltenen für den Menschen essentiellen Aminosäuren zurückzuführen. Die Einflüsse, die die Einnahme von geringen Mengen von Mikroalgen auf Verdauungssystem, Immunsystem und die physische Leistungsfähigkeit bewirken, sind Gegenstand verschiedener erfolgreicher Forschungsansätze gewesen. Funktionelle Produkte mit Mikroalgenzusatz sind heute in Back- und Teigwaren erhältlich.