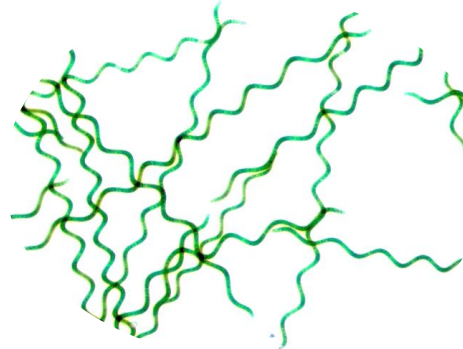


Februar 2021

An die
Landwirtschaftskammer Niedersachsen
Fachgebiet Förderung, Sachgebiet 2.1.1
Mars-la-Tour-Str. 1-13
26121 Oldenburg



PROJEKT-ABSCHLUSSBERICHT

Spirulina

[27603 460 009 0688] [Laufzeit 02/2019-02/2021]

NOVAgreen | Agrinova | RO-V-AL GbR | Christian Hohnholz

Inhalt

1. KURZDARSTELLUNG	3
2. EINGEHENDE DARSTELLUNG.....	7
2.2 Detaillierte Erläuterung der Ausgangssituation Bedarfsanalyse	7
2.3 Zusammenarbeit als OG.....	8
2.4 Ergebnisse des Innovationsprojektes	9
2.4.3 Projektverlauf.....	9
2.4.3.1 Ernteertrag durch morphologische Veränderung von <i>Spirulina</i> beeinträchtigt	9
2.4.3.2 Erntetechnik: Vibrationsfiltersieb, Trommelfilter oder Bandfiltration?	11
2.4.3.3 Biomassetrocknung – Entwicklung von Prozessierungstechnik.....	14
2.4.3.4 Nährstoffoptimierung und Erprobung eines Biodüngers	15
2.4.3.5 Herstellung eines Biodüngers der 2. Generation - Phyto Nr. 2.0	17
2.4.3.6 Variationen im Pond-Design und Temperierung.....	19
2.4.3.7 Kulturmedien-Rezyklierung Überwinterung von Kulturen.....	20
2.4.3.8 Optimierung des Kultursystems: Durchmischungs-/Begasungseinheit	20
2.4.3.9 Prozessoptimierung	21
2.4.4 Beitrag des Ergebnisses zu förderpolitischen EIP-Themen.....	24
2.4.5 Nebenergebnisse.....	25
2.4.5.1 Evaluierungen von Messmethoden zur späteren Automatisierung	25
2.4.5.2 Erstellen eines Qualitätsmanagementkonzeptes auf Basis des HACCP	25
2.4.5.3 Ausarbeitung eines Schulungsprogramms für Primärproduzenten	26
2.4.5.4 Gründung einer Erzeugergenossenschaft.....	26
2.4.6 Arbeiten, die zu keiner Lösung/zu keinem Ergebnis geführt haben	27
2.5 2.6 Nutzen für die Praxis Konzept zur Verwertung der Projektergebnisse	28
2.7 Wirtschaftliche und wissenschaftliche Anschlussfähigkeit.....	28
2.8 Kommunikations- und Disseminationskonzept.....	29
Literaturverzeichnis	30

1. KURZDARSTELLUNG

Projektlaufzeit: Beginn 02/2019 – Ende 02/2021 (2 Jahre)

OG-Mitglieder:

1. NOVAgreen Projektmanagement GmbH
2. Agrinova Projektmanagement GmbH
3. RO-V-AL GbR
4. Gartenbaubetrieb Hohnholz

Projektziel war die Erprobung und Einführung der Mikroalge *Spirulina* als Kultur-„Pflanze“ in der Landwirtschaft und als Nahrungsmittel. Aufgrund der großen und wachsenden Nachfrage der Ernährungsbranche bietet der Anbau von *Spirulina* eine innovative, wettbewerbsfähige Alternative für landwirtschaftliche Betriebe in Niedersachsen und darüber hinaus. Im Rahmen dieses Projektes wurde der Anbau in Betrieben der Urproduktion in Kooperation mit den anderen OG-Mitgliedern erprobt, wissenschaftliche Fragestellungen innerhalb der OG geklärt und anschließend die Lösungen in die Praxis umgesetzt. So entstand eine effiziente Prozesskette mit hoher Wertschöpfung mit Weiterverarbeitungsmöglichkeiten der getrockneten *Spirulina* zu Pulver, Kapseln, Granulat oder Functional Food.

Ausgangssituation & Innovationsgehalt. Bis Projektbeginn erfolgte keine nennenswerte Produktion von *Spirulina* in Deutschland. Einige wenige Unternehmen kultivieren nach eigenen Angaben zwar *Spirulina* (Euspiro GmbH und IGV GmbH), ihre Produktionsflächen sind jedoch sehr gering, die dort vorhandenen Gewächshäuser haben eine geschätzte Grundfläche von weniger als 300 m² und stellen somit keine wirtschaftlichen Produktionseinheiten dar. Die kleineren Gewächshäuser, in denen *Spirulina* im Rahmen dieses Projektes kultiviert wurden, sind 2500 m² groß. So kann *Spirulina* in ökonomisch sinnvollen Quantitäten mit effizientem Einsatz von Arbeitskraft erfolgen. In den Praxisbetrieben waren die verfügbaren Flächen zu etwa gleichen Teilen für *Chlorella* und *Spirulina* angedacht. Besonders innovativ ist die geplante bio-Zertifizierung der *Spirulina*-Produktion, die in Deutschland so noch nicht existiert. Sämtliche bio-*Spirulina* auf dem europäischen Markt werden aus Asien oder den USA importiert. Da die *Chlorella*-Produktion der Agrinova und der Praxisbetriebe RO-V-AL und Hohnholz bereits bio-zertifiziert sind, ist davon auszugehen, dass die bio-Zertifizierung problemlos auf *Spirulina* erweitert werden kann. Sowohl *Chlorella* als auch *Spirulina* haben (neben nur zwei weiteren Mikroalgen) den Status „GRAS“ (generally recognised as safe) der FDA (Food and Drug Administration of the USA) (Enzing et al., 2014).

Spirulina soll nicht – wie bisher in Deutschland – konventionell in kleinen Becken produziert werden, sondern die Produktion soll bio-zertifiziert in deutlich größeren Einheiten erfolgen.

Projektlauf. Bei Beginn des Projektes wurde ein Großteil der Entwicklungsarbeit auf der Algenfarm in Ahlhorn geleistet. Dort erfolgte die technische Entwicklung (betrifft vor allem die Prototypen für die Erntetechnik) durch NOVAgreen. Auch die Starterkulturen wurden dort von Agrinova angezogen, die daraufhin an die RO-V-AL und den Betrieb Hohnholz geliefert wurden. Prototypen für die Ernte- und Trocknungstechnik wurden nach ihrer Fertigstellung in den Praxisbetrieben installiert. Als die ersten *Spirulina*-Kulturen erntereif waren, konnte das Erntesystem dort getestet und optimiert werden. Im späteren Projektverlauf setzte NOVAgreen einen verstärkten Fokus auf Prozessoptimierung und die Entwicklung eines Biodüngers auf Reststoffbasis. Als essenziellen Baustein für die Bewertung des Technologietransfers konnte der Betrieb der Pilotanlagen in den Algenfarmen der Projektpartner über 2 Jahre lang erfolgreich Produktionsdaten zur *Spirulina*-Kultivierung und Verarbeitung sammeln.

Zusammenfassung der Ergebnisse ...

[DEUTSCH] Das Projekt hat gezeigt, dass die Kultivierung samt Verarbeitung von *Spirulina* in Norddeutschland technisch sowie wirtschaftlich machbar und sinnvoll ist. Durch die Erprobung unterschiedlicher Erntetechniken sowie Untersuchungen zu Wachstum und Morphologie von *Spirulina* konnte ein effizientes Bandfilterverfahren zur Ernte der Algen entwickelt werden. Das Wachstum der Mikroalgen konnte außerdem gezielt gesteuert und an die jahreszeitlichen Witterungsbedingungen angepasst werden. Die Beckensysteme zur Aufzucht der Kulturen wurden zur Ertragssteigerung beispielsweise durch modifizierte Begasungseinheiten ergänzt. Ebenfalls konnten erfolgreich Prozesstechnologien zur Biomasseverarbeitung (Containertrocknungsanlage, Spaghetti-Extruder) entwickelt werden, um die feuchte Algenrohmasse in ein lagerfähiges Produkt zur weiteren Veredelung zu verwandeln. Am 27.07.2020 wurde mit der Gründung der Deutschen Algengenossenschaft, kurz DAG, dann das Fundament für eine zukünftige, gemeinsame Vermarktung von *Spirulina* und anderen Algenprodukten aus regionaler Herstellung gelegt. Mit der Kultivierung von *Spirulina* eröffnet sich eine neue Perspektive für Landwirte der Region, welche sich im Sinne des Klimaschutzes

durch große Nachhaltigkeit auszeichnet. Der erfolgreiche Technologietransfer aquatischer, biotechnologischer Prozesse in den landwirtschaftlichen Betrieb zeigt, dass die agrarwirtschaftliche Primärproduktion in Deutschland bereit ist für eine Restrukturierung und Diversifizierung.

[ENGLISH]
Results

The project could demonstrate that the cultivation and processing of *Spirulina* microalgae in Northern Germany is technically possible and economically feasible. Field testings of different harvesting techniques and the analysis of growth and morphology of *Spirulina* led to the development of a highly efficient belt-filter for harvesting algae. The project members also found feasible ways to control and increase growth of *Spirulina*. Technical improvements of the pond culturing process could be established, for example, novel aeration units to maximize the crop. For drying the wet algae and turning it into valuable greenware for further processing, a spaghetti extruder as well as a container drying system were developed. On July 27, 2020, the foundation of the German Algae Cooperative (Deutsche Algengenossenschaft, short DAG) laid basis for trading and marketing *Spirulina* and other locally grown algae products in the future. *Spirulina* cultivation opens new perspectives to local farmers and offers the benefits of a sustainable and climate-friendly production process. The evident success in transferring aquatic, biotechnological processes into agricultural businesses shows that the German agricultural sector is ready for re-structuring and diversification.

Ergänzung zu den Ergebnissen. Bereits im Vorfeld zu den Projektarbeiten wurden anhand von in der Literatur verfügbaren Daten zur Produktivität großtechnischer Anlagen Berechnungen angestellt, um die jährlichen Ernteerträge am Standort einschätzen zu können (Tabelle 1).

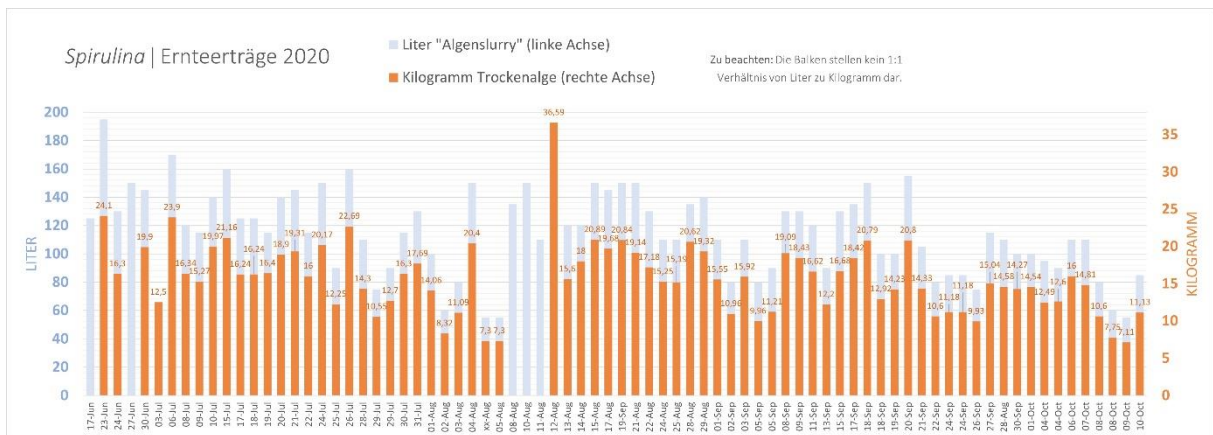
Tabelle 1: Theoretische Umsatzszenarien für eine *Spirulina*-Produktion am Standort Norddeutschland, dargestellt pro Hektar Gewächshausfläche, berechnet auf Basis einer realen Produktionsfläche von 8000 m² und einer durchschnittlichen Produktivität von 5-10 g/m²*Tag.

Szenario I	8000 m ² *10 g/m ² *Tag*125 Tage (Produktionssaison 5 Monate à 25 Tage)	80 kg /Tag entspricht 10 Tonnen /Jahr
	Preis / kg	Saisonaler Umsatz in EUR
	50.-	500 000.-
	35.-	350 000.-

Szenario II	8000 m ² *5 g/m ² *Tag*125 Tage (Produktionssaison 5 Monate à 25 Tage)	40 kg /Tag entspricht 5 Tonnen /Jahr
	Preis / kg	Saisonaler Umsatz in EUR
	50.-	250 000.-
	35.-	175 000.-

Im Projektverlauf konnten dann reale Daten zur Produktivität der *Spirulina*-Herstellung in Norddeutschland gewonnen werden. Untenstehendes Diagramm (Abbildung 1) zeigt beispielhaft die Ernteerträge eines einzelnen Produktionsbetriebes über einen Zeitraum von 5 Monaten. Die zugrundeliegenden Daten stammen aus der Saison 2020. Die Produktivität der im Projekt *Spirulina* betriebenen Pilotanlagen lag (hochgerechnet auf pro Hektarerträge) bei zwischen 4,8 und 6,2 Tonnen pro Hektar Gewächshausfläche. Dies entspricht einem Ernteertrag von 6 bis 7,75 Tonnen pro Hektar tatsächlicher „Anbaufläche“ (Algenbecken netto). Diese Werte entsprechen sehr gut den Erwartungen, sind durch weitere Optimierung der Prozessführung bzw. Automatisierung aber sogar noch steigerungsfähig.

Abbildung 1: Ernteerträge eines einzelnen Produktionsbetriebes über einen Zeitraum von 5 Monaten.



2. EINGEHENDE DARSTELLUNG

Tabelle 2: Abgeschlossene Arbeitspakete der einzelnen Projektpartner. (CM): Change Management

Arbeitspakete	Projektmonate
Agrinova Projektmanagement GmbH	
AP 1 Anzucht und Vorhalten von Starterkultur	17
AP 2 Ermittlung des Nährstoffbedarfs von <i>Spirulina</i>	23
AP 3 Testen verschiedener <i>Spirulina</i> -Stämme auf Psychotoleranz	12
AP 4 Optimierung der Zusammensetzung der Starterkultur	12
NOVAgreen Projektmanagement GmbH	
AP 1 Projektkoordination	24
AP 2 Entwicklung des Ernteprototyps	4 (CM)
AP 2.1 Förderung/Rückführung des Kulturmediums	
AP 2.2 Separation der Algenzellen aus dem Medium	
AP 3 Optimierung der Erntetechnik	4 (CM)
AP 4 Optimierung der Düngerherstellung	6
AP 5 Optimierung des gesamten Produktionsprozesses	5
AP 6 Dissemination der Ergebnisse	15
Praxisbetriebe: RO-V-AL GbR & Gartenbaubetrieb Hohnholz	
AP 1 Inokulation der Kultivierungsbecken	4
AP 2 Vergrößern der Produktionsfläche	4
AP 3 Testen und Modifizieren des Ernteprototyps	6
AP 4 Betrieb & Optimierung der Produktionsanlage	18

2.2 Detaillierte Erläuterung der Ausgangssituation | Bedarfsanalyse

Antragsteller für das Projekt war NOVAgreen. RO-V-AL äußerte gegenüber Agrinova den Wunsch, *Spirulina* als „Kulturpflanze“ in die Produktion aufzunehmen.

Die weltweite Produktion von *Spirulina* findet hauptsächlich in Asien (Indien, China und Taiwan) und den USA statt und beläuft sich, nach verschiedenen Autoren, auf eine Menge ab 5.000 Tonnen pro Jahr (Enzing et al., 2014). Andere Autoren schätzen die jährliche Produktionsmenge auf 12.000 Tonnen pro Jahr. Marktanalysen haben ergeben, dass der *Spirulina*-Markt in den nächsten Jahren um jährlich 10% zulegen wird. (García et al., 2017). Die produzierte Biomasse wird hauptsächlich als Nahrungsmittel verwendet, da *Spirulina* zu den nährstoffreichsten Lebensmitteln überhaupt zählt. Vor allem Personen mit einem ausgeprägten Gesundheitsbewusstsein werden in Zukunft

vermehrt auf *Spirulina* als Nahrungsmittel bzw. in Form eines Nahrungsergänzungsmittels zurückgreifen (Jha et al., 2017; Tang, 2011). Und die Nachfrage nach bio-zertifizierten sowie regional hergestellten Produkten wächst nach wie vor. Bio-zertifizierte *Spirulina* ist im Handel fast ausschließlich aus asiatischer Produktion erhältlich, bio-Produkte aus europäischer oder gar deutscher Herstellung sind nicht erhältlich. Es wird also eine neue Nische besetzt, die vorher gar nicht genutzt wurde. Viele herkömmliche Kulturen geraten durch den Klimawandel unter Druck. *Spirulina* ist im Gewächshaus aber weitgehend unabhängig von Wetterereignissen, besonders warme Perioden wirken sich sogar besonders gut auf die Produktivität von *Spirulina* aus, die zwischen 15 und 40°C kultiviert werden können bei einem Temperaturoptimum von 30 bis 35°C (Sili et al., 2012).

Sowohl auf Seiten der Produzenten als auch auf Seiten der Verbraucher, die *Spirulina* gerne in regionaler bio-Qualität erwerben möchten, ist der Bedarf für eine alternative Kultur zu *Chlorella* vorhanden. *Spirulina* ist auch in anderen Aspekten von *Chlorella* zu unterscheiden, wodurch sie eine echte Alternative darstellt statt eines bloßen Substituts. Zunächst schmeckt *Spirulina* schlichtweg anders als *Chlorella*, wodurch Konsumenten, die *Chlorella* nicht so gerne mögen, angesprochen werden können. Die Zellwand von *Spirulina* besteht aus Proteinen, Kohlenhydraten und Lipiden statt wie bei *Chlorella* aus für den menschlichen Körper unverdaulicher Zellulose (Tang, 2011). Die Bioverfügbarkeit der in *Spirulina* enthaltenen, wertvollen Inhaltsstoffe ist demnach auch ohne eine intensive Vermahlung der getrockneten Biomasse gegeben. Die charakteristische blaue Farbe erhält *Spirulina* durch das Photopigment Phycocyanin, was in Grünalgen wie *Chlorella* nicht enthalten ist. Phycocyanin kann sehr leicht extrahiert werden und ist ein wertvoller natürlicher Farbstoff für die Lebensmittelindustrie, welcher gewinnbringend verkauft werden kann (Chaiklahan et al., 2012). Wirtschaftlich mindestens ebenso vielversprechend sind die antioxidativen, entzündungshemmenden und neuroprotektiven Eigenschaften von Phycocyanin (Bhat and Madyastha, 2000; Romay et al., 1998).

2.3 Zusammenarbeit als OG

Die Notwendigkeit der Zusammenarbeit im Rahmen einer OG zur Erreichung des Projektziels war jedenfalls gegeben. Die OG besteht aus den vier Mitgliedern NOVAgreen Projektmanagement GmbH, Agrinova Projektmanagement GmbH, RO-V-AL GbR und dem Gartenbaubetrieb Christian Hohnholz in Harpstedt. Alle vier Unternehmen arbeiteten schon davor, teilweise seit vielen Jahren, zusammen.

Die Interaktion zwischen den OG-Mitgliedern ermöglichte eine realistische Einschätzung des Technologietransfers von der F&E-Ebene in die Praxis des landwirtschaftlichen Betriebes. Dadurch konnten nicht nur standortspezifische Aspekte (Wasserqualität, Anlagen mit und ohne Beheizung), sondern auch essenzielle Grundlagen zur Schulung zukünftiger Algenproduzenten berücksichtigt werden. Der Einsatz von Prototypen in den Anlagen der OG-Mitglieder wie beispielsweise den von der Firma NOVAgreen gebauten Erntesystemen ermöglichte in sehr effizienter Weise eine Früherkennung von Schwachstellen und potenziellem Verbesserungsbedarf in der Prozessierungstechnik. Im Rahmen der Projektarbeiten wurden mehrere Projekttreffen abgehalten, in denen Erfahrungswerte zur Anwendung der entwickelten Prozesstechnik diskutiert wurden. In diesem Rahmen wurden darüber hinaus Themenstellungen wie zukünftige Vermarktungskonzepte, biologischer oder konventioneller Anbau im Vergleich mit den Attributen „Aus deutscher Produktion“ und „aus der Region“ besprochen. Da die Produktionssaison am Standort Norddeutschland auf 6 produktive Monate eingeschränkt wird, wurde intensiv erörtert, ob eine ganzjährige Produktion von *Spirulina* in Gewächshäusern unter Einbeziehung von Wärme und Elektrizität aus einer betrieblichen Biogasanlage betriebswirtschaftlich durchführbar sei. Ein zukünftiger Austausch zwischen den Partnern der OG ist geplant und zielt primär auf die Erschließung neuer Vermarktungswege ab. Eine verstärkte Zusammenarbeit ist vor allem zwischen den Mitgliedern der Deutschen Algengenossenschaft (DAG) angedacht. Die DAG ist bestrebt, durch die Entwicklung neuer *Spirulina*-haltiger Endprodukte im Bereich Lebensmittel und Futtermittel eine Erhöhung der Wertschöpfung zu erzielen.

Die OG stellt eine Gruppe von Innovatoren dar, die eine neue Kultur-„Pflanze“ etabliert. Die Einführung von *Spirulina* war bei Projektbeginn als sehr risikobehaftet einzustufen und konnte durch die Mitglieder der OG nicht ohne eine Zuwendung erfolgen.

2.4 Ergebnisse des Innovationsprojektes

2.4.3 Projektverlauf

2.4.3.1 Ernteertrag durch morphologische Veränderung von *Spirulina* beeinträchtigt

Im Herbst 2019 konnte in den *Spirulina*-Produktionskulturen erstmalig im Projektverlauf ein biologisches Phänomen beobachtet werden, welches bereits mehrfach in der Literatur beschrieben wurde (Chayasitdhi et al. 2018, Hongstong et al. 2007, Noor et al. 2008, Wang et al. 2005). Die in der Regel helikal gewundenen, spiralförmigen *Spirulina*-Trichome der Produktionskulturen zeigten anfänglich sporadisches und später ein dominantes Auftreten kurzer, gerader Filamente (Abb. 1). Diese Form zeigte veränderte Sedimentationseigenschaften und verringerte bei gleichbleibenden Wachstumsraten die Ernteerträge auf ca. 60%. Grund dafür war, dass die kurzen, geraden

Filamente sich mit den eingesetzten Erntetechniken nicht mehr effizient abernten ließen. Bis zu 40% der Biomasse wurden nicht mehr von den Vibrationssieben zurückgehalten. Darüber hinaus verringerte sich der Trockengewichtsanteil in der geernteten Biomasse zu einem wesentlich flüssigeren Algenslurry (<15% TG), was in weiterer Folge den Trocknungsprozess massiv beeinträchtigte. Anfänglich wurde vermutet, dass dieses Phänomen auf eine durch die verwendete Vibrationsfiltersieb-Erntetechnik verursachte Selektion kleinerer Filamente oder vom regelmäßigen Pumpen ausgeübten mechanischen Stress zurückzuführen war. Neben der Überprüfung möglicher Stressfaktoren wie Licht oder Nährstoffveränderungen wurde versucht die linearen Kulturen im Labor der Agrinova unter kontrollierten Bedingungen zu vermehren, welche eine Reversion in den ursprünglichen helikalen Morphotyp bewirken sollte. Diese Versuche blieben ohne Erfolg. Es konnte allerdings eine Zunahme im Längenwachstum der kurzen Filamente beobachtet werden.

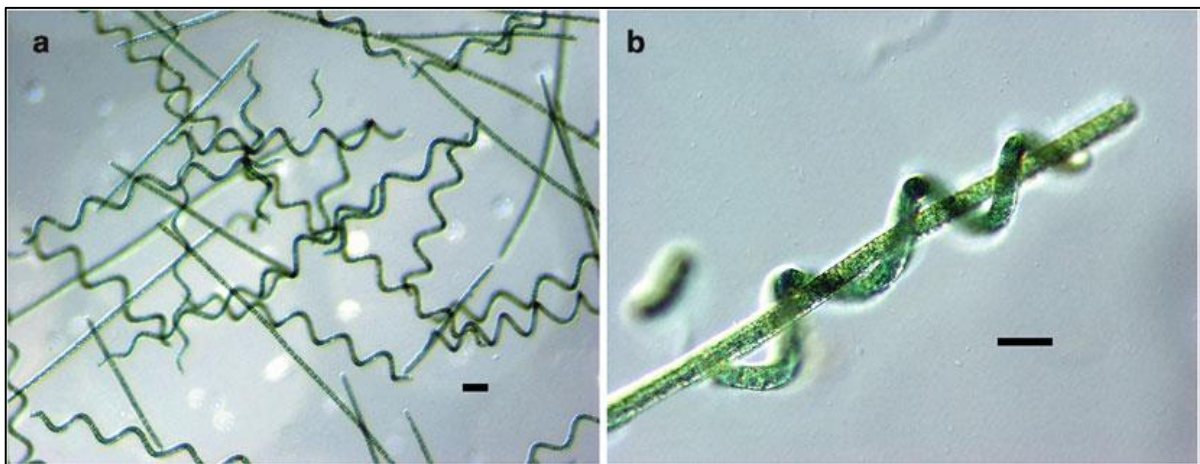


Abbildung 2, a | b: Mikroskopische Aufnahmen von *Spirulina*-Produktionskulturen (sowohl mit spiralförmigen als auch mit geraden Filamenten)

Die NOVAgreen versuchte darauf mit technischen Anpassungen der Vibrationssieb-Erntetechnik zu reagieren. Dazu wurden für den Ernteprozess Vibrationssiebplatten mit Porengrößen von 30, 40, 50, 63, 70, 80, 90 und 100 μm und eine Variation von Vibrationsfrequenz und Neigungswinkel getestet. Die ursprüngliche Ernteeffizienz konnte nicht vollständig durch die technischen Modifikationen der Erntemaschinen wiederhergestellt werden.

Die beschriebenen Ernteeinbußen wurden dann durch zwei verfahrenstechnische Anpassungen verringert bzw. vollständig verhindert.

- 1) Für die Ernte der Biomasse werden wechselweise unterschiedliche Erntetechniken eingesetzt. Neben den bislang verwendeten Vibrationssieben soll ein aktuell von der NOVAgreen entwickelter Bandfilter verwendet werden, welcher in der Lage ist, auch kürzere, gerade Zellfilamente effektiv zu separieren.
- 2) Bei verstärktem Auftreten des geraden Morphotyps wird die kontinuierliche Produktionskultur durch Kompletternte und anschließende Re-Inokulation mittels frischer Kulturen aus der Upscaling-Kaskade der Agrinova erneuert. Dieser Ansatz zeigte sich im Laborversuch als erfolgreich. Für die Umsetzung dieser Verfahrensänderung ist der Einsatz eines Bandfilters (siehe 2.4.3.2) erforderlich, da die bislang eingesetzte Erntetechnik nicht in der Lage ist, eine vollständige Klärung der Kulturen mit verändertem Morphotyp zu bewerkstelligen. Zu diesem Zweck wird 2020 eine mobile Ernteplattform erprobt, welche für alle Projektpartner zur Verfügung steht.

2.4.3.2 Erntetechnik: Vibrationsfiltersieb, Trommelfilter oder Bandfiltration?

Die über eine Saison von allen Projektpartnern getesteten Vibrationsfiltersiebe zeigten anfänglich einige Schwachstellen in der Konstruktion auf. Beispielsweise führte die durch hochfrequente Schwingungen bedingte mechanische Belastung zu Haarrissen und Bruchstellen in den Edelstahlrahmen. Darüber hinaus zeigte die Separationsleistung signifikante Abhängigkeiten von der Durchflussrate der Zufuhrpumpe sowie der Biomassedichte. Im Langzeiteinsatz wurde festgestellt, dass sich die Siebporen bei mangelnder Reinigung durch Kalk oder Mikropartikel zusetzen.

Die genannten Problemstellungen wurden a) durch eine Aufhängung der Vibrationsfilterplatte, b) den Einsatz eines leistungsstärkeren Vibrationsmotors und c) die Implementierung von Reinigungs-SOPs gelöst.

Um neben der Vibrationsfiltertechnik auch über eine alternative Erntetechnik zu verfügen, welche a) wenig Scherkräfte verursacht und b) sehr kurze *Spirulina*-Filamente effektiv separieren kann, wurden zwei Techniken im Experimentalversuch und als Prototyp getestet. In Anlehnung an Gerätschaften, welche in Frankreich vermehrt zum Einsatz kommen, wurde ein Trommelfilter gebaut. Wenngleich dieser grundsätzlich effektiv funktionierte, wies die geerntete Biomasse einen deutlich geringeren Trocken-gewichtsanteil auf und erforderte einen zusätzlichen Prozessschritt (Vakuumfiltration), um die Kriterien für den darauffolgenden Trocknungsprozess sicherzustellen. Auf Basis der genannten Aspekte wurde eine Weiterentwicklung der Trommelfiltertechnologie verworfen. Wesentlich vielversprechender für die spätere großtechnische Nutzung zeigten sich die Vorexperimente zur Ernte von *Spirulina* mittels Bandfilter.

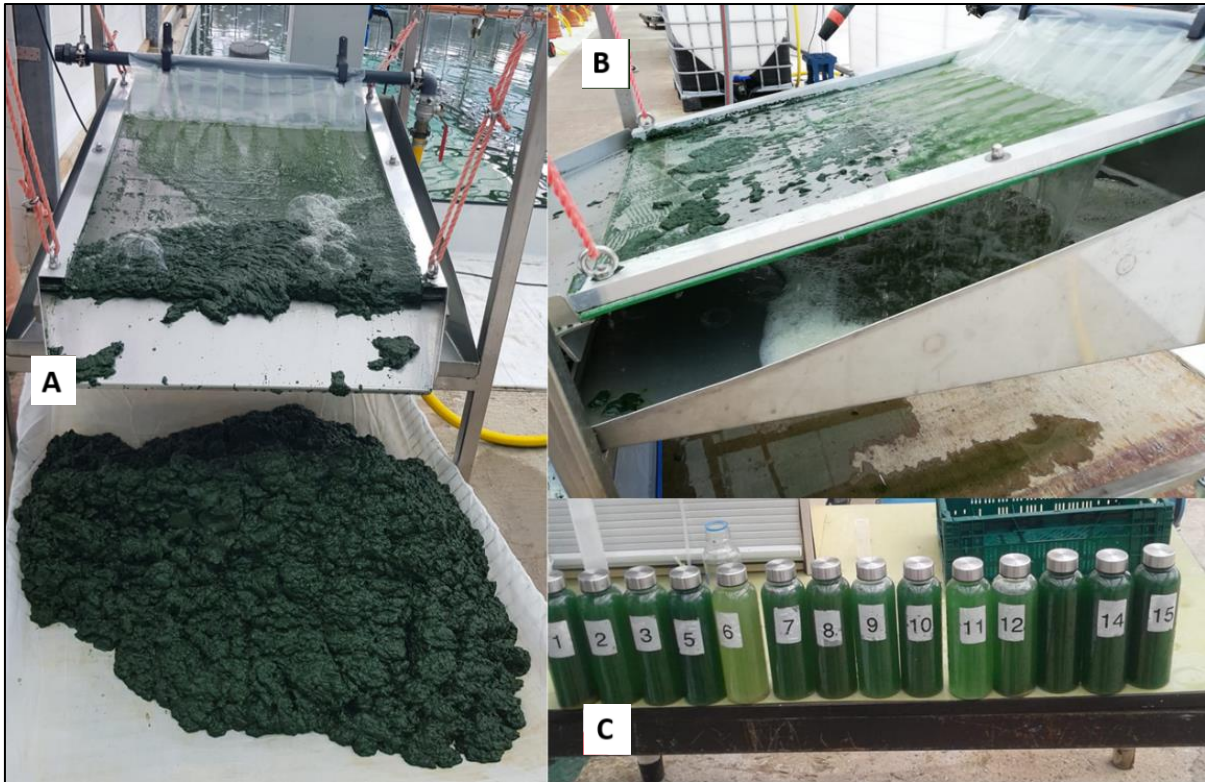


Abbildung 3: Vibrationsfiltersiebe der Firma NOVAgreen zur Ernte von *Spirulina*. **A:** Vibrationserntesieb (Frontalansicht) mit geernteter Biomasse; **B:** Vibrationserntesieb mit der Filtratvorhaltewanne (Seitenansicht); **C:** Darstellung eines einfachen, visuellen Testsystems zur Quantifizierung der Zelldichte in *Spirulina*-Kulturen bzw. im Nährmediennrücklauf nach der Ernte.

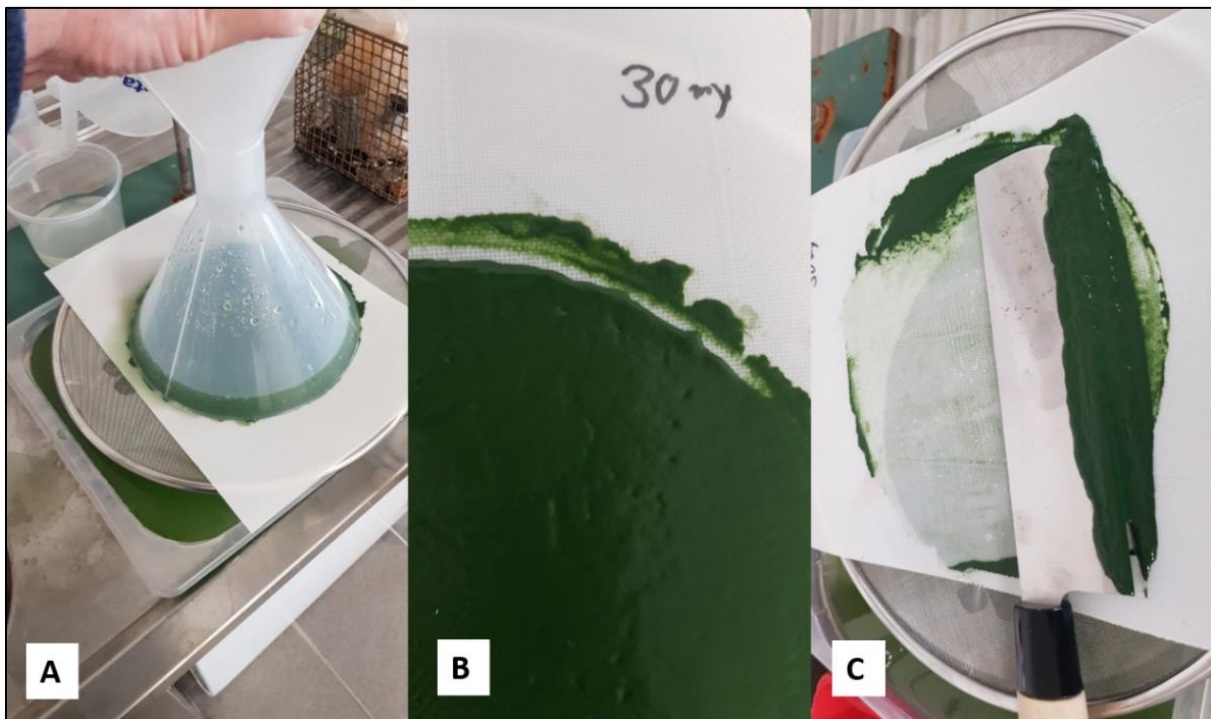


Abbildung 4: Evaluierung von Filtermaterialien für die Verwendung in einer Bandfiltrationserntemaschine. **A:** Experimentalaufbau zur Filtration mittels Mehrfachkunststoff-Laminatgewebe (30 µm); **B:** Stationärer *Spirulina*-Filterkuchen; **C:** Simulation eines mechanischen Abschabeprozesses (im Prototyp rotiert das Filterband bei stationärem Abschaber).

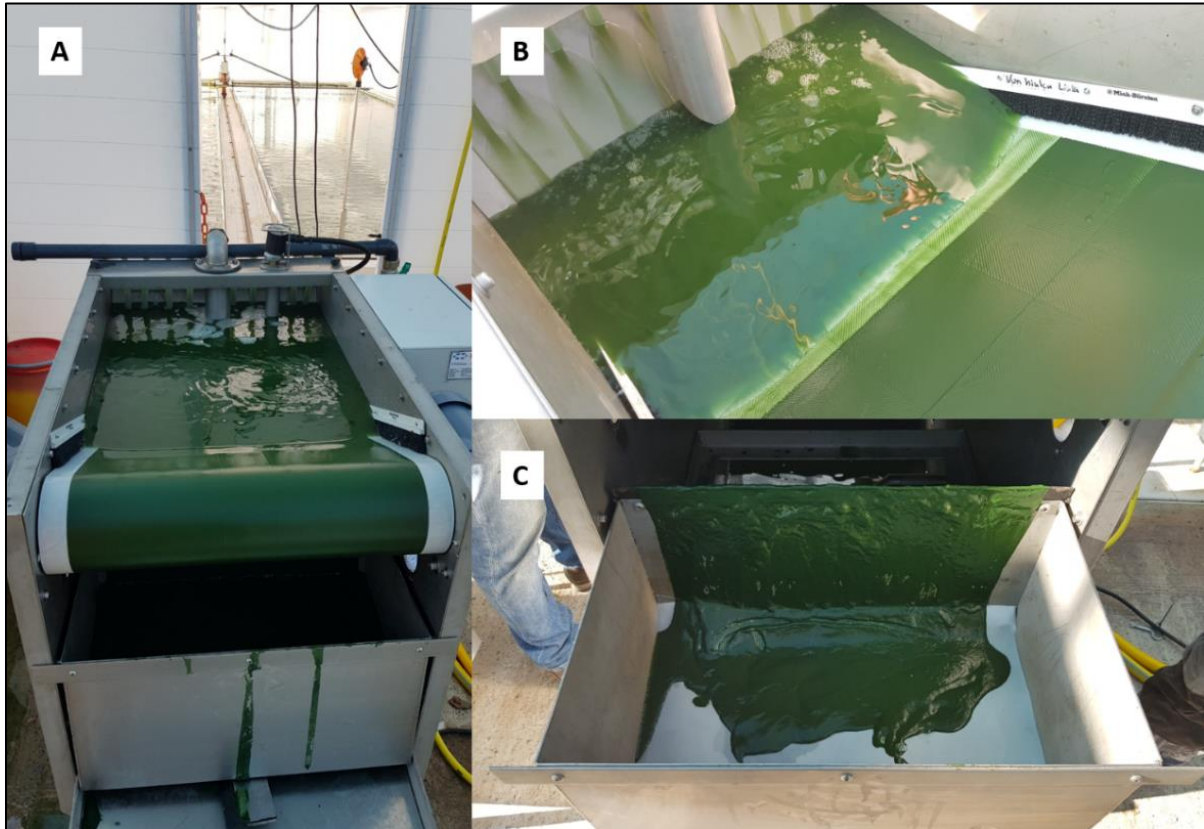


Abbildung 5: Erste Tests mit einem Prototyp eines Bandfiltrationserntegeräts der Firma NOVAgreen. **A:** Bandfilter in Betrieb (Frontalansicht); **B:** Filterband mit Algensuspension von oben betrachtet; **C:** Automatisch abgeschabte Algenbiomasse mit ca. 20% Trockensubstanz

Im Pilotbetrieb erwies sich das Bandfilter-Ernteverfahren tatsächlich als am zuverlässigsten und leistungsstärksten. Mehrere Prototypen wurden gebaut, sodass die Technik immer weiter verbessert und auf die *Spirulina*-Ernte optimiert werden konnte. Der dritte und aktuelle Prototyp enthält nun Sensorik zur halbautomatischen Erfassung und Steuerung der Algensuspensionszufuhr sowie des Produktfüllstands (siehe Abb. 6). Neben der Implementierung eines automatischen Selbstreinigungsprogrammes (CIP = Cleaning In Place) wurden auch die verwendeten Filterbandtexturen weiteroptimiert. Eine integrierte Vorrichtung erlaubt das Zumischen von Dünger direkt in den Filtratrücklauf der Erntemaschine. Das System wurde nebst OG-Partnern sogar von Produktionsbetrieben außerhalb des Förderprojektes getestet und lieferte sehr erfreuliche Ergebnisse:

1. Das System arbeitet mit konstanter Effizienz, unabhängig von der Beschaffenheit (Morphologie) der *Spirulina*-Kulturen.
2. Der Bandfilter kann im automatischen Betrieb störungsfrei nachts eingesetzt werden.
3. Die Ernteeffizienz erreicht ca. 85%.

- Die Scherkräfte, welche auf die Algenfilamente einwirken, sind verglichen mit der Vibrationserntetechnik signifikant reduziert, wodurch wachstumsreduzierende Effekte der Nährmedienrecycling (Depraetere *et al.* 2015) ausgeräumt werden konnten.

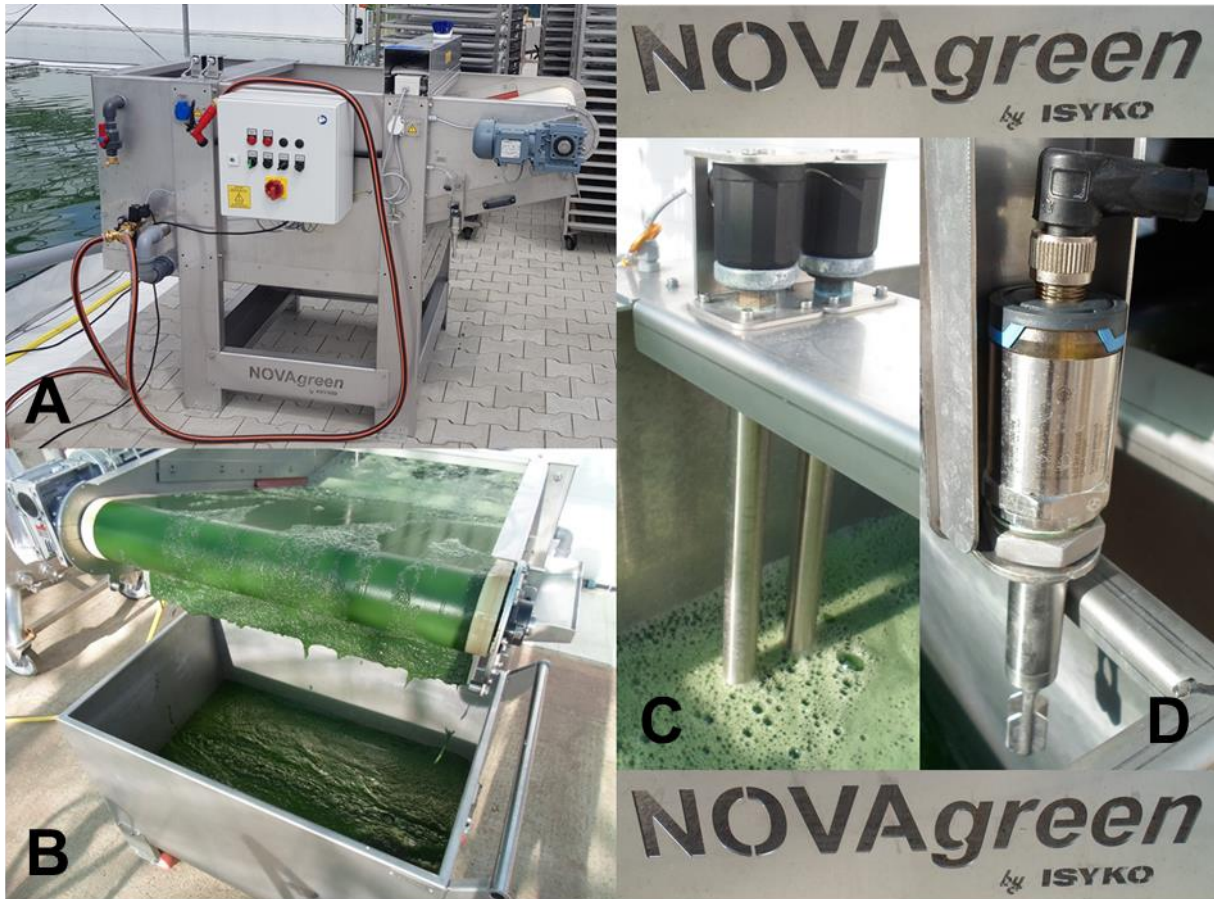


Abbildung 6: Überarbeitetes Modell des Bandfiltererntegerätes der Firma NOVAgreen Projektmanagement GmbH (A, B). Füllstandsensoren zur Messung bzw. Steuerung von Zulauf und Produkt (C, D).

Da das Begasungssystem der verwendeten Kulturbecken (H-Becken) lediglich in einer Dimension arbeitet, wurde zur Verbesserung der Durchmischung während des Erntevorgangs eine Umwälzpumpe mit Siphonabsaugung eingesetzt. Dadurch können speziell die in *Spirulina*-Kulturen häufig an der Kulturoberfläche aufschwimmenden „Algentepiche“ effizienter geerntet werden.

2.4.3.3 Biomassetrocknung – Entwicklung von Prozessierungstechnik

Um den Gehalt an wertvollen Inhaltsstoffen wie z.B. Vitaminen zu erhalten, ist ein schneller und schonender Trocknungsprozess der feuchten Algenrohware (niedrige Temperaturen, kurze Trocknungszeiten) erforderlich. Dies kann nur durch ein hohes

Oberflächen-zu-Volumen-Verhältnis der zu trocknenden Rohware bewerkstelligt werden. Um diesem Faktor gerecht zu werden, entwickelte NOVAgreen eine kostengünstige Extrudermaschine. Der von den Anwendern auch „Spaghettimaschine“ genannte Extruder dient der Formgebung der zähflüssigen Algenbiomasse (10% TS) zur Optimierung der Trocknungseigenschaften. Dazu werden die vom Extruder erzeugten Algenspaghetti unmittelbar auf Backbleche (aus dem Bäckereibedarf) aufgebracht, welche anschließend in mobilen Einheiten (Trocknungswagen) in den Trocknungscontainer (Abb. 7) überführt werden. Tragrollen für die Backbleche und ein Fußschalter zur Bedienung der Extruderpumpe erleichtern die Arbeit. Der ebenfalls von NOVAgreen entwickelte Trocknungscontainer bedient sich eines gasbetriebenen Brenners und eines Umluftzirkulationssystems, welche konstante Trocknungstemperaturen von 45°C gewährleisten.



Abbildung 7: Verarbeitung der feuchten Algenrohware unmittelbar nach Ernte. Einsatz des von der Firma NOVAgreen Projektmanagement GmbH entwickelten Extruders zur Herstellung von Algenspaghetti, welche auf Backbleche ausgebracht (A, B) in den Trocknungsprozess überführt werden. Trocknungscontainer (C) und trockene Algenchips (D).

2.4.3.4 Nährstoffoptimierung und Erprobung eines Biodüngers

Als Ausgangspunkt für die Optimierung der Nährstoffzusammensetzung (AP4) wurde das weltweit von einer Vielzahl an Produzenten verwendete Zarrouk Medium (Zarrouk 1966) herangezogen. Dieser als Referenz dienende Dünger wurde mit dem synthetischen NPK Dünger Agrolution Special 324 sowie dem von der NOVAgreen hergestellten Biodünger der ersten Generation Phyto Nr. 1 verglichen. Phyto Nr.1 basiert auf einem mittels Abtrennung von Feststoffen, Mikrofiltration und Umkehrosiose aus Biogasgärresten gewonnenen Zentrat (Prozess in Abb. 8 visualisiert).

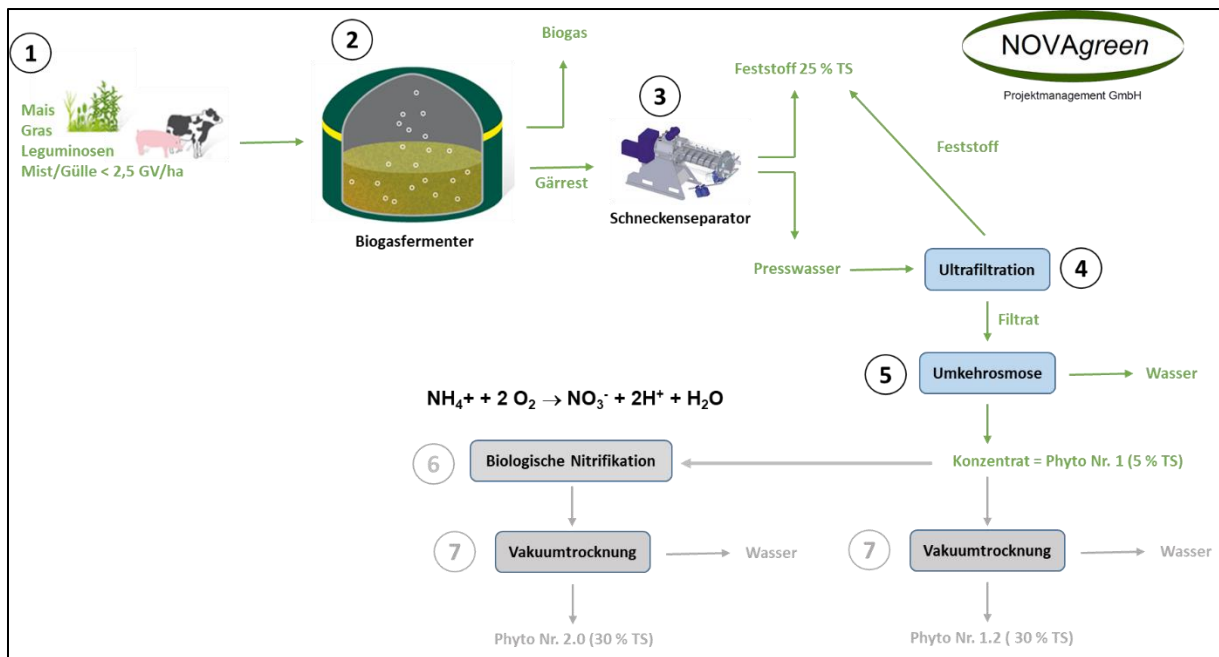


Abbildung 8: Prozessschritte zur Herstellung der Biodünger Phyto Nr. 1, Phyto Nr. 1.2 und Phyto Nr. 2.0.

Eine mit den Regularien konforme Verwendung dieses Rohstoffes als Düngemittel für die Herstellung von Bioprodukten wurde geprüft. Gemäß der Verordnung (EWG) Nr. 2092/91 und übernommen durch Artikel 16 Absatz 3 Buchstabe c der Verordnung (EG) Nr. 834/2007 bzw. bestätigt in der Durchführungsverordnung (EU) 2018/1584 der Kommission vom 22. Oktober 2018 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 834/2007 des Rates sind Düngemittel auf Basis von 1) „Kompostierten oder fermentierten Gemischen aus pflanzlichem Material gewonnen durch Kompostierung oder anaerobe Gärung bei der Erzeugung von Biogas“ und 2) von „Flüssigen tierischen Exkrementen nach kontrollierter Fermentation und/oder geeigneter Verdünnung (Produkt darf nicht aus der industriellen Tierhaltung stammen)“ in der ökologisch-biologischen Produktion zulässig.

In geringer Dosierung konnte mit dem Biodünger Phyto Nr.1 sehr stabiles Wachstum von *Spirulina maxima* – in etwa vergleichbar mit dem synthetischen Dünger Agrolution Special – erzielt werden. Dies erforderte jedoch ein Nachdüngen in sehr kurzen Zeitintervallen. Bei höherer Dosis des Biodüngers (ca. 1:100 Verdünnung) konnte eine temporäre Inhibition des Wachstums festgestellt werden. Bei höheren Temperaturen (20-35°C), welche bereits ab Mai erreicht wurden, zeigte sich jedoch der Ammoniumhaltige Dünger als nicht praktikabel. Wie umseitig in Abb. 9 (Emmerson et al. 1975) dargestellt, führt der hohe pH-Wert der Kulturen speziell bei höheren Temperaturen zu starker Ammoniakbildung und damit zu einem Verlust von Stickstoff durch Ausgasen.

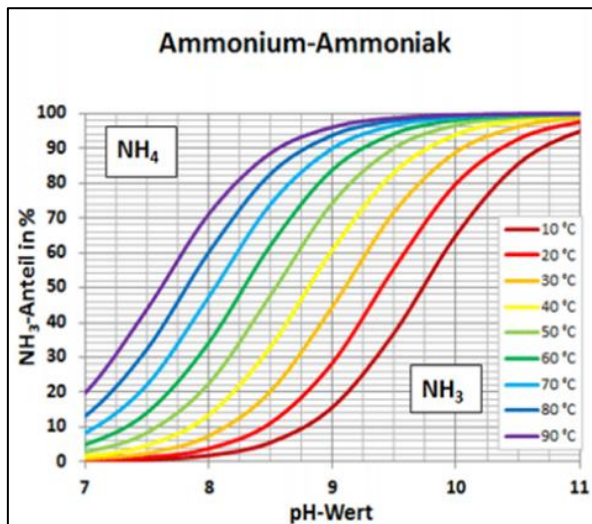


Abbildung 9: pH-Wert- und Temperaturabhängigkeit des chemischen Dissoziationsgleichgewichtes zwischen Ammoniumionen und Ammoniak (Originaldaten aus Emmerson et al. 1975; Diagrammdarstellung Modus Verfahrenstechnik GmbH)

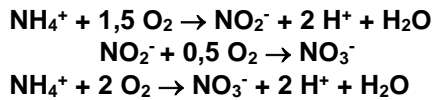
Dieses Phänomen hemmt das Wachstum der Algen und führt im Extremfall zum Absterben der Kulturen. Untersuchungen im Cyanobakterium *Synechocystis* zeigten eine NH_3 -induzierte Photoinaktivierung vom Photosystem II (Drath et al. 2008). Eine geringere Dünger-Dosierung in kürzeren Intervallen konnte diese Problematik zwar verringern, die Bildung von Ammoniak ist jedoch auch im Sinne des Arbeitsschutzes nicht tolerabel.

Neben der Erprobung des Biodüngers wurden unterschiedliche Stickstoffquellen (synthetische Düngermedien) im Laborversuch getestet und in den Pilotmaßstab transferiert. Hierzu wurden Wachstumsexperimente in V- und H-Modulen durchgeführt und sowohl die gewonnene Biomasse als auch das verbrauchte Nährmedium einer Nährstoffanalyse unterzogen. Im Vergleich mit dem synthetischen Nitrat-haltigen Zarouk Medium, lieferte die Verwendung von Ammoniumsalzen bzw. Harnstoff als Stickstoffquellen während der kühleren Temperaturen im Frühjahr vergleichbare Wachstumsraten. Der Einsatz von Harnstoff verringerte die Produktionskosten erheblich.

2.4.3.5 Herstellung eines Biodüngers der 2. Generation - Phyto Nr. 2.0

Für die weitere Biodüngerherstellung konnten drei essenzielle Entwicklungsziele definiert werden. Einerseits ist eine Umwandlung des im aktuellen Dünger vorhandenen Ammonium-N in Nitrat-N und andererseits eine Aufkonzentrierung (Volumenreduktion) wünschenswert. Darüber hinaus sind in Phyto Nr. 2.0 anaerobe Fermentationsrückstände mit unangenehmer Geruchskomponente (organische Säuren) und Huminsäuren enthalten. Letztere verleihen der Düngerlösung eine Färbung, welche beim Einsatz zur Düngung von Mikroalgen unerwünscht ist, da sie den Lichteintrag in die Kultursuspension verringert. Der von NOVAgreen bearbeitete Experimentalansatz zur Lösung dieser Problemstellung nutzt eine Transformation der NH_4^+ Stickstoffquelle des Biodüngers durch einen biotechnologischen Schritt, in welchem der auch in der Natur zu

findende Nitrifikationsprozess Anwendung findet. *Nitrospira* ist in der Lage einen 1-stufigen Nitrifikationsprozess unter aeroben Bedingungen zu bewerkstelligen. Die bislang vorliegenden Ergebnisse zeigen zwar eine erfolgreiche Nitrifikationsreaktion. Die Verweilzeiten im Festbettreaktor bei 25°C liegen jedoch aufgrund der hohen Ammonium- bzw. Huminsäurekonzentrationen im Ausgangsmaterial noch überdurchschnittlich hoch und erfordern eine Optimierung des Prozesses.

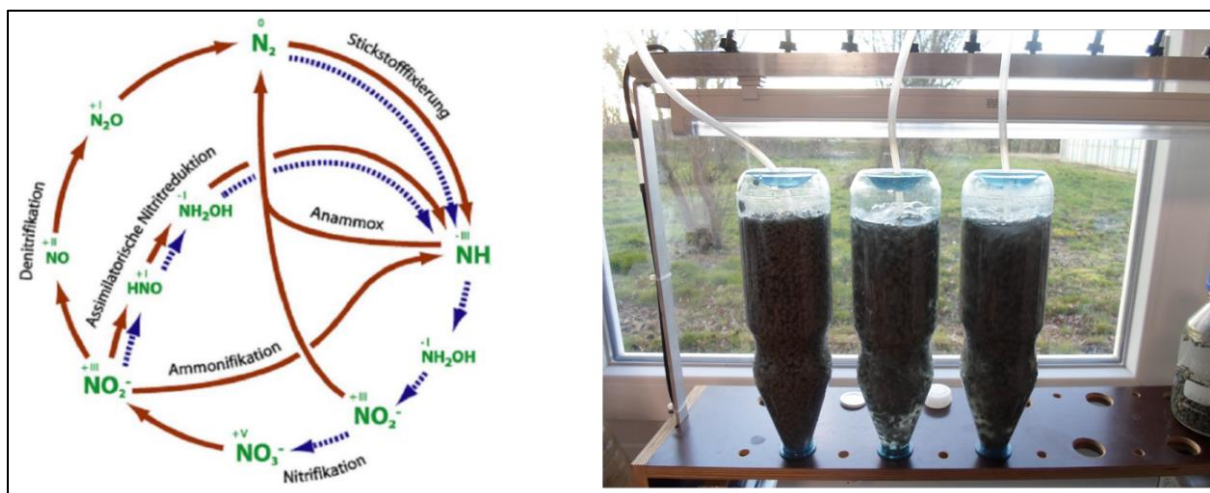


Ammonium-Oxidation (*Nitrosomonas*)
 Nitrit-Oxidation (*Nitrobacter, Nitrococcus*)
 1-stufige Nitrifikation (*Nitrospira sp.*)

Der theoretische Sauerstoffverbrauch der Reaktion liegt bei 4,6 g O₂ / g NH₄⁺ - N. Gleichzeitig findet eine Ansäuerung des Mediums statt, welche im Testsystem durch eine hohe Hydrogencarbonat Konzentration gepuffert wurde, da das pH-Optimum der Nitrifikation bei pH 7,2 - 8,0 liegt.

Der Biodünger Phyto Nr. 1 enthält ca. 13 g/L Ammonium bzw. 9,9 g/L Ammonium-N bei einer elektrischen Leitfähigkeit von 70 mS/cm (bei 25°C) und einem N:P:K:S-Verhältnis von 40:1:22:12 bis 70:1:50:28. Vergleichsweise enthalten kommerziell erhältliche Düngermischungen ein N:P:K:S-Verhältnis von 12:7:17:8 bis 16:16:8:4. Eingehende Nährstoffanalysen unterschiedlicher Chargen des Biodüngers Phyto Nr. 1 zeigten relativ niedrige Phosphatgehalte und gelegentliche Variationen im Gehalt an Spurenelementen. Um mögliche Abweichungen in der Nährstoffzusammensetzung des zur Herstellung des Biodüngers Phyto Nr. 2.0 verwendeten Zentrates auszugleichen, werden entsprechend Anhang I Abschnitt A.2 und E der Verordnung (EG) Nr. 2003/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates über Düngemittel weicherdiges Rohphosphat und mineralische Spurennährstoffe zugesetzt.

Abbildung 10: Natürlicher Stickstoffkreislauf (links) und Versuchsaufbau zur Simulation einer aeroben Nitrifikation mittels immobilisierten Bakterienmischkulturen (rechts). Als Immobilisierungsmatrix wurden PE-basierte Aufwuchskörper eingesetzt, welche aus rezyklierten Folienschlauchphotobioreaktoren hergestellt wurden.



2.4.3.6 Variationen im Pond-Design und Temperierung

Während Agrinova und der Betrieb Hohnholz unbeheizte H-Module der Firma NOVAgreen zur Kultivierung der Algen im Pilotmaßstab einsetzten, erprobte die RO-V-AL GbR zusätzlich klassische Raceway Pond Systeme (Abb. 11) welche mit Abwärme aus der Biogasanlage des Unternehmens beheizt wurden. Hierbei sollte einerseits geklärt werden, welche Erntesteigerung durch die konstante Temperierung der Kultursuspension im Pilot- bzw. industriellen Maßstab erreicht werden kann, andererseits sollte ein Systemvergleich von H-Modulen und den kontinuierlich mittels Paddelrad in Bewegung gehaltenen Raceway Ponds angestellt werden. Eine entsprechende Beckenbeheizung wurde mittels Heizschleifen bewerkstelligt, wie sie auch für den Bau von Fußbodenheizungssystemen Verwendung finden. Arbeitshypothese für diesen Experimentalansatz war die Vermutung, dass eine konstantere Durchmischung aufgrund des 24/7-Betriebs des integrierten Paddelrads, in einer reduzierten Eigenabschattung durch flottierende (an der Kulturoberfläche aufschwimmende) Algen und damit in einer höheren Produktivität resultierte.

Die Ergebnisse aus der Saison 2019 zeigen, dass eine Beheizung der Algenbecken mittels Abwärme aus einer Biogasanlage eine Verlängerung der Saison um ca. 2 Monate ermöglicht. Da das Temperaturoptimum der gängigen *Spirulina*-Stämme bei 35-38°C liegt, kann unter Nutzung von Restwärme potenziell mit einer Erhöhung von Wachstumsraten und Ernteerträgen von bis zu 100% gerechnet werden. Eine Effizienzsteigerung im Vergleich zu unbeheizten Systemen konnte bestätigt werden.



Abbildung 11: Raceway Pond-Systeme zur Kultivierung von *Spirulina* in der Produktionsanlage des Projektpartners RO-V-AL GbR.

Um den Faktor der Intensität des eingestrahlteten Sonnenlichts zu evaluieren, wurden Pondmodule mit einer Fläche von 70 m² a) mit oder b) ohne Abschattung (Einhausung der Ponds mit semitransparentem Flies) getestet.

2.4.3.7 Kulturmedien-Rezyklierung | Überwinterung von Kulturen

Um eine Nachhaltigkeit der Kultivierung von *Spirulina maxima* im späteren Produktionsmaßstab von > 120 000 L zu gewährleisten, ist eine kontinuierliche Rückführung des Kulturmediums nach Ernte der Biomasse entscheidend. Somit wird einerseits der Verbrauch an Ressourcen (Wasser und Mineralsalze) reduziert, andererseits entstehen im Regelbetrieb keine Abwässer. Eine Rückführung des Kulturmediums während des Ernteprozesses wurde sowohl von der Agrinova als auch den Betrieben RO-V-AL GbR und Hohnholz 2019 erprobt. Dabei wurde die Nährstoffzusammensetzung (Salinität, pH-Wert, Hydrogencarbonat-, N- und P-Gehalt, Spurenelemente) des Kulturmediums in regelmäßigen Abständen kontrolliert und gegebenenfalls mittels Düngung ergänzt. Zusammenfassend konnte die Kulturmedien-Rezyklierung erfolgreich und ohne signifikante Ertragseinbußen implementiert werden. Um die Nachhaltigkeitsziele zu erreichen und um Produktionskosten einzusparen, wurde darüber hinaus die Überwinterung von *Spirulina*-Kulturen in den vorhandenen H- und Raceway Pond Systemen getestet. Da die Algenbiomasse im Herbst nicht vollständig geerntet werden kann, sollte getestet werden, ob diese 1) die Temperaturen während der Wintermonate unbeschadet überstehen kann bzw. 2) ob die Qualität der Kulturen während der Überwinterung leidet. Während der Wintermonate 2019 und 2020 wurden die *Spirulina*-Kulturen im Gewächshaus in regelmäßigen Abständen mikroskopiert und auf ihre Vitalität überprüft. Selbst nach dem Einfrieren der Kultur im Gewächshaus konnte die entnommene Biomasse erfolgreich zur Inokulation neuer Laborkulturen (unter idealen Wachstumsbedingungen) genutzt werden.

2.4.3.8 Optimierung des Kultursystems: Durchmischungs-/Begasungseinheit

Im Dauerbetrieb über mehrere Monate zeigten sich die anfangs zur Begasung eingesetzten Ventillationsmotoren als sehr wartungsintensiv. Aus diesem Grund und um zusätzlich den Energieverbrauch der Begasungs-/Durchmischungseinheit zu reduzieren, wurden die Ventillationsmotoren durch leistungsstarke, elektrische Membranpumpen ersetzt. Diese verringern darüber hinaus die Lärmbelastung, was speziell für Standorte in besiedelten Gebieten, aber auch im Sinne des Arbeitsschutzes von Relevanz ist. Das neue System erwies sich in seiner Durchmischungseffizienz zu 100% mit dem bislang eingesetzten Typ vergleichbar, der Energieverbrauch konnte jedoch um 40% reduziert werden.

Um die Größe der Kulturbecken und damit die primäre Anbaufläche verdoppeln zu können und ungenutzte Gewächshausflächen zu reduzieren, wurden die Führungsstränge der beweglichen Begasungseinheit, welche bislang auf dem Boden fixiert wurden, modifiziert. 2019 wurde zu diesem Zweck eine Begasungseinheit mit Aufschwimmkörpern getestet. Diese zwar verlässlich funktionierende Variante erhöhte jedoch aufgrund des zur Wasserverdrängung nötigen Widerstands signifikant den Energieverbrauch. Deshalb wurde eine neue, freischwebende Variante des Begasungsmoduls konstruiert. Wie in Abb. 12 dargestellt hängen sowohl die modifizierte Begasungseinheit als auch der Antriebsmotor nunmehr in Führungsschienen an der Gewächshausdachkonstruktion.

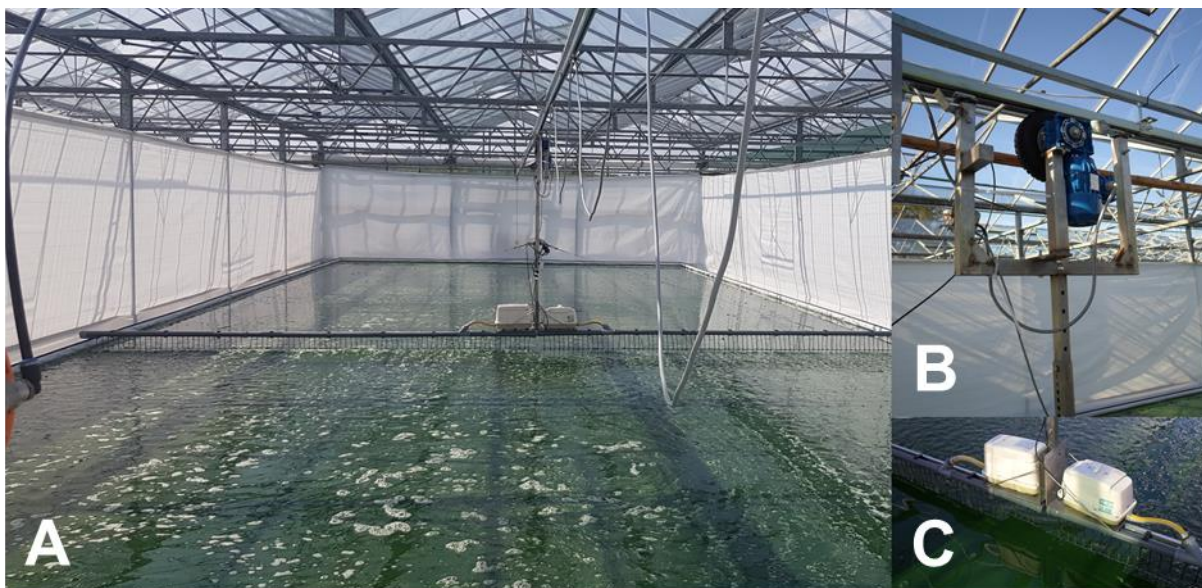


Abbildung 12: Neue Variation des Begasungsmoduls zur Durchmischung der *Spirulina*-Kulturen in H-Becken in hängender Ausführung (A, B); ausgestattet mit Membranpumpen (C).

2.4.3.9 Prozessoptimierung

Begasung und Durchmischung: Während die Versorgung der *Spirulina*-Kulturen mit dem für die Photosynthese notwendigen CO₂ hauptsächlich in Form von Natriumbicarbonat (NaHCO₃) erfolgt und damit nur bedingt vom Gaseintrag ins System abhängt, ist ein effizienter Sauerstoffaustausch von enormer Bedeutung für die Produktivität der Kulturen sowie die finale Produktqualität. Hierbei müssen drei Faktoren berücksichtigt werden:

- Faktor 1** Tagsüber unter hoher Lichteinstrahlung setzt der Prozess der Photosynthese große Mengen an Sauerstoff frei. An sonnigen Tagen, speziell während der Mittagsstunden, werden Sauerstoffsättigungen von

≥ 400% erreicht. Diese führen zu Sauerstoffinhibition (Marquez *et al.* 1995) und reduzieren dementsprechend die Wachstumsraten.

*Die Inhibition durch Sauerstoff hat mehrere Gründe: Trotz Präsenz eines spezifischen CO₂-Konzentrationsmechanismus in Cyanobakterien (Carboxysomen), akzeptiert das zentrale Enzym der photosynthetischen CO₂-Fixierung im Calvin-Zyklus, die Ribulose-1,5-bisphosphat Carboxylase (RubisCO), neben CO₂ auch Sauerstoff als Substrat (Oxygenaseaktivität des Enzyms). Dabei entsteht das Nebenprodukt Phosphoglycolat, welches unter hohem Energieaufwand wieder in den Primärstoffwechsel rückgeführt werden muss, ein Prozess, welcher als Photorespiration bezeichnet wird. Speziell bei hohen Temperaturen und geringem CO₂/O₂-Verhältnis kommt es dadurch zu energetischen Verlusten (Peng *et al.* 2003). Hohe O₂-Konzentrationen begünstigen darüber hinaus die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies ($\cdot\text{O}_2^-$, H_2O_2), welche Zellmembranen und Photosysteme schädigen.*

Faktor 2 In der Nacht während der Dunkelphase betreiben Algen keine Photosynthese, sondern atmen Sauerstoff, wobei sie tagsüber angereicherte Speicherstoffe verbrauchen. Dadurch entstehen bei fehlender oder mangelnder Begasung im Besonderen bei hohen Zelldichten und hohen Temperaturen im Sommer mikroaerophile bis anaerobe Verhältnisse. Richmond *et al.* (1990) untersuchten den Einfluss der erhöhten Atmungsaktivität während der Nachtphasen und errechneten daraus einen Verlust von ca. 5-12% der Biomasse und damit von 30-50% der Ernteerträge am Folgetag. Sauerstoffmangel im Kulturbecken fördert darüber hinaus das Wachstum anaerober bakterieller Begleitflora, welche organische Ausscheidungsprodukte vergärt oder chemolithotroph Schwefelverbindungen reduziert. Beide Faktoren beeinträchtigen nicht nur das Wachstum von *Spirulina* am Folgetag, sondern auch die Sensorik des finalen Produktes.

Faktor 3 Bei schlechter Durchmischung der Algenkultur kommt es häufig zur Flotation von *Spirulina*-Filamenten, aber auch zur Sedimentation. Beide Effekte führen zur Abschattung eines Anteils der Biomasse und reduzieren die Systemproduktivität (Richmond & Grobbelaar 1986). Da die Sonneneinstrahlung während der Mittagsstunden im Sommer häufig die maximale Lichtsättigung um den Faktor 10 übersteigt, tritt bei ungenügender Durchmischung verstärkt Photoinhibition auf (Torzillo & Vonshak 1994, Vonshak *et al.* 1996, Vonshak *et al.* 2013).

Die Begasung und Durchmischung in den Pilotanlagen (H-Module) der Projektpartner wurde anfangs ausschließlich diskontinuierlich betrieben, wobei das Begasungsmodul entsprechend einer Programmierung stündlich für jeweils 15 min eingeschaltet wurde. Diese Intervalle wurden aus pragmatischen Gründen gewählt und eine verbesserte Durchmischung und Belüftung mit den dadurch erhöhten Energiekosten bzw. stärkerer

Geräteabnutzung abgewogen. Später wurde ein kontinuierlicher Betrieb des Begasungsmoduls während der Mittagsstunden erprobt, um zusätzlich dem Effekt der Photoinhibition entgegenzuwirken. Mittel- bis langfristig könnte alternativ eine automatisierte Abschattungstechnik signifikante Ertragssteigerungen bringen.

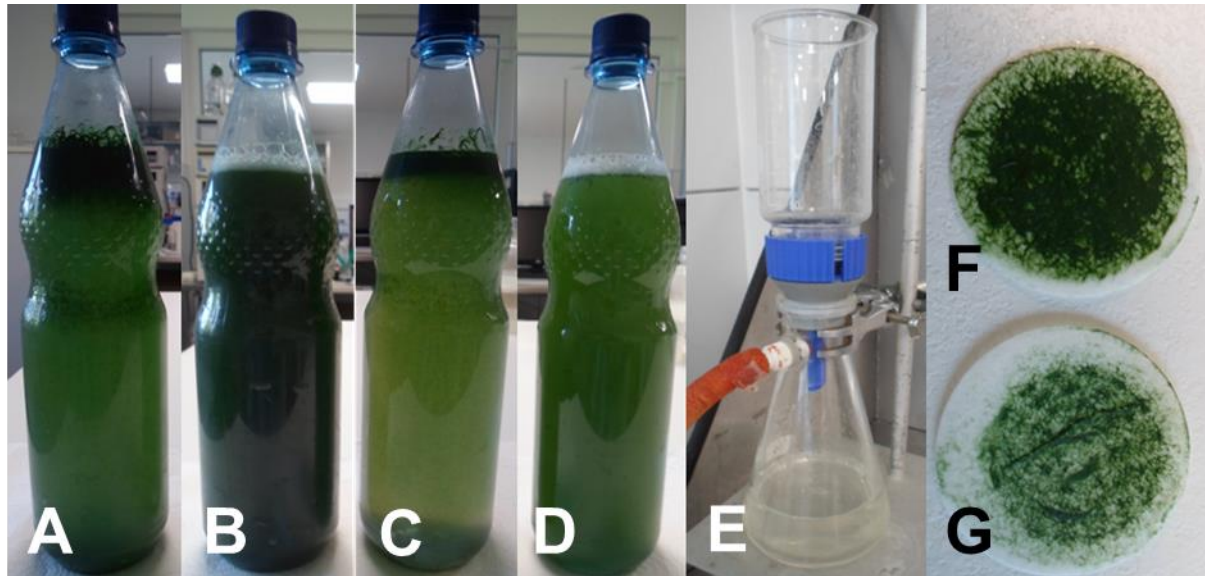


Abbildung 13: Probennahme vor (A, B) und nach Ernte (C, D). Membranfiltrationsaufbau zur Bestimmung des Biomassetrockengewichts (E), Filter mit Biomasse aus jeweils 20 ml Probe vor (F) und nach Ernte (G).

Füllstand, Bestandsdichte und Ernteintervalle: Eine Reduktion des Füllstandes in den Kulturbecken von 15 cm auf 10 cm oder 5 cm zeigte eine signifikante Erhöhung der maximal erreichbaren Zelldichte der Algenkulturen und führte zu Einsparungen im Energieverbrauch für den Ernteprozess. Die Ernteerträge pro Fläche blieben davon jedoch unbeeinflusst. Während in den Monaten März-Mai eine Bestandsdichte in den H-Becken von 0,3 - 0,8 g/L eingesetzt wurde, betreibt Agrinova aktuell (Juni-August) seine Systeme bei Zelldichten von bis zu 1,2 g/L. Wenngleich damit im Experimentalversuch nicht die höchsten Wachstumsraten erreicht wurden, zeigt die Praxis im Pilotmaßstab, dass die *Spirulina*-Kulturen in hoher Zelldichte weniger anfällig gegenüber Photoinhibition sind und deshalb höhere Ernteerträge einbringen. Beobachtungen aus dem Betrieb kommerzieller Großanlagen zufolge kann mit dem Abernten in den Abendstunden verglichen mit dem Abernten in den Morgenstunden ein bis zu 20% höherer Ernteertrag erzielt werden (Richmond *et al.* 1990). Agrinova erntet deshalb im Übernachtbetrieb (ca. 14 h). Während der Monate Juli und August, konnten mit dem verwendeten Bandfiltererntesystem im 4-tägigen Rhythmus Ernteerträge von ca. 200-300 L Algenslurry pro 250 m² Kulturbecken, entsprechend 17-25 kg Trockenbiomasse erzielt werden. Dies entspricht einer flächenbezogenen Produktivität von 17-25 g/m² *Tag. Beim Abernten wird darauf geachtet, die Bestandsdichte der Algenkulturen durchschnittlich auf 50% bis max. 75% zu reduzieren.



Abbildung 14: Animpfen eines 200 m² Kulturbeckens (H-Modul) mit *Spirulina*-Starterkultur aus der Inkulumsproduktion der Agrinova Projektmanagement GmbH.

Düngung und pH-Wert: In den Pilotanlagen der Projektpartner an den Standorten Ahlhorn, Rockstedt und Dünsen wurden 2020 zur Vereinfachung der Düngung ausschließlich der NPK-Komplettdünger Agrolution Special und Natriumhydrogencarbonat am Ende jedes Ernteprozesses zugesetzt. Aus den bisherigen Erfahrungswerten wurde ein Korrelationsfaktor ermittelt, welcher die Nachdüngung einer spezifischen Menge Dünger pro kg geernteter Feuchtbioasse zulässt. Dieser Faktor entspricht in etwa der theoretischen Berechnung mittels Redfield-Rate für die C/N/P-Zusammensetzung aquatischer Phytobioasse (C:N:P-Verhältnis = 106 : 16 : 1). Laut Literatur (Richmond & Grobbelaar 1986) sollte für *Spirulina*-Kulturen ein pH von 10,5 nicht überschritten werden. Über diesem Schwellenwert kommt es verstärkt zur Ausfällung von Calciumcarbonat und zu einer signifikanten Reduktion in der Produktivität. Die in den Anlagen der Projektpartner maximal gemessenen Werte lagen bei 10,85. Da die Bestimmung der Produktivität unter diesen Bedingungen nur eine geringfügige Reduktion der Erträge ergab, wurde vorerst auf den kostspieligen Einsatz von CO₂ zur pH-Wert-Anpassung verzichtet.

2.4.4 Beitrag des Ergebnisses zu förderpolitischen EIP-Themen

Die Ergebnisse beweisen, dass eine ökonomisch sinnvolle Kultivierung von *Spirulina* in Norddeutschland möglich ist. Damit eröffnet sich eine neue Perspektive für Landwirte der Region, welche sich im Sinne des Klimaschutzes durch Nachhaltigkeit und

eine neutrale CO₂-Bilanz auszeichnet. Ein erfolgreicher Technologietransfer aquatischer, biotechnologischer Prozesse von der F&E-Einrichtung in den landwirtschaftlichen Betrieb beweist, dass die zukünftige agrarwirtschaftliche Primärproduktion in Deutschland bereit ist zu einer Restrukturierung und Diversifizierung.

2.4.5 Nebenergebnisse

2.4.5.1 Evaluierungen von Messmethoden zur späteren Automatisierung

Der Betrieb von algenbiotechnologischen Anlagen erfordert regelmäßige und fortlaufende Analysen der Zelldichte, der Wachstumsraten, ein Monitoring der Düngerkonzentrationen und abiotischen Faktoren, wie Temperatur, Lichteinstrahlung und pH-Wert. Um darüber hinaus die Qualität der Algenkulturen sicherzustellen und potenzielle Kontamination vermeiden zu können bzw. früh zu erkennen, erfolgt in kurzen Zeitintervallen eine mikroskopische Kontrolle der Qualität der Produktionskulturen. Unter gegebenen technischen Voraussetzungen sind Produktions- und Qualitätssicherung sehr zeit- und personalintensiv, weshalb im Projektrahmen bereits Möglichkeiten zur späteren Automatisierung erwogen und bearbeitet wurden. Daher wurden von der Agrinova Inline-Sensoren der Firma Hach Lange getestet, welche eine kontinuierliche Datenaufzeichnung von Biomassedichten, pH-Wert und Ammonium/Nitratkonzentrationen ermöglichen sollten. Diese Messdaten könnten zukünftig zur Steuerung und Kontrolle von Düngung und automatischer Ernte herangezogen werden. Während der ionenselektive NH₄⁺/NO₃⁻-Sensor AN-ISE sich aufgrund der automatischen Kompensation über die Kalium- und Chloridionenkonzentrationen für die Anwendung in salinen Lösungen als nicht geeignet erwies, lieferten pH und Trübungssensoren reproduzierbare Ergebnisse über einen Zeitraum von > 2 Monaten.

2.4.5.2 Erstellen eines Qualitätsmanagementkonzeptes auf Basis des HACCP

Um die Sicherheit und konstante Qualität des zukünftigen Lebensmittels *Spirulina* zu gewährleisten, wurde gemeinsam mit der Ökotrophologiestudentin Laura Klatt eine Risikobewertung aller Produktionsabläufe durchgeführt und ein HACCP-Konzept erstellt. HACCP steht für *Hazard and Critical Control Points* und beschreibt potenzielle Gefahrenquellen, Methoden zu deren Prävention, die Kontrolle mittels geeigneter Messtechnik bzw. gegebenenfalls Gegenmaßnahmen. Gemeinsam mit der Implementierung von Maßnahmen zum Erhalt der Guten Herstellungspraxis (GHP) stellt das HACCP-Konzept ein übersichtliches und effizientes Qualitätsmanagement für den Lebensmittelbereich dar. Eine Validierung der Wirksamkeit des HACCP-Konzeptes sowie der darin definierten Messmethoden wurde 2020 unter Einbindung aller drei Pilotanlagen erreicht.

2.4.5.3 Ausarbeitung eines Schulungsprogramms für Primärproduzenten

Zur Gewährleistung der Lebensmittelsicherheit bedarf es eines hohen Qualitätsbewusstseins seitens der Unternehmensführung und gut geschulten Personals. Dank der extremophilen Natur des Produktionsstammes konnten Kontaminationen im Projektrahmen bislang lediglich in Überwinterungskulturen am Beginn der Saison beobachtet werden. Die aufgetretenen Spezies wie *Chlorella vulgaris* und *Klebsormidium* stellen kein Risiko für die Gesundheit des Konsumenten dar und konnten effizient durch Gegenmaßnahmen bekämpft werden. Dennoch darf das prinzipielle Gefahrenpotential möglicher Kontaminationen der Produktionskulturen oder des Produktes nicht unterschätzt werden. So könnten beispielsweise toxinbildende Cyanobakterien ins Kultursystem gelangen. In der Qualitätssicherung kann das Auftreten von Fremdalgen sehr einfach mittels regelmäßiger, mikroskopischer Kontrolle erkannt und damit potenzielle Risiken eliminiert werden. Im Rahmen eines Schulungsprogrammes, bestehend aus einer theoretischen Einführung in die Themen Risikoevaluierung, Qualitätssicherung, Qualitätsmanagement und eines praktischen Mikroskopiekurses sollen die Primärproduzenten zukünftig darin unterrichtet werden Gefahrenquellen zu erkennen und im Sinne der Produktqualität zu eliminieren. Damit soll das von der Agrinova erarbeitete HACCP-Konzept auch in die Betriebe implementiert werden.

2.4.5.4 Gründung einer Erzeugergenossenschaft

[Webportal DAG: <https://www.deutsche-algen.de/>]

Am 27.07.2020 wurde mit der Gründung der Deutschen Algengenossenschaft, kurz DAG, das Fundament für eine zukünftige, gemeinsame Vermarktung von *Spirulina* und anderen Algenprodukten aus regionaler Herstellung gelegt. Bislang unterzeichneten mehr als 30 Mitglieder den Genossenschaftsvertrag. Der neu bestellte Geschäftsführer der DAG legte ein ambitioniertes Businesskonzept vor. Um den zukünftigen Profit der Genossenschaft zu erhöhen sieht das Geschäftsmodell nicht nur den Vertrieb von Algenrohware, sondern auch den Handel mit Endprodukten, mit Fremdware und gegebenenfalls Beteiligungen an Produktionsanlagen im internationalen Umfeld vor. Eine Diversifizierung des Geschäftsfeldes bietet potenzielle Mehreinnahmen für den einzelnen Herstellerbetrieb und sichert damit den ökonomischen Erfolg auch im Falle zukünftiger Preisschwankungen im Algenrohwarenmarkt. Zu diesem Zweck hat die DAG Lizenzverträge mit der Firma Evergreen Food GmbH unterzeichnet, um deren Produktlinie "Lüttge" vertreiben zu dürfen. Die Firma Evergreen Food ist bereits über viele Jahre im Sektor Algenerzeugnisse aktiv und verfügt über etablierte Produkte aus *Spirulina* und *Chlorella*. Erweiterungen im Produktportfolio und ein gemeinsames Vermarktungskonzept sind in Bearbeitung. Während Produktveredelung, Lagerung und

Qualitätskontrolle in der Initialphase der Geschäftsentwicklung im Auftrag durch die Firma Agrinova Projektmanagement GmbH ausgeführt werden, beabsichtigt die DAG mittelfristig alle Arbeitsschritte der Herstellung in einer Hand zu vereinigen.



Abbildung 15: Bauarbeiten zum Aufbau erweiterter Räumlichkeiten für die Produktveredelung (Pulververmahlung, Abfüllung, Extraktion) und Zwischenlagerung am Hauptsitz der Agrinova Projektmanagement GmbH in Langförden.

2.4.6 Arbeiten, die zu keiner Lösung/zu keinem Ergebnis geführt haben

Die Arbeiten zur Entwicklung eines Biodüngers zeigten zwar eine prinzipielle Machbarkeit der Anwendung von aufbereiteten Konzentraten aus Gärresten einer Biogasanlage als Bio-Dünger. Die Herstellung eines für *Spirulina* verträglichen Biodüngers benötigt jedoch eine biologische Verfahrensstufe, in welcher Ammoniumstickstoff in Nitratstickstoff umgewandelt wird. Dieser Schritt wird durch immobilisierte, nitrifizierende Bakterien unter intensiver Belüftung katalysiert. Der Prozess zeigte sich jedoch als sehr langsam und erforderte eine Verdünnung des ursprünglichen Konzentrates um den Faktor 5 und die Zufuhr von Wärme und elektrischer Energie zur Begasung. Eine dezentrale Umsetzung einer Aufbereitungsanlage z.B. bei jedem Landwirt ist unrealistisch, wodurch für einen niedrig dosierten Flüssigdünger wiederum erhöhte Transportkosten entstehen. Im für die Projektpartner kurz bis mittelfristig umsetzbaren Maßstab ist die biologische Aufbereitung des Biodüngers aus ökonomischen Gesichtspunkten nicht umsetzbar. Die Mitglieder der OG sind jedoch davon überzeugt, dass der Grundgedanke einer Nährstoffzyklierung aus Abfallströmen der Biogasherstellung zur Erzeugung von Biodünger mittel- bis langfristig von der Industrie aufgegriffen wird oder jedenfalls sollte (da eine ökonomisch erfolgreiche Umsetzung im größeren Maßstab eben durchaus machbar erscheint).

2.5 | 2.6 Nutzen für die Praxis | Konzept zur Verwertung der Projektergebnisse

Das Kerngeschäft der Firma NOVAgreen liegt im Bereich der Entwicklung, dem Bau und Vertrieb von Gewächshäusern und Algenproduktionsanlagen, Ernte- und Trocknungstechnik. Aus den im Projektverlauf entstandenen Prozesstechnologien werden bereits 2021 serienreife Prozessgerätschaften entstehen, welche eine Expansion des Geschäftsbereiches ermöglichen und die Zuverlässigkeit der angebotenen Algenproduktionsanlagen signifikant verbessern. Eine Implementierung des Anbaus von *Spirulina* in die Produktion mehrerer Landwirte in Niedersachsen, Hessen und Nordrhein-Westfalen ist bereits für die Saison 2021 geplant. Die Verwertung von Algenrohware bzw. die Veredelung zu Endprodukten und deren Vermarktung erfolgt gemeinsam, institutionalisiert in Form der Deutschen Algengenossenschaft. Während die RO-V-AL GbR ihren unternehmerischen Fokus zukünftig verstärkt auf die Etablierung von hochwertigen Farbstoffen (Phycocyanin) und Algenfrischware aus dem Rohprodukt *Spirulina* setzt, restrukturiert der Projektpartner Christian Hohnholz zurzeit seine Produktionsanlage zur Effizienzsteigerung.

2.7 Wirtschaftliche und wissenschaftliche Anschlussfähigkeit

Als konkreten Baustein für die zukünftige Entwicklung der Produktion von *Spirulina* wurde von den Projektpartnern die Automatisierung von Produktionsabläufen, im Speziellen von anwendungsspezifischer Mess- und Regelungstechnik erkannt. Eine Automatisierung reduziert nicht nur den Arbeitsaufwand für den Primärproduzenten, sondern ermöglicht eine verbesserte Feineinstellung des biotechnologischen Verfahrens und führt zu einer erheblichen Ertragssteigerung. Die Erfahrungen der Firma NOVAgreen mit kommerziell verfügbaren Systemen zeigten, dass Mess- und Regulations-technik in einem für die Anwendung spezifischen Gesamtsystem etabliert und mit der bestehenden Prozesstechnik gekoppelt werden müssen. Hier besteht weiterer Handlungsbedarf. Da die Herstellung von Mikroalgen am Standort Norddeutschland im Vergleich mit der internationalen Konkurrenz an subtropischen und äquatorialen Standorten nur saisonal während der warmen Sommermonate mit hoher Sonneneinstrahlung möglich ist, bedarf es zur mittel- und langfristigen Sicherung der Einnahmen für den Primärproduzenten einer Steigerung der Wertschöpfung des Produktes Alge. Dies kann nur durch die Entwicklung neuer, innovativer Endprodukte für den Lebens- oder Futtermittelmarkt und unter Voraussetzung kooperativer Unternehmenskonzepte (Genossenschaft) erreicht werden.

2.8 Kommunikations- und Disseminationskonzept

2020 wurden wöchentlich Besichtigungstermine und Führungen in den Anlagen der Projektpartner ermöglicht. Diese wurden unter anderem von > 50 Landwirten genutzt, welche das Geschäftsmodell der *Spirulina*-Herstellung für Ihre Betriebe in Erwägung zogen. Informationen zum Projekt wurden auf den Webseiten der Deutschen Algen-genossenschaft (<https://www.deutsche-algen.de/>) und einer eigenen Projektwebsite (<https://norddeutsche-spirulina.de/spirulina>) veröffentlicht. Ergebnisse aus dem F&E-Projekt werden in Kürze schriftlich in einem Informationsheft zusammengestellt, welche der Landberatung, Arbeitskreis interessierter Landwirte, zur Verfügung gestellt wird. Darüber hinaus werden 2021 durch den Dienstleister Evergreen Food GmbH mehrere Vorträge über die Projektinhalte gehalten.

Literaturverzeichnis

Barros, Ana I., Ana L. Gonçalves, Manuel Simões, and José C. M. Pires. 2015. 'Harvesting Techniques Applied to Microalgae: A Review'. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 41:1489–1500. doi: 10.1016/j.rser.2014.09.037.

Bhat, V.B., Madyastha, K.M., 2000. C-Phycocyanin: A Potent Peroxyl Radical Scavenger in Vivo and in Vitro. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 275, 20–25. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.3270>

Chaiklahan, R., Chirasuwan, N., Bunnag, B., 2012. Stability of phycocyanin extracted from *Spirulina* sp.: Influence of temperature, pH and preservatives. *Process Biochemistry* 47, 659–664. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.01.010>

Chaiyasitdhi, Atitheb, Wirat Miphonpanyatawichok, Mathis Oliver Riehle, Rungrueng Phattanakun, Werusak Surareungchai, Worasom Kundhikanjana, and Panwong Kuntanawat. 2018. 'The Biomechanical Role of Overall-Shape Transformation in a Primitive Multicellular Organism: A Case Study of Dimorphism in the Filamentous Cyanobacterium *Arthrospira Platensis*' edited by E. Dague. *PLOS ONE* 13(5):e0196383. doi: 10.1371/journal.pone.0196383

Cogne, Guillaume, Bernd Lehmann, Claude-Gilles Dussap, and Jean-Bernard Gros. 2003. 'Uptake of Macrominerals and Trace Elements by the Cyanobacterium *Spirulina Platensis* (*Arthrospira Platensis* PCC 8005) under Photoautotrophic Conditions: Culture Medium Optimization'. *Biotechnology and Bioengineering* 81(5):588–93. doi: 10.1002/bit.10504

Costa, Jorge Alberto Vieira, Barbara Catarina Bastos Freitas, Gabriel Martins Rosa, Luiza Moraes, Michele Greque Morais, and B. Greg Mitchell. 2019. 'Operational and Economic Aspects of *Spirulina*-Based Biorefinery'. *Bioresource Technology* 292:121946. doi: 10.1016/j.biortech.2019.121946

Depraetere, Orily, Guillaume Pierre, Wim Noppe, Dries Vandamme, Imogen Foubert, Philippe Michaud, and Koenraad Muylaert. 2015. 'Influence of Culture Medium Recycling on the Performance of *Arthrospira Platensis* Cultures'. *Algal Research* 10:48–54. doi: 10.1016/j.algal.2015.04.014

Deschoenmaeker, Frédéric, Guillaume Bayon-Vicente, Neha Sachdeva, Orily Depraetere, Juan Carlos Cabrera Pino, Baptiste Leroy, Koenraad Muylaert, and Ruddy Wattiez. 2017. 'Impact of Different Nitrogen Sources on the Growth of *Arthrospira* Sp. PCC 8005 under Batch and Continuous Cultivation – A Biochemical, Transcriptomic and Proteomic Profile'. *Bioresource Technology* 237:78–88. doi: 10.1016/j.biortech.2017.03.145

Drath, Miriam, Nicole Kloft, Alfred Batschauer, Kay Marin, Jens Novak, and Karl Forchhammer. 2008. 'Ammonia Triggers Photodamage of Photosystem II in the Cyanobacterium *Synechocystis* Sp. Strain PCC 6803'. *Plant Physiology* 147(1):206–15. doi: 10.1104/pp.108.117218

Emerson, Kenneth, Rosemarie C. Russo, Richard E. Lund, and Robert V. Thurston. 1975. 'Aqueous Ammonia Equilibrium Calculations: Effect of PH and Temperature'. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 32(12):2379–83. doi: 10.1139/f75-274

Enzing, C., Ploeg, M., Barbosa, M., Sijtsma, L., Vigani, M., Parisi, C., Rodríguez Cerezo, E., Institute for Prospective Technological Studies, 2014. *Microalgae-based products for the food and feed sector: an outlook for Europe*. Publications Office, Luxembourg

Esquivel-Hernández, Diego, Víctor López, José Rodríguez-Rodríguez, Gibrán Alemán-Nava, Sara Cuéllar-Bermúdez, Magdalena Rostro-Alanis, and Roberto Parra-Saldivar. 2016. 'Supercritical Carbon Dioxide and Microwave-Assisted Extraction of Functional Lipophilic Compounds from *Arthrospira Platensis*'. *International Journal of Molecular Sciences* 17(5):658. doi: 10.3390/ijms17050658

Furmaniak, Magda A., Agnieszka E. Misztak, Martyna D. Franczuk, Annick Wilmotte, Małgorzata Waleron, and Krzysztof F. Waleron. 2017. 'Edible Cyanobacterial Genus *Arthrospira*: Actual State of the Art in Cultivation Methods, Genetics, and Application in Medicine'. *Frontiers in Microbiology* 8:2541. doi: 10.3389/fmicb.2017.02541

Gao, Kunshan, Ping Li, Teruo Watanabe, and E. Walter Helbling. 2008. 'COMBINED EFFECTS OF ULTRAVIOLET RADIATION AND TEMPERATURE ON MORPHOLOGY, PHOTOSYNTHESIS, AND DNA OF *ARTHROSPIRA* (*SPIRULINA*) *PLATENSIS* (CYANOPHYTA)'. *Journal of Phycology* 44(3):777–86. doi: 10.1111/j.1529-8817.2008.00512.x

García, J.L., de Vicente, M., Galán, B., 2017. Microalgae, old sustainable food and fashion nutraceuticals. *Microbial Biotechnology* 10, 1017–1024. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12800>

Hongsthong, Apiradee, Matura Sirijuntarut, Peerada Prommeenate, Sritana Thammathorn, Boosya Bunnag, Supapon Cheevadhanarak, and Morakot Tanticharoen. 2007. 'Revealing Differentially Expressed Proteins in Two Morphological Forms of *Spirulina Platensis* by Proteomic Analysis'. *Molecular Biotechnology* 36(2):123–30. doi: 10.1007/s12033-007-0013-5

Jha, D., Jain, V., Sharma, B., Kant, A., Garlapati, V.K., 2017. Microalgae-based Pharmaceuticals and Nutraceuticals: An Emerging Field with Immense Market Potential. *Chem-BioEng Reviews* 4, 257–272. <https://doi.org/10.1002/cben.201600023>

Jiménez, Carlos, Belén R. Cossío, Diego Labella, and F. Xavier Niell. 2003. 'The Feasibility of Industrial Production of *Spirulina* (*Arthrospira*) in Southern Spain'. *Aquaculture* 217(1–4):179–90. doi: 10.1016/S0044-8486(02)00118-7

Kaggwa, Mary Nakabungo, Alfred Burian, Steve Omondi Oduor, and Michael Schagerl. 2013. 'Ecomorphological Variability of *Arthrospira Fusiformis* (Cyanoprokaryota) in African Soda Lakes'. *MicrobiologyOpen* n/a-n/a. doi: 10.1002/mbo3.125

Kebede, Elizabeth. 1997. 'Response of *Spirulina Platensis* (= *Arthrospira Fusiformis*) from Lake Chitu, Ethiopia, to Salinity Stress from Sodium Salts'. *Journal of Applied Phycology* 9(9):551–58. doi: 10.1023/A:1007949021786

Kim, Taeho, Woo-Seok Choi, Bo-Ram Ye, Soo-Jin Heo, Dongkyu Oh, SeongEun Kim, Kwang-Sik Choi, and Do-Hyung Kang. 2018. 'Cultivating *Spirulina Maxima*: Innovative Approaches'. in *Cyanobacteria*, edited by A. Tiwari. InTech.

Magro, Francisco Gerhardt, Ana Cláudia Margarites, Christian Oliveira Reinehr, Gabriel Crivellaro Gonçalves, Grazieli Rodigheri, Jorge Alberto Vieira Costa, and Luciane Maria Colla. 2018. '*Spirulina Platensis* Biomass Composition Is Influenced by the Light Availability and Harvest Phase in Raceway Ponds'. *Environmental Technology* 39(14):1868–77. doi: 10.1080/09593330.2017.1340352

Marquez, Facundo J., Ken Sasaki, Naomichi Nishio, and Shiro Nagai. 1995. 'Inhibitory Effect of Oxygen Accumulation on the Growth of *Spirulina Platensis*'. *Biotechnology Letters* 17(2):225–28. doi: 10.1007/BF00127993

Martínez, Carlos, Olivier Bernard, and Francis Mairet. 2017. 'Maximizing Microalgae Productivity by Shading Outdoor Cultures * *This Work Was Supported by the CONICYT Doctoral Grant (Carlos Martínez), and by the Phycover (ANR-14-CE04-0011) and Purple Sun (ANR-13-BIME-0004) Projects. F. Mairet Is Grateful to "FMJH Program Gaspard Monge in Optimization and Operation Research"'. *IFAC-PapersOnLine* 50(1):8734–39. doi: 10.1016/j.ifacol.2017.08.1725

Mejia-da-Silva, Lauris del Carmen, Marcelo Chuei Matsudo, Ana Lucia Morocho-Jacome, and João Carlos Monteiro de Carvalho. 2018. 'Application of Physicochemical Treatment Allows Reutilization of *Arthrospira Platensis* Exhausted Medium: An Investigation of Reusing Medium in *Arthrospira Platensis* Cultivation'. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 186(1):40–53. doi: 10.1007/s12010-018-2712-8

Mitchell, S. A., and A. Richmond. 1987. 'The Use of Rotifers for the Maintenance of Monocultural Mass Cultures Of *Spirulina*'. *Biotechnology and Bioengineering* 30(2):164–68. doi: 10.1002/bit.260300205

Noor, Parvin, Nasima Akhtar, John Liton Munshi, and Sajeda Begum. 1970. 'Spirulina Culture in Bangladesh XII. Effects of Different Culture Media, Different Culture Vessels and Different Cultural Conditions on Coiled and Straight Filament Characteristics of *Spirulina*'. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research* 43(3):369–76. doi: 10.3329/bjsir.v43i3.1152

Peng, Licheng, Christopher Q. Lan, and Zisheng Zhang. 2013. 'Evolution, Detrimental Effects, and Removal of Oxygen in Microalga Cultures: A Review'. *Environmental Progress & Sustainable Energy* 32(4):982–88. doi: 10.1002/ep.11841

Richmond, A., E. Lichtenberg, B. Stahl, and A. Vonshak. 1990. 'Quantitative Assessment of the Major Limitations on Productivity Of *Spirulina Platensis* in Open Raceways'. *Journal of Applied Phycology* 2(3):195–206. doi: 10.1007/BF02179776

Richmond, Amos, and Johan U. Grobbelaar. 1986. 'Factors Affecting the Output Rate of *Spirulina Platensis* with Reference to Mass Cultivation'. *Biomass* 10(4):253–64. doi: 10.1016/0144-4565(86)90002-8

Richmond, Amos, and Hu Qiang. 1997. 'Principles for Efficient Utilization of Light for Mass Production of Photoautotrophic Microorganisms'. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 63–65(1):649–58. doi: 10.1007/BF02920463

Romay, C., Armesto, J., Ramirez, D., González, R., Ledon, N., García, I., 1998. Antioxidant and anti-inflammatory properties of C-phycoyanin from blue-green algae. *Inflammation Research* 47, 36–41. <https://doi.org/10.1007/s000110050256>

Sachdeva, Neha, Giuseppe Giambarresi, Laurent Poughon, Juan Carlos Cabrera, Baptiste Leroy, Christophe Lasseur, Claude-Gilles Dussap, and Ruddy Wattiez. 2018. 'Assessment of Transient Effects of Alternative Nitrogen Sources in Continuous Cultures of *Arthrospira* Sp. Using Proteomic, Modeling and Biochemical Tools'. *Bioresource Technology* 267:492–501. doi: 10.1016/j.biortech.2018.07.062

Sili, Claudio, Giuseppe Torzillo, and Avigad Vonshak. 2012. 'Arthrospira (*Spirulina*)'. Pp. 677–705 in *Ecology of Cyanobacteria II*, edited by B. A. Whitton. Dordrecht: Springer Netherlands

Singh, Gulab, and S. K. Patidar. 2018. 'Microalgae Harvesting Techniques: A Review'. *Journal of Environmental Management* 217:499–508. doi: 10.1016/j.jenvman.2018.04.010

Tang, 2011. Vitamin A, Nutrition, and Health Values of Algae: Spirulina, Chlorella, and Dunaliella. *Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences* 1. <https://doi.org/10.6000/1927-5951.2011.01.02.04>

Torzillo, Giuseppe, and Avigad Vonshak. 1994. 'Effect of Light and Temperature on the Photosynthetic Activity of the Cyanobacterium Spirulina Platensis'. *Biomass and Bioenergy* 6(5):399–403. doi: 10.1016/0961-9534(94)00076-6

Vonshak Avigad. 1997. *Spirulina Platensis Arthrospira: Physiology, Cell-Biology And Biotechnology*. 1. London: Taylor & Francis

Vonshak, Avigad, Supat Laorawat, Boosya Bunnag, and Morakot Tanticharoen. 2014. 'The Effect of Light Availability on the Photosynthetic Activity and Productivity of Outdoor Cultures of Arthrospira Platensis (Spirulina)'. *Journal of Applied Phycology* 26(3):1309–15. doi: 10.1007/s10811-013-0133-1

Vonshak, Avigad, and Amos Richmond. 1988. 'Mass Production of the Blue-Green Alga Spirulina: An Overview'. *Biomass* 15(4):233–47. doi: 10.1016/0144-4565(88)90059-5

Wang, Zhi Ping, and Ying Zhao. 2005. 'MORPHOLOGICAL REVERSION OF SPIRULINA (ARTHROSPIRA) PLATENSIS (CYANOPHYTA): FROM LINEAR TO HELICAL1: SPIRULINA FROM LINEAR TO HELICAL'. *Journal of Phycology* 41(3):622–28. doi: 10.1111/j.1529-8817.2005.00087.x

Yadav, Anu, Pieter Monsieurs, Agnieszka Misztak, Krzysztof Waleron, Natalie Leys, Ann Cuypers, and Paul J. Janssen. 2019. 'Helical and Linear Morphotypes of Arthrospira Sp. PCC 8005 Display Genomic Differences and Respond Differently to 60 Co Gamma Irradiation'. *European Journal of Phycology* 1–18. doi: 10.1080/09670262.2019.1675763.