



Institut für Getreideverarbeitung GmbH

Abschlussbericht

zum DBU-Projekt der Förderinitiative »Nachhaltige Aquakultur«

Entwicklung eines Konzeptes und Schaffung von Einrichtungen zur nachhaltigen Erzeugung fettsäurereicher Mikroalgen zur Fischölsubstitution und Futtermittelaufwertung

Kurztitel: **Fischölsubstitution durch Lipidalgen**
AZ: **28168-34**

Projektlaufzeit: 1.1.2012 - 31.12.2014
Berichtszeitraum: 1.1.2012 – 31.12.2014
Projektpartner: TU TERRA URBANA Umlandentwicklungsgesellschaft mbH
SpFM Spezialfuttermittelwerk Beeskow GmbH

Projektleiter/ Autoren	IGV: R. Storandt TU: J. Dautz/ J. Dinske SpFM: W. Lehmann
Datum:	29.05.2015



Dr. P. Kretschmer
Geschäftsführer

Projektkennblatt

Inhaltsverzeichnis

Verzeichnis verwendeter Symbole und Abkürzungen

- 1. Kurzfassung**
- 2. Anlass und Zielsetzung des Projektes**
- 3. Darstellung der Arbeitsschritte und angewandten Methoden**
 - 3.1 Methoden zur Analyse der Kultivierungs- und Integrations-Bedingungen (AP1.1: TU/ IGV)
 - 3.2 Arbeitsschritte und Methoden: Mikroalgen-Screening, Inokulum-, Biomasse-Produktion und –Analytik (AP1.2-1.5+2.3: IGV)
 - 3.3 Arbeitsschritte und Methoden: Entwicklung, Betrieb des PBR3000 (AP2.1-2.3: IGV) und Integration in die Fischeaufzucht (AP2.1-2.3: TU/ IGV)
 - 3.4 Arbeitsschritte und Methoden zur Entwicklung eines integrierbaren Algen-Ernteverfahrens (AP2.4: TU)
 - 3.5 Arbeitsschritte zur Entwicklung von Rezepturen, Dosier-Technologie und Herstellung der Versuchsfutterchargen (AP3+4: SpFM/ IGV)
 - 3.6 Arbeitsschritte und Methoden zur Durchführung der Fütterungsversuche (AP5:TU/ IGV)
- 4. Ergebnisse**
 - 4.1 Analyse der Kultivierungs- und Integrations-Bedingungen (AP1.1: TU/ IGV)
 - 4.2 Mikroalgen-Screening, Analytik, Inokulum- und Biomasseproduktion (AP1.2-1.5+2.3: IGV)
 - 4.3 Entwicklung, Betrieb des PBR3000 (AP2.1-2.3: IGV) und Integration in die Fischeaufzucht (AP2.1-2.5: TU/ IGV)
 - 4.4 Entwicklung eines integrierbaren, effektiven, wertstoffschonenden Verfahrens zur Algenbiomasse-Ernte (AP2.4-2.5: TU)
 - 4.5 Entwicklung von Rezepturen, wertstoffschonender Dosier-Technologie und Herstellung der Versuchsfutterchargen (AP3+4: SpFM/ IGV)
 - 4.6 In vivo Testung der Versuchsfutterchargen - Fütterungsversuche (AP5: TU/ IGV)
- 5. Diskussion**
- 6. Öffentlichkeitsarbeit**
- 7. Fazit**
- 8. Anlagen**

Verzeichnis verwendeter Symbole und Abkürzungen

Symbol	Einheit	Erläuterung
CO ₂	%	Kohlendioxid- Konzentration
E		Extinktion; Maß der optischen Dichte
E750/ 680		E gemessen als Extinktion bei Wellenlängen 750 nm/680 nm
FS	% i. T.	Fettsäure
FQ		Futterquotient
O ₂	%	Sauerstoff- Konzentration
OD	%	optische Dichte
T	° C	Temperatur
TM	g bzw. g/ l	Trockenmasse
V- Tag	d	Versuchstag
ω ₃ / ω ₆	% i. T.	Omega 3- /Omega 6- Fettsäuren
% i. T.	%	prozentualer Gehalt in der Trockenmasse

Abkürzungen	Erläuterung
AP	Arbeitspaket
BM	Biomasse
FW	Fisch- Kreislaufwasser
IBAU	Innovatives Büro für Aquakultur und Umwelttechnik, Elsholz
IGV	Institut für Getreideverarbeitung GmbH
MW	Mittelwert
PBR	Photobioreaktor
sp.	Spezies; Art
SpFM	Spezialfuttermittelwerk Beeskow GmbH
Stk	Stück
T	Tier
TU	TERRA URBANA Umlandentwicklungsgesellschaft mbH
V	Versuchs- Variante

1. Kurzfassung

Der weltweit wachsende Bedarf an protein- und fettsäurereichen Fischen für die menschliche Ernährung und der damit verbundene steigende Rohstoff- Bedarf einerseits und die rasante Entwicklung der Aquakultur mit ungenutzten umweltbelastenden Nährstofffrachten andererseits waren Anlass für das Projekt.

Zielstellung war die Entwicklung von Konzepten, Techniken und technologischen Lösungen zur Verwertung der Nährstofffrachten für die Produktion ernährungsphysiologisch wertvoller Mikroalgen und deren Nutzung zur Substituierung von Fischöl und -mehl im Fischfutter.

Entsprechend dem detaillierten Arbeits- und Zeitplan wurden die Nährstofffrachten analysiert, ein Fischwasser- Algenscreening und - adaptierung, Fett- und Aminosäure- Analytik durchgeführt.

Parallel dazu wurden Algenkultivierungs- und - erntetechniken entwickelt, in den Aquakulturkreislauf integriert, Mikroalgenbiomasse produziert, Futterrezepturen für *Clarias gariepinus* entwickelt und in vivo Fütterungsversuche durchgeführt.

Selenastrum rinoi wurde von 8 erfolgversprechenden Mikroalgenstämmen als Projekt- Alge ausgewählt, da sie sich gut an das Fischwasser adaptierte, sehr gute Wachstumsleistungen, Proteingehalte und den höchsten Fettgehalt erreichte.

Die Kultivierbarkeit von *Selenastrum r.* im Freiland- Photobioreaktor PBR3000 mit größerem Glasrohrdurchmesser und Scherkräften, unter den Bedingungen des Elsholzer Freilands mit suboptimalen, zum Teil modifizierten Fisch- Kreislaufwasser wurde nachgewiesen.

Selenastrum r. konnte die Nährstofffrachten des Fischwassers assimilieren und für die Synthese fettreicher Biomasse verwerten.

Der Projektpartner TU mbH integrierte die entwickelte kleintechnische Flokkulations-Filtrations- Anlage und erntete die *Selenastrum* Biomasse.

Durch den Projektpartner SpFM GmbH wurden Rezepturen, in denen Fischöl und Fischmehl reduziert und *Selenastrum*- Frisch- bzw. Trockenbiomassen zugesetzt wurden, entwickelt.

Es wurden insgesamt 12 Fischöl- und Fischmehl- reduzierte Rezepturen mit verschiedenen *Selenastrum*, *Chlorella* und *Spirulina* Biomassen produziert.

Diese wurden in drei in vivo Fütterungstests mit 1.200 *Clarias gariepinus* Jungtieren getestet. Dazu wurde eine Aquarium- Kreislaufanlage mit zwanzig Becken a 50 Liter und mechanisch-biologischer Reinigungsstufe aufgebaut und eine Produktionsanlage der Fa. Fischzucht Abtshagen GmbH & Co. KG mit sechs Becken a 1.200 Liter genutzt.

In der Aquarium- Anlage wurden zwei Fütterungsversuche mit 50 bzw. 80 Tieren pro Testfutter bis zu 32 g Endgewicht, in Abtshagen ein Praxis- Fütterungsversuch mit 200 Tieren pro Testfutter bis zur Schlachtreife durchgeführt.

Einige *Selenastrum*- Varianten übertrafen die Kontrollfutter- Varianten. Die Futtervarianten mit 9 und 14 % *Selenastrum* erreichten um 8,2 % und 24 % höheren Zuwachsraten.

Im Praxis- Versuch Abtshagen wurde ein 14 %- iges Algenfutter gegen zwei Kontrollen getestet. Das Algenfutter zeigte positive Effekte beim Fressverhalten, Zuwachs pro Tier und den Schlachtausbeuten.

Der Zuwachs pro Tier war im Vergleich zum Beeskow- Kontrollfutter um 2,5 %, im Vergleich zum Skretting- Futter um 6,9 % höher.

Der Parameter Zuwachs der Gesamtgruppe war beim Algenfutter um 4,5 % höher als der der Beeskow- Kontrolle, allerdings geringer als bei der Skretting- Kontrolle, die auch die niedrigste Mortalität und die beste Futterverwertung aufwies.

Die Probeschlachtungen und Verkostungen zeigten, dass die Tiere, die mit der Algenvariante gefüttert wurden, mehr subkutanes und Intestinalfett und eine gelbliche Filetfärbung aufwiesen. Die sensorischen Eigenschaften der Fischfilets waren unbeeinträchtigt durch die Algen- dosierung und wurden sehr gut bewertet.

Mit dem Projekt konnte nachgewiesen werden, dass die entwickelten Geräte und Technologien für die integrierte Verwertung ungenutzter Nährstofffrachten durch Algen- Kultivierung und - Abtrennung geeignet sind. Die Kultivierung von *Selenastrum rinoi* im technischen Maßstab mit Fischzuchtwasser ist möglich.

Es wurde gezeigt, dass *Selenastrum*- Biomasse ein ernährungsphysiologisch wertvoller Futter- Rohstoff für *Clarias gariepinus* ist, keine antinutritiven Effekte ins Futter einbringt und Fischmehl und Fischöl teilweise substituieren kann.

Darüber hinaus wurde mit Schlachtungen, Verkostungen und chemischen Analysen bestätigt, dass durch Fütterung von *Selenastrum*, *Chlorella* und *Spirulina* modifizierten Futtermitteln protein- und fettsäurereiche, sensorisch wertvolle Fisch- Lebensmittel produziert werden können.

Die *Selenastrum*- Biomasse wurden auch für die Entwicklung neuer Extrakte für die Kosmetikindustrie eingesetzt. Durch die projektgemäßen Untersuchungen wurden Daten für *Selenastrum* Infomaterial und Exposé bereitgestellt.

Die IGV GmbH und TU mbH können in zukünftigen Projekten innovative Technik und technologische Lösungen zur Algenkultivierung und -abtrennung nutzen und bereitstellen.

Die Vermarktung des Aquakultur- PBR3000 wird in Zusammenarbeit mit der Firma bbi biotech GmbH realisiert.

Das Spezialfuttermittelwerk Beeskow kann die getesteten Rezepturen ins Portfolio übernehmen und auf das erarbeitete *Selenastrum*- Datenmaterial und know how des IGV für informations- und verkaufsfördernde Maßnahmen zurückgreifen.

Der Verkauf von Algenbiomassen insbesondere *Selenastrum*, *Chlorella* und *Spirulina*, zukünftig aber auch anderer protein- und fettreicher Mikroalgen als ernährungsphysiologisch wertvoller Rohstoff für Fischfutter kann mit entsprechender Öffentlichkeitsarbeit und Marketingkonzepten forciert werden.

2. Anlass und Zielsetzung des Projektes

Die Aquakultur ist ein expandierender Wirtschaftszweig. Ihre Entwicklung zum am stärksten wachsenden Bereich der Welt-Nahrungsgüterproduktion geht einher mit dem wachsenden Bedarf an fischgerechtem Futter bei begrenzt verfügbarem Fischmehl und Fischöl und der Anforderung Fischexkretionen und Prozesswasser umweltgerecht zu verwerten.

Diese Problemstellungen waren Anlass des Projektes.

In der Aquakulturproduktion werden in einigen Regionen Mikroalgen genutzt. Weltweit forcieren Biotechnologen Projekte, um die Nutzung des Potentials von Mikroalgen voranzutreiben. Die Bedeutung der Mikroalgen als Primärproduzent in der aquatischen Nahrungskette, Kohlenstoff- und Nährstoff- Assimilierer, Sauerstoffproduzent und Lieferant essentieller Nähr- und Rohstoffe ist unbestritten. Seit den 60- er Jahren haben sich Produktionsvolumina, Applikationsvielfalt und das naturwissenschaftliche und wirtschaftliche Interesse an Mikroalgen kontinuierlich entwickelt.

Das Projekt zielte darauf, mit Hilfe der Mikroalgenbiotechnologie einen Beitrag zur Lösung der genannten Aquakulturprobleme zu leisten.

Es sollten Technologien zur umweltgerechten Erzeugung fettsäurereicher Mikroalgenbiomasse für eine Fischöl- bzw. -mehl- Substitution entwickelt und optimiert werden.

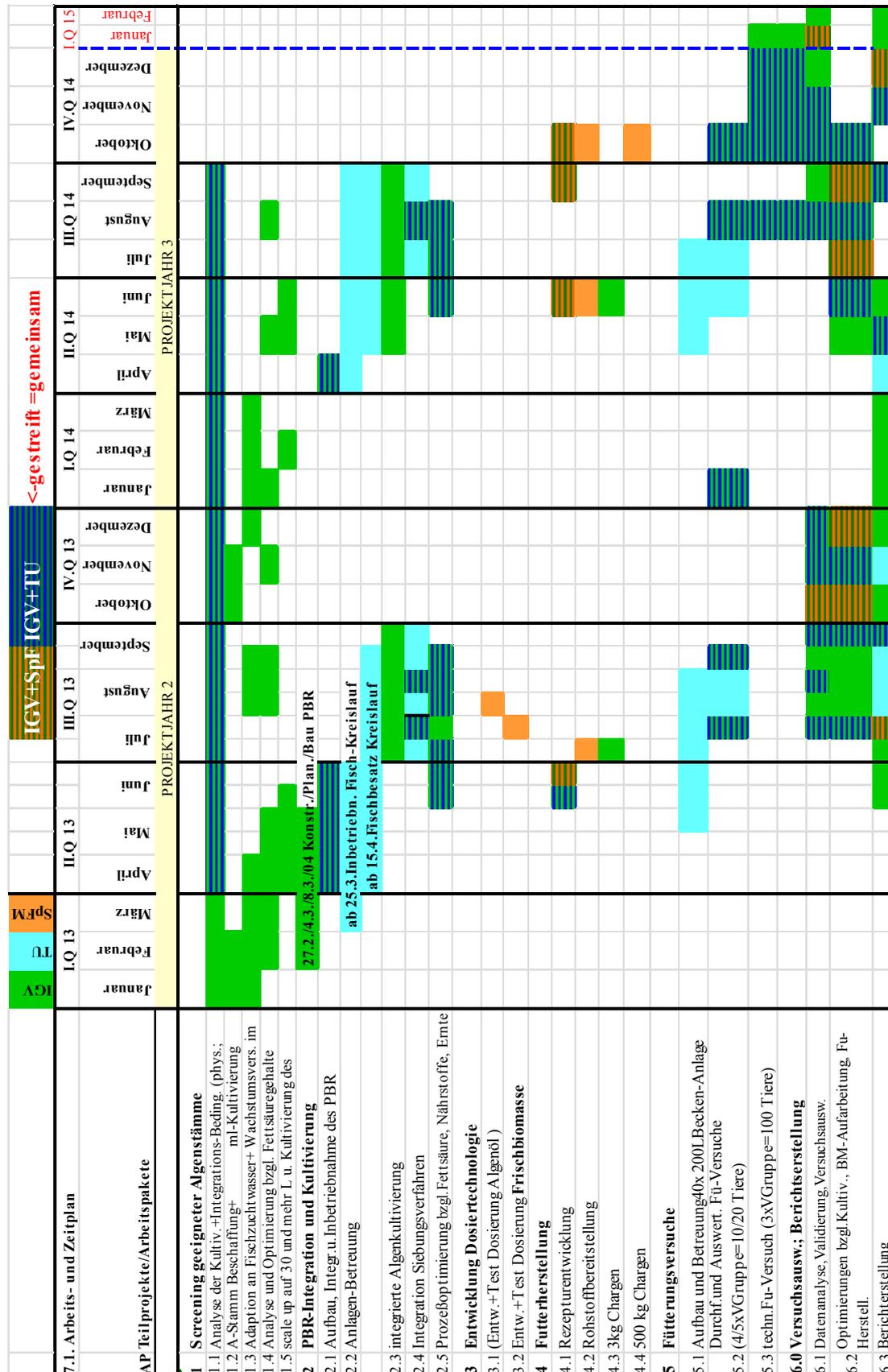
Das beinhaltet

- das Screening von Mikroalgen, die sich an Fischproduktionswasser adaptieren, Nährstofffrachten effizient und unter wechselnden und extremen Bedingungen für die Biosynthese in fett- und proteinreiche, ernährungsphysiologisch geeignete wertvolle Biomasse verwerten (AP1),
- die Entwicklung und den Bau einer mit Fischproduktionswasser betreibbaren Algenkultivierungsanlage – eines integrierbaren PBR (AP2),
- Integration des PBR in eine Fischzucht-Kreislaufanlage (AP2),
- die Verwertung der Nährstofffrachten der Fischzucht für das Wachstum der Algenzellen und deren physiko-chemische, biologische und Nährwert- Analyse (AP2),
- die Entwicklung eines integrierbaren, effizienten, wertstoffschonenden Verfahrens zur Algenbiomasse-Ernte (AP2),
- die Entwicklung angepasster Rezepturen, einer wertstoffschonenden Algendosierung und die Produktion neuartiger Futtermittel (AP3; AP4) und
- die in vivo Testung der entwickelten Algen-Versuchsfuttermittel (AP5).

3. Darstellung der Arbeitsschritte und der angewandten Methoden

Die Arbeitsschritte sind in Tab. 1 dargestellt.

Tab. 1 Arbeits- und Zeitplan zur Entwicklung der integrierten Algenkultivierung und Fischöl-Substitution



3.1 Methoden zur Analyse der Kultivierungs- und Integrations-Bedingungen

(AP1.1: TU/ IGV)

Die Analyse und Berücksichtigung biotischer und abiotischer Bedingungen sind für die Fisch- und Algenaufzucht, insbesondere auch bei der Integrierung beider Technologien unerlässlich. Physiko- chemische Analysen von Fisch-Kreislaufwasser und Algensuspensionen ermöglichen die Steuerung der Wachstumsprozesse der unterschiedlichen Arten.

Die wichtigsten online oder offline ermittelten Parameter und benutzten Methoden waren:

- Temperatur und pH-Werte (Knick-pH- Meter, 766 Calimatic Potentiometer)
- Nitrat-, Phosphat-, Nitrit- und Ammonium- Gehalte (TU: IC-Methoden [DIN EN ISO10304; 6878; 14911]; IGV: WTW Test-Kits, Photometer photo Lab S12)
- Sauerstoff (IGV: Online O₂-Sensor PreSens FIBOX3)
- Leitfähigkeit (mS/cm (METTLER TOLEDO FIVEEasy FE30))
- Strahlungsstärke (μmol/m²*s) (Strahlungsmessgerät LICOR LI-189)
- Trockenmasse der Algensuspension (g/ l) (modifizierte gravimetrische Standardmethode)
- BSB 5 [DIN 38409H51]
- GKZ, Hefen, Schimmel, coliforme Keime (entsprechend ASU [L06.00-18, u.a.])

3.2 Arbeitsschritte und Methoden: Mikroalgen- Screening, Inokulum-, Biomasse-Produktion und - Analytik (AP1.2-1.5+2.3: IGV)

Für das Screening wurde nach geeigneten Algenspecies recherchiert, verschiedene Fischprozesswasser physiko- chemisch und mikroskopisch untersucht und in Screening- und Kultivierungs- Versuchen verwendet. Neben den Fischprozesswassern wurden die Standard-Nährlösungen ½Tamyia, Klötze und BG11 und deren Modifizierungen benutzt.

Entscheidungskriterien waren Adaptionsfähigkeit an das suboptimale Fischwasser-Nährmedium, die Wachstumsraten. Im Weiteren wurden Protein-, Fettsäure- und Aminosäure-Gehalte einbezogen.

Die wichtigsten beim Screening, der Inokulum- Produktion, der integrierter Algenkultivierung, der Futtermittel- Herstellung und den Fütterungsversuchen ermittelten Parameter, angewendeten Geräte und Methoden waren:

- Temperatur und pH-Werte durch on- und off- line- Messungen (Knick-pH- Meter, 766 Calimatic Potentiometer DAB 10 V.6.3.1)
- optische Dichte bei einer Wellenlänge von $\lambda=750$ nm, 680 nm mit dem Spektralphotometer Spectronics 20 Genesys Fa. Spectronic Instruments
- Strahlungsstärke und optische Dichte mit dem mobilen Strahlungsmessgerät LICOR LI-189
- optische Dichte in % mit den Inline- Photometer der Fa. Opek
- Trockenmasse der Algensuspension in g/L mit modifizierter gravimetrischer Standardmethode: 2x10ml Suspension zentrifugieren, waschen, zentrifugieren, bei 105° C bis zur Gewichtskonstanz trocknen (Eppendorf Centrifuge 5702; Trockenschrank T6 Heraeus Instruments)
- Trockenmasse von Konzentraten oder Pulvern mit dem Moisture Analyser MA 30 der Fa. Sartorius bei 105°C
- Mikroskopie und Photographie mit Geräten der Fa. Leica (DM5500B) und Nikon
- Nitrat-, Phosphat- und Nitrit- Gehalte in der Algensuspension mit den WTW Testkits und dem Photometer photo Lab S12

- Biomasseaufschluss/ Probeneinengung mit Labor- Retschmühle MM301/ Rotationsverdampfer Büchi Rotavapor R-210
- Gesamtfett mit Extraktion nach Weibull/ Stoldt (ASU L 17.00-4; VD LUFA)
- Rohprotein mit Kjeldahl- Bestimmer (ASU L 17.00-15)
- Gesamtlipid-, Fettsäuregehalt und Fettsäurespektren mit saurer Methylierung (1 mol HCL/ Methanol) und Gaschromatographie (Bligh&Dyer, 1959, modifiziert)
- Mineralstoffe durch Veraschung, Muffelofen 500°C (ASU L 17.00-3).

Folgende Kultivierungssysteme wurden verwendet:

- 100 ml Erlenmeyerkolben und 200 ml Zellkulturflaschen auf Schüttlern und Lichttischen
- 2 Liter Doppelmantel-Standzylinder auf Magnetrührern
- 90 Liter Photobioreaktor (PBR90)
- 500 Liter Photobioreaktor (PBR500)
- 4.000 Liter Photobioreaktor (PBR400)
- 3.500 Liter integrierbarer Photobioreaktor (PBR3000).

3.3 Arbeitsschritte und Methoden: Entwicklung, Betrieb des PBR3000 (AP2.1-2.3:IGV) und Integration in die Fischaufzucht (AP2.1-2.3: TU/ IGV)

Der Photobioreaktor wurde für die Nutzung im Freiland, die Integrierung in Kreislaufanlagen und die Algenkultivierung mit nährstoffreichem Kreislaufwasser konzipiert.

Er wurde modulweise, transportfähig, passgenau für einen 40- foot- Seecontainer, erweiterbar und modifizierbar konstruiert (Abb. 1). Der Glasrohr- Innen- Durchmesser wurde auf 59,4 mm vergrößert (Standard bei bisherigen IGV- PBRs= 49 mm), um das photosynthetisch aktive Volumen pro m² Grundfläche zu erhöhen. Außerdem wurde mit der Schott AG eine neue reversible Glasrohrverbindungstechnik entwickelt (Abb. 33).

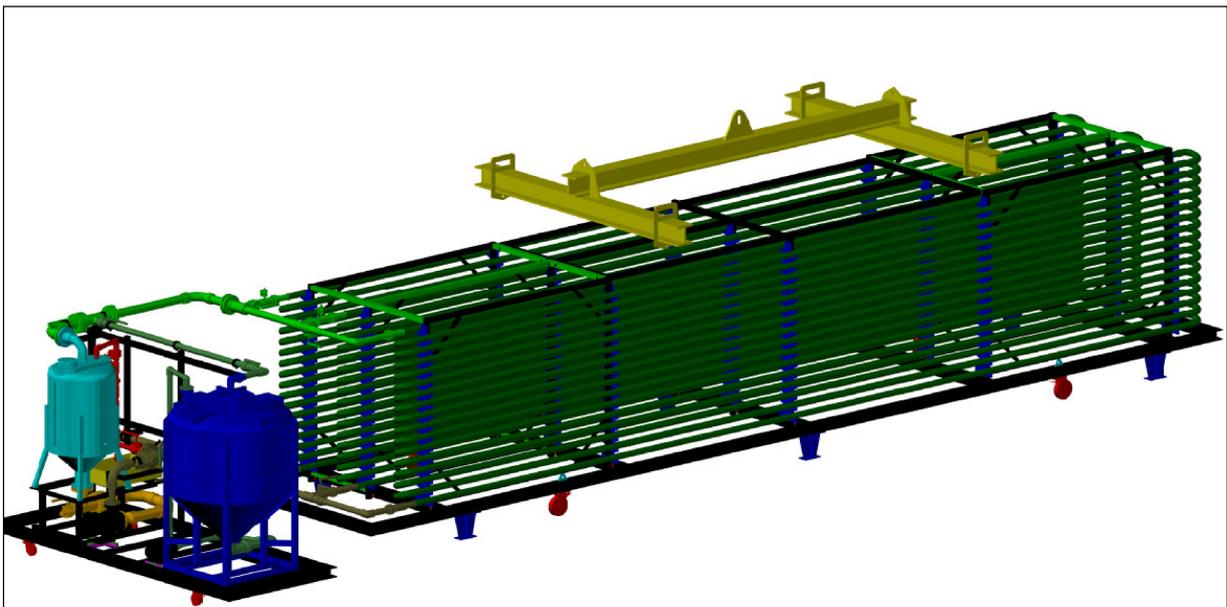


Abb. 1 Schematische Darstellung des integrierbaren PBR3000

Der vollständig aufgebaute PBR3000 wurde nach Drucktests und Wasserfahrten im IGV modulweise nach Elsholz transportiert, innerhalb weniger Stunden im Freiland neben dem Gewächshaus mit der Fischeaufzucht installiert und zur Testung freigegeben.

Die Fisch-Kreislaufanlage zur Aufzucht von Karpfen (*Cyprinus carpio*) bestand aus zwei modularen, voneinander getrennt arbeitenden Teilkreisläufen, ergänzt mit zwei Zwischenspeichern. Das zirkulierende Volumen betrug ca. 3.800, das der Algenkultivierung 3.500, das photosynthetisch aktive 3.000 Liter (Tab. 2).



Abb. 2 Aquakulturkreislaufanlage mit 2 separaten Modulen



Abb. 3 Modul bestehend aus 2 Fischbecken, Sedimentationsstufe und Belüftungsbecken



Abb. 4 Prozesswasser- Zwischenspeicher



Abb. 5 Fischwasser- Auffangbecken im Innenbereich

Die Integrierung der Algenkultivierung erfolgte über die in Abb. 6 skizzierten Stoffströme „Wasser und gelöste Nährstoffe“.

Tab. 2 Daten der Versuchs- Fisch- und Algen- Aufzuchtanlagen in Elsholz

Bauteil	Menge [Stück]	Größe	Volumen (l)	Gesamt-Volumen (l)
Modul 1				
Belüftungsbecken	1	57cm*57cm*84cm	200	200
Sedimentfalle	1	57cm*57cm*84cm	200	200
Auffangbehälter	1	ø 64cm, H: 87cm	200	200
Fischbecken	2	110cm*110cm*80cm	650	1300
Tauchpumpe	2			
Kompressor	1			
Helix - Filtermaterial			200	
Verbindungsrohre	ca. 8 m	ø 50mm		
Ventile	5			
Unterbau	3			
Gesamt-Modul 1				1.900
Gesamt-Modul 2				1.900
Fisch-Kreislauf				3.800
Zwischen-Speicher 1	1	200cm*82cm*44cm		700
Zwischen-Speicher 2	1	100cm*100cm*70cm		700
Fischwasser-Speicher				1.400
PBR3000				
Photosynthese-Glasrohr-Modul				3.000
Versorgungs-Modul+Rohre (Mess-u. Steuerung)				500
Algenkultivierung				3.500
Algenernte-Speicher				1.000

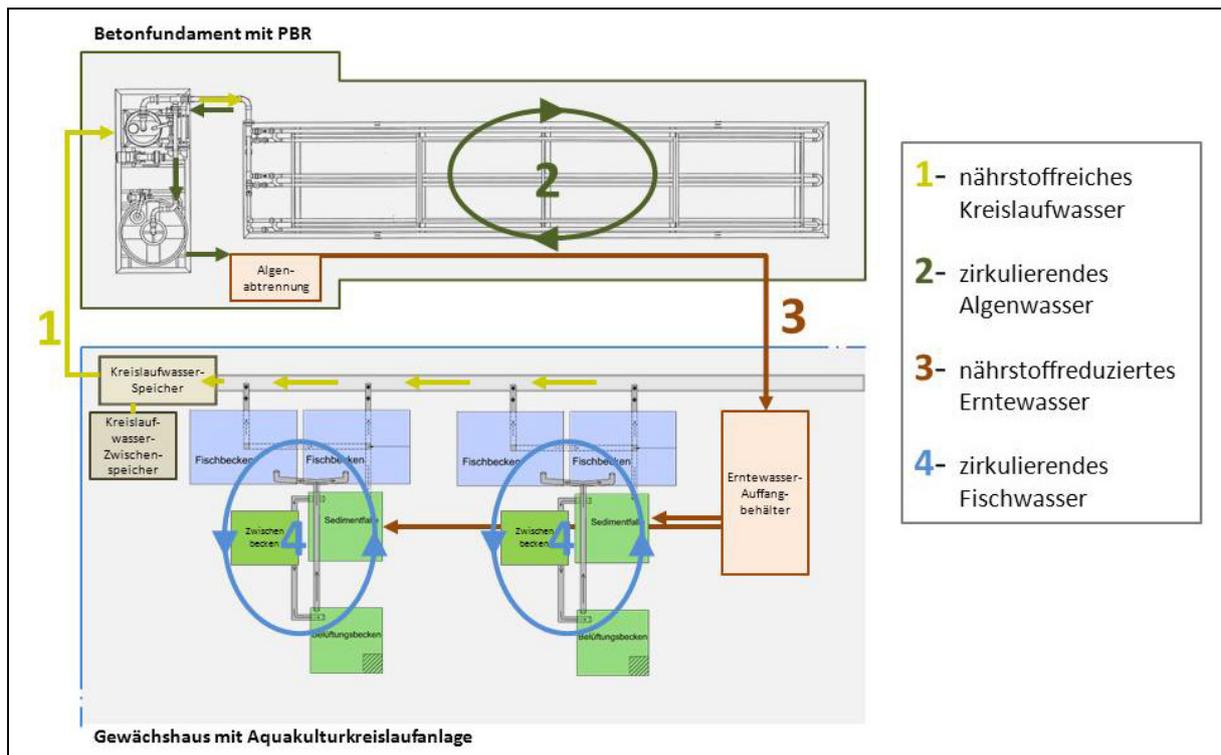


Abb. 6 Schematischer Aufbau der Aquakulturkreislaufanlage bestehend aus integrierter Fisch- und Algenaufzucht

Für die Abtrennung der Algenzellen von dem nährstoffreduzierten Erntewasser wurden durch TU neue Erntetechnologie- Varianten entwickelt. (siehe 3.4; 4.5). Bei im IGV durchgeführten Biomassernten wurden Westfalia- Separatoren (SA4 und KA1) eingesetzt.

Die geernteten Algenbiomassen wurden für Analysen und für die Weiterverarbeitung zu den Versuchsfutter- Varianten eingefrosten, gefrier- bzw. sprühgetrocknet.

3.4 Arbeitsschritte und Methoden zur Entwicklung eines integrierbaren Algen-Ernteverfahrens (AP2.4: TU)

Die Entwicklung eines integrierbaren, wirtschaftlichen, wertstoffschonenden und ökologischen Algen-Ernteverfahrens wurde mit Literatur-, Patent- und Marktrecherchen zum Stand der Technik (Anlage1) und der Entwicklung entsprechender Versuchspläne, Modellanlagen und einer kleintechnischen, zweistufigen Flokkulations- Filtrations- Anlage realisiert.

Die Tests wurden mit Kultivierungssuspensionen der im Screening (AP1) ausgewählten Algenart *Selenastrum r.* durchgeführt. Für den Labormaßstab wurden sie aus der IGV- und Elsholz- Kultivierung bereitgestellt. Für die Erprobung der kleintechnischen Flokkulations- Filtrations- Anlage wurde diese vor Ort in Elsholz aufgebaut und direkt aus dem PBR3000 mit Algensuspension versorgt. Zum Ende der Untersuchungen wurde eine Mischpopulations- Suspension getestet.

Die für die Abtrennversuche eingesetzten Algensuspensionen, technologischen Bedingungen und Zielstellungen waren charakterisiert bzw. definiert durch:

1. Alge: *Selenastrum r.*, 2- 12 µm, sichelförmig, einzeln
2. Biotrockenmassekonzentration der Ausgangssuspension: 0,7- 2,0 g/l
3. Ziel- Trockenmassekonzentration: 100- 150 g/l
4. wöchentliches Erntesuspensionsvolumen: 800- 1.700 l
5. Randbedingungen für die Biomasse- Ernte:
möglichst schnell, bei niedrigen Temperaturen, zellschonend
d.h. geringe Scherkrafteinwirkung,
6. arbeitstechnisch: vorzugsweise kleine, mobile bis semimobile Anlagen mit leichter Bedienbarkeit, kurze Lieferfristen
7. ökonomisch: niedrige Anschaffungs- und Betriebskosten.

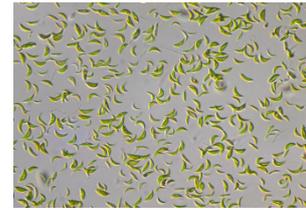


Abb. 7 *Selenastrum*-Suspension

Im Resultat der Recherchen wurde eine Flokkulation in Kombination mit anderen Techniken als geeignet ausgewählt, so dass die ersten

- Flockungsversuche mit dem Chitosanprodukt „ALGOWANE“ (Fa. Biowaba) und
- Filterversuche mit Bogensieb (150-300 µm) in Kombination mit Beutelfiltern (5-50 µm; Polyamid Nylon Monofil)

realisiert wurden.

Die Bewertung der Trennergebnisse erfolgte visuell, mit Fotodokumentation, Trockenmassebestimmungen und Versuchszeitmessungen.

Da die Flockungsgrade stark variierten, die Flockungen nicht beständig waren und die ALGOWANE- Variante im Fütterungsversuch das schlechteste Ergebnis hatte, wurden im Projektjahr 2014 Abtrenn- Versuche mit polymeren Flockungsmitteln der Fa. HeGo Biotec GmbH der Produktreihen Superfloc[®]C, Superfloc[®]C_HMW; Superfloc[®]SD und GoFloc[®] C durchgeführt.

3.5 Arbeitsschritte zur Entwicklung von Rezepturen, Dosier-Technologie und Herstellung der Versuchsfutterchargen (AP3+4: SpFM/IGV)

Durch den Fischfutter- Spezialisten des SpFM Beeskow wurden für *Clarias gariepinus* Jungfische die Basisrezepturen ohne Algen, anschließend verschiedene *Selenastrum*- Varianten entwickelt. Die Art der Rohstoffe und Konzentration der einzelnen Komponenten wurden den Anforderungen der Fischart, dem Alter der Tiere und den technologischen Anforderungen der Extruder entsprechend ausgewählt. Für im Screening einbezogene Algenarten wurden Nährwertanalysen durchgeführt und bei der Rezeptur- Berechnung berücksichtigt.

Die Futtermittelausgangserzeugnisse für alle Fütterungsversuche außer der Algenbiomasse wurden durch das SpFM Beeskow bereitgestellt.

Die kleinvolumigen 4- 5 kg Versuchsfutter- Chargen (vier Varianten 2013, fünf Varianten 2014) wurden im IGV mit Labor- Waagen, - mischern, Trockenmasse-Schnellbestimmer und dem BRABENDER Labor- Einschnecken- Extruder 19/20 D (Abb. 8) hergestellt.

Zwei 500 kg Chargen (Kontroll- und Algen- Variante) für das Fütterungs- Scale up wurden auf dem SpFM- Produktionsextruder hergestellt, eine dritte Kontrollvariante (Fa. Skretting) durch die Fischzucht Abtshagen GmbH bereitgestellt.

Angebote der Fa. Bühler Schweiz und Mühlenmontage Dresden waren Basis für die technischen und finanziellen Planungen des SpFM für eine neue algenschonende Dosier-technologie.



Abb. 8
BRABENDER-
Labor-Extruder

3.6 Arbeitsschritte und Methoden zur Durchführung der Fütterungsversuche (AP5: TU/ IGV)

Fütterungsversuche Elsholz (20 x 50 Liter Becken)

Für die kleinmaßstäbigen Fütterungsversuche wurde im Gewächshaus in Elsholz eine Versuchsanlage installiert:

- 20 Becken mit je 50 Liter Wasser/ Becken (Abb. 9),
- Anordnung der Becken in zwei Reihen und zwei Etagen,
- in einem Kreislauf zirkulierender Wasserkörper mit integrierter Wasseraufbereitung
- durch Wasser-Kreislauf Gewährleistung annähernd gleicher Bedingungen in allen Becken, wie Sauerstoffkonzentration, Temperatur, pH- Wert und Nährstofffracht,
- tages- und jahreszeitlich bedingte Schwankungen des Gewächshaus- Mikroklimas insbesondere der Wassertemperatur (Temperatur- Regelung durch Beschattung und Frischwasserdosierung),
- Wasserwechsel und Anlagenreinigung alle zwei Tage.

2013

Pro Becken wurden **10** *Clarias gariepinus* Jungfische eingesetzt (Abb. 10- 12).

Anfangsdaten der Tiere:	Anzahl:	10 Tiere * 5 Becken * 4 Futtervarianten = 200
	Gewicht:	15,5 - 19,5 g/ Tier
	Länge:	12,5 - 13,3 cm/ Tier.
Versuchszeit:		39 Tage

Produktions- Fütterungsversuch Abtshagen 2014 (6 x 1.200 Liter Becken)

Der Versuch wurde mit 3 Futtermittel- Varianten in zwei Wiederholungen (Tier- Chargen) in insgesamt sechs 1,2 m³ Becken (Gruppen) der 10 m³- Kreislaufanlage durchgeführt (Abb.13). Pro Becken wurden 100 *Clarias gariepinus* Jungfische eingesetzt.

Anfangsdaten der Tiere:	Anzahl: 100 Tiere * 6 Becken (3 Futtermittelformen) = 600
	Gewicht: Charge 1: 41,6 - 41,7; Charge 2: 21,0 - 21,4 g/ Tier
Versuchszeit:	72 und 74 Tage
Futterdosis:	chargenidentische rationierte Fütterung entsprechend interner Fütterungsempfehlung, ad libitum-Futterraufnahme durch Pendelfütterer
Prüfparameter:	Stückzahl und Gesamtmasse der Gruppen am Beginn und Ende des Versuchs, Fressverhalten, Futtermittelverwertung, sonstige Beobachtungen, Probenschlachtung von 3 Tieren je Becken, Beurteilung der Fettanteile, Schlachtausbeuten und Filetqualität (optisch, sensorisch und chemisch)



Abb. 13
10 m³- Kreislaufanlage
Abtshagen für
Produktions-
Fütterungsversuch
2014

4. Ergebnisse

4.1 Analyse der Kultivierungs- und Integrations-Bedingungen (AP1.1: TU/ IGV)

Die Aufzucht verschiedenartiger Organismen wie Fische und Algen erfordert die Ermittlung und Gewährleistung der jeweiligen, nur teilweise übereinstimmenden Lebensbedingungen. Aus der Kopplung beider Produktionsstufen ergaben sich erhöhte Anforderungen an die Kontrolle und Regelung der Wasserparameter. Andererseits werden eine Nutzung der im Produktionssystem vorhandenen Nährstoffe und eine Reduzierung ihres umweltbelastenden Austrags aus dem System möglich.

Fische scheiden einen großen Teil des Stickstoffs, den sie mit der Nahrung aufnehmen, direkt als Ammonium über die Kiemen aus. Ammonium ist in kleineren Konzentrationen für Fische ungefährlich, bei hohen pH- Werten kann daraus jedoch das für Fische gefährliche Ammoniak (Kiemengift) entstehen. Außerdem wird durch mikrobiellen Abbau von Futterresten, abgestorbenen Pflanzenteilen, Fischkot und anderen organischen Verbindungen Stickstoff in Form von Ammonium und Nitrat freigesetzt.

Für Algen dagegen stellen Ammonium und Nitrat die bevorzugten Stickstoffquellen dar und sind Voraussetzung für die Erzeugung von Algenbiomasse.

Als für beide Gruppen akzeptable Gehalte wurden

- Ammonium (NH_4^+) < 5 mg/l
- Ammoniak (NH_3) < 0,1 mg/l
- Nitrit (NO_2^-) < 1 mg/l
- Nitrat (NO_3^-) > 100 ... 200 mg/l
- Phosphat (PO_4^{3-}) < 50 mg/l in der integrierten Fisch- und Algenaufzucht angestrebt.

Überschreitungen wären kontraproduktiv für die Fische, wesentliche Unterschreitungen dagegen inhibierend für die Algen.

Dementsprechend wurden regelmäßig Untersuchungen der wesentlichen Nährstoffparameter im Fischzucht- und Algenkultivierungswasser durchgeführt, um die Anforderungen der Karpfen und gleichzeitig eine möglichst stabile semi-kontinuierliche Algenbiomasse-Produktion zu gewährleisten.

Zur Überprüfung der Interaktionen von Fischbesatz, Futtergabe und Veränderung technologischer Betriebsparameter (Durchlauf, Belüftung) wurden verschiedene Einstellungen vorgenommen und Wasseranalysen durchgeführt (Tab. 3).

Tab. 3 Nährstoffparameter der Fischzucht-Wasser aus der Aquakulturreislaufanlage mit variablen Einstellungen im laufenden Betrieb

Probe	Einstellung	Parameter			
		NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	N _{ges}
	Einheit	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l
	Verfahren	DIN EN ISO 14911-E34	DIN EN ISO 10304-D19	DIN EN ISO 6878-D11	DIN 38 409-H27
Probe 1	Fischbesatz, Futtergabe, Belüftung normal	1,35	99	0,2	26,4
Probe 2		1,38	97	0,2	25,0
Probe 3	Fischbesatz erhöht, Futtergabe erhöht, Belüftung / Durchlauf normal	3,88	66	<0,1	25,4
Probe 4	Fischbesatz erhöht, Futtergabe erhöht, Belüftung / Durchlauf reduziert	4,16	81	<0,1	25,9
Probe 5		4,38	59	<0,1	25,8
Probe 6	Fischbesatz normal, Futtergabe reduziert, Belüftung / Durchlauf normal (Ruhebetrieb)	n.n.	1,1	11	-

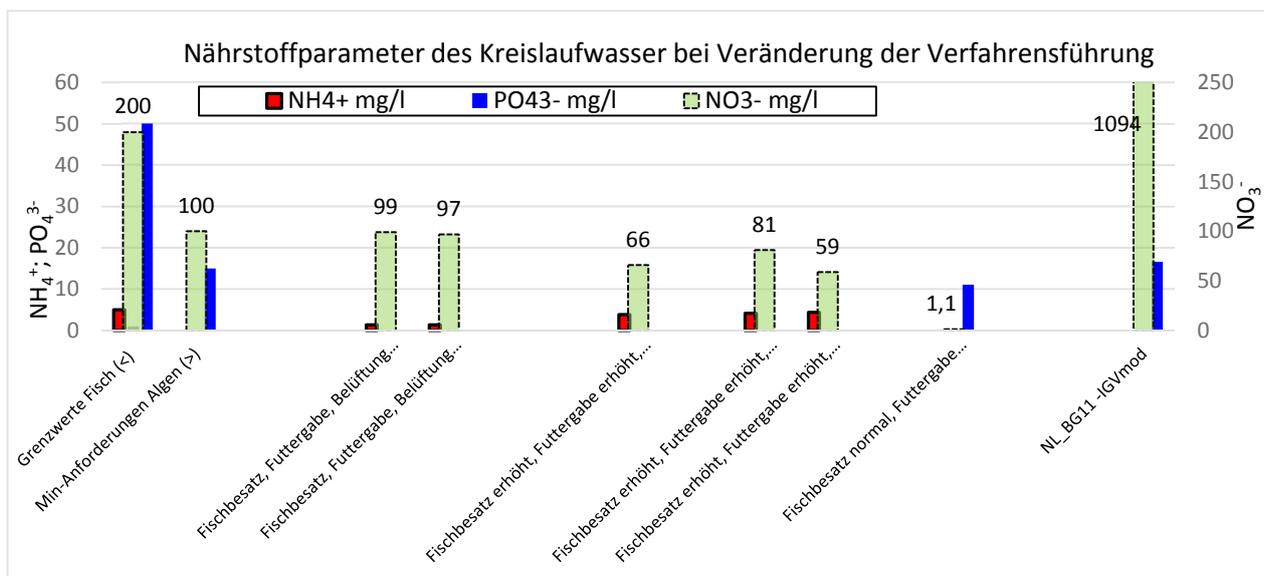


Abb. 14 Nährstoffparameter des Kreislaufwassers bei veränderter Verfahrensführung im Vergleich zu einer Algen- Nährlösung und zu den Anforderungen der Fische und der Algen

Die Untersuchungen des Kreislaufwassers bei verschiedenen Betriebsweisen zeigten, dass in keinem Fall die kritischen Grenzwerte für die Fische erreicht wurden (Abb. 14). Der Ammonium- Gehalt stieg bei erhöhtem Fischbesatz auf maximal 4,4 mg/l. Auch die höchsten Nitrat- Gehalte mit ca. 100 mg/l sind für Karpfen kein Problem, für die Algenkultivierung allerdings immer noch suboptimal. Eine deutliche Unterversorgung der Algenzellen war mit den gemessenen Phosphat-Gehalten zu erwarten, die deutlich unter dem angegebenen Minimalbedarf und weit unter dem Phosphat-Gehalt der Nährlösung lagen (Abb. 14, NL_BG11). Dies bestätigte sich im Verlauf der Fischwasser- Algenkultivierung (Abb. 15).

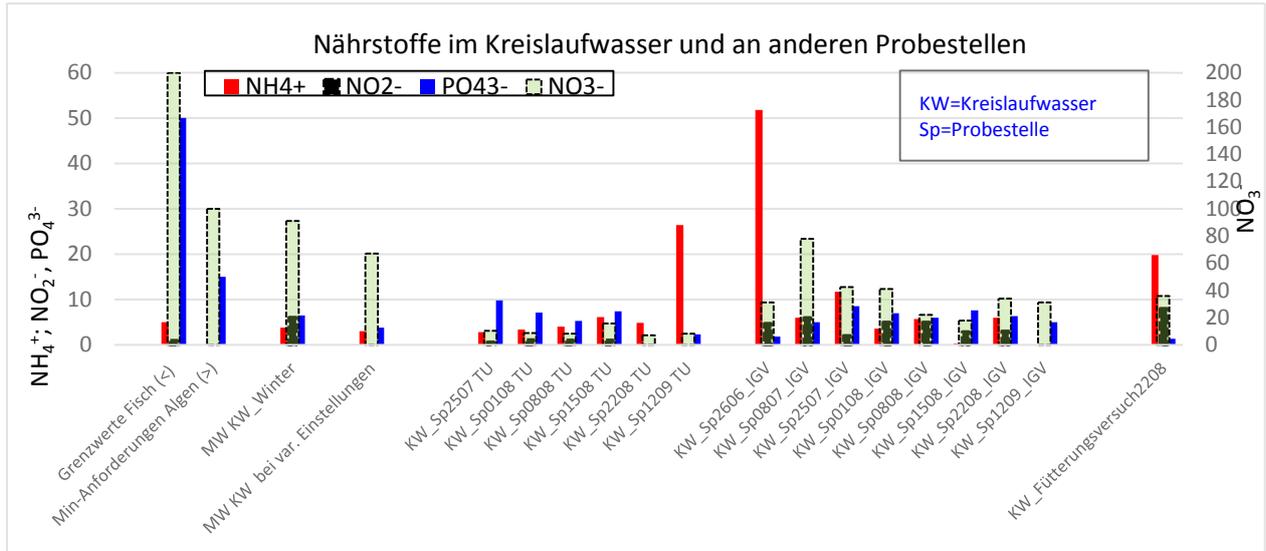


Abb. 15 Nährstofffrachten im Kreislaufwasser während der Algen-Kultivierung 2013 im Vergleich zu den Mittelwerten (MW) der Winter- Messungen, der variierten Einstellungen und zum Fütterungsversuchs-Kreislaufwasser

Das Niveau der Nährstofffrachten erreichte nur beim Ammonium und Nitrit zeitweise etwas höhere Werte, die jedoch bei den gemessenen pH- Werte unter 7,5 für Karpfen unproblematisch blieben (Deufel et al., 1987) und keine zusätzlichen technologischen Maßnahmen erforderten. Auch die Parameter Sauerstoffkonzentration, Temperatur und BSB5 (Abb. 16) belegen, dass für die Karpfen- Besitzfische *Cyprinus carpio* gute Wachstumsbedingungen gewährleistet waren.

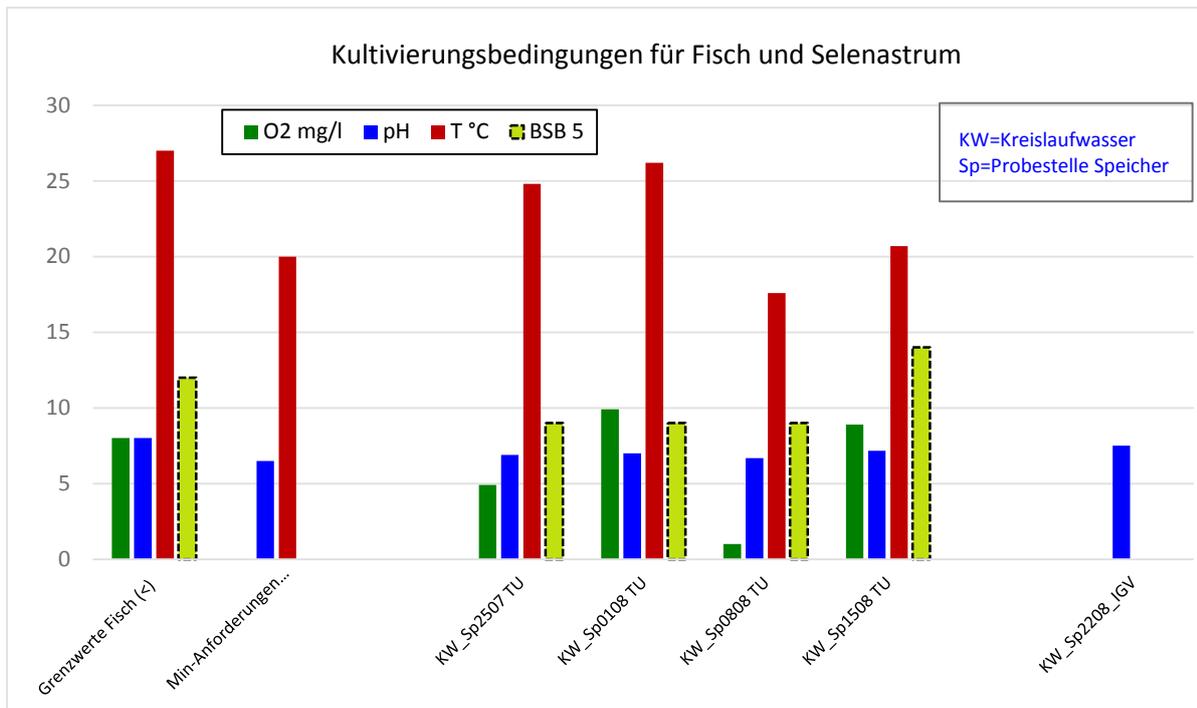


Abb. 16 pH- Werte, Sauerstoffgehalt, Temperatur und BSB5 im Kreislaufwasser, analysiert am Probestpunkt „Speicher“ während der Algen- Kultivierungsperiode 2013

Die Analyse des Fischkreislaufwassers, das für die Algenkultivierung 2014 verwendet wurde, bestätigt die Ergebnisse von 2013 und insbesondere, dass Nitrat weit unter dem Grenzwert für Fische und den Optimalwerten für Algen blieb (Abb. 17).

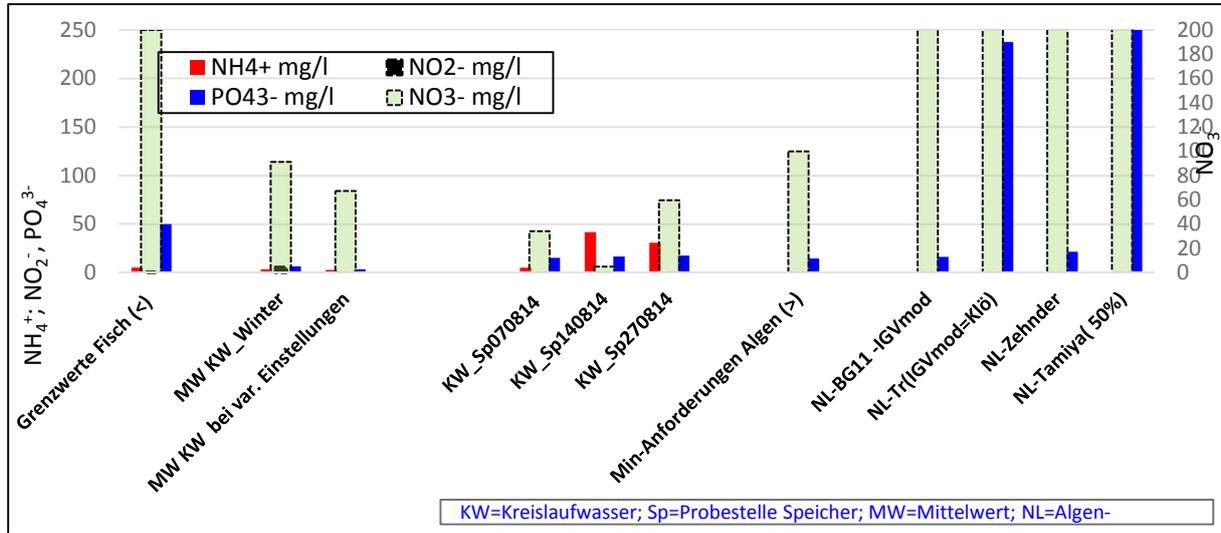


Abb. 17 Nährstoffe im Kreislaufwasser während der Algen- Kultivierung 2014 im Vergleich zu Mittelwerten von 2013 und zu verschiedenen Algen- Nährlösungen

Neben den chemischen Analysen wurde mikroskopische Untersuchung durchgeführt, die zeigten, dass das Kreislaufwasser Habitat für verschiedene Algenarten ist (Abb. 18).

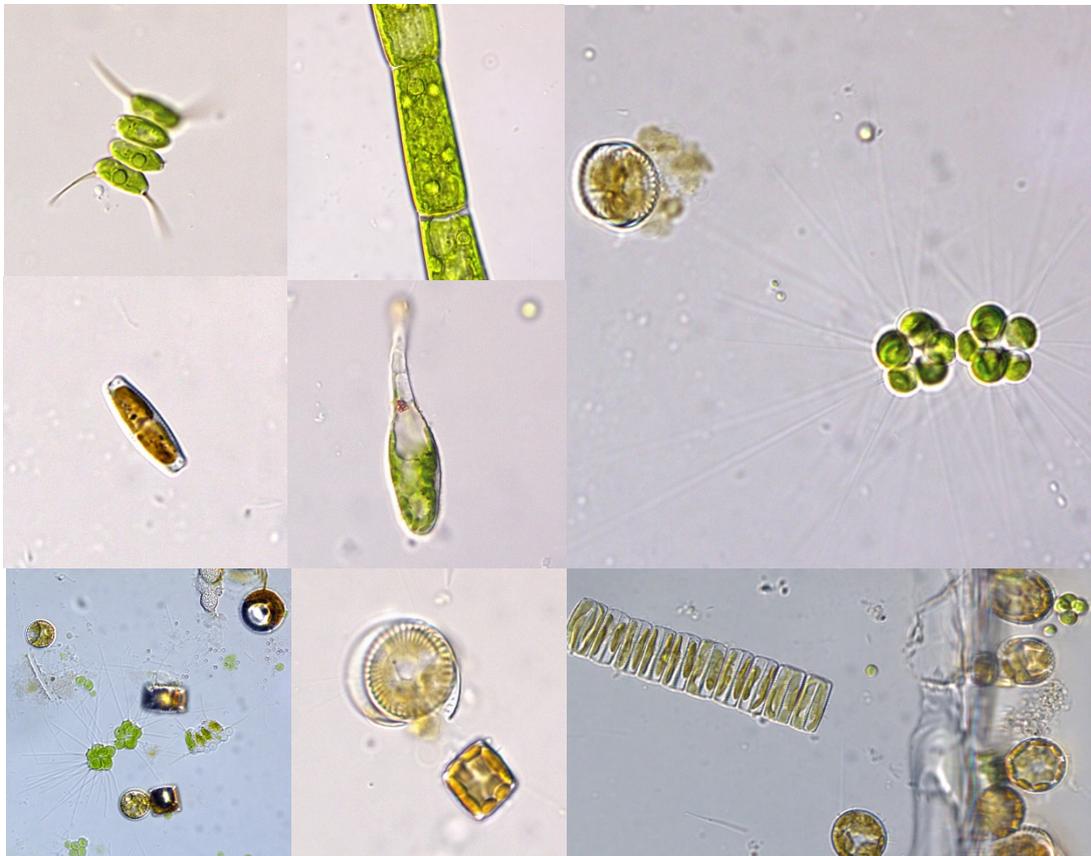


Abb. 18 Mikroalgen- Begleitflora in der Aquakultur- Kreislaufanlage Elsholz

Die Mikroalgen wurden unter den besonderen Bedingungen des Freilands mit stärkerer Strahlung, höheren UV- Anteilen, hohen Mittags- Temperaturen und stärkeren Tag- Nacht- Schwankungen als im Gewächshaus kultiviert, wobei ein Beschattungsmodul und temperaturgesteuerte Kühlung den Strahlungs- und Temperaturstress und daraus resultierende Wachstums- Limitierungen begrenzen.

In der ersten 84- tägigen Kultivierungsperiode (10.7.- 26.9.2013) wurden an 38 Tagen Suspensionstemperaturen von über 27 °C gemessen, bei der die automatische Kühlung den Betrieb aufnahm und sie stabil unter 34 °C halten konnte (Abb. 19).

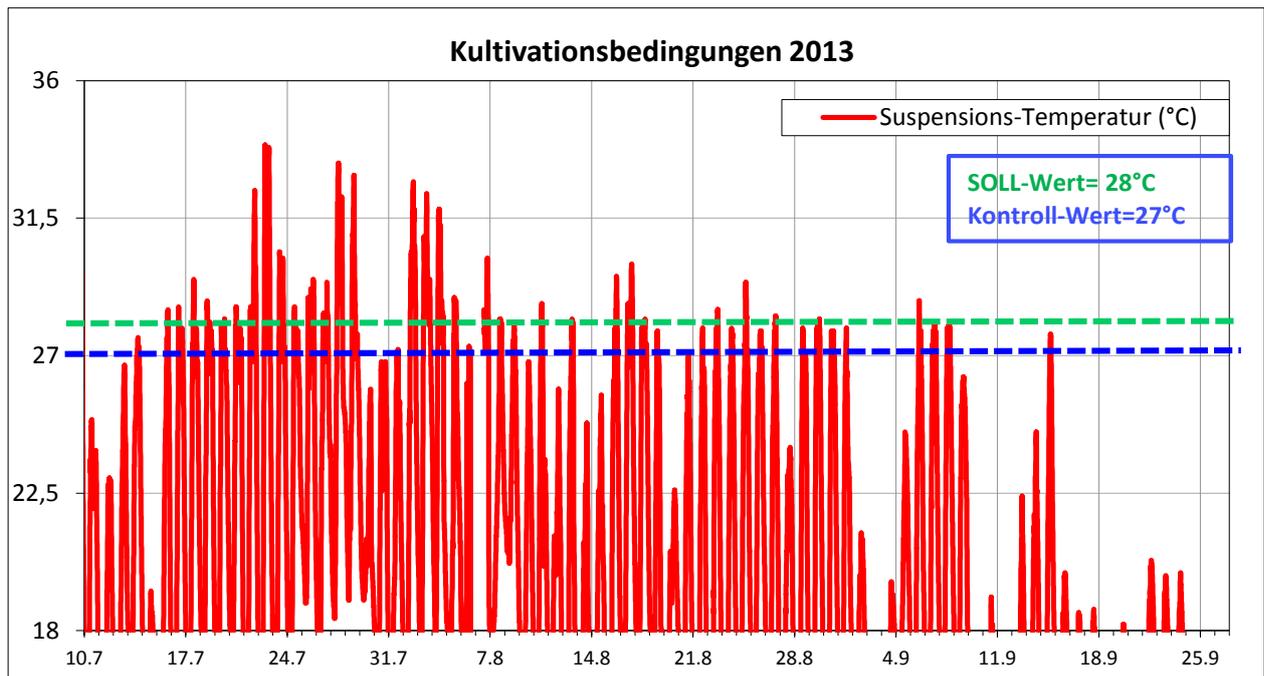


Abb. 19 Suspensionstemperaturen im PBR3000 während der *Selenastrum*- Kultivierung 2013

Obwohl in der zweiten Vegetationsperiode 2014 durch Wasserdruckprobleme die temperaturgesteuerte Kühlung nicht funktionierte, konnte durch manuelle Regelung fast durchgängig Hochtemperatur- Stress ($> 32\text{ °C}$) verhindert werden.

Insgesamt kann eingeschätzt werden, dass sich durch die Fischeaufzucht in der Kreislaufanlage Elsholz Nährstoffe im Prozesswasser anreicherten, durch häufige Teilwasserwechsel die Gehalte jedoch in geringen, für die Karpfen unproblematischen, für die Mikroalgen suboptimalen Bereichen blieben.

Die Strahlungs- und Temperatur- Bedingungen waren unter Freilandbedingungen in den Monaten Juni, Juli und August zur semi- kontinuierlichen Algenkultivierung im PBR3000 geeignet. Ab ca. 10. September sanken die Nacht- und Tagesmittel- Temperaturen bereits auf unter 10 bzw. 20 °C, bei denen „Sommer“- Algen wie *Selenastrum* nur noch unbefriedigendes Wachstum erreichen können.

4.2 Mikroalgen- Screening, Analytik, Inokulum- und Biomasseproduktion

(AP1.2-1.5+2.3: IGV)

Die Recherchen ergaben, dass eine große Anzahl Gattungen wie z.B. *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Selenastrum*, *Ankistrodesmus*, *Kirchneriella*, *Pseudochlorococcum*, *Oocystis*, *Nannochloropsis*, *Muriella*, *Chlorococcum*, *Hormidium*, *Nannochloris*, *Klebsormidium*, *Oocystidium* oder *Tetraselmis* den Projektzielen entsprechend potentiell geeignet sind.

Für die ersten Screening- Versuche wurden acht gutwüchsige Stämme (Tab. 4) ausgewählt und mit je zwei Standardnährlösungen in 200 ml Zellkulturflaschen (Abb. 20) kultiviert.

Tab. 4 Algenstämme, ausgewählt für das Fischwasser- Screening

Lfd. Nr.	Art STAMM	Klasse	Wachstumspotential bei Optimalbedingungen (laut Recherchen)	interessante Inhaltsstoffe
1	<i>Scenedesmus rubescens</i> FHL173	Chlorophyceae	sehr gut	Linol-, Ölsäure, Aminosäuren; Chlorophylle (Chla+Chlb), Carotinoide insb. Lutein, β -Carotin
2	<i>Chlorella v.</i> FHL132	Trebouxiophyceae	ausgezeichnet	Alpha-Linolensäure., Polyphenole, Chlorophylle (Chla+Chlb), Carotinoide: Lutein, β -Carotin
3	<i>Selenastrum rinoi</i> FHL179	Chlorophyceae	sehr gut	hoher Rohfett-/Lipidgehalt, potenzieller Produzent von Astaxanthin
4	<i>Ankistrodesmus braunii</i> FHL115	Chlorophyceae	sehr gut	hoher Rohfett-/Lipidgehalt, potenzieller Produzent von Astaxanthin
5	<i>Kirchneriella contorta</i> FHL22	Chlorophyceae	gut	hoher Rohfett-/Lipidgehalt; Carotinoide: Lutein, β -Carotin
6	<i>Pseudochlorococcum typicum</i> UTEX1792	Trebouxiophyceae	sehr gut	Kohlenhydratgehalt 55%
7	<i>Chlorella v.</i> KLÖTZE	Trebouxiophyceae	sehr gut	siehe Nr. 2
8	<i>Chlorella v.</i> FHL138	Trebouxiophyceae	sehr gut	siehe Nr. 2

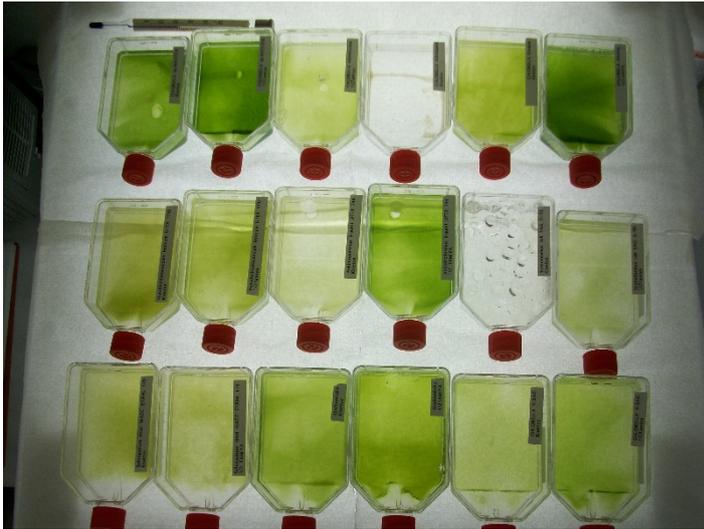


Abb. 20 Screeningversuch mit je 2 Nährlösungen (200 ml Zellkulturflaschen; 23 °C; 20 - 30 $\mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{s}$; V- Zeit = 56 d)

Für das Screening hinsichtlich Produktivität und Robustheit wurden Biomassezuwachs und Rohproteingehalt analysiert. Diese Parameter sind für den Vergleich des biologischen Potentials von Stämmen, kultiviert unter gleichen Bedingungen, gut geeignet.

Die Ergebnisse des Nährlösungs- Versuches (Tab. 5, Abb. 21) bestätigten,

1. dass das biologische und biochemische Potential von Mikroalgen nicht nur art-, sondern stammspezifisch ist.
So wurde für den „*Chlorella* Klötze“- Stamm (Medium2) der zweitbeste Zuwachs, aber die geringsten Proteingehalte (29,8 %) ermittelt. Der „*Chlorella* FHL22“ Stamm dagegen konnte zwar fast doppelt so viel Protein (51,1 %) synthetisieren, aber unter den gegebenen Bedingungen nur ein Drittel der Biomassekonzentration erreichen.
2. dass deutliche Zuwachs- Unterschiede zwischen den Stämmen und den Nährlösungsvarianten ermittelt wurden,
3. dass Zuwachs und Proteingehalt vom Nährstoffangebot abhängen,
4. dass Zuwachs und Proteingehalt miteinander weder direkt noch indirekt korrelieren,
5. dass mit Hilfe des Nährmediums die Quantität der Zellinhaltsstoffe beeinflusst werden kann,
6. dass zielstellungsspezifisches Screening durchgeführt werden muss,
7. dass die Berücksichtigung der Wechselwirkungen der Bedingungen sowohl für das Screening als auch und die Kultivierung unerlässlich sind,
8. dass die Optimierung von Nährlösungen ein wertvolles Instrument zur Verbesserung der Effizienz der Kultivierung, der Bereitstellung von Mikroalgenbiomasse und spezifischer Zellinhaltsstoffe sein kann.

Tab. 5 Proteingehalt und Biomassezuwachs in Abhängigkeit vom Nährmedium
(200 ml Zellkulturflaschen; 23 ° C; 20-30 $\mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{s}$; Versuchszeit = 4 bzw. 8 Wochen [Wo])

Ifd. Nr.	Art STAMM	Protein Kjeldahl g/100g i.T. Medium 1 nach 8 Wo	Protein Kjeldahl g/100g i.T. Medium 2 nach 8 Wo	BM-Zuwachs Medium1 g/l*4 Wo	BM-Zuwachs Medium2 g/l*4 Wo
1	<i>Scenedesmus rubescens</i> FHL173	n.b.	37	-0,08	0,5
2	<i>Chl.v.</i> FHL132	45,6	51,1	0,15	0,19
3	<i>Selenastrum rinoi</i> FHL179	50,7	55,6	0,46	0,65
4	<i>Ankistrodesmus braunii</i> FHL115	61,7	42,8	0,34	0,37
5	<i>Kirchneriella contorta</i> FHL22	38,1	52,4	0,29	0,2
6	<i>Pseudochlorococcum typicum</i> UTEX1792	28,5	42,2	0,47	0,54
7	<i>Chl.v.</i> KLÖTZE	24,7	29,8	0,38	0,6
8	<i>Chl.v.</i> FHL138	44,1	37,9	0,35	0,35

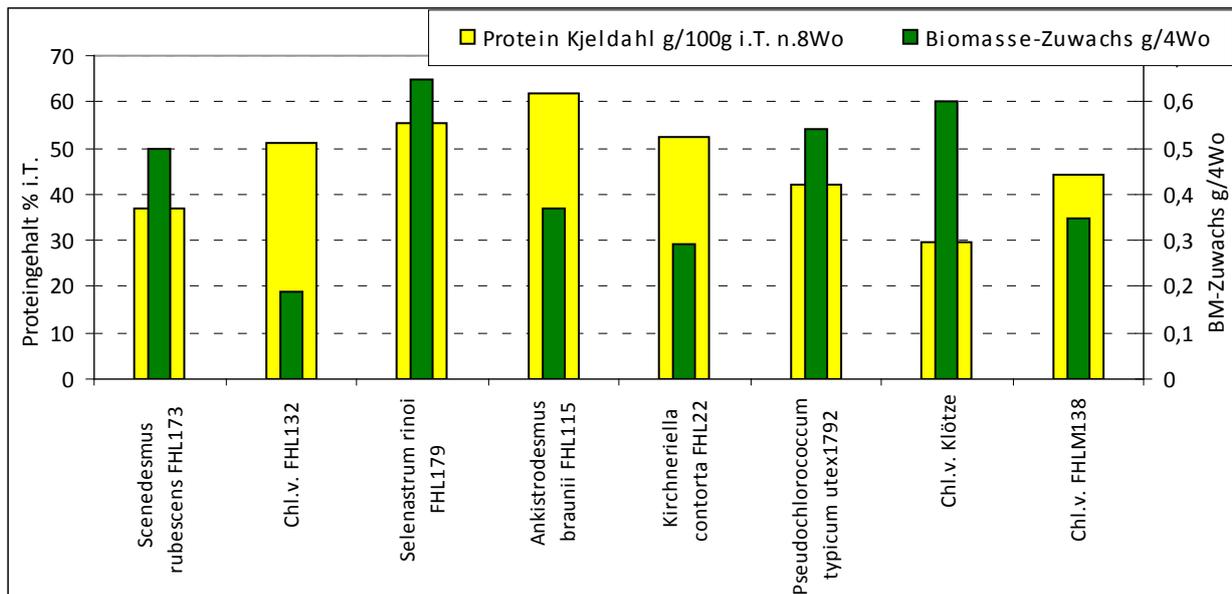
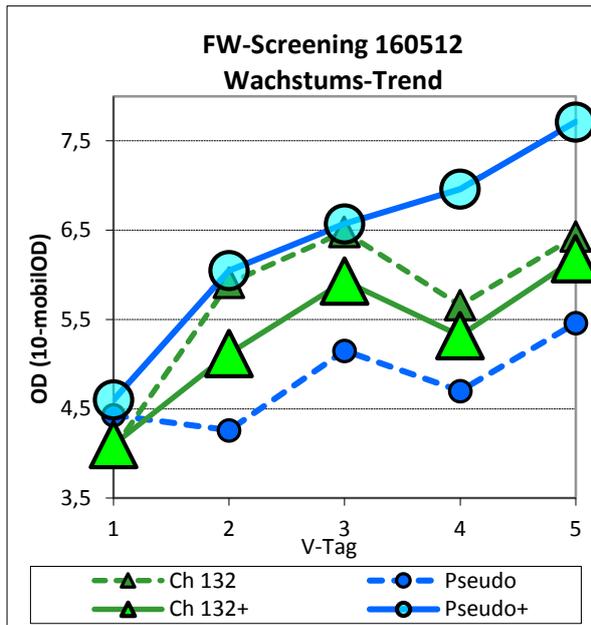


Abb. 21 Maximal erreichter Biomassezuwachs und Proteingehalt bei Kultivierung mit 2 Nährmedien
(200 ml Zellkulturflaschen; 23 ° C; 20-30 $\mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{s}$; Versuchszeit 4 bzw. 8 Wochen)

In der ersten Screening- Etappe hat sich der *Selenastrum* FHL179- Stamm mit dem stärksten Biomassezuwachs und 55,6 % Protein als der potentiell erfolgversprechendste herausgestellt. Das weitere Screening wurde mit sieben Algen- Stämmen mit 100 ml bzw. 2.000 ml Fisch-Prozesswasser (FW) durchgeführt. Die FW- Nährstoffgehalte schwankten zwischen 10 bis 143 mg/l beim Nitrat und 2 bis 18 mg/l beim Phosphat, was für eine effektive Algenkultivierung, wie schon unter 4.1 und in den Abb. 14 und 15 dargestellt, suboptimal war.



Die ersten FW- Kultivierungsversuche zeigten, dass die Stämme sensibel auf den „Nährmedium“- Wechselstress reagierten. Sie flockten aus und fielen zu Boden, immobilisierten an den Gefäßwänden oder verfärbten sich braun. Die Messungen der Wachstumsparameter waren nicht oder nur unter Vorbehalt möglich. Die parallele Kultivierung mit und ohne Nährstoffergänzungen (Abb. 22) zeigte insbesondere für *Pseudochlorococcum*, dass diese für die Kultivierung mit dem Elsholz- Fischwasser angeraten war.

Abb. 22 Fischwasser- Kultivierung von *Pseudochlorococcum* UTEX1792 und *Chlorella* FHL132 mit (+) und ohne ergänzender Dosierung von Nitrat und Phosphat

Dementsprechend wurden im Weiteren vorsichtige Nährstoffergänzungen und Adaptierungen durchgeführt (Abb. 23 und 24).

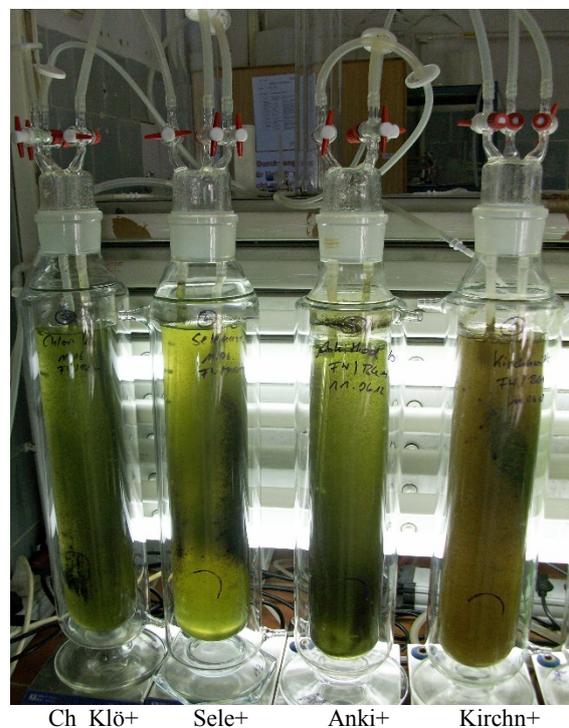
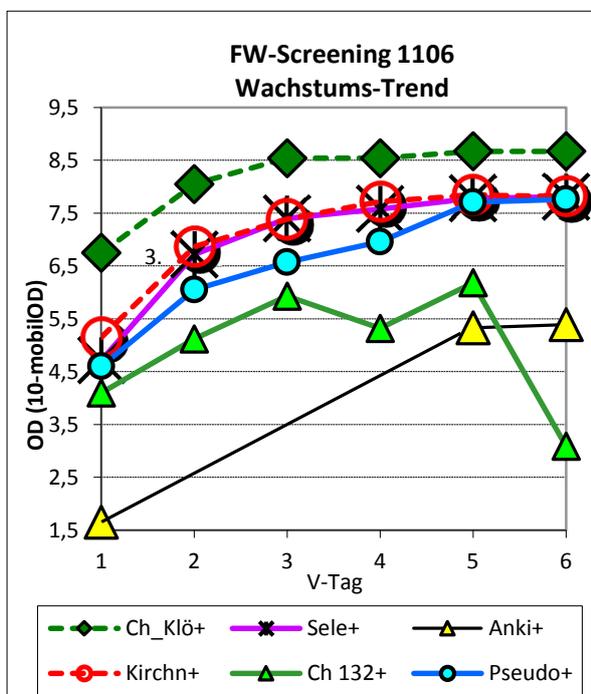


Abb. 23 und 24 Fischwasser- Screening: Kultivierung mit ergänzender Dosierung von Nitrat und Phosphat, teilweise begleitet von Immobilisierung, Agglomerieren und Braunfärbung der Algenzellen

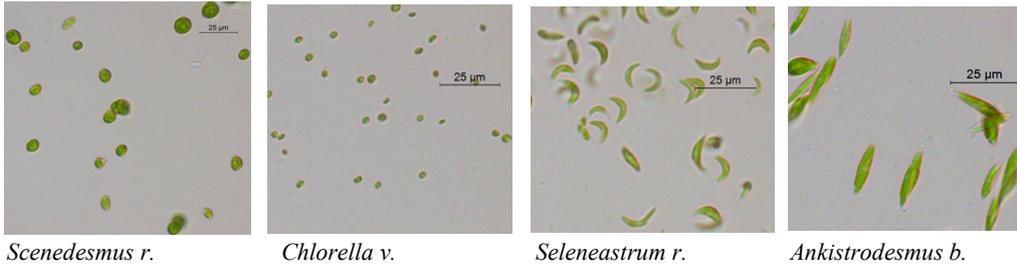

Scenedesmus r.
Chlorella v.
Selenastrum r.
Ankistrodesmus b.

Abb. 25 Vier, für das weitere Fischwasser- Screening ausgewählte Süßwasser- Stämme

Für das weitere Screening wurden die Stämme *Scenedesmus r.* FHL173, *Chlorella v.* FHL132, *Selenastrum r.* FHL179 und *Ankistrodesmus b.* FHL115 ausgewählt, da diese sich von den ursprünglich acht Stämmen am besten an das Fischwasser adaptiert hatten (Abb. 23-25).


 Anki+ Scen+ Sele+ Ch_132+
Versuchstag 1 Test2201

 Anki+ Scen+ Sele+ Ch_132+
Versuchstag 4 Test2201

 Anki+ Scen+ Sele+ Ch_132+
Versuchstag 8 Test2201

 Anki+ Scen+ Sele+ Ch_132+
Versuchstag 7 Test0702

Abb. 26 Fischwasser- Screening: Test2201 und Test0702

Selenastrum r. hatte sich besonders gut adaptiert. Die Zellen immobilisierte nicht an den Wänden der Standzylinder und verfärbte sich weniger als die der anderen Stämme (Abb. 26). Die Fettsäure- Gehalte und - Spektren ließen erwarten, dass die mit Fischwasser kultivierte *Selenastrum*- Biomasse ein wertvoller Fischfutter- Rohstoff sein könnte. Sie hatte im Vergleich zu den anderen untersuchten Biomassen die höchsten Gehalte an Lipid, Fettsäuren, mehrfach ungesättigten Fettsäuren und das beste $\omega 3:\omega 6$ Fettsäuren- Verhältnis (Tab. 6, Abb. 27).

Tab. 6 Lipid- und Fettsäuregehalte ausgewählter auf Fischwasser kultivierter Mikroalgen

	Scene- desmus	Chlor- ella	Selene- astrum	Ankistro- desmus
Lipid-Gehalt(%i.T.)	20,40	15,25	26,24	23,11
FS-Gehalt (%i.T.)	2,49	3,53	6,10	4,31
Summe mehrf. unges. FS(w3+w6)	0,74	1,61	1,90	1,43
w3 FS	0,57	0,53	1,60	0,96
w6 FS	0,17	1,08	0,29	0,47
Gehalt w3+w6 (%i.T.)	0,74	1,61	1,90	1,43
Verhält w3/w6	3,3	0,5	5,5	2,0

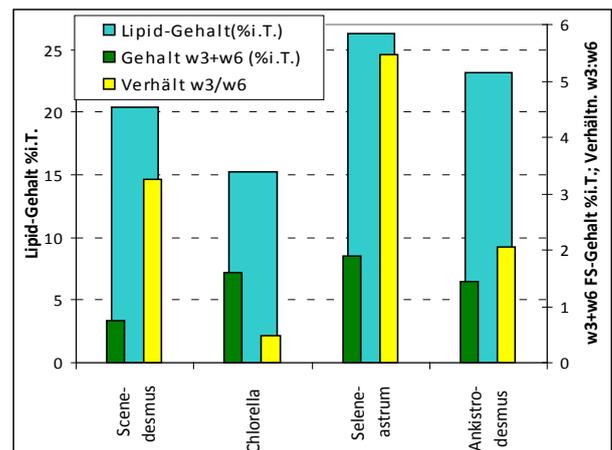


Abb. 27 Lipid- und Fettsäuregehalte von Mikroalgen, kultiviert mit Fischwasser

Den Ergebnissen des Screenings entsprechend wurde *Selenastrum r.* für die integrierte Fischwasser- Kultivierung ausgewählt, das Scale up 2013 und 2014 mit den PBR90, 500 und 4000 durchgeführt und 600 Liter *Selenastrum*- Inokulum, Biomasse für Analysen und die Versuchsfutterherstellung produziert.

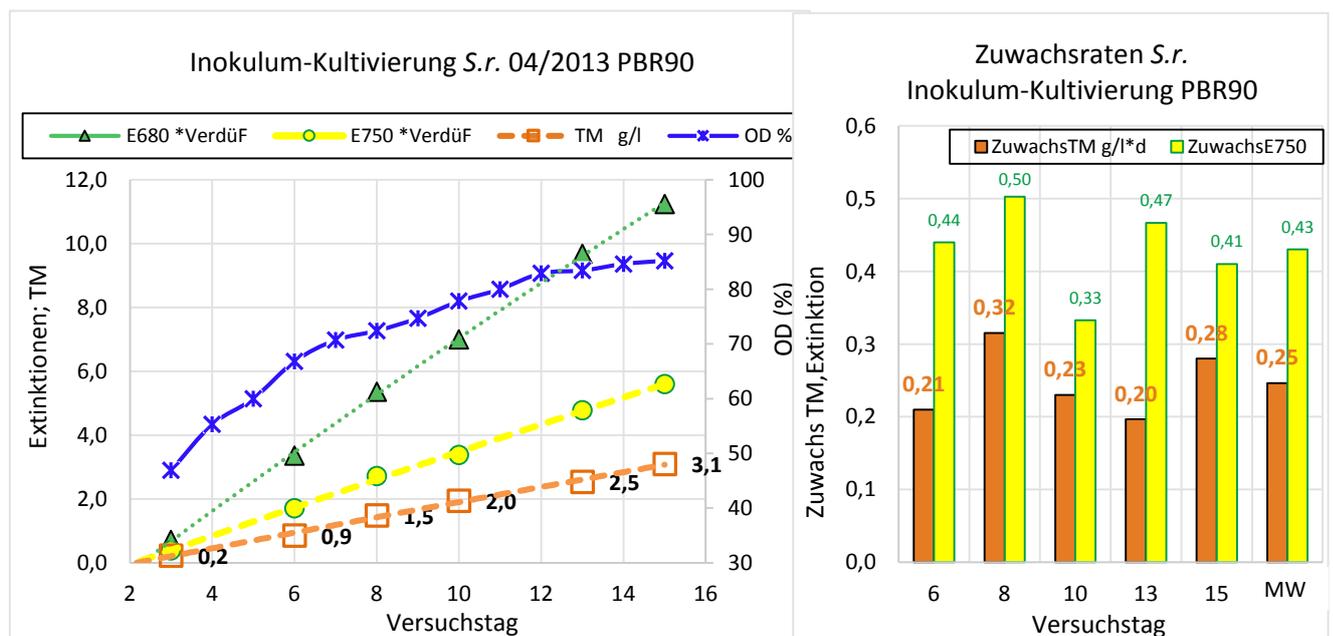


Abb. 28 *Selenastrum*- Inokulum- Kultivierung im PBR90, 04/2013

Die sichelförmigen *Selenastrum*- Zellen konnten auch unter den mechanisch belastenden Bedingungen der PBR wachsen. Im PBR90 wurde eine mittlere Zuwachsrate von 0,25 (Abb. 28), im PBR500 und PBR4000 von 0,15 bzw. 0,06 g/l*d TM erreicht.

4.3 Entwicklung, Betrieb des PBR3000 (AP2.1-2.3:IGV) und Integration in die Fischeaufzucht (AP2.1-2.3: TU/IGV)

Projektgemäß wurde aufbauend auf dem langjährigen know how des IGV und neuen technischen Möglichkeiten ein Freiland- Glasrohr- Photobioreaktor mit 3.000 Liter Photosynthese- Volumen für die integrierte Algenkultivierung entwickelt, gebaut und in Betrieb genommen (Abb. 1).

Erstmals wurde das vollständig aufgebaute Glasrohrmodul aus der Werkstatt des IGV an den Einsatzort transportiert (Abb. 29, 30).



Abb. 29 Transport von Nuthetal nach Elsholz (4.7.2013)



Abb. 30 Anlieferung des einsatzbereiten 3.000 Liter Glasrohrmoduls in Elsholz

Durch die modulfertige Anlieferung waren Aufbau, Installation, Inbetriebnahme und Testfahrt innerhalb weniger Stunden realisierbar (Abb. 31, 32).



Abb. 31 und 32 Aufbau und Installation des PBR3000 im Außenbereich der Aquakultur- Kreislaufanlage Elsholz

Mit der Kultivierung konnte bereits nach zwei Tagen Test- Wasserfahrt begonnen werden (Abb. 33). Die Inbetriebnahme erfolgte mit dem im Arbeitspaket 1 ausgewählten *Selenastrum*-Stamm.



Abb. 33 Erstes Inokulieren des Freiland- PBR3000 mit *Selenastrum r.* mit innovativen, reversiblen Glasrohrverbindungen

Nach zweitägiger Anlaufphase ging die Kultur in die exponentielle Wachstumsphase über. Die online Messungen dokumentieren, dass im Juli 2013 die Suspensionstemperaturen im Freiland-PBR nachts bis auf 11°C abfielen.

Mit der morgendlichen Sonnenstrahlung und dem Temperaturanstieg stieg der O₂- Gehalt an, die CO₂- Dosierung und das Biomassewachstum setzten etwas später ein. Die mit geringer Strahlung korrelierende niedrige Temperatur von unter 20 °C (14.7.) war dagegen begleitet von deutlich geringerer CO₂- Dosierung und Biomassezuwachs (Abb. 34).

Die neu integrierte Sauerstoffmessung funktionierte nur bei geringer Photosynthese- Aktivität. Bei hohen Sauerstoffkonzentrationen wurde der Messbereich überschritten und der Stoffwechsel- Parameter „O₂- Bildung“ konnte nicht gemessen werden (Abb. 34).

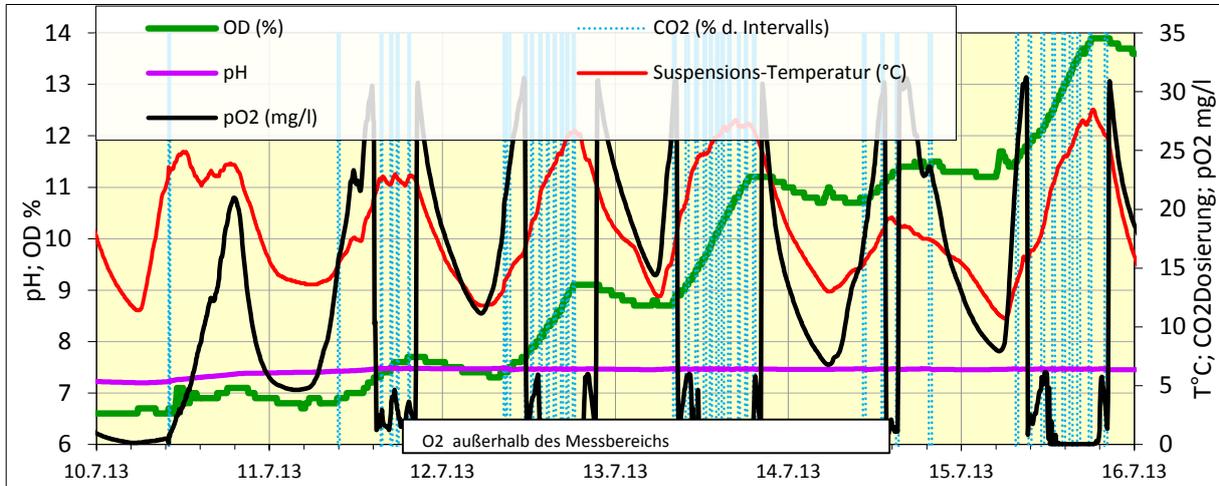


Abb. 34 PBR3000 online Daten der *Selenastrum*-Nährlösungs-Kultivierung 2013

Dieses Problem konnte 2014 behoben werden. Im Weiteren zeigte sich, dass die Sauerstoffmessungen durch die CO₂- Dosierung beeinträchtigt wurden. Starkes Biomassewachstum verbunden mit höherer CO₂- Zufuhr verringerte den prozentual gemessenen Sauerstoffgehalt in der Algensuspension. Es bleibt zu prüfen, ob durch Veränderung der Platzierung der Sensoren oder andere Maßnahmen reproduzierbare Sauerstoff-messungen möglich werden.

Die Online Messung und Regelung von pH- Wert und Temperatur funktionierten, bis nach 3 Wochen ein Ausfall der pH- Messung am 31.7. die CO₂- Dosierung und das Biomassewachstums unterbrach (Abb. 35).

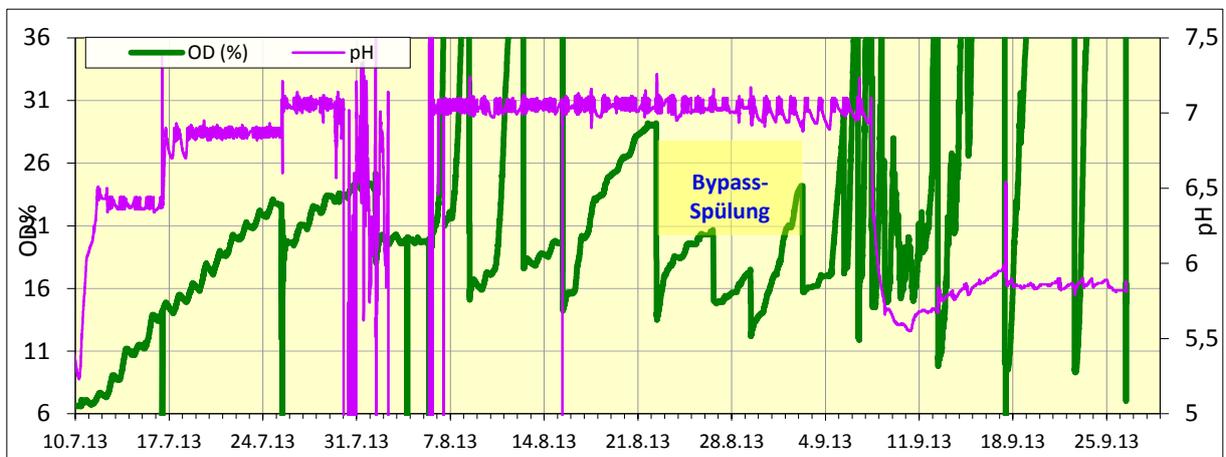


Abb. 35 PBR3000 online pH- Werte und Biomassezuwachs (OD%) 2013

Durch Wechsel der Elektroden- und Messfühler- Typen konnten die Fehler behoben werden. Das Aufwärtsdriften des OD%- Wertes ab 26.8. wurden durch zu starke Reduzierung der Durchflussgeschwindigkeit in der Messstrecke und Mängel in der Granulat- Rückhaltung verursacht, was 2014 abgestellt werden konnte.

Diese Beobachtungen verdeutlichen, dass beim Betreiben von Photobioreaktoren neben online Messungen kontinuierliche manuelle Kontrollen und Korrekturen unerlässlich sind. Zur Verbesserung der Kontrolle wurde 2014 eine online Datenfernübertragung zwischen PBR3000 in Elsholz und PC in Rehbrücke installiert.

Nach dem erfolgreichen Nährlösungs- Test wurde die Algen-Kultivierung in die Fischzucht integriert. Dazu wurde die geerntete *Selenastrum*- Suspension durch Kreislaufwasser ersetzt (Abb. 36-39). Bei der zweiten Ernte 2013 konnte erstmals die im PBR3000 mit Fischwasser kultivierte *Selenastrum* geerntet, eingefrostet, getrocknet, für Analysen und Fischfutterherstellung bereitgestellt werden.

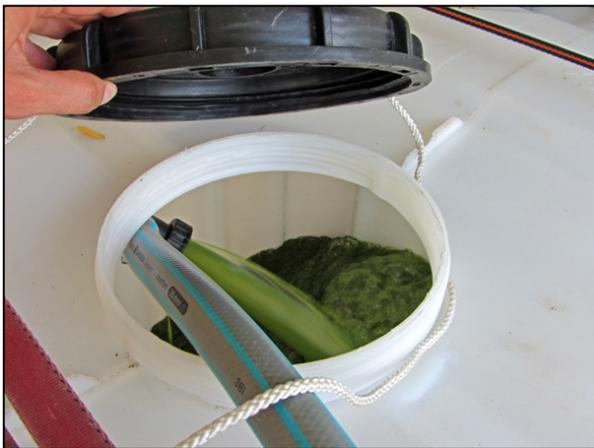


Abb. 36 Ernte der Algensuspension



Abb. 37 Ansicht der Module während der Ernte



Abb. 38 Nährstoffreiches Kreislaufwasser im Zwischenspeicher während der Überführung zum PBR



Abb. 39 PBR3000 nach Ernte und Auffüllung mit nährstoffreichem Kreislaufwasser

Die Nitrat- und Phosphatgehalte wurden analysiert und teilweise entsprechend dem Verbrauch der *Selenastrum*- Zellen durch Salzdosierungen angepasst.

Die Austauschrate wurde aus technologischen Gründen auf 1.000 Liter pro Woche bzw. 28 % des PBR- Volumens eingestellt. Das entsprach pro Tag 4 % des PBR- bzw. 3,8 % des Fischwasser-Volumens.

Für die weitere Schließung des Wasserkreislaufes durch Rückführung des nährstoffreduzierten Algenerntewassers in die Fischzucht wurden durch den Projektpartner TU Labor- und kleintechnische Versuche durchgeführt, die unter 4.5 dargestellt sind.

Die Kultivierung der *Selenastrum* wurde zu Saisonbeginn jeweils mit Nährlösung gestartet, um deren Adaption an die Scherkräfte des PBR und die Freilandbedingungen zu erleichtern. Außerdem wurden dadurch die Zuwachsraten mit denen anderer PBRs vergleichbar.

Nach 3- tägiger Adaptionsphase konnten bis zum 5. September Wachstumsraten zwischen 0,06 - 0,26 d.h. im mittleren von 0,1 g/l*d TM gemessen werden. Damit wurde zwar nicht der Zuwachs des PBR90 von 0,25 g/l*d TM (Abb. 28) erreicht, aber war vergleichbar mit denen im PBR500 und PBR4000 (0,15 bzw. 0,06 g/l*d TM).

Nach dem 5. September verschlechterten sich die Kultivierungsbedingungen. Biomassekonzentration und -zuwachs nahmen bis zum Ende der Kultivierungsperiode am 26.9. kontinuierlich ab (Abb.19, 40).

Insgesamt wurden 2013 acht Biomasse- Ernten realisiert und diese für die anderen Arbeitspakete des Projektes bereitgestellt.

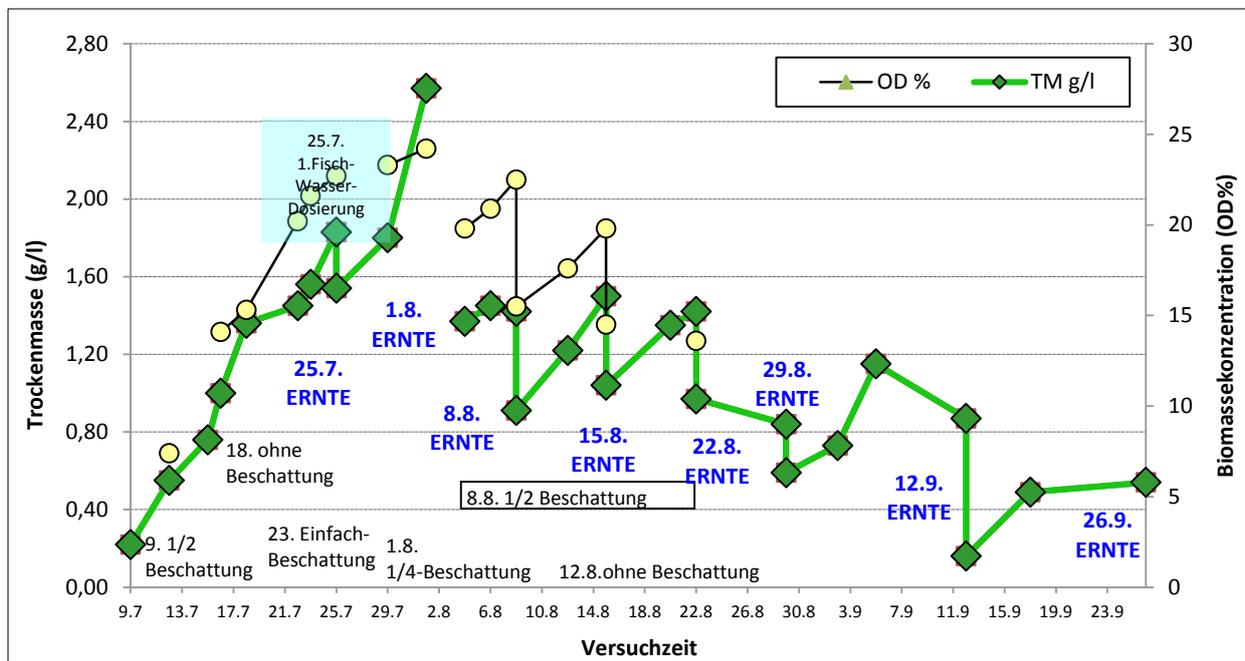


Abb. 40 PBR3000 Elsholz 2013, *Selenastrum*- Kultivierung ab 25.7. mit Fisch- Kreislaufwasser

2014 wurde die Kultivierung bereits am 14.5. gestartet. Die Bedingungen waren mit Suspensions- Temperaturen zwischen 6° C nachts, 28° C mittags und starker Sonnenstrahlung extrem. Außerdem konnten technische Probleme bei der CO₂- Dosierung nicht schnell genug behoben werden. Trotz verschiedener technologischer Maßnahmen begann die Kultur nicht zu wachsen. Die Kultivierung musste am 27.5. neu begonnen werden.

Der zweite Start erfolgte zur Sicherung der Adaptierung der *Selenastrum*- Zellen unter folgenden modifizierten Bedingungen:

1. höhere Start- Biomassekonzentration mit 1,04 g/l TM,
3. Einsatz der maximal möglichen Beschattung (Abb. 41).

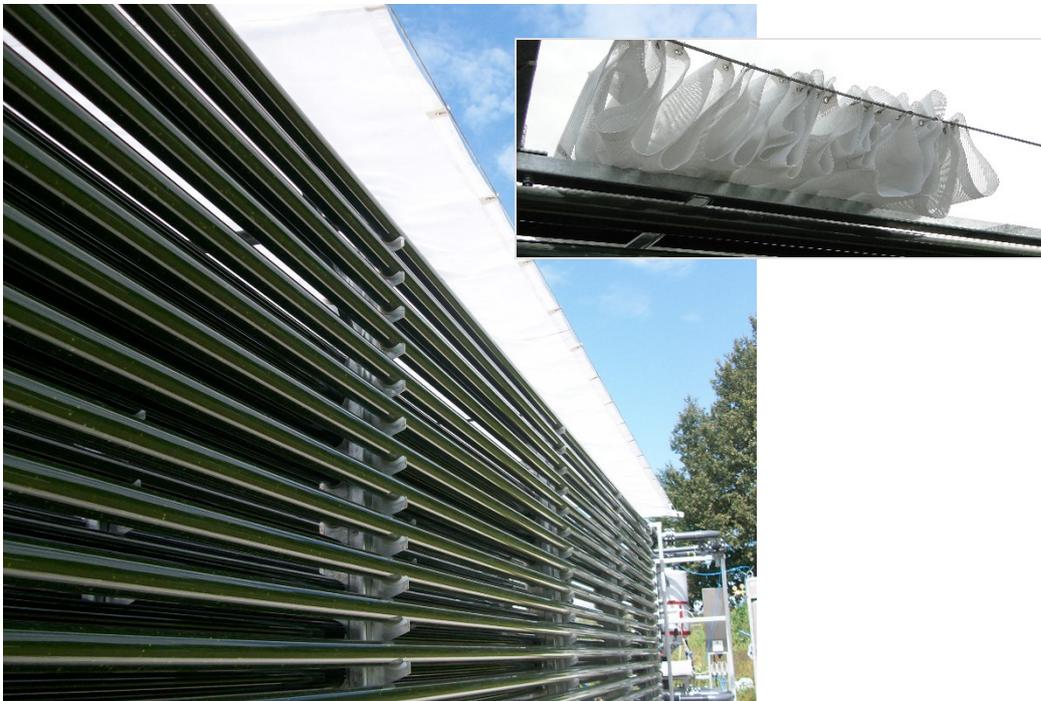


Abb. 41 PBR3000 mit flexiblem, maximal aufgespanntem Schattenschirm

Die Maßnahmen waren erfolgreich. Nach einem Tag konnte Wachstum gemessen werden. Nach sechs Tagen wurde die *Selenastrum*- Suspension durch Zuschalten der beiden weiteren Module verdünnt und das Gesamtvolumen in Betrieb genommen. Trotz gelegentlich auftretender Probleme wie Stromausfall durch Gewitter, Ausfall der automatisischen Kühlung, Kontaminationsdruck durch die im genutzten Fischprozesswasser vorhandene Mikroflora und -fauna (Abb. 18) konnten bis zum 18.9. semikontinuierlich Mikroalgen kultiviert und neun Biomasse- Ernten durchgeführt werden (Abb. 42).

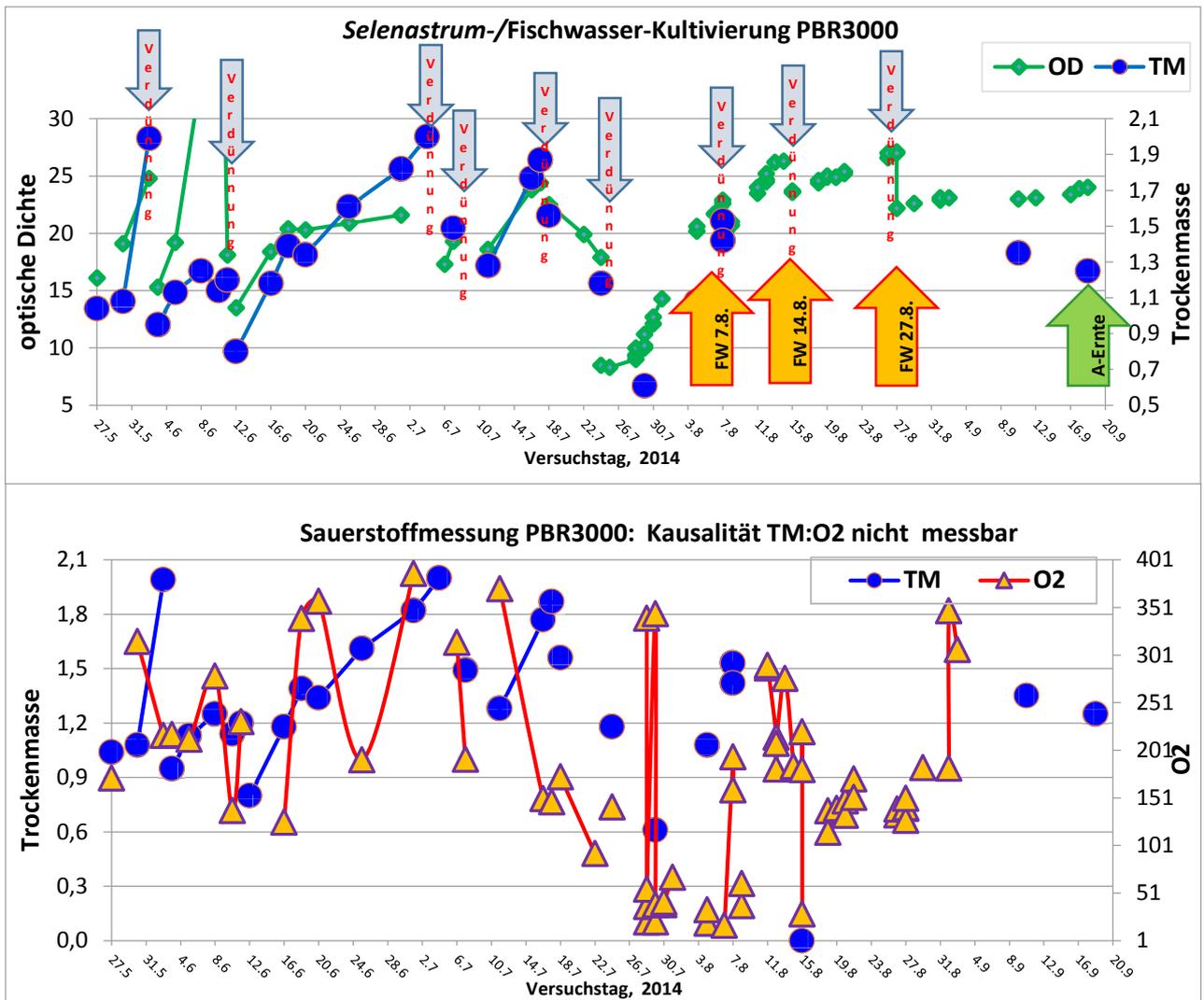


Abb. 42 PBR3000 Elsholz 2014, *Selenastrum*- Kultivierung mit Fisch- Kreislaufwasser ab 7.8.

4.4 Entwicklung eines integrierbaren, effizienten, wertstoffschonenden Verfahrens zur Algenbiomasse- Ernte (AP2.4-2.5: TU)

2013 entwickelte der Projektpartner TU im Ergebnis der Recherchen zum Stand der Technik (s. Anlage 1) Versuchspläne, Modellanlagen und Versuchsstation (Abb. 43). Damit wurden ALGOWANE Flockungs- und Filtrierversuche mit Bogensieb (150-300 μm) in Kombination mit Beutelfiltern (5-50 μm Polyamid Nylon Monofil) im Labor- und kleintechnischen Maßstab realisiert.



Abb. 43
Versuchsanlagen
zur Algen-
abtrennung

Die *Selenastrum*- Flockungsversuchen (BM270613=1,75 g/l TM) wurden mit 0; 1; 1,5; 1,75; 2,0; 2,5; 5,0 % ALGOWANE- Suspension durchgeführt. Die beste Flockung konnte mit 1 bis 2,5 % erreicht werden (Abb. 44-47).

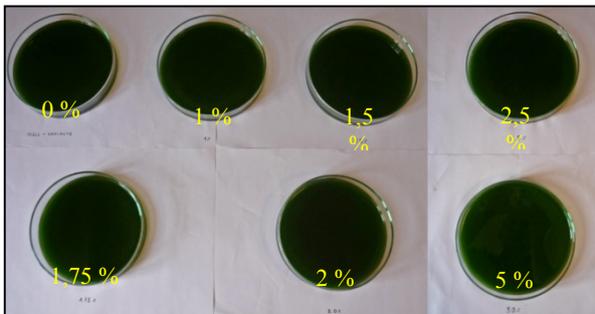


Abb. 44 vor Zugabe des Flockungsmittels

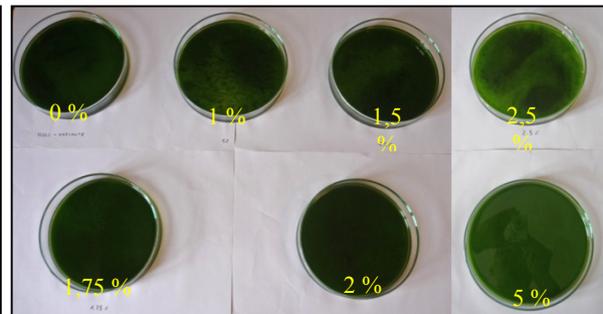


Abb. 45 50 min nach Zugabe des Flockungsmittels

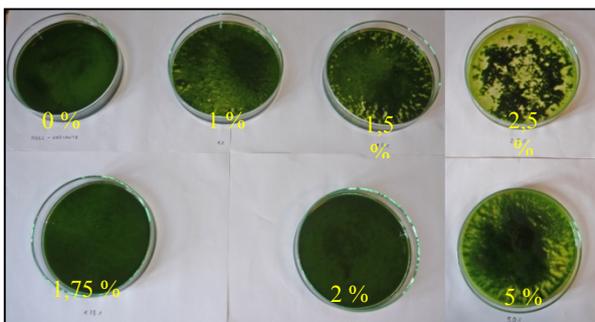


Abb. 46 90 min nach Zugabe des Flockungsmittels

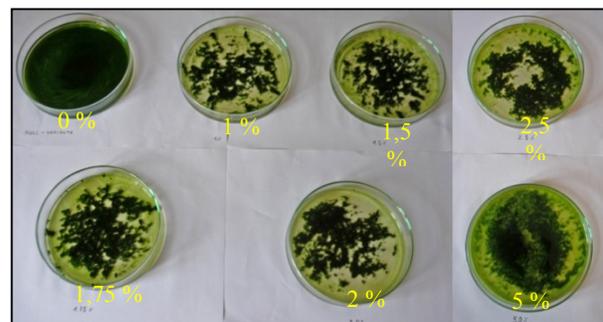


Abb. 47 120 min nach Zugabe des Flockungsmittels

In weiteren Versuchen wurden die besten Ergebnisse mit reduzierter ALGOWANE-Konzentration von 0,8 % bei 25 °C und Flockungszeiten von 90 min erzielt. Bei den kleintechnischen Versuchsanstellungen bestätigte sich, dass die vertikale Filtration mittels Bogensieb in Kombination mit einer vorgeschalteten ALGOWANE- Flockulation ein geeignetes Verfahren zur Abtrennung von *Selenastrum*- Zellen aus einer Suspension sein kann (Abb. 48-53).

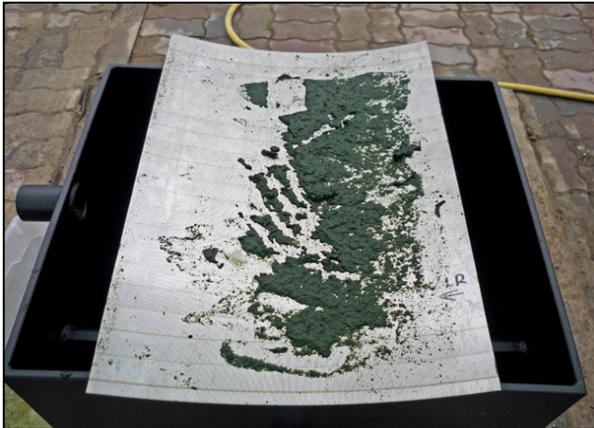


Abb. 48 Abgetrennter Feststoff auf Bogensieb



Abb. 49 Feststoff auf Bogensieb mit zusätzlichem 25 µm Filtertuch

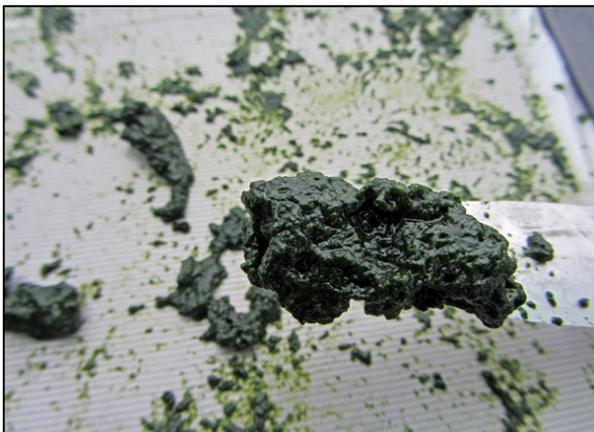


Abb. 50 Detailansicht Feststoff nach Bogensiebung



Abb. 51 Detailansicht Feststoff nach Bogensiebung mit zusätzlichem 25 µm Filtertuch



Abb. 52 Siebung ohne Flockungsmittel; Ansicht Filtrat nach Siebung

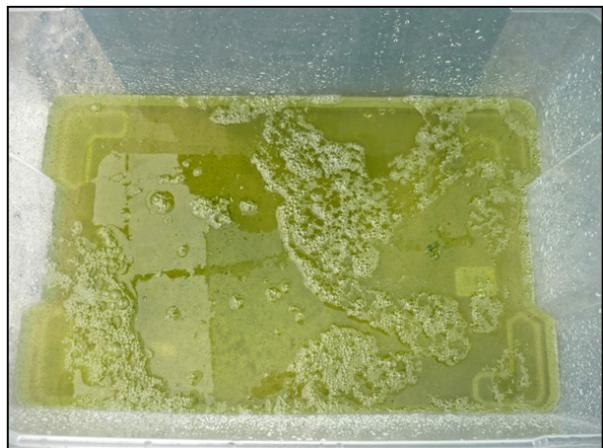


Abb. 53 Siebung mit Flockungsmittel; Ansicht Filtrat nach Siebung

Dieses Filtrationsverfahren zeichnet sich durch geringen Reinigungs-, Wartungsaufwand und niedrige Investitionen aus. Allerdings waren die Ergebnisse hinsichtlich der Reproduzierbarkeit des Flockungsgrades und der Stabilität der Flocken noch nicht zufriedenstellend.

Für die technologische Umsetzung und Integrierung in den Kreislauf wurde eine zweistufige 1 m³ Anlage entworfen (Abb. 54).

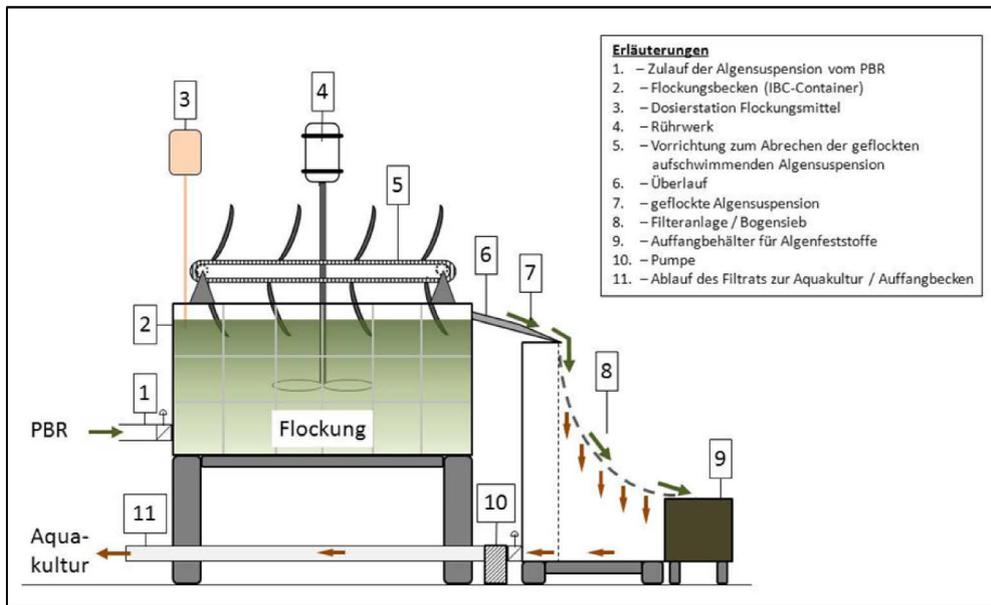


Abb. 54
Prinziipskizze einer zweistufigen kleintechnischen Flokkulations-Filtrations-Anlage zur Algenabtrennung

Da die ALGOWANE- *Selenastrum* gefütterten *Clarias*- Jungfische (AP5, s. 4.7) nur 80 % des Zuwachses der anderen Varianten erreichten und die Reproduzierbarkeit der Flockung unzureichend war, wurden die weiteren Abtrennversuche mit polymeren Flockungsmitteln der Fa. HeGo Biotec GmbH durchgeführt.

Es wurden hochmolekulare (Nr. 1-4 und 7-9) und sehr hochmolekulare Produkte (Nr. 5-6) getestet (Tab. 7).

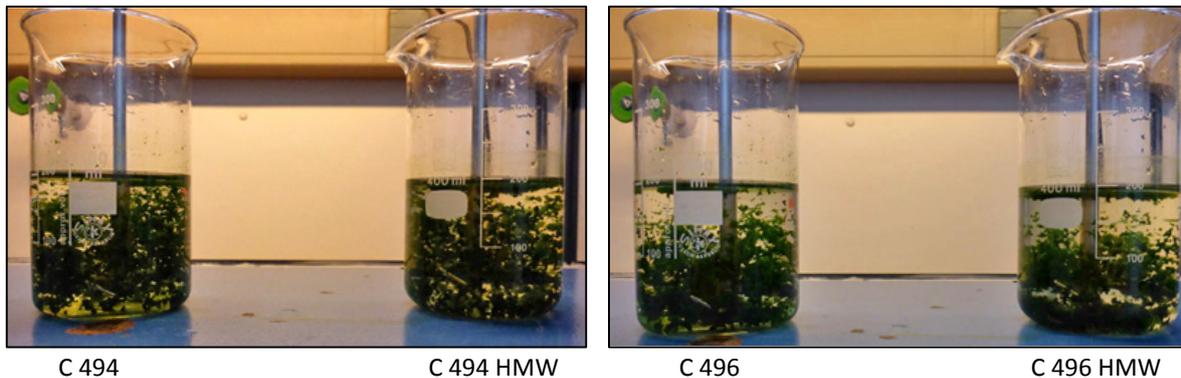
Tab. 7 Polymere Flockungsmittel (*Selenastrum* = 3,1 g/l TM) (Flockung nach 30 s 400 Upm+ 90 s 150 Upm)

Nr.	Produkt	Chemische Beschreibung	Ladung	Molekularität
1	Superfloc® C 492	Kationisches Polyacrylamid	20 Gew.%	hoch
2	Superfloc® C 494		40 Gew.%	hoch
3	Superfloc® C 496		60 Gew.%	hoch
4	Superfloc® C 498		80 Gew.%	hoch
5	Superfloc® C 494 HMW		40 Gew.%	sehr hoch
6	Superfloc® C 496 HMW		60 Gew.%	sehr hoch
7	Superfloc® A 130	Anionische Polyacrylamid	30 Gew. %	hoch
8	GoFloc® C 592-1	Kationische Polymer auf Basis von Poly-DADMAC	100 Gew.%	gering
9	Superfloc® SD 2065	Kationisches Polyacrylamid, Emulsion, vernetzt.	60 Gew.%	mittel

Von den hochmolekularen Polymeren erzielten Superfloc® C 494 und C 496 die besten Flockungsergebnisse. Die korrespondierenden sehr hochmolekularen Produkte erbrachten bei gleicher Dosiermengen noch größere und stabilere Flocken (Tab. 8, 9; Abb. 55).

Tab. 8 Einstellungen 1. Versuchsserie Algen- Abtrennung 2014

Produkt	Einsatz-Konzentration (%)	Dosierung/ 200 ml Algen-suspension	Beurteilung der Flockung
Superfloc® C 496 (entspricht 234GDH mit GRAS-Zulassung)	0,1	1,0 ml	Kleine, recht stabile Flocken. Nicht über Siebband filtrierbar
	0,1	1,5 ml	Mittelgroße, recht stabile Flocken. Nur bedingt filtrierbar; Feststoff im Filtrat
Superfloc® C 492	0,1	5,0 ml	Sehr kleine Flocken, ungeeignet
Superfloc® C 494	0,1	1,5 ml	Mittelgroße, recht stabile Flocken. filtrierbar; Filtrat nahezu feststofffrei
GoFloc® C 592-1 / Superfloc® C 492	1	0,2 ml / 1,5 ml	Sehr kleine Flocken, ungeeignet
GoFloc® C 592-1 / Superfloc® A 130	1	0,5 ml / 1,0 ml	Sehr kleine Flocken ungeeignet
FeCl ₃ -Lsg. / Superfloc® C 496	40	0,05 ml / 1,5 ml	Mittelgroße Flocken. Nur bedingt filtrierbar; Feststoff im Filtrat
Superfloc® SD 2065	0,2	1,0 ml	Sehr große Flocken, instabil bei Filtration


 Abb. 55 Flockungstest mit korrespondierenden hoch und sehr hochmolekularen Flockungsmitteln

 Tab. 9 Vergleichender Test der korrespondierenden hoch und sehr hochmolekularen Flockungsmittel

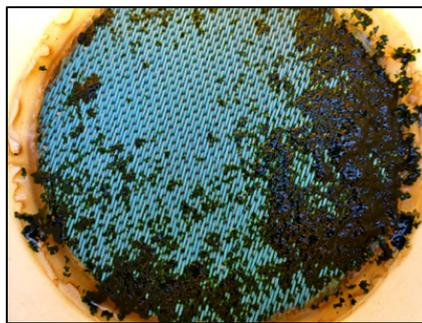
Produkt	C 494	C 494 HMW	C 496	C 496 HMW
Dosierung (ml/l Suspension)	7,5	7,5	7,5	7,5
Flockengröße, relativ	2	6	3	5,5

Im Weiteren wurden bei Verwendung 0,1 %- igen Suspensionen die optimalen Dosiermengen mit 10 bzw. 7,5 ml pro Liter Algensuspension ermittelt (Tab. 10).

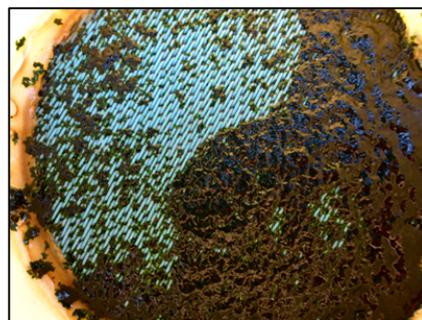
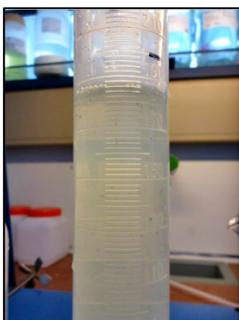
Tab. 10 Optimierung der Dosiermenge der sehr hochmolekularen Flockungsmittel bei Verwendung von 0,1 %- igen Lösungen und 0,3 % Algensuspension (3 g/l TM)

Dosier-Variante	1	2	3	4
Dosierung (ml/ l Algensuspension)	5,0	7,5	10,0	12,5
Superfloc® C 494 HMW Flockengröße, relativ	2	4	6	5
Superfloc® C 496 HMW Flockengröße, relativ	4	6	4	2

Die Feststoffe beider Flockungsvarianten konnten mit Siebband- Filtration gut abgetrennt werden, waren jedoch schmierig und führten zum Verstopfen der Filterporen (Abb. 56). Bei den optimalen Dosierungen z.B. 3,3 g Superfloc® C 496 HMW pro Kilogramm zu flockender Algenbiomasse (Tab. 10, Variante 3) konnten die empfohlenen Höchstdosierungen von 10 g/kg Feststoff deutlich unterschritten werden. Die Polymer- *Selenastrum*- Konzentration erreichte 12,6 % TS.



Filtration nach Flockung mit Superfloc® C 494 HMW



Filtration nach Flockung mit Superfloc® C 496 HMW

Abb. 56 Filtrat, Filterkuchen und Filtergewebe nach Flockung und Filtration mit Superfloc® C 494 bzw. 496 HMW

Nach den erfolgreichen Laborversuchen wurde eine mobile, integrierbare, kleintechnische Flokkulier- Filtrier- Anlage entwickelt und getestet (Tab. 11).

Tab. 11 Technische Daten der entwickelten Flokkulier- Filtrier- Anlage

Parameter	Definition / Beschreibung
Größe L x B x H (mm)	2.200 x 850 x 1.500
Gewicht (kg)	ca. 380
TS-Gehalt der Suspension (g/l)	< 300
Schlammpumpe Aufgabeeleistung (FU geregelt) (l/h)	200 - 1.800
Exzentrerschneckendosierpumpe für Gebrauchslösung (Handregelgetriebe) (l/h)	2 - 50
Kolbenmembranpumpe (hubfrequenzgeregelt) für Dualflockung (l/h)	0 - 12
Spiralband gefüllt (aufgezogen) Maschenweite (mm) Aufgabebreite (mm), effektiv	0,3 400
Bandsteuerung	vollautomatisch, SPS-Steuerung
Bandumlauf (s) (s/m)	50 12
Bandgeschwindigkeit (m/min)	5
Polymeraufbereitung extern-manuell (l/h)	60 bis 0,3%- ig
Rührreaktor als separate Einheit- Wellenlänge (mm) Drehzahl (u/min)	350 mit 5 Paddlebenen 102
Aufgabebereich des geflockten Materials; 3. - 5. jeweils separat schaltbar	1. Schikane 2. Abstreifer - Unterband 3. Vibrationsentwässerung 4. Vakuumentwässerung über Exhauster 5. Abwurf - Druckrolle
Kontroll- Schlauch zur Beurteilung der Flockenstruktur	ca. 5 m lang, Klarsicht



Vertikalfiltersystem



Siebbandreinigungseinheit

Abb. 57 Mobile Flokkulier- Filtrier- Anlage

Die kleintechnische Algen- Abtrennung mittels Flokkulierung (Abb. 57-59) erforderte diverse Anpassungen und Optimierungen. Wegen der Instabilität der Flocken konnte das Rührwerk nur für Sekunden benutzt werden. Um den Einfluss von Temperatur, Feststoffgehalt und Zustand der Algenkultur auszugleichen, mussten Flockenbildung und Klärgrad wiederholt überprüft und durch ergänzende Dosierungen nachjustiert werden. Als optimale Konzentration der Polymersuspension bestätigte sich $\leq 0,1 \%$. Die Polymer- Lösezeiten betragen 30 bis 60 Minuten. Das Einmischen der Polymersuspension in die Algensuspension musste dagegen sehr zügig, innerhalb von 15 - 30 Sekunden erfolgen, um die sich bildende Flocken nicht zu destabilisieren.

Die nachgeschaltete kontinuierliche Abtrennung der flokkulierten Algenbiomasse konnte durch eine feststoffabhängige Steuerung der Schlamm- und Polymerpumpen und durch automatische Filter- Bandsteuerung realisiert werden.

Als bester technologischer Ablauf erwies sich die aufeinanderfolgende modulweise Inbetriebnahme: Band \rightarrow Frischwasserpumpe \rightarrow Schlammpumpe \rightarrow Polymerpumpe \rightarrow Rührreaktor \rightarrow Vakuumenthafter.

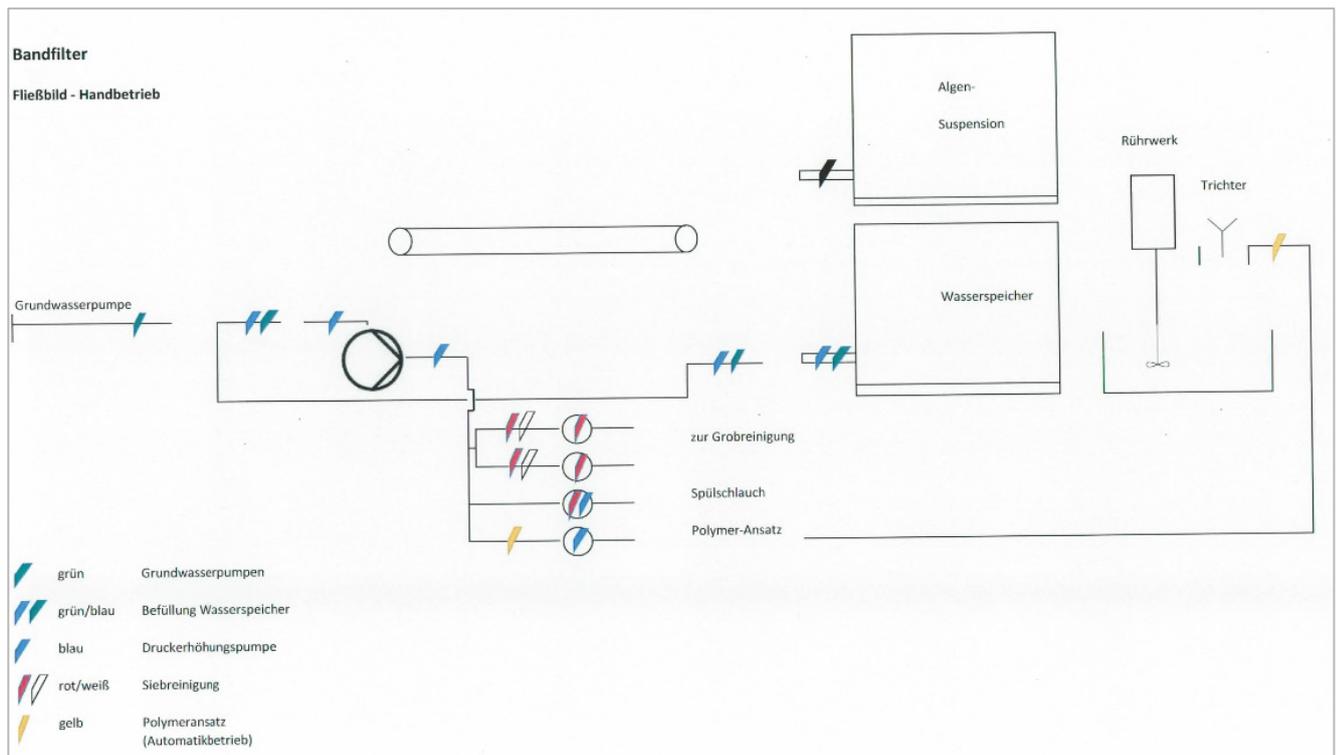


Abb. 58 Fließbild der mobilen Flokkulier- Filtrier- Anlage

Mit der entwickelten Technologie wurden die Algenzellen erfolgreich mit Trockenmasse- Gehalten bis zu 14,7 Prozent geerntet.

Allerdings konnten auf Grund der instabilen Freiland- Bedingungen und Algenkultur die Labor- ergebnisse nur teilweise in den kleintechnischen Maßstab übertragen und noch keine dauerhaft konstanten Trockenmassegehalte des Filterkuchens sichergestellt werden.

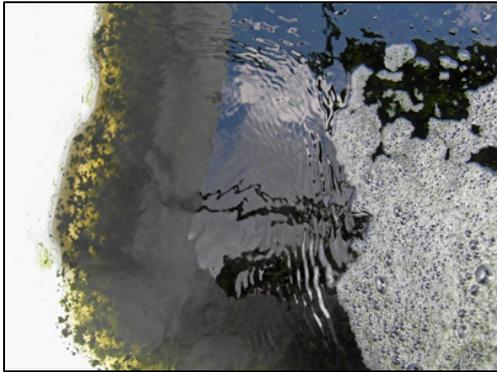
Die TU plant über die Projektlaufzeit hinaus die Weiterentwicklung der Flokkulier- und Vertikalfiltertechnik.



Zugabe der Polymerlösung zur Algensuspension



Spül- und Saugereinheiten



Flockenbildung im Mischreaktor



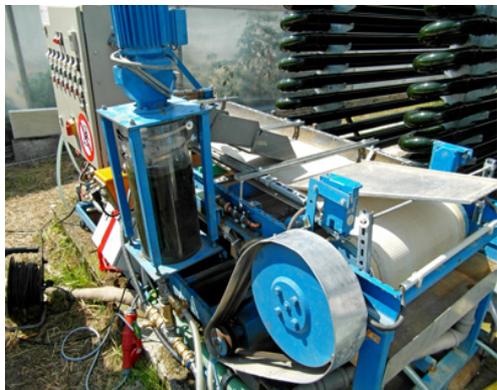
Vertikale Abtrennung der Algen



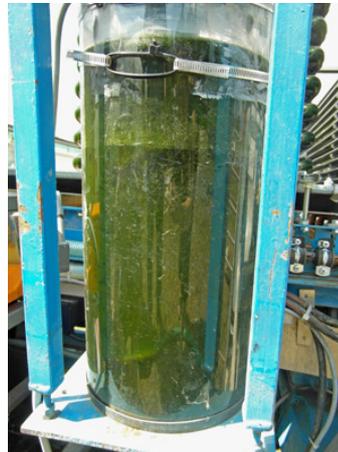
Vertikale Abtrennung



Algen- Polymer- Filterkuchen



Befüllung der Flockungs- Steuerungseinheit mit der Algensuspension



Flockungs-
Steuerungseinheit

Abb. 59 Ernte von *Selenastrum*- Mikroalgen mit der mobilen Flokkulier- Filtrier- Anlage

4.5 Entwicklung von Rezepturen, wertstoffschonender Dosier-Technologie und Herstellung der Versuchsfutterchargen (AP3+4: SpFM/IGV)

Dem Projektziel entsprechend waren *Clarias* Futtermittel zu entwickeln und zu testen, die einen reduzierten Anteil an Fischmehl und -öl enthalten und trotzdem technologisch zweckmäßig, tiergerecht, ernährungsphysiologisch und wirtschaftlich mit marktüblichen Futtermitteln vergleichbar sind.

Für die Vergleichbarkeit der Futtermitteln mussten weitgehend identische Gehalte an den Hauptnährstoffe Rohprotein und Rohfett gewährleistet werden, was sich durch differierende Dosis und Form der zu testenden Algenbiomassen schwierig gestaltete. Die Rezepturentwicklung und Futterherstellung wurden durch technologische Anforderungen (max. 30 % Wasser) und die unter 3.6 beschriebenen Versuchsbedingungen bestimmt (Tab. 12).

Tab. 12 Parameter für Rezepturentwicklung und Planung der Futterherstellung

Parameter	Werte		Parameter	Werte	
	Max	Min		Max	Min
Versuchsdauer, ca. (d)	42	38	Futterbedarf pro Tier und Tag, ca. (g)	1	0,4
Tierart:	<i>Clarias gariepinus</i>		Futterbedarf pro Futtercharge, ca. (kg)	4,2	0,76
Startgewicht der Versuchstiere, ca. (g)	10		Größe der Pellets, Durchmesser (mm)	2	
Anzahl der Tiere pro Becken, ca.	20	10	Eigenschaften der Pellets:	sinkend	
Anzahl der Becken	20		Algenart:	<i>Selenastrum r.</i>	
Anzahl der Versuchsvarianten (Futterchargen)	4		Restfeuchte in der Trocken-Selenastrum, lyophil. (%)	6	
Anzahl der Becken pro Variante (Wiederholungen)	5		Wassergehalt in der Frisch-Selenastrum, gefrosten (%)	1,6	
Anzahl der Tiere pro Variante	100	50	Wassergehalt im Flockungsmittel ALGOWANE (%):	99	
Anzahl der Tiere pro Gesamtversuch:	400	200	Wassergehalt in der Extrudier-Rohstoff-Mischung	30	

Das SpFM kalkulierte die Rezepturen, stellte die Rohstoffe und eine tabellarische Fütterungsempfehlung (Anlage 2) bereit.

Für die zwei kleinmaßstäbigen Fütterungsversuche wurde die SpFM- Basisrezeptur CL 45/15 modifiziert. Das Fischöl wurde von 10 auf 6 % und damit das Rohfett von 15 auf 12 % reduziert. Der Rohproteingehalt wurde mit 45 % beibehalten. In den Rezepturen mussten neben den Anteilen der *Selenastrum*- Biomasse und des Fischmehls auch die der anderen Komponenten entsprechend angepasst werden.

Im ersten Versuch wurden Futter- Varianten mit 9 % *Selenastrum*- Trocken (V2), 2 % - Frisch-Biomasse (V3+4) und mit dem ALGOWANE- Flockungs- Präparat (V4) hergestellt.

Im zweiten Versuch wurden Varianten mit 9 % (V2) und 12,2 % *Selenastrum*- Trockenbiomassen (V5), ALGOWANE (V6) und mit Rapsöl statt Fischöl (V7) hergestellt.

Die Kleinversuchs- Chargen wurden im IGV mit dem BRABENDER- Labor- Extruder pelletiert (Tab. 13), getrocknet, Fischöl dosiert und physiko- chemisch analysiert.

Tab. 13 Herstellungs- Protokoll der Versuchsfutter- Chargen Versuch 1

Erzeugnis:	Fischfutter mit Selenastrum für afrikanischen Wels			
	Basis- Rezeptur = CI 45/12EX			
Variante	V1	V3	V4	V2
Datum	31.07.2013	31.07.2013	01.08.2013	01.08.2013
Zeit Start	10:03:30	12:32:00	10:06:00	11:45:00
Zeit Ende	12:32:00	14:15:00	11:45:00	13:39:00
Trockenmischung (g)	5000	4000	4040	4000
Selenastrum, trocken	nein	nein	nein	ja
Chitosan, trocken	0	0	3,44	0
Selenastrum, Suspension 1 11,65% i.T.)	0	686,7	0	0
Selenastrum, Suspension 2 11,63 % i.T.)	0	0	687,88	0
Rohstofffeuchtigkeit (%)	9,37	9,44	9,30	8,95
Wasser	1500	594	255	1220
Wasser aus Algensuspension	0	606,7	607,88	0
ALGOWANE (Essiglösung)	0	0	340,5	0
Wasser, gesamt	1500	1200	1200	1220
Sollfeuchtigkeit (%)	30	30	30	30
Ist-Extrusionsfeuchte (%)	31,55	30,87	30,7	30,79
Solltemperaturen Gehäuse (°C)	60/100/100	60/100/100	60/100/100	60/100/100
Matrizenform-Düse	2 mm	2 mm	2 mm	2 mm
Schnecke	1 : 2	1 : 2	1 : 2	1 : 2
Gehäusetemperatur 1 (°C) Mw	61,4	61,9	61,4	61,5
Gehäusetemperatur 2 (°C) Mw	100,9	101,5	101,1	101,3
Drehzahl (min ⁻¹)	130	130	130	130
Dosierung (Skt.)	150	150	150	150
Massetemperatur (°C) Mw	101,6	102,1	101,8	101,8
Massedruck (bar) Mw	24,1	26,9	22,5	19,9
Drehmoment (Nm)	7,4	8,5	8,8	8,1
Durchsatz (kg/h)	2,62	3,03	3,15	2,75
Messeranzahl (Stk.)	6	6	6	6
Messerfrequenz (Hz) max.	60	60	60	60
Feuchte nach Trocknung (%)	8,43	9,08	7,4	7,90
Menge nach Trocknung (g)	4600	3680	3670	3640

Für den dritten, den Produktions- Versuch wurden Rezepturen in Analogie zu dem in der Fischzucht Abtshagen GmbH verwendeten Skretting- Futter entwickelt. Das Skretting- Futter wurde als Kontrollfutter 1 (**Ko1**) gefüttert.

SpFM wählte als Basisrezeptur FS44/14, die als „Beeskow“- Kontrollfutter- Variante (**KoBeeskow**) produziert wurde.

Für die Algen- Variante (**V3**) wurde in Analogie zur Futtermitteldesignvariante **V** des zweiten Versuchs eine Algen- Dosierung von 14 % festgelegt. Für die in Beeskow kleinstmöglich produzierbare Charge von 0,5 Tonnen wurden dementsprechend 70 kg benötigt, die durch projektgemäße Kultivierung im PBR3000 nicht produzierbar waren. Deshalb wurde *Selenastrum* durch *Chlorella* und *Spirulina* Biomasse ergänzt.

Durch die produktionstechnisch bedingten hohen Anfahrverluste wurden nicht je 500 kg, sondern 180 kg des Kontrollfutters (**KoBeeskow**) und 280 kg des Algenfutters (**V3**) produziert und nach Abtshagen geliefert.

Die geplante wertstoffschonende Dosier- Technologie war wegen SpFM- betriebsinterner organisatorischer Gründe nicht realisiert worden, sodass die dadurch erwartete Schonung der ernährungsphysiologisch wertvollen Zellinhaltsstoffe der Mikroalgen nicht geprüft werden konnte.

4.6 In vivo Testung der Versuchsfutterchargen - Fütterungsversuche (AP5: TU/ IGV)

Die in vivo Prüfungen der fett- und proteinreichen, fischwasserverwertenden Mikroalgen auf ihre Eignung als Futterkomponente für karnivore Nutzfische am Modell *Clarias gariepinus* waren die entscheidende Meilensteine für die Erreichung der Zielstellung, Fischmehl- und - öl zu substituieren.

Im ersten Fütterungs- Versuch wurden 3 *Selenastrum*- Futtermittel und 1 Kontrollfuttermittel an je 10 Tiere in je 5 Becken (n=50) gefüttert.

Die Parallelschaltung von je 5 Becken in 2 Reihen und 2 Etagen und die gemeinsame Wasseraufbereitung (Abb. 9) gewährleistete weitestgehend einheitliche Aufzuchtbedingungen. Um weitere Einflüsse zu minimieren, erfolgte die Zuordnung der Varianten zu den Becken im diagonalen Versatz, sodass die 5 Becken jeder Variante über beide Etagen verteilt waren (Abb. 60, oben).

Trotzdem zeigte die Versuchsauswertung, dass in der Reihe 1 höhere Zuwachsraten und geringere Verluste als in der Reihe 2 ermittelt wurden (Abb. 60). Zwischen den Etagen wurden nur in der Reihe 1 deutliche Unterschiede festgestellt. Zur Minimierung dieses Fehlers wurden im zweiten Fütterungsversuch die Varianten auch zwischen den Reihen versetzt und die Anzahl der Fische pro Becken verdoppelt.

Als Parameter für die Beurteilung der 4 Futtermitteldesignvarianten wurde der Gewichtszuwachs der je 5x10 Tiere ausgewertet. Die anderen Parameter waren nicht geeignet, da die Verluste nicht auf die Fütterung zurückgeführt werden konnten und die Längen nur von vier der zehn Tiere erfasst wurden.

	Reihe 1					Reihe 2							
	oben					oben							
Etage 1	V I/1	V II/2	V I/3	V II/4	V I/5	V III/1	V IV/2	V III/3	V IV/4	V III/5			
Etage 2	V II/1	V I/2	V II/3	V I/4	V II/5	V IV/1	V III/2	V IV/3	V III/4	V IV/5			
	unten					unten							
Zuwachs(%/T)											Diff der MW		
Reihe 1											zwischen		
					MW	Reihe 2					MW	MW	d. Reihen
182,1	209,0	137,7	160,0	150,0	167,7	145,8	159,9	142,4	134,2	104,8	137,4	152,6	30,3
148,6	147,2	161,4	164,5	143,3	153,0	119,0	161,4	137,8	144,4	131,7	138,9	146,0	14,1
165,3	178,1	149,5	162,3	146,7	160,4	132,4	160,6	140,1	139,3	118,3	138,2	149,3	22,2
Zuwachs(g/T)													
					MW	Reihe 2					MW	MW	
35,5	33,4	24,8	28,0	25,5	29,4	24,1	30,4	23,5	24,8	18,3	24,2	26,8	5,2
27,5	26,5	25,8	25,5	24,4	25,9	20,8	26,6	25,5	26,0	23,1	24,4	25,2	1,5
31,5	30,0	25,3	26,8	24,9	27,7	22,4	28,5	24,5	25,4	20,7	24,3	26,0	3,4
Verluste(n)													
					MW	Reihe 2					MW	MW	
2	1	1	0	0	0,8	1	2	0	1	4	1,6	1,2	-0,8
0	0	-1	0	-1	-0,4	4	2	0	0	1	1,4	0,5	-1,8
1,0	0,5	0,0	0,0	-0,5	0,2	2,5	2,0	0,0	0,5	2,5	1,5	0,9	-1,3
Differenz Zuwachs (%/T) zwischen den Etagen													
33,4	61,8	-23,7	-4,5	6,7	14,7	26,7	-1,5	4,6	-10,2	-27,0	-1,5	6,6	16,2
Differenz Zuwachs (g/T) zwischen den Etagen													
8,0	6,9	-1,0	2,5	1,1	3,5	3,2	3,8	-2,0	-1,2	-4,7	-0,2	1,7	3,7
Differenz der Verluste zwischen den Etagen													
2,0	1,0	2,0	0,0	1,0	1,2	-3,0	0,0	0,0	1,0	3,0	0,2	0,7	1,0

Abb. 60 Zuordnung der je 5 Becken der Futtermittellvarianten I bis IV im diagonalen Versatz, Ergebnisse der Becken bezüglich mittlerem prozentualen (%) und absoluten (g/Tier) Zuwachs und Zuordnung der Verluste zu den Becken (V= Variante; T=Tier; MW=Mittelwert)

Der größte Gewichtszuwachs wurde für die Tiere der Futter- Variante II (V II) gemessen. Sie wogen 8,2 % mehr, als die Tiere, die mit dem Kontrollfutter gefüttert wurden, 24,7 % mehr als die Tiere der Variante III und 27,8 % mehr als die der Variante IV (Abb. 61).

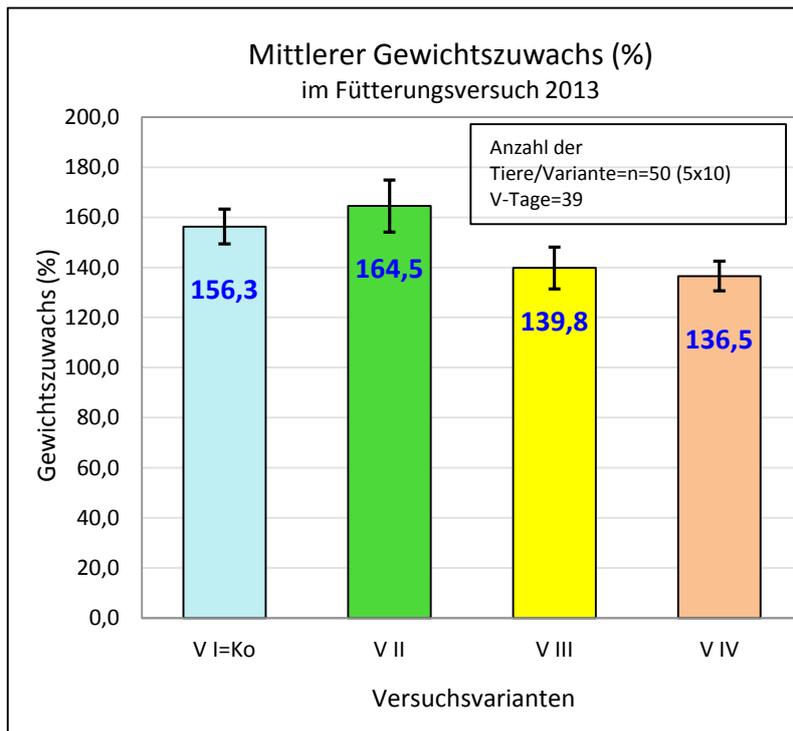


Abb. 61 Ergebnisse des Fütterungsversuches 2013 Variante I = Kontrollfutter ohne Algen, Variante II mit 9 % *Selenastrum* lyophilisiert, Variante III und IV mit 2 % *Selenastrum* (gefrostete Frischbiomasse), Variante IV mit 1 % ALGOWANE- Lösung

Das Futter mit 9 % getrockneter *Selenastrum*- Biomasse erzielte das beste Ergebnis. In den beiden Frischbiomasse- Varianten (V III und V IV) konnten aus pelletier- technologischen Gründen nur 2 % *Selenastrum* eingebracht werden, da die Frischbiomasse ca. 88 % Wasser enthält. Diese Frischbiomasse- Varianten konnten ihrer Favoritenrolle, die ihnen auf Grund der Schonung empfindlicher Zellinhaltsstoffe, Kostenersparnis und Umweltschonung durch Einsparung der Sprühtrocknung zugeschrieben wurden, nicht entsprechen. Mit den weiteren Fütterungsversuchen sollten die positiven Effekte der 9 % *Selenastrum*- Variante reproduziert und die Substituierungsraten von Fischöl und - mehl im *Clarias*- Futter erhöht werden.

Dementsprechend wurden im zweiten Fütterungs- Versuch wie unter 3.6 und 4.6 beschrieben vier *Selenastrum*- und ein Kontrollfuttermittel hergestellt und an je 20 Tiere in je 4 Becken gefüttert. Im Unterschied zum 1. Fütterungs- Versuch wurde damit die Anzahl der Tiere pro Becken und pro Futtermittel erhöht, um die Ergebnisse besser abzusichern. Außerdem konnte durch die Reduzierung der Anzahl der Wiederholungen von 5 auf 4 eine zusätzliche Algenfutter- Variante in die Prüfung aufgenommen werden.

Die beste Futter- Variante des 1. Versuches (**II**; 9 % Trockenbiomasse *Selenastrum*) wurde wiederholt und war Basis für die Varianten **VI** und **VII**, die

- mit einer geringeren Dosis ALGOWANE (**VI**) bzw.
- mit **Rapsöl** anstelle von Fischöl (**VII**) hergestellt wurden (Tab. 14 und Abb. 62).

Die Futter- Variante **V** wurde zur Steigerung des Substituierungsgrades mit 14 % *Selenastrum* hergestellt.

Tab. 14 Spezifizierung der Futtervarianten des zweiten Fütterungsversuches

Becken	I-1 bis I-4	II-1 bis II-4	III-1 bis III-4	IV-1 bis IV-4	V-1 bis V-4
Variante	I – K ₀	II	V	VI	VII
Name	Variante 1=K ₀ Versuchsfutter Clarias CL 45 /12 EX	Variante 2 Versuchsfutter Clarias CL 45 /12 EX	Variante 5 Versuchsfutter Clarias CL 45 /12 EX	Variante 6 Versuchsfutter Clarias CL 45 /12 EX	Variante 7 Versuchsfutter Clarias CL 45 /12 EX
Zusammen- setzung	Welsfutter	Welsfutter + 9 % <i>Selenastrum</i> - Trockenbiomasse	Welsfutter + 14 % <i>Selenastrum</i> - Trockenbiomasse	Welsfutter + 9 % <i>Selenastrum</i> Trockenbiomasse + 0,36 % ALGOWANE-Lsg.	Welsfutter + 9 % <i>Selenastrum</i> Trockenbiomasse, gecoatet mit Rapsöl
Rohprotein [%]	>45	>45	>45	>45	>45
Feuchte [%]	9,7	10,2	12,2	12,8	9,7
Bemerkung					

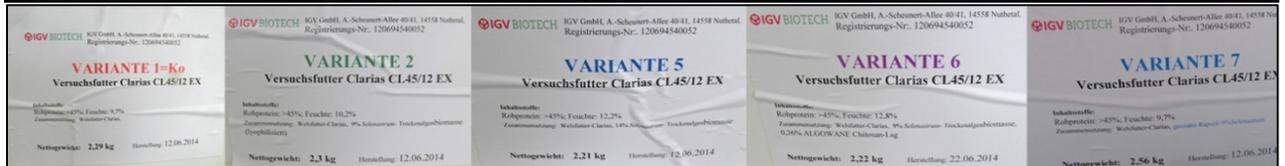


Abb. 62 Etikettierung der Versuchsfuttermittel des zweiten Fütterungsversuches

Um weitestgehend gleichartige Versuchsbedingungen für alle Tiere, alle Becken und alle getesteten Futtervarianten zu gewährleisten, wurden die Prüfgruppen innerhalb der oben beschriebenen 20 Becken- Kreislaufanlage versetzt und zufällig angeordnet. Zur Erhöhung der Sicherheit der Ergebnisse wurde die Anzahl der Tiere pro Becken auf 20 und pro Futtermittel von 50 auf 80 erhöht.

Gesundheitszustand, Futteraufnahme, Wassertemperatur und pH-Wert wurden regelmäßig kontrolliert.

Die Versuchsauswertung erfolgte mit dem Statistik- Programm EVA der LFA Gülzow (Dr. A. Zenk) auf Basis von

1. Gruppenmessungen jedes Beckens von Anfangs-, End- Gewichten, Endzahl der Tiere und Gewichtszuwachs und
2. Einzeltiermessungen von je einem Becken pro Futtervariante (Abb. 63-70, Tab. 15-18).



Abb. 63 Wägung der Gesamtgruppe am Anfang



Abb. 64 Gruppen- Wägung am Versuchsende



Abb. 65 Einzeltier- Längenmessung



Abb. 66 Extremabweichungen der Zuwächse innerhalb einer Futtervariante und eines Beckens

Auswertung der Gruppenmessungen

In Tab. 15 sind die Gewichte, arithmetische und adjustierte Mittelwerte dargestellt.

Zuerst wurde das Merkmal Anfangsgewicht pro Becken betrachtet.

Wie erwartet war dieses Merkmal für alle Futter- Varianten signifikant gleichwertig, ebenso das Merkmal „Anzahl der Tiere pro Becken am Versuchsanfang“.

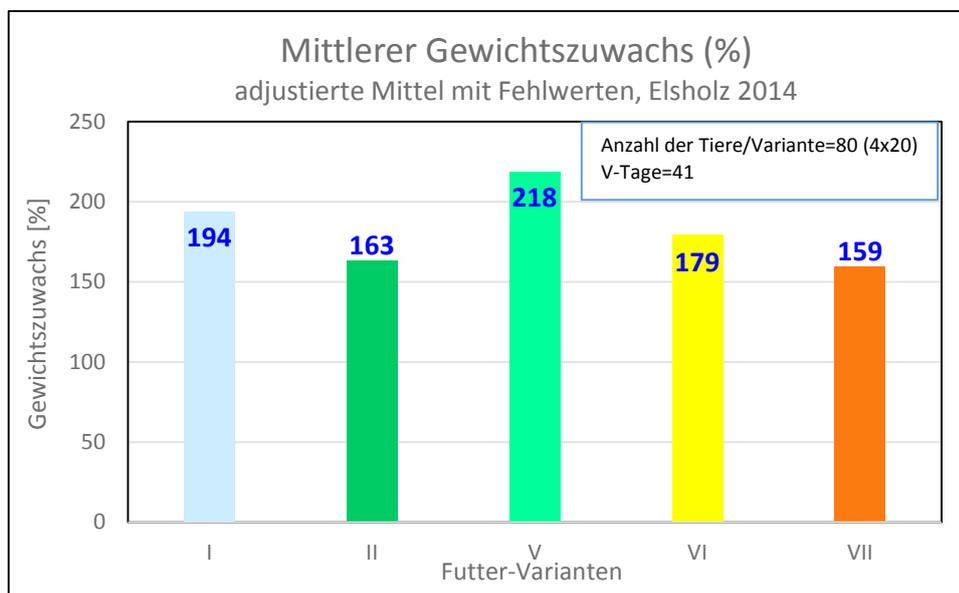
Da das Merkmal „Anzahl der Tiere pro Becken am Versuchsende“ trotz der oben beschriebenen vorbeugenden Maßnahmen zwischen 5 und 29 Tieren pro Becken stark differierte, wurde dieser Parameter als Analysenmerkmal ausgewertet.

Es zeigte sich, dass die „Anzahl der Fische am Versuchsende“ über die Varianten zufällig verteilt war. Die Verluste bzw. das Überspringen zwischen den Becken kann nicht auf die Wirkung der Futtervarianten zurückgeführt werden. Geschmack oder Toxizität wurden als Ursache der Verluste ausgeschlossen. Die Einbeziehung des Merkmals „Anzahl der Tiere am Versuchsende“ als Kovariable im Auswertemodell war damit zulässig.

Im Vergleich zur einfachen Varianzanalyse wurden die Parameter des Auswertemodells dadurch deutlich besser. Die Kovariable zeigte sich signifikant, hatte also tatsächlich entscheidenden Einfluss auf das Zuwachs- Ergebnis. Mit zunehmender Anzahl der Tiere im Becken verringerte sich das Endgewicht je Fisch signifikant. Das erklärt sich daraus, dass für mehr Fische im Becken weniger Futter je Fisch zur Verfügung stand.

Tab. 16 Gewichts- Zuwachs (%), arithmetische und adjustierte Mittelwerte, ohne und mit Fehlerten

Futter-variante	Anzahl Becken	Anzahl Tiere pro Becken	Zuwachs (%) arithmetische Mittel	Zuwachs (%), adjustierte Mittel ohne Fehlerte	Anzahl Becken	Anzahl Tiere pro Becken	Zuwachs (%), adjustierte Mittel mit Fehlerten
I	4	14	261	214	3	17	194
II	4	18	182	179	4	18	163
V	4	22	168	218	4	22	218
VI	4	17	182	167	3	19	179
VII	4	19	155	170	4	19	159


 Abb. 67
 Fütterungsversuch
 Elsholz 29014,
 adjustierte
 Mittelwerte des
 Gewichts-Zuwachs
 (%) für 5 Futter-
 Varianten mit je 4
 Becken a 20 Tiere
 mit 2 Fehlerten (2
 von 20 Becken)

Tab. 17 End- Gewichte (g), arithmetische und adjustierte Mittelwerte, ohne und mit Fehlerten

 * Futter- Variante **I** und **V** signifikant besser als **VII**

Futter-variante	Anzahl Becken	Anzahl Tiere pro Becken	End-Gewicht [g] arithmetische Mittel	End-Gewicht [g]; adjustierte Mittel ohne Fehlerte	Anzahl Becken	Anzahl Tiere pro Becken	End-Gewicht [g], adjustierte Mittel mit Fehlerten
I	4	14	38,7	34,7	3	17	32,4*
II	4	18	31,9	31,6	4	18	30,3
V	4	22	29,2	33,5	4	22	33,5*
VI	4	17	31,4	30,2	3	19	31,8
VII	4	19	28,2	29,5	4	19	28,6

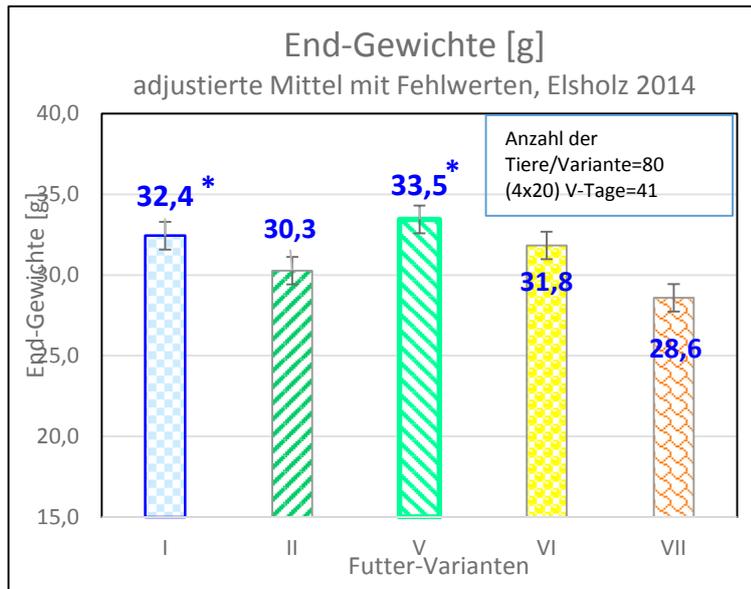


Abb. 68 Fütterungsversuch Elsholz 2014, adjustierte Mittelwerte der End-Gewichte (g) für 5 Futter-Varianten mit je 4 Becken a 20 Tiere mit 2 Fehlerten (2 von 20 Becken)

Auswertung Einzeltiermessungen

Von je einem Becken pro Futtervariante wurden die Gewichte und Längen der Einzeltiere (n=20) ausgewertet.

Die Varianzanalyse belegte, dass am Versuchsanfang alle Fische (außer einem Kontrollgruppen-Tier) annähernd gleich lang und gleich schwer waren, wobei die Reststreuung der Gewichte deutlich größer war als die der Längen. Zum Versuchsende mussten 10 Verluste, davon 8 beim Futter **VI** registriert werden.

Für das Merkmal „Länge am Ende“ konnte mit dem T- Test eine signifikante Differenz zwischen den Futter- Varianten **V** und **II** gefunden werden.

Bei den „Gewichten am Ende“ mussten große Reststreuungen, zwei negative und ein positiver extrem auffälliger Wert festgestellt werden, was die Sicherheit der Ergebnisse beeinträchtigen kann. Trotzdem konnten die Futter-Varianten **V** und **I** als signifikant besser als das Futter **II** erkannt werden (Tab. 18, Abb. 69).

Tab. 18 Einzeltiermessungen, arithmetische und adjustierte Becken- Mittelwerte der Längen (cm) und Gewichte (g); * Futter- Variante **I** und **V** signifikant besser als **II**

Futter-Variante_Bek-ken	Versuchs- Anfang			Versuchs- Ende					Zuwachs (%)	
	Anzahl Tiere	Länge (cm)	Gewicht pro Tier [g/T]	Anzahl Tiere	Länge (cm)	Gewicht pro Tier [g/T]	adjustierte Mittel Länge (cm)	adjustierte Mittel Gewicht (g/T)	Länge	Gewicht pro Tier
I_1	19	11,5	11,5	20	16,3	31,3	16,3	31,32*	41,8	173
II_2	20	11,4	11,2	20	15,3	24,8	15,3	24,8	34,0	121
V_1	20	11,1	10,3	19	16,7	35,0	16,74*	34,97*	51,1	239
VI_2	20	11,1	10,6	11	15,6	29,0	15,6	29,0	40,9	175
VII_1	20	11,4	12,2	19	15,9	30,4	15,9	30,4	38,5	149

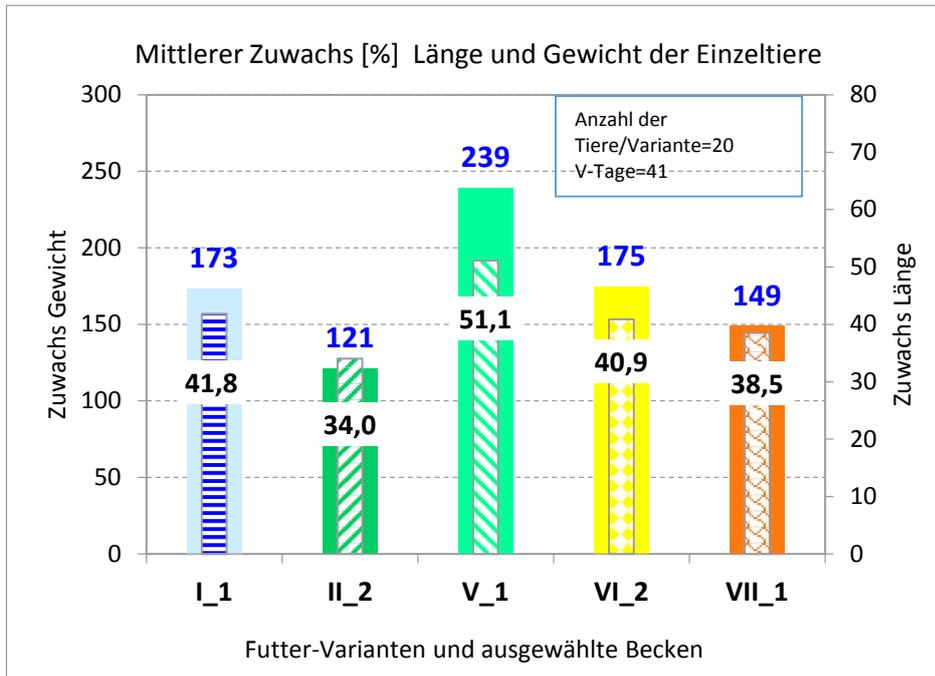


Abb. 69 Mittlerer Längen- und Gewichts-Zuwachs (%) der Einzel-Tiere von je einem Becken pro Futter-Variante

Damit wurden im zweiten Fütterungsversuch bei den Futter-Varianten **V** und **I** signifikant bessere Zuwachs-Ergebnisse

als bei der Futter-Variante **VII** bei den Beckenmessungen und

als bei der Futter-Variante **II** bei den Einzeltiermessungen ermittelt.

Mit dem Algenfutter **V** mit der höheren Dosierung von *Selenastrum* (14 %) konnten die höchsten Zuwachsraten erreicht werden. Die Effizienz des Kontrollfutters wurde in der Tendenz nicht nur erreicht, sondern sogar übertroffen.

Die Ergebnisse des Fütterungsversuches 2013, der vorangegangenen chemischen Analysen und Daphnien- Tests hinsichtlich der guten Eignung von *Selenastrum* als Futter-Rohstoff konnte bestätigt werden, obwohl das gute Ergebnis der Futter-Variante **II** des ersten Versuchs (9 %) nicht reproduziert werden konnte.

Den Ergebnissen entsprechend wurde für das scale up, für den **dritten Fütterungsversuch**, eine 14 % Algen-Futterrezeptur entwickelt.

Diese wurde gegen das Standard-Skrettingfutter und das Beeskow-Kontrollfutter mit größeren Tiergruppen (n=100) zweier Chargen und über längere Versuchszeiten (>72 d) geprüft. Die *Clarias*- Jungfische wurden bis zur Schlachtgröße gefüttert, Probeschlachtungen und Verkostungen durchgeführt, Schlachtausbeute, Fettauflage, Optik und Sensorik beurteilt.

Die Versuchsbedingungen und -ergebnisse sind in Tab. 19 und Abb. 70-72 dargestellt (detaillierte Versuchsbericht siehe Anlage 3).

Futter-Variante	Skretting Ko1	Beeskow ohne Algen KoBeeskow	Beeskow mit Algen V3	Skretting Ko1	Beeskow ohne Algen KoBeeskow	Beeskow mit Algen V3
Becken	2-1	2-5	2-7	2-2	2-6	2-8
Tier-Charge	Charge 1 DE-020614			Charge 2 DE-040714		
Anfang		22.10.2014			23.10.2014	
Ende		01.01.2014			04.01.2014	
Tage Fütterung		72			74	
Besatz Stk	100	100	100	100	100	100
Besatz kg	41,57	41,73	41,59	21,31	21,43	21,02
Besatz g/Stk	415,7	417,3	415,9	213,1	214,3	210,2
Ende Stk	99	89	92	100	90	89
Ende kg	127,70	119,70	120,70	99,45	91,35	96,50
Ende g/Stk	1.289,9	1.344,9	1.312,0	994,5	1.015,0	1.084,3
Zuwachs kg	86,13	77,97	79,11	78,14	69,92	75,48
Zuwachs g/Stk	874,18	927,61	896,07	781,39	800,74	874,06
Futterverbrauch kg	78,18	78,17	78,16	64,28	64,26	64,23
FQ	0,91	1,00	0,99	0,82	0,92	0,85
Mortalität %	1	11	8	0	10	11

Beim Parameter Futteraufnahme wurden zwischen den drei Varianten keine Unterschiede festgestellt. Die identische rationierte Tagesfuttermenge wurde durchgehend vollständig aufgefressen. Beim insgesamt stark ausgeprägten Fressverhalten konnte eine schwache Differenzierung beobachtet werden:

Beeskow- Algen- Variante \geq Skretting- Kontrolle $>$ Beeskow- Kontrolle ohne Algen, wobei allerdings nach Erreichen der 1000 g/Stück- Gewichte die Tiere der Algen- Variante zurückhaltenderes Fressverhalten zeigten.

Bei den Merkmalen Futterverwertung und Mortalität war die Algen- Variante etwas besser als die Beeskow- Kontrolle. Die Skretting- Kontrolle war jedoch besser als beide Beeskow- Futter. Die Ursachen für die höhere Mortalität konnten nicht festgestellt werden. Nach Meinung der Fischzucht Abtshagen GmbH war sie nicht auf das Futter zurückzuführen.

Das Merkmal Gewichts- Zunahme wurde

- pro Becken (kg) und
- pro Tier (g/ Stück) ausgewertet.

Beim Zuwachs pro Becken (kg) erreichte die Skretting- Variante bei beiden Tierchargen die besten Ergebnisse, gefolgt von der Algen- Variante (Tab. 19, Abb. 70).

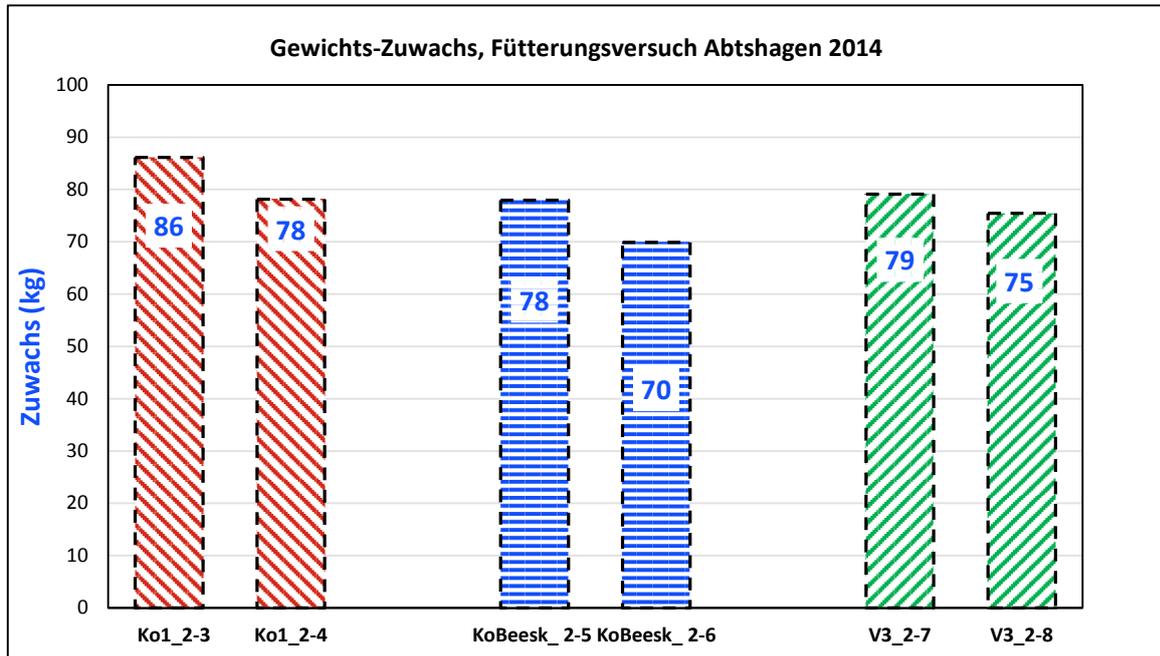


Abb. 70 Gewichts- Zuwachs pro Becken (kg), Fütterungsversuch Abtshagen 2014, 2 Wiederholungen (Tierchargen) pro Futter

Anders stellt es sich beim Zuwachs pro Tier (g/ Stk) dar. Bei diesem Parameter wurden stärkere Differenzen zwischen den Futtermitteln und den Tierchargen festgestellt.

Das Algenfutter zeigte die geringsten Abweichungen zwischen den beiden Chargen und den höchsten mittleren Zuwachs (Abb. 71, 72).

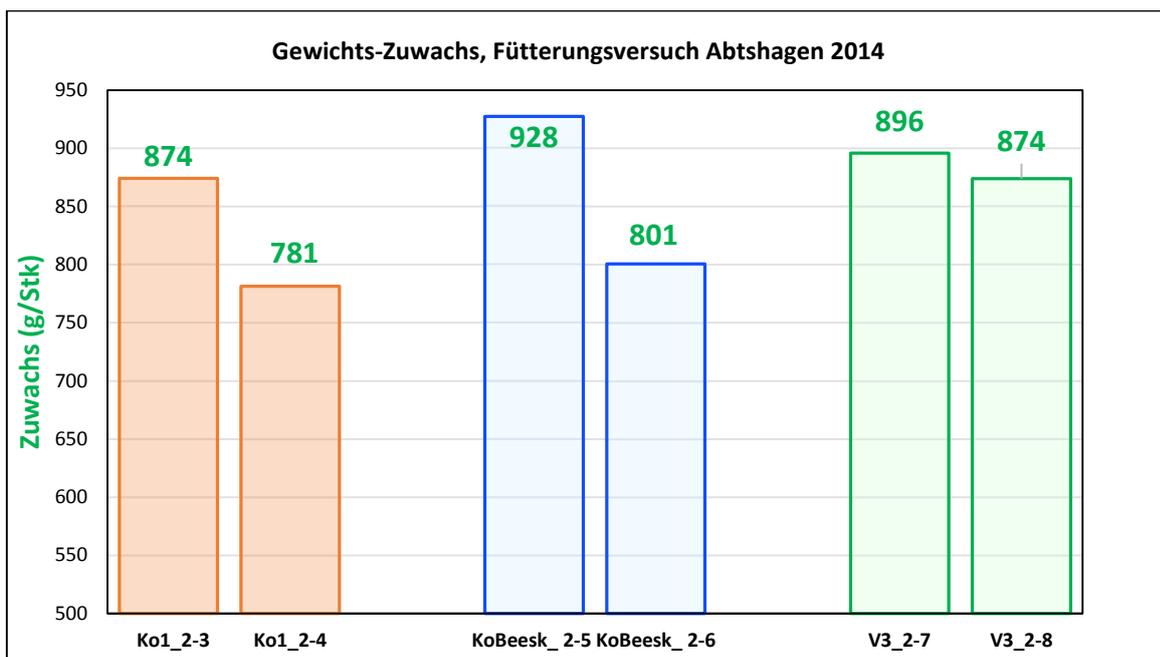


Abb. 71 Gewichts- Zuwachs pro Tier (g/ Stk), Fütterungsversuch Abtshagen 2014, 2 Tierchargen (Wiederholungen) pro Futter

Das Algenfutter war den Kontrollfuttermitteln nicht nur gleichwertig, sondern übertraf beim Zuwachs pro Tier beide Kontrollen, beim Zuwachs pro Becken die Beeskow- Kontrolle (Abb. 72).

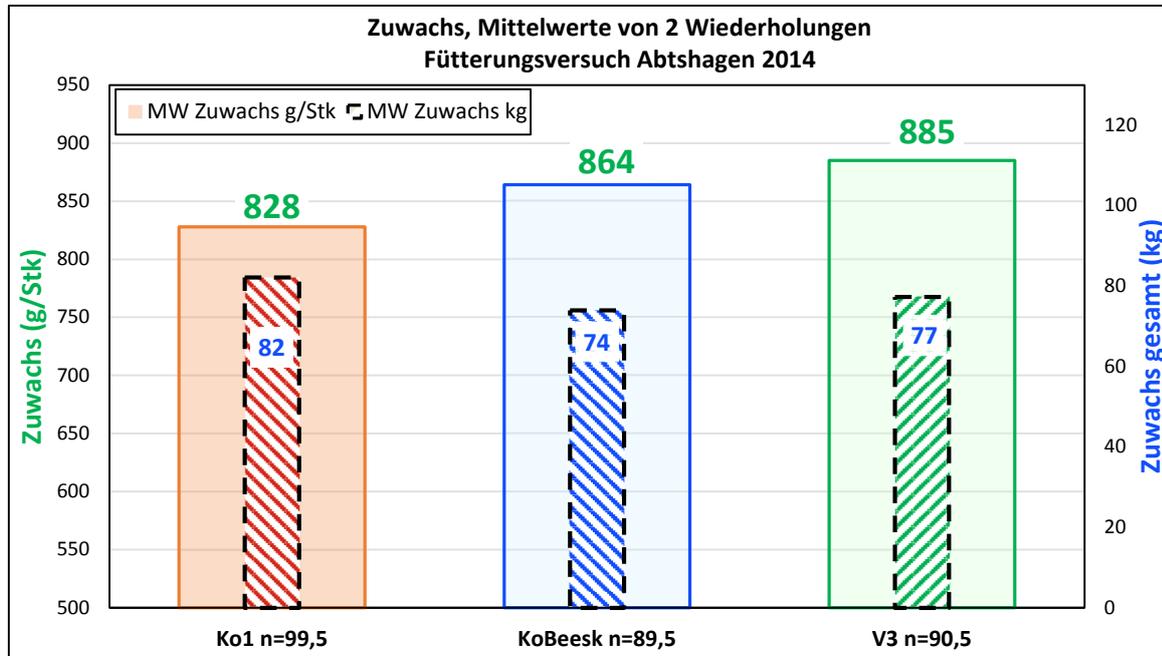


Abb. 72 Mittelwerte der 2 Wiederholungen von den Parametern Zuwachs pro Becken (kg) und Zuwachs pro Tier (g/Stk), Fütterungsversuch Abtshagen 2014

Die Zuwachs- Ergebnisse des dritten Fütterungsversuchs bestätigten die Eignung von Mikroalgen- Trockenbiomasse als *Clarias*- Futter- Komponente und Substitut für Fischmehl. Mit 14 % Algen konnten im Vergleich zum analogen Beeskow- Kontroll- Futter sogar bessere Zuwachsraten erreicht werden.

Für die Probeschachtung wurden 3 Fische je Becken, d.h. 6 pro Futter- Variante, zufällig entnommen, geschlachtet, begutachtet, analysiert und verkostet (Abb. 73-74).



Abb. 73, 74 Probeschachtung von 3 Fisch je Becken, Fütterungsversuch Abtshagen 2014

Bei den Schlachtausbeuten wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt. In der Tendenz war die Filet- Ausbeute beim Algen- und beim Skretting- Futter um 1,1 % höher als bei der Beeskow- Kontrolle.

Keine Unterschiede wurden beim Geruch, deutliche dagegen bei der Färbung und dem Fettanteil festgestellt. Die Filets und das Fett der algengefütterten Fische waren deutlich gelblich- orange gefärbt (Abb. 75, 76).

Bei den 1.600 g Algen- Fischen des Beckens 2-7 wurde mehr subkutanes, Flossensaum- und Intestinal- Fett (+1,9 %) gefunden, als bei den 1.300 g Algen- Fischen und als bei den Tieren der anderen Futter-Varianten (Abb.76, Anlage 4).



Abb. 75, 76 Filets und Fettanteil der Kontroll- und Algen- Fische, Fütterungsversuch Abtshagen 2014

Der Einsatz des Algen- Futters unter den praktischen Versuchsbedingungen in der Fischzucht Abtshagen GmbH war erfolgreich.

Leicht positiv konnte das gesteigerte Fressverhalten und die bessere Futtermittelverwertung bewertet werden, wobei diese Vorteile am Ende der Mast durch erhöhten Fettansatz geschmälert wurden. Bezüglich der Färbung durch die natürlichen Algen- Pigmente wird differenzierte Akzeptanz durch verschiedene Verbrauchergruppen erwartet.

Zur Beurteilung der sensorischen Eigenschaften wurden drei unabhängige Blind- Verkostungen durchgeführt. Bewertungskriterien waren Geruch, Färbung, Konsistenz und Geschmack.

Insgesamt wurde die Unterschiede als geringfügig, die Qualität und der Geschmack der Filets aller Futtervarianten als sehr gut eingeschätzt. In einer Verkostung wurde die Beeskow- Kontrolle, bei den anderen beiden die Skretting- Kontrolle etwas besser bewertet als die anderen Varianten. Durch einige Verkoster wurde die Färbung und der Geschmack der Algen- Variante besonders positiv beurteilt.

Damit wurde eingeschätzt, dass die Dosierung von 14 % *Selenastrum- Spirulina- Chlorella*- Biomasse im Futter die Sensorik der Fischfilets nicht beeinträchtigt. Mit entsprechendem Marketing könnte die natürliche Färbung positiv eingesetzt werden.

Filets und Futtermittel der Versuchsvarianten wurden chemisch analysiert (Abb. 77-82).

Größere Unterschiede wurden bei den Filets und insbesondere zwischen denen der beiden Kontrollvarianten gemessen. Beim Rohprotein erreichten die Differenzen 9,2 %, beim Fett 8,5 % und bei den ungesättigten Fettsäuren 7,4 % (Abb. 77).

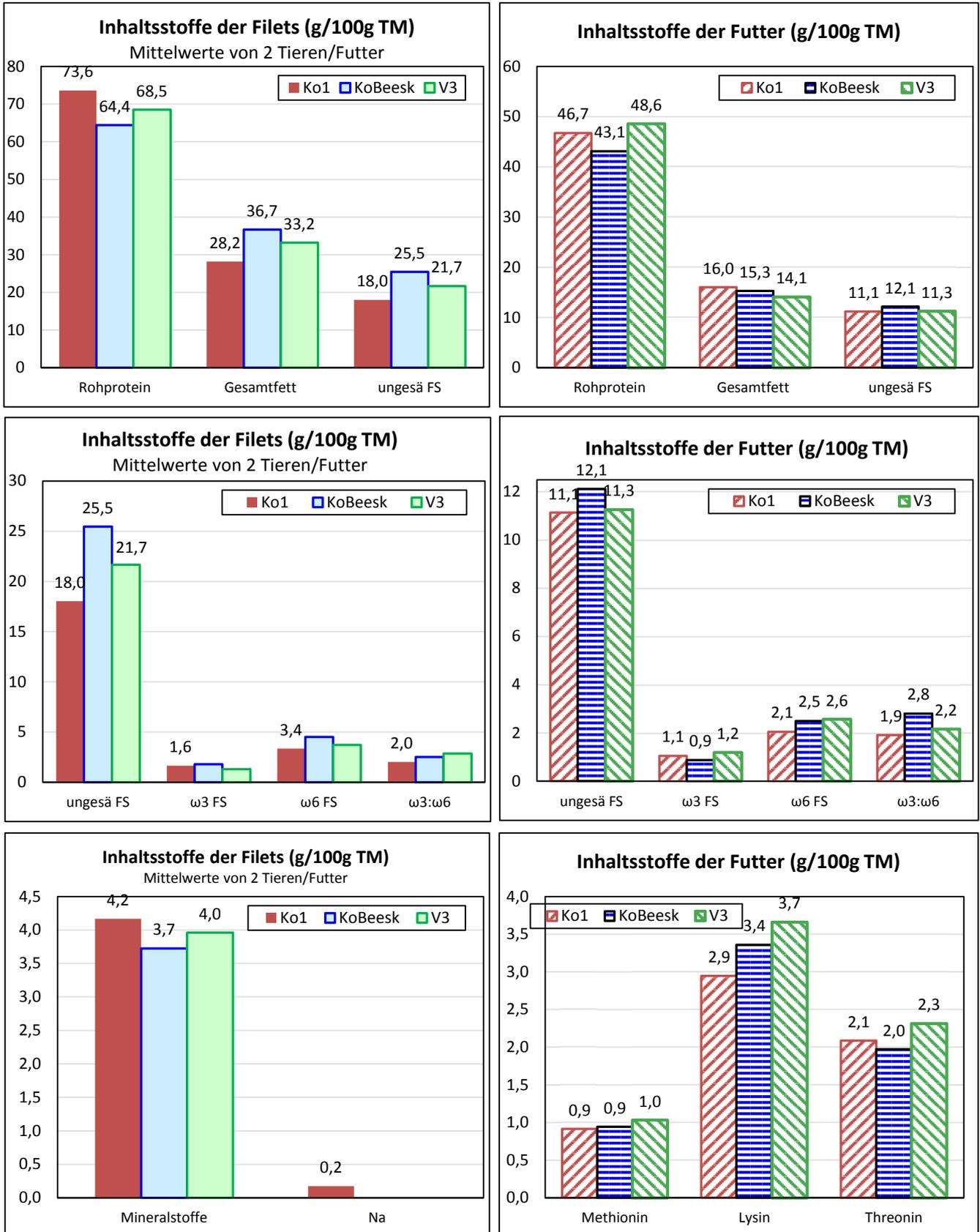


Abb. 77-82 Chemische Zusammensetzung der Filets und der Futtermittel, Fütterungsversuch Abtshagen 2014

Der höchste Fettgehalt wurde nicht bei den Filets der Algenvariante Becken 2-7, wie es nach den Probeschlichtungen zu erwarten war, sondern bei denen der Beeskow- Kontrolle Becken 2-6 analysiert (Anlage 4). Auch zwischen den Analysen der Filets und der Futtermittel gab es keine direkte Korrelation (Abb. 77- 80). Die höchsten Protein- Gehalte des Futters V3 erbrachten im Filet nur die mittleren Proteinwerte und die höchsten Futter- Fett- Gehalte die fettärmsten Filets. Auch die Gehalte der $\omega 3$ und $\omega 6$ Fettsäuren in den Futtermitteln und Filets korrelierte nicht. Als besonders positiv werden die etwas höheren Gehalte an den drei wichtigen essentiellen Aminosäuren im Algen- Futter beurteilt, die die der beiden Kontrollfutter mit den höheren Anteilen an Fischmehl übertraf.

Die chemischen Analysen zeigten ebenso wie das Fressverhalten, die Zuwächse, die Schlachtausbeuten und die Verkostungen, dass

- die verwendeten Mikroalgen ernährungsphysiologisch wertvolle Bestandteile im *Clarias*- Fischfutter sind,
- das Fischmehl teilweise durch Mikroalgenpulver substituiert werden kann,
- die Reduzierung des Fischöls in der Rezeptur ohne Nachteil sowohl für die Tiergesundheit, als auch für die Effektivität der Fischproduktion realisierbar ist.

5. Diskussion

Die Projektergebnisse bieten sehr gute Voraussetzungen, sich mit den verschiedenen komplexen Themen weiter zu beschäftigen. Allerdings ist ihre wirtschaftliche Nutzung im Moment noch nicht abschätzbar. So ist die Kultivierung im Freiland zwar kostengünstig und ökologisch, aber nur während der 3 Sommermonate möglich. Deshalb sind Lösungen, mit Möglichkeiten auch in den kühlen Monaten zu kultivieren, zu bevorzugen.

Die Mikroalge *Selenastrum* hat sich als Teil- Substituierer von Fischmehl und - öl im *Clarias*- Futter bewährt, sollte auch bei anderen Fischarten geprüft werden. Eine großtechnische Kultivierung zu Preisen, vergleichbar mit denen von Fischmehl und - öl, kann derzeit nicht realisiert werden.

Ein interessantes Thema für die Zukunft bleibt das Potential von *Selenastrum*, unter anderem auch hinsichtlich der essentiellen Aminosäuren.

6. Öffentlichkeitsarbeit

Am PBR3000 wurde ein IGV-Video gedreht, Gäste informiert und geschult. Außerdem wurden Vorträge, Poster und Infomaterialien veröffentlicht:

1. R. Storandt, Waldeck, P., Schmidt, K., Loest, K.. Nutzung von Mikroalgen in der Aquakultur – Stand und Perspektiven. 6. Bundesalgenstammtisch, Hamburg 13.-14.5.2013
2. T. Wencker, R. Storandt, et al.. Microalgae and Aquaculture – feed and cycle management. *Aquafeed magazine* 12/2013
3. M. Sandmann, R. Storandt, et al.. Benefits of aquaculture through modern algal biotechnology, NTNU Ocean Week (Poster) Trondheim, Norwegen, 04.-07.05.2015
4. IGV, Mikroalgen für die Fische. MAZ Potsdam 13.07.2013

Weitere Veröffentlichungen sind z.B. für den 8. Algenstammtisch (7.- 8.09.2015 TU München) geplant.

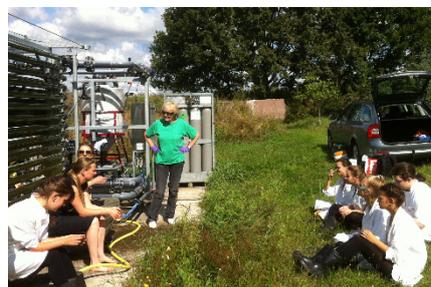


Abb. 83
Schulung
am PBR3000

7. Fazit

Das Wachstum der Welt- Aquakultur, verursacht durch den wachsende Bedarf an gesunden Lebensmitteln und der Stagnation des Fangs von Fischen und Meeresfrüchten ist verbunden mit steigendem Bedarf an Fischöl und Fischmehl und Entstehung ungenutzter umweltbelastenden Nährstofffrachten.

Das Projekt zielte auf die Entwicklung von Konzepten, Techniken und technologischen Lösungen zur Verwertung dieser Nährstofffrachten für die Produktion ernährungsphysiologisch wertvoller Mikroalgen und deren Nutzung zur Substituierung von Fischöl und -mehl im Fischfutter.

Das Projekt wurde erfolgreich realisiert. Mit *Selenastrum rinoi* FHL179 wurde eine adaptierbare, fettreiche Alge gefunden, die sowohl aus dem Fischwasser die Nährstoffe verwerten konnte, als auch als Futterkomponente für *Clarias gariepinus* sehr gut geeignet war.

Mit dem Projekt konnte nachgewiesen werden, dass die entwickelten Geräte und Technologien für die integrierte Verwertung ungenutzter Nährstofffrachten durch Algen- Kultivierung und - Abtrennung geeignet sind.

Mit der Auswahl von *Selenastrum rinoi* FHL179 und dessen Kultivierung im technischen Maßstab mit Fischzuchtwasser konnten die Nährstoffe des Fischwassers verwertet und wertvolle, fett- und aminosäurereiche Mikroalgenbiomasse kultiviert werden.

Es wurde gezeigt, dass *Selenastrum*- Biomasse ein ernährungsphysiologisch wertvoller Futter-Rohstoff für *Clarias gariepinus* ist, keine antinutritiven Effekte ins Futter einbringt und Fischmehl und Fischöl teilweise substituieren kann.

Darüber hinaus wurde mit Schlachtungen, Verkostungen und chemischen Analysen bestätigt, dass durch Fütterung Futtermitteln modifiziert durch Dosierung von *Selenastrum*, *Chlorella* und *Spirulina* protein- und fettsäurereiche, sensorisch wertvolle Fisch- Lebensmittel produziert werden können.

Die *Selenastrum*- Biomasse wurden auch für die Entwicklung neuer Extrakte für die Kosmetikindustrie eingesetzt. Durch die projektgemäßen Untersuchungen wurden Daten für *Selenastrum* Infomaterial und Exposé bereitgestellt.

Die IGV GmbH und TU mbH können in zukünftigen Projekten innovative Technik und technologische Lösungen zur Algenkultivierung und -abtrennung nutzen und bereitstellen.

Die Vermarktung des Aquakultur- PBR3000 wird in Zusammenarbeit mit der Firma bbi biotech GmbH realisiert.

Das Spezialfuttermittelwerk Beeskow kann die getesteten Rezepturen ins Portfolio übernehmen und auf das erarbeitete *Selenastrum*- Datenmaterial und know how des IGV für informations- und verkaufsfördernde Maßnahmen zurückgreifen.

Der Verkauf von Algenbiomassen insbesondere *Selenastrum*, *Chlorella* und *Spirulina*, zukünftig aber auch anderer protein- und fettreicher Mikroalgen als ernährungsphysiologisch wertvoller Rohstoff für Fischfutter kann mit entsprechender Öffentlichkeitsarbeit und Marketingkonzepten forciert werden.

8. Anlagen

Auszug aus dem Zwischenbericht 02/2014 des Projektpartners TERRA URBANA Umlandentwicklungsgesellschaft mbH

Zusammenfassung der Recherchen zum Stand der Technik

Stand der Technik Trennverfahren

Trennverfahren	Eigenschaft	Bemerkung
Sedimentieren	Absinken von feinen unlöslichen Feststoffteilchen in einer Flüssigkeit Dichteunterschied notwendig!	Lange Standzeiten, Feine Partikel bleiben in Schwebelage Nicht geeignet
Dekantieren	Abgießen einer Flüssigkeit, welche sich über einem unlöslichen Feststoff oder einer unlöslichen Flüssigkeit befindet	Sehr ungenau ungenügend
Filtrieren	Abscheiden von Feststoffteilchen aus Suspensionen mit Hilfe poröser Filtermittel Wird in oft Kombination mit Fliehkraftsedimentation verwendet um eine bessere Trennleistung hervorzubringen	
Normale Filtration	Filtration verläuft relativ langsam vollständige Trennung ist fast unmöglich, es bleibt immer noch etwas Flüssigkeit am Niederschlag haften	kleine Partikel → Filter setzt sich zu ungenügend
Filtration unter verminderten Druck	Mit Hilfe Wasserstrahlpumpe; Filtration wesentlich schneller, auch wird durch den Unterdruck Luft durch den Niederschlag gesogen und dadurch getrocknet	Kleine Partikel → Filter setzt sich zu ungenügend
Zentrifugieren	Für sehr fein verteilte, unlösliche Feststoffe in einer Flüssigkeit; Über Fliehkraft	Gewinnung der Algen aus Zentrifuge umständlich Nicht geeignet
Abscheiden	Für zwei ineinander unlösliche Flüssigkeiten	Nicht geeignet
Abdampfen	Trennung eines löslichen Feststoff von einer Flüssigkeit	Nicht geeignet
Extrahieren	Herauslösen von Stoffen mithilfe eines Lösungsmittels beruht auf der unterschiedlichen Löslichkeit der einzelnen Stoffe	Nicht geeignet
Destillieren	Trennung sehr leicht löslicher Feststoffe von einem Lösungsmittel	Nicht geeignet
Chromatografieren	Auftrennung komplizierter Gemische in ihre Bestandteile	Nicht geeignet
Magnettrennung	Abtrennung magnetischer Feststoffe aus Flüssigkeit	Nicht geeignet

Stand der Technik Algen-Ernte

Filter	Eigenschaft	Bemerkung	Preise [€]
Trommelfilter	Trennung der Feststoffe vom Filter mit hohem Druck (ca. 7 Bar) mittels Wasserdüsen	Focus auf Filtrat	Neu: ab 10 Tsd.
	Trennung der Feststoffe vom Filter mit hohem Druck (ca. 4 Bar) mittels Luftdüsen sogenannte Luftklingel Versorgung der Luftklingel mit extrastarkem Kompressor der Dauerdruck von 8-10 Bar aufrecht erhalten kann	Focus kann auf Feststoff gerichtet werden	Prototyp, Neu, ab 15Tsd
Scheibenfilter	Trennung der Feststoffe vom Filter mit hohem Druck (ca. 7 Bar)	Focus auf Filtrat	
Bandfilter	Suspension wird über ein Förderband geleitet Trennung erfolgt mittels Schwerkraft oder Vakuumpumpe	Focus kann auf die Feststoffe gerichtet sein	Neu: ca. 6 Tsd. (Scheiblein)

Anlage 1

Filter	Eigenschaft	Bemerkung	Preise [€]
Kammerfilter- presse	Fest-Flüssigtrennung unter steuerbarem Druck (2 – 15 Bar) Kuchenfiltration Feinheiten ab 2µm	Focus kann auf die Feststoffe gerichtet sein	Neu: teuer, kleine Anlage ca.10 T € Miete: unrentabel gebraucht: nach Marktlage
Beutelfilter	Trennung mittels „Filtersack“, 2 Varianten: A: durch Schwerkraft, B: mit Pumpe bei steuerbarem Druck	Focus kann auf die Feststoffe gerichtet sein	Neu: ab ca. 800 - 1000 Euro
Schichtenfilter	Filterschichten zur Klär-, Fein- und Sterilfiltration von verschiedenen Fluiden	Focus auf Filtrat	
Filter mit Hilfsmitteln	Filterhilfsmittel sind chemisch inerte Stoffe, die physikalisch-mechanisch eine Filtration unterstützen z.B. Cellulose, Kieselgel, Kieselgur oder Perlit	Focus auf Filtrat	
Membranfilter	Für Mikro- und Ultrafiltration typische Anwendungen: Zellrückhaltung, Partikelsammlung, Klar- und Sterilfiltration von wässrigen Lösungen, Partikelanalyse, mikrobiologische Analyse und Epifluoreszenzmikroskopie	Nutzung beider Fraktionen Eher für Stoffe > 0,1 µm	
Zentrifugen	Hoher Bedienungsaufwand		
Vollmantel- zentrifugen	Für feine Partikel, Vgl. Hinweise Fa. Flottweg Separator Dekanter Sedicanter (Separatoren bereits beim IGV im Einsatz)	Resttrübung und geringe TM bei Separator hohe Investitionen, hoher Energiebedarf, hohe Trocknungskosten	Zentrifuge: ab ca. 20T€ Separator: ab ca.10T€ Gebrauchtgeräte nach Marktlage
Siebzentrifugen	Beschleunigte Siebfiltration	Für große Partikel	
Hydrozyklone	Fliehkraftabscheider für Flüssiggemische Rotation der Flüssigkeit	Rel. anfällige Technik Hohe Investitionen	
Magnetische Separation	Zusatz magnetischer Partikel	Magnetische Partikel im Konzentrat!	
Flotation	in Wasser dispergierte oder suspendierte Stoffe werden durch anhaftende Gasblasen an die Wasseroberfläche transportiert und dort mit einer Räumeneinrichtung entfernt werden		
Flotations- kolonne	Verwendung von Flockungsmitteln u.a. Stärke, andere Flockungsmittel Zuführung einer Flotationskolonne Trocknung	US-Patent!	
Hydro- Bogensieb	einfache Konstruktion, Trennung mittels Schwerkraft Feinheit: ab 75µm	Focus nicht direkt auf Feststoffe evtl. Nachverdichtung, z.B. mit Schneckenverdichter	Neu: zw. 500-800 € Miete: 200 €/Monat (ewuenviron), bei Kauf anrechenbar

Welsfutter-Clarias CL 45/12 EX

Deklaration

Umsetzbare Energie	MJ (kcal)	16,05 3833	Inhaltsstoffe	Verdau-lichkeit (%)	Energieverteilung (%)
Bruttoenergie	MJ (kcal)	19,8 4777		MJ (kcal)	18,17 4340
Protein	min.	45,0		94	55
Fett	min.	12,0		92	30
NfE	ca.	23,8		88	15
Asche	max.	5,4			
Rohfaser	max.	2,0			
P-Gehalt	ca.	0,9			
Zusammensetzung:	Weizen, Fischmehl, Sojaextraktionsschrot, Erbsenprotein, Fischöl, Hämoglobinpulver, Federmehl, Selenastrum - Biomasse, Vitamine- und Spurenelementevormischung.				

vitafeed
gesundes Spezialfutter für Ihr Tier



Futterbeschreibung

Das CL 45/15 EX ist ein im Extrudierverfahren hergestelltes Welsfutter. Es ist insbesondere durch eine sehr hohe Proteinverdaulichkeit gekennzeichnet. Grundlage dessen ist der Einsatz von hochwertigstem Fischmehl in Kombination mit Selen - Biomasse. Das Futter ist konzipiert für die gesunde Jungfischzucht von Afrikanischen Welsen. Die optimalen physikalischen Eigenschaften der Stärke begünstigen die Verweilzeit des Futters im Verdauungskanal und somit über die Nährstoffresorptionsrate die Futterverwertung. Der Blutzuckergehalt steigt nach der Fütterung nur langsam an. Das verhindert das Auftreten mehrständiger diabetischer Zustände. Der Anteil von Selen - Biomasse soll zusätzlich das Immunsystem der Jungfische stärken. Der Vitamin- und Mineralstoffgehalt ist optimal auf den ernährungsphysiologischen Bedarf der Welse abgestimmt. Die Speisefischqualität ist durch hohe Protein- und mittlere Fettgehalte charakterisiert. Die Schlachtkörperverluste sind minimal.

Richtungsweisende Futtertabelle

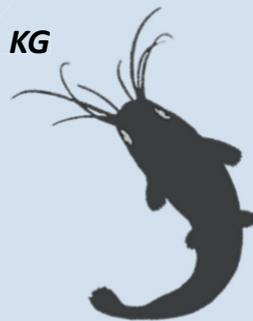
% Futter (kg Futter je 100 kg Fisch pro Tag)								
Fischgröße (g)	Fraktion (mm)	Wassertemperatur (Co)						
		6	10	14	18	22	26	28
10 - 35	2	0,4	0,5	0,7	1,8	2,8	3,2	2,0
35 - 80	3	0,4	0,5	0,7	1,6	2,7	3,1	2,6
80 - 150	3	0,3	0,4	0,7	1,6	2,6	3,0	2,4
150 - 300	4	0,2	0,3	0,6	1,5	2,4	2,5	2,0
300 - 2500	5	0,2	0,3	0,6	1,5	2,2	2,0	1,7
2500 - 5000	6	0,2	0,3	0,6	1,3	2,0	1,8	1,4

Spezialfuttermittelwerk
Beeskow GmbH
Hafenstraße 11
D - 15848 Beeskow

Bank: Raiffeisen-Volksbank Oder-Spree eG
BLZ: 17062428 Kt. Nr.: 309 001
Telefon: 03366 - 21136 Fax: 03366-23065
Geschäftsführer: Gerhard Ettner, Martin Jahn

**Ergebnisauswertung zum Fütterungsversuch
mit einem Mikroalgen-angereicherten Mastfutter
in der Aufzucht vom Afrikanischen Wels (*Clarias gariepinus*)**

***Fischzucht Abtshagen GmbH & Co. KG
Jana Lusch & Reiner Elies
Abtshagen, den 13.01.15***



Übersicht

1. Versuchsdurchführung
2. Ergebnisse
 - 2.1 Futtermittelverwertung
 - 2.2 Mortalität
 - 2.3 Futteraufnahme
 - 2.4 Probeschachtung
3. Fazit / Diskussion

1. Versuchsdurchführung

3 Futtermittel

2 Versuchsfuttermittel (Beeskow) + 1 Kontrollfuttermittel (Skretting)
mit Algen / ohne Algen

X

2 Tiergruppen

Charge 1 (DE-020614) + Charge 2 (DE-040714)

= 6 Versuchsgruppen mit je 100 Fischen

		Tiergruppe	
		Charge 1	Charge 2
Futtermittel	Mit Algen	2-7	2-8
	Ohne Algen	2-5	2-6
	Skretting	2-1	2-2

1. Versuchsdurchführung

	Charge 1 DE-020614			Charge 2 DE-040714		
Anfang	22.10.2014			23.10.2014		
Ende	01.01.2015			04.01.2015		
Tage Fütterung	72			74		
	2-1	2-5	2-7	2-2	2-6	2-8
Besatz Stk	100	100	100	100	100	100
Besatz kg	41,572	41,733	41,589	21,311	21,426	21,021
Besatz g/Stk	415,72	417,33	415,89	213,11	214,26	210,21
Ende Stk	99	89	92	100	90	89
Ende kg	127,70	119,70	120,70	99,45	91,35	96,50
Ende g/Stk	1289,90	1344,94	1311,96	994,50	1015,00	1084,27
Futter kg	78,18	78,17	78,16	64,28	64,26	64,23

- Erfassung von Stückzahl und Gesamtmasse (kg) der Versuchsgruppen zu Beginn und zum Ende des Versuches
- Identische Fütterung der 3 Fütterungsgruppen jeder Tiercharge entsprechend unserer (internen) Fütterungsempfehlung
- Erfassung von Fressverhalten, sonstigen Beobachtungen
- Probeschachtung von 3 Fischen aus jeder Versuchsgruppe → opt. Eindruck, Filetanalyse

2. Ergebnisse

	2-1	2-5	2-7	2-2	2-6	2-8
Besatz kg	41,572	41,733	41,589	21,311	21,426	21,021
Ende kg	127,70	119,70	120,70	99,45	91,35	96,50
Zuwachs kg	86,13	77,97	79,11	78,14	69,92	75,48
Futter kg	78,18	78,17	78,16	64,28	64,26	64,23
FQ	0,91	1,00	0,99	0,82	0,92	0,85
Mortalität %	1	11	8	0	10	11

- 2.1 Futterverwertung

Futterquotient im Vgl. der beiden Testfuttermittel bei Tiercharge 1 nahezu identisch, bei Tiercharge 2 ist eine bessere Futterverwertung beim Futter „mit Algen“ (FQ 0,85) im Vgl. mit dem Futter „ohne Algen“ (FQ 0,92) erkennbar, das Kontrollfuttermittel „Skretting“ zeigt insgesamt die beste Futterverwertung

- 2.2 Mortalität

bei beiden Testfuttermitteln erhöht (ca. 10%)
im Vgl. mit dem Kontrollfuttermittel (0 - 1%),
kein erkennbarer Unterschied zwischen den beiden Testfuttermitteln

2.3 Futteraufnahme

- Aufgenommenes Futter (kg):
keine Unterschiede zwischen den 3 Fütterungsgruppen feststellbar,
Tagesfuttermenge wurde durchgehend vollständig gefressen
(rationierte Fütterung, *ad libitum*-Futteraufnahme durch Pendelfütterer)

- Fressverhalten
bei allen Versuchsgruppen ausgeprägtes Fressverhalten,
Futter „mit Algen“ \geq Kontrolle „Skretting“ $>$ Futter „ohne Algen“,
(subjektive Einschätzung)

Tiercharge 1: B 2-7 („mit Algen“) ab ca. 1000 g/Stk zunehmend zurückhaltend
→ Grund: zunehmender Körperfettanteil (?),
siehe Ergebnisse Schlachtung

2.4 Probeschachtung



3 Fische zufällig aus jedem Becken ausgewählt,

3 (Fische) x 2 (Filets je Fisch) x 6 (Becken)
→ 36 Filetproben zur Untersuchung am IGV



2.4 Probeschachtung

- Optischer und sensorischer Eindruck



- Filets in den Fütterungsgruppen „mit Algen“ deutlich gelblich-orange gefärbt, in den Algen enthaltene Pigmente lagern sich im Fettgewebe ein

- Zunahme des Fettanteils zum Mastende bei Futter „mit Algen“:

Filets aus Versuchsgruppe 2-7 mit deutlicher subkutaner Fettauflage, Fettränder am Flossensaum und erhöhter Anteil Intestinalfett

- keine signifikanten Unterschiede in der Schlachtausbeute zwischen den Fütterungsgruppen

- sensorisch keine Unterschiede feststellbar, Garprobe noch ausstehend

3. Fazit / Diskussion

- Der Einsatz des mit Mikroalgen angereicherten Versuchsfutters kann unter den praktischen Versuchsbedingungen in der Fischzucht Abtshagen insgesamt leicht positiv bewertet werden
→ gesteigertes Fressverhalten, bessere Futtermittelverwertung
- Auswirkungen des Futters „mit Algen“ auf die Schlachtkörperzusammensetzung noch ausstehend, optisch neigen Versuchsfische zu einem erhöhtem Fettansatz zum Mastende, „Vorsprung“ durch bessere Futtermittelverwertung zum Mastbeginn wird „aufgebraucht“ (?)
- Die in den Mikroalgen enthaltenen Pigmente sind eine natürliche Quelle an Astaxanthin, deutliche gelb-orange Einfärbung der Filets (Geschmackssache?) konnte ohne Zusatzstoffe erreicht werden.

Daten der Probeschachtung zum Fütterungsversuch IGV-Abtshagen 2014

Lfd.-Nr.	Futtermittel	Charge	Becken	g/Stk	Ge- schlecht	AoK (g)	Eingeweide- fett (g)	Filet	Eingeweide- fett %		Filet- ausbeute %	
1+2	1- Skretting	1	2-1	1498	m	1002	50	652,5	3,3%		43,56%	
3+4	1- Skretting	1	2-1	1763	m	1188	56,5	798,5	3,2%	2,7%	45,29%	44,3%
5+6	1- Skretting	1	2-1	1622	m	1070	24,5	711,5	1,5%		43,87%	
7+8	1- Skretting	2	2-2	1239	m	818	27	540	2,2%		43,58%	
9+10	1- Skretting	2	2-2	1285	w	818	36	549	2,8%	2,1%	42,72%	42,4%
11+12	1- Skretting	2	2-2	829	m	530	9	333,5	1,1%		40,23%	
13+14	2-ohne Algen	1	2-5	1951	m	1205	30	768,5	1,5%		39,39%	
15+16	2-ohne Algen	1	2-5	1380	w	864	31,5	589,5	2,3%	2,1%	42,72%	41,9%
17+18	2-ohne Algen	1	2-5	1540	w	1004	41	681,5	2,7%		44,25%	
19+20	2-ohne Algen	2	2-6	977	m	631,5	22	419	2,3%		42,89%	
21+22	2-ohne Algen	2	2-6	1291	w	839,5	29,5	557,5	2,3%	2,4%	43,18%	42,7%
23+24	2-ohne Algen	2	2-6	1135	m	686	29	477	2,6%		42,03%	
25+26	3- mit Algen	1	2-7	1701	w	1100,5	52	754	3,1%		44,33%	
27+28	3- mit Algen	1	2-7	1508	w	993	68,5	660	4,5%	3,9%	43,77%	42,9%
29+30	3- mit Algen	1	2-7	1596	m	1006	69	645,5	4,3%		40,44%	
31+32	3- mit Algen	2	2-8	1264	m	837	33,5	540	2,7%		42,72%	
33+34	3- mit Algen	2	2-8	1472	m	981	22	678	1,5%	2,0%	46,06%	44,0%
35+36	3- mit Algen	2	2-8	1218	w	770	24	521,5	2,0%		42,82%	

Nutzung von Mikroalgen in der Aquakultur – Stand und Perspektiven

IGV GmbH, Nuthetal

Storandt, R., Waldeck, P., Schmidt, K., Loest, K.



6. Bundesalgenstammtisch, Hamburg 13.-14.5.2013

Aquakultur und Fischerei

Aquakultur

→ die kontrollierte Aufzucht von im Wasser lebenden Organismen wie Fischen, Muscheln, Garnelen, Schnecken, Algen = Fütterung, Management, Schutz,... (Def.FAO)



Fischerei

- Fangen/Sammeln aquatischer Organismen = Ausbeuten der Naturressourcen
- begrenzt, da bereits heute ein Drittel der Natur-Fischbestände überfischt ist



IGV BIOTECH

www.igv-biotech.com

email: igv-biotech@igv-gmbh.de

www.igv-gmbh.com

Arthur-Scheunert-Allee 40/41

D-14558 Nuthetal , Germany

IGV  GmbH

Wir danken
der Deutschen Bundesstiftung Umwelt,
den Bundesministerien und
dem Land Brandenburg für die Unterstützung

gefördert durch



gefördert durch



Bundesanstalt für
Landwirtschaft und Ernährung



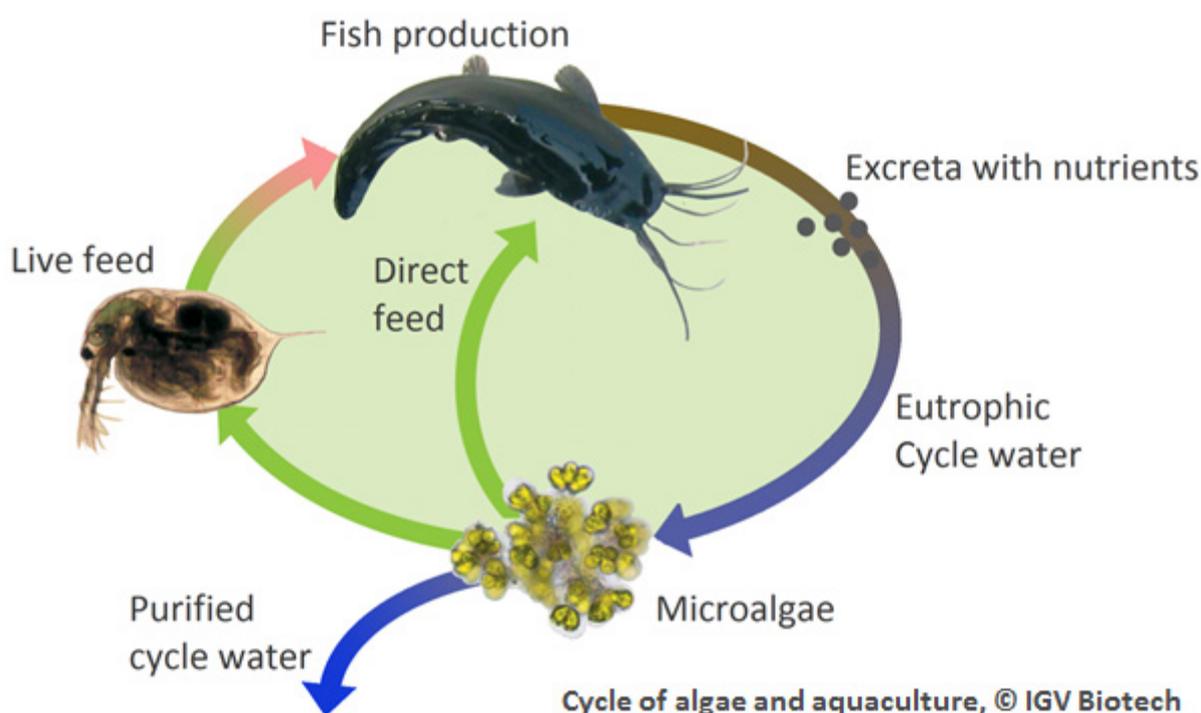
Microalgae and Aquaculture – feed and cycle management

by Thomas Wencker, Regina Storandt, Dr. Peter Waldeck (all IGV Biotech), Janine Dinske (Terra Urbana GmbH), Wilfried Lehmann (Spezialfuttermittelwerk Beeskow GmbH)

The global fish consumption for human nutrition increases. The supply of enough aquatic products is still possible, because the experienced fish capture peak in the 1990's is buffered by the increasing amount of fish from hatcheries, both onshore and offshore. Aquaculture companies need feed for growing their fish or shrimp and they have to adapt the feed composition to their fish's demands. Naturally carnivorous fishes always need a certain amount of animal products, while omnivores and herbivores may generally be fed on vegetable basis. Nevertheless, big amounts of fish meal and fish oil are used to produce the aquaculture feed, as these products provide benchmarking nutrition and digestibility values. These raw materials are taken from fish and therefore pressurise natural resources. This is the motivation for the presented project.

Microalgae cycles

The potentials of the smallest of all plant cells are numerous. Microalgae have developed photosynthesis and grow with the climate gas CO₂ and with excreta nutrients from higher living forms. They are primary producers of the aquatic food chain and have formed very efficient metabolism pathways. Today, microalgae are often discussed as sustainable supplier of biofuels or bulk chemicals, of human food supplement or fine chemicals. Available products from microalgae are e.g. pellets of dried and pressed algae biomass, which are supplied as food supplement in the internet and in organic or health food shops. Another example for successful algae products are colorants like the blue photosynthesis molecule Phycocyanine or the red carotenoid and antioxidant Astaxanthine. The mentioned current products gain a lot of value from their customer markets and set the stage for more broad applications of microalgae. However, these so-called high-value products are mostly produced in a non-closed upstream, based on technical CO₂, industrial nutrients and with pure tap water. At agricultural scale, the cycle production potentials of microalgae have to be applied, as this will allow the access to bulk markets through a cost reduction for the production of microalgae biomass.



Within aquaculture, microalgae have the potential to build a closed and natural nutrient cycle, which would a more sustainable profile to a fish hatchery. The excreta nutrients must no longer be disposed into the environment; the feed is partially produced within the hatchery itself and the dependence from capture fish decreases. In detail, microalgae start their work with absorbing the macro nutrients Nitrogen in the form of Ammonia or Nitrate and Phosphor in the form of Phosphate. The specific uptake rate for Nitrate can be calculated to be 0,31 g of Nitrate per g of dry matter while app. 0,05 g of Phosphate are integrated into one gram of grown microalgae biomass. Depending on the growth phase the final algae biomass can contain up to 50 % of lipids including valuable poly unsaturated fatty acids (PUFAs). The second algae component with the core interest from the fish production is the protein group. In several of the algae species the protein fraction represents more of 50 % of the total dry weight, containing all essential amino acids for the fish. Besides these important facts, algae contain a nutritionally valuable complex of vitamins and antioxidants, which have positive influence on fish's health and appearance. Hence algae can contribute water purification tasks, the production of a high value feed additives and the production of proteins and fats to this natural cycle.

IGV Biotech has earned special experience regarding the combination of aquaculture and algae production. First projects have been carried out in the middle 1990's, wherein the algae potential of deleting the nutrient load from the fish cycle water was proven. The picture shows the installation of four 2500 litre vessels and the connected biofilter at the IGV headquarter near Berlin, Germany. The system was used to cultivate sturgeons, an interesting species for the relevant commercial aquaculture production. The wastewater was treated within app. 2500 litres of photobioreactor volume. The used photobioreactor was a modular construction from thin layer plastic plates, which performed very well concerning volumetric productivity. The nutrient concentration within the clear phase of the harvest process was reduce close to zero for both Nitrate and Phosphate and could hence be disposed without reservations.



Cycle of aquaculture and plate PBR, 1995, © IGV Biotech

Other projects have been done with the plate type photobioreactor by IGV Biotech, e.g. the flue gas capture including the sequestration of CO₂ at a lime kiln in Germany in 1997. Unfortunately, the cheap plastic material was limited towards UV-resistance, thermal extension and immobilisation issues. A scaling up to industrial size for the continuous production of relevant amounts of algae biomass was impossible and the plastic plate photobioreactor development was stopped in the late 1990ies. Current plastic material developments have led to several approaches for low-cost photobioreactors. Manufacturers supply certificates with guaranties for UV-resistance, transmission rates and surface qualities with reduced liability of immobilisation. But the core issue of thermal expansion is not solved yet. Hence, the feasibility of outdoor plants with their big environmental temperature ranges is still limited with plastic materials. In consequence, IGV Biotech has concentrated on tubular photobioreactors from glass to have best of both, growth and scaling opportunities. In the year 2000, the formerly biggest photobioreactor worldwide has been built with IGV Biotech's tubular glass photobioreactor technology in Klötze, Germany.

Fish oil substitution with lipid rich microalgae

The current project on the microalgae cycles with aquaculture takes the decrease of captured fish for the feed production into account. The prominent fractions of fish feed are fish meal and fish oil, which will be limited in the future. Therefore, the core issue of the presented project is to find a feed recipe with a reduced content of fish raw material via the replacement with microalgae biomass. As the protein content is naturally high in microalgae compared to other crops, the first screening has concentrated on algae species with a high lipid content, a suitable fatty acid composition and good growth properties under limited nutrient concentrations, which is needed for contaminant inhibition. Within a group of the species *Chlorella*, *Scenedesmus* and *Ankistrodesmus*, the sickle-shaped green algae species *Selenastrum* was selected. The screening has been done in a sterile bubble column laboratory screening system type LWS 05/80 with four parallel photosynthetic columns for stable and identical environmental condition for each candidate. *S. rinoi* convinced with good growth rates and an average lipid concentration of app. 25% in its dry weight.



S. rinoi cells, © IGV Biotech

Photobioreactor integration

In IGV Biotech's laboratories this special algae species was grown to a biomass amount, which was used to inoculate a new developed photobioreactors of the type PBR 3000 GT. Core issues of the new type of tubular photobioreactor were a mobile construction, which means that it had to fit into standard freight measures. Second, the operation had been kept as easy as possible, as it wouldn't be controlled by specialised staff. The result of this engineering in combination with IGV Biotech's long-term experience was a transportable system with an operational volume of app. 3500 litres. This is a new benchmark for mobile photobioreactors. The system consists of three parallel tubular modules and a central supply and control unit. The two basic units can be connected within just one hour of work time, which means a high level of flexibility regarding maintenance and transportations.



Mobile tubular glass photobioreactor PBR 3000 GT, © IGV Biotech

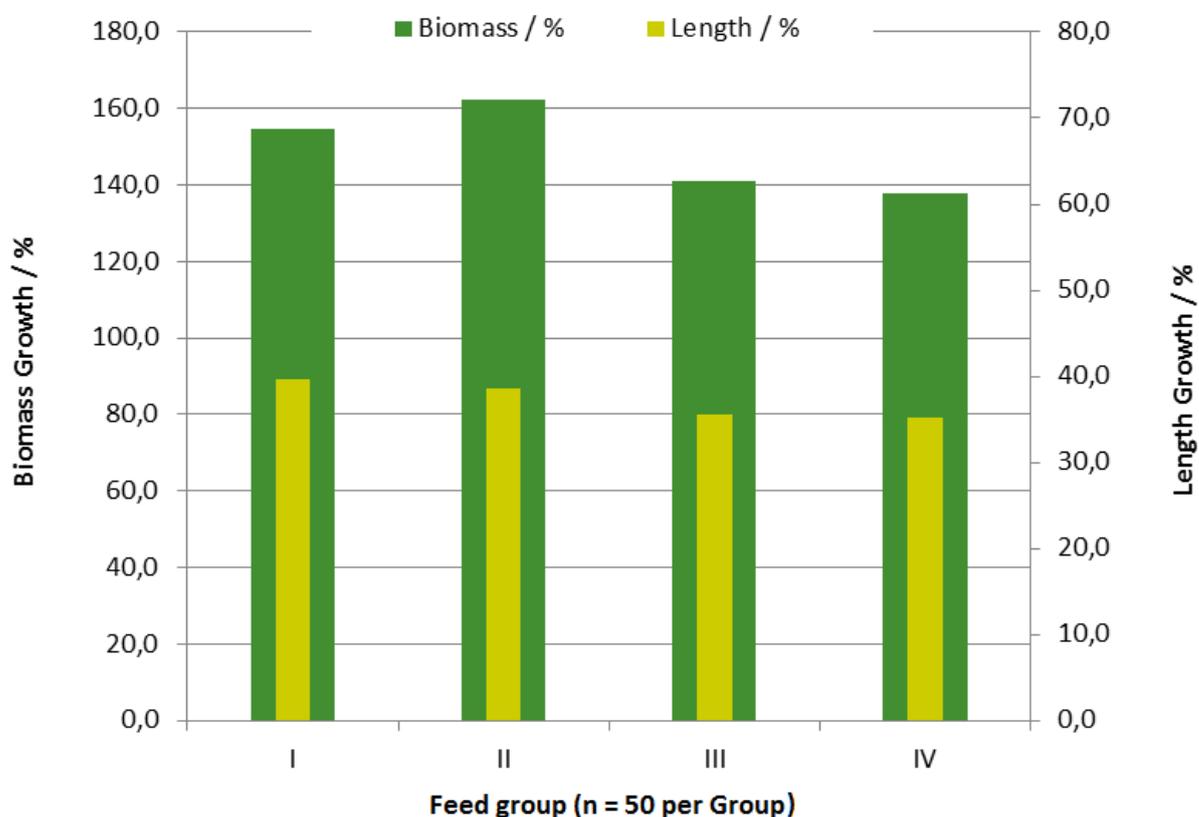
The photobioreactor itself was installed under 100% outdoor conditions next to a fish hatchery south of Berlin, Germany. After the successful inoculation, the algae were grown up to a certain level, where they had to be harvested to allow semi-continuous growth. The harvested suspension

volume was directly replaced with cycle water from the fish hatchery. The algae were grown continuously for 2,5 months during the optimal weather period in the end of summer 2013. They grew well during the summer weather period and suppressed all contaminants which occurred with the contaminated and unsterile cycle water. But this had to be supported by the addition of artificial nutrients, as the nutrient load of the cycle water still was too low for a high yield algae growth. Future project issues will therefore be the increase of the nutrient level in the cycle water via a reduced cycle water exchange from 10% to 5% without harmful conditions for the fish. In future projects the concentration of the nutrients going along with a sterilisation of the cycle water shall be issued. Waste heat applications near biogas installations will be possible project spots for this approach.

Feed integration and trials

The harvested biomass from the PBR 3000 GT was processed in different ways and added to special fish feed recipes under the partial replacement for fish oil and fish meal. The feed was developed at the project partner SpFM GmbH, who is supplier of special feed and contributed its knowledge in feed processing to this project. The feed itself was produced in IGV's extruders and tested with juvenile fish from the warm water species *Clarias gariepinus* by the Terra Urbana GmbH.

First preliminary results are shown in the graph. The first group is the control group which has been fed with *Clarias* feed without algae. The second group was fed with spray dried algae cells which replaced app. 9 % of fish product; group three got freshly freezeed and resuspended algae cells (app. 2 %) and group four got the same biomass replacement (app. 2 %) and additional 1 % of Chitosan, which simulated a harvest with the flocculation effects of Chitosan, which may be a very cost-effective harvest method. Is it obvious to see, that the spray dried biomass led to improved biomass growth results, while the fresh and the flocculated algae were not as good as the control feed.



The reasons for these results are variable. The drying process could have damaged the algae cells and prepared an improved digestibility. The Chitosan could have capsuled the algae cells and may have protected them towards digestion. But nevertheless, it could be shown with the algae species *Selenastrum r.*, that the replacement of fish based feed ingredients with microalgae biomass is possible and that it may have a positive effect on the productivity of closed aquaculture systems. In addition, the differences between the feed groups are within a range of $\pm 15\%$ concerning both length and biomass growth, so that the theoretical feasibility of the feed replacement could be promised for all algae treatments. The final economies and effects of the different feed groups will be part of the final project report in the end of 2014.

Outlook 2014

Under respect of a limited number of variants within the 2013 feed trials of 50 per group, the feeding trials will be continued in 2014 with bigger numbers of individuals to earn more reliable results and a clearer distinction between the different feeding groups. Further on, the PBR 3000 GT will be kept in operation as continuous and as long as possible to earn the maximal experience in the biomass composition which will be detected in the end of the vegetation period. In parallel efforts the project partners will optimize the feed recipes with the aim to replace as much of the fish products as possible.

Acknowledgment

IGV Biotech thanks the Deutsche Bundesstiftung Umwelt (DBU – German Federal Environmental Foundation) for the financial support for this project. Second, the project partners Terra Urbana GmbH and SpFM GmbH kindly give their knowledge for this project.

Contact

For further information on the project please visit www.igv-biotech.com, call +49 33200 89 152 or write an e-mail to igv-biotech@igv-gmbh.de.

M. Sandmann^{1,2}, R. Störandt^{1,3}, M. Münzberg², L. Bressel², R. Hass², J. Mießner², O. Reich²

¹ Institute for Food and Environmental Research, Arthur-Scheunert-Allee 40-41, 14558 Nuthetal, Germany

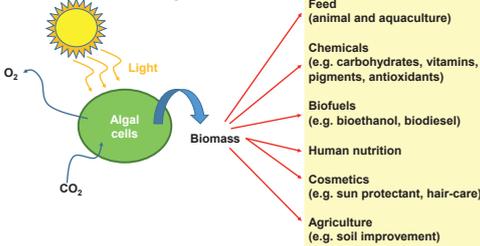
² University of Potsdam, Institute of Chemistry, Physical Chemistry – innoFSPEC, Am Mühlenberg 3, 14476 Potsdam, Germany

³ IGV Institut für Getreideverarbeitung, Arthur-Scheunert-Allee 40-41, 14558 Nuthetal, Germany

1 Introduction and culturing

- Microalgae show several advantages in comparison to classical crops, like outperforming growth rates
- High biomass yields with lipids, proteins, starch, vitamins and various utilization perspectives
- Growth of photoautotrophic algal cultures depends strongly on irradiated light, therefore light distribution is of fundamental interest
- Light distribution in photobioreactors (PBR) is based on interaction of incident light with inorganic and organic matter inside the PBR.
- A fiber-optical-setup was constructed to probe spatially resolved light intensity and its spectral composition inside the PBR.
- Novel PBRs like the MUTL System presented here combined with novel inline characterization methods will lead to major improvements in the field of algal mass cultures

Possible utilization of algal biomass



2.1 From strain collection to industrial photobioreaktor (PBR)



Strain collection

Shaker culture

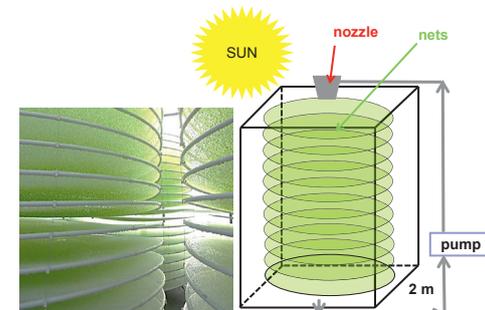


Bubble columns

30 L tubular PBR

Large scale tubular PBR (e.g. 1,000 – 85,000 L)

Novel Ultra-Thin-Layer-PBR Technology



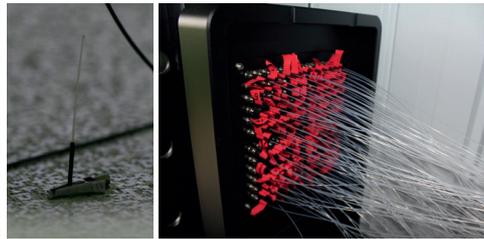
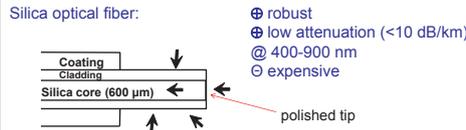
Modular Mesh-Ultra-Thin-Layer-PBR (invented by IGV GmbH) and schematic drawing

- Generation of high cell densities within dynamic biofilms
- Algal suspension is distributed in form of rain-like droplets in PBR space; velocity of fall is reduced through 3D-Matrix
- Allows extreme high peak biomass concentrations
- Significantly reduced investment costs per foot print area in comparison to classical PBRs

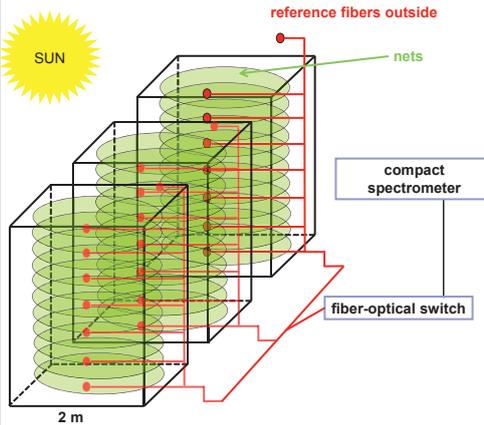
2 Process characterization and optimization through novel inline sensing technologies

Light sensing with spectral, spatial and temporal resolution

Schematic measurement setup



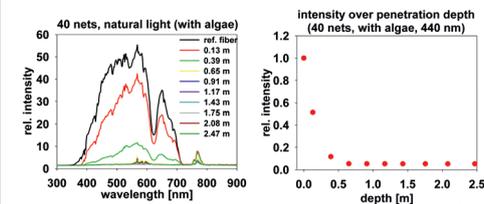
Fixed fiber tips inside the PBR (left); back side view of fiber-optical switch with 144 fibers (right)



Schematic drawing of MUTL with integrated light sensing technology

Some results

Distributed light sensing: spatial resolution

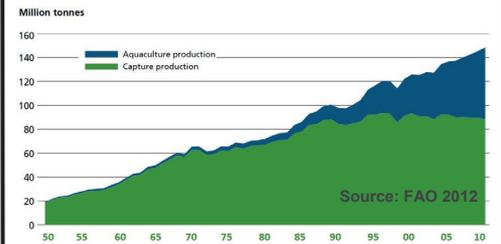


Decrease of light intensity over penetration depth of photobioreaktor.

- Relative intensity (uncalibrated) is used for evaluation.
- Decrease of light intensity over penetration depth of PBR.
- Scattering and absorption occurs on reactor material and on algal cells.
- Time resolved sensing can be used for characterization of dynamics of algal physiology or correlation with weather conditions

3 Aquaculture perspectives

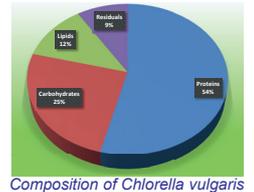
- Fishes and microalgae naturally share the same environment
- Microalgae are the first part of the marine food chain
- Nutrient supply of microalgae could be supported by excrements from fishes
- Cultivated algal biomass could be provided as feed in aquaculture



Fish as food resource for human nutrition

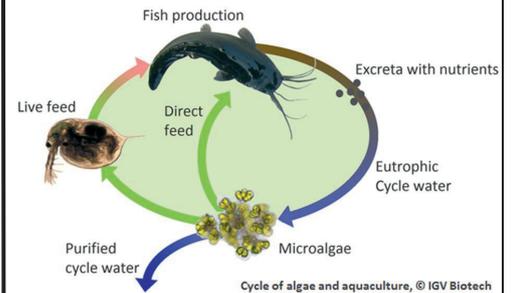
- Global marine capture reached its peak in the end 1990ies.
- Aquaculture production increased and shows now nearly linear growth

- Basic composition of algae close to higher plants, but algal cells contain higher protein amounts and several essential amino acids and fatty acids



Composition of Chlorella vulgaris

- The often described beneficial aspects are related to numerous compounds not listed here
- Most of the several thousands of potentially active compounds are even not described up to now in the literature



Possible interactions between micro algae and fish cultures

Conclusions

- Microalgal biomass can be used in various utilization strategies
- Sustainable and resource-efficient cycles could be created which will probably lead to several benefits in aquaculture industry
- Improved algal cultivation strategies, including novel photobioreactor designs and sensing technologies like "distributed light sensing" via optical fibers, will lead to a significant process intensification and will thus strengthen all utilization strategies

Contact details

Dr. Michael Sandmann, Institute for Food and Environmental Research, Arthur-Scheunert-Allee 40-41, 14558 Nuthetal, Germany
michael.sandmann@llu-ev.de

Acknowledgements

We acknowledge the financial support of the German Federal Ministry of Education and Research within the program Unternehmen Region (grant 03Z2AN12), the German Federal Ministry for Economic Affairs and Energy (CORNET AIF 129 EN) and the German Federal Environmental Foundation (28168-34).

„BER-Desaster

Mikroalgen für die Fische

BERGHOLZ-REHBRÜCKE | Ein Bioreaktor zur Mikroalgen-Produktion ist im Rehbrücker Institut für Getreideverarbeitung in Betrieb gegangen. Das Institut entwickelt seit mehr als 30 Jahren Anlagen zur Verwendung der Mikroalgen. In der Förderinitiative „Nachhaltige Aquakultur“ hat das Institut einen Photobioreaktor mit 3000 Litern Volumen in Betrieb genommen. In dem Photoreaktor sollen Mikroalgen die im Kreislaufwasser gelösten Nährstoffe der Fischproduktion aufnehmen und mit Sonnenenergie eine fettsäurereiche Biomasse aufbauen. Die produzierten Mikroalgen werden in Fischfutter eingearbeitet. In Fütterungsversuchen wird ihre Wirksamkeit als Ersatz von dem bisher verwendeten Fischöl bzw. Fischmehl getestet.

riecht nach Dung, gelass hämmert e Freitagmorgen in Dorfstraße. Dorthi Mark verschlagen Der Potsdamer I Reutlingen (Bade stammt, über Bay burg und Berlin kam und das Lan 2012 bei Stefan R Song Contest ver seit März mit seine beiden Töchtern in Ortsteil, wo er sich Haus, Hof und Tier dern ist die Innenst timal und meine F aufs Land“, sagte d tern der MAZ, be den Auftritt mit de rush Backup für die sinfonie im Volks hat. Früher wohnte milie am Potsdame heit. Vor einem N zweite Tochter auf c