

A M B E R S K I N

DBU Green Startup Programm

Abschlussbericht

Bewilligungsempfänger	Amberskin GmbH
Förderungszeitraum	12/2021-06/2023
Titel	Entwicklung einer veganen, nachhaltigen und erdölfreien Lederalternative
Aktenzeichen	AZ 35503_72
Erstellt von/ E-Mail	Arved Bünning Michelle Grüne Steffen Beier David Schmiede Lukas Geerties Caja Siegert Lotta Stürmer Saskia Gottwald
Ort, Datum	Braunschweig, 31.8.2023

Inhalt

Zusammenfassung:	8
Durchgeführte F&E.....	8
Entwicklung des Unternehmens	8
Einleitung:	9
Ausgangssituation: Probleme der Lederherstellung	9
Lösungsansatz.....	9
Stand der Technik.....	10
Formulierte Zielsetzung.....	10
Entwicklung des Materials	10
Entwicklung der Anlage.....	10
Umweltrelevanz	11
Hauptteil	12
Wichtigste Ereignisse im zeitlichen Verlauf	12
Q1 2022.....	12
Q2 2022.....	12
Q3 2022.....	12
Q4 2022.....	12
Q1 2023.....	13
Q2 2023.....	13
Q3 2023.....	13
Forschung	14
Veränderungen im technischen Prozess	14
Verfahren zum Zeitpunkt der Antragstellung:	14
Optimierungen: Übersicht.....	14
Vorkulturführung	14
Hauptkulturen	14
Verfahren zum Zeitpunkt des Projektabschlusses:	15
Durchgeführte Versuche	16
Einschränkungen (Gründe für Abweichen von Ursprungsplan)	16
Methoden	18
Probenahmen	18
Darstellung des Kultivierungsverlaufs und Optimierung der Glucose Startkonzentration	19
Effizientere Produktion durch Umstellung auf Fed-Batch	20
Vorkulturversuche.....	21
Erster Durchlauf im 250 mL Schüttelkolben	22
Zweiter Durchlauf im 250 mL Schüttelkolben	23
Durchlauf im 2 L Rührkessel.....	24
Anlegen veränderter Kryo-Stockkulturen	25
Ersetzen von <i>Organismus b</i>	26
Verhältnis von Oberfläche zu Gesamtvolumen.....	27
Filamentöse Organismen	27
Nachbehandlung.....	28

Reaktorentwicklung	30
Ausgangssituation/ Anforderungen des Prozesses	30
Anfängliches Reaktordesign	30
Bedarf für neues Reaktorkonzept	30
Suche nach Unterstützung für geplantes Reaktordesign	30
Versuche zur Begasung	31
Reaktorprototyp: Forschung & Entwicklung	31
Herausforderungen bei den Konstruktionen	31
Weitere Schritte	32
Reaktorprototyp: Pilotmaßstab	32
Beschreibung des geplanten Reaktordesigns	32
Ausblick: Wachstum in dreidimensionalen Formen	32
Versuche	32
 Patentierungsprozess	 33
 Business	 34
 Weiterentwicklung des Geschäftsmodells	 34
Marktanalyse	34
 Weiterentwicklung interner Prozesse	 35
Software	35
Kommunikationsprozesse	35
Gefährdungsbeurteilung	35
 Forschungsverwaltung	 36
Roadmap aufstellen	36
 Weiterentwicklung des Unternehmens/auftritts	 36
Neues Corporate Design	36
GmbH Gründung	36
 Events & Wettbewerbe	 36
Erster Platz bei Generation D	37
Zweiter Platz beim Durchstarterpreis Niedersachsen	37
 Vertrieb	 37
Probenverpackung	37
 Finanzplan/Geschäftsmodell	 38
 Fundraising	 39
Finanzierungsstrategie	40
Zwischenfinanzierung	40
 Marketing	 41
 Fazit	 42

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Verlauf der Glucosekonzentrationen abhängig von der Glucosestartkonzentration	19
Abbildung 2: Verlauf des pH-Werts und der Gluconsäurekonzentration abhängig von der Glucosestartkonzentration.	20
Abbildung 3: Verlauf des Fed-batch Versuches. Darstellung der im Medium vorhandenen Glucose- und Gluconsäurekonzentration und des kumulierten Glucoseverbrauchs	21
Abbildung 4: Verlauf der optischen Dichte für die Organismus a und Organismus b Kulturen während der Inkubationszeit der Vorkulturen im Schüttelkolben	22
Abbildung 5: Darstellung des Verlaufs der Glucosekonzentration der Organismus a und Organismus b Kulturen während der Inkubationszeit der Vorkulturen im Schüttelkolben.....	22
Abbildung 6: Darstellung des Verlaufs der Glucosekonzentration und der optischen Dichte der Organismus a und Organismus b Kulturen während der Inkubationszeit der Vorkulturen im Schüttelkolben	23
Abbildung 7: Rührkessel mit Magnetrührstäbchen auf Magnetrührplatten im Inkubator	24
Abbildung 8: Darstellung des Verlaufs des pH-Werts der Organismus a und Organismus b Kulturen während der Inkubationszeit der Vorkulturen im Rührkessel	25
Abbildung 9: Darstellung des Verlaufs der Glucosekonzentration der Organismus a und Organismus b Kulturen während der Inkubationszeit der Vorkulturen im Rührkessel	25
Abbildung 10: Vergleich der Verläufe der Glucosekonzentrationen verschiedener Varianten der Organismus a -Stockkulturen während der Inkubationszeit der Vorkulturen im Schüttelkolben.....	26
Abbildung 11: Untersuchung der Trocknungszeit der Schichten in Abhängigkeit der Kultivierungszeit. Darstellung der jeweiligen a) Schichtdicken und b) Schichtmassen	29
Abbildung 12 Probenverpackung	38
Abbildung 13 geplante Meilensteine der Geschäftsentwicklung	39

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Finanzierungsbedarf der nächsten fünf Jahre	40
Tabelle 2: Gegenwärtige Burn Rate.....	40

Abkürzungsverzeichnis

Beschreibung	Abkürzung
Optische Dichte	OD
Vollentsalztes Wasser	VE-Wasser
Meter	m
Quadratmeter	m ²
Hektar	ha
Kubikmeter	m ³
Liter	L
Tonne und Zeit	t
Gramm	g
Stunde	h
Rounds per minute	rpm
Grad Celsius	°C
Kohlenstoffdioxid	CO ₂
Millionen	mio
Milliarden	mrd.
Euro	€
Gesellschaft bürgerlichen Rechts	GbR
Gesellschaft mit beschränkter Haftung	GmbH
Quartal	Q
Gastronorm	GN
High-performance liquid chromatography	HPLC
Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen	DSMZ
UmwG	Umwandlungsgesetz
OHG	Offene Handelsgesellschaft

Zusammenfassung:

Eine vegane Lederalternative durch Mikroorganismen zu produzieren, erfordert viel Entwicklungsarbeit. Daher lag der Fokus des Projekts durchgehend in diesem Bereich.

Durchgeführte F&E

Im Rahmen der Förderperiode wurde durch Versuche ein tieferes grundsätzliches Verständnis des Prozesses erlangt.

Weiterhin wurde die Arbeit an verschiedenen Themenfeldern begonnen, wie der Vorkulturführung, Medienentwicklung, Prozessführung und Zusammensetzung der Mischkultur. Die Ergebnisse hierzu sind vielversprechend, benötigen jedoch deutlich mehr Forschungskapazitäten.

Die Reaktorentwicklung verläuft vielversprechend und befindet sich aktuell im Prototypenstadium. Im Laufe der Entwicklung ist die Möglichkeit der Produktion in dreidimensionalen Formen aufgekommen, die kein anderer Materialproduzent bieten kann und somit ein wertvolles Alleinstellungsmerkmal bietet.

Entwicklung des Unternehmens

Die Umwandlung der Amberskin GbR in eine GmbH war durch Schwierigkeiten mit dem Notariat wesentlich zeitraubender als erwartet, letztendlich aber erfolgreich.

Im Zuge der Investitionssuche wurden ausführliche Gespräche mit einem Automobilzulieferer geführt, die aber ergebnislos blieben. Es konnten jedoch zwei kleinere Investments eingesammelt werden.

Die internen Prozesse wurden bedeutend umstrukturiert und das Unternehmen so auf ein kommendes Wachstum des Teams vorbereitet.

Aktuell wird an der Skalierung des Prototyps in den Produktionsmaßstab gearbeitet. Für die Patentierung der zugrundeliegenden Prozesse ist eine Förderung beantragt, nach deren Erteilung dieser Prozess starten kann. Es bestehen Kontakte und laufende Gespräche zu mehreren Investor:innen.

Dieses Projekt wurde unter dem Aktenzeichen 35503/72 durch die Deutsche Bundesstiftung Umwelt gefördert.

Einleitung:

Ausgangssituation: Probleme der Lederherstellung

Die Verarbeitung von Tierhaut zu industriell genutztem Leder ist für einige Länder auf dieser Erde wirtschaftlich essenziell. In Indien sind beispielsweise insgesamt 2,5 Mio. Menschen in diesem Sektor beschäftigt. Mit einem jährlichen Export von 300 km² Rohleder aus Indien hat Leder außerdem eine hohe Nachfrage auf dem internationalen Markt. Mit der Produktion von tierischem Leder gehen jedoch Umweltschädigungen, Gesundheitsgefährdung sowie Tierleid einher. Um Tierhaut für die Textilindustrie nutzbar zu machen, wird diese gegerbt. Heutzutage erfolgt dies meist nicht mehr mithilfe von Pflanzenextrakten, sondern durch die Nutzung von Mineralsalzen. Am häufigsten wird das Chrom-III Salz verwendet, welches, z.B. durch Einwirkung von UV-Strahlen, zu Chrom-VI oxidiert werden kann. Dies kann unterschiedliche Gesundheitsschädigungen, wie Hautirritationen oder Schädigung der Atemwege hervorrufen. Neben den Mineralsalzen werden auch giftige Chemikalien, wie Schwefelsäure, eingesetzt. Auf 1000 kg Leder kommen so etwa 500 kg Chemikalien. Darüber hinaus wird eine große Menge Wasser benötigt. Für ein Kilo Rohhaut werden ca. 40 – 45 Liter Wasser verwendet. Dieses Wasser fehlt Landwirt:innen und der gesamten Bevölkerung. Wird das verschmutzte Gerbabweasser in Flüsse geleitet, steigt dort außerdem die Belastung mit Chrom, Schwefelsäure oder Farbstoffen. Die Verschmutzung des Grundwassers mit Chrom wird im Allgemeinen als Indikator für industrielle Belastung genutzt und steigt durch schwache Umweltschutzgesetze vor allem im globalen Süden immer weiter an. Neben den Umweltschäden leiden auch die Beschäftigten der Lederindustrie. In Indien liegt der Mindestlohn in dieser Branche bei umgerechnet 49 Euro pro Monat. Darüber hinaus sind Gesundheitsgefährdungen durch unzureichenden Arbeitsschutz mit z.B. den giftigen Chemikalien nicht ausgeschlossen.

Lösungsansatz

Die Vision von Amberskin ist es, eine innovative, nachhaltige und gesunde Alternative zu Tier- und Kunstleder herzustellen. Hierzu wird ein Material mittels Mikroorganismen hergestellt, was eine schnellere, nachhaltigere und flexiblere Produktion als Leder ermöglicht. Außerdem ist es ungiftig und kann vollständig recycelt werden. Im Vergleich zu anderen pflanzlichen Lederalternativen zeichnet sich Amberskin durch seine bessere Haptik, Haltbarkeit und Anpassungsfähigkeit aus. Das Material wurde bereits in einer Modekollektion und für die Herstellung von Handyhüllen-Prototypen verwendet.

Stand der Technik

Als Alternative zu tierischem Leder werden schon lange textile Trägerstoffe mit Kunststoffen beschichtet. Diese bringen jedoch nicht nur die ökologischen Nachteile der Verwendung von Kunststoff mit, sondern sind darüber hinaus auch noch nicht sehr haltbar. Weiterhin bestehen pflanzliche Alternativmaterialien, die Reststoffe der Lebensmittelherstellung aufarbeiten, meist aus faserigem Material. Diese weisen jedoch zumeist keine zufriedenstellende Ähnlichkeit zu Leder auf.

In Abgrenzung dazu nutzt Amberskin einen biotechnologischen Prozess, in dem ein auf Zellulose basierendes Material durch Bakterien produziert wird. Für die bakterielle Produktion von Zellulose sind zwar diverse Reaktortypen und Abläufe etabliert, allerdings ist keiner davon für die von Amberskin genutzte flächige Produktion geeignet. Dies erfordert die Entwicklung eines neuen Reaktortypen.

Eine gute Raum-Zeit-Ausbeute ist neben geringer Kontaminationsanfälligkeit und einer Homogenität der Schichten im industriellen Maßstab für die Reinheit des Produkts des hier angesprochenen Prozesses von großem Interesse. Daher folgt aus der Entwicklung des eigenen Prozesses die Entwicklung eines neuen Reaktortypen.

Formulierte Zielsetzung

Im Antrag wurden, insbesondere hinsichtlich der Verwendung der Fördergelder, zwei Herausforderungen beschrieben. Für eine erfolgreiche Erfüllung erfordern beide davon in erster Linie Zeit für die unterschiedlichen Versuche und Vergleiche.

Entwicklung des Materials

Das Material sollte weiterentwickelt und auf einen Stand gebracht werden, der es erlaubt, die sehr hohen Anforderungen der Unternehmen an die physischen Eigenschaften zu erfüllen. Dies erfordert vor allem die Erprobung unterschiedlicher Nachbehandlungsmethoden.

Entwicklung der Anlage

Es sollte eine Anlage entwickelt und geplant sowie ein Prototyp gebaut werden, auf dessen Basis anschließend ein Scale-Up stattfinden kann. Damit die Anlage eine homogene und verlässliche Produktion sicherstellen kann, müssen viele Abstimmungen, Testläufe und Iterationen stattfinden.

Umweltrelevanz

Die erfolgreiche Ausarbeitung dieses Prozesses sowie die Entwicklung eines dazugehörigen Reaktors würde die Etablierung einer Produktion des Materials ermöglichen.

Dieses bietet im Vergleich zu tierischem Leder enorme Einsparpotentiale. So werden für die Produktion von einem Quadratmeter Amberskin 20 kg CO₂ emittiert sowie 3 m² landwirtschaftliche Anbaufläche und 28 L Wasser verbraucht. Verglichen mit den 723 kg CO₂, 882 m² landwirtschaftlicher Anbaufläche sowie 82 455 L Wasser, die tierisches Leder in der Produktion verbraucht, ergeben sich enorme Einsparpotentiale von 97% CO₂ Emission, 99,7% Flächenverbrauch und 99,97% Wasserverbrauch.

Hochgerechnet auf die jährliche (Stand 2011) innerdeutsche Lederproduktion von 8,5 mrd. qm Rinds- und Kalbsleder ergeben sich enorme Einsparung durch die Nutzung von Amberskin im Vergleich zur Nutzung tierischen Leders.

So können 5 975 500 t CO₂ Emissionen, 747 150 ha landwirtschaftliche Anbaufläche und 700 629 500 m³ Wasser eingespart werden. Bei diesen absoluten Zahlen handelt es sich um errechnete Einsparpotentiale.

Hauptteil

Wichtigste Ereignisse im zeitlichen Verlauf

In diesem Zeitstrahl finden sich die wichtigsten Ereignisse sowohl der wirtschaftlichen als auch der forschenden Seite des Unternehmens. Im Anschluss werden die Ergebnisse dieser Ereignisse getrennt nach Wirtschaft und Forschung dargelegt.

Q1 2022

- Anfängliche Schwierigkeiten bei Wachstum des Organismus
- Durchführung einer Marktanalyse in Kooperation mit lokaler Studierendeninitiative
- Lieferschwierigkeiten bei Sachanlagen und Laborbedarf

Q2 2022

- Kulturen vorhanden, langsame Produktion, Kennenlernen des Prozesses
- Prozessführung Bachelorarbeit (Charakterisierung, erste Fed-Batch Versuche)
- Reduktion der Laborbesetzung durch Ausscheiden von Personal
- Erste intensive Gespräche mit möglichem Großinvestor

Q3 2022

- Ausarbeiten konkreter Forschungstimeline für möglichen Großinvestor
- Gezielte Produktion von Materialproben für möglichen Großinvestor
- erste Kontaminationen im Materialwachstum
- Erster Platz bei Generation D im September

Q4 2022

- GmbH Gründung
- Kontaminationen nehmen zu und werden problematischer
- Dennoch erneute Versuche eines Produktionsstarts
- erste konkrete Reaktorbauplanungen
- Aufbereiten des Produktionsprozesses für den möglichen Großinvestor in Form eines Videos
- Zweiter Platz beim Durchstarterpreis Niedersachsen im Dezember

Q1 2023

- Verdopplung des Forschungsteams
- Etablierung der Arbeit mit Kryo-Stockkulturen
- Erhöhung der Vorkulturkapazität durch Kauf von Rührkesseln
- Produktion stark hochgefahren, aber Kontamination der Trocknungsgeräte
- möglicher Großinvestor sagt uns in letzter Minute für das Investment ab
- zwei kleinere Investitionen

Q2 2023

- Reaktorkonzeption komplett verändert, Fokus auf neue Bauweise für Reaktorprototyp
- Erster erfolgreicher Test des neuen Reaktorprototypen-Konzepts
- Erneute Kontaminationsprobleme
- Problem durch „Tote“ Kryokulturen
- Lieferung neuer Sterilwerkbank, Etablierung eines sterilen Prozesses
- Dadurch erhöhte Produktionskapazitäten
- Neues Corporate Design

Q3 2023

- Weiterführende Reaktorprototypenversuche (Scale up, numbering up)
- Vermehrt Kapazitäten für Experimente
- Optimierung des Prozesses hinsichtlich der Kontaminationsproblematik

Forschung

Veränderungen im technischen Prozess

Verfahren zum Zeitpunkt der Antragstellung:

Die Mikroorganismen wurden auf je einer Agarplatte bei 4°C gelagert. Wöchentlich wurden diese auf je eine neue Platte ausgestrichen, zwei Tage inkubiert und die restlichen fünf Tage gekühlt.

Zur Produktion wurden zwei 250 mL Erlenmeyerkolben mit 25-50 mL Medium befüllt, je etwas Zellmaterial der Stämme hinzugegeben und im Wärmeschrank bei 150 rpm und 25°C für zwei Tage inkubiert.

Es wurden unsteril 16 L Medium als Produktionsmedium hergestellt und in eine Gastronormwanne gegeben. Es wurden je 50 mL Kultur hinzugegeben und drei bis vier Wochen offen im 25 °C Wärmeschrank stehen gelassen.

Optimierungen: Übersicht

Vorkulturführung

- Der Inkubationszeitraum der Vorkultur wurde näher definiert
- Stammhaltung in Kryostocks statt auf Platten
- Konkretisierung und Umstellung der Medien für verwendete Mikroorganismen
- Anschaffung Rührkessel mit Magnetrührplatten: Resistenter gegenüber Kontaminationen; mehr Ansätze; besseres Handling als viele Kolben (für viele Kolben wurde zwischenzeitlich zweiter Schüttler angeschafft, auch weil der Erste defekt war)

Hauptkulturen

- Optimierung des Inokulumsanteils
- Verringerung des Kulturvolumens auf 6 L
- Anschaffung flacherer Gefäße
- Änderung des Inokulums-Verhältnisses der Mikroorganismen auf Basis der Forschungsergebnisse, dadurch einfacheres Handling zwischen *Organismus a* und *Organismus b* auf Volumen 1:1, da vorherige Ergebnisse reevaluiert und OD (Optische Dichte) nicht aussagekräftig, einfacheres handling

- Stammlösungen autoklaviert
- Wasser gekocht und in Gefäß mit Deckel - gegen Kontaminationen
- Ansetzen an Sterilwerkbank
- Glucosekonzentration 35 g/L
- Wachstumszeit definiert: Glucose nach etwa 21 Tagen verbraucht - Ernte nach etwa 21-25 Tagen, abhängig von Zeitkapazität der Nachbehandlungsperson

Verfahren zum Zeitpunkt des Projektabschlusses:

Das Verfahren wurde optimiert und auf einen festen vier Wochen Rhythmus umgestellt. Dabei wurden pro Ansatz 8 hergestellt sowie nachbehandelt, um die Nachbehandlungskapazitäten auszunutzen.

Für die Produktion werden je ein Kolben mit Schikane für *Organismus a* in 50 mL sterilem Medium sowie ohne Schikane für *Organismus b* in 50 mL sterilem Medium für 60-65 Stunden bei 25 °C und 150 rpm angeschüttelt. Um für das Produktionsvolumen von viermal 6 L eine Inokulumstärke von je 5 % zu erreichen, werden die angeschüttelten Kulturen danach in je einen Rührkesselreaktor mit Medium 20 g/L Glucose überführt. Da diese nicht aufrecht in den Autoklaven passen, wurde das benötigte Medium direkt in den Rührkesselreaktor auf einer Rühr-Heiz-Platte für mindestens 30 Minuten auf über 80 °C erhitzt und so sterilisiert. Nach dem Anschütteln werden die Kulturen in die abgekühlten Rührkesselreaktoren überführt und dort für weitere zwei Tage bei 25°C und ca. 150 rpm inkubiert. Das für die Produktion benötigte Medium mit 35 g/L Glucose wird je in 12-fachen Konzentraten hergestellt, wobei die Glucose separat vom Rest sterilisiert wird. Dadurch werden in den Gastronorm-Gefäßen je 5 Liter VE-Wasser vorgelegt. Dieser Prozess wird durch Abkochen des Wassers sowie Aussprühen der Gefäße mit Bacillol steriler realisiert, um weiter Kontaminationen vorzubeugen. Am Produktionstag werden dann je 500 mL 12-fach Konzentrat sowie je 300 mL der Kulturen zu dem Wasser hinzugefügt. Die Gefäße werden bei 25°C für 21 Tage inkubiert.

Die genannten Arbeitsschritte können innerhalb von acht Tagen erfolgen, sodass 8 Schichten aus zwei nachfolgenden Ansätzen (je 4 Schichten pro Ansatz, da nur zwei Vorreaktoren vorhanden sind) entstehen. Die Produktionskapazitäten wurden dabei unter optimalen Bedingungen von 2,24 m² auf 20,47 m² gesteigert.

Durchgeführte Versuche

Einschränkungen (Gründe für Abweichen von Ursrungsplan)

Die Abweichungen von der geplanten Forschungsrichtung wurden durch eine Reihe von Faktoren verursacht. Anfangs standen uns weniger Arbeitskapazitäten zur Verfügung als erwartet, da einige unserer studierenden Mitarbeiter:innen, unter anderem die Expertin für Design of Experiments, das Unternehmen zum Abschluss ihres Studiums verlassen haben. Zudem führten längere Krankheitsphasen zu Ausfällen bei den Arbeitskapazitäten. In begrenztem Umfang konnten diese Engpässe durch die Mitarbeit von Abschlussstudierenden kompensiert werden.

Im Projektantrag wurde die erforderliche Zeit für Routineaufgaben und vor allem kurzfristig auftretende Arbeiten unterschätzt. Dies gilt insbesondere für die Beteiligung des Forschungsteams an der Akquise potenzieller Investitionen seitens der Firma Kayser. Auch falsche Annahmen über den Prozess, z.B. die Schieranfälligkeit der Schicht, führten zu Verzögerungen.

Ein weiteres Hindernis war die Ausstattung des Laborraumes, die nur schrittweise erweitert werden konnte. Zudem gab es Lieferschwierigkeiten bei essenziellen Laborbestandteilen wie der Sterilwerkbank oder Rührkesselreaktor im Rahmen der Corona-Pandemie. Aus finanziellen Gründen war ein Umzug in einen besser geeigneten Laborraum nicht möglich.

Zusätzlich wurden unsere Fortschritte immer wieder durch verschiedene Kontaminationen unterbrochen, was ebenfalls zu Verzögerungen führte.

Wahrscheinliche Kontaminationsursachen

Zu Beginn des Auftretens der Kontaminationen wurde das Medium für die Kultivierung in den Gastronormgefäßen unsteril hergestellt. Die Gefäße wurden dann offen in den Inkubator gestellt. Durch die lange Kultivierungszeit lag hier ein großes Kontaminationsrisiko vor. Zudem stellte sich heraus, dass die Funktionsweise der von uns verwendeten Flowhood für unseren Verwendungszweck nicht geeignet war.

Zur Untersuchung der Luftkeimbelastung wurde an verschiedenen Orten im Labor jeweils ein offener Erlenmeyerkolben mit Medium und eine offene Agar-Platte aufgestellt. Diese wurden auf einem Tisch in der Mitte des Raums, in einem Inkubator, in der ausgeschalteten Flowhood und in der angeschaltete Flowhood für jeweils eine Stunde platziert. Die Flowhood und der Inkubator wurden anschließend gründlich mit Dismozon ausgewischt und nochmals für eine Stunde mit Testplatten

und -kolben ausgestattet. Die Platten und Kolben wurden für bis zu zehn Tage bei ~25°C inkubiert und anschließend auf Wachstum überprüft. Dabei traten in allen Kolben Kontaminationen auf. Besonders der Kolben, der im mit Dismozon desinfizierten Inkubator stand, zeigte eine vergleichsweise hohe OD.

Neben Kontaminationen in Haupt- und Vorkulturen traten auch auf den zur Stammhaltung genutzten Agarplatten Kontaminationen, vermutlich Hefen, auf. Diese wurden zunächst nicht bemerkt, jedoch wurde unter dem Mikroskop später sichtbar, dass sie vermutlich einige Zeit ebenfalls auf den Platten unbemerkt mit überführt wurden.

In unregelmäßigen Abständen wurde die Funktionsfähigkeit des Autoklavs überprüft. Hierfür wurde Medium in Erlenmeyerkolben autoklaviert und bei 150 rpm und 25°C über mehrere Wochen inkubiert. Dabei traten keine Kontaminationen auf.

Übersicht der Maßnahmen gegen Kontaminationen

Zunächst sollte die Raumluft verbessert werden, in dem ein Raumluftfilter mit entsprechenden Volumendurchsatz sowie Fruchtfliegenfallen aufgestellt wurde. Gegen Ende des Förderzeitraums konnte weiterhin eine neue horizontal laminar flow Werkbank gekauft werden.

Die Stammhaltung der Kulturen auf Agarplatten wurde eingestellt. Stattdessen wurden die Stämme mehrfach neu vom DSMZ bestellt und Kryo Stocks angelegt. Da das Vorkulturmedium in den Rührkesseln aufgrund mangelnder Kapazitäten nicht autoklaviert werden konnte, wurde die Sterilisation über Erhitzen des Mediums auf Magnetrührplatten realisiert. Durch die Rührkessel konnte weiterhin ein größeres Inokulum für die Hauptkultur bereitgestellt werden, wodurch die Anfälligkeit auf Kontaminationen gesenkt wurde. Zu Beginn des Kultivierungszeitraums konnte die Kultur schwerer überwachsen werden und auch die Dauer des Kultivierungszeitraums verkürzte sich dadurch.

Da sich zeigte, dass Kontaminationen durch geringen Kontakt mit der Umgebungsluft aufkamen, wurden Hauptkulturgefäße mit passenden Deckeln aus Edelstahl besorgt, welche das Gefäß vollständig abschlossen. Vor der Kultivierung wurden die Gefäße durch das Einfüllen kochenden Wassers und davon aufsteigenden heißen Dampfes sterilisiert. In das Wasser wurde beim Ansetzen der Hauptkultur die konzentrierten Medium-Stammlösungen gegeben.

Nicht umsetzbare Maßnahmen

Es wurde geplant den RaumlufTTausch im Labor vom Hausbetreiber anschalten zu lassen. Dies war jedoch sowohl durch Verzögerungen in der Kommunikation als auch durch eine ungünstige Ausgestaltung der technischen Infrastruktur nicht umsetzbar.

Aufgrund der hohen Keimbelastung der Inkubatorschränke wurde geplant HEPA-Filter an den Lufteinzug anzubringen. Dies wäre nur unter Wegfallen der Gewährleistung möglich gewesen und wurde deshalb verworfen.

Die Anschaffung eines größeren Autoklavs, für z.B. Gastronormgefäße oder zumindest Vorkultur-Rührkessel war jedoch außerhalb des Budgetrahmens.

Methoden

Da sich die Durchführung im Verlauf des Förderzeitraums geändert hat, sind die entscheidenden Parameter und Arbeitsschritte bei den jeweiligen Versuchen nachfolgend beschrieben. Die Vorkulturen wurden stets in etwa 50 mL Medium in Schüttelkolben bei 150 rpm durchgeführt. Die Hauptkulturen wurden statisch kultiviert. Alle Kultivierungen fanden bei 25°C statt. Nach der Glucoseoptimierung wurden stets 20 g/L Glucose für Vorkulturen und 35 g/L für Hauptkulturen genutzt.

Die Experimente wurden mindestens als Doppelansatz durchgeführt. Die Überprüfung durch Experimente mit Fünffachansätzen bestätigte dieses Vorgehen.

Probenahmen

Die Probenahmen wurden versucht, so steril wie möglich zu halten. Dies beinhaltete das Arbeiten unter der Flowhood und die Nutzung steriler Arbeitsgeräte. Die Proben wurden bei Vorkulturversuchen mit Eppendorfpipetten und bei Hauptkulturversuchen mit Spritzen mit Kanülen genommen. Das Probenvolumen betrug 2 mL. Bei Messung der optischen Dichte, war dies der erste Arbeitsschritt. Die Messung erfolgte bei 600 nm gegen Medium. Anschließend wurden die Proben zentrifugiert und sterilfiltriert. Aus diesen Überständen wurde anschließend der pH-Wert, die Glucosekonzentration (Biochemistry Analyser YSI2900) und teilweise die Konzentrationen einfacher organischer Säuren (mittels HPLC) bestimmt.

Darstellung des Kultivierungsverlaufs und Optimierung der Glucose Startkonzentration

Zu Beginn des Förderzeitraums sollte zunächst festgestellt werden, wie lange der Prozess unter den zu dem Zeitpunkt genutzten Bedingungen (Verweis auf Prozess zu Beginn des Förderzeitraums) laufen muss, bis das Material geerntet werden kann. Des Weiteren wurden verschiedene Glucose-Startkonzentrationen untersucht. Hierfür wurden Kultivierungen in je 150 mL Medium über zwei Wochen bei 25°C in offenen 300 mL Bechergläsern als Doppelansatz durchgeführt. Die untersuchten Glucose-Startkonzentrationen waren 7 g/L, 16 g/L, 40 g/L, 80 g/L und 110 g/L. Als Bewertungsparameter für den Prozess wurden Säurebildung, pH und Glucosekonzentration untersucht.

In Abbildungen 1 und 2 wurden die Messwerte für die relevanten Startkonzentrationen dargestellt. Bei höheren Konzentrationen fand kein Wachstum statt. Es wird am Glucoseverbrauch sichtbar, dass, je höher die Glucosekonzentration zu Beginn, desto später setzte das Kulturwachstum ein. Höhere Startkonzentrationen begünstigten zudem die Gluconsäurebildung, welche sich hemmend auf die Cellulosebildung auswirkt. Jedoch war bei 7 g/L und 16 g/L die Glucose so schnell aufgebraucht, dass sich keine zufriedenstellende Schicht bildete.

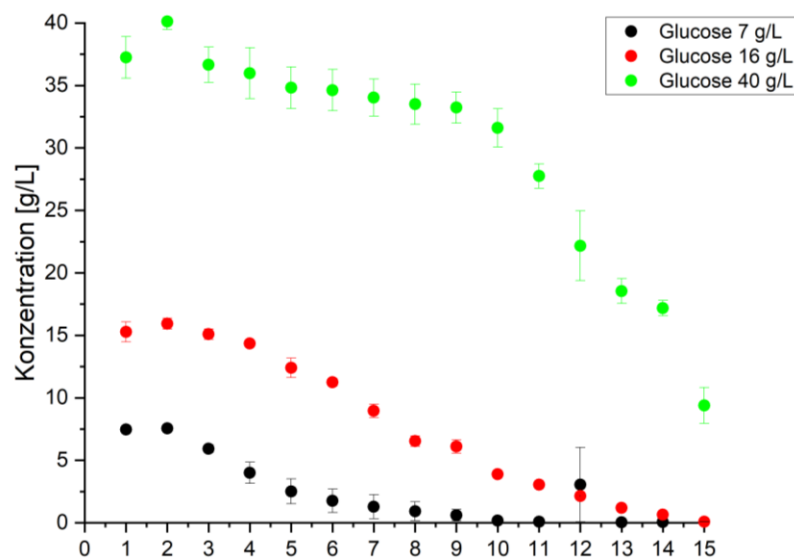


Abbildung 1: Verlauf der Glucosekonzentrationen abhängig von der Glucosestartkonzentration

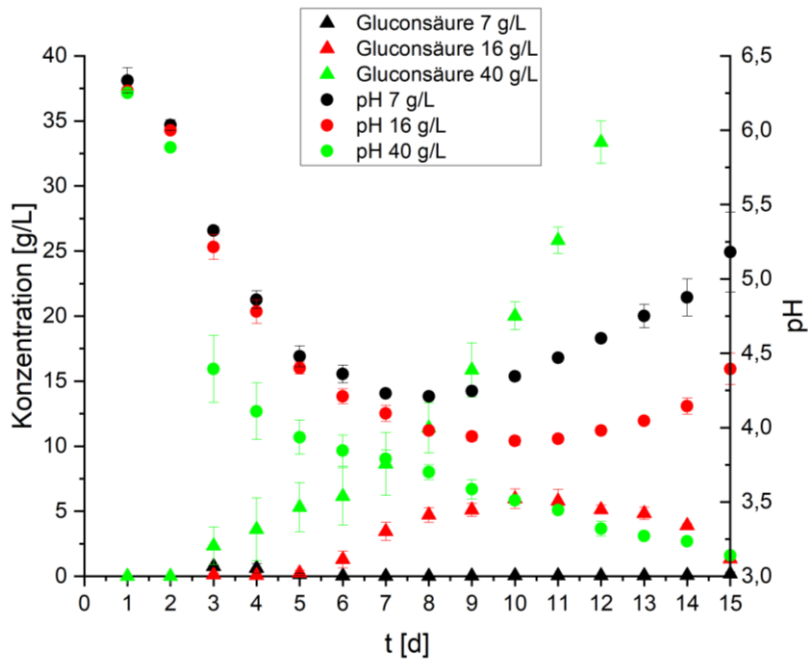


Abbildung 2: Verlauf des pH-Werts und der Gluconsäurekonzentration abhängig von der Glucosestartkonzentration.

Als Kompromiss wurden 35 g/L Glucose als Standard für kommende Ansätze ausgewählt. Es wurde vermutet, dass die Schichtdicke hier trotzdem ausreichend, jedoch die Kultivierung nach der bisher häufig genutzten Kultivierungszeit von 21 Tagen verbraucht war. Für das Vorkulturmedium wurden 20 g/L ausgewählt, da hier ein schnelleres Wachstum bei geringerer Kultivierungszeit im Vordergrund stand. Erneute Versuche zu dieser Thematik werden nach der Optimierung der Vorkulturführung nötig sein.

Effizientere Produktion durch Umstellung auf Fed-Batch

Um einen proof of concept für das Fed-Batch Verfahren für diesen Prozess zu erbringen, wurde ein Versuch im offenen 600 mL Becherglas Maßstab durchgeführt. Als Glucose-Startkonzentration wurde 20 g/L Glucose genutzt. Bei dieser Menge hatte die Kultur genug Nährstoffe, um zunächst einige Tage eine stabile Schicht auszubilden, bevor mit der Feedzugabe begonnen werden musste. Aus Hochrechnungen des Glucoseverbrauches im Batch und des Volumenverlustes durch Verdunsten ergab sich für das Feedmedium eine Glucosekonzentration von 83,7 g/L. Die restlichen Zutaten des Mediums waren 4-fach konzentriert. Über die zweitägliche Zugabe von 50 mL Feed mit Spritze und Kanüle sollte das Medienvolumen konstant und die Glucose-Konzentration im Bereich 10-20 g/L gehalten werden. Für diesen Konzentrationsbereich wurde die geringste Substratüberschusshemmung bei ebenfalls geringen Substratmangel erwartet. Die tatsächliche Volumenzugabe variierte und wurde angepasst, um die Glucosekonzentration jeweils wieder auf 20 g/L zu bringen. Der Versuch wurde nach 28 Tagen von dem Bacheloranden

abgebrochen und seitdem aufgrund anderer Prioritäten und fehlender Kapazitäten nicht wiederholt.

Trotzdem wird hier gut sichtbar, dass der Glucoseverbrauch lediglich leicht absinkt. Der Grund dafür könnte die Zunahme der Schichtdicke und die dadurch geringere Medienkonzentration an der Oberfläche bzw. der Sauerstoffkonzentration an der Medienseite der Schicht sein. Dies ist problematisch, da die Zellulosebildung nur an der Luft-Flüssigkeits-Grenzfläche stattfindet. Bemerkenswert war, dass dieser Versuch zu einer Ausbeute ($Y_{P/S}$; bezogen auf Feuchtmasse) von 2,86 g/g führte. Beim Batch Ansatz mit 40 g/L Glucose als Startkonzentration betrug diese 1,68 g/g. Vermutlich ist ein Grund dafür der geringere Umsatz der Glucose zu Gluconsäure im Fed-batch.

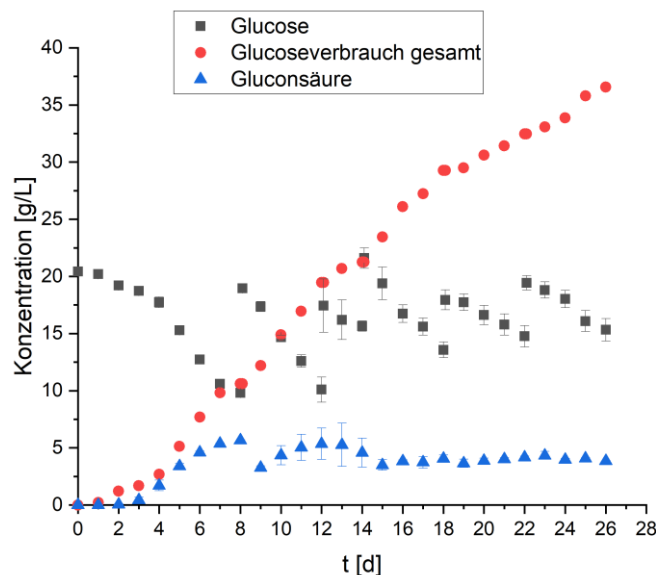


Abbildung 3: Verlauf des Fed-batch Versuches. Darstellung der im Medium vorhandenen Glucose- und Gluconsäurekonzentration und des kumulierten Glucoseverbrauchs

Diese Ergebnisse sind ein guter Grund, das Fed-batch Verfahren weiterzuverfolgen.

Vorkulturversuche

Zu Beginn der Förderperiode wurden Kulturen mit einem Inokulum, welches für etwa 2 Tage inkubiert wurde, gestartet. Um den Produktionsprozess reproduzierbarer zu gestalten, sollte das genutzte Inokulum immer etwa gleich stark sein. Dies wird erreicht, indem die Inkubationszeit genauer definiert ist. Zudem sollte die Kultur zum Inokulationszeitpunkt eine hohe Zelldichte erreicht haben und sich derweil in der exponentiellen Wachstums-Phase befinden. Die folgenden Versuche dienen der

Ermittlung der optimalen Inkubationsdauer der Vorkultur. Weiterhin stellt sich die Frage, inwieweit der Zeitraum der Nutzung als Inokulum streckbar ist und ob die *Organismus a* und *Organismus b* Vorkulturen zeitlich versetzt angeimpft werden müssen.

Erster Durchlauf im 250 mL Schüttelkolben

Es wurde je Kultur etwas Zellmaterial von 7 Tage alten Agarplatten entnommen und in etwa 50 mL Medium (20 g/L Glucose) gelöst. Die je 3 *Organismus a* und *Organismus b* Kulturen wurden über 3 Tage bei 25°C und 150 rpm geschüttelt und regelmäßig Proben entnommen. Aus diesen wurde die OD und die Glucosekonzentration bestimmt.

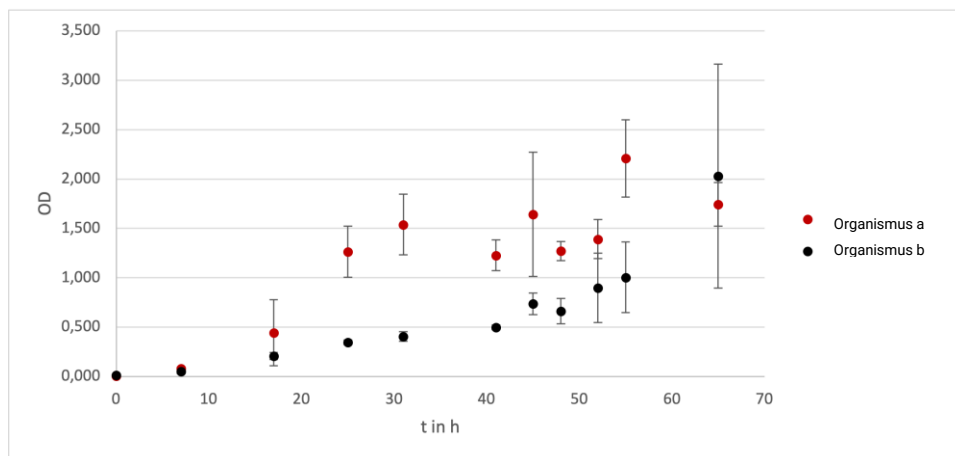


Abbildung 4: Verlauf der optischen Dichte für die *Organismus a* und *Organismus b* Kulturen während der Inkubationszeit der Vorkulturen im Schüttelkolben

Die Ergebnisse des Versuchs waren uneindeutig (Abbildung 4 und 5). Für *Organismus a* zeichnet sich ab, dass 27 Stunden anschütteln geeignet erscheinen. Bei

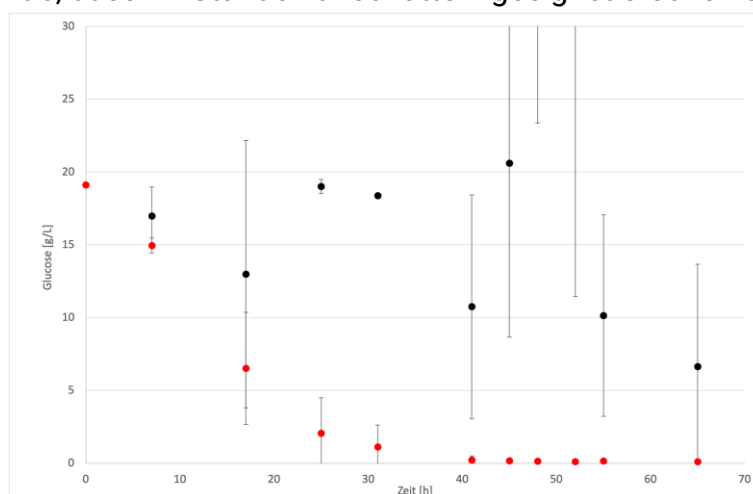


Abbildung 5: Darstellung des Verlaufs der Glucosekonzentration der *Organismus a* und *Organismus b* Kulturen während der Inkubationszeit der Vorkulturen im Schüttelkolben

Organismus b hatte ein Kolben eine Kontamination. Ansonsten ist die Kultur wenig angewachsen. Hier wäre zu überprüfen, ob die Verwendung von MRS-Medium zum Anschütteln das Wachstum beschleunigen kann.

In Folgeversuchen könnte betrachtet werden, welchen Einfluss die Verwendung von Kolben mit bzw. ohne Schikane auf die Kultivierungen hat.

Zweiter Durchlauf im 250 mL Schüttelkolben

Der vorherige Versuch sollte unter angepassten Bedingungen wiederholt werden. Es wurden in 50 mL 1 mL der jeweiligen Kryokultur gegeben. Für die Kultivierung von *Organismus a* wurden Schikanekolben, für *Organismus b* Kolben ohne Schikane genutzt, da dies die Literaturrecherche ergab. Es wurden folgende Ansätze untersucht:

- *Organismus a* in Standard-Medium (20 g/L Glucose)
- *Organismus b* in Standard-Medium (20 g/L Glucose)
- *Organismus b* in empfohlenen Medium

Für *Organismus a* lässt sich abschätzen, dass die Kultur im Zeitraum zwischen 40 und 65 Stunden nach Inokulation eine hohe Zelldichte besitzt und exponentiell wächst. Für *Organismus b* ist das empfohlene Medium geeigneter als Standard -Medium. Hier liegt das Optimum etwa bei 75-90 Stunden.

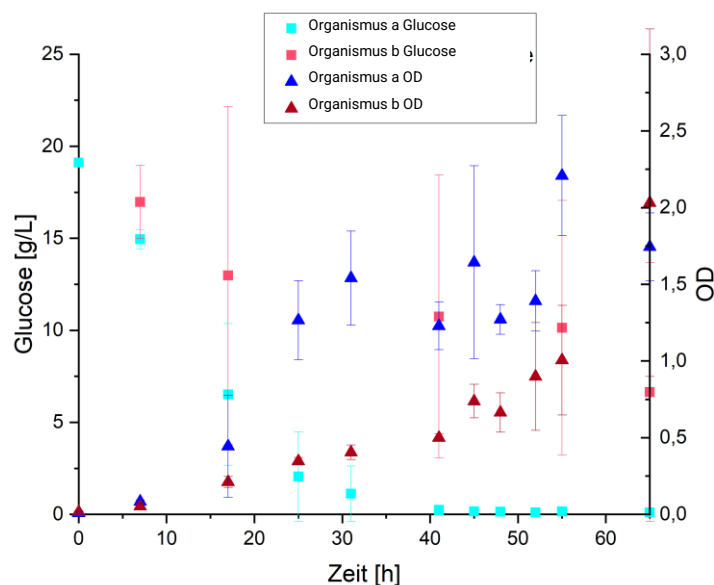


Abbildung 6: Darstellung des Verlaufs der Glucosekonzentration und der optischen Dichte der Organismus a und Organismus b Kulturen während der Inkubationszeit der Vorkulturen im Schüttelkolben

Als Kompromiss aus diesen Ergebnissen und eines durch gleichzeitigen Inokulationsstart gering gehaltenen Arbeitsaufwand wurde eine Inokulationszeit von etwa 65 Stunden als Standard für den Prozess festgehalten. Aufgrund der teilweise sehr schwankenden Daten (teilweise nicht gezeigt), waren noch weitere Versuche geplant. Diese wurden aufgrund anderer Prioritäten jedoch nicht durchgeführt.

Durchlauf im 2 L Rührkessel

Es wurde in 2 Reaktoren je 1,25 mL Medium gegeben und je einer mit *Organismus a* und *Organismus b* angeimpft. Das Inokulum wurde mit dem im vorherigen Absatz beschriebenen Verfahren erhalten. Zur Rührung wurden Magnetrührstäbchen genutzt.



Abbildung 7: Rührkessel mit Magnetrührstäbchen auf Magnetrührplatten im Inkubator

Der Verlauf der Glucosekonzentration verläuft zunächst erfreulich, da keine lange Wachstumsverzögerungsphase zu erkennen ist. Jedoch ist der Wiederanstieg der Glucosemesswerte ungewöhnlich. Bei den pH-Messwerten ist auffällig, dass die Säureproduktion von *Organismus b* deutlich stärker ist als die von *Organismus a*.

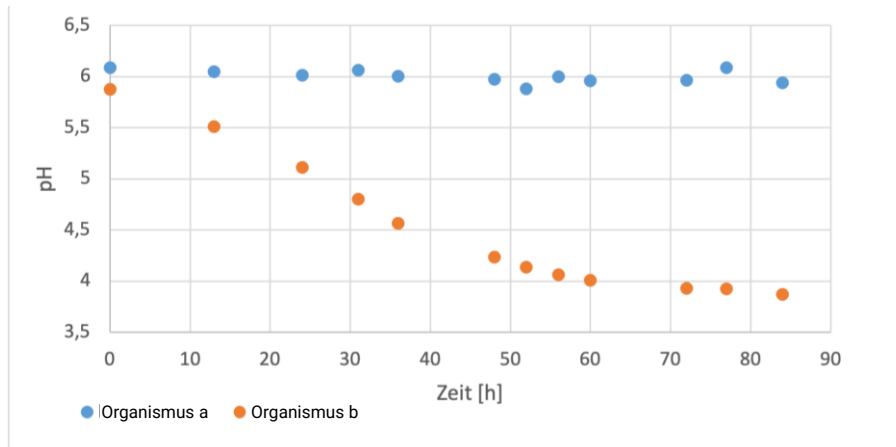


Abbildung 8: Darstellung des Verlaufs des pH-Werts der Organismus a und Organismus b Kulturen während der Inkubationszeit der Vorkulturen im Rührkessel

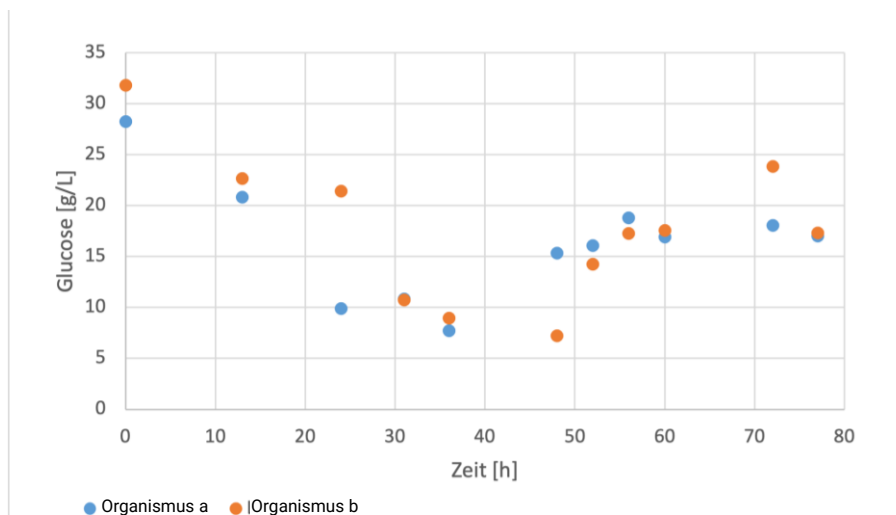


Abbildung 9: Darstellung des Verlaufs der Glucosekonzentration der Organismus a und Organismus b Kulturen während der Inkubationszeit der Vorkulturen im Rührkessel

Für den Prozess nutzbar ist aus diesem Versuch, dass nach einer Kultivierung von etwa 48 Stunden eine gut als Inokulum nutzbare Kultur vorhanden ist. Jedoch sollte der Versuch repliziert werden, da es sich hier jeweils nur um Einzelansätze handelte.

Anlegen veränderter Kryo-Stockkulturen

Um die Zeit, die eine Vorkultur angeschüttelt werden muss, zu verkürzen, wurde versucht, die Anzahl der aktiven Zellen in den Kryo Stocks zu erhöhen. Hierzu wurden beim Anlegen von *Organismus a* Stocks die Zellen abzentrifugiert und 450 µL Überstand abgenommen. Die Zellen wurden in dem übrigen Kulturüberstand und 150 µL Glycerin resuspendiert, sodass sich eine theoretische Aufkonzentrierung von Faktor 1,3 ergab.

Im Experiment wurden diese Kryos mit dem herkömmlichen Verfahren verglichen, indem sie angeschüttelt und dabei regelmäßig beprobt wurden. In der Auswertung der Verläufe der Glucosekonzentrationen fällt auf, dass die aufkonzentrierten Stocks in ihrem Wachstum etwa 5 Stunden voraus waren.

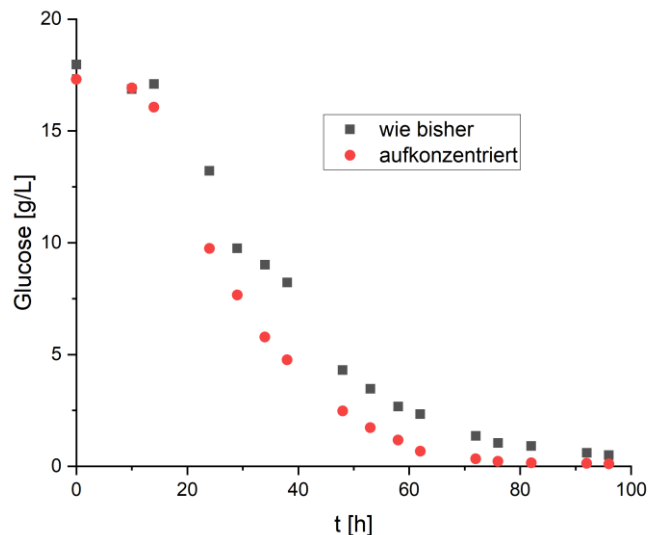


Abbildung 10: Vergleich der Verläufe der Glucosekonzentrationen verschiedener Varianten der *Organismus a*-Stockkulturen während der Inkubationszeit der Vorkulturen im Schüttelkolben

Dieser Versuch zeigt, dass es möglich ist, die Vorkulturzeit über die Nutzung aufkonzentrierter Stock-Kulturen zu erhöhen. Dies kann von Vorteil sein, um *Organismus b* zu beschleunigen, damit dieser zu einem ähnlichen Zeitpunkt wie *Organismus a* seine maximale Zelldichte erreicht. Zusätzlich könnte die Substitution von *Organismus b* ein schnelleres Wachstum von *Organismus a* ermöglichen, was von Vorteil wäre. Jedoch muss dabei der Arbeitsaufwand beim Anlegen der Stockkulturen mit dem tatsächlichen Vorteil abgewogen werden.

Ersetzen von *Organismus b*

In Vorgesprächen mit auf Anlagenbau spezialisierten Unternehmen wurde klar, dass die technische Umsetzung eines Reaktors für Mischkulturen deutlich aufwändiger werden würde als für eine Reinkultur. Aus diesem Grund wurde versucht, *Organismus b* durch Stoffwechselprodukte von diesem zu ersetzen. Es wurden jeweils 200 mL dieser mit ausgewählten Metaboliten versetzte Medien mit *Organismus a* angeimpft und im Vergleich zur bisher verwendeten Kultivierung getestet. Wie erwartet produzierte *Organismus a* ohne *Organismus b* deutlich weniger Cellulose. Auffällig war, dass eines der zugegebenen Stoffe die Produktion zu hemmen schien. Der Austausch von *Organismus b* durch eine Kombination verschiedener Metabolite wies hingegen erfolgversprechende Ergebnisse auf.

Sollte sich bestätigen, dass Milchsäure den Prozess hemmt, wäre es umso wichtiger, *Organismus b* aus dem Prozess zu entfernen. Weitere Versuche mit dem Einsatz von ausschließlich Ethanol wären an dieser Stelle notwendig.

Verhältnis von Oberfläche zu Gesamtvolumen

Da die Schicht sich immer an der Grenzfläche zwischen Medium und Luft bildet, bleibt die Fläche der gebildeten Schicht unabhängig vom Füllstand des Kultivierungsgefäßes gleich. Jedoch befindet sich bei unterschiedlichen Füllständen und gleichbleibender Medienkonzentration ein unterschiedliches Nährstoffangebot im Reaktor.

Kurz vor Ende des Förderzeitraumes wurde hierzu ein Vorversuch durchgeführt. Es wurden 600 mL Bechergläser mit 200 mL und 400 mL Medium inokuliert und über 22 Tage inkubiert. Daraufhin wurden die Feuchtmassen gemessen. Die gemittelten Massen der Schichten aus dem mit 400 mL ausgestatteten Becherglas überstiegen hierbei die unter geringeren Medieneinsatz erhaltenen um 20%. Diese Gegebenheit sollte dementsprechend weiter untersucht und bei Experimenten sowie Produktion beachtet werden.

Filamentöse Organismen

In Absprache mit dem Institut für Bioverfahrenstechnik der TU-Braunschweig sollte dieser Teilbereich der Forschung für Abschlussarbeiten genutzt werden. Diese hätten auch ein geeignetes Pilzlabor gehabt, um möglichst wenig Sporen in unseren Räumen zu verbreiten. Jedoch hat sich auch nach mehrmaligem Ausschreiben und Bewerben der Stelle keine Person dafür gefunden. Daher wurde lediglich ein erster Versuch von uns dazu durchgeführt.

In diesem sollte das Wachstum ausgewählter filamentöser Organismen qualitativ beurteilt werden. Es ging um die Fragen: Wie lange wachsen Organismen? Welcher Unterschied besteht zwischen dem von uns genutztem Standard-Medium und dem vom DSMZ empfohlenen? Wachsen die Organismen nur im Schüttelkolben oder auch in einem stationären Becherglas? Hierfür wurden Kulturen in Schüttelkolben mit jeweiligem Idealmedium, im stationären Becherglas mit jeweiligem Idealmedium und im Becherglas mit Standard-Medium angesetzt.

In den Schüttelkulturen war eine Trübung nach 13 Stunden bei *S. venezuelae* zu erkennen, bei *S. plicatus* nach 41 Stunden und *F. fomentarius* nach 91 Stunden. Diese Reihenfolge des Anwachsens deckt sich mit dem Anwachsen der Kulturen auf

Agarplatten. Die Wachstumsgeschwindigkeit ist also ähnlich mit der Cellulose produzierenden Mischkultur aus *Organismus a* und *Organismus b*.

In den stationären Bechergläsern sind verschiedene Kontaminationen aufgetreten. Besonders war, dass *F. fomentarius* diese überwachsen hat. In den meisten Ausätzen war kaum zu erkennen. Unterschiede zwischen Ideal und Standard-Medium sind dementsprechend nicht aufgetreten.

Eine Schicht an der Luft-Medium-Grenzfläche bildete kein Organismus. Vielleicht ist es nötig Organismen zunächst anzuschütteln, bevor sie stehend wachsen gelassen werden. Um die Sporen mit ausreichend Sauerstoff zu versorgen, kann alternativ die Kultivierung auch mit einer geringeren Flüssigkeitssäule über den Sporen im stehenden Gefäß realisiert werden. Der geringe Erfolg dieses Versuches war ein weiterer Grund, diesen Teilbereich niedrig zu priorisieren, weshalb er nicht weiterverfolgt wurde.

Nachbehandlung

Bei der Nachbehandlung sollten eigentlich mehrere Versuche zur Optimierung der Produkteigenschaften stattfinden. Aufgrund der vorangehenden Kontamination hat sich dies leider stark verzögert, sodass erst gegen Ende der Förderung erneut Versuche außerhalb der Produktion zur Nachbehandlung gestartet werden konnten. Aufgründessen konnte die vorher angelesene Theorie sowie die erweiterte Theorie nicht in dem Ausmaß evaluiert werden, den wir in dem Zeitraum geplant haben. Vorrangig war hier die Produktion für Materialproben und Kundenmaterial, nachdem das Kontaminationsproblem gelöst war.

Deshalb wurde die Nachbehandlung im standardisierten Verfahren von vor dem Förderungszeitraum angewandt. Dies bedeutet, dass wir weiterhin die Proteineinbindung mit dem Wachsen des Materials paaren. Hier haben sich jedoch Kleinigkeiten verändert. Aufgrund des Volumenverhältnisses von Material und Fluid konnten wir die benötigte Proteinmenge auf ein Fünftel kürzen. Zuvor wurde bereits die Ausnutzung optimiert, indem größere Ansätze parallel kultiviert wurden. So ergab sich ein geringes ungenutztes Volumen. Das Gleiche gilt auch für den Glycerinverbrauch. Zudem hat sich Rapswachs als vorteilhaft für die oberflächliche Nachbehandlung herausgestellt. Durch die Adaptionen hat sich der Prozess stabilisiert und sich so ein Standardprozess etabliert.

Nichtsdestotrotz ist die Abänderung der Nachbehandlung angedacht, um ein besseres Endprodukt anbieten zu können. Sobald die Produktion die Kapazität der Kundenanfragen abgedeckt hat, wird hier weitergeforscht.

Ebenso stellte sich die Trocknung des Materials als eine der Schwachstellen des Prozesses heraus. Hier ergab eine durchgeführte Testreihe eine anfängliche, grobe

Einschätzung der Trocknungszeiten. Die Schichtdicke weist diesbezüglich eine gewisse Korrelation zur Masse auf.

Da bereits eine geringe Temperatur verwendet wird, wurde weiter an der genaueren Bestimmung der Trocknungszeit gearbeitet. Nach kleinintervalligen Messungen konnte die Trocknungszeit im Schnitt um 12% reduziert werden. So ergab sich zudem eine wesentlich angenehmere Haptik des Materials. Nichtsdestotrotz muss weiter an der Trocknung geforscht werden, um ein konstanteres Ergebnis unabhängig der Probengröße und –gewichtes zu erhalten. Dies verzögerte sich dank der Kontamination ebenfalls, aufgrund des Probenausfalls.

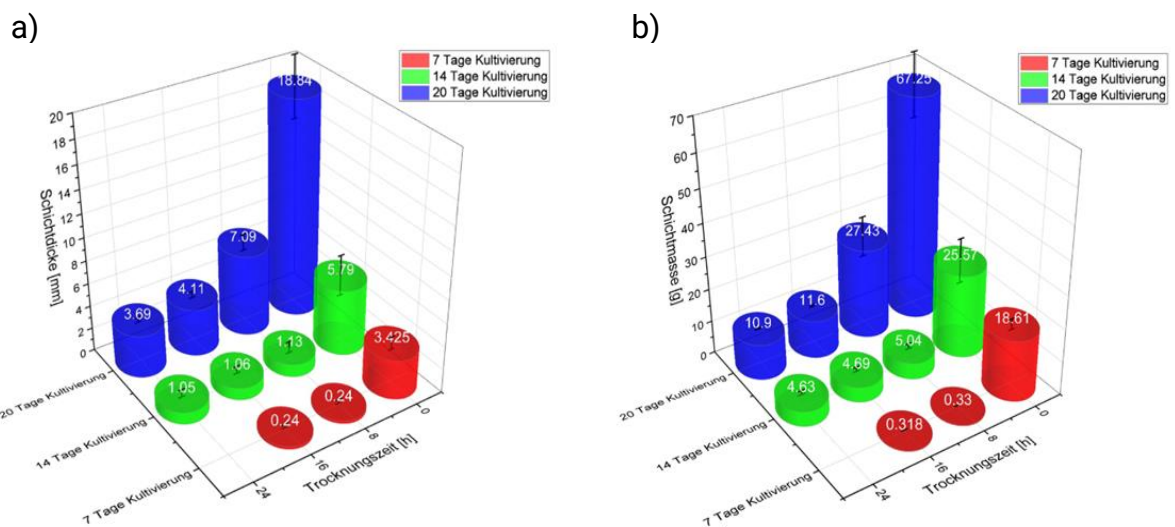


Abbildung 11: Untersuchung der Trocknungszeit der Schichten in Abhängigkeit der Kultivierungszeit. Darstellung der jeweiligen a) Schichtdicken und b) Schichtmassen

Das Färben des Materials funktioniert hingegen einwandfrei. Es wurden Standardmischverhältnisse für die jeweils gewünschten Farbtöne validiert, sodass eine konstante und reproduzierbare Einfärbung des Materials möglich ist.

Zusätzlich wurden mit dem produzierten Material neue Testprodukte hergestellt. Es wurden erste Handyhüllen in verschiedenen Farben angefertigt, um diese Interessenten zu präsentieren. Zusätzlich wurde parallel an einer nahtlosen Ausführung eines Handschuhs gearbeitet.

Reaktorentwicklung

Ausgangssituation/ Anforderungen des Prozesses

Anfängliches Reaktordesign

Auf Basis des oben beschriebenen Prozesses soll ein Reaktor entwickelt werden, der eine möglichst ideale Umgebung für die bakterielle Kultivierung schafft und dabei eine ideale Materialqualität sowie klar benannte Maße sicherstellt.

Die bisherigen Kultivierungen wurden in herkömmliche Oberflächenkultivierungen in einem Wärmeschrank durchgeführt. Der nächste Skalierungsschritt soll die in der Industrie gewohnte Textilrollenbreite von 1,40 m erreichen. Darum war zunächst geplant, das Material in einem maßgefertigten Wärmeschrank über Inkubationsbecken in einer Größe von 140*100 cm zu produzieren.

Hierzu soll ein Fed-Batch Betrieb realisiert werden, welcher durch zunächst von Arduino-Mikrocontrollern angesteuerte Pumpen funktioniert. Diese sollen in der weiteren Entwicklung durch eine programmierbare Industriesteuerung nach SPS-Standard ersetzt werden.

Bedarf für neues Reaktorkonzept

Um den Prozess zunehmend steril führen zu können, haben wir dieses Reaktordesign aus dem Antrag wesentlich weiterentwickelt. Das neue Design benötigt neben einer Begasung auch eine verschließbare, sterilisierbare Bauweise des Reaktors, idealerweise mit Fed-Batch System. Da der Reaktor die zentrale Einheit in der Produktion des Materials ist, soll auch auf eine möglichst hohe Raum-Zeit-Ausbeute geachtet werden.

Suche nach Unterstützung für geplantes Reaktordesign

Da wir für unseren Prozess keinen off-the-shelf-Bioreaktor verwenden können, haben wir nach Partner:innen für die Entwicklung gesucht. Unser Reaktor bildet das Herzstück der geplanten Produktionsanlage und nimmt in der Finanzplanung daher eine zentrale Stellung ein. Um unsere Finanzplanung Investor:innen gegenüber begründen zu können, wurde eine professionelle Preisschätzung benötigt.

Wir haben also ein Unternehmen gesucht, das uns bei der Entwicklung unterstützen und eine ernstzunehmende Preisschätzung abgeben kann. Eine Reaktorbaufirma wurde an mehreren Stellen sehr positiv dargestellt, weshalb wir uns näher mit diesen

auseinandergesetzt haben. Wir haben im Juli 2022 den Kontakt zu dieser aufgenommen und diesen soweit vertieft, dass wir nach einer schlussendlichen Abstimmung im Dezember 2022 schließlich ein Angebot für ein Pre-Engineering erhalten haben. Dieses bringt uns unserer Einschätzung eines Preises für die gesamte Anlage ein kleines Stück näher. Eine tatsächliche Kooperation im Rahmen des Pre-Engineering wäre nur bei erfolgreichem Investment möglich, da ansonsten das Budget nicht ausreicht.

Versuche zur Begasung

Zum Begasungssystem wurden zunächst Versuche im Becherglasmaßstab durchgeführt. Aus der Literatur ist bekannt, dass *Organismus a* für die Bildung der Cellulose einen hohen Sauerstoffbedarf hat. Jedoch darf die Schichtbildung durch Blasenbildung nicht beeinträchtigt werden. Um die Sauerstoff- und Medienzufuhr der Schicht von derselben Seite zu gewährleisten, wurde zunächst ein submerses Begasungssystem entwickelt. Dieser Versuch scheiterte, jedoch wurden hieraus unerwartete Erkenntnisse gewonnen, die im folgenden sehr hilfreich waren. Des Weiteren wurden Begasungsversuche aus dem Luftraum über der Schicht durchgeführt. Auch diese verliefen unerfolgreich, lieferten aber wertvolle Erkenntnisse. Dies führte dazu, dass erste Versuche mit Membranen durchgeführt wurden.

Reaktorprototyp: Forschung & Entwicklung

Es wurde gezeigt, dass der Prozess steril laufen und an einer Oberfläche begast werden sollte. Hierfür wurden verschiedene Membranreaktoren konstruiert. Zunächst wurden für die Konstruktion 3D-gedruckte Teile genutzt.

In der Entwicklung der Reaktoren wurde zunächst geklärt, ob es überhaupt möglich ist, die Schicht im konzipierten Membranreaktor wachsen zu lassen. Des Weiteren sollte die Celluloseschicht qualitativ beurteilt werden. Die erste Kultivierung war erfolgreich. Es wurde eine Schicht gebildet deren Textur erfreulich war. Jedoch wies der Reaktor einige Undichtigkeiten auf, zudem bildete sich ein Biofilm an einer nicht gewollten Stelle.

Herausforderungen bei den Konstruktionen

Es wurden weitere Kunststoff Reaktoren gebaut mit dem Ziel ein Austreten des Mediums zu verhindern. Bis jetzt blieb dieses Unterfangen erfolglos. Dies wird jedoch vermutlich behoben werden können, wenn mit einem starrerem Material gearbeitet

wird, da der Deckel sich teilweise verformte, was zum Ablösen von der Flüssigkeitsschicht führte.

Weitere Schritte

Es wurden ein erster Scale-up von 8568 mm² auf 34228 mm², eine Parallelisierung des Prozesses, sowie Versuche für die Installation eines Feeding Systems erfolgreich durchgeführt.

Reaktorprototyp: Pilotmaßstab

Basierend auf der oben beschriebenen Entwicklung des neuen Reaktorprototypens haben wir mit der Ausarbeitung einer skalierbaren Version für eine Produktionsanlage begonnen.

Beschreibung des geplanten Reaktordesigns

Der Reaktor sollte wie oben beschrieben funktionieren und um die Temperierbarkeit, sowie um Zu- und Abläufe zur Kulturbrühe ergänzt werden. Um uns der o.g. Preisschätzung zu nähern haben wir auf Basis einer eigenen groben CAD-Konstruktion von mehreren Metallbauunternehmen Angebote für sowohl einen als auch 100 Behälter angefordert.

Da der Metallpreis aktuell sehr stark schwankt, sind solche Angebot generell sehr ungenau. Zudem müssen vor einer Beauftragung noch Detailfragen des Reaktordesigns geklärt werden. Die hier notwendige weitere Entwicklungsarbeit spiegelt sich im Finanzbedarf.

Ausblick: Wachstum in dreidimensionalen Formen

Versuche

Als erste Annäherung wurden in einem einfachen Versuch Reste des Mediums und der Organismen genutzt und in einem Wärmeschrank in der gewünschten Form wachsen gelassen. Es zeigte sich, dass das gewachsene Material gut in der Form wuchs, zudem ließ es sich sehr gut entformen. Da die Celluloseschicht nur sehr dünn war, änderte sich das Aussehen wie gezeigt durch die Trocknung etwas. Im Allgemeinen war dies ein sehr aussichtsreicher Erstversuch, welcher Anschlussversuche nach sich ziehen sollte.

Um diese Innovation in Zukunft zu machen, könnte der oben beschriebene Industrie-Reaktorprototyp über den modularen Aufbau einfach auf das formspezifische Wachstum angepasst werden. Dies stellt ein vielversprechendes neues Alleinstellungsmerkmal dar, da kein anderes Unternehmen eine Lederalternative nahtlos direkt in die gewünschte Form wachsen lassen kann.

Patentierungsprozess

Um das Verfahren an sich und den neuartigen Reaktortyp für die Herstellung bakterieller Zellulose in flächiger, homogener Schicht-Form patentieren zu können, mussten einige Schritte eingeleitet werden. Alle Schritte, bis ein Patent angemeldet werden kann, sind kostenintensive Prozesse (Beratungskosten, Anwaltskosten, Amtsgebühren usw.) und werden für Unternehmen daher vom Bund gefördert. Wir haben dafür die "Wissens- und Technologietransfer durch Patente und Normen" (WIPANO) Förderung beantragt. Hierfür war es nötig, unsere innovative Idee in einen Text zusammenzufassen, aus dem die Förderfähigkeit erkennbar ist. Dieser Schritt bedurfte einer Sammlung generell wichtiger Aspekte für die Patentierung sowie einiger Korrekturschleifen, bis der Antrag gestellt werden konnte. Um im weiteren Verlauf dennoch Kosten zu sparen (WIPANO übernimmt nur bis zu 50 % der Patentierungskosten), wurde weiterhin für uns relevante Patentrecherche betrieben und dokumentiert. Für den weiteren Verlauf der Patentanmeldung wurde nach dem WIPANO Antrag eine Erfindungsmeldung aufgesetzt, in dem die unserer Erfindung zugrundeliegende Problemstellung sowie dessen Lösung detailreich aufgeführt ist. Auch dieser Text bedurfte mehrerer Korrekturschleifen, bis eine erste Prüfung durch den Patentanwalt erfolgen konnte.

Business

Weiterentwicklung des Geschäftsmodells

Marktanalyse

Wir haben eine eigene Recherche über Mitbewerber und Absatzpotenziale angestellt. Die Recherche beinhaltete die Aspekte Marktreife, bestehende Kooperationen, erhaltene Investitionen sowie das Konzept der Materialien. Vor allem aber haben wir sie hinsichtlich ihrer ökologischen Ausrichtung und ihrer Lederähnlichkeit eingestuft, da wir diese als die wichtigsten Vergleichsparameter halten. Beides ließ sich nur schwer aus den im Internet verfügbaren Daten herauslesen. Nur sehr wenige Mitbewerber sind bereits im Markt verfügbar und es gibt kaum unabhängige Berichte aus 1. Hand. Wir kamen mit Hilfe der verschiedenen Quellen dennoch zu einer brauchbaren Einordnung.

Unsere Ergebnisse sind, dass neben dem tierischen Leder auch erdölbasiertes Kunstleder nicht nachhaltig ist. Pflanzliche Alternativmaterialien enthalten in der Regel ebenfalls Plastik und weisen erschreckend oft eine unzureichende Lederhaptik auf. Piñatex beispielsweise besteht aus verfilzten Ananasblattfasern, weist dementsprechend also eine Filzstruktur auf. Desserto besteht zu ca. 80% aus Kaktusmaterial, der Rest ist jedoch weiterhin Kunststoff, das durch den Verbund nicht mehr recyclingfähig ist. Wir zählen uns zu den auf Mikroorganismen basierenden Alternativmaterialien, von denen die meisten eher auf den medizinischen oder technischen Bereich zielen. Die große Vielfalt der Materialien zeigt die Relevanz des Themas, allerdings hat sich am Markt bisher niemand durchgesetzt. In der eingangs erwähnten Darstellung von Lederähnlichkeit und Ökologie sehen wir uns klar im oberen rechten Bereich.

Eine Analyse der Marktpotentiale wurde für uns Anfang 2022 von der studentischen Unternehmensberatung consult.one durchgeführt. Diese zeigte sowohl das Wachstum der lederverarbeitenden Branchen an sich, als auch das steigende Interesse dieser Branchen an nachhaltigen Alternativmaterialien

Wir planen für Jahr 4 einen Umsatz von 6 Millionen €, dies entspricht 0,009% des globalen Marktes. Hier ist also zum einen enormes Wachstumspotential vorhanden, zum anderen ist es sehr unwahrscheinlich, dass andere Unternehmen zeitnah eine marktdominierende Stellung erreichen.

Weiterentwicklung interner Prozesse

Software

Im Januar 2022 haben wir die digitale Laborbuch Software RSpace eingeführt, um zeitgemäß und remote an den Dokumentationen der Versuche arbeiten bzw. drauf zugreifen zu können.

Im August 2022 haben wir mit dem Team den Wechsel von der Kombination der kostenlosen Tools Slack, Zoom und Google Kalender zur Microsoft-Teams Infrastruktur vollzogen, welches alle diese Tools in einem vereint und dadurch angenehmeres und nahtloseres Arbeiten ermöglicht.

Um unsere Aufgaben besser strukturieren zu können, sind wir beginnend im Februar 2023 sukzessive von der Kanban-Software Trello zum moderneren und funktionsreicheren Clickup gewechselt.

Durch diese Umstellungen sind unsere Arbeitsprozesse schneller geworden und der Bedarf an internen Abstimmungen ist gesunken.

Kommunikationsprozesse

Um der Komplexität des Forschungsbedarfes Rechnung zu tragen, haben wir beginnend im Februar 2023 die verschiedenen Zuständigkeitsbereiche in internen Rollen abgebildet. Diese Rollen sind mit wenigen Stichpunkten und einem Idealzustand auf den sie hinarbeiten beschrieben. Wer eine Rolle innehat, weiß damit klar, was das Ziel ist. Ebenso sind Ansprechpersonen für verschiedene Fragen klar benannt.

Gefährdungsbeurteilung

Wir haben durch jemanden aus dem persönlichen Netzwerk eine Einführung in das Erstellen von Gefährdungsbeurteilungen bekommen. Die Person hat dies bereits für ein Kraftwerk geschrieben und konnte uns die Grundzüge mitteilen. Eine weitere Zusammenarbeit ist geplant, sobald wir die Laborarbeit weiter professionalisieren bzw. eine skalierte Produktion aufstellen und Schritte aus der individuellen Forschung hin zu regelmäßigen Abläufen passieren.

Forschungsverwaltung

Roadmap aufstellen

Im Zuge der Vorbereitungen für Investmentgespräche wurden möglichst konkrete Pläne für die Forschung aufgestellt. Dabei wurde die etwaige Dauer, die Parallelisierbarkeit und die Kosten der jeweiligen Experimente abgeschätzt. Hieraus wurden Zeit, Kosten und Bedarf an Arbeitskräften bis zum Erreichen der jeweiligen Meilensteine (Abbildung 23) abgeschätzt. Es konnte herausgearbeitet werden, dass idealerweise die Forschung am Material, den genutzten Medien und der Prozessoptimierung bei einem Invest nach etwa 1,5 Jahren Forschung weitestgehend abgeschlossen sein könnte. Die Konzeption eines Reaktors, der Bau und die jeweiligen Scale-up Schritte würden hingegen deutlich länger dauern. Aus diesem Grund verschoben sich auch ohne größeres Investment die Prioritäten des Forschungsfeldes in Richtung Reaktorplanung.

Weiterentwicklung des Unternehmens/auftritts

Neues Corporate Design

Die uns verbundene Agentur needs people hat anlässlich der beginnenden Investmentsuche und des geplanten Vertriebes im Februar 2023 damit begonnen, ein neues corporate Design zu entwickeln. Im Rahmen dieser Entwicklung wurden die verwendeten Farben und Schriftarten aktualisiert sowie das Logo und der visuelle Stil angepasst.

GmbH Gründung

Zur Professionalisierung des Unternehmens und den besseren Möglichkeiten zur Aufnahme neuer Investoren, wurde eine Umfirmierung von der bestehenden GbR in eine GmbH umgesetzt.

Events & Wettbewerbe

Im Juli 2022 haben wir an der Sommertour des niedersächsischen Finanzministers teilgenommen, als dieser einen Stopp im Trafo Hub Braunschweig eingelegt hat.

Im Oktober 2022 nahmen wir am Matchingabend des Business Angel Verbands BANSON teil, aus dem Kontakte zu Business Angels entstanden sind.

Erster Platz bei Generation D

Nachdem wir uns auf den Deutschlandweiten Generation D - Preis für innovative Startups beworben haben, wurden wir im Mai 2022 remote interviewt und hatten im Juni 2022 einen Online-Pitch. Darauf folgte ein Industry Leader Pitch in München, in dem es Feedback von Personen aus den Führungsetagen verschiedener großer Deutscher Unternehmen wie BMW und Lufthansa gab. Dieses Feedback floss in die Gestaltung unseres neuen Pitch Decks ein, sodass wir beim finalen Pitch im September 2022 in München den ersten Platz erreichen konnten.

Zweiter Platz beim Durchstarterpreis Niedersachsen

Im Zuge des u.a. von der Nbank ausgerichtete Durchstarterpreises Niedersachsen kam es zu einem Videodreh, der im November im Trafo Hub stattfand. Bei der abschließenden Preisverleihung im Dezember 2022 wurden wir mit dem zweiten Platz in der Kategorie Life Sciences ausgezeichnet.

Vertrieb

Insgesamt erhielten wir bereits über 200 validierte Anfragen. Diese umfassen Unternehmen aus allen Bereichen, in denen Leder eingesetzt wird. Einige von diesen haben uns unverbindliche Letter of Intent ausgestellt. Gerade diese Unternehmen haben wir auf dem Laufenden über unsere Milestones gehalten. Generell haben wir im Laufe der Förderung unseren Kontakt mit einigen Interessent:innen intensiviert.

Probenverpackung

Durch die gesteigerte konsistente Produktion von Material konnten wir beginnen, Materialproben an unsere bestehenden Interessent:innen zu schicken. Um die Proben dabei möglichst ansprechend zu gestalten, haben wir eine hochwertige Verpackung für die Materialproben entwickelt. Zu diesem Zweck haben wir eine sorgfältig durchdachte Ansprache entwickelt und in Kooperation mit needs people Karten gestaltet, um die potenziellen Interessent:innen effektiv anzusprechen. Wir haben ein besonderes Augenmerk darauf gelegt, das Material durch Positionierung und Verpackung passend zu den Unternehmensfarben und dem Logo anzuordnen. Zusätzlich haben wir Sticker aus Graspapier gewählt und Briefumschläge verwendet, die Blumensamen beinhalten und so selbst schon einen Beitrag zu einer heilen Natur leisten können.



Abbildung 12 Probenverpackung

In Ergänzung dazu wurde ein Stempel mit dem Logo des Unternehmens gefertigt. Dies soll insgesamt eine möglichst professionell gestaltete Verpackung ermöglichen.

Finanzplan/Geschäftsmodell

Für das erste Jahr nach der Aufnahme eines Investments ist die Entwicklung eines minimal gültigen Produktes (MVP) geplant, also einer funktionierenden aber noch

nicht skalierbaren Produktionsanlage. Aus dieser soll im zweiten Jahr die Grundlage für eine Skalierung entstehen, während parallel die ersten Pilotprojekte starten.

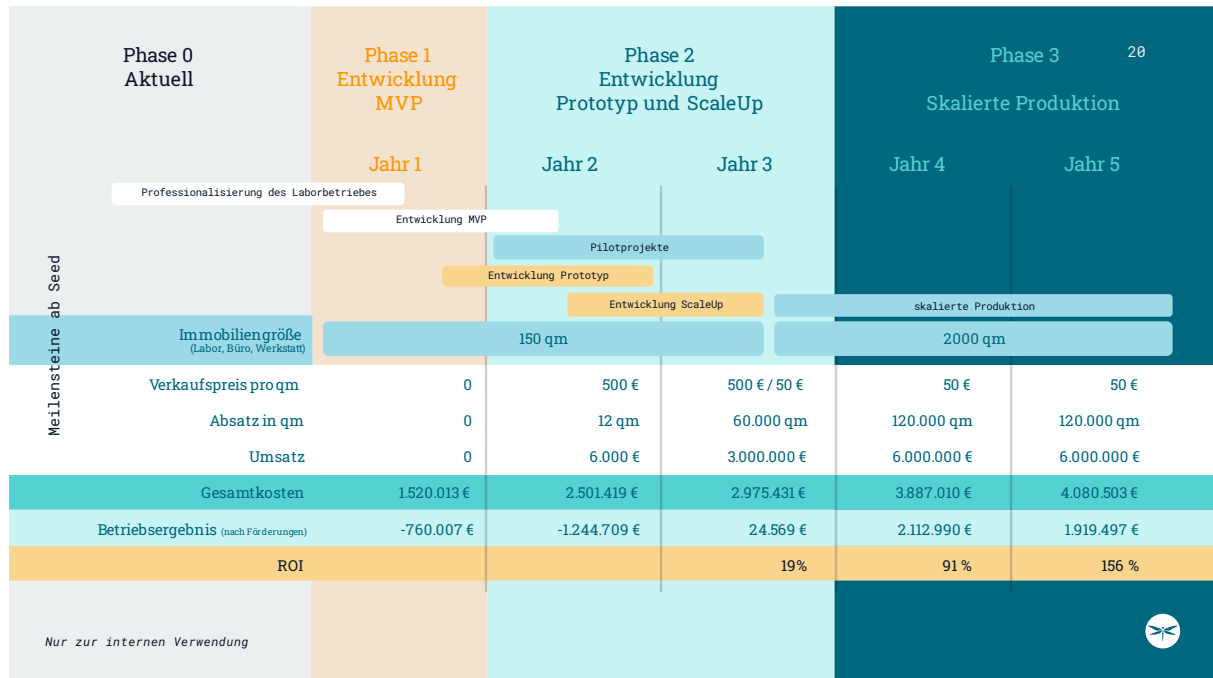


Abbildung 13 geplante Meilensteine der Geschäftsentwicklung

Hier wird mit einem Absatz von 12qm gerechnet, wir können bei einem zu diesem Stadium nicht unüblichen Quadratmeterpreis von 500€ also bereits mit Einnahmen von 6000€ rechnen. Im Laufe des dritten Jahres soll sukzessive die Hälfte der geplanten Produktionskapazität aufgebaut werden, sodass hier mit einem Absatz von 60.000qm gerechnet wird und bei einem Verkaufspreis von 50€ Einnahmen von 3 Mio € entstehen. Diese Zahlen verdoppeln sich im vierten Jahr mit der Nutzung der vollen skalierten Produktionskapazitäten. Der vollständige Finanzplan findet sich im Anhang.

Fundraising

Um die benötigte Finanzierung einzusammeln, haben wir im ersten Schritt unsere Inhalte als Read Deck im neuen Corporate Design aufgearbeitet. Derzeit sind wir auf Basis dieser Unterlagen mit diversen Investor:innen im Gespräch.

Finanzierungsstrategie

Gut die Hälfte der weiteren Projektfinanzierung soll durch eine KMU-Innovativ-Förderung gedeckt werden. Da diese über drei Jahre läuft, haben wir unsere Projektkosten über diesen Zeitraum hinweg abgesteckt.

Tabelle 1: Finanzierungsbedarf der nächsten fünf Jahre

	Jahr 1	Jahr 2	Jahr 3	Jahr 4	Jahr 5
<i>Fertigungskosten</i>	0 €	2.495 €	666.974 €	1.333.948 €	1.333.948 €
Versand und Handling	0 €	300 €	150.000 €	300.000 €	300.000 €
Personal	984.466 €	1.307.449 €	1.817.351 €	1.897.202 €	2.054.040 €
Investitionen	344.364 €	872.000 €	32.514 €	18.000 €	0 €
Betriebskosten	191.183 €	319.174 €	308.592 €	337.860 €	392.516 €
Gesamtkosten	1.520.013 €	2.501.419 €	2.975.431 €	3.887.010 €	4.080.503 €
= Betriebsergebnis	<u>-1.520.013 €</u>	<u>-2.495.419 €</u>	<u>24.569 €</u>	<u>2.112.990 €</u>	<u>1.919.497 €</u>
Liquidität	-760.007 €	-1.244.709 €	572.312 €	2.112.990 €	1.919.497 €

Unser kumulierte Finanzbedarf für die nächsten drei Jahre ergibt ein Gesamt-Projektvolumen für von 5,5 Mio €. Diese sollen wie folgt gedeckt werden: Knapp die Hälfte, also 2,5 Mio € sollen durch die bereits erwähnte KMU-Innovativ-Förderung gedeckt werden. Die Skizze hierzu werden wir bis zum 15. Oktober einreichen, den Bescheid erhalten wir noch dieses Jahr.

Zwischenfinanzierung

Bei unserer aktuellen Burn Rate von 11.000€ monatlich ergibt sich ein Runway bis inklusive November. Da wir davon ausgehen, unsere Seedrunde im Q1 2024 abzuschließen, benötigen wir eine Zwischenfinanzierung. Um in dieser Zeit neben den laufenden Kosten auch die Patentierung voranzutreiben, benötigen wir im Idealfall eine Zwischenfinanzierung von 50.000€ - 100.000€. Die Suche hiernach geschieht zeitgleich mit der Suche nach Investor:innen für die Seed-Finanzierung.

Tabelle 2: Gegenwärtige Burn Rate

Personalkosten:	10.000€
Materialkosten:	700€
Sachanlagen:	0€
sonstige Betriebskosten:	300€
Burn Rate	11.000€
Benötigte Zwischenfinanzierung	50.000€-100.000€

Marketing

Der Markenaufbau sollte durch Ingredient Branding und Social Media sowie SEA & SEO vorangetrieben werden. Dabei haben wir bis dahin auf den Bereich B2C eher weniger Fokus gelegt, da bereits ein großes Interesse bestand. Außerdem boten uns bereits die Wettbewerbe, Interviews, Blogartikel und Videos viel öffentliche Aufmerksamkeit. Darum sollten Kanäle wie Instagram und LinkedIn vornehmlich bei bedeutenden Ereignissen wie Preisverleihungen und Meilensteinen genutzt werden. Auf diese Weise konnten wir die verfügbare Zeit effektiver nutzen, um die Forschungstätigkeiten voranzutreiben. Dennoch haben wir sowohl Videos als auch Bilder produziert und veröffentlicht, um das Team sowie die grundlegenden Unternehmenseinstellungen einer breiteren Öffentlichkeit zu präsentieren.

Im B2B-Bereich hingegen lag der Fokus eher auf gezielten Ansprachen, um mit den relevanten Ansprechpartnern in direkten Kontakt zu treten. In diesem Segment haben wir vermehrt auf Akquise gesetzt, wobei dieser Ansatz mit einem erheblichen Arbeitsaufwand einherging. Ziel war es, gezielt auf Investitionsmöglichkeiten und den Ausbau des unternehmerischen Netzwerks hinzuarbeiten. Außerdem ermöglichte es uns die Akquise, die Arbeit mit Partner:innen in Pilotprojekten kontinuierlich voranzutreiben.

Den Kommunikationsmittelpunkt bildete die Website, über die die meisten Anfragen eintrafen. Außerdem wurden viele Fragen und Nachrichten über die verschiedenen Social-Media-Kanäle an das Team weitergeleitet.

Des Weiteren haben wir viele Termine im Bereich von Wettbewerben, Startup-pitches, Biotechzusammenkünften, Messen, Podcasts und Fachvorträgen genutzt, um Networking zu betreiben und das Netzwerk sowie die Reichweite des Startups zu vergrößern.

Fazit

Die Forschung war während der Förderperiode vor allem von kontaminationsbedingten Ausfällen geprägt. Daher war ein großer Teil der Forschungsarbeit getrieben durch die Suche nach der Ursache und Lösung von auftretenden Problemen. Weiterhin musste für die Investmentsuche eine Menge an Material produziert werden, was zu diesem Zeitpunkt noch großen Aufwand bedeutete. Immer wieder mussten zudem die Kapazitäten des Laborteams genutzt werden, um kurzfristig anfallende Aufgaben des Alltagsgeschäfts zu übernehmen. Aus diesen Gründen war die gradlinige Umsetzung von Forschungsvorhaben vor allem durch die Hilfe von Abschlussarbeiten schreibenden Studierenden möglich. Im Allgemeinen konnte das Wissen über den Wachstumsprozess des Produktes während des Förderzeitraums deutlich erweitert und vertieft werden. Zudem wurde die Materialproduktion, insbesondere der Kultivierungsprozess, weiter ausgearbeitet und wesentlich effizienter gestaltet.

Wie im Zwischenbericht bereits angekündigt, konnten im Förderzeitraum die ersten Schritte der Entwicklung einer Produktionsanlage angegangen werden. Der erste Prototyp einer Anlage wurde im Labormaßstab entwickelt, getestet und in erste Skalierungsschritte überführt. Der nächste Schritt wäre die weitere Skalierung auf einen für eine Pilotanlage geeigneten Maßstab von 1m * 1,4m, gefolgt von dem Aufbau einer skalierten Produktion aus diesen Reaktoren, die bis zu 200 qm monatlich produzieren soll.

Wir konnten schon früh in der Förderphase erste Investments sichern, auch am Ende der Förderphase befinden wir uns in Investmentgesprächen. Die weitere Suche gestaltete sich allerdings schwierig bis zäh.

Vielversprechend ist hingegen die neu gefundene Möglichkeit, das Material direkt in dreidimensionalen Formen wachsen zu lassen. Hier entsteht ein deutliches Alleinstellungsmerkmal des Unternehmens.