

EcFuel Labs

Akademie věd
České republiky
Strategie AV21
Špičkový výzkum ve veřejném zájmu

Řasové biotechnologie pro potravinářství

Ing. Petr Kaštánek, PhD.

EcoFuel Laboratories, s.r.o., Praha



Makro vs mikro...

- Makrořasy – již etablované zejména v asijské kuchyni, nově v Evropě zejména v makrobiotické kuchyni (Nori – *Porphyrum* sp., Kombu – *Laminaria* sp., wakame – *Undaria* sp...)



Makro vs mikro...

- Makrořasy – nebo k průmyslové produkci alginátu, agaru a karagenanu do potravinářství – roční produkce cca 8 milionů tun řas v ceně cca 6 miliard USD (2014) - Čína, Korea, Japonsko



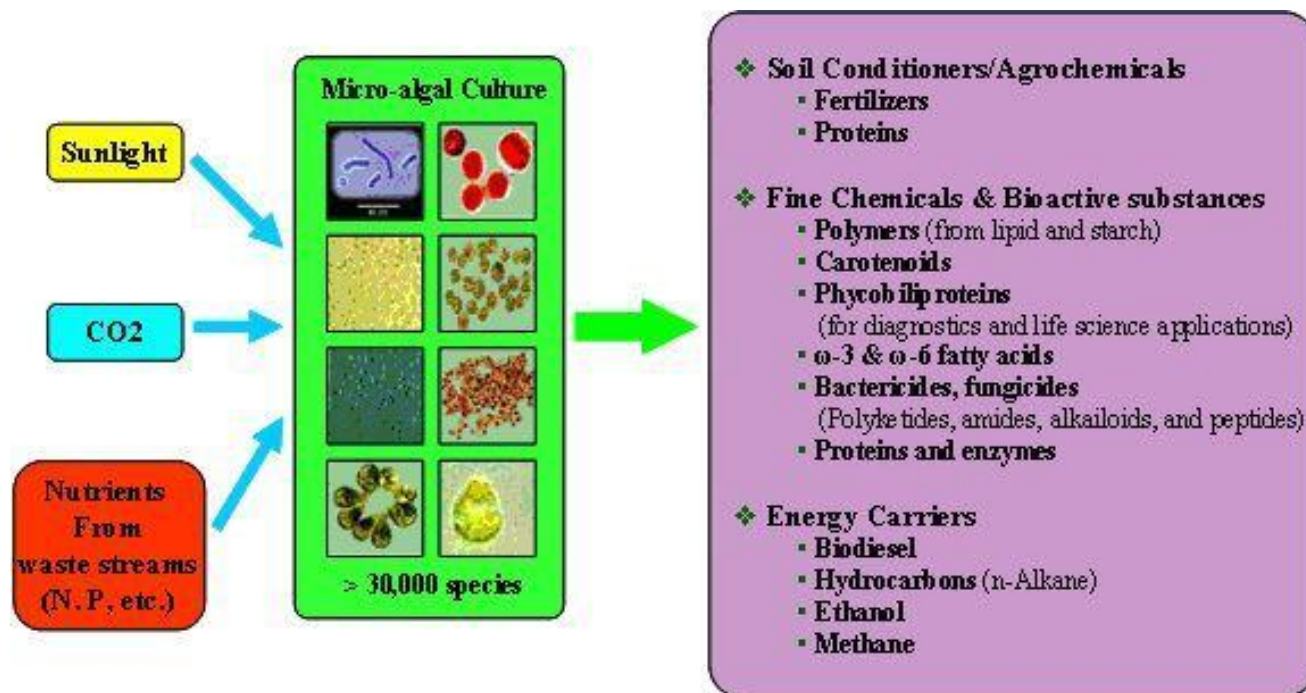
Makro vs mikro...

- Sinice a mikrořasy – roční světová produkce kolem 10 tis tun,
 - Použití v potravinářství doposud spíše jako součást drahých doplňků stravy (Chlorella, Spirulina)
 - Nebo zdroj karotenoidů (Dunalliella, Haemattococcus)
 - Či zdroj PUFA (Ulkenia, Schizochytrium) – jedná se však o protisty, nikoliv řasy, byť k nim byly historicky řazeni



Proč mikrořasy?

- Jedny z nejstarších organismů na zemi, produkují zhruba polovinu všeho kyslíku co dýcháme!
- K růstu využívají CO₂, skleníkový plyn
- K produkci nepotřebují zemědělskou půdu
- Velmi rychlý růst (doba zdvojení 5-24 h)
- Vysoká účinnost konverze slunečního záření na bimasu (4-5%)



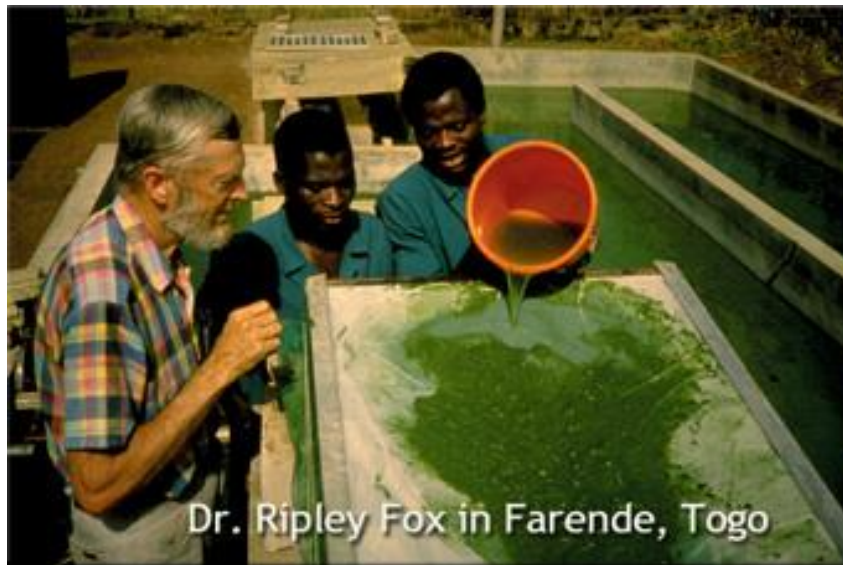
Trocha historie..

- V Československu započala kultivace chlorelly v r. 1960, československými mikrobiology pod záštitou Akademie věd ČR
- V březnu 1978 byla chlorella vynesena na oběžnou dráhu Země v kosmické lodi Sojuz 28. Samotný výzkum proběhl na palubě orbitální stanice Saljut 6 Vladimírem Remkem
- Chlorella byla uvažována jako potenciální základní zdroj živin pro vesmírné stanice, současně produkující kyslík a zpracovávající CO₂ a odpady.
- V ČR velká tradice výzkumu!



Spirulina pro Afriku..

- V Togu proběhl již v letech 1984-89 komunitní projekt, kdy 100m² pěstírna poháněná solárními panely a prostou sklizní spiruliny přes síto bylo schopno vyprodukovat biomasu pro 100 podvyživených dětí k doplnění proteinů a vitamínů.
- Association Pour Combattre la Malnutrition par Algoculture (ACMA) sponzorovala projekty v Africe, Indii a Peru
- 1 lžička denně měla zásadní vliv na zdravotní stav dětí!



Dr. Ripley Fox in Farendé, Togo



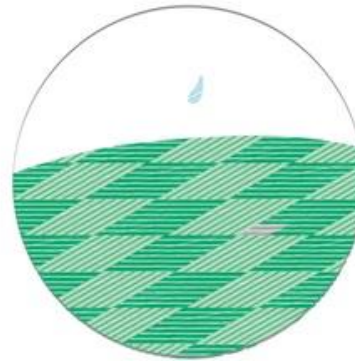
Integrated Village System, 1989

BANGUI, Central African Republic

- *...According to the United Nations, more children will die in CAR from malnutrition and related diseases than from bullets...*
- St. Joseph Health Centre produkuje od r. 2013 spirulinu pro těhotné ženy a malé děti v regionu



Proč spirulina?



Spirulina

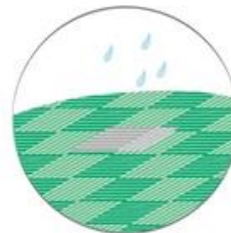
2.100* liters
brackish

0,6** square meters
non fertile

65% protein

- * water needed to produce 1 kilogram of protein
- ** land area needed to produce 1 kilogram of protein

Soybeans

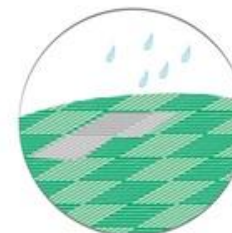


9.000* liters
fresh

16** square meters
fertile

34% protein

Corn

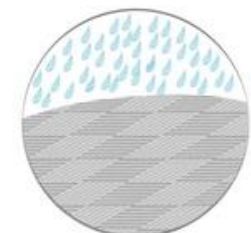


12.500* liters
fresh

22** square meters
fertile

9% protein

Grain-fed Feedlot Beef



105.000* liters
fresh

190** square meters
fertile

20% protein

Biopaliva z řas?

- V 70 letech vzrůst zájmu o mikrořasy coby producenty biopaliv,
- Vize díky poklesu ceny ropy (břidlicová ropa) upozaděna, ale vedla k vzednutí zájmu o potravinářské využití mikrořas

Crop	Oil yield (L/ha)	Land area needed (M ha)	Percent of existing US cropping area
Corn	172	3,080	1,692
Soybean	446	1,188	652
Canola	1,190	446	244
Jatropha	1,892	280	154
Coconut	2,689	198	108
Oil palm	5,950	90	48
Microalgae	35,202	15.2	8
Microalgae	70,405	7.6	4
Microalgae ^c	18,750	28.2	15.0
Microalgae ^d	17,330	30.6	16.3

a) 20% w/w oil in biomass, *Optimistic expectation*

b) 40% w/w oil in biomass, *Optimistic expectation*

c) *Phaeodactylum tricornutum* 20% oil in biomass, 5glipids/m²·day. *Acién Fernández et al., (1998)*

d) *Scenedesmus almeriensis*, 16% oil in biomass. *Fernández Sevilla et al., (2008)*

Vybrané grantové projekty mikro-řasových biotechnologií v ČR

- BIORAF, Biorefinery research centre of competence, TAČR
- OMEGA*NUTRITION, TAČR - ALFA
- ALGAFUELS, GESHER/MOST
- DIMASKIN, EUROSTARS
- ALGAL FOODS, MPO TRIO

- Partneři v projektech:



Ústav Chemických
Procesů AV ČR v.v.i.





BIORAF

**Centrum kompetence pro
výzkum biorafinací**

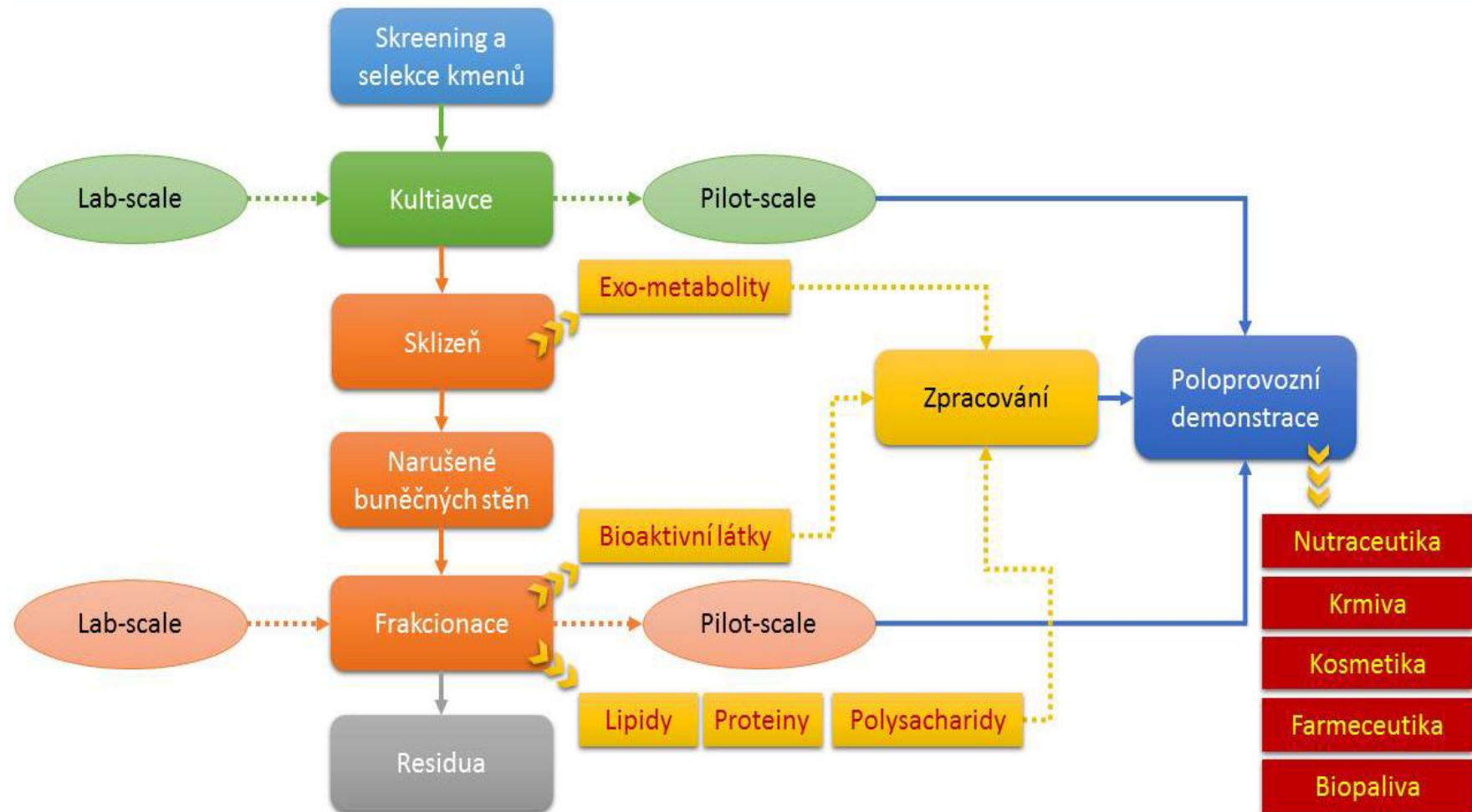
**Projekt TE01020080
podpořený z programu CENTRA
KOMPETENCE – TAČR**



**Technologická agentura
České republiky**

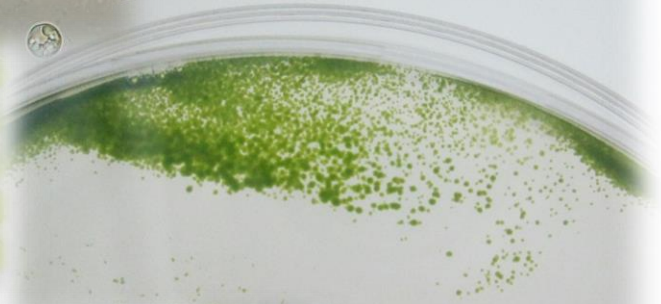
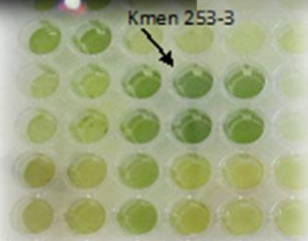
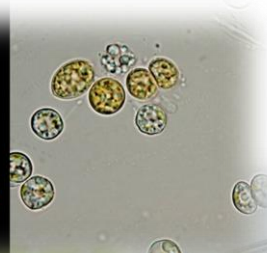
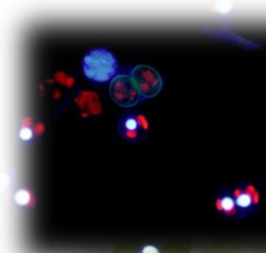
Procesní schéma projektů

Koncept projektu



Kultivace a šlechtění mikrořas

Mutagenese a
adaptace na selen



Mixotrofní kultivace



Velkoobjemové
kultivace

Vývoj a výroba nutraceutických produktů



Vývoj účinných látek z řas

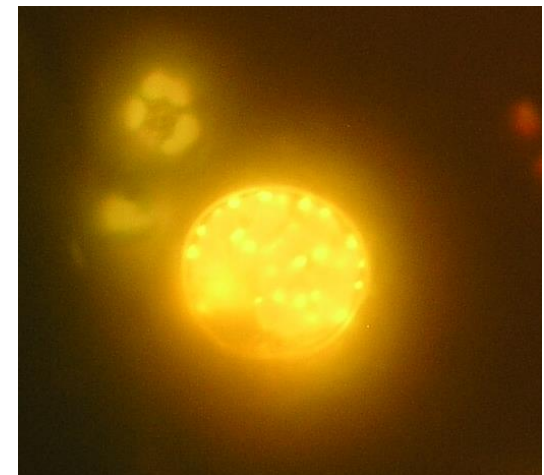
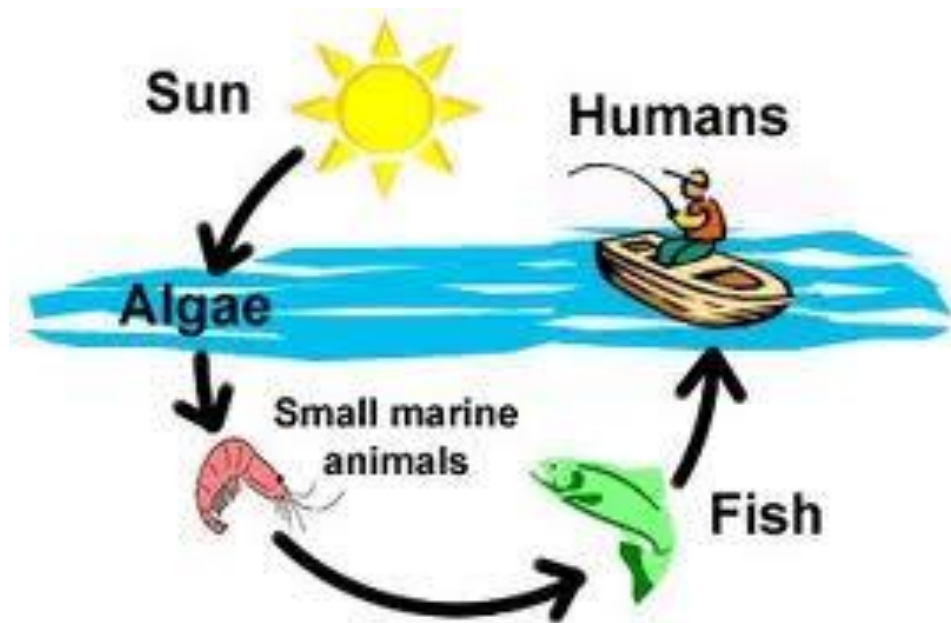
- Development of technology for isolation of Phycocyanin colorant and antioxidant from *Spirulina platensis*





Nové biotechnologické zdroje PUFA

- *Trachydiscus minutus* – mikrobiální autotrofní producent EPA Eicosapentaenoic acid ($20:5\omega-3$)
- *Japonochytrium AN4*, *Schizochytrium PA 968* – producenti DHA





Nové biotechnologické zdroje DHA

- ***Schizochytrium spp.*** – heterotrofní producent DHA, akumulace >16% sušiny kys. dokosaxehaenová
 - Suchá biomasa – cca 85 eur/kg
 - Olej s obsahem 40% DHA – cca 145 eur/kg
 - DHA > 98% - cca 2000 eur/kg



Trachydiscus + Schizochytrium = fish oil substitute!



OMEGA-Grow™

Microalgae Omega-3 biotechnology plant



- 2 patents covering novel production strain and low-cost cultivation technology using waste material from milk industry

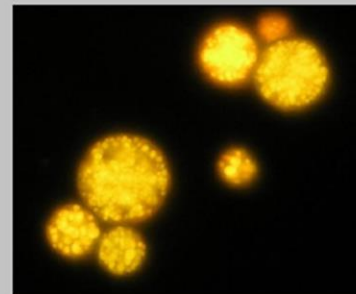
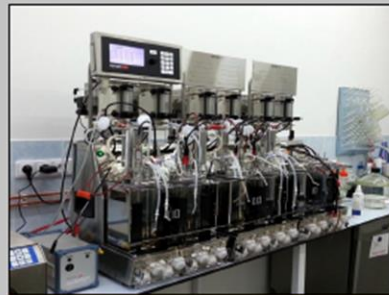
Schizochytrium sp. PA968, Japonochytrium sp. AN4



Strain selection and engineering
Optimization of cultivation parameters

Increase of production
=> high biomass production
=> high DHA content

Cost reduction using low-cost substrates
Downstream processing
Final consumer product development





BIORAF

OMEGA-Grow™

Microalgae Omega-3 biotechnology plant

- Verified on laboratory scale and scaled-up to 1500l fermenters with capacity of 4.000 kg of Omega-3 per year.





OMEGA*NUTRITION - TA03011027

Mikrořasy jako perspektivní zdroje omega-3 nenasycených mastných kyselin a jejich inkorporace do potravního řetězce člověka.

Projektový manažer: Ing. Petr Kaštánek, PhD.

Projekt podpořený z programu ALFA – TAČR

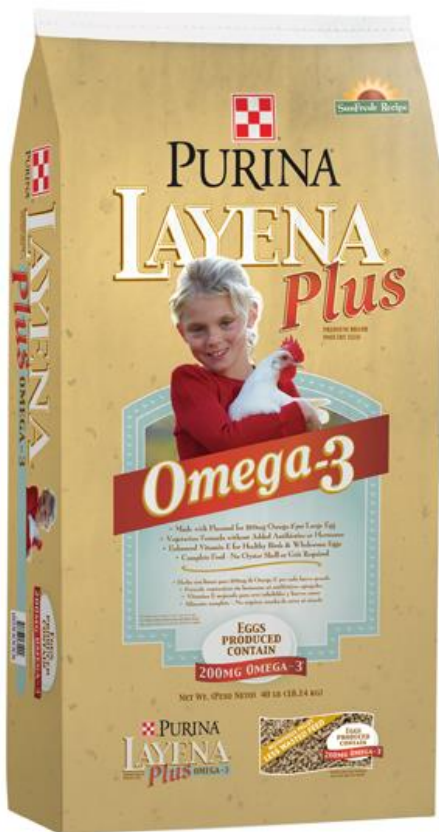


Technologická agentura
České republiky

Prokázané zdravotní efekty na základě klinických studií

1. Obohacení stravy denně o 2.4 g EPA+DHA po dobu 12 týdnů znamenalo významné snížení hladiny triacylglycerolů v krevní plazmě a apolipoproteinu b-48 (hlavní LDL lipoprotein, který je „zlým“ přenašečem cholesterolu v krvi; při nadměrném obsahu se usazuje na cévních stěnách, způsobuje arterosklerózu) (Lovegrove et al. 2004, et al. Minihane 2005).
2. Snížené množství linolové kyseliny (n6) má přímý vliv na zvýšení rizika kardiovaskulárního systému (Kris-Etherton et al. 2004)
2. Zvýšený příjem jak α -linolenové kyseliny (n3), tak linolové kyseliny (n6) snížilo riziko náhlých kardiologických úmrtí (Mozaffarian et al., 2005)
3. Absence příjmu linolové kyseliny (n6) je spojena s koronárně-srdečními onemocněními u mužů i žen (Ascherio et al. 1996, Hu et al., 1997)
4. **Výživové doporučení – celkové PUFA – asi 6% denního energetického příjmu, přičemž snaha by měla být hlavně o n3 PUFA s dlouhým řetězcem (EPA, DHA), tj. asi 1 až 1.5 g EPA+DHA na den (Rossel et al. 2005)**

OMEGA funkční potraviny



PUFA (poly-unsaturated fatty acids)



Regulation on nutrition and health claims
– REGULATION (EC) No 1924/2006

NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 432/2012

ze dne 16. května 2012,

o seznam schválených zdravotních tvrzení při označování potravin jiných než tvrzení o snížení rizika onemocnění a o vývoji a zdraví dětí

Claim	Conditions of use of the claim
„Obsahuje omega-3-MK“	když výrobek obsahuje alespoň 0,3 g kyseliny alfa-linolenové (ALA) na 100 g a na 100 kcal nebo alespoň 40 mg celkového obsahu kyseliny eikosapentaenové a kyseliny dokosahexaenové na 100 g a na 100 kcal.
„Zvýšený obsah omega-3-MK“.	když výrobek obsahuje alespoň 0,6 g kyseliny alfa-linolenové (ALA) na 100 g a na 100 kcal nebo alespoň 80 mg celkového obsahu kyseliny eikosapentaenové a kyseliny dokosahexaenové na 100 g a na 100 kcal.

2xG (funkční vzorek)

Na základě dosavadních výsledků budou vyrobeny 2 typy tzv. funkčních potravin se zvýšeným obsahem PUFA a antioxidantů, kde lze očekávat v porovnání s konvenčními potravinami:

- ✓ Cca 2-3x vyšší obsahy PUFA (ALA, DHA)
- ✓ Zvýšené obsahy organické formy selenu

	Konvenční kuřecí maso	ProFit kuřecí maso
Obsah PUFA (mg/100g prsní svaloviny)	< 20	50-70
Obsah Se (µg/g stehenní svaloviny)	0,1-0,2	0,3-0,4

	Konvenční vejce	ProFit vejce
Obsah PUFA (mg/100g vejce)	60-75	160-195
Obsah Se (µg/g vejce)	0,3-0,6	0,7-1,7
Obsah karotenoidů (mg/kg vejce)	5-7	15-25



ALGAL FOODS - FV10155

Řasové biotechnologie pro potravinářství - příprava proteinů, polysacharidů a karotenů heterotrofní kultivací mikrořas se sníženým množstvím chlorofylu.

Projektový manažer: Ing. Petr Kaštánek, PhD.

Projekt podpořený z programu MPO - TRIO



Technologická agentura
České republiky

Hlavní plánované produkty

- **Mouka z bezchlorofylové chlorelly** – může být alternativou k vaječného žloutku, máslu a oleji, váže vodu a snižuje celkové kalorií při zachování chuti a textury tradičních receptů.
- **Řasový protein z bezchlorofylové chlorelly** – nutraceutická složka umožňující náhradu živočišných proteinů v dietních, vegetariánských a sportovních potravinách.
- **Prášek z bezchlorofylové mikrořasy** - složka potravy a krmiv bohatá na proteiny, antioxidanty, vitaminy a minerální látky využitelná zejména v doplňcích stravy, krmných aditivech a akvakultuře.
- **Řasový extrakt bohatý na karotenoidy a lipidy**, využitelný zejména v doplňcích stravy, krmných aditivech a akvakultuře
- **Řasový polysacharid**, využitelný zejména v kosmetickém a farmaceutickém průmyslu



Heterotrofní kultivace

- Umožňuje dosáhnout vysokých růstových rychlostí a sklizňových koncentrací přes 100 g/l během několika desítek hodin vs jednotek gramů u autotrofní kultivace
- Může být použito i v oblastech nevhodných pro autotrofní kultivaci
- Místo CO₂ a slunce využívají řasy jako zdroj energie a uhlíku organický substrát
- Možnost použití levných odpadů z potravinářského či chemického průmyslu (glycerol, ultrafiltrát syrovátky atd).



Průmyslové kultivační systémy



Raceways ponds – otevřený systém



Seambiotic, Israel, Tel Aviv

Raceways ponds – otevřený systém



Cyanotech, Hawaii

Flat pannels– uzavřený systém



Portugalsko

Trubkový systém - uzavřený systém



Německo

Kultivace v tenké vrstvě – CZ unikát!



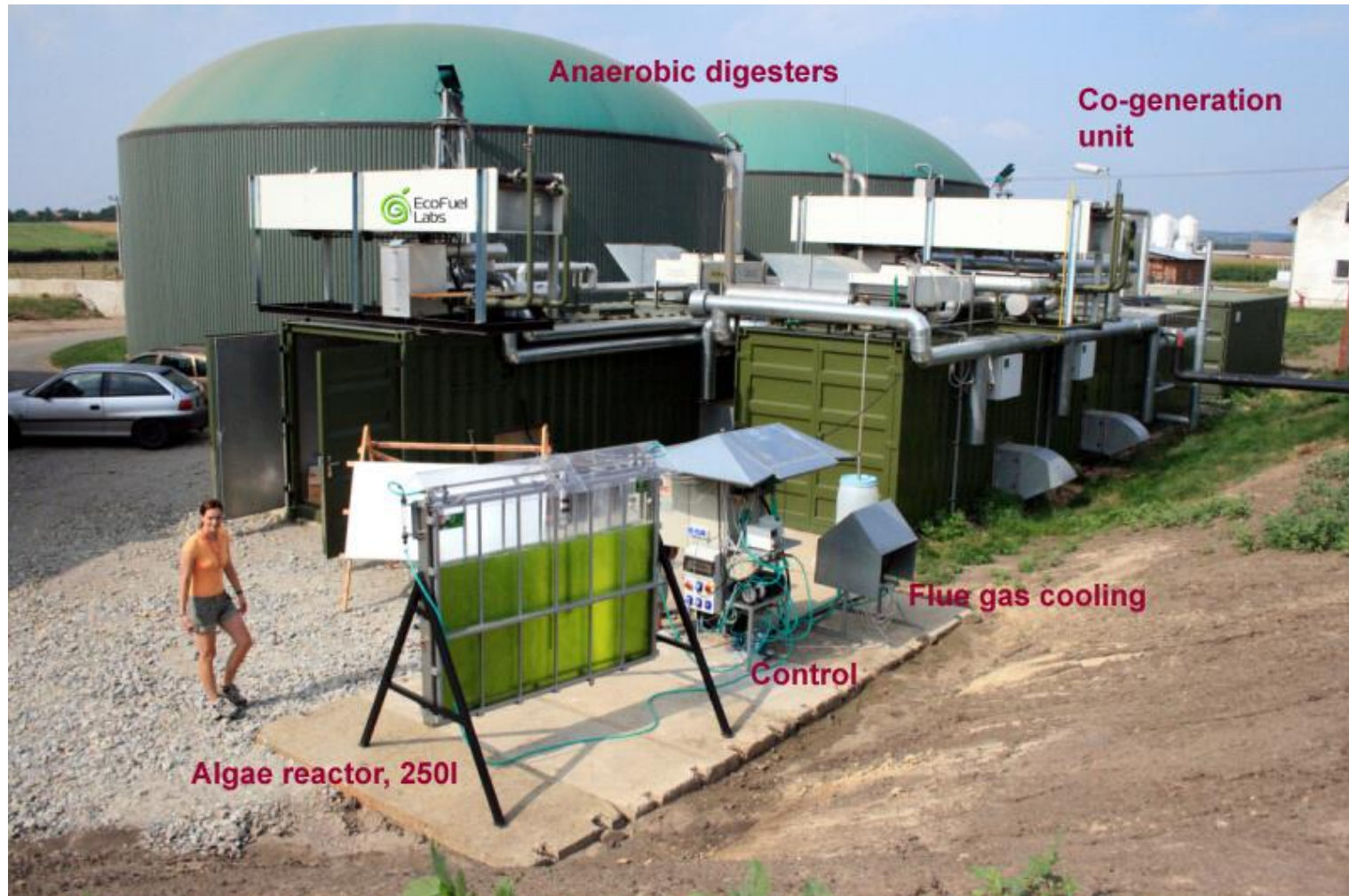
CZ, Trhový Štěpánov, umělé osvětlení

Kultivace v tenké vrstvě – CZ unikát!



CZ, Třeboň

Probublávaný reaktor propojený se zdrojem CO₂



A budoucnost.... ?



Vize Solix Inc., USA

Photo vs. Hetero...?

Chlorella vulgaris

Heterotrophic cultivation
100g/l achieved in 5 days
2x500 m³ fermentor



50 tons of biomass in 5 days
2500 tons/year

Autotrophic cultivation
20g/m²/day (100g/m² in 5 days)
To produce 25 tons of biomass,
250.000 m² of photobioreactors are necessary.
= approx. 25 Football stadiums



Photo vs. Hetero...?

- **Roquette, Francie** – plánovaná produkce 4 tis tun heterotrofní chlorelly /rok



Výzvy

- Velkoobchodní cena řasové biomasy cca je 30-50 USD/Kg
- Pro masové rozšíření využití mikrořas jsou nezbytné inovace vedoucí k výraznému zlevnění produkce
 - ✓ zvětšení měřítka
 - ✓ využití levných substrátů
 - ✓ využití nových šlechtěných či GMO kmenů s vysokou růstovou rychlostí, odolností, fotosyntetickou účinností a produktivitou cílových látek
 - ✓ snížení nákladů na down-strem zpracování řasové suspenze
 - ✓ Biorafince, tj. komplexní využití a frakcionace biomasy a využití zejména drahých komponent biomasy

Kontakty:



Ing. Petr Kaštánek, PhD,
EcoFuel Laboratories s.r.o.

www.ecofuel.cz

e-mail: kastanek@ecofuel.cz

Tel. +420-777561691