



Sidestrømme til substratfremstilling

Optimering af sidestrømme fra græsprotein fremstilling som substrat til produktion af mikroalger.



Kontakt

Erik Fog, Innovationscenter for Økologisk Landbrug
eik@icoel.dk, 5180 8669



Udgivet af

Innovationscenter for Økologisk Landbrug
Agro Food Park 26
8200 Aarhus N
+45 78780120, info@icoel.dk

Forfattere

Fog, Erik.

Fagfællebedømmelse

Manuskriptet har været til høring hos følgende:

Christopher Kjølby Jensen, NatuRem Bioscience.

Christian Kjølby, NatuRem Bioscience.

Xiaoru Hou, Teknologisk Institut.

Nicolaj Ma, Teknologisk Institut.

Sonia Mohamadnia, DTU.

Henning Kristensen, Vestjyllands Andel.

Rekvirent

Udarbejdet som en del af projektet: Klimarigtigt fødevareprotein fra mikroalger dyrket på sidestrømme fra græsproteinframstilling. Next Generation Food – EXTEND

Finansiering

GUDP og Promilleafgiftsfonde for Landbrug.

Udarbejdelse af rapporten

Rapporten bygger på data fra styregruppemøder i projektet og input fra fagfællerne.

Citeres som

Fog, E. 2025. Sidestrømme til substratframstilling. Optimering af sidestrømme fra græsproteinframstilling som substrat til produktion af mikroalger. 14 sider.
Innovationscenter for Økologisk Landbrug.

Henvendelser vedr. rapporten

Erik Fog, eikf@icoel.dk

Forsidefoto

Erik Fog, Innovationscenter for Økologisk Landbrug



Sammendrag

Der er i projekt "Klimarigtigt fødevareprotein fra mikoalger dyrket på sidestrømme fra græsprotein fremstilling. Next Generation Food – EXTEND" lavet test med dyrkning af mikroalger med reduceret klorofylindhold i fermenteringsanlæg som en mulig ny bæredygtig proteiningrediens til fødevarer.

Pulp (fiberrest) og brunsaft fra græsprotein fremstilling er analyseret og testet som grundlag for substrat til mikroalgedyrkningen.

Pulpen blev hydrolyseret med enzymbehandling; og dyrkningstestene viste efterfølgende en væksthæmning af mikroalgerne.

Derimod gav et dyrkningssubstrat bestående af 70 % syntetisk substrat og 30 % brunsaft en forbedret vækst i forhold til rent syntetisk substrat. Ved også at optimere denne blanding med ekstra glukose, nitrat og fosfat opnåedes en særlig høj produktion af mikroalgebiomasse.

En udvalgt algestamme groede især godt på den optimerede blanding og udmærkede sig med et højt proteinindhold på 70 %.

Der synes derfor at være et potentiale i at anvende brunsaft som input til dyrkning af mikroalger ved hjælp af en industriel fermenteringsproces på basis af sidestrømsprodukter.

Ved at opkoncentrere brunsaften f.eks. ved inddampning kan der opnås en høj koncentration af glukose og andre næringsstoffer og samtidig spares lagrings- og transportudgifter til brunsaften. En varmebehandling kan også forlænge holdbarheden af brunsaften. Dette kan være med til at forbedre produktionsøkonomien i processen.

Det bør også afklares, om produktionen kræver en Novel Food godkendelse, og om den kan godkendes til økologisk produktion, eller det er mere fordelagtigt med en ikke-økologisk produktion med høj bæredygtighedsprofil.

Introduktion

Landbruget er i gang med en udvikling, hvor produktionen skal tilpasses, så klima- og miljøbelastningen mindskes, og der fortsat er gode erhvervsmuligheder i erhvervet.

Der er bl.a. stigende fokus på en større produktion af plantebaserede fødevarer. Her er der nye interessante muligheder i at producere mikroalger og andre mikroorganismer i fermenteringsanlæg, idet der på den måde kan produceres værdifulde fødevareingredienser bl.a. med et højt proteinindhold og høj ernæringsværdi med meget mindre miljø- og klimabelastning end husdyrprodukter, der hidtil har udgjort de vigtigste proteinkilder.

I projektet "Klimarigtigt fødevareprotein fra mikoalger dyrket på sidestrømme fra græsprotein fremstilling. Next Generation Food – EXTEND" er der arbejdet med at dyrke mikroalger af typen *Chlorella vulgaris*, der er fødevaregodkendt. Der er specifikt arbejdet med stammevarianter, der har et reduceret klorofylindhold og derfor har en gullig farve og en mild smag. Det betyder også, at algerne skal dyrkes i sukkerholdige substrater uden lys for at imødekomme cellernes kulstof- og energibehov.

For at optimere bæredygtigheden i en sådan fermenteringsbaseret dyrkning er der arbejdet med at fremstille substratet med input fra sidestrømme fra græsproteinproduktion, der i forvejen er en bæredygtig produktion af protein til foder.

Desuden vil man gerne kunne arbejde med økologiske substrater, for at kunne markedsføre mikroalgerne som økologiske.

Ved fremstilling af græsprotein kommer der store mængder græspulp (fiber) og brunsaft som sidestrømme. Hvis disse sidestrømme kan omdannes til dyrkningssubstrat for dyrkning af mikroalger og



andre mikroorganismer, kunne det øge både den økonomiske værdi og bæredygtigheden af græspoteinværdikæden.

I projektet er der arbejdet med græspulp og brunsaft fra bioraffineringsanlægget på Ausumgaard ved Struer, hvor der produceres økologisk græspotein.

I dette notat er redegjort for de erfaringer, der er gjort, og de anbefalinger der kan udtrages til brug for en kommende produktion af mikroalger med reduceret klorofylindhold på sidestrømme fra græspoteinfremstilling.

Materialer og metoder

Procesplanen var som udgangspunkt, at frisk eller ensileret græsfiber (pulp) fra græspoteinfremstillingen på Ausumgaard skulle hydrolyseres med enzymbehandling, hvorefter der skulle tilsættes brunsaft til hydrolysatet for at opnå et dyrkningssubstrat for mikroalgerne, der var kemisk afstemt.

Der blev udtaget en række prøver af græspulpen og brunsaften på Ausumgaard.

Analyser af græspulp

Første serie – sæsonprøver.

Græspulp blev udtaget fra sommer til efterår for at afklare om sæsonvariationer har betydning for græspulpens egnethed som grundlag for substratfremstilling.

Tabel 1: Udtagningstidspunkt for pulpprøver til undersøgelse for sæsonvariation

1. serie: Sæsonprøver græspulp Udtagningsdato	Prøve nr. (jf. tabel 5)
14. juli 2022	14
17. august 2022	15
14. september 2022	16
5. oktober 2022	17

Prøverne blev frosset ned og sendt til analyse på Teknologisk Institut.

Anden serie – behandling af græspulpen

I denne prøveserie blev det undersøgt, om det gav gavnlige eller negative effekter på græspulpens kvalitet i forhold til substratfremstilling, hvis græspulpen var frisk (frossen), ensileret, behandlet med syre, og om stærk neddeling af græsset før græspoteinfremstillingen.

I tabel 2 er angivet de prøver, der blev udtaget og sendt til analyse på Teknologisk Institut.



Tabel 2: Oversigt over græs- og pulpprøver med forskellige behandlinger

	Prøve nr. (jf. tabel 5)
2. serie: Forskellige behandlinger af græs og pulp	
Ausumgaard – uden stærk neddeling af græsset.	
Frisk græs – før bioraffinering (frosset ned)	5
Frisk græs – før bioraffinering (ensileret)	10
Frisk pulp (ensileret)	7
Myresyrebehandlet pulp – svag myresyrebehandl.	11
Myresyrebehandlet pulp – middel myresyrebehandl.	8
Myresyrebehandlet pulp – stærk myresyrebehandl.	9
Foulum – med stærk neddeling af græsset	
Frisk græs (frosset ned)	1
Frisk græspulp (frosset ned)	2
Frisk græspulp (1. presning) (frosset ned)	3
Frisk græspulp (1. presning) – svag myresyrebehandling	6
Frisk græspulp (2. presning) (frosset ned)	4
Græspulp (2. presning) - svag myresyrebehandling	12
Græspulp (2. presning) - middel myresyrebehandling	13

Hydrolysetest med svag syre

Teknologisk Institut testede først prøverne ved behandling med syre for at bestemme sukkerindholdet, der danner potentialet for dannelse af monomere sukre efter enzymatisk hydrolyse. De monomere sukre, som f.eks. glukose, er det, mikroalgerne kan optage, og derfor er en hydrolyse af græspulpen nødvendig. Resultatet af disse analyser ses i tabel 5.

Enzymatisk hydrolyse

Teknologisk Institut udvalgte dernæst pulpprøver med et højt potentiale for glukosedannelse og behandlede disse prøver med enzymatisk hydrolyse. Forskellige betingelser for den enzymatiske hydrolyse, såsom pH-værdier, temperaturer, enzymdoser, biomasse-tørstofkoncentrationer samt forbehandling (ekstra trin), blev afprøvet i laboratorieskala.

Til brug for afprøvning som substrat til mikroalgedyrkning på DTU blev udvalgt en lovende biomasseprøve, og den blev forberedt til enzymbehandling i to biomassekoncentrationer med henholdsvis 2 % og 15 % tørstof. Hydrolysatsen blev leveret til DTU til produktion af dyrkningssubstrat og afprøvning som substrat til mikroalgedyrkning.

Indhold af sukre og organiske syrer i de to hydrolysater fremgår af tabel 6.

På DTU blev der gennemført prøvedyrkninger med forskellige mikroalgestammer i substrater med forskellige mængder hydrolysat.

Substrater til prøvedyrkning af mikroalgestammer.	Betegnelse
Syntetisk substrat (kontrol)	P4
Hydrolysat fra 2 %-prøve *	Hyd1
Hydrolysat fra 15 %-prøve *	Hyd2



Hyd2 fortyndet 2x med vand

Hyd22

Hyd2 fortyndet 5x med vand

Hyd25

*Betegnelse henviser til prøver med 2% eller 15 % tørstof forud for hydrolyse.

Et typisk resultat af prøvedyrkning på pulp fremgår af figur 1.

Analyser af brunsaft

Brunsaft er betegnelsen på den restvæske, der opstår ved græsprotein fremstilling, når man har centrifugeret græsproteinet fra den opvarmede græssaft.

Tilsvarende til pulpprøverne blev der udtaget prøver af brunsaft fra bioraffinaderiet på Ausumgaard hen over græssæsonen 2022.

Tabel 3: Udtagningsdatoer for sæsonprøver af brunsaft

1. serie: Sæsonprøver - Brunsaft
Udtagningsdato

14. juli 2022

17. august 2022

14. september 2022

5. oktober 2022

I 2024 blev der igen udtaget brunsaftprøver. Denne gang på to datoer i juni måned og med udtagning morgen, middag og aften for at se, om tidspunktet på dagen påvirker mængden af sukker i brunsaften.

Tabel 4: Udtagningstidpunkter for brunsaftprøver til analyse for dagsvariation.

2. serie: Dagsvariation - Brunsaft
Udtagningsdato og klokkeslet

Prøvebetegnelse (jf. tabel 8 og 9)

6. juni 2024 kl. 9

6-9

6. juni 2024 kl. 14

6-14

6. juni 2024 kl. 21

6-21

26. juni 2024 kl. 9

26-9

26. juni 2024 kl. 14

26-14

26. juni 2024 kl. 21

26-21

Brunsaftprøverne blev sendt til Teknologisk Institut til analyse for sukre og organiske syrer.

Resultaterne fra disse tests fremgår af tabel 8 og 9.



Derefter blev delprøver sendt videre til DTU til prøvedyrkning af mikroalger.

Her blev brunsaften afprøvet i forskellige kombinationer med syntetisk medie og ekstra tilsætning af glukose.

Dyrkningsresultater med brunsaft fremgår af figur 2 - 5.

Resultater og diskussion

Pulptests

Teknologisk Instituts analyser af pulpprøverne fra behandlingstestene på Ausumgaard og Foulum fremgår af tabel 5.

Tabel 5: Sukker- og syreindhold i hydrolysat fra 1. og 2. prøvetagningsserie. Procent af tørstof.

Description	Glucose (% DM)	Xylose (% DM)	Galactose (% DM)	Arabinose/ Mannose (% DM)	Fructose (% DM)	Lactic acid (% DM)	Acetic acid (% DM)	Propionic acid (% DM)
Sample 1 - Frisk Græs, Foulum 12/10, Til Frost	17,0% ± 0,4%	4,1% ± 0,1%	1,3% ± 0,1%	7,5% ± 0,0%	0,7% ± 0,0%	4,5% ± 2,2%	0,5% ± 0,0%	1,4% ± 0,0%
Sample 2 - Frisk græspulp, Frost, Foulum 12/10 508g	20,6% ± 1,5%	4,1% ± 0,4%	1,9% ± 0,0%	8,7% ± 0,5%	0,9% ± 0,0%	5,1% ± 3,0%	0,7% ± 0,1%	0,7% ± 0,0%
Sample 3 - Græspulp, Frost, 1. Pres, Foulum 12/10, 517g	23,3% ± 1,2%	5,0% ± 0,1%	1,8% ± 0,0%	9,1% ± 0,4%	0,7% ± 0,1%	6,9% ± 2,3%	0,7% ± 0,1%	0,9% ± 0,3%
Sample 4 - Frisk græspulp frost, 2 x pres (DEFLAKER) 505g	32,4% ± 2,7%	3,9% ± 0,2%	3,0% ± 0,1%	10,9% ± 0,6%	0,4% ± 0,0%	0,3% ± 0,1%	0,9% ± 0,2%	0,5% ± 0,1%
Sample 5 - AUSUMGÅRD FRISK SNITTET GRÆS TIL FROST 510 g 6/10	30,6% ± 3,2%	9,4% ± 3,7%	13,6% ± 3,0%	9,9% ± 3,5%	0,4% ± 0,1%	0,2% ± 0,0%	0,8% ± 0,5%	0,6% ± 0,2%
Sample 6 - Frisk græspulp Foulum 1. Pres 12/10 511 g	29,0% ± 0,0%	7,8% ± 0,0%	2,4% ± 0,1%	7,7% ± 0,1%	0,1% ± 0,0%	2,3% ± 0,2%	0,7% ± 0,1%	2,0% ± 0,1%
Sample 7 - EXTEND AUSUMGÅRD GRÆSPULP 525g 6/10	55,2% ± 1,1%	19,2% ± 0,1%	17,3% ± 0,3%	7,2% ± 0,4%	0,3% ± 0,0%	3,6% ± 0,3%	1,9% ± 0,3%	0,4% ± 0,0%
Sample 8 - EXTEND GRÆSPULP + MYRESYRE 510g 3x pump	61,5% ± 0,3%	19,1% ± 0,8%	15,1% ± 1,6%	4,9% ± 0,6%	0,1% ± 0,0%	6,7% ± 0,3%	1,0% ± 0,1%	0,3% ± 0,1%
Sample 9 - EXTEND AUSUMGÅRD GRÆSPULP+MYRESYRE 500g 18 pump ± 1.18 g	51,1% ± 0,2%	9,8% ± 0,6%	14,2% ± 0,8%	5,7% ± 0,3%	0,2% ± 0,0%	4,8% ± 1,0%	0,7% ± 0,1%	0,5% ± 0,1%
Sample 10 - EXTEND FRISK GRÆS 510G 6/10	20,6% ± 0,4%	10,0% ± 0,2%	7,4% ± 0,7%	5,9% ± 0,1%	0,1% ± 0,0%	8,3% ± 0,3%	0,6% ± 0,1%	0,5% ± 0,0%
Sample 11 - EXTEND GRÆSPULP + MYRESYRE 6.2 g	46,6% ± 7,1%	11,1% ± 7,2%	6,8% ± 1,4%	7,8% ± 1,1%	0,3% ± 0,0%	3,3% ± 0,5%	0,1% ± 0,0%	0,6% ± 0,1%
Sample 12 - EXTEND FOULUM GRÆSPULP MYRESYRE 2. PRES/DEFLAKER 510g 2.6 g 12/10	18,6% ± 7,1%	10,7% ± 6,4%	3,2% ± 1,8%	5,9% ± 1,4%	0,1% ± 0,0%	1,7% ± 0,3%	0,7% ± 0,0%	1,8% ± 0,2%
Sample 13 - FOULUM GRÆSPULP 2 G. PRES (DEFLAKER)	23,7% ± 0,4%	6,1% ± 1,6%	5,0% ± 2,1%	5,2% ± 2,6%	0,0% ± 0,0%	4,2% ± 0,3%	1,0% ± 0,0%	0,5% ± 0,0%
Sample 14 - EXTEND 14/7/22 PULP	25,8% ± 5,0%	11,4% ± 6,3%	8,5% ± 1,3%	6,5% ± 0,6%	0,1% ± 0,0%	2,0% ± 0,4%	0,5% ± 0,0%	0,2% ± 0,0%
Sample 15 - EXTEND 17/8/22 PULP	27,7% ± 5,4%	8,2% ± 5,4%	7,3% ± 1,2%	7,6% ± 1,3%	0,1% ± 0,0%	6,5% ± 0,1%	2,6% ± 0,2%	0,2% ± 0,0%
Sample 16 - EXTEND 14/9/22 PULP	24,8% ± 0,4%	4,1% ± 1,3%	20,1% ± 5,6%	8,9% ± 1,7%	0,1% ± 0,0%	5,6% ± 0,2%	1,1% ± 0,1%	0,2% ± 0,0%
Sample 17 - EXTEND 5/10/22 PULP	22,0% ± 0,8%	2,3% ± 0,0%	6,2% ± 3,6%	8,0% ± 0,3%	0,1% ± 0,0%	5,6% ± 0,1%	2,5% ± 0,1%	1,3% ± 0,1%

Glukoseindholdet i disse prøver efter hydrolyse med svag syre ligger på mellem 17 og 61 % DM.

Blandt de testede prøver af græs og pulp blev en glukosegenvindingsgrad på op til 52% (uden nogen hård forbehandlingsproces) opnået, svarende til en endelig glukosekoncentration i hydrolysatet på 19,3 g/L. Forskellige betingelser for den enzymatiske hydrolyse, såsom pH-værdier, temperaturer, enzymdoser, biomasse-tørstofkoncentrationer samt forbehandling (ekstra trin), blev afprøvet i laboratoriskala.

Indholdet i de to prøver, der havde gennemført enzymatisk hydrolyse, fremgår af tabel 6

Tabel 6: Indhold af sukre, organiske syrer og protein i hydrolysat fra græspulp efter enzymatisk hydrolyse af prøver med 2 % og 15 % biomasse-tørstof.

Bottle for liquid storage from bottle No.	Glucose (g/L)	Xylose (g/L)	Galactose (g/L)	Mannose / Arabinose (g/L)	Fructose (g/L)	Total glucose incl. soluble glucans (g/L)	Total xylose incl. soluble xylans (g/L)	Lactic acid (g/L)	Acetic acid (g/L)	Ash (% w/w)	Kjeldahl protein (g/L)
1 (2% DM)	1.28	0.32	0.00	0.13	0.05	1.33	0.44	3.07	1.23	0.11	2.0
2 (15% DM)	17.76	1.33	0.28	0.89	0.92	17.68	1.69	8.95	5.68	0.76	14.0

Det er især glukoseindholdet, der er vigtigt for dyrkning af mikroalgerne.

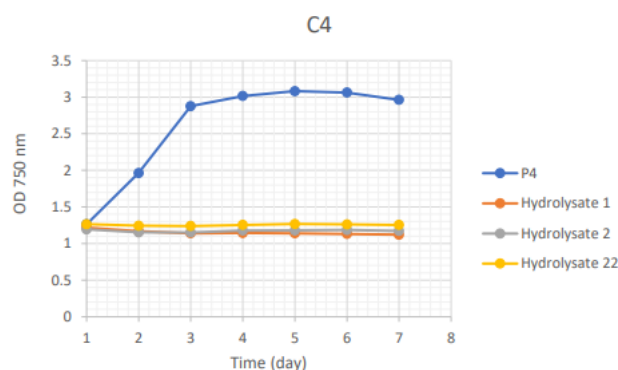
Glukosekoncentrationen i det syntetiske dyrkningsmedium (P4), der fungerede som kontrol ved algedyrkningen, har en glukosekoncentration på 18 g glukose pr. liter. Hydrolysatet fra 15%-prøven havde en glukosekoncentration på niveau med det syntetiske medium og skulle derfor være attraktivt som dyrkningsmedium.

Derimod var glukosekoncentrationen i hydrolysatet fra 2%-prøven markant lavere. Der blev produceret forholdsmæssigt mindre glukose ved 2 % tørstof end ved 15 % tørstof, hvilket indikerer, at den enzymatiske hydrolyse er mindre effektiv ved lave tørstofkoncentrationer. Dette kan skyldes begrænset tilgængelighed af substrat for enzymerne, især da disse græsrester ikke har været udsat for en hård forbehandlingsproces, som ofte undgås for at forhindre dannelse af hæmmende forbindelser, der kan opstå ved behandlinger med for eksempel høje temperaturer og tryk.

Algedyrkning med pulphydrolysat

På DTU blev de første hydrolysater testet i dyrkningsforsøg med forskellige mikroalgestammer.

Ved sammenligning med syntetisk medium med 18 gram glukose pr. liter blev det tydeligt, at dyrkning på rent pulphydrolysat, uanset om de var opnået ved hydrolyse af græsrester/græspulp med 15 % tørstof (15 % DM) eller med 2% tørstof eller fortyndet med vand, stort set ikke gav nogen tilvækst af mikroalger. Figur 1 viser resultat af dyrkning med mikroalgestammen C4.



Figur 1: Dyrkningstest med pulphydrolysat af mikroalgestammen C4. P4= syntetisk medium, Hyd. 1= hydrolysat fra biomasse med 2 % TS, Hyd. 2 = Hydr. fra biomasse med 15 % TS og Hyd. 22 = 2 gange fortyndet Hyd. 2..

Tilsvarende resultater blev fundet med de øvrige mikroalgestammer, som er blevet anvendt i forsøgene.

Det tyder på, at der i hydrolysatet er stoffer, der hæmmer algevæksten.



Brunsaft-tests

Brunsaftprøverne fra 2022 blev ligesom pulphydrolysaterne analyseret på Teknologisk Institut for sukre og organiske syrer (tabel 7).

Tabel 5: Analyse af brunsafprøver fra 2022 for indhold af totalt indhold af sukre og organiske syrer. Prøver fra juli til oktober.

EXTEND - prøver fra Vestjyllands Andel / AUSUMGAARD							
	Sucrose (g/L)	Glucose (g/L)	Fructose (g/L)	Mannitol (g/L)	Lactic acid (g/L)	Acetic acid (g/L)	Ethanol (g/L)
EXTEND 14/7/22 BRUNSAFT		3,35	2,66		0,15	0,08	0,04
EXTEND 17/8/22 BRUNSAFT		13,34	9,60		0,77	0,36	0,05
EXTEND 14/9/22 BRUNSAFT	2,29	19,94	14,82		0,74	0,46	0,05
EXTEND 5/10/22 BRUNSAFT	1,54	18,30	12,67		0,65	0,30	0,01

Der er en markant højere glukoseindhold i prøverne fra august til oktober 2022, end i prøven fra juli. Den forskel er der ikke fundet en forklaring på.

På DTU blev brunsaften fra 2022 afprøvet som substrat for dyrkning af mikroalgerne, hvor man fandt en god algevækst.

Det blev derefter besluttet at arbejde videre med brunsaften og optimere vækstsustratet baseret på brunsaft. Optimeringsarbejdet blev udført på brunsafprøver, der blev udtaget i 2024. I prøverne fra 2024 viste det sig imidlertid, at indholdet af frie sukkerarter, dvs. monomerer som mikroalgerne direkte kan udnytte, er lavt (2.318 g/L). Derfor foretog Teknologisk Institut en yderligere undersøgelse, hvor indholdet af frie sukkerarter blev sammenlignet med det totale sukkerindhold (tabel 8 og tabel 9).

Tabel 6: Analyse af brunsafprøver fra 2024 for frie sukre og organiske syrer. Gennemsnit af dubletter. Prøverne er fra 6. og 26. juni udtaget kl. 9, 14 og 21.

Sample ID	Glucose (g/L)	Xylose (g/L)	Galactose (g/L)	Arabinose/Mannose (g/L)	Fructose (g/L)	Mannitol (g/L)	Glycerol	Ethanol	Propanoic acid (g/L)	Lactic acid (g/L)	Acetic acid (g/L)	Formic Acid (g/L)
6-9 fresh	2.78	1.04	-	-	2.43	-	0.05	0.21	0.44	0.56	2.56	3.32
6-14 fresh	2.69	0.90	-	-	2.28	-	0.11	0.18	1.07	0.29	4.23	6.26
6-21 fresh	3.88	1.29	-	-	3.49	-	0.14	0.24	1.23	1.51	3.80	11.35
26-9 fresh	3.68	1.34	-	-	3.33	0.30	0.13	0.17	1.09	0.63	4.68	12.98
26-14 fresh	3.57	1.49	-	-	3.19	0.40	0.16	0.17	1.26	3.25	5.52	15.93
26-21 fresh	3.91	1.55	-	-	3.53	0.61	0.18	0.19	1.86	1.31	5.72	16.57

Tabel 9: Analyse af brunsafprøver fra 2024 for totalt indhold af sukre og organiske syrer. Gennemsnit af dubletter. Gennemsnit af dubletter. Prøverne er fra 6. og 26. juni udtaget kl. 9, 14 og 21.

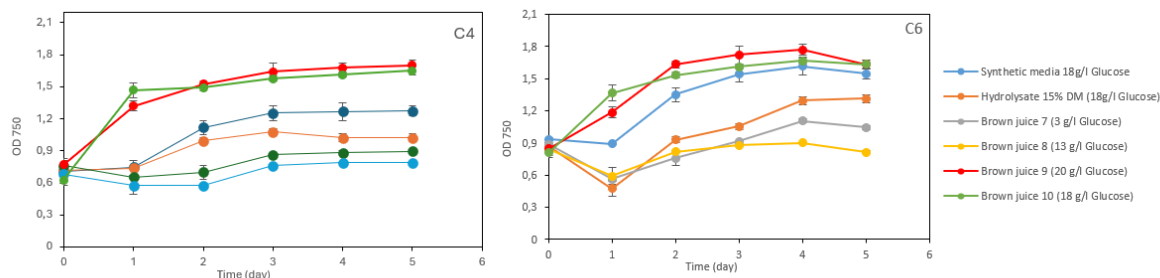
Sample ID	Glucose (g/L)	Xylose (g/L)	Galactose (g/L)	Arabinose/Mannose (g/L)	Fructose (g/L)
6-9	4.12	1.38	-	-	1.86
6-14	4.33	1.28	-	-	2.10
6-21	6.02	2.57	0.76	0.30	2.50
26-9	5.63	1.80	0.64	-	3.23
26-14	7.57	1.73	0.25	-	3.12
26-21	9.87	1.64	0.98	-	2.71

Resultaterne viste, at frie sukkerarter udgør op til ca. 50 % af det samlede sukkerindhold i brunsaft. De peger også på en mulig tendens til, at sukkerindholdet er højere i den del, der er høstet om aftenen (kl. 21), sammenlignet med tidligere på dagen. Desuden indikerer resultaterne, at sukkerindholdet er højere sidst i juni end i begyndelsen af juni.

Mikroalgedyrkning med brunsaft

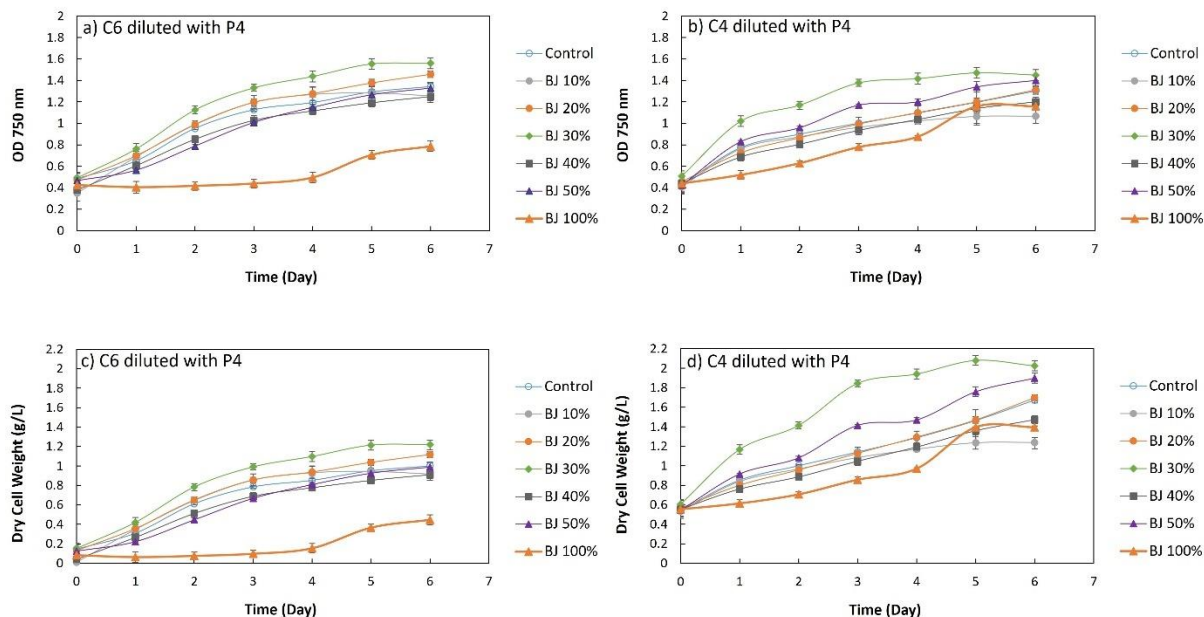
På DTU blev der gennemført flere serier med dyrkning af mikroalger i substrater med forskellige kombinationer af pulphydrolysat, brunsaft og syntetisk medium.

I figur 2 ses resultatet af et af forsøgene, hvor to mikroalgestammer C4 og C6 blev dyrket i henholdsvis syntetisk medie (lyseblå linje), fiberhydrolysat (orange linje) og brunsaft tilsat stigende mængder glukose (grå, gul, rød og grøn linje). Det ses, at to af blandingerne med brunsaft (Brown juice 9 og 10) (rød og grøn linje) gav en større vækst end syntetisk medie (lyseblå), og at pulphydrolysat gav en lavere vækst.



Figur 2: Dyrkningstest med mikroalgestammerne C4 og C6 i syntetisk medium, fiberhydrolysat og brunsaft (fra 2022) tilsat stigende mængder glukose.

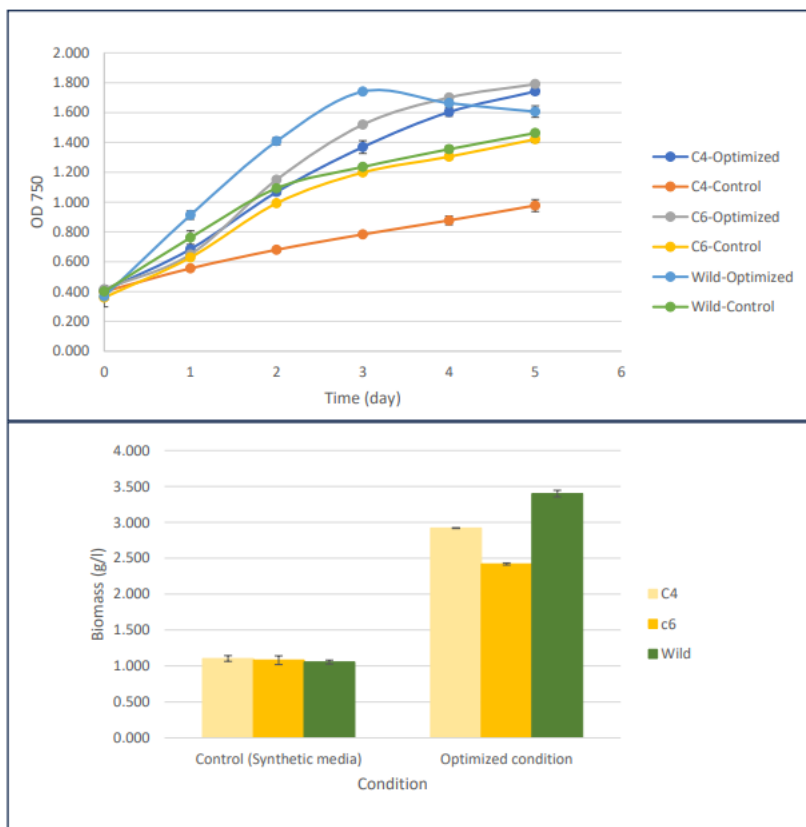
I en anden test med brunsaft fra 2024 blev afprøvet blandinger af syntetisk medium med stigende mængder brunsaft fra 10 % til 100 % brunsaft (figur 3)



Figur 3: Dyrkningsforsøg med mikroalgestammerne C4 og C6 i medier med stigende mængder brunsaft fra 2024 (BJ) opblandet i syntetisk medium. Øverste figurer er optiske målinger. Nederste figurer er tørvægt af producerede alger.

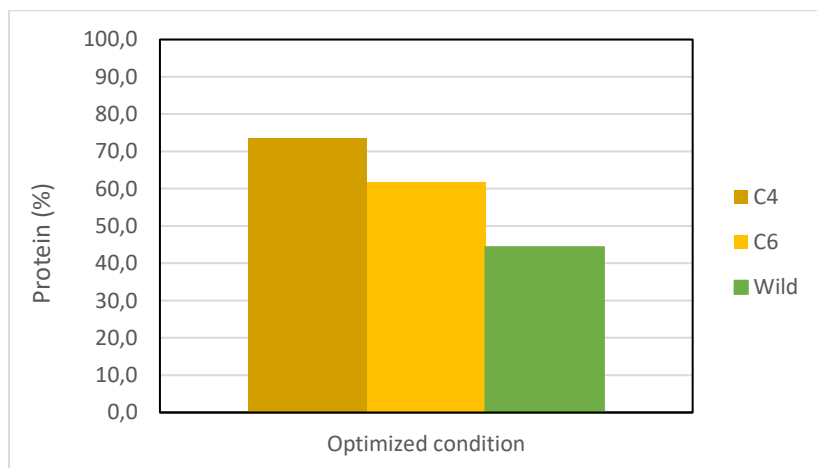
Det ses, at substratet med 30 % brunsaft (grøn linje) skiller sig ud med en markant højere vækst end de andre blandinger og rent syntetisk medium (Control) såvel som ren brunsaft.

Med den erfaring blev der arbejdet videre på DTU med at optimere blandingen med 30 % brunsaft ved at tilsætte yderligere glukose, fosfor og kvælstof. Her fandt man et dyrkningsoptimum, hvis substratet med 70 % syntetisk medium og 30 % brunsaft blev suppleret med 8 g glukose per liter, 5,5 g nitrat per liter og 0,15 g fosfor per liter. Denne blanding gav en markant højere vækst end i kontroldyrkning i rent syntetisk medium (figur 4).



Figur 4: Dyrkning i optimeret medium sammenlignet med dyrkning i rent syntetisk medium. To mikroalgestammer C4 og C6 samt en vildstamme.

Af de forskellige mikroalgestammer så C4 og C6 ud til at give den bedste vækst i blandinger med brunsaft. Desuden havde de en høj robusthed, og vendte ikke tilbage til grøn farve. C4-stammen udmærker sig desuden også med et meget højt proteinindhold (figur 5).



Figur 5: Proteinindhold i mikroalgestammerne C4 og C6 samt en vildstamme af *Chlorella vulgaris* under optimerede forhold.



Samlet vurdering

Det fremgår af dyrkningsforsøgene med pulphydrolysat, at det ikke umiddelbart egner sig som substrat til dyrkning af mikroalger på grund af væksthæmning og lavt pH.

Håndtering af græspulp, transport og efterfølgende hydrolysering med enzymer må også forventes at være dyrt og arbejdskrævende.

I forhold til økologisk certificering af produktionen vil enzymbehandling også støde ind i forbuddet i økologisk produktion mod at bruge GMO i produktionen, idet enzymerne må forventes at være fremstillet ved hjælp af GMO.

Derimod ser det ud til, at brunsaft har gode egenskaber i forhold til at bruge det i dyrkningssubstrater for mikroalger.

Som udgangspunkt har brunsaft et lavt indhold af fri glukose; men hvis man opkoncentrerer det ved mikrofiltrering og / eller inddampning, bør det være muligt at nå op på et tilstrækkeligt glukoseindhold.

Ved at opkoncentrere brunsaften til en "sirup" vil det også øge holdbarheden, og omkostninger til transport til fermenteringsanlægget vil blive betydeligt reduceret, hvilket skal sammenholdes med den udgift, der bliver til filtrering / inddampning.

Ved at satse på brunsaft som dyrkningsmedium undgår man også problemstillingen med GMO-enzymmer, da brunsaften ikke kræver hydrolysering.

Men dyrkningsforsøgene viste, at der er behov for optimering af den kemiske sammensætning af dyrkningsmediet for at opnå en høj biomasse- og proteinproduktion.

Der skal derfor foretages yderligere screeningsforsøg med ren brunsaft og tilsatte næringsstoffer for at finde den optimale sammensætning. Herudover skal der foretages dyrkningsforsøg på større skala samt yderligere teknoøkonomiske analyser af processen med henblik på at optimere processen og endeligt kunne vurdere rentabiliteten af denne i forhold til en proces baseret udelukkende på syntetisk medie.

I forhold til økologisk certificering skal der findes kilder til de supplerende næringsstoffer, der er i overensstemmelse med de økologiske regler.

I Vejledningen for økologisk jordbrugsproduktion er natriumnitrat godkendt til brug i "algeproduktion på land i lukkede systemer". Det passer således fint til den produktionsmodel, der er arbejdet med her.

Anbefaling:

Der bør arbejdes videre med at udvikle et dyrkningsmedium baseret på opkoncentreret brunsaft fra græsprotein fremstilling, hvor såvel glukosekoncentrationen som øvrige næringsstoffer er afstemt efter den valgte mikroalgestamme. Der skal arbejdes yderligere med at stabilisere brunsaften både med henblik på at opnå et mere ensartet næringsindhold og en længere holdbarhed.

Der skal udvikles en forretningsmodel med den rette opkoncentreringsteknologi, der kan etableres i tilknytning til græsproteinanlæggene, hvor der kan spares lagrings- og transportomkostninger, og hvor der er en attraktiv økonomi for såvel græsproteinanlægget som fermenteringsanlægget til dyrkning af mikroalger. Udnyttelse af restvarmen i brunsaften lige efter udvinding af græsproteinet kan tænkes ind i en sådan forretningsplan.

Desuden skal der foretages yderligere opskaleringsforsøg med henblik på at fastlægge og optimere de relevante procesparametre og procesøkonomien på større skala.

Det skal afklares, om der kan sammensættes et dyrkningsmedium, der kan godkendes til økologisk produktion, eller det forretningsmæssigt er mere relevant at producere mikroalgerne som ikke-



økologiske, men stadig med en stærk bæredygtighedsprofil ved at være baseret på en sidestrøm fra økologisk græsproteinframstilling.

Mikroalgestamme C4 ser ud til at være mest attraktiv på grund af dens gode vækst på brunsaft og dens høje proteinindhold på omkring 70 % af tørstof.

Et videre arbejde med hydrolysater fra græspulp vil næppe være interessant, baseret på resultaterne i dette projekt, medmindre der kommer bedre forarbejdningsteknologier f.eks. fra ætanolfremstilling på halm.

Ud over disse tekniske afklaringer skal det også afklares, om mikroalger produceret på den måde skal godkendes efter Novel Food forordningen før de kan anvendes som fødevareingrediens, eller produktionsmetoden falder ind under en eksisterende godkendelse for mikroalger af arten *Chlorella vulgaris*.

Konklusion

Hydrolyseringsforsøg med enzymer viste mulighed for tilstrækkeligt indhold af glukose i forsøg med græspulp; men dyrkningsforsøg med hydrolysater gav ligefrem væksthæmning i forhold til mikroalgedyrkning i standard dyrkningssubstrat.

Til gengæld giver en blanding af 70 % standardsubstrat og 30 % brunsaft en bedre vækst af mikroalgerne end rent standardsubstrat, og denne blanding kan yderligere optimeres ved at tilsætte glukose, nitrat og fosfat.

Der bør derfor satses på at anvende brunsaft, mens der skal findes en bedre forbehandlingsmetode til græspulp, før den bliver relevant at bruge i forhold til dyrkning af mikroalger i fermenteringsanlæg.

Brunsaften bør opkoncentreres umiddelbart efter, at den er dannet på græsproteinanlægget, så den bliver mere holdbar og billigere at transportere.

Mikroalgestamme C4 ser ud til at være den mest optimale mikroalgestamme at arbejde videre med.

Yderligere forsøg og tests bør foretages med henblik på at stabilisere brunsaften som dyrkningsmedie for at opnå et mere ensartet næringsindhold og en længere holdbarhed. Desuden bør der foretages yderligere opskaleringsforsøg for at fastlægge og optimere de relevante procesparametre på større skala.

Det skal afklares, om det optimerede dyrkningssubstrat baseret på brunsaft kan godkendes til økologisk produktion, eller det forretningsmæssigt er mere relevant at producere konventionelt, men med en stærk bæredygtighedsprofil.

Desuden skal det afklares, om anvendelse af algeproduktet som fødevareingrediens kræver en Novel Food godkendelse.