



GrinSH - Grenzland INNOVATIV Schleswig-Holstein

ZAiT – Zentrum für Analytik im
Technologietransfer für Biotech-
und Lebensmittelinnovation



EINE GEMEINSAME INITIATIVE VON



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung



Gemeinsame
Wissenschaftskonferenz
GWK

Das ZAiT

Das **Zentrum für Analytik im Technologietransfer für Biotech- und Lebensmittelinnovation** an der Hochschule Flensburg, kurz ZAiT, führt die Kompetenzen der Hochschule im Bereich der Lebensmittel- und Bioanalytik mit den Bedarfen von Unternehmen und Start-Ups der Region zusammen. Durch die Nutzung der Labore der Lebensmittel- und Bioanalytik stehen dem ZAiT verschiedene Methoden im Bereich der instrumentellen Analytik, Sensorik sowie zur Testung von Bioaktivitäten zur Verfügung.

Das ZAiT unterstützt öffentliche, KMU- und „VisionToVenture“-Projekte in der Biotechnologie und Lebensmitteltechnologie mit seinem analytischen Methodenportfolio, um damit die Entwicklung von Prozessen sowie die Realisierung von Produkten zu begleiten (Abbildung 1). Insbesondere der Transfer von Innovationen in die Wirtschaft steht hierbei im Fokus.

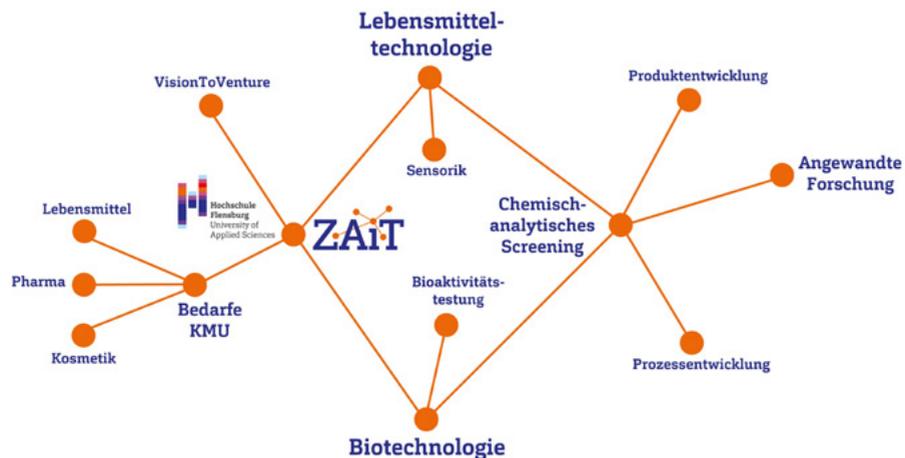


Abbildung 1: Das ZAiT ist eine „Antwort“ auf die Bedarfe von KMU der Region in chemisch-analytischen Fragestellungen rund um Themen der Bio- und Lebensmitteltechnologie.

Zudem nimmt das ZAiT mit seinen Aktivitäten und Netzwerken eine aktive Rolle in den Lehrveranstaltungen der Studiengänge der Bio- und Lebensmitteltechnologie ein und stärkt damit die praxisnahe Ausbildung der Studierenden. Darüber hinaus bieten die Veranstaltung „**ProBier Werkstatt**“ und die Vorlesungsreihe „**Current Topics in Bio & Food Technology**“, die vom ZAiT organisiert werden, eine Plattform für den Austausch mit Akteuren aus Wissenschaft, Wirtschaft und der Öffentlichkeit.

Das ZAiT im Rahmen des GrinSH-Projektes

Als Teil des Projektes **Grenzland INNOVATIV Schleswig-Holstein (GrinSH) und GrinSH PLUS**, gefördert mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung sowie des Ministeriums für Bildung, Wissenschaft und Kultur, ist das ZAiT sowohl innerhalb Hochschule als auch mit Partnern der Region eng vernetzt. Insbesondere die intensive Zusammenarbeit mit den anderen Teilvorhaben des Projektes verschafft dem ZAiT direkten Zugang zu Expertisen aus verschiedenen Disziplinen.

Durch den direkten Austausch mit dem Teilvorhaben „**VentureWaerft – Start-Up Flensburg-Sønderburg**“ ist es möglich, Start-Ups aus dem Bereich der Bio- und Lebensmitteltechnologie inhaltlich und organisatorisch zu unterstützen.

Weitere Expertisen stehen durch die Teilvorhaben „**Werkstatt für internes Unternehmertum in kleinen und mittleren Familienunternehmen**“ und „**Wissenstransfer im Kontext eines regionalen Managements**“ in dem Projekt zur Verfügung. Zum einen sollen hier unternehmerische Ressourcen und eine nachhaltige Unternehmenspolitik in Familienunternehmen gefördert werden, zum anderen werden neben der Koordination der Teilvorhaben auch Entwicklungs- und Innovationsprozesse initiiert, die eine systemische Stärkung der Region gegenüber künftigen Entwicklungsherausforderungen zum Ziel haben.

Das „**DokU-Lab**“ unterstützt Unternehmen bei der Optimierung des Wissenstransfers mittels adäquater Begleitung von Projekten zu einer rechtssicheren nachhaltigen Dokumentationserstellung.

Darüber hinaus befasst sich das Teilvorhaben „**Innovative Beiträge zur nachhaltigen Energienutzung in Schleswig-Holstein**“ mit den Herausforderungen, die im Zuge der Energiewende und unter den Klimaschutzanforderungen an die maritime, die Windenergie- und Energienetzbranche gestellt werden.

Technische Innovationen finden ihren Raum in dem „**IDEENREICH – Innovationslabor für den Norden**“. Hier stehen verschiedene Methoden und Geräte zur Verfügung, um Technik zu erfahren und zu gestalten. Für das ZAiT besteht hier die Möglichkeit, auf kurzem Wege schnelle technische Lösungen zu generieren. Weiterführende Informationen zum ZAiT, zum GrinSH-Projekt und den Teilvorhaben sind auf der Homepage der Hochschule Flensburg unter folgendem Link zu finden:

<https://hs-flensburg.de/forschung/grinsh>

Der QR-Code und der folgende Link führen zur Homepage des ZAiT:

<https://hs-flensburg.de/forschung/fue/forschungsinstitute/zait>



LABOR-INFRASTRUKTUR



Das ZAiT nutzt die Infrastruktur und die Labore der Bio- und Lebensmitteltechnologie an der Hochschule Flensburg. Durch die Mittel der Bund-Länder-Förderinitiative „Innovative Hochschule“ konnte das Methodenportfolio und die Geräteausstattung erweitert werden. Darüber hinaus sind ein Sensoriklabor und ein mikrobiologisches Labor, welches auf die besonderen Anforderungen der Bestimmungen von Bioaktivitäten von Naturstoffen ausgerichtet ist, aufgebaut worden.

Das so entstandene Methodenportfolio deckt die verschiedenen Abschnitte in der Wertschöpfungskette vom Untersuchungsobjekt hin zu den angestrebten analytischen Informationen ab (Abbildung 2). Verschiedene Methoden der Probenahme und -vorbereitung (siehe dazu Abschnitt *Probenaufarbeitung*) sind auf unterschiedliche Ausgangsmaterialien optimiert. Ebenso ist die Auswahl der Messmethode (siehe hierzu den Abschnitt *Instrumentelle Analytik*) abhängig von der Fragestellung sowie der Zielsubstanz. Die Auswertung der Messdaten stellt in der Analysekette den letzten Abschnitt dar und beantwortet die Fragestellung mit der entsprechenden analytischen Information.

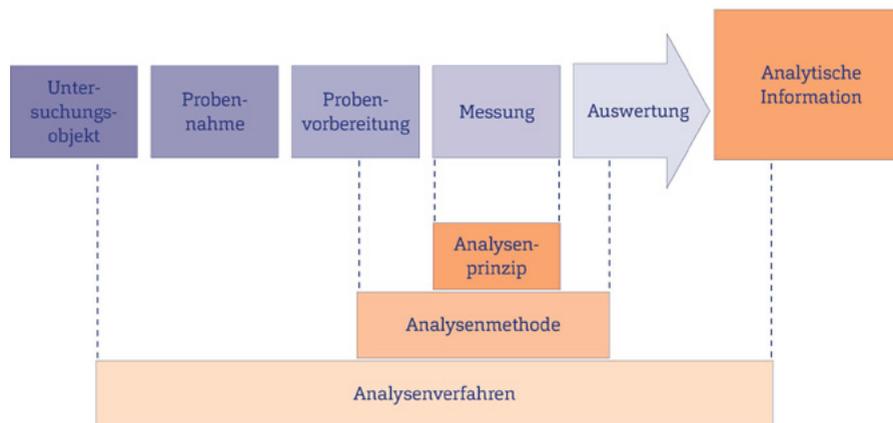


Abbildung 2: Dargestellt ist der Analyseweg vom Untersuchungsobjekt hin zu den analytischen Informationen. Die Graphik wurde von Mara Petersen für das ZAiT erstellt.

Probenaufarbeitung

Die Probenaufarbeitung ist der initiale Schritt, um die in einer Probe befindlichen Analyten, also die zu untersuchenden chemischen Moleküle, zu qualifizieren und quantifizieren.

Die für die Probenaufarbeitung verwendeten Methoden sind an die Ausgangsmaterialien und die Zielanalyten angepasst. Um die Analyten von anderen Bestandteilen der Probe, der sogenannten Matrix, zu trennen, macht man sich u. a. die unterschiedlichen chemischen Eigenschaften der Probenbestandteile zunutze. In der Regel werden Lösungsmittel eingesetzt, um die Zielanalyten aus den Ausgangsmaterialien zu extrahieren.

Neben klassischen Extraktionsverfahren verfügt das ZAiT auch über eine Superkritische Fluidextraktion (SFE). Bei diesem Verfahren wird Kohlenstoffdioxid (CO_2) zur Extraktion verwendet. Durch Druck und Temperatur wird das CO_2 in einen superkritischen Aggregatzustand gebracht; in diesem Zustand besitzt es sehr gute Extraktionseigenschaften. Der Einsatz von Lösungsmitteln kann so deutlich reduziert werden. Das SFE-System MV-10 ASFE (Abbildung 3) von der Firma WATERS ist auf die Entwicklung von Methoden ausgerichtet. Es können bis zu 10 Extraktionen kontinuierlich durchgeführt werden. Insbesondere wird das System im ZAiT für die Extraktion von Aromastoffen z. B. aus Hopfen als auch von bioaktiven Substanzen z. B. aus Algen und Mikroorganismen eingesetzt.



Abbildung 3: Das MV-10 ASFE System von WATERS ermöglicht die kontinuierliche Extraktion von Proben mittels CO_2 .

Darüber hinaus kommen weitere Spezialgeräte bei der Probenaufarbeitung zum Einsatz. Je nach Ausgangsmaterial und der anschließenden instrumentellen Analytik müssen die Proben zunächst getrocknet, zerkleinert, aufgelöst, filtriert und eingedampft werden.

Instrumentelle Analytik

Die instrumentelle Analytik umfasst sowohl optische, spektroskopische, chromatographische als auch weitere, physikalische Methoden und die dazugehörigen Geräte, mit denen Analyten qualifiziert und quantifiziert werden. Insbesondere die Kombination von chromatographischen mit spektroskopischen sowie physikalischen Methoden ermöglicht eine präzise Detektion der Analyten. Das ZAiT verfügt über verschiedene Systeme, die auf Fragestellungen aus den Bereichen der Lebensmittel- und Biotechnologie ausgerichtet sind.

Chromatographie-Systeme dienen zunächst dazu, die Analyten zu vereinzeln. Das Prinzip basiert auf der Verwendung einer stationären und einer mobilen Phase. In Hinblick auf die Art der mobilen Phasen unterscheidet man grundsätzlich zwischen Gas- (GC) und Flüssigkeitschromatographie (LC). Die Auswahl der mobilen sowie stationären Phase ist daher von zentraler Bedeutung. So eignet sich die GC-basierte Analyse insbesondere für flüchtige Verbindungen wie z. B. Aromastoffe.

Die Auswahl der stationären Phase, auch als Säule bezeichnet, hat insbesondere für die LC-basierte Analyse eine zentrale Bedeutung. Säulen, die z. B. auf die Methodentwicklung ausgelegt sind, ermöglichen die Detektion eines breiten Spektrums von polaren und unpolaren Analyten. Speziellere Säulen komplementieren diese Möglichkeiten für spezifische Stoffgruppen wie z. B. Kohlenhydrate, aromatische oder basische Verbindungen.

In der Regel erfolgt nach der Chromatographie eine spektroskopische Analyse, welche die Analyten in Hinblick auf ihre optischen und molekularen Eigenschaften untersucht. UV/Vis-Detektoren werden hierbei eingesetzt, um die Absorptionseigenschaften eines Moleküls von Licht des ultravioletten und sichtbaren Wellenlängenbereiches zu detektieren und ermöglichen so erste Aussagen über Bindungsverhältnisse in einem Molekül und somit über die vorliegende chemische Struktur. Das ZAiT nutzt verschiedene HPLC-UV/Vis-Systeme, die in der Laborpraxis für die Detektion unterschiedlicher Analyten eingesetzt werden.

Im Rahmen des GrinSH-Projektes wurde die instrumentelle Analytik um ein an ein LC-System gekoppeltes Massenspektrometer ergänzt. Bei der Massenspektrometrie (MS) wird das Masse-zu-Ladungs-Verhältnis von Molekülen ermittelt. Die Geräte umfassen verschiedene Komponenten. Insbesondere die sogenannte Ionenquelle hat entscheidenden Einfluss darauf, welche Analyten detektiert werden können. Das 2019 im ZAiT in Betrieb genommene UHPLC-UV/Vis-MS-System der Firma WATERS (Abbildung 4) nutzt die Elektrospray-Ionisierung (ESI) zur Erzeugung von Ionen.



Abbildung 4: Das UHPLC-UV/Vis-MS-System ist ein Benchtop-Gerät der Firma WATERS. Die Kombination von chromatographischen und spektroskopischen Verfahren ermöglicht schnelle und präzise Analysen für die Lebensmittel- und Biotechnologie.

Für die Analytik von Aromastoffen steht dem ZAiT ein GC-MS-System zur Verfügung. Des Weiteren kann ein an ein GC-System gekoppelter Flammenionisationsdetektor (FID) genutzt werden. Dieses physikalische Analyseverfahren findet häufig Anwendung in Kombination mit GC-Systemen und basiert auf der Messung des Ionenstroms, der durch eine thermische Ionisierung freigesetzt wird. Der FID eignet sich insbesondere für quantitative Messungen.

Neben den Chromatographie-Geräten befinden sich in den Laboren der Bio- und Lebensmitteltechnologie weitere Geräte wie Photometer, Thermocycler und verschiedene Mikroskope. Das DM 4100 M System von Anton Paar ermöglicht eine automatisierte Analyse von Fruchtsäften, Erfrischungsgetränken und Bieren. Die Besonderheit dieses Gerätes liegt in der Bestimmung des CO₂-Gehaltes, der Stammwürze, des Alkoholgehaltes sowie des Gebindedrucks innerhalb von wenigen Minuten.

Sensorik

Eine sensorische Untersuchung im Bereich der Lebensmitteltechnologie umfasst die Bewertung einer Geschmacks- oder Geruchsprobe mit Hilfe der menschlichen Sinne. Das hierbei eingesetzte Panel umfasst im Vorfeld geschulte Testpersonen, die anhand von Bewertungskriterien Produkte hinsichtlich ihrer Geruchs- und/oder Geschmackseigenschaften unter festgelegten Umgebungsbedingungen beurteilen.

Das ZAiT hat für diese Untersuchungen ein Sensorik-Labor aufgebaut, welches über eine direkte Anbindung an die Prototypenküche (Abbildung 5) verfügt. Dort stehen Geräte zur Vorbereitung und zur Herstellung von Lebensmitteln zur Verfügung. Die Verarbeitung von Rohstoffen im Rahmen von Prozessen wie Brauen, Destillieren, Backen und vielen weiteren Tätigkeiten ist im kleinen bis mittleren Maßstab möglich.

In dem Sensoriklabor (Abbildung 6) stehen zwölf voneinander abtrennbare Verkostungsplätze und sechs Verkostungskabinen mit Durchreiche und variablen Lichtverhältnissen zur Verfügung. Die Verkostungsplätze als auch -kabinen sind mit Laptops und der webbasierten Sensorik Software EyeQuestion und EyeOpenR ausgestattet.



Abbildung 5: Die Prototypenküche, welche über eine direkte Anbindung an das Sensoriklabor verfügt, kann zur Vorbereitung der Geschmacks- und Geruchsproben genutzt werden.



Abbildung 6: Das Sensorik-Labor (Bild oben) umfasst sowohl Verkostungskabinen als auch Verkostungsplätze. In den Verkostungskabinen können verschiedene Lichtsituationen geschaltet werden, diese umfassen (Bild unten, von links nach rechts) kaltweiß, warmweiß und rot.

Bestimmung von Bioaktivitäten

Naturstoffe sind chemischen Substanzen, die durch die belebte Umwelt, z. B. durch Pflanzen, Algen, Pilze oder Bakterien, produziert werden. Viele von ihnen weisen biologische Aktivitäten auf. Seit Jahrtausenden nutzt die Menschheit u. a. Pflanzen oder Teile von ihnen zur Herstellung von Heilmitteln. Mit der Entdeckung von Penicillin zu Beginn des 20. Jahrhunderts durch Alexander Fleming bekamen Naturstoffe aus Mikroorganismen eine besondere Aufmerksamkeit.

Bei Mikroorganismen sind insbesondere die sogenannten Sekundärmetaboliten von Interesse. Diese ermöglichen den Organismen eine Anpassung an die Umgebungsbedingungen. Die Isolierung von Mikroorganismen und die Hinterlegung in Stammsammlungen stellt den ersten Schritt dar, um diese für weitere Untersuchungen verfügbar zu machen. Die Hochschule Flensburg hat Zugang zu einer Stammsammlung von ca. 16.000 filamentösen Pilzen, die aus verschiedenen marinen Habitaten isoliert worden sind.

Eine Bestimmung der Bioaktivität von Substanzen dient dazu, abzuschätzen, ob diese für eine kosmetische oder pharmazeutische Anwendung von Interesse sind. Das im Rahmen des GrinSH-Projektes neu aufgebaute mikrobiologische Labor (Abbildung 7) ist auf diese Untersuchungen ausgerichtet. Die Bestimmung der Bioaktivitäten erfolgt z. B. im miniaturisierten (96 well) Format mittels Messung der optischen Dichte und der Fluoreszenz.



Abbildung 7: Das neue Labor ist speziell auf die Durchführung von Bioaktivitätstestungen ausgerichtet und verfügt u. a. über einen Mikrotiterplatten-Reader (Bild oben) und eine Sicherheitswerkbank (Bild unten).

PROJEKTE



Die besonderen Stärken des ZAiT und der etablierten Laborinfrastruktur werden durch das Zusammenspiel der verschiedenen Methoden deutlich. Im Nachfolgenden werden Modellprojekte aus den Bereichen der Lebensmitteltechnologie und der Biotechnologie vorgestellt. Die jeweiligen Schwerpunkte sind dabei die Aromastoffanalytik und die Sensorik beziehungsweise die Naturstoffanalytik und die Bestimmung von Bioaktivitäten.

Modellprojekte der Lebensmitteltechnologie

Bei Lebensmitteln ist die Akzeptanz durch die Verbraucher*innen insbesondere hinsichtlich des Geruchs- und Geschmacksempfindens entscheidend. In Modellprojekten aus dem Bereich der Lebensmitteltechnologie steht hierbei die Einflussnahme von Rohstoffen auf das Produkt im Fokus. Verschiedene Projekte des ZAiT beschäftigen sich mit z. B. der Bedeutung von Hopfen auf das Aroma von Bieren oder der Einflussnahme der Zubereitung von Früchten auf das Aroma von z. B. entsprechenden Bränden.

Bei der Komposition von Bieren kommt der Auswahl des Hopfens eine zentrale Bedeutung hinsichtlich der geschmacklichen Wahrnehmung zu. Insbesondere das Linalool, ein Bestandteil von Hopfenöl, verleiht dem Bier das klassische Hopfenaroma. Es stellt damit eine Leitsubstanz für die Aromastoffanalytik von Bieren dar. Mittels der SFE werden im ZAiT Extraktionsmethoden entwickelt, um den Einfluss des Hopfens auf das Aromaprofil zu analysieren. Darüber hinaus wird das geruchliche und geschmackliche Empfinden bei den Verbraucher*innen durch sensorische Bewertungen evaluiert. Die Kombination der sensorischen Überprüfung mit Methoden der Aromastoffanalytik erlaubt Rückschlüsse hinsichtlich der Einflussnahme einzelner Aromastoffe auf das geschmackliche Empfinden. Zudem wird ersichtlich, in welcher Form die Komposition von verschiedenen Aromastoffen Einfluss auf die menschliche Wahrnehmung hat.

Im Rahmen von weiteren Projekten mit Studierenden und Unternehmen der Region wird dieser Ansatz verwendet, um Lebensmittel zu bewerten. Hierbei können sowohl die Produkte, einzelne Rohstoffe als auch der Verarbeitungs- und Herstellungsprozess im Fokus stehen.

Bachelor-Thesis von Isa Antonowicz:



Einfluss von Zitrusfrüchten und deren Bestandteilen auf das Aromaprofil von alkoholischen Destillaten

Acknowledgement: Die Daten wurden im Rahmen einer Bachelor-Thesis in Zusammenarbeit mit der Sauer & Hartwig GmbH und dem ZAiT erhoben.

Einfluss ausgewählter Zitrusfrüchte

Die dargestellten Ergebnisse wurden von Isa Antonowicz B.Sc. im Rahmen ihrer Abschlussarbeit an der Hochschule Flensburg bei der Sauer & Hartwig GmbH erhoben. Die Sauer & Hartwig GmbH ist Partner des ZAiT und befasst sich hauptsächlich mit der Entwicklung und Herstellung von Spirituosen und alkoholischen Getränken.

Das Ziel dieser Arbeit war es, den Einfluss unterschiedlicher Bestandteile und Verarbeitungsweisen von ausgewählten Zitrusfrüchten auf das Geruchs- und Geschmacksempfinden eines Geistes zu bestimmen. Ein Geist ist eine Spirituose, die durch Mazeration von unvergorenen Früchten, Beeren, Gemüse, Nüssen oder anderen pflanzlichen Stoffen in Ethanol landwirtschaftlichen Ursprungs und anschließender Destillation gewonnen wird und mindestens einen Alkoholgehalt von 37,5 % vol aufweist [1]. Im Rahmen der Arbeit wurden entsprechende Geiste aus Zitrusfrüchten hergestellt, welche im Anschluss sowohl sensorisch als auch chemisch-analytisch untersucht wurden.

Sensorische Evaluation

Die sensorische Evaluation der Geiste, hergestellt aus dem Saft und der Schale von Zitronen, Orangen, Limetten und Grapefruit ergab, dass alle Destillate mit den Attributen „fruchtig“, „frisch“ und „zitrusartig“ beschrieben wurden. Allerdings erhielt der Geist der Grapefruit die wenigsten Nennungen dieser Attribute und wurde zudem teilweise als „dumpf“ beschrieben (Abb. 1).

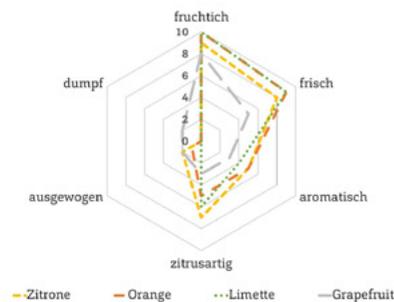


Abbildung 1: Sensorische Beurteilung des Geruchs der Geiste, die jeweils die Bestandteile Saft und Schale der Zitrusfrüchte Zitrone (gelb), Orange (orange), Limette (grün) und Grapefruit (grau) enthielten. Die Graphik zeigt die absolute Anzahl der Nennungen der Attribute „fruchtig“, „frisch“, „aromatisch“, „zitrusartig“, „ausgewogen“ und „dumpf“ in einer einfach-beschreibenden Prüfung (n=10).

Aromastoff-Analytik

Die sensorischen Ergebnisse konnten durch die chemische Analyse mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) unterstützt werden. Die Destillate zeigten Unterschiede in der Art und Anzahl der identifizierten Aromakomponenten. In allen Destillaten wurden aber beispielsweise die Aromakomponenten Limonen und Citral nachgewiesen, die als „zitrusartig“ charakterisiert sind [2]. Nerol/Geraniol, welches ebenfalls als „zitrusartig“ beschrieben wird [2], konnte in dem Destillat der Grapefruit jedoch nicht nachgewiesen werden (Abb. 2).

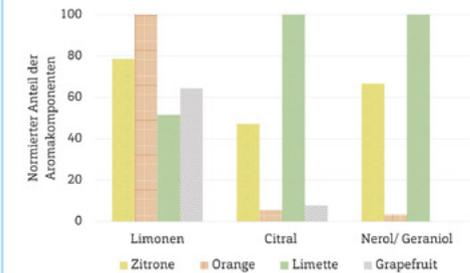


Abbildung 2: Aromastoffe Limonen, Citral und Nerol/Geraniol in Destillaten aus dem Saft und der Schale von Orangen, Zitronen, Limetten und Grapefruit. Der höchste nachgewiesene Gehalt der Aromakomponente wurde auf 100% normiert, der Gehalt der weiteren Früchte ist im Verhältnis dazu dargestellt.

Weitere Erkenntnisse

Zudem konnte gezeigt werden, dass sowohl die Auswahl der Zitrusfrüchte, als auch die Vorgehensweise beim Destillieren sensorische Differenzen im Destillat hervorrufen können. Demnach ist es vorteilhaft, Saft und Schale einzeln zu gewinnen und zu destillieren. Hingegen führte das Einlegen der Zitrusfrüchte in Ethanol zu einem sogenannten Off-Flavour. Auch die Destillation des weißlichen Mesokarps, auch Albedoschicht genannt, wirkte sich nachteilig aus, da wichtige Bestandteile der ätherischen Öle nicht mit ins Destillat überführt wurden und es somit unangenehm bitter schmeckte.

Referenzen

- [1] VERORDNUNG (EG) Nr. 110/2008 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 15. Januar 2008 zur Begriffsbestimmung, Bezeichnung, Aufmachung und Etikettierung von Spirituosen sowie zum Schutz geografischer Angaben für Spirituosen und zur Aufhebung der Verordnung (EWG) Nr. 1576/89
- [2] Garg N, Sethupathy A, Tuwani R, Rakhi NK, Dokania S, Iyer A, Gupta A, Agrawal A, Singh N, Shukla S, Kathuria K, Badhwar R, Kanji R, Jain A, Kaur A, Nagpal R, Bagler G. FlavorDB: A database of flavor molecules. *Nucleic Acids Res* 2017; 46:1210-1216

Modellprojekte der Biotechnologie

Neben einer Stammsammlung von ca. 16.000 marinen Pilzen ist an der Hochschule Flensburg auch eine Sammlung mariner Protisten hinterlegt. Zu diesen sogenannten Thraustochytrien hat das ZAiT im Rahmen eines Modellprojektes im Bereich der Biotechnologie Zugang. Im Fokus steht hierbei die kulturbasierte Stimulation von Sekundärmetaboliten, welche durch entsprechende Methoden analytisch begleitet wird.

Thraustochytrien sind bekannt für die Produktion von Fettsäuren, jedoch ist die biotechnologische Nutzung, als auch das Potential dieser Stämme hinsichtlich weiterer Naturstoffe weitgehend ungenutzt.

Naturstoffe sind in ihrem Aufbau und ihrer Funktion sehr vielfältig. Daher sind sie für viele Bereiche u. a. für die Pharmazie, Kosmetikindustrie, als Nahrungsergänzungsmittel oder für technischen Anwendungen, z. B. als Antifouling-Beschichtungen, von Interesse. Durch die parallele Anwendung von Methoden der instrumentellen Analytik sowie die Bestimmung von Bioaktivitäten können sowohl die chemischen als auch biochemischen Eigenschaften der Analyten untersucht werden. Dies führt zu einer umfangreichen Charakterisierung einzelner Naturstoffe.

Im Rahmen eines Projektes wird die Sammlung der Thraustochytrien mit dem speziellen Augenmerk auf die Produktion von Carotinoiden systematisch evaluiert (siehe Box auf Seite 14).

Des Weiteren erarbeitet das ZAiT u. a. im Kontext des Technologietransfers mit der **Sea & Sun Organic GmbH***, einer Tochterfirma der **Sea & Sun Technology GmbH****, eine prozessbegleitende Analytik, um Verluste in dem Produktionsprozess von Astaxanthin zu minimieren. Im Rahmen von Abschlussarbeiten werden hierbei Studierende aktiv in die Erhebung der Daten eingebunden. Insbesondere die Verfügbarkeit verschiedener Methoden der Aufarbeitungstechnik und instrumentellen Analytik durch das ZAiT stärken hierbei die Wahrnehmung der Hochschule Flensburg bei Unternehmen der Region.



Modellprojekt: Mikrobielles Carotinoid-Biosynthesepotential mariner Protisten

Inga Koopmann

Acknowledgement: Die Daten wurden von Studierenden der Studiengänge Bio-, Lebensmittel- und Verfahrenstechnologie sowie Applied Bio and Food Sciences im Rahmen des Wahlpflichtfaches Marine Biotechnologie erhoben.

Biosynthesepotentiale nutzen

Carotinoide sind eine wertvolle Substanzklasse, deren Anwendungen durch verbesserte und günstigere Verfügbarkeit noch deutlich erweitert werden können [1]. Erste Resultate der Kultivierung einer großen und noch nicht untersuchten Sammlung von Thraustochytrien zeigen, dass diese ungewöhnlichen marinen Protisten eine potentielle Quelle für biotechnologisch gewonnene Carotinoide sind. Die Produktion lässt sich bereits durch die Variation des Nährmediums beeinflussen. Auf diesem Weg kann auch die Produktion verschiedenartiger Carotinoide angeregt werden. Ziel des Projektes ist die Erforschung der verschiedenen Carotinoidspektren und deren Ausbeuten.

Carotinoide

Carotinoide sind eine Gruppe von Tetraterpen-Pigmenten. Aufgrund ihrer antioxidativen Fähigkeiten werden sie als Pharmazeutika, als Nahrungsergänzungsmittel und in Kosmetika eingesetzt. Die in vielen herkömmlichen Verfahren erreichten niedrigen Ausbeuten führen zu einer Knappheit verschiedener Carotinoide auf dem Markt. Unterschiedliche Ansätze der Optimierung sind erforderlich, die Auswahl des optimalen Produktionsorganismus stellt eine davon dar.

Marine Protisten

Thraustochytrien kommen ubiquitär in marinen Ökosystemen vor und nehmen dort eine wichtige Rolle im Nährstoffrecycling ein [2,3]. Einige Stämme dieser Protisten werden bereits erfolgreich für die Produktion von ω -3-Fettsäuren eingesetzt [4]. Darüber hinaus sind sie auch für die Synthese von Carotinoiden bekannt [5-7] (Abb. 1).

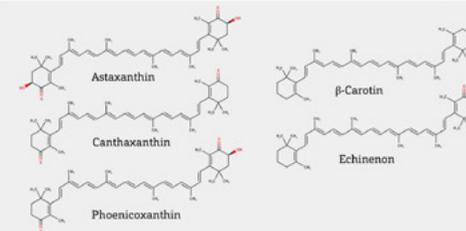


Abbildung 1: Einige Carotinoide, die auch von Thraustochytriden synthetisiert werden [5-7].

Das Potential der Thraustochytrien, in der Produktion deutlich höhere Zelldichten als mit den bis bisher konventionell genutzten Mikroorganismen und damit größere Ausbeuten zu erreichen, ist hoch [8]. In diesem Projekt soll eine Stammsammlung von über 200 uncharakterisierten Thraustochytrien aus Nord- und Ostsee auf ihr Potential der Carotinoid-Biosynthese hin untersucht werden. Die Variation externer Parameter wie zum Beispiel Lichteinfluss soll die Ausbeute speziell im Hinblick auf das Up-Scaling steigern.

Referenzen

- [1] Mussagy CU, Winterburn J, Santos-Ebinuma VC, Pereira JFB. Production and extraction of carotenoids produced by microorganisms. *Appl Microbiol Biotechnol* **2019**, 103:1095-1114.
- [2] Sharma S, Raghukumar C, Raghukumar S, Sath-pathak V, Chandramohan D. Thraustochytrid and fungal component of marine detritus II. Laboratory studies on decomposition of the brown alga *Sargassum cinereum* J. *Ag. J Exp Mar Biol Ecol* **1994**, 175:227-242.
- [3] Bongiorno L, Pusceddu A, Danovaro R. Enzymatic activities of epiphytic and benthic thraustochytrids involved in organic matter degradation. *Aquat Microb Ecol* **2005**, 41:299-305.
- [4] Gupta A, Barrow CJ, Puri M. Omega-3 biotechnology: Thraustochytrids as a novel source of omega-3 oils. *Biotechnol Adv* **2012**, 30:1733-1745.
- [5] Aki T, Hachida K, Yoshinaga M, Kawai Y, Yamasaki T, Kawamoto S, Kakizono T, Maoka T, Shigeta S, Suzuki G, et al. Thraustochytrid as a potential source of carotenoids. *J Am Oil Chem Soc* **2003**, 80:798.
- [6] Yokoyama R, Honda D. Taxonomic rearrangement of the genus *Schizochytrium sensu lato* based on morphology, chemotaxonomic characteristics, and 18S rRNA gene phylogeny (Thraustochytriales, Labyrinthulomycetes): emendation for *Schizochytrium* and erection of *Aurantochytrium* and *Oblongichytrium* gen. nov. *Mycoscience* **2007**, 48:199-211.
- [7] Park H, Kwak M, Seo J, Ju J, Heo S, Park S, Hong W. Enhanced production of carotenoids using a Thraustochytrid microalgal strain containing high levels of docosahexaenoic acid-rich oil. *BioProcess Biosyst Eng* **2018**, 41:1355-1370.
- [8] Lee Chang KI, Dumsday G, Nichols PD, Dunstan GA, Blackburn SI, Koutoulis A. High cell density cultivation of a novel *Aurantochytrium* sp. strain TC 20 in a fed-batch system using glycerol to produce feedstock for biodiesel and omega-3 oils. *Appl Microbiol Biotechnol* **2013**, 97:6907-6918.

Stammsammlung und Analytik

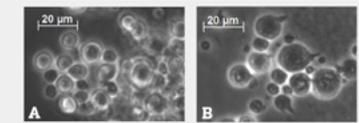


Abbildung 2: Thraustochytrien sind kugelige einzellige Organismen (10-50 µm). Viele bilden große extrazelluläre Netze. A: Grundform des Stammes 1450d, B: Stamm 1473e mit extrazellulären Anhängen.

Design of Experiments (DoE) wurde genutzt, um ein optimales Wachstumsmedium für einige ausgewählte Stämme zu finden (Abb. 2). Es wurden die Salz-, Stickstoff- und Kohlenstoffquelle sowohl in ihrer Qualität als auch Quantität variiert (Abb. 3). Zudem wurde der Einfluss des pH-Wertes und der Vitamine B1 und B12 einbezogen.

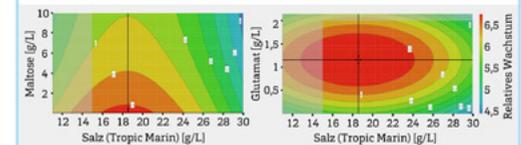


Abbildung 3: Hier ist beispielhaft das Wachstum des Stammes 4995d auf verschiedenen Medien in den Parametern Salz vs. Glutamat (links) und Salz vs. Maltose (rechts) bei sonst gleichen optimalen Parametern im DoE gezeigt. Das Wachstum wurde mikroskopisch beurteilt und in Klassen von 1 bis 3 eingeteilt. Starke Farben: Getesteter Bereich im DoE Ansatz, helle Farben: Berechneter Bereich (0-7) Pfeile indizieren den Punkt optimalen Wachstums. Abbildung erstellt mit Modde.

Eine Medienvariation auf festem Medium zeigte, dass die Zusammensetzung einen Einfluss auf die Bildung von Farbstoffen hat (Abb. 4).



Abbildung 4: Der Stamm N6006d auf einer Auswahl verschiedener Nährmedien. Der selbe Stamm zeigte hier ein deutlich verändertes Farbspektrum.

Diese Experimente werden quantitativ analytisch wiederholt, um die Carotinoidspektren und -mengen zu beschreiben.

ZAiT | Hochschule Flensburg

Kanzleistraße 91 – 93
24943 Flensburg · Germany
zait@hs-flensburg.de

Anmeldung zum E-Mail-Verteiler
für Veranstaltungen:



Stand Jan. 2021