

## ChitoBSF

Expanding the value chain – biological extraction of chitosan for insect-based waste bioconversion

<b>Programm / Ausschreibung</b>	Bridge, Brückenschlagprogramm, Ausschreibungen Bridge 1 (GB 2021)	<b>Status</b>	laufend
<b>Projektstart</b>	01.03.2022	<b>Projektende</b>	30.06.2024
<b>Zeitraum</b>	2022 - 2024	<b>Projektlaufzeit</b>	28 Monate
<b>Keywords</b>	Black soldier fly (BSF), circular economy, BSF chitosan, sustainability		

### Projektbeschreibung

In den letzten Jahren hat sich die industrielle Nutzung bestimmter Insekten wie der Schwarzen Soldatenfliege (BSF, *Hermetia illucens*) zu einem vielversprechenden Weg entwickelt, um Restbiomasse aus der Landwirtschaft und Agrarindustrie in wertvolle Ressourcen für Biomoleküle umzuwandeln. Von primärem Interesse sind hierbei für die Futter- und Lebensmittelindustrie geeignetes Protein, Fett und Chitin. Ein breites Spektrum an organischen Reststoffen von agroindustriellen Nebenprodukten bis hin zu tierischem Dung eignet sich als Ausgangsbioasse für dieses Verfahren. Im Gegensatz zu anderen Mitteln zur Aufwertung organischer Reststoffe kann durch die Zwischenschaltung dieses insektenbasierten Biokonversionsschritts der Kreislauf zurück zur Quelle der meisten organischen Abfälle – d. h. der Produktion von Lebens- und Futtermitteln – direkt geschlossen werden. Neben der Erzeugung einer wertvollen Nährstoffquelle für traditionelle Nutztiere (z.B. Schweine und Geflügel) können die an Insektenkot und Chitin reichen Aufzuchtückstände als effizienter organischer Dünger Anwendung finden. Mit der stetig wachsenden Unterstützung durch die EU-Kommission für eine Insektenbasierte Bioökonomie, und deren Beitrag zu den Zielen des European Green Deal zeigt diese Technologie ein vielversprechendes Potenzial, Ressourcen zu schonen und gleichzeitig die Abhängigkeit von nicht nachhaltigen, importierten Futtermitteln zu reduzieren.

Ziel dieses Projektes ist es, den Produktionskreislauf durch die Integration eines weiteren wertvollen Produkts, nämlich Chitin, zu erweitern und zu schließen. Durch Upcycling von Chitin beinhaltenden Pressrückständen aus der Insektenproduktion, welche bei der Verarbeitung der Larvenbiomasse entstehen, soll das hochaktive Biopolymer Chitosan gewonnen werden. Chitin und sein Derivat Chitosan sind zweifellos attraktive Biopolymere, die in der Industrie bereits weit verbreitet sind. Insbesondere Chitosan wird seit einiger Zeit intensiv erforscht und verspricht enormes Potenzial für zukünftige industrielle Anwendungen in der Landwirtschaft, Abwasserbehandlung und Pharmakologie.

Neben hochwertigen Proteinen und Düngemitteln ist es unser Ziel, durch die Verbesserung der technologischen Kompetenz im Werk des Start-ups LIVIN farms AgriFood GmbH, den Weg für eine nachhaltige Chitosan-Produktion aus Insektenquellen zu ebnen. Zunächst werden die Gesamtaminosäuren und der N-Acetylglucosamin-Gehalt der Larvenproben in Abhängigkeit von ihren Fütterungsbedingungen bei LIVIN-Farms bestimmt. Basierend auf einem mechanischen Trennprozess, der im LIVIN Farms Produktionsprozess mit Larvenmaterial beginnt, werden entfettete Restsubstrate unter schonenden, lebensmittelechten Bedingungen verarbeitet und hochwertiges Protein gewonnen. Für unseren neuen Prozess soll Chitin als

bisher ungenutzte qualitativ hochwertige Ressource gezielt extrahiert werden. Die verbleibende getrocknete Biomasse wird dafür an die FH Campus Wien geliefert, wo verschiedene enzymatische oder chemisch assistierte Extraktionsprotokolle zur Gewinnung von Chitin- und Chitosan-Fractionen evaluiert werden. Dabei wird geniertes Know-how aus zwei erfolgreichen FFG-Projekten zur enzymatischen Extraktion von Chitosan aus Pilzbiomasse zur Anwendung kommen. Diese bestehenden Extraktionsprotokolle werden evaluiert und weiterentwickelt, um zu überprüfen, ob und welche Enzyme auch für die BSF-basierten Matrizes verwendet werden können. In diesem Zusammenhang wird es entscheidend sein, unser Portfolio durch das Screening auf neue hochspezifische Enzyme mit erhöhter Aktivität auf den BSF-Materialien zu erweitern. Um nach neuen Zielenzymen zu suchen, welche spezifisch für die Hydrolyse der Larvenmatrix eingesetzt werden, wird hierzu vom wissenschaftlichen Partner der Universität Innsbruck ein RNA-Seq Transkriptom-Ansatz durchgeführt werden. Das Expressionsprofil von Enzymen wird analysiert und geeignete Schlüsselenzyme werden selektiert, überprüft und für zukünftige, optimierte Prozesse herangezogen. Schließlich wird die Qualität der hergestellten Produkte durch etablierte Bioassays in unserem Labor anhand ihrer bioziden Wirksamkeit gegen verschiedene Bakterien und Pilze bestimmt und analysiert.

Diese „Proof of Concept“-Studie erweitert das Produktportfolio des Start-ups LIVIN farms AgriFood GmbH und erweitert die Kernkompetenz der beteiligten wissenschaftlichen Partner in Bezug auf die nachhaltige Produktion von hoch potenten Chitosan-Produkten für industrielle Anwendungen.

## **Abstract**

In recent years, the industrial use of certain insects such as the black soldier fly (BSF, *Hermetia illucens*) has become a burgeoning way of converting residual biomass into valuable resources for biomolecules, including proteins, lipids, and chitin suitable for the feed and food industry. A broad spectrum of organic residues ranging from agro-industrial by-products to animal manure qualifies for this process. In contrast to other means for valorizing organic matter, interposing this insect-based bioconversion step can directly close the loop back to the source of most organic waste – i.e. the production of food and feed. In addition to generating a valuable nutrient source for traditional livestock, the rearing residues rich in insect excrements and chitin can find application as efficient organic fertilizer. With the steadily expanding support from the EU commission and the contribution to the Green Deal's goals, this technology shows promising potential to save organic resources and at the same time reduces the reliance on unsustainable, imported feeds.

In this project, we propose the integration of another valuable process step into the waste valorization process, namely the production of the highly active biopolymer chitosan. Without doubt, chitin and its derivative chitosan are attractive biopolymers that are already widely used in the industry. Chitosan in particular, is being intensively investigated and harbors enormous potential for future industrial applications for agriculture, wastewater treatment, sanitation, and pharmaceuticals. Our goal is to pave the way for sustainable chitosan production from insect-based resources in addition to high-quality protein, lipids, and fertilizers, by improving the technological expertise at the plant of the startup company LIVIN farms AgriFood GmbH.

First, the total amino acids and the N-acetylglucosamine content of the harvest-ready larvae will be determined and put in relation to their feeding conditions at the company LIVIN farms.

By hooking into the LIVIN farms biomass separation process specialized on the extraction of lipids and proteins, the resulting defatted and deproteinised larval biomass pulp will be processed using gentle conditions. Thereby, this previously untapped fraction of residual larval biomass will be targeted to recover high quality protein and chitin suitable for the food industry. The dried residual biomass is delivered to the FH Campus Wien, where we will evaluate the feasibility of using various enzymatical or chemically assisted extraction protocols to obtain chitin and chitosan fractions. We will use our profound

knowledge gained from two FFG projects on chitosan extraction from fungal cell walls and apply these established procedures to prove whether and which enzymes can also be used for the BSF-derived matrices. In this regard, it will be crucial to expand our portfolio by screening for new highly specific biocatalysts with increased activity on the BSF matrix to produce chitosan with high quality and purity in an ecofriendly and economic way. This search for new target enzymes that specifically become active during the hydrolysis of the larval matrix, will be carried out as an RNA-Seq transcriptome approach by the scientific partners at the University of Innsbruck. The expression profile of target enzymes will be analyzed and promising candidates will be selected for optimized bioconversion processes.

Finally, the quality of the products will be determined using established bioassays in our laboratory based on the biocidal efficacy on various bacteria and fungi.

The proposed proof-of-concept study expands the product portfolio of the start-up LIVIN farms AgriFood GmbH and the core competence of the participating scientific partners with regard to the sustainable production of the highly potent product chitosan for diverse industrial applications.

### **Projektkoordinator**

- FH Campus Wien Forschungs- und Entwicklungs GmbH

### **Projektpartner**

- Universität Innsbruck
- Livin Farms AgriFood GmbH