

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik

**Reaktionstechnische Untersuchungen zur Lipidherstellung mit
Nannochloropsis sp. in verschiedenen Photobioreaktoren**

Christina Evi Pfaffinger

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Maschinenwesen der Technischen Universität München
zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktor-Ingenieurs

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr.-Ing. habil. Andreas Kremling
Prüfer der Dissertation: 1. Prof. Dr.-Ing. Dirk Weuster-Botz
2. Prof. Dr. rer. nat. Thomas Brück

Die Dissertation wurde am 05.04.2017 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Maschinenwesen
am 31.05.2017 angenommen.

*Die Welt hat genug für jedermanns Bedürfnisse,
aber nicht für jedermanns Gier.*

~ Mohandas Karamchand Gandhi ~
1869-1948

Danke...

Die vorliegende Dissertation entstand im Rahmen meiner Tätigkeit als wissenschaftliche Mitarbeiterin am Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik der Technischen Universität München unter der Leitung von Prof. Dr.-Ing. Weuster-Botz. An dieser Stelle möchte ich die Gelegenheit nutzen und mich herzlichst bei all denjenigen bedanken, die mich in dieser aufregenden sowie lehrreichen Phase meines Lebens begleitet und unterstützt haben.

An erster Stelle bedanke ich mich bei meinem Doktorvater Prof. Dr.-Ing. Dirk Weuster-Botz für das Vertrauen, das Sie in mich gesetzt und die tolle Chance, die Sie mir mit dieser Promotion gegeben haben. Ihre hervorragende Betreuung beinhaltete nicht nur die Motivation zur kritischen Auseinandersetzung mit meinem spannenden Thema, sondern ebenso sehr konstruktive Gespräche zu sämtlichen wissenschaftlichen Fragestellungen. Die Herausforderungen vor die Sie mich gestellt und die Freiheiten, die Sie mir erteilt haben, trugen sicherlich maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit bei. Ich bedanke mich herzlich für die schöne und sehr lehrreiche Zeit an Ihrem Lehrstuhl.

Des Weiteren danke ich dem Coreferenten Prof. Dr. Thomas Brück und dem Prüfungsvorsitzenden Prof. Dr.-Ing. Andreas Kremling vielmals für die Übernahme Ihrer jeweiligen Aufgabe.

Mein ganz herzlicher Dank gilt weiterhin den Projektpartnern des Projektes *AlgenFlugKraft* für den interessanten Wissensaustausch sowie die konstruktiven Gespräche. Meinen besonderen Dank möchte ich hier Matthias und Johannes (Professur für Industrielle Biokatalyse) aussprechen. Ihr seid mir stets bei allen Fragestellungen äußerst hilfreich und unterstützend zur Seite gestanden und habt mit den gemeinsamen Mini-Projekttreffen auch den Spaß an der Wissenschaft nicht zu kurz kommen lassen.

Ein riesengroßes Dankeschön auch an alle meine (ehemaligen) Kolleginnen und Kollegen vom Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik sowie den Fachgebieten für Selektive Trenntechnik und Systembiotechnologie. Das ausgezeichnete Arbeitsklima, die ausgeprägte Hilfsbereitschaft aller und die freundschaftliche Atmosphäre werde ich stets in bester Erinnerung behalten.

Besonders hervorheben möchte ich an dieser Stelle die Festangestellten des Lehrstuhls, die alle auf unterschiedliche Weise zum Erfolg dieser Arbeit beigetragen haben. Ellen und Gabi – den beiden Powerfrauen aus dem Sekretariat – ebenso wie Georg, Norbert und Markus. Ihr habt nicht nur fachlich, sondern auch auf persönlicher Ebene zu meiner unvergesslichen Zeit hier beigetragen.

Mein allerherzlichster Dank gilt zudem dem *Algenteam*: Andi, Anja, Hannes, Lara und Timm – unser fachlicher und persönlicher Austausch bei allen Lagerfeuerrunden und Hopfensaft-Abenden wird mir sehr fehlen. Ebenso herzlich danke ich einigen weiteren Kollegen: Dr. Andi, Sammy, Georg, Martin, Julia & Michi, Ingmar, Karl, Ljubo, Sabine und vor allem Sarah. Ich danke euch allen von Herzen für eure Unterstützung jeglicher Art (Freundschaft, Spaß am Glas, viel Lachen, Drückung, offene Ohren, bestes Büro der Welt, Ver-

sorgung mit Nahrung und Kaffee, dynamisches Radlfahren, Wissenstransfer, Korrekturlesen, ...)!

Auch allen meinen ehemaligen Studenten möchte ich ganz herzlich danken - mit eurem unermüdlichen Einsatz und eurem Ideenreichtum habt ihr auf jeden Fall zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Philipp, Lisa, Tibor, Michi, Lars, Maria, Nico, Eduard, Sascha, Johanna, Julia, Lukas und vor allem Dennis - vielen Dank für eure Unterstützung!

Neben den vielen Personen, die mich in meinem beruflichen Umfeld unterstützt haben, möchte ich mich bei denjenigen bedanken, die mir privat stets treu zur Seite standen. Ich bin dankbar mit so tollen Freunden wie dir Daniel, Verena & Basti, Petra & Manu, Timm & Andi, Ingmar, Sammy, Lara & Karl, Sarah & Christina gesegnet zu sein - euch behalte ich!

Meinen tiefen Dank möchte ich auch euch – Margot, Michael, Tobias, Josua und Sabrina – aussprechen. Dafür, dass ihr mich so liebevoll aufgenommen habt und mir so viel Geborgenheit schenkt.

Lieber Flo, dir danke ich aus tiefstem Herzen für deine schier endlose Geduld, deinen immerwährenden Zuspruch und Rückhalt. Ohne dich und deine liebevolle Versorgung wäre diese Arbeit nicht mit so viel Ehrgeiz und Freude entstanden. Ich bin dankbar, dass du Teil meines Lebens bist.

Meine liebe Mama, dir gebührt der wohl größte Dank! Durch dich bin ich zu dem Menschen geworden, der heute diesen unglaublichen Meilenstein erreicht hat. Du hast immer an mich geglaubt und mich bedingungslos bei all meinen Träumen und Zielen unterstützt. Ich bin dir auf ewig dankbar.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Problemstellung und Zielsetzung	2
3	Theoretische Grundlagen	6
3.1	Mikroalgen	6
3.1.1	Allgemeine Merkmale von Mikroalgen	6
3.1.2	Klassifizierung von Mikroalgen	8
3.1.3	Die Gattung <i>Nannochloropsis</i>	9
3.2	Phototropher Metabolismus	10
3.2.1	Photosynthese	10
3.2.2	Regulationsmechanismen der Photosynthese	18
3.2.3	Lipidakkumulation in Mikroalgen	22
3.2.4	Einflussfaktoren auf den phototrophen Metabolismus	26
3.3	Modellierung des phototrophen Wachstums	37
3.3.1	Mikroalgenkultivierung im Satzverfahren	37
3.3.2	Lichtabhängigkeit des Wachstums von Mikroalgen	41
3.3.3	Mittlere integrale Bestrahlungsstärke in Photobioreaktoren	46
3.3.4	Formalkinetische Betrachtung der Licht- und Temperaturabhängigkeit	47
3.4	Industrielle Nutzung von Mikroalgen	54
3.4.1	Mikroalgen zur Herstellung regenerativer Treibstoffe	55
3.4.2	Reaktorsysteme für die Kultivierung von Mikroalgen	56
3.4.3	Skalierung von Reaktoren und Maßstabsübertragung von Prozessen	60
4	Material und Methoden	62
4.1	Mikroalgen	62
4.2	Kultivierung von Mikroalgen	63
4.2.1	Artifizielles Meerwasser-Medium	63
4.2.2	Stammhaltung	64
4.2.3	Vorkulturherstellung in Erlenmeyerkolben	64
4.2.4	Vorkulturherstellung in Blasensäulenreaktoren	64

4.2.5	Satzprozesse in Flachplatten-Photobioreaktoren im Labormaßstab	66
4.2.6	Satzprozesse in Flachgerinnereaktoren im Pilotmaßstab	72
4.3	Analytische Methoden	75
4.3.1	Bestimmung der optischen Dichte	75
4.3.2	Bestimmung der Gesamtzellzahl	76
4.3.3	Bestimmung der Biotrockenmassekonzentration	77
4.3.4	Quantitativer Nachweis von Nährstoffen	77
4.3.5	Bestimmung der Salinität des Mediums	78
4.3.6	Quantitativer Nachweis des Lipidgehaltes	78
4.3.7	Bestimmung des Pigmentgehaltes	79
4.3.8	Ermittlung relevanter Prozessparameter	81
4.4	Methoden für die Modellierung des phototrophen Wachstums und der Lipidbildung	82
4.4.1	Bestimmung der Lichtabschwächung zur Charakterisierung des Absorptionsverhaltens	82
4.4.2	Messung des transmittierten Lichts durch eine Mikroalgensuspension in Photobiore- aktoren	83
4.4.3	Bestimmung des spezifischen Extinktionskoeffizienten	84
4.4.4	Bestimmung der mittleren integralen Bestrahlungsstärke	84
4.4.5	Bestimmung kinetischer Parameter für das Wachstum	87
4.4.6	Bestimmung kinetischer Parameter für die Lipidbildung	87
4.4.7	Simulation des Wachstums von Mikroalgen mit Tagesganglinien	89
5	Reaktionstechnische Charakterisierung von <i>Nannochloropsis salina</i>	90
5.1	Einfluss des Nährstoffangebotes auf das Wachstum	90
5.2	Untersuchung des Absorptionsverhaltens von <i>Nannochloropsis salina</i>	95
5.3	Charakterisierung der Lichtabhängigkeit von <i>N. salina</i>	101
5.3.1	Lichtabhängige Wachstumskinetik	101
5.3.2	Lichtabhängige Lipidbildungskinetik	106
5.4	Implementierung eines Bestrahlungsprofils	112
5.5	Untersuchung der temperaturabhängigen Wachstumskinetik von <i>Nannochloropsis salina</i> . .	119
6	Reaktionstechnische Charakterisierung von <i>Nannochloropsis gaditana</i>	123
6.1	Einfluss des Nährstoffangebotes auf das Wachstum	123
6.2	Untersuchung des Absorptionsverhaltens von <i>Nannochloropsis gaditana</i>	125
6.3	Charakterisierung des lichtabhängigen Wachstums von <i>Nannochloropsis gaditana</i>	128
6.4	Implementierung eines Bestrahlungsprofils	131
6.5	Untersuchung der temperaturabhängigen Wachstumskinetik von <i>Nannochloropsis gaditana</i>	136
6.6	Vergleich von <i>Nannochloropsis gaditana</i> und <i>Nannochloropsis salina</i>	139

7 Maßstabsübertragung in den Pilotmaßstab	142
7.1 Mittlere integrale Bestrahlungsstärke als Kriterium zur Maßstabsübertragung	144
7.2 Maßstabsübertragung der Biomasseproduktion mit Tagesganglinien	147
7.3 Maßstabsübertragung der Lipidproduktion mit <i>Nannochloropsis salina</i>	158
7.3.1 Lipidproduktion mit konstanter Eingangsbestrahlungsstärke	158
7.3.2 Lipidproduktion mit Tagesganglinien	160
8 Zusammenfassung und Ausblick	164
Literaturverzeichnis	170
Abkürzungs- und Symbolverzeichnis	183
Abbildungsverzeichnis	190
Tabellenverzeichnis	195
Anhang	197
A.1 Kultivierungssysteme	197
A.1.1 Erlenmeyerkolben	197
A.1.2 Blasensäulenreaktoren	197
A.1.3 Flachplatten-Photobioreaktoren	199
A.1.4 Flachgerinnereaktor	203
A.2 Allgemeine Geräte	204
A.3 Allgemeine Materialien	205
A.4 Lösungen	205
A.5 Chemikalien	206
A.6 Algentechnikum	207

1 Einleitung

Die fortschreitende Technisierung in Verbindung mit einer rasant wachsenden Weltbevölkerung führte insbesondere seit Beginn der Industrialisierung zu einem merklichen Anstieg klimaschädlicher Treibhausgase in der Atmosphäre (Rahmstorf & Schellnhuber, 2012). Der größte Anteil an der globalen Erwärmung wird dabei der Strahlungswirkung von Kohlenstoffdioxid zugeschrieben, dessen anthropogener Anteil hauptsächlich der Verbrennung fossiler Energieträger in der Energiewirtschaft und dem Transportwesen entstammt (Kiehl & Trenberth, 1997; Stocker *et al.*, 2013). Um den bereits kritischen Gehalt atmosphärischen Kohlenstoffdioxids zu stabilisieren, ist nach Stocker *et al.* (2013) eine Reduktion der Emissionen um 50-85 % bis 2050 unabdingbar. Diese Forderung setzt allerdings die Entwicklung beziehungsweise Nutzung CO₂-neutraler, regenerativer Energiequellen voraus, wobei das größte Potential der Umsetzung von Biomasse zu Biokraftstoffen zugeschrieben wird (Schenk *et al.*, 2008).

Als Ausgangsstoff für die Produktion von Biokraftstoffen werden bisher hauptsächlich nachwachsende Rohstoffe wie Ölpflanzen, Getreide oder Zuckerrüben verwendet, welche jedoch mit Nahrungsmitteln um die notwendigen Agrarflächen konkurrieren (Chen & Khanna, 2013; Chisti, 2007). Vor dem Hintergrund eines prognostizierten Anstiegs der Weltbevölkerung auf bis zu 9,2 Milliarden bis 2050 (UN Population Division, 2014) und dem daraus resultierenden erhöhten Bedarf an Nahrungsmitteln, werden daher aktuell weitere Quellen nachwachsender Rohstoffe erforscht. Ein vielversprechender Ansatz ist die Nutzbarmachung photosynthetisch aktiver Mikroalgen mit hohem Lipidanteil als Ausgangsstoff für die nachhaltige Kraftstoffsynthese (Chisti, 2007; Mata *et al.*, 2010; Schenk *et al.*, 2008). Die zur Herstellung von Lipiden benötigte Energie beziehen Mikroalgen aus den unerschöpflichen Quellen Kohlenstoffdioxid und Sonnenlicht (Wang *et al.*, 2008). Darüber hinaus können diese Organismen ganzjährig auf landwirtschaftlich nicht nutzbaren Flächen unter dem Einsatz von Abwasser als Nährstofflieferant kultiviert werden (Cantrell *et al.*, 2008; Mata *et al.*, 2010). Im Gegensatz zu konventionellen Ölpflanzen weisen Mikroalgen einen bis zu 100-fach erhöhten Flächenenertrag auf, sind weniger abhängig von saisonalen Wetterschwankungen und benötigen nicht zwingend Süßwasser als Medienquelle (Mata *et al.*, 2010; Tredici, 2010; Wijffels & Barbosa, 2010). Des Weiteren komplettieren wertvolle Nebenprodukte wie Proteine oder Pigmente das Produktportfolio von Mikroalgen (Brennan & Owende, 2010). Dementgegen steht jedoch die geringe Wertschöpfung des Mikroalgenöls bei gleichzeitig hohen Produktionskosten, sodass die Notwendigkeit eines ökonomischen Produktionsprozesses in den Fokus der Forschung rückt (Chisti, 2012).

2 Problemstellung und Zielsetzung

Die Fähigkeit, chemische Energie aus den unerschöpflichen Quellen Sonnenlicht und Kohlenstoffdioxid zu gewinnen, macht Mikroalgen seit etwa 60 Jahren für die biotechnologische Forschung und Industrie interessant (Borowitzka & Moheimani, 2013a; Brennan & Owende, 2010; de la Noue & de Pauw, 1988). Neben der Möglichkeit, Mikroalgen auf landwirtschaftlich nicht nutzbaren Flächen unter der Verwendung von Abwasser ganzjährig kultivieren zu können, birgt das Produktspektrum dieser Organismen großes Potential (de la Noue & de Pauw, 1988; Posten & Walter, 2012). Vor allem intrazelluläre Produkte wie Proteine und Pigmente ermöglichen eine genügend hohe Wertschöpfung (Borowitzka, 1999; Chmiel, 2011; Rosello-Sastre, 2012). Zudem steigert das Vermögen einiger Algenspezies vermehrt Lipide zu produzieren, das Interesse an diesen Organismen als Produzenten regenerativer Treibstoffe (Posten, 2012). Die geringe Wertschöpfung bei der Herstellung von Mikroalgenöl bei zur Zeit hohen Produktionskosten stellt eine Herausforderung zur Gestaltung eines ökonomischen Prozesses dar (Chisti, 2012). Vor allem die Ernte der Mikroalgen sowie die Extraktion der energiereichen Lipide sind komplexe und kostenintensive Prozesse (Kawaguchi, 1980; Oswald, 1980; Rawat *et al.*, 2011). Eine Möglichkeit der Kostenreduktion ist daher die Erzielung möglichst hoher Biomassekonzentrationen vor der Ernte (Brennan & Owende, 2010; Lee, 2001). Nachdem das phototrophe Wachstum maßgeblich von der mittleren Lichtverfügbarkeit in der Algensuspension beeinflusst wird, ist für das Erreichen hoher Zelldichten die Verwendung von Photobioreaktoren mit geringer Schichtdicke zielführend (Chmiel, 2011; Tredici, 2010). Die Forderung nach einer verhältnismäßig großen bestrahlten Oberfläche bei gleichzeitig geringem Reaktionsvolumen kann dabei sowohl von offenen Systemen wie *Flachgerinnereaktoren* oder geschlossenen Systemen wie *Plattenreaktoren* erfüllt werden (Doucha & Lívanský, 2014; Janssen *et al.*, 2003). Beiden Systemen ist gemein, dass sehr geringe Schichtdicken im maximal einstelligen Zentimeterbereich eine sehr gute mittlere Lichtverfügbarkeit gewährleisten und somit Hochzelldichte-Kultivierungen erlauben (Doucha & Lívanský, 2014; Zou *et al.*, 2000). Plattenreaktoren bestehen meist aus zwei transparenten Flächen, welche die Algensuspension umschließen und weisen aufgrund der geschlossenen Bauweise prinzipiell ein geringes Kontaminationsrisiko auf (Lee, 2001). Offene Photobioreaktoren stellen hingegen eine wesentlich kostengünstigere Alternative dar, da sowohl der notwendige Energieeintrag als auch Investitions- und Instandhaltungskosten geringer sind als bei geschlossenen Photobioreaktoren. (Borowitzka, 1999; Brennan & Owende, 2010). Bei der Massenproduktion von Mikroalgen in offenen Reaktoren mit relativ hoher Schichtdicke wie *Raceway Ponds* ist bereits heute im Gegensatz zu geschlossenen Reaktoren eine positive Energiebilanz erreichbar (Huesemann & Benemann,

2009). Die Verwendung offener Reaktoren bringt allerdings auch die Abhängigkeit von den klimatischen Bedingungen sowie ein erhöhtes Kontaminationsrisiko mit sich (Castillo *et al.*, 1980; Harun *et al.*, 2010). Das Risiko von Kontaminationen kann jedoch durch geeignete Reaktionsbedingungen wie hohe Salinität oder Alkalinität vermindert werden (Lee, 1986). Dies macht den Einsatz robuster Mikroalgenpezies erforderlich, welche einen hohen Lipidanteil akkumulieren können. Geeignete Mikroalgen tolerieren einerseits hohe Alkalinität sowie Salinität und besitzen andererseits ein ausreichendes Anpassungspotential an sich dynamisch ändernde Klimabedingungen wie Tages- und Nachtganglinien von Licht und Temperatur.

Im Hinblick auf die geforderten Eigenschaften eines potentiellen Produktionsstammes, stellen *Nannochloropsis* sp. einen vielversprechenden Mikroorganismus für die Herstellung energiereicher Lipide in offenen Photobioreaktoren dar. Diese Mikroalgenpezies zeichnet nicht nur eine hohe Biomasseproduktivität und ein hoher Lipidanteil aus (Boussiba *et al.*, 1987; Sukenik *et al.*, 1993), *Nannochloropsis* sp. sind zudem in der Lage, hohe Temperaturen, Salinitäten sowie Bestrahlungsstärken zu tolerieren (Amaro *et al.*, 2011; Figueroa *et al.*, 1997; Rodolfi *et al.*, 2009). Darüber hinaus ist *Nannochloropsis* sp. in der Literatur sehr gut beschrieben (Boussiba *et al.*, 1987; Ma *et al.*, 2014; Radakovits *et al.*, 2012; Sukenik *et al.*, 1993) und wurde bereits erfolgreich für die Massenkultivierung unter dynamischen Klimabedingungen eingesetzt (Edmondson & Huesemann, 2015; Ledda *et al.*, 2015; Richmond & Cheng-Wu, 2001; San Pedro *et al.*, 2014). Daher wurden für die reaktionstechnische Untersuchung von Wachstum und Lipidbildung in dieser Arbeit zwei *Nannochloropsis* sp. ausgewählt. Allerdings fehlen trotz der zahlreichen Publikationen zu dieser Mikroalgenpezies sowie der Zugänglichkeit der genetischen Information einiger *Nannochloropsis* sp. (Radakovits *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2014) detaillierte Angaben zur licht- und temperaturabhängigen Reaktionskinetik. Es existieren zwar Untersuchungen zur Licht- und Temperaturabhängigkeit einiger *Nannochloropsis* sp. (Huesemann *et al.*, 2013; Kandilian *et al.*, 2014; Sforza *et al.*, 2012b; van Wageningen *et al.*, 2012), diese sind jedoch oft unvollständig und zudem systemabhängig. Die Lichtabhängigkeit vernachlässigt beispielsweise die Photoinhibition oder bezieht sich lediglich auf die Eingangs-Bestrahlungsstärke, welche jedoch als Funktion der Zelldichte mit der Schichtdicke der Mikroalgenkultur abgeschwächt wird und somit wenig Aussagekraft besitzt. Die Temperaturabhängigkeit des Wachstums oder die Lipidbildungskinetik von *Nannochloropsis* sp. sind in der Literatur lediglich quantitativ angegeben, kinetische Parameter wurden bisher nicht identifiziert. Vor allem bei der Auslegung und Skalierung biotechnologischer Prozesse stellt eine nicht ausreichend quantitativ bestimmte Reaktionskinetik des Produktionsorganismus ein erhebliches Problem dar.

Bei photoautotrophen Kultivierungen nehmen vor allem Licht und Temperatur den größten Einfluss auf das Wachstum sowie die Produktbildung und sind zudem in offenen Reaktoren kaum zu kontrollieren (Castillo *et al.*, 1980; Soeder, 1971). Aus diesem Grund ist eine Zielsetzung in dieser Arbeit die Charakterisierung der licht- und temperaturabhängigen Reaktionskinetik zweier *Nannochloropsis* sp. (*Nannochloropsis salina* SAG 40.85 und *Nannochloropsis gaditana* SAG 2.99) unter kontrollierten Bedingungen in geschlossenen

und sterilisierbaren Flachplatten-Photobioreaktoren mit definierter Schichtdicke im Labormaßstab. Der Leistungseintrag in diese geschlossenen Reaktoren erfolgt allein über die Begasung nach dem *gas lift*-Verfahren mit innerem Umlauf. Eine kontrollierte Bestrahlung mit Leuchtdioden, welche in Spektrum und Intensität dem Sonnenlicht ähneln, ermöglicht die detaillierte Charakterisierung der lichtabhängigen Wachstums- und Lipidbildungskinetik, während die Temperierbarkeit der Reaktoren die Untersuchung der Temperaturabhängigkeit gestattet. Die beobachteten Abhängigkeiten sollen mit geeigneten Modellen beschrieben werden, um die kinetischen Modellparameter für Wachstum und Produktbildung identifizieren zu können. Dabei ist es von besonderem Interesse die Reaktionskinetik als Funktion einer mittleren integralen Bestrahlungsstärke, unabhängig vom verwendeten Photobioreaktor, zu formulieren, sodass die Möglichkeit der Skalierbarkeit auch in andere Photobioreaktoren gegeben ist.

Im Hinblick auf die Maßstabsübertragung (*scale-up*) photoautotropher Prozesse wird die Realisierbarkeit in der Literatur je nach Reaktortyp unterschiedlich bewertet. Während die erfolgreiche Übertragung kommerziell nutzbarer Reaktoren in beliebig größere Maßstäbe bei *gas lift*-Plattenreaktoren als schwierig angesehen wird, erscheint dies bei Rohrreaktoren vergleichsweise einfach (Borowitzka, 1999; Richmond *et al.*, 1993). Um Konzentrationsgradienten und Lichtlimitierungen zu vermeiden, erfolgt die Vergrößerung des Reaktionsvolumens bei photoautotrophen Prozessen dennoch meist über eine Erhöhung der Anzahl an Reaktoreinheiten (*numbering-up*) (Janssen *et al.*, 2003). Im Rahmen einer Maßstabsvergrößerung zwischen identischen Reaktionssystemen konnte bereits gezeigt werden, dass sich die Dauer von Hell-Dunkel-Zyklen sowie die vergleichbare Lichtverteilung im Reaktorinneren als Übertragungskriterium eignen (Molina Grima *et al.*, 2000; Vernerey *et al.*, 2001). Bei geometrisch unterschiedlichen Reaktorsystemen besteht hingegen die Problematik, dass bisher in der Literatur keinerlei Angaben existieren, ob und wie eine Maßstabsübertragung in einem solchen Fall durchzuführen wäre.

Im Rahmen dieser Arbeit erfolgt die Charakterisierung der Mikroalgen im Labormaßstab in einem geschlossenen Flachplatten-Photobioreaktor, da dieser durch seine definierte Schichtdicke und die Möglichkeit der kontrollierten Prozessführung die Reproduzierbarkeit sowie verlässliche Einordnung experimenteller Daten gewährleistet. Im Gegensatz dazu soll im Pilotmaßstab ein wesentlich kostengünstigerer offener Reaktortyp (Flachgerinnereaktor) mit geringerer Schichtdicke für eine bessere Lichtverfügbarkeit verwendet werden. Die offene Gestaltung dieses Reaktors erschwert jedoch die Einhaltung definierter, konstanter Prozessbedingungen. Nachdem die in dieser Arbeit verwendeten Reaktionssysteme im Labor- (Flachplatten-Photobioreaktoren) und Pilotmaßstab (Flachgerinnereaktoren) keinerlei geometrische oder konstruktive Ähnlichkeiten aufweisen, können keine bereits publizierten Ansätze für die Maßstabsvergrößerung angewandt werden. Ein weiteres Ziel dieser Arbeit ist daher die Erarbeitung der Maßstabsübertragung, unter konstanten Bedingungen (Bestrahlungsstärke, Temperatur, pH), vom Labor- in den Pilotmaßstab auf der Basis der reaktionstechnischen Charakterisierung der beiden *Nannochloropsis*-Spezies. Hierbei gilt es zunächst ein geeigne-

tes Übertragungskriterium zu identifizieren, um dieses dann reproduzierbar für beide Mikroalgenpezies im Labor- sowie Pilotmaßstab unter konstanten Bedingungen anzuwenden.

Im Gegensatz zu kontrollierten Reaktionsbedingungen in geschlossenen Reaktoren im Labormaßstab, erfahren Mikroalgen bei technischen Anwendungen in offenen Reaktoren sich dynamisch ändernde klimatische Bedingungen. Vor allem die Änderungen der Tages- und Nachtganglinien von Licht und Temperatur beeinflussen maßgeblich die Reaktionskinetik von Mikroalgen. Das photoautotrophe Wachstum ist dabei vor allem von den starken Wechselwirkungen der beiden Größen Licht und Temperatur abhängig (Sandnes *et al.*, 2005; Sorokin & Krauss, 1962). Zudem konnte für *Nannochloropsis salina* bereits gezeigt werden, dass fluktuierende Lichtbedingungen ebenso wie Hell-Dunkel-Zyklen die Wachstumsrate erheblich beeinflussten: Die Anwendung von Lichtpulsen (*flashing light*) bewirkte, dass wesentlich höhere Bestrahlungsstärken ohne Reduktion der Wachstumsrate toleriert wurden (Sforza *et al.*, 2012b). Ergänzend dazu postulierten Sforza *et al.* (2012a), dass *Nannochloropsis salina* bei Kultivierung mit Hell-Dunkel-Zyklen (12:12) die Lichtphasen wesentlich effizienter für die Photosynthese nutzen und vergleichsweise höhere Wachstumsraten im Vergleich zur Dauerbestrahlung erreichen kann. Diese Beobachtungen werfen die Frage auf, ob unter konstanten Klimabedingungen ermittelte Reaktionskinetiken ohne Weiteres auf dynamische Bedingungen übertragbar sind. Um dies zu klären, soll zunächst eine der beiden *Nannochloropsis* sp. als potentieller Produktionsstamm für die Lipidbildung ausgewählt und mit sich dynamisch ändernder Bestrahlung und Temperatur kultiviert werden. Das Wachstum und die Lipidbildung soll parallel im Vergleich zu den experimentellen Daten mit den unter konstanten Bedingungen gültigen kinetischen Parametern simuliert werden. Für den Fall, dass die identifizierte Reaktionskinetik unter Tages- und Nachtganglinien von Licht und Temperatur keine Gültigkeit besitzt, soll in einem weiteren Schritt die Vergleichbarkeit von Wachstum und Lipidbildung mit dynamischer physikalischer Klimasimulation im Labor- und im Pilotmaßstab untersucht werden.

3 Theoretische Grundlagen

Das folgende Kapitel klärt den Begriff *Mikroalge* und gibt einen Überblick über die allgemeinen Merkmale sowie die verschiedenen Klassen beziehungsweise Gattungen dieser Mikroorganismengruppe. Es wird die Photosynthese als zentraler Stoffwechselweg mit möglichen Einflussfaktoren und deren Auswirkungen beschrieben, bevor Modellierungsansätze des phototrophen Wachstums vorgestellt werden. Abschließend wird der industrielle Nutzen von Mikroalgen für die Treibstoffgewinnung erläutert sowie mögliche Reaktorsysteme für die Kultivierung von Mikroalgen und deren Skalierbarkeit diskutiert.

3.1 Mikroalgen

Der Begriff *Alge* umfasst alle Photosynthese betreibenden Organismen, welche im Gegensatz zu Pflanzen nicht in Wurzel, Blatt und Stamm ausdifferenziert sind (Gualtieri & Barsanti, 2006). Algen sind hauptsächlich in aquatischen Lebensräumen beheimatet und können weiterhin in Makroalgen und Mikroalgen unterschieden werden: Die multizellulären Makroalgen, wie beispielsweise die Tange der Meeresküsten, werden etliche Meter lang, während Mikroalgen die mikroskopisch kleinen ein- oder mehrzelligen Vertreter der Algen sind (Soeder, 1971; Gualtieri & Barsanti, 2006).

3.1.1 Allgemeine Merkmale von Mikroalgen

Nachdem die Erdoberfläche zu über zwei Dritteln aus Wasser besteht, ist es nicht verwunderlich, dass Mikroalgen vermutlich den größten Teil der Primärproduktion der Erde erbringen und gleichzeitig die Ökologie der aquatischen Lebensräume sicherstellen (van den Hoek *et al.*, 1993; Gualtieri & Barsanti, 2006). Mikroalgen sind dabei nicht auf Ozeane beschränkt, sie sind ebenso in Süßwasser-Habitaten und sogar Salzseen zu finden. Neben den aquatischen Spezies existieren auch etliche andere Organismen, welche in Eisschichten polarer Regionen, in oder auf terrestrischen Habitaten wie Gestein, Schlamm oder Sand sowie auf anderen lebenden Organismen wie Pflanzen oder Tieren beheimatet sind (Gualtieri & Barsanti, 2006). Diese Biodiversität entwickelte sich vermutlich im Laufe der Evolution nach der Endosymbiontentheorie: Einfach gebaute eukaryotische Organismen nahmen prokaryotische Zellen auf, um diese als Zellorganellen nutzen zu können (van den Hoek *et al.*, 1993; Fischer & Chmiel, 2011). Bereits Anfang des 20. Jahrhunderts formulierte Mereschkowsky (1905) die Theorie, dass die *Chloroplasten* (Plastiden) von Pflanzenzellen ursprünglich eigenständige prokaryotische Blaualgenzellen waren, die zunächst in Symbiose mit den eukaryotischen Zellen lebten und allmählich zu deren Zellorganellen wurden. Mikroalgen, die nach der beschriebenen Theorie

der primären Endosymbiose entstanden, tragen einen Chloroplasten mit zwei Hüllmembranen, während die Aufnahme eines bereits plastidenhaltigen Eukaryoten nach der sekundären Endocytobiose zu mehr als zwei Hüllmembranen führt. Die in diesen Organellen enthaltenen Pigmente – vor allem Chlorophyll – sind nicht nur für die Färbung der Mikroalgen verantwortlich, sie sind auch maßgeblich an der oxygenen Photosynthese dieser photoautotrophen, selten mixotrophen, Organismen beteiligt (Sauermost & Freudig, 2004).

Die vegetative Reproduktion durch Zellteilung ist der häufigste Vermehrungsmechanismus bei Mikroalgen. Weitere Strategien der asexuellen Reproduktion sind die Fragmentierung sowie die Bildung von begeißelten Zoosporen (Andersen, 2013). Die Vermehrung durch Sporenbildung wurde erstmals von Blumenbach (1781) bei der Moosgattung *Fontinalis* beobachtet und beschrieben. Darüber hinaus sind einige Spezies in der Lage, sich sexuell über die Bildung haploider Gameten zu vermehren (Andersen, 2013).

Die große Biodiversität der Mikroalgen führt auch zu unterschiedlichen morphologischen und physiologischen Eigenschaften. Typischerweise sind Mikroalgen einzellige oder filamentöse Mikroorganismen mit einer Größe von 3-10 µm, die sich in ihrer Form deutlich unterscheiden (Rosello-Sastre, 2012). Einige Spezies besitzen keine Zellwand, bei den meisten eukaryotischen Mikroalgen ist diese jedoch aus Cellulose aufgebaut und kann verkalkt, verkieselt oder durch Platten und Schuppen verstärkt sein. Die Zellwand prokaryotischer Algen ist hingegen aus Peptidoglykan und Lipopolysacchariden aufgebaut. Alle Mikroalgen besitzen eine Plasmamembran, welche das Cytoplasma umschließt. In diesem sind je nach Spezies Zellorganellen wie Chloroplasten, Golgi-Apparat, Endoplasmatisches Retikulum, Ribosomen, Mitochondrien, Vakuolen und Lipid-Einschlusskörper lokalisiert (Andersen, 2013).

Aufgrund diverser positiver Eigenschaften rücken Mikroalgen mehr und mehr in den Fokus der aktuellen Forschung: Eine Besonderheit von Mikroalgen ist ihre fünffach erhöhte Flächenproduktivität gegenüber terrestrischen Nutzpflanzen. Oleogene Spezies sind zudem in der Lage intrazellulär über 50 % ihrer Biomasse als energiereiche Lipide einzulagern. Darüber hinaus können Mikroalgen in ariden Gegenden, die für die landwirtschaftliche Produktion ungeeignet sind, in Salz- oder Süßwasser kultiviert werden (Tredici, 2010). Für die Biomasseproduktion benötigen photoautotrophe Mikroalgen lediglich Sonnenlicht, Kohlenstoffdioxid und einige Nährstoffe wie beispielsweise Stickstoff, Phosphor, Schwefel oder Eisen (Posten, 2012). Kohlenstoffdioxid kann dabei aus der Atmosphäre, industriellen Abgasen oder löslichen Carbonaten fixiert werden (Wang *et al.*, 2008). Die essentiellen Nährstoffe wie Phosphor und Stickstoff können beispielsweise aus Abwasser gewonnen werden (Cantrell *et al.*, 2008). Der große Toleranzbereich von Mikroalgen bezüglich Temperatur, pH, Salzgehalt, Sauerstoff- und Kohlenstoffdioxidkonzentrationen macht eine Vielzahl von Mikroalgenpezies interessant für diverse Anwendungsgebiete wie beispielsweise in der kosmetischen oder pharmazeutischen Industrie (Gualtieri & Barsanti, 2006).

3.1.2 Klassifizierung von Mikroalgen

Bisher wurden über 35.000 Mikroalgenspezies beschrieben, wobei die geschätzte Anzahl existenter Spezies mit über 150.000 bis mehreren Millionen deutlich höher liegt (Norton *et al.*, 1996). Bei der Einteilung der Mikroalgen in die verschiedenen Abteilungen spielt vor allem die Art und Zusammensetzung der Photosynthesepigmente eine bedeutende Rolle. Dementsprechend enthalten die unterschiedlichen Algenabteilungen und -klassen bereits einen Hinweis auf die Farbe der eingeordneten Algen. Weiterhin wichtig bei der Einteilung der Algen ist die Zusammensetzung der Speicherstoffe und Zellwände sowie cytologische und morphologische Merkmale wie der Ablauf der Mitose und Cytokinese, die Begeißelung, die Stapelung der Thylakoide sowie die Anzahl der Hüllmembranen des Chloroplasten. Zunächst werden Mikroalgen in eukaryotische und prokaryotische Spezies unterteilt; letztere werden als *Cyanophyta* (Cyanobakterien) bezeichnet und bilden eine eigene Abteilung der Algen, welche nicht in Klassen unterteilt wird. Die eukaryotischen Mikroalgen werden nach van den Hoek *et al.* (1993) in 20 weitere Abteilungen eingeordnet, welche zum Teil in weitere Klassen differenziert sind. Die wohl wichtigsten eukaryotischen Algen gehören den *Heterokontophyta* – vor allem den Klassen *Eustigmatophyceae* und *Bacillariophyceae* (Diatomeen, Kieselalgen) – sowie *Chlorophyta* (Grünalgen) an (van den Hoek *et al.*, 1993).

Cyanophyta

Die prokaryotischen Cyanobakterien (Blaualgen) besitzen weder einen Kern, noch einen Golgi-Apparat, Mitochondrien oder ein Endoplasmatisches Retikulum. Es existieren sowohl einzellige, koloniebildende, fädige als auch einfach parenchymatische Blaualgen, welche niemals begeißelt sind. Die Thylakoide liegen einzeln und in gleichem Abstand voneinander frei im Protoplasma vor und enthalten lediglich Chlorophyll a – die Chlorophylle b und c fehlen. Die Zellen sind jedoch nicht grün, sondern blaugrün bis violett gefärbt, da blaue und rote akzessorische Pigmente (Phycocyanin und Phycoerythrin) das Chlorophyll maskieren. Die feste Zellwand der Cyanobakterien besteht aus Peptidoglykanen, ummantelt von Lipopolysacchariden. Diese Organismen sind im Salz- sowie Süßwasser als auch in terrestrischen Lebensräumen zu finden und vermehren sich lediglich vegetativ (van den Hoek *et al.*, 1993; Andersen, 2013).

Chlorophyta

Die Abteilung der Grünalgen beinhaltet etwa 8.000 verschiedene Arten und umfasst zahlreiche einzellige oder koloniebildende, planktische Algen mit einer großen morphologischen Variabilität. Viele Gattungen sind in Süß- oder Brackwasser-Habitaten, einige jedoch auch in marinen oder terrestrischen Umgebungen zu finden. Die begeißelten Zellen der Grünalgen tragen meist mindestens zwei Geißeln, welche mit feinen Haaren oder Schuppen bedeckt sein können. Der Chloroplast der Grünalgen wird lediglich von einer Membranhülle umschlossen und beinhaltet die Thylakoide in unterschiedlicher Zahl zu Stapeln vereinigt, wobei Gürtellamellen fehlen. Die Chloroplasten beinhalten sowohl Chlorophyll a als auch c, akzessorische

Pigmente sind vor allem Lutein, Zeaxanthin, Violaxanthin, Antheraxanthin sowie Neoxanthin. Der wichtigste Energiespeicherstoff ist Stärke, welche im Chloroplasten als *Stromastärke*, bestehend aus Amylose und Amylopektin, verbleibt. Die meisten Grünalgen werden von einer Zellwand aus Cellulose umgeben. Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeiten sind Grünalgen sehr schwer von Moosen und Gefäßpflanzen zu unterscheiden (van den Hoek *et al.*, 1993; Andersen, 2013).

Heterokontophyta

Kieselalgen oder Diatomeen (*Bacillariophyceae*) sind einzellige oder koloniebildende kokkale Algen, welche von einem *Frustulum* (Kieselsäurewand) umgeben sind. Bei den meisten Arten dieser Klasse fehlt die Begeißelung, lediglich die männlichen Gameten einiger Arten tragen eine apikale Geißel. In den Chloroplasten ist Chlorophyll a und c enthalten, welches jedoch durch das akzessorische Pigment Fucoxanthin maskiert wird und so eine goldbraune Färbung der Zellen hervorruft. Im Gegensatz zu den *Eustigmatophyceae* besitzt diese Algenklasse eine Gürtellamelle. Die Zellwand der Diatomeen wird in Vesikeln gebildet und zugunsten einer offenen Mitose abgebaut. Kieselalgen sind hauptsächlich im Süß- und Salzwasser – das Phytoplankton besteht überwiegend aus Kieselalgen – und auf feuchtem Boden zu finden (van den Hoek *et al.*, 1993; Andersen, 2013).

Mikroalgen aus der Klasse der *Eustigmatophyceae* bestehen aus einer Wand aus Polysacchariden und sind einzellige, runde bis kokkale Organismen, oftmals mit einer bis zwei apikal ansetzenden Geißeln. Die begeißelten Zellen besitzen einen speziellen Photorezeptor – ein auffällig orangeroter Augenfleck außerhalb des Chloroplasten – bestehend aus nicht-membrangebundenen Carotinoiden. Jede Zelle beherbergt mindestens einen Chloroplasten, welcher lediglich Chlorophyll a und keine Gürtellamelle (peripherer Stapel aus drei Thylakoiden) enthält. Das bedeutendste akzessorische Lichtsammel-Pigment ist Violaxanthin, wobei auch β -Carotin, Vaucheriaxanthin und weitere Xantophylle vorliegen. Die vorliegenden Carotinoide sorgen vor allem in Stresssituationen für eine orange bis orangerote Färbung der Organismen. Algen, die dieser Klasse zuzuordnen sind, vermehren sich durch Zoosporen sowie Autosporen und sind hauptsächlich im Süßwasser oder terrestrisch verbreitet (van den Hoek *et al.*, 1993; Andersen, 2013).

3.1.3 Die Gattung *Nannochloropsis*

Mikroalgen der Gattung *Nannochloropsis* werden der Klasse der *Eustigmatophyceae* zugeordnet und besitzen somit eine Polysaccharid-Zellwand. Im Gegensatz zu allen anderen Arten dieser Klasse, ist dieser picoplanktonische Genus in marinen Habitaten angesiedelt. Die Zellen treten einzeln auf, sind sphärisch bis leicht oval und haben einen Durchmesser von 2-4 μm . *Nannochloropsis* sp. beherbergen lediglich einen einzigen Chloroplasten mit mehreren Bändern photosynthetisch aktiver Lamellen. Die Thylakoide sind in Dreierstapeln angeordnet und beinhalten diverse Carotinoide sowie Chlorophyll a. Letzteres sorgt unter unlimitierten Bedingungen für eine intensive Grünfärbung der Algen, während eine Stickstoff-Limitierung die Algen grün-gelb bis orange färbt. *Nannochloropsis* sp. lagern keine Stärke als Reservestoff ein, stattdessen

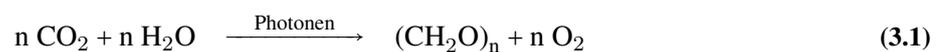
sind sie in der Lage, einen erheblichen Teil ihrer Energie als mehrfach ungesättigte Fettsäuren wie Eicosapentaensäure (EPA, *eicosapentaenoic acid*, C20:5) zu akkumulieren. Diese Eigenschaft sowie die hohen Wachstumsraten unter optimalen Bedingungen machen diese Gattung äußerst interessant für die Produktion regenerativer Kraftstoffe. Zudem sind *Nannochloropsis* sp. dafür bekannt, kaum zu sedimentieren und robust gegenüber Scherkräften zu sein (Boussiba *et al.*, 1987; van den Hoek *et al.*, 1993; Andersen, 2013). Weiterhin können diese Mikroalgen mit Abwasser als Nährstoffquelle kultiviert werden (Ledda *et al.*, 2015) und tolerieren hohe Temperaturen genauso wie hohe Bestrahlungsstärken (Figueroa *et al.*, 1997; Rodolfi *et al.*, 2009). Die Möglichkeit hohe Salzkonzentrationen anzuwenden und so das Kontaminationsrisiko gering zu halten, erleichtert die Massenkultivierung von *Nannochloropsis* sp. in offenen Photobioreaktoren (Amaro *et al.*, 2011).

3.2 Phototropher Metabolismus

Mikroalgen gewinnen die für alle metabolischen Vorgänge notwendige Energie mittels Photosynthese und sind in der Lage, sich mithilfe diverser Anpassungs- und Schutzmechanismen an unterschiedliche Licht- und Umgebungsbedingungen anzupassen.

3.2.1 Photosynthese

Etwa 50 % der auf die Erdoberfläche auftreffenden Lichtenergie ($0,42 \text{ kW}\cdot\text{m}^{-2}$) können der photosynthetisch nutzbaren Strahlung (PAR, *photosynthetically active radiation*) zugeordnet werden. Diese Strahlung dient photosynthetisch aktiven Organismen zur Energiegewinnung, wobei die globale Photosynthese-Aktivität zu 50 % den Algen zugeschrieben werden kann. Im Rahmen der Photosynthese absorbieren Algen die Energie des Sonnenlichts in Form von Photonen und setzen diese nach Gleichung 3.1 mit einem Wirkungsgrad von 50 % in chemische Energie in Form von reduzierten organischen Verbindungen (CH_2O) um (Berg *et al.*, 2012; Chmiel, 2011; Gualtieri & Barsanti, 2006).



Die Photosynthese gliedert sich in die Licht- sowie die Dunkelreaktion und findet in membrangebundenen, intrazellulären Organellen – den Chloroplasten (Abbildung 3.1) – statt (Nelson *et al.*, 2001). Je nach Abteilerung der Algen sind die Chloroplasten von zwei bis vier Hüllmembranen umgeben, wobei innere und äußere Membran den Intermembranraum umschließen. Die äußere Membran ist für kleine Moleküle und Ionen durchlässig, während die innere Membran vergleichsweise impermeabel ist und das Stroma einschließt. Dieses enthält die in Stapeln – den *Grana* – angeordneten scheibenartigen Vesikel (*Thylakoide*), deren Membran der Ort der photosynthetischen Lichtreaktion (Abbildung 3.2) ist (Berg *et al.*, 2012; Häder, 1999). Die Thyla-

koide sind in der Regel etwa 24 nm dick und umschließen mit ihrer Membran das Lumen mit einem Ausmaß von etwa 10 nm, während *Stromalamellen* die Verbindung zwischen den Vesikeln darstellen (Gualtieri & Barsanti, 2006).

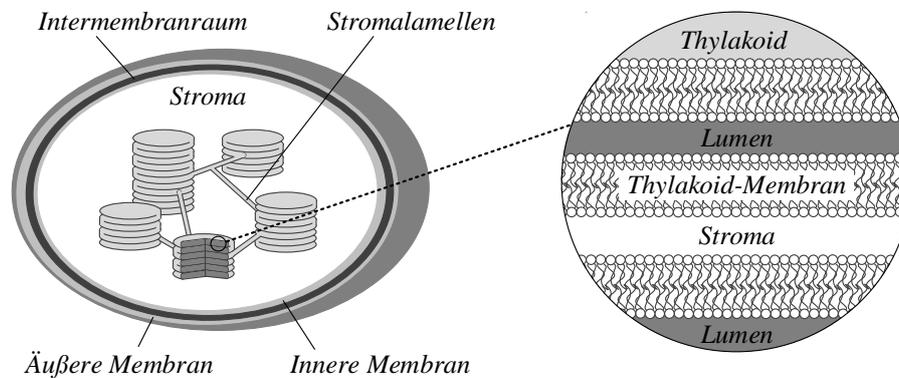


Abbildung 3.1: Schematische Darstellung eines Chloroplasten mit mehreren Thylakoiden, welche in Stapeln (Grana) und Stromalamellen angeordnet und vom Stroma umgeben sind. Die Thylakoid-Membran schließt das Lumen ein (nach Nelson *et al.* (2001)).

Die lichtabhängige Reaktion führt zunächst zur Photolyse von Wasser und weiterhin zur Freisetzung von Energie in Form von Adenosintriphosphat (ATP) sowie Nicotinamidadenindinukleotidphosphat (NADPH). Die beiden letzteren werden in der lichtunabhängigen Dunkelreaktion im Stroma der Thylakoide genutzt, um Kohlenstoffdioxid (CO_2) zu fixieren und organische Verbindungen zu synthetisieren (Abbildung 3.2). Der bei der Photolyse des Wassers freiwerdende Sauerstoff wird in die Atmosphäre abgegeben und steht so aeroben heterotrophen Organismen zur Verfügung. Das bei der Atmung heterotropher Organismen freiwerdende CO_2 gelangt in die Atmosphäre zurück, wodurch sich der Kreislauf von CO_2 und O_2 in der Biosphäre schließt (Nelson *et al.*, 2001).

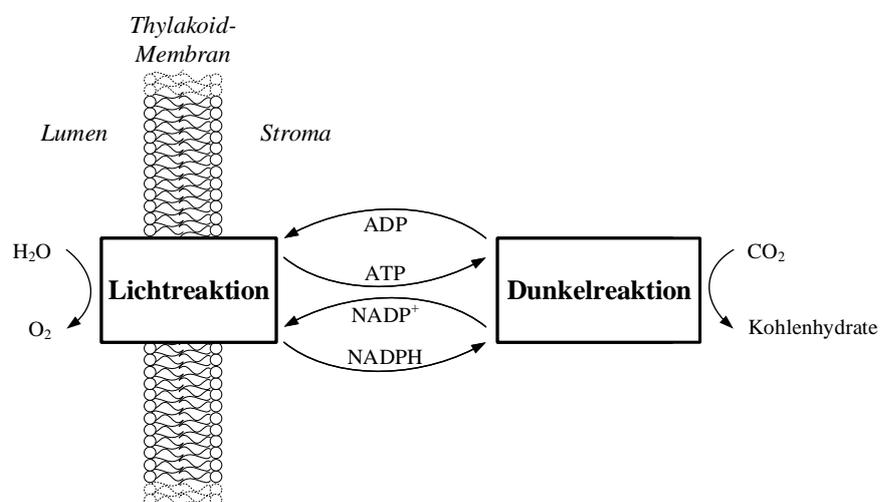


Abbildung 3.2: Schematische Übersicht der Photosynthese mit Licht- und Dunkelreaktion in den Chloroplasten.

Lichtreaktion

Die Lichtreaktion der Photosynthese dient primär der Umwandlung der Lichtenergie in Reduktionsäquivalente und chemische Energie. Die Energie der Photonen wird dabei von einem Lichtsammelkomplex (LHC, *light harvesting complex*) bzw. den darin enthaltenen Pigmenten absorbiert. In Lichtsammelkomplexen von Mikroalgen (Abbildung 3.3) ist hauptsächlich Chlorophyll mit spezifischen Bindungsproteinen nicht-kovalent assoziiert, ergänzt durch die akzessorischen Pigmente aus der Klasse der Carotinoide (Häder, 1999; van den Hoek *et al.*, 1993; Nelson *et al.*, 2001). Die Carotinoide absorbieren Licht bei anderen Wellenlängen als das Chlorophyll a und stellen somit zusätzliche Lichtrezeptoren dar (Berg *et al.*, 2012). Eine weitere Funktion der Carotinoide ist der Schutz der Photosysteme vor freien Sauerstoffradikalen.

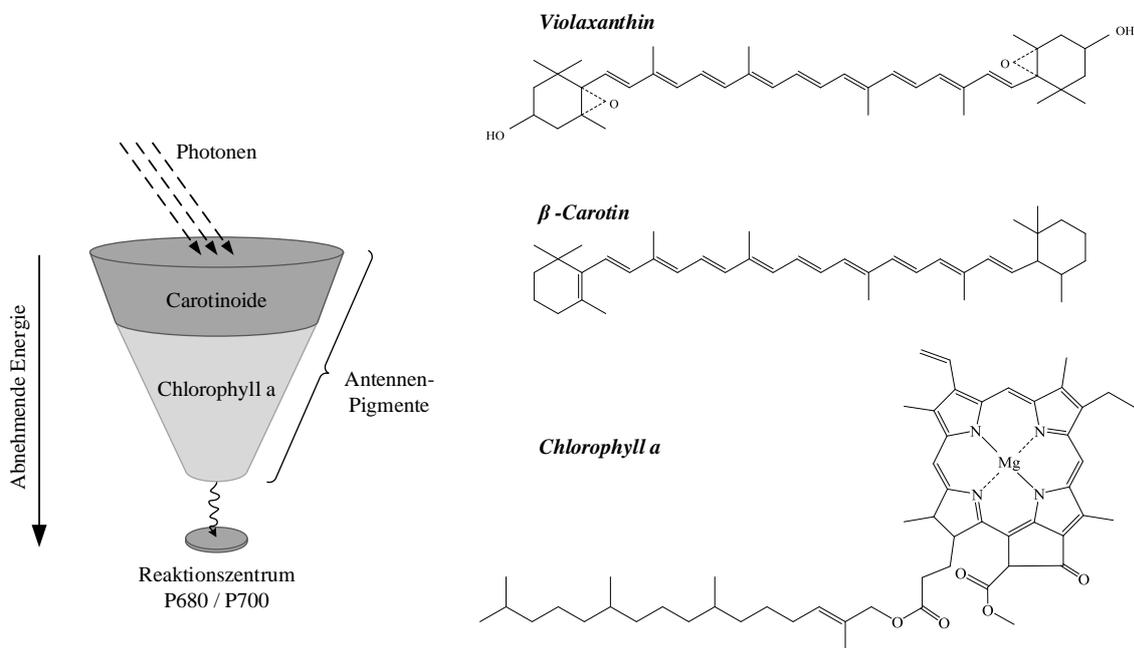


Abbildung 3.3: Schematische Darstellung eines Lichtsammelkomplexes in Mikroalgen. Chlorophyll a und Carotinoide stellen die Antennenpigmente dar und dienen der Absorption und Weiterleitung der Lichtenergie bis zu einem Reaktionszentrum. Das wichtigste akzessorische Pigment in Mikroalgen der Klasse *Eugstigmatophyceae* ist das Xantophyll Violaxanthin; ergänzt wird der Lichtsammelkomplex durch β -Carotin.

In Mikroalgen der Klasse *Eugstigmatophyceae* ist das Xantophyll Violaxanthin (Abbildung 3.3) das wichtigste akzessorische Pigment, gefolgt von β -Carotin und weiteren unbedeutenden Xantophyllen (van den Hoek *et al.*, 1993). Die konjugierten Doppelbindungen der Carotinoide sind ausschlaggebend für die gelbe bis rote Färbung der Pigmente und rufen je nach Anzahl und Lage unterschiedliche Absorptionsmaxima im Bereich von 400 bis 500 nm hervor. Carotinoide sind lipophil und meist aus 8-Prenyl-Einheiten aufgebaut, weshalb sie zur Klasse der Tetraterpene zählen. Die nicht-sauerstoffhaltigen Carotinoide werden als Carotine bezeichnet, während die sauerstoffhaltigen Derivate den Xantophyllen zuzuordnen sind (Nelson *et al.*, 2001; Sauermost & Freudig, 2004).

Chlorophyll a besteht aus vier über Methinbrücken ringförmig verknüpften Pyrrolringen, welche Magnesium als zentrales Metallatom einschließen (Abbildung 3.3). Somit ergibt sich die Grundstruktur eines Porphyringerüsts, dessen konjugierte Doppelbindungen die Grünfärbung dieses Pigmentes hervorrufen. Mithilfe des lipophilen Phytolrestes wird das Chlorophyll a-Molekül in der Thylakoid-Membran verankert. Chlorophyll a besitzt zwei Absorptionsmaxima im Bereich um 420 und 680 nm und ergänzt so die spektralen Eigenschaften der Carotinoide. In den Reaktionszentren der Lichtsammelkomplexe sind Chlorophyll a-Moleküle mit jeweils einem Elektronendonator und einem Elektronenakzeptor assoziiert und werden als Photosysteme (I und II) bezeichnet. Das Photosystem I (P700) absorbiert dabei Licht bei 700 nm, während das Photosystem II (P680) von Photonen der Wellenlänge 680 nm angeregt wird. Somit ist die zur Anregung erforderliche Energie aufgrund der größeren Wellenlänge bei P700 etwas geringer als bei P680, was einen Übergang der Anregungsenergie von P680 auf P700 bei räumlicher Nähe der Photosysteme begünstigen würde. Damit wäre das Photosystem II dauerhaft zu schwach angeregt, was in einem reduzierten Wirkungsgrad der Lichtreaktion resultieren würde. Um diese Beeinträchtigung der Photosyntheseeffizienz auszuschließen, sind die beiden Photosysteme in Mikroalgen räumlich in der Thylakoid-Membran getrennt (Gualtieri & Barsanti, 2006; Häder, 1999; Nelson *et al.*, 2001; Sauermost & Freudig, 2004).

Je nach Art des Elektronenakzeptors werden die Reaktionszentren analog zu der Benennung der Photosysteme als Typ I- und Typ II-Reaktionszentren bezeichnet: In Typ I-Reaktionszentren dienen Eisen-Schwefel-Cluster als Elektronenakzeptoren, während Chinone diese Funktion in den Typ II-Reaktionszentren erfüllen. Die Grundlage für die primäre Ladungstrennung und somit auch die Antennenfunktion der Lichtsammelkomplexe bilden zwei verschiedene Elementarfunktionen: In Abhängigkeit von der Kopplung zweier Pigmente kann ein strahlungsloser *Excitonentransfer* oder ein intermolekularer *Elektronentransfer* (Photoredoxreaktion) stattfinden. Je nach Art des Elektronentransports werden die zyklische (zyklischer Elektronentransport) und die nicht-zyklische (linearer Elektronentransport) Photophosphorylierung unterschieden. Im Zuge des linearen Elektronentransportes wird die für die endergonische Reduktion von NADP^+ notwendige Energiedifferenz ausschließlich durch die Absorption von Lichtenergie in Form von Photonen durch die beiden Photosysteme I und II aufgebracht (Abbildung 3.4). Vor, zwischen und nach den beiden Photosystemen ist der Elektronentransport exergonisch und wird durch das thermodynamische Gefälle angetrieben. Nachdem das Photosystem II vorwiegend in Granathylakoiden und das Photosystem I in Stromalamellen lokalisiert ist (Abbildung 3.4), müssen die zwischengeschalteten Redoxsysteme als Vermittler fungieren. Lediglich Plastochinon (PQ) kann mit einem Diffusionskoeffizient von $10^{-8} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ die Aufgabe als schnell diffundierendes System erfüllen. Zudem ist diese Komponente des Photosyntheseapparates nicht nur lateral beweglich, sondern als einzige auch transmembrangängig (Häder, 1999; Berg *et al.*, 2012; Nelson *et al.*, 2001).

Die Einleitung der Oxidations-Reduktions-Kette der Photosynthese wird durch die elektrische Ladungstrennung mittels Lichtanregung induziert: Die Absorption von Licht durch einen Lichtsammelkomplex führt

zur Anregung eines Antennen-Chlorophylls (Abbildung 3.3), welches wiederum, je nach Wechselwirkung, die Energie auf ein benachbartes Molekül mittels Exciton- oder Elektronentransfer überträgt. Die weitergeleitete Energie erreicht schließlich ein Chlorophyll a-Dimer im photochemischen Reaktionszentrum P680, wobei ein Elektron auf ein energetisch höheres Orbital $P680^*$ angehoben wird (Abbildung 3.4). In der Folge wird dieses zu einem Radikal-Kation $P680^{\bullet+}$ oxidiert, während gleichzeitig ein magnesiumfreies Chlorophyll a (*Phaeophytin*) reduziert wird. Letzteres reduziert wiederum ein Plastochinon (Q_A), welches ein weiteres gebundenes Chinon (Q_B) reduziert. Diese Reaktionsabfolge wiederholt sich ein weiteres Mal, bevor das Plastochinon vollständig zu Plastohydrochinon (PQH_2) reduziert ist und den Komplex verlässt (Abbildung 3.5). Das oxidierte $P680^{\bullet+}$ wird durch ein Tyrosin des gebundenen Heterodimers aus den Polypeptiden D1 und D2 regeneriert, indem das Mangan-Cluster des Wasserspaltungssystems oxidiert wird. Zur vollständigen Oxidation dieses Clusters sind vier Wiederholungen dieser Reaktion notwendig, wobei in endgültiger Konsequenz Wasser im Thylakoid-Lumen in Sauerstoff, Protonen und Elektronen gespalten wird. Wasser fungiert somit als Elektronendonator und füllt die entstandene Elektronenlücke im Orbital des P680 auf (Gualtieri & Barsanti, 2006; Häder, 1999; Nelson *et al.*, 2001).

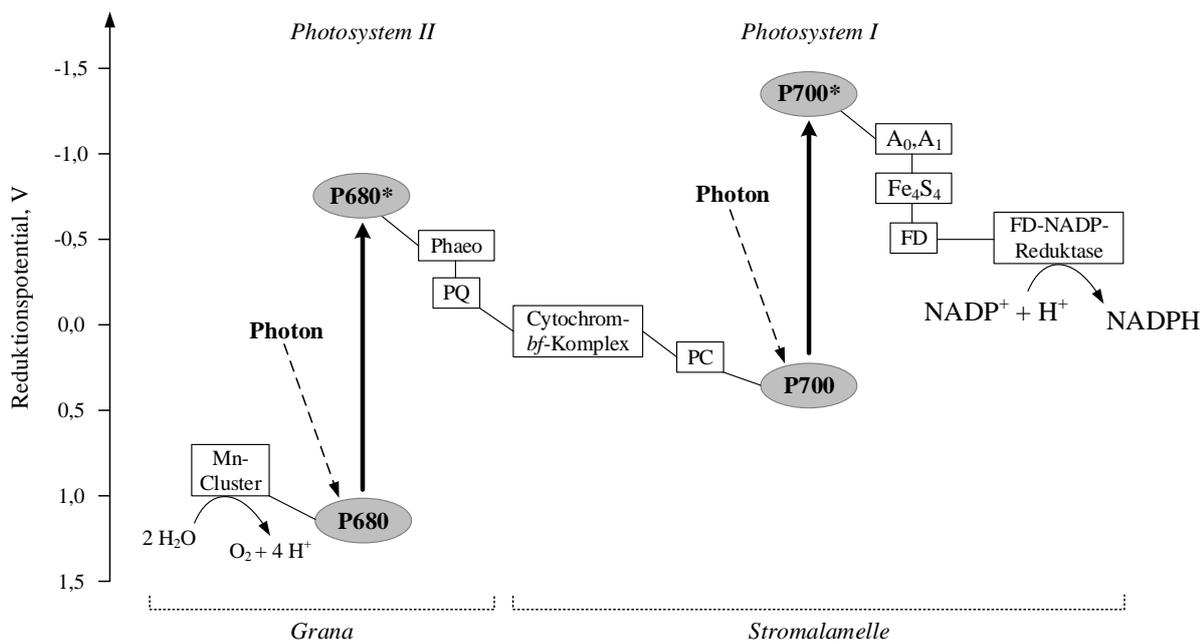
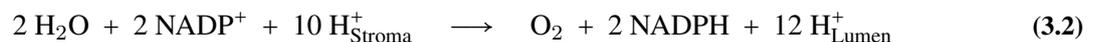


Abbildung 3.4: Darstellung des linearen Elektronentransportes der Photosynthese in einem Energiediagramm (Z-Schema, nach Berg *et al.* (2012); Häder (1999)). Wasser wird in einem Mangan-Cluster zu Sauerstoff und Protonen oxidiert, die dabei freiwerdenden Elektronen werden linear über zwei Photosysteme (II und I) und die Ferredoxin-NADP-Oxidoreduktase auf $NADP^+$ übertragen, wobei NADPH entsteht. Die dafür notwendige Energie wird in Form von Licht der Wellenlänge 680 (P680) und 700 nm (P700) absorbiert. Die Elektronentransportkette besteht ferner aus Phaeophytin (Phaeo), Plastochinonen (PQ), dem Cytochrom *bf*-Komplex, Plastocyanin (PC), den Elektronenakzeptoren A_0 (monomeres Chlorophyll) und A_1 (Naphthochinon), Eisen-Schwefel-Clustern (Fe_4S_4) sowie Ferredoxin (FD).

Das reduzierte Plastohydrochinon (PQH_2) diffundiert in der Thylakoid-Membran zu einem Cytochrom *b₆f*-Komplex und wird dort zu Plastochinon (PQ) oxidiert, während ein Plastocyanin reduziert wird. Nach-

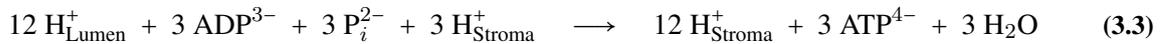
dem Plastohydrochinon zwei Elektronen übertragen kann, Plastocyanin jedoch nur eines, spaltet sich die Hydrochinon-Oxidation in zwei Schritte auf: Zunächst wird das Plastohydrochinon nach Bindung an das Eisen-Schwefel-Zentrum des *Rieske*-Proteins zum Semichinon reduziert. Das Semichinon wird von der *b*-Untereinheit des Komplexes zum Chinon (PQ) reduziert, während das *Rieske*-Zentrum durch das Cytochrom *f* regeneriert wird. Die *f*-Untereinheit des Komplexes überträgt schließlich ein Elektron auf ein Plastocyanin. Pro übertragenem Elektron e^- wird dabei ein Proton H^+ aus dem Stroma in das Thylakoid-Lumen transloziert.

Das Reaktionszentrum des Photosystem I wird schließlich ebenfalls durch Photonen angeregt, wobei es zur primären Ladungstrennung des angeregten Chlorophyll a-Dimers $P700^*$ kommt. Das angeregte Reaktionszentrum wird zu $P700^{\bullet+}$ oxidiert, während der primäre Elektronenakzeptor (A_0) – ein monomeres Chlorophyll a – reduziert wird. Dieser wiederum reduziert über ein Naphthochinon (A_1) und drei Eisen-Schwefel-Zentren das peripher beweglich gebundene Ferredoxin (FD). Letzteres reduziert schließlich im nicht-zyklischen Elektronentransport $NADP^+$ zu NADPH über die Ferredoxin-NADP-Reduktase (FNR). Das $P700^{\bullet+}$ wird lumenseitig durch das dem Cytochrom *b₆f*-Komplex entstammende Plastocyanin regeneriert. Für die Reduktion von $NADP^+$ zu NADPH müssen zwei Elektronen von Wasser übertragen werden, was die zweimalige Anregung der beiden Photosysteme durch insgesamt vier Photonen erfordert. Für die Bildung eines Mol Sauerstoff werden jedoch vier Elektronen über die Elektronentransportkette bewegt und somit acht Photonen absorbiert. Die Netto-Reaktion des linearen Elektronentransportes ergibt sich damit zu (Häder, 1999; Nelson *et al.*, 2001):

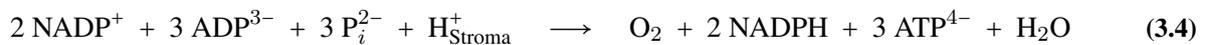


Durch den linearen Elektronentransport wird durch elektrogene und Translokations-Schritte in das Lumen ein Protonenpotential über die Thylakoid-Membran aufgebaut, welches der Synthese von Adenosintriphosphat dient. Somit konservieren diese Reaktionen aus Sicht der *chemiosmotischen Theorie* die Redoxpotentialdifferenz zwischen NADPH und O_2 (-220 kJ) in Form von ATP: Durch den Elektronentransport wird die Kopplungsmembran elektrisch aufgeladen. Dies führt dazu, dass auf der elektronegativen Seite (Stroma) Protonen aufgenommen und an der elektropositiven Seite (Lumen) abgegeben werden. Die dabei entstehende pH-Differenz ist der Triebkraft der elektrischen Potentialdifferenz gleichgerichtet und bildet in Summe mit der Potentialdifferenz die protonenmotorische Kraft (pmf, *proton motive force*), welche die ATP-Synthase antreibt. Diese wiederum verknüpft in der peripheren F_1 -Einheit Adenosindiphosphat (ADP) über eine Anhydridbindung mit Phosphat (P_i) zu ATP (Abbildung 3.5). Für die Synthese eines Moleküls ATP werden dabei vier Protonen über den membranständigen F_0 -Teil der ATP-Synthase transportiert (Häder, 1999; Nelson *et al.*, 2001). Da pro Elektron drei Protonen transloziert werden (Sacksteder *et al.*, 2000) und zur Bildung

eines Moleküls Sauerstoff vier Elektronen transportiert werden, führt dies im Umkehrschluss zur Synthese von drei Molekülen ATP:



Im Gegensatz zum linearen Elektronentransport sind am zyklischen Elektronentransport lediglich das Photosystem I und der Cytochrom *b₆f*-Komplex beteiligt, wobei pro Zyklus ein ATP gebildet wird. Die Stöchiometrie der lichtabhängigen NADPH- und ATP-Synthese durch lineare Photophosphorylierung ergibt sich in Summe zu Gleichung 3.4, wobei der Energiegewinn pro Molekül Sauerstoff (8 Photonen) insgesamt 536 kJ beträgt. Dabei entstammen 440 kJ der Redoxpotentialdifferenz (2·220 kJ) bei der Bildung von 2 Mol NADPH und 96 kJ der Synthese von drei Mol ATP (Häder, 1999).



Im Rahmen der Lichtreaktion wird somit das Reduktionsäquivalent NADPH und das durch Photophosphorylierung synthetisierte ATP von Mikroalgen in das Stroma abgegeben und in einem geeigneten molaren Verhältnis von 2:3 der Dunkelreaktion der Photosynthese zugeführt (Nelson *et al.*, 2001).

Dunkelreaktion

Die Dunkelreaktion der Photosynthese findet im Stroma des Chloroplasten statt und dient den Mikroalgen unter Verbrauch von NADPH und ATP zur Fixierung anorganischen Kohlenstoffs in Form von CO₂ in Kohlenhydrate. Diese CO₂-Assimilation wird auch *Calvin-Benson-Bassham-Zyklus* (Calvin-Zyklus) genannt und findet trotz der Lichtunabhängigkeit nicht im Dunkeln, sondern ausschließlich simultan mit der Lichtreaktion statt. Der Calvin-Zyklus gliedert sich in drei Schritte: Carboxylierung, Reduktion und Regeneration (Abbildung 3.5).

Der Initialschritt des Calvin-Zyklus ist die Carboxylierung von Ribulose-1,5-bisphosphat (RuBP) durch das Enzym Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase (*Rubisco*), wobei 2 Moleküle 3-Phosphoglycerat (3-PG) entstehen. Diese Dismutation ist exergonisch und verläuft irreversibel. Im zweiten Schritt des Calvin-Zyklus wird 3-Phosphoglycerat zu Glycerinaldehyd-3-phosphat (G3P) reduziert, wobei dem eigentlichen Reduktionsschritt die Aktivierung durch Phosphorylierung der Carboxylgruppe des 3-Phosphoglycerats vorausgeht. Dabei wird unter Verbrauch von einem Molekül ATP pro Molekül 3-Phosphoglycerat das Intermediat 1,3-Bisphosphoglycerat (1,3-BPG) gebildet. Dieses gemischte Anhydrid wird daraufhin von der Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase unter Verbrauch eines Reduktionsäquivalents NADPH pro Molekül 1,3-Bisphosphoglycerat zu Glycerinaldehyd-3-phosphat reduziert. Letzteres kann über die Triosephosphat-Isomerase in Dihydroxyacetonphosphat (DHAP) umgewandelt werden. Die so entstandenen Triosephosphate (G3P und DHAP) werden im Regenerationsschritt des Calvin-Zyklus über mehrere Zwischenreaktionen in

Hexose-, Tetrose sowie Heptulosephosphate und schließlich in das Pentosephosphat Ribulose-5-phosphat (Ru5P) umgewandelt, wobei Phosphat abgespalten wird. Das Ribulose-5-phosphat wird im finalen Schritt der Regeneration durch die Ru5P-Kinase unter ATP-Verbrauch zu Ribulose-1,5-bisphosphat phosphoryliert.

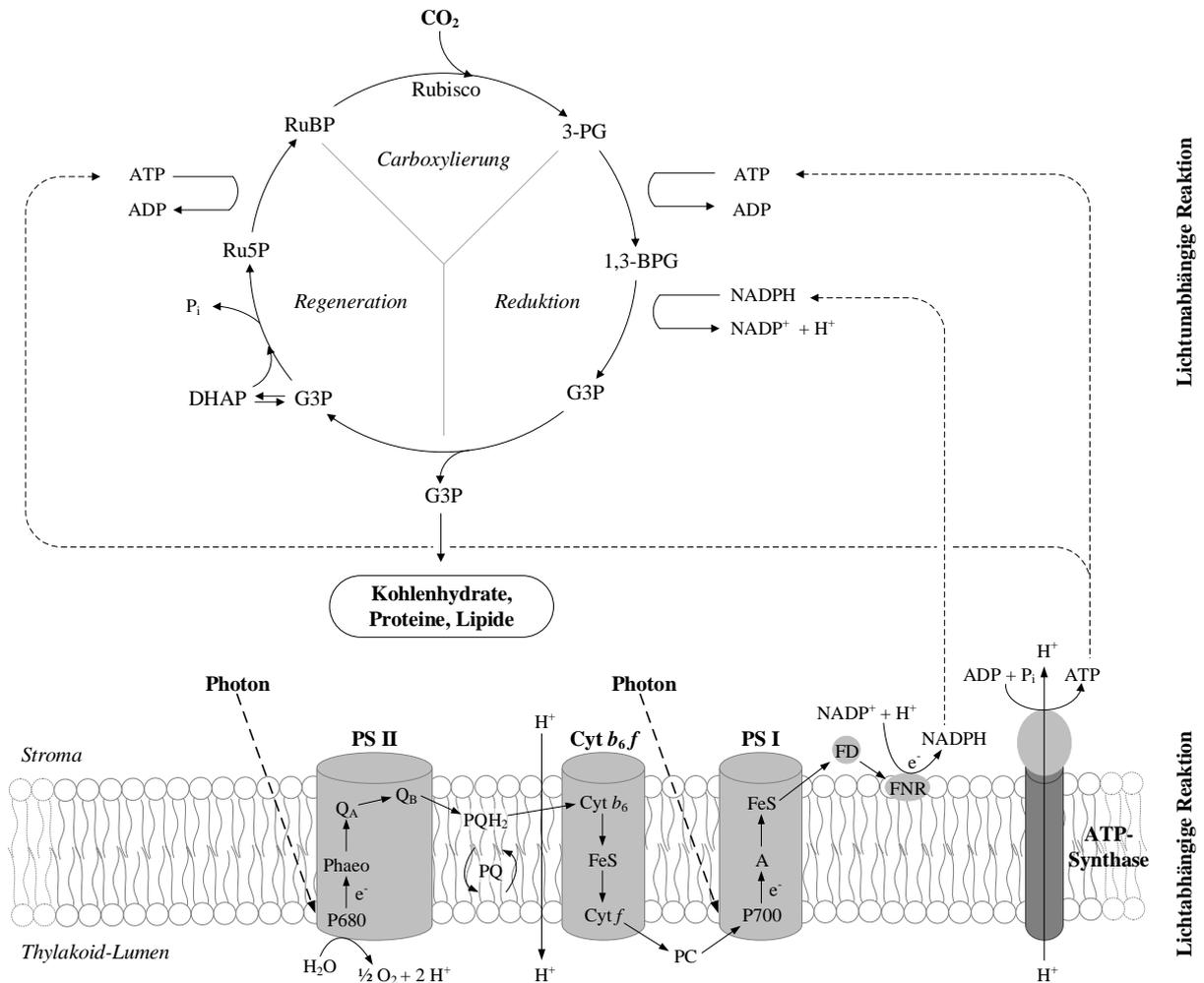


Abbildung 3.5: Schematische Darstellung der lichtabhängigen sowie lichtunabhängigen Reaktion der Photosynthese (nach Gualtieri & Barsanti (2006); Nelson *et al.* (2001)).

Lichtabhängige Reaktion: In der Thylakoid-Membran sind mehrere Protein-Komplexe lokalisiert, welche nach Anregung durch Photonen als Elektronenüberträger von Wasser auf den finalen Akzeptor NADP^+ fungieren. Dabei entsteht ein Protonengradient (H^+) über die Membran, welcher eine ATP-Synthase antreibt und so zur Bildung von Energie in Form von ATP führt. PS II - Photosystem II mit dem Reaktionszentrum P680, Phaeo - Phaeophytin, Q_A/Q_B - gebundene Plastochinone, PQH_2 - Hydrochinon, PQ - Plastochinone, Cyt b_6/f - Cytochrome, FeS - Eisen-Schwefel-Proteine, PC - Plastocyanin, PS I - Photosystem I mit Reaktionszentrum P700, A - Akzeptor, FD - Ferredoxin, FNR - Ferredoxin-NADP-Reduktase;

Lichtunabhängige Reaktion: Im Stroma der Chloroplasten wird die Energie bzw. das Reduktionspotential der Lichtreaktion im Calvin-Zyklus genutzt, um Kohlenhydrate, Proteine und Lipide aufzubauen. 3-PG - 3-Phosphoglycerat, 1,3-BPG - 1,3-Bisphosphoglycerat, G3P - Glycerinaldehyd-3-phosphat, DHAP - Dihydroxyacetonphosphat, P_i - Phosphat, Ru5P - Ribulose-5-phosphat, RuBP - Ribulose-1,5-bisphosphat.

Um im Calvin-Zyklus ein Molekül Glycerinaldehyd-3-phosphat für den Aufbau von Kohlenhydraten, Proteinen und Lipiden zu generieren, kondensieren insgesamt drei Moleküle CO_2 mit drei Molekülen Ribulose-1,5-bisphosphat zu sechs Molekülen 3-Phosphoglycerat. Diese werden unter dem Verbrauch von sechs ATP

und sechs NADPH zu sechs Molekülen Glycerinaldehyd-3-phosphat reduziert, welches mit Dihydroxyacetonphosphat im Gleichgewicht steht. Das Netto-Produkt der Kohlenstoff-Fixierung ist somit ein Molekül Triosephosphat, da die übrigen fünf Moleküle für die Regeneration von drei Ribulose-1,5-bisphosphat unter dem Verbrauch von drei ATP benötigt werden. In Summe werden somit sechs Moleküle NADPH und 9 Moleküle ATP (Verhältnis 2:3) für die photosynthetische CO₂-Fixierung benötigt. Das Endprodukt der CO₂-Fixierung (Glycerinaldehyd-3-phosphat) wird von Mikroalgen entweder in Stärke als Energie gespeichert oder als Dihydroxyacetonphosphat über spezifische Transporter aus den Chloroplasten in das Cytoplasma ausgeschleust. Dort kann es entweder zur direkten Energiegewinnung glycolytisch abgebaut oder zur Bildung weiterer Zellbestandteile genutzt werden (Gualtieri & Barsanti, 2006; Häder, 1999; Wilhelm & Jakob, 2012).

3.2.2 Regulationsmechanismen der Photosynthese

Sowohl in ihrer natürlichen Umgebung als auch in Photobioreaktoren sind Mikroalgen schwankenden Bedingungen ausgesetzt, welchen diese Organismen mit diversen Regulationsmechanismen wie Photorespiration, Photoakklimation oder Photoinhibition begegnen.

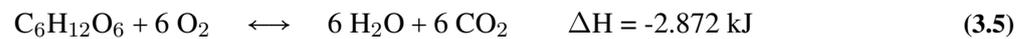
Photorespiration

In der Dunkelreaktion der Photosynthese stellt die Rubisco ein Schlüsselenzym dar und dient der Fixierung von Kohlenstoffdioxid. Dieses Enzym besitzt jedoch eine relativ geringe Affinität zu CO₂ und ist zudem nicht substratspezifisch, sodass CO₂ am aktiven Zentrum mit Sauerstoff um die Bindungsstelle konkurriert (Nelson *et al.*, 2001). Dieser Prozess wird als Photorespiration bezeichnet und tritt hauptsächlich bei einem sehr hohen Verhältnis von O₂ zu CO₂ und hohen Bestrahlungsstärken auf. Wird das Reaktionsgleichgewicht auf die Seite der Photorespiration verschoben, fungiert die Rubisco als Oxygenase und katalysiert die Umsetzung von Sauerstoff mit Ribulose-1,5-bisphosphat zu Phosphoglycolat, welches im Metabolismus der Zellen nutzlos ist (Masojídek *et al.*, 2013). Der Abbau dieses Intermediats über Dephosphorylierung in mehreren Schritten über Serin und Ammonium zu CO₂ stellt für die Zelle einen enormen Energieverlust dar. Je nach Organismus ist das Ausmaß der Photorespiration unterschiedlich hoch und kann bis zu 50 % der Photosynthese betragen (Gualtieri & Barsanti, 2006; Nelson *et al.*, 2001; Masojídek *et al.*, 2013; Tredici, 2010). Um die Produktivität bei der Massenproduktion von Mikroalgen zu optimieren, müssen somit die Effekte der Photorespiration, beispielsweise durch Anreicherung des Mediums mit CO₂ oder Entfernung des gelösten Sauerstoffes mittels Desorption (*Stripping*), minimiert werden (Masojídek *et al.*, 2013).

Dunkelrespiration

Im Gegensatz zur Photorespiration – der Atmung unter Energieverbrauch bei Anwesenheit von Licht – dient die Dunkelrespiration den Mikroalgen zur Gewinnung nutzbarer Energie und der Aufrechterhaltung ihrer

Zellintegrität im Rahmen der mitochondrialen Zellatmung (Tredici, 2010). Dabei werden energiereiche Moleküle wie Glucose metabolisiert, was einem Netto-Energiegewinn von 2.872 kJ entspricht. Dieser Wert spiegelt die Differenz aus benötigter Energie, um die Bindungen der Glucose und des Sauerstoffs aufzubrechen (12.050 kJ), und freigesetzter Energie bei der Bildung von CO₂ und Wasser (14.922 kJ) nach Gleichung 3.5 wider (Gualtieri & Barsanti, 2006).



Die Aufrechterhaltung des Metabolismus in Dunkelphasen führt somit bei Algen zu einem Abbau der Zellsubstanz zu Gunsten des Energiegewinns. Der Biomasseverlust ist dabei laut Grobbelaar & Soeder (1985) sowie Edmundson & Huesemann (2015) abhängig von der Temperatur, der Dauer der Dunkelphase und der Bestrahlungsstärke sowie Temperatur, welcher die Algen zuvor ausgesetzt waren. Dabei führen vor allem optimale Kultivierungs-Temperaturen und niedrige Bestrahlungsstärken direkt vor der Verdunkelung zu den niedrigsten Respirationsraten. Eine weitere Strategie, um den Biomasseabbau in Dunkelphasen möglichst gering zu halten und die Netto-Produktivität zu maximieren, ist nach Hu *et al.* (1996), eine optimale Zelldichte anzustreben. Verglichen mit einem möglichen Netto-Verlust der Zellsubstanz durch Photorespiration ist jedoch der mögliche Verlust aufgrund von Dunkelrespiration mit maximal 10 % nach zwölf Stunden relativ gering (Grobbelaar & Soeder, 1985).

Photoakklimation und Photoinhibition

In ihrem natürlichen Habitat sind Mikroalgen in der Regel stark fluktuierenden Bestrahlungsstärken ausgesetzt. Um dennoch ihren Metabolismus aufrecht erhalten zu können, besitzen Algen ein erhebliches Anpassungspotential (Grobbelaar, 2010), welches vor allem auf das Aufrechterhalten der Balance zwischen Licht- und Dunkelreaktionen abzielt (Falkowski & Raven, 1997). Prinzipiell gehen Lichtanpassungsreaktionen mit einer Änderung des Pigmentgehaltes einher. Diese Modifikation kann dabei sowohl auf einer Änderung der Größe als auch auf der sich ändernden Anzahl des Photosystems I beruhen (Falkowski & Owens, 1980). Ist die Lichtverfügbarkeit sehr gering, führt dies in der Regel zu einer Abnahme der Zellgröße bei gleichzeitiger Zunahme der Chlorophyll-Moleküle pro Zelle (Dubinsky & Stambler, 2009). Dies resultiert in einer Änderung des *in vivo*-Extinktionskoeffizienten. Dieser wird durch den *Sieb-* sowie den *Packungseffekt* des Chlorophylls beeinflusst: Bei inhomogener Verteilung (wenige Moleküle in vielen großen Zellen) können Lichtstrahlen das Medium durchdringen, ohne dass eine Wechselwirkung mit den Chlorophyll-Molekülen stattfindet (*Siebeffekt*). Steigt bei geringen Bestrahlungsstärken der Chlorophyllgehalt bei sich gleichzeitig verkleinernden Zellen, nimmt der *Siebeffekt* ab und der Extinktionskoeffizient steigt an. Der *Packungseffekt* entsteht bei einer sehr dichten Packung von Chlorophyllmolekülen pro Zelle. Aufgrund der gegenseitigen Beschattung der Chromophore wird auftreffendes Licht komplett absorbiert. Somit führt ab einer spezifischen, kritischen Grenze eine weitere Steigerung des Chlorophyllgehaltes zu keiner weiteren Steigerung des

Absorptionsvermögens der Alge (Häder, 1999). Die Effizienz des Lichtsammelkomplexes sowie die Umsetzung der Lichtenergie in chemische Energie ist somit bei sehr geringen Bestrahlungsstärken maximal (Dubinsky & Stambler, 2009).

Im Gegensatz dazu bedingt eine erhöhte Lichtverfügbarkeit die Reduktion des Chlorophyllgehaltes (Dubinsky & Stambler, 2009). So werden beispielsweise die Lichtantennen verkleinert, während jedoch die Anzahl oder die Größe der Reaktionszentren des Photosystems I steigt (Falkowski & Owens, 1980). Gleichzeitig wird die Kapazität der Dunkelreaktion, vor allem der die Photosyntheserate begrenzenden Rubisco und Cytochrome, bei ausreichend hohen Photonenflussdichten maximiert (Häder, 1999; Dubinsky & Stambler, 2009).

Bei einem Überschuss an photosynthetisch aktiver Strahlung kann es zu lichtinduzierten Schädigungen am Photosystem II, insbesondere dessen Schlüsselproteinen D1 und D2, kommen. Die Zelle ist in der Lage, diese Schäden innerhalb von einigen Stunden zu reparieren oder photoprotektive Maßnahmen zu ergreifen. Die Summe dieser Prozesse, die in einer Reduktion der Photosyntheserate resultiert, wird als *Photoinhibition* bezeichnet (Comacho Rubio *et al.*, 2003). Der Lichtüberschuss bedingt zunächst eine Akkumulation angeregter Chlorophyll-Moleküle $^1\text{Chl}^*$. Ein andauerndes Überangebot des Lichts resultiert in einer Rekombination des angeregten Reaktionszentrums P680^* mit einem reduzierten Phaeophytin, was zu einer Spin-Umkehr und somit einer Bildung von Triplett-Chlorophyllen $^3\text{Chl}^*$ führt (Abbildung 3.6).

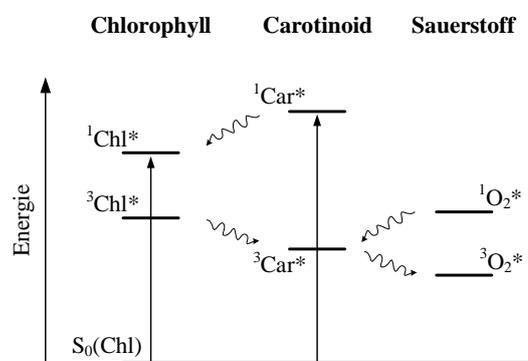


Abbildung 3.6: Schematische Darstellung der Schutzfunktion der Carotinoide bei Lichtüberschuss durch Abfuhr überschüssiger Anregungsenergie als Wärme (nach Häder (1999)). $S_0(\text{Chl})$ - Grundzustand des Chlorophylls, $^3\text{Chl}^*$ - Triplett-Chlorophyll, $^1\text{Chl}^*$ - angeregtes Chlorophyll, $^3\text{Car}^*$ - Triplett-Carotinoid, $^1\text{Car}^*$ - Singulett-Carotinoid, $^3\text{O}_2^*$ - Triplett-Sauerstoff, $^1\text{O}_2^*$ - Singulett-Sauerstoff.

Der Grundzustand des Sauerstoffs wiederum entspricht einer Triplettspinkonfiguration ($^3\text{O}_2^*$), sodass die Reaktion mit Triplett-Chlorophyllen die Umkehr des Elektronenspins bedingt und Singulett-Sauerstoff ($^1\text{O}_2^*$) entsteht, während Chlorophyll in den Grundzustand ($S_0(\text{Chl})$) zurückkehrt. Die reaktiven Sauerstoffradikale können zu einer Schädigung des Photosystems II und darüber hinaus zu einer Inaktivierung anderer Systeme wie Elektronentransporter oder den assoziierten D1/D2-Proteinen führen. Um diese oxidativen Schädigungen zu vermeiden, übernehmen Carotinoide in Algen eine photoprotektive Funktion (Abbildung 3.6): Caro-

tinoide können nicht nur als Energiedonoren ($^1\text{Car}^*$), sondern auch als Energieakzeptoren ($^3\text{Car}^*$) fungieren und sind so in der Lage, die Anregungsenergie des Triplett-Chlorophylls oder des Singulett-Sauerstoffs aufzunehmen und über Abgabe von Wärme in den Grundzustand zu relaxieren (Berg *et al.*, 2012; Comacho Rubio *et al.*, 2003; Häder, 1999; Thompson, 1996).

Zusätzlich existiert in Algen ein weiterer Schutzmechanismus des Photosyntheseapparates in Form einer gesteigerten Aktivität des Violaxanthinzyklus (Abbildung 3.7). Die durch Lichtüberschuss induzierte Umwandlung von Violaxanthin in Zeaxanthin resultiert bei Algen in einer Konformationsänderung der Lichtantennen. Dadurch wird die von den Xantophyllen absorbierte Energie als Wärme abgegeben und nicht mehr auf die Chlorophylle übertragen, sodass das Energieniveau abgesenkt wird. Der Violaxanthinzyklus wird durch den pH-Gradienten sowie die Anwesenheit von Ascorbat beeinflusst. Bei einem Überangebot von Licht werden vermehrt Protonen in das Thylakoid-Lumen transloziert, was zu einer Senkung des pH führt und so das Enzym Violaxanthin-Deepoxidase aktiviert. Dieses reduziert unter Verbrauch von Ascorbat Violaxanthin über Antheraxanthin zu Zeaxanthin. Die Rückreaktion zu Violaxanthin wird von dem Enzym Zeaxanthin-Epoxidase unter Lichtmangel katalysiert (Häder, 1999; Hager, 1969, 1967a,b; Jahns *et al.*, 2009).

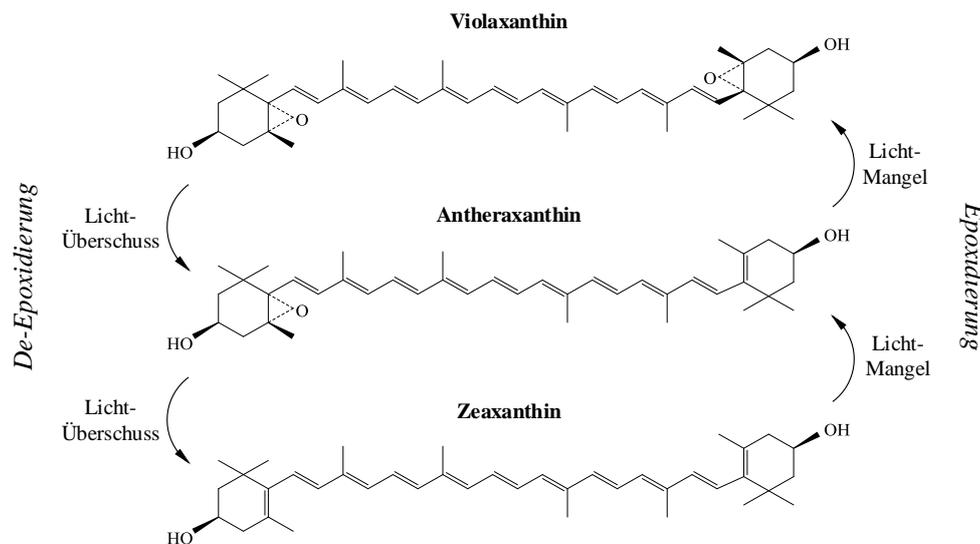


Abbildung 3.7: Schematische Darstellung des Violaxanthinzyklus als Anpassungsreaktion an variierende Bestrahlungsstärken (nach Demmig-Adams & Adams (1996)). Die De-Epoxidierung bei Lichtüberschuss wird von der Violaxanthin-Deepoxidase unter Ascorbat-Verbrauch und Wasser-Abspaltung in saurem Milieu katalysiert. Die Rückreaktion bei Lichtmangel benötigt NADPH und Sauerstoff und wird durch das Enzym Zeaxanthin-Epoxidase katalysiert.

Der effiziente Reparaturmechanismus des D1-Proteins erklärt, dass die Photoinhibition zunächst ein vollständig reversibler Schritt ist. Wird jedoch eine kritische Photonenflussdichte dauerhaft überschritten, können weder photoprotektive noch reparative Maßnahmen die Algenzelle vor einer progressiven Schädigung, welche schließlich zu einem kompletten Erliegen der Photosynthese führt, bewahren (Häder, 1999; Myers & Burr, 1940). Die Photoinhibition wird zwar von hohen Bestrahlungsstärken ausgelöst, kann jedoch durch

weitere ungünstige Umweltbedingungen begünstigt werden: Sehr niedrige (Torzillo *et al.*, 1996) oder hohe Temperaturen (Bongi & Long, 1987), osmotischer Stress (Vonshak & Richmond, 1981) sowie Stickstoffmangel (Herzig & Falkowski, 1989) erhöhen die Wahrscheinlichkeit der Energieübersättigung des Photosystems II und der daraus resultierenden Photoinhibition.

3.2.3 Lipidakkumulation in Mikroalgen

Mikroalgen sind in der Lage eine Vielzahl an Lipiden wie Wachs-Ester, Kohlenwasserstoffe, Sterole, Prenyl-Derivate (unter anderem Carotinoide) und Pyrrol-Derivate (beispielsweise Chlorophyll) zu produzieren. Diese Lipide lassen sich in zwei Kategorien zusammenfassen: unpolare Speicherlipide und polare Strukturlipide. Lipide, die als Energiespeicher genutzt werden, liegen meist in Form von *Triacylglyceriden* (TAGs) – dreifache Ester des Glycerins mit Fettsäuren der Kettenlänge C₁₄ bis C₂₂ (Metting, 1996) – vor, bestehen hauptsächlich aus gesättigten Fettsäuren und können für die Produktion regenerativer Treibstoffe genutzt werden (Guschina & Harwood, 2013; Hu *et al.*, 2008; Sharma *et al.*, 2012). Triacylglyceride werden fast ausschließlich bei Anwesenheit von Licht gebildet, in Einschlusskörpern (*lipid bodies*) gespeichert und in Dunkelphasen für die Synthese polarer Lipide genutzt (Thompson, 1996). Die polaren Strukturlipide – vor allem Phospholipide und Sterole – weisen typischerweise einen hohen Anteil ungesättigter Fettsäuren auf und dienen als wichtiger Bestandteil der Zellmembranen der selektiven Permeabilität der Zellen und Organellen (Sharma *et al.*, 2012).

Unter optimalen Wachstumsbedingungen bestehen Mikroalgen zu 5-20 % aus Lipiden, einschließlich polarer Membranlipide mit Glycerin-Rückgrat. Die energiereichen Triacylglyceride konkurrieren hierbei mit Kohlenhydraten als photosynthetisches Assimilat. Für die vermehrte Bildung von TAGs muss sich somit der Stoffwechsel der Mikroalgen von der Biomassebildung hin zur Biosynthese der Glycerolipide verschieben (Thompson, 1996). Dies kann durch diverse auf den Organismus wirkende Stressszenarien induziert werden: Mangel an Nährstoffen, Veränderungen der Temperatur, der Salinität oder des pH sowie extreme Lichtverhältnisse (Sharma *et al.*, 2012). Mikroalgen nutzen die vermehrt gebildeten Lipide einerseits als Energiereserve, um die widrigen Bedingungen zu überstehen, und andererseits für die Reduktion der Photosyntheserate bei Lichtstress durch gesteigerte Absorption des Lichts (Sharma *et al.*, 2012; Thompson, 1996). Je nach Spezies können oleogene Mikroalgen unter ungünstigen Umweltbedingungen bis zu 80 % ihrer eigenen Biotrockenmasse als Lipide einlagern (Thompson, 1996; Sharma *et al.*, 2012; Chisti, 2007).

Der Biosynthese der Glycerolipide liegt zunächst die Fettsäuresynthese zugrunde (Abbildung 3.8), welche jedoch in Algen bisher kaum erforscht ist. Aufgrund der Homologie zu höheren Pflanzen kann jedoch davon ausgegangen werden, dass die Fettsäuresynthese in Mikroalgen nahezu analog verläuft (Blatti *et al.*, 2013).

Die *de novo* Synthese von Fettsäuren bis zu einer Kettenlänge von 18 C-Atomen (Stearinsäure) sowie die Desaturation findet im Chloroplasten statt, die weitere Verlängerung und Prozessierung dieser Fettsäuren (FS) zu Lipiden im Endoplasmatischen Retikulum.

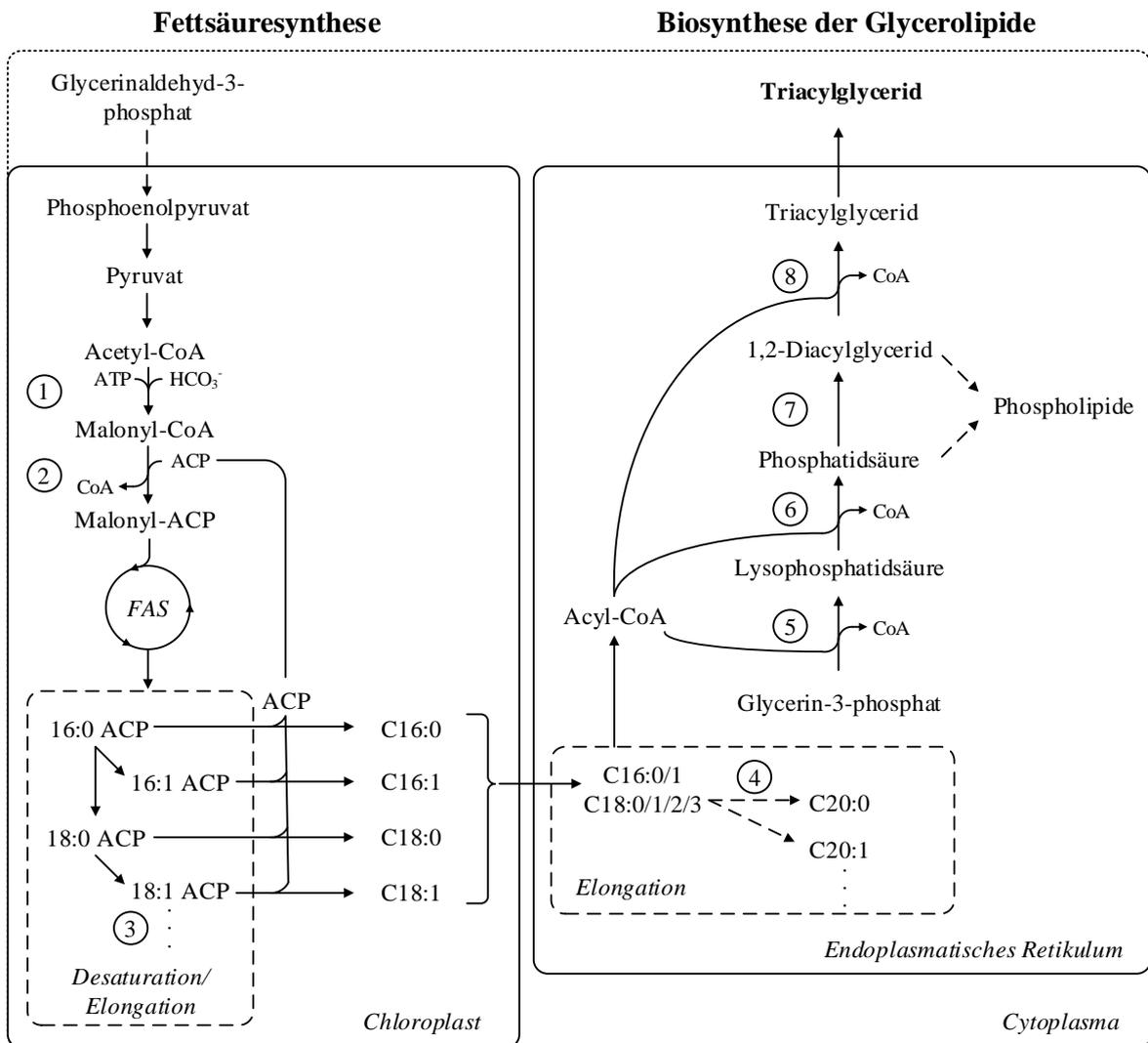


Abbildung 3.8: Vereinfachtes Schema der Fettsäuresynthese sowie der Biosynthese der Glycerolipide (nach Guschina & Harwood (2013); Hu *et al.* (2008); Nelson *et al.* (2001)).

Fettsäuresynthese: Ausgehend von dem im Calvin-Zyklus der Dunkelreaktion der Photosynthese gebildeten Glycerinaldehyd-3-phosphat werden im Chloroplasten Fettsäuren verschiedener Kettenlängen gebildet. ① - Acetyl-CoA-Carboxylase, ② - Malonyl-CoA-ACP-Transferase, ③ - Desaturase; CoA - Coenzym A, ACP - Acyl-Carrier-Protein, FAS - Fettsäure-Synthase-Komplex (Details Abbildung 3.9);

Biosynthese der Glycerolipide: Im Endoplasmatischen Retikulum werden die Fettsäuren genutzt, um Phospholipide als Membranbausteine sowie Triacylglyceride als Energiespeicher zu synthetisieren: ④ - Elongase, ⑤ - Glycerin-3-phosphat-Acyl-Transferase, ⑥ - Lysophosphatidat-Acyl-Transferase, ⑦ - Phosphatidat-Phosphatase, ⑧ - Diacylglycerid-Acyl-Transferase.

Die **Fettsäuresynthese** beginnt mit der Carboxylierung des Vorläufermoleküls Acetyl-CoA zu Malonyl-CoA, katalysiert durch die Acetyl-CoA-Carboxylase (ACCase). Acetyl-CoA entstammt dabei im weitesten Sinne den photosynthetischen Reaktionen: Das Endprodukt des Calvin-Zyklus – Glycerinaldehyd-3-

phosphat – kann beispielsweise glycolytisch über mehrere Zwischenschritte in Phosphoenolpyruvat umgewandelt werden, welches dann wiederum vom Cytoplasma in den Chloroplasten transportiert, zu Pyruvat dephosphoryliert und schließlich zu Acetyl-CoA decarboxyliert wird (Hu *et al.*, 2008; Nelson *et al.*, 2001). Die Umwandlung in Malonyl-CoA vollzieht sich in zwei Schritten, katalysiert durch einen Enzymkomplex (ACCCase): Zunächst wird ATP-abhängig CO_2 aus HCO_3^- aktiviert und dann auf Acetyl-CoA übertragen (Ohlrogge & Browse, 1995). Die resultierende Malonyl-Gruppe wird daraufhin über einen Protein-Cofaktor auf das *Acyl-Carrier-Protein* (ACP) übertragen, welches essentieller Bestandteil der Fettsäuren-Verlängerung ist. Die Kondensationsreaktionen werden von sieben separaten Polypeptiden, welche in einem *Fettsäure-Synthase-Komplex* (FAS, Abbildung 3.9) zusammengefasst sind, katalysiert. Dieser Komplex besteht aus dem zentralen Acyl-Carrier-Protein, umringt von sechs funktionalen Enzymen (Nelson *et al.*, 2001).

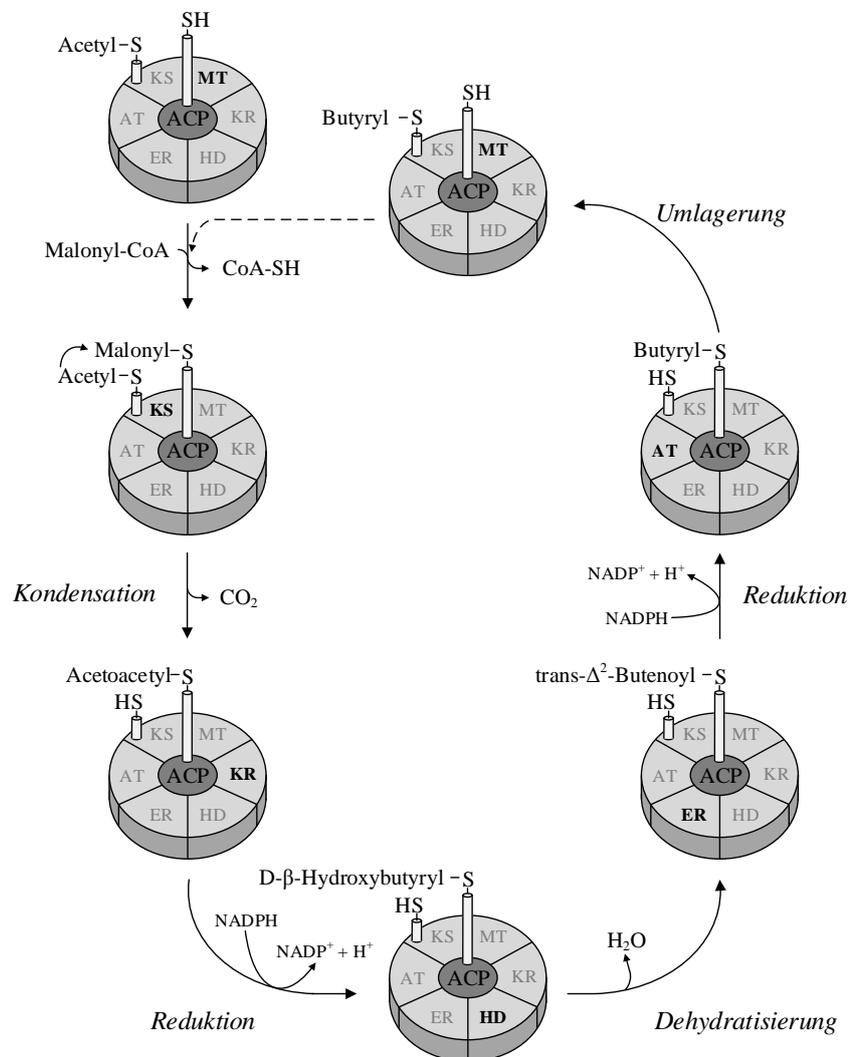
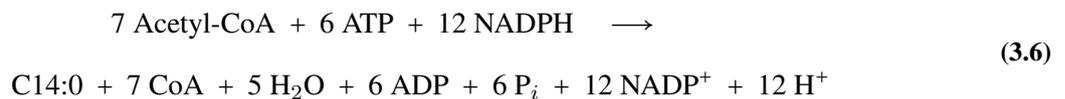


Abbildung 3.9: Schematische Darstellung der Reaktionen des Fettsäure-Synthase-Komplexes (FAS) im Chloroplasten von Mikroalgen (nach Guschina & Harwood (2013); Nelson *et al.* (2001)). Pro Zyklus des FAS erfolgt eine Verlängerung des Intermediates um zwei C-Atome unter der Beteiligung von sieben Polypeptiden: ACP - Acyl-Carrier-Protein, MT - Malonyl-CoA-ACP-Transferase, KS - β -Ketoacyl-ACP-Synthase, KR - β -Ketoacyl-ACP-Reduktase, HD - β -Hydroxyacyl-ACP-Dehydratase, ER - Enoyl-ACP-Reduktase, AT - Acetyl-CoA-ACP-Transacetylase. Das jeweils aktive Enzym ist schwarz hervorgehoben.

Die initiale *Kondensation* beginnt mit der Übertragung der Malonyl-Gruppe durch die Malonyl-CoA-ACP-Transferase (MT) auf die proximale SH-Gruppe des Acyl-Carrier-Proteins (ACP). Die Malonyl-Gruppe kondensiert daraufhin mit einer aktivierten Acetylgruppe zu Acetoacetyl-ACP (Abbildung 3.9). Diese Reaktion wird katalysiert von der β -Ketoacyl-ACP-Synthase (KS), wobei CO_2 abgespalten wird, welches als HCO_3^- erneut in Malonyl-CoA eingeführt werden kann (Abbildung 3.8). Im ersten *Reduktions*-Schritt wird die Carbonylgruppe des Acetoacetyl-ACP durch die β -Ketoacyl-ACP-Reduktase (KR) unter NADPH-Verbrauch reduziert, wobei D- β -Hydroxybutyryl-ACP entsteht (Abbildung 3.9). Die β -Hydroxyacyl-ACP-Dehydratase (HD) katalysiert die *Dehydratisierung* dieses Intermediats zu trans- Δ^2 -Butenoyl-ACP. Die durch Wasserabspaltung eingeführte Doppelbindung wird durch den zweiten *Reduktions*-Schritt reduziert: Unter Einwirkung der Enoyl-ACP-Reduktase (ER) entsteht Butyryl-ACP, wobei NADPH als Elektronen-Donor fungiert. Der finale Schritt des *FAS*-Zyklus ist die Umlagerung der Butyryl-Gruppe von der proximalen SH-Gruppe des ACP auf den Cystein-Rest der β -Ketoacyl-ACP-Synthase (KS) durch die Acetyl-CoA-ACP-Transacetylase (AT). Die Verlängerung des entstandenen C_4 -Fettsäureacyl-ACP erfolgt durch erneute Anlagerung eines Malonyl-CoA an das ACP, wodurch ein weiterer Elongations-Zyklus induziert wird (Abbildung 3.8 und 3.9). Auf diesem Weg werden zunächst nur ungesättigte Fettsäuren bis zu einer Kettenlänge von 18 C-Atomen synthetisiert, welche jedoch durch Einführung einer Doppelbindung durch eine *Desaturase* in gesättigte Fettsäuren umgesetzt werden können (Abbildung 3.8). Da pro Elongations-Zyklus zwei weitere C-Atome eingeführt werden, ergibt sich die Stöchiometrie des Gesamtprozesses bei der Bildung der einfachsten Fettsäure in Mikroalgen – Myristinsäure ($\text{C}_{14:0}$) – aus Acetyl-CoA wie folgt:



Die gebildeten gesättigten und ungesättigten C_{14} - bis C_{18} -Fettsäuren werden zur weiteren Prozessierung aus dem Chloroplasten ins Endoplasmatische Retikulum geschleust: Katalysiert durch *Elongasen* können sowohl die gesättigten als auch die ungesättigten Fettsäuren auf bis zu 22 C-Atome verlängert werden. Die Elongation der Fettsäuren im Chloroplasten wird auf zwei verschiedenen Wegen terminiert: Entweder durch die hydrolytische Abspaltung des Acyl-Restes von ACP, wobei eine freie Fettsäure freigesetzt wird, oder durch die direkte Übertragung der Fettsäure mithilfe von CoA von ACP auf die Intermediate der Glycerolipidsynthese (Guschina & Harwood, 2013; Nelson *et al.*, 2001).

Die **Biosynthese der Glycerolipide** im Endoplasmatischen Retikulum wird durch die Übertragung einer Fettsäure von CoA auf Glycerin-3-phosphat initiiert (Abbildung 3.8). Diese Reaktion wird von der Glycerin-3-phosphat-Acyl-Transferase katalysiert, wobei Lysophosphatidsäure entsteht. Diese wird durch Übertragung eines weiteren Acyl-Restes mithilfe der Lysophosphatidat-Acyl-Transferase in Phosphatidsäure umgewandelt. Diese wird durch Phosphorylierung, katalysiert durch die Phosphatidat-Phosphatase, in 1,2-Diacyl-

glycerid (DAG) umgewandelt. Sowohl DAG als auch die Phosphatidsäure können als Edukte für die Phospholipid-Synthese und somit für den Aufbau mikrobieller Membranen genutzt werden. Im finalen Schritt der TAG-Synthese wird eine dritte Fettsäure durch die Diacylglycerid-Acyl-Transferase auf DAG übertragen, wobei Triacylglyceride entstehen. Diese werden aus dem Endoplasmatischen Retikulum sekretiert und akkumulieren schließlich im Cytoplasma der Mikroalgen (Guschina & Harwood, 2013; Hu *et al.*, 2008; Ohlrogge & Browse, 1995).

3.2.4 Einflussfaktoren auf den phototrophen Metabolismus

Da vor allem bei industriellen Anwendungen der *Flächenertrag* oder die Produktivität in Gramm Algenbiomasse pro Quadratmeter und Tag ($\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$) ein Maß für die Effizienz und somit die Wirtschaftlichkeit des Prozesses ist, sollte das übergeordnete Ziel bei der Mikroalgenkultivierung die Maximierung dieses Flächenertrages sein (Borowitzka & Moheimani, 2013b; Soeder, 1971). Um dieses Ziel erreichen zu können, müssen die wichtigsten Einflussfaktoren auf das Mikroalgenwachstum bekannt und für eine Optimierung zugänglich sein. Die wohl wichtigsten Einflussfaktoren sind dabei die Lichtverfügbarkeit, die Temperatur, die Salinität, der pH und das Nährstoffangebot. Weitere Faktoren sind reaktor- beziehungsweise prozessspezifisch Natur wie beispielsweise die Durchmischung sowie Zelldichte und Schichtdicke der Algensuspension.

Lichtverfügbarkeit

Der phototrophe Metabolismus wird maßgeblich durch die Verfügbarkeit des essentiellen Substrates *Licht* beeinflusst. Je nach verfügbarer Bestrahlungsstärke unterliegen die Zellen unterschiedlichen Effekten auf das Wachstum: Lichtlimitierung bei zu geringen Bestrahlungsstärken, Lichtsättigung bei ausreichender oder optimaler Lichtverfügbarkeit und Photoinhibition bei Lichtüberschuss. Die Auswirkung dieser Effekte auf das phototrophe Wachstum wird *Lichtantwort* genannt und kann in einer sogenannten *P/I-Kurve* graphisch dargestellt werden (Goldman, 1979; Pruvost & Cornet, 2012). Dabei wird die Photosyntheseaktivität P – meist gemessen an der Produktion von Sauerstoff oder der Wachstumsrate – über der verfügbaren Photonenflussdichte I aufgetragen (Abbildung 3.10). Bei sehr geringen Bestrahlungsstärken verbrauchen Mikroalgen mehr Sauerstoff als sie produzieren, die Respirationsrate ist somit größer als die der Photosynthese (*Dunkelrespiration*). Da in diesem Bereich die Netto-Sauerstoffproduktion negativ ist, schneidet die *P/I-Kurve* nicht den Ursprung des Graphen (Gualtieri & Barsanti, 2006). Mit steigender Bestrahlungsstärke nimmt die Photosyntheseaktivität mehr und mehr zu, bis sich diese schließlich am Kompensationspunkt I_c mit der Respiration im Gleichgewicht befindet (Tredici, 2010). In der Lichtlimitierungsphase (I) steigt die Photosyntheserate zunächst linear mit der verfügbaren Photonenflussdichte I und kann mit $P = I \cdot \alpha$ beschrieben werden (Gualtieri & Barsanti, 2006). Die Steigung α des Graphen in diesem Bereich entspricht der maximalen Quantenausbeute und ist somit ein Maß für die Effizienz der Photosynthese (Tredici, 2010). Geschwindigkeitsbestimmend ist hier die Lichtreaktion, da die Rate der Photonenabsorption die Rate des Elektronentransports von Was-

ser auf Kohlenstoffdioxid und somit auch die Photosyntheserate limitiert (Kok, 1960). Bereits im Bereich der Lichtlimitierung nimmt die Steigung der Kurve ab und nähert sich langsam einem Sättigungswert P_{max} an. Der Punkt, an dem die extrapolierte Steigung dieser Phase das Maximum schneidet, begrenzt die Lichtlimitierungsphase und wird als Übergangs-Bestrahlungsstärke I_k bezeichnet (Gualtieri & Barsanti, 2006; Tredici, 2010).

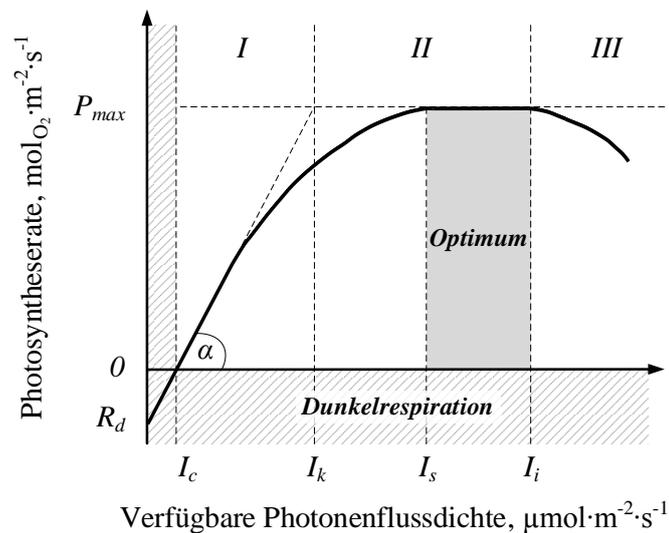


Abbildung 3.10: Schematische Darstellung des Zusammenhangs zwischen der Photonendichte und der Photosyntheserate (P/I -Kurve, *Lichtantwortkurve*, nach Grobbelaar (2010); Pruvost & Cornet (2012); Tredici (2010)). Je nach verfügbarer Photonendichte, wird die Photosynthese der Mikroalgen durch verschiedene Effekte beeinflusst: Lichtlimitierung (I), Lichtsättigung (II) und Photoinhibition (III). Sehr geringe Bestrahlungsstärken führen zu Dunkelrespiration (R_d), am Kompensationspunkt I_c ist die Photosynthese im Gleichgewicht mit der Respiration. Mit steigender verfügbarer Photonendichte nimmt die Photosyntheserate linear mit der Steigung α zu und erreicht die Übergangs-Bestrahlungsstärke I_k zwischen lichtlimitiertem und -gesättigtem Bereich. Ist die Sättigungs-Bestrahlungsstärke I_s erreicht, ist die Photosyntheserate maximal (P_{max}), bis schließlich mit der Photonendichte I_i Photoinhibition eintritt.

Im Bereich der Lichtsättigung (II) bewirkt eine Steigerung der verfügbaren Photonendichte zunächst noch eine Erhöhung der Photosyntheserate, bis schließlich mit der Sättigungs-Bestrahlungsstärke I_s die maximal mögliche Photosyntheserate P_{max} erreicht ist (Gualtieri & Barsanti, 2006). In dieser Phase übersteigt die Rate der Photonenaufnahme die Rate des Elektronentransfers um ein Vielfaches, sodass die enzymatischen Prozesse der Dunkelreaktion die Photosyntheserate begrenzen (Goldman, 1979). Somit nimmt die Effizienz der Umwandlung der Lichtenergie in chemische Energie kontinuierlich mit dem Ende des linearen Bereichs der Kurve ab (Kok, 1960; Tredici, 2010). Ist jedoch nicht die Effizienz, sondern lediglich die Rate der Photosynthese das vordergründige Anwendungsziel, kann dieser Bereich der maximalen Photosyntheserate als *Optimum* bezeichnet werden. Die Lichtantwort lichtlimitierter und -gesättigter Algensuspensionen wurde erstmals von van Oorschot (1955) postuliert und mathematisch beschrieben: Licht kann dabei als Substrat betrachtet werden, sodass die asymptotische Annäherung an ein Maximum mit einer Sättigungskinetik nach Gleichung 3.11 beschrieben werden kann.

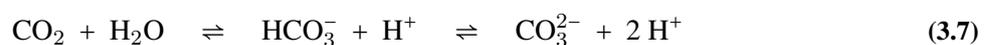
Die *P/I-Kurve* wurde durch die Beobachtungen von Myers & Burr (1940) komplettiert: Übersteigt die verfügbare Photonenflussdichte einen kritischen Wert I_i , tritt Photoinhibition (*III*) auf. Die Photosyntheserate nimmt kontinuierlich ab und kann erneut negativ werden. Wie sensitiv Mikroalgen auf ein Überangebot an Photonen reagieren, hängt einerseits von der Algenspezies und andererseits von der vorhergehenden Bestrahlungsstärke sowie der Dauer der Bestrahlung mit Starklicht ab: Algen, welche natürlichen Habitaten mit geringer Lichtverfügbarkeit entstammen oder Zellen, welche zuvor im Dunkeln kultiviert wurden, weisen eine deutlich erhöhte Sensitivität gegenüber Starklicht auf. Zudem verstärkt ein anhaltender Lichtüberschuss die kontinuierliche Abnahme der Photosyntheserate. Weiterhin begünstigt ein niedriger CO_2 -Gehalt im Medium die Photoinhibition einer Algensuspension, während ein Überschuss an CO_2 dazu führt, dass deutlich höhere Bestrahlungsstärken toleriert werden (Myers & Burr, 1940; Tredici, 2010).

Nachdem die Lichtverfügbarkeit maßgeblich die Photosynthese und somit auch das Wachstum der Mikroalgen beeinflusst, nimmt diese in Konsequenz ebenfalls erheblichen Einfluss auf den erreichbaren Flächenertrag. Um diesen maximieren zu können, sollte das Ziel eine optimale Lichtverfügbarkeit sein, welche durch eine optimale Flächendichte der Algensuspension erreicht werden kann (Borowitzka & Moheimani, 2013b; Oswald, 1988a; Soeder, 1971). Diese ist wiederum eine Funktion der Durchmischung sowie der Schichtdicke und kann somit bei verschiedenen Reaktortypen unterschiedlich sein. Zudem können die kultivierten Mikroalgenspezies und vorherrschenden Umgebungsbedingungen maßgeblichen Einfluss auf die optimale Flächendichte nehmen (Grobbelaar, 1995).

Kohlenstoffdioxid und pH

Neben Licht stellt Kohlenstoffdioxid (CO_2) ein weiteres essentielles Substrat bei der Kultivierung photoautotropher Organismen dar. Kohlenstoffdioxid wird in der Dunkelreaktion der Photosynthese im Calvin-Zyklus fixiert und dient der Zelle für den Aufbau neuer Biomasse (3.2.1). Unter unlimitierten Wachstumsbedingungen beträgt der organische Kohlenstoffgehalt einer Mikroalgenzelle im Durchschnitt etwa 50 %, woraus sich ein stöchiometrischer CO_2 -Bedarf von 1,83 kg pro produziertem kg Biotrockenmasse ergibt. Dieser Bedarf variiert jedoch, sobald Mikroalgen unter ungünstigen Bedingungen beginnen Speicherstoffe einzulagern. Ein Gesamt-Lipidgehalt von 50 % würde beispielsweise die Aufnahme von etwa $2,33 \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ CO}_2$ erfordern (Schlagermann *et al.*, 2012).

Die Bereitstellung von anorganischem Kohlenstoff erfolgt bei der Mikroalgenkultivierung wahlweise über den Stoffübergang aus der Gasphase (CO_2) in das Medium oder durch direkte Zugabe von (Hydrogen-) Carbonaten. Die anorganische Kohlenstoffquelle liegt dabei in wässriger Lösung in einem Gleichgewicht zwischen Kohlenstoffdioxid CO_2 , Hydrogencarbonat HCO_3^- und Carbonat CO_3^{2-} vor:



In Abhängigkeit des pH liegen diese Kohlenstoffverbindungen in unterschiedlichen relativen Molanteilen in der wässrigen Lösung vor (Abbildung 3.11). In einem wässrigen salzfreien System ist der anorganische Kohlenstoff bei 25 °C bis zu einem pH von etwa 3 ausschließlich als CO_2 gelöst, während ab einem pH von etwa 13 ausschließlich CO_3^{2-} vorliegt. Zwischen pH 3 und 13 sind alle drei Kohlenstoffspezies je nach pH in unterschiedlichen Molanteilen im Medium gelöst. Der Anteil von Hydrogencarbonat ist bei einem leicht alkalischen pH von etwa 8 am höchsten. Die Löslichkeit des anorganischen Kohlenstoffs wird jedoch zusätzlich vom Salzgehalt des Mediums beeinflusst (Abbildung 3.11): In Meerwasser mit einem Salzgehalt von 3 % verschieben sich die Molanteile der drei Kohlenstoffspezies merklich mit dem pH, sodass beispielsweise HCO_3^- sein Maximum bei einem pH von etwa 7,5 besitzt (Borowitzka, 2007).

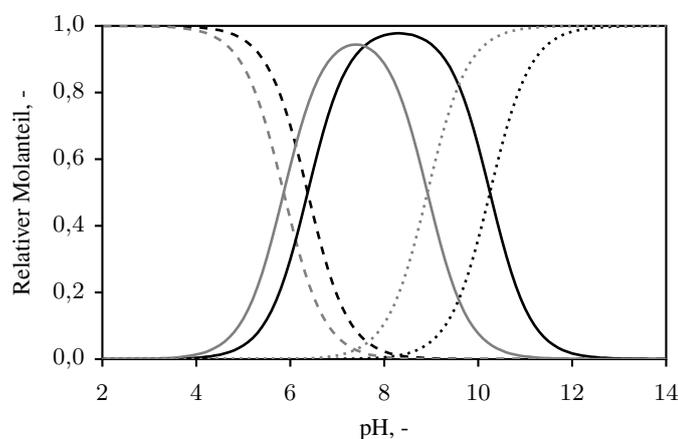


Abbildung 3.11: Darstellung des Kohlensäure-Bicarbonat-Puffersystems in Abhängigkeit des pH sowie der Salinität (0 % und ~3 %) bei 25 °C (nach Borowitzka & Moheimani (2013a)). Je nach pH und Salzanteil liegen unterschiedliche relative Molanteile des Kohlenstoffdioxids CO_2 (---/---), des Hydrogencarbonats HCO_3^- (—/—) und des Carbonats CO_3^{2-} (····/····) in wässriger Lösung vor.

Die Löslichkeit des Kohlenstoffdioxids wird jedoch nicht nur vom pH und dem Salzgehalt, sondern ebenfalls von der Temperatur beeinflusst. Die Abhängigkeit der Löslichkeit des Kohlenstoffdioxids von der Temperatur entspricht derer aller biologisch relevanten Gase: Mit steigender Temperatur geht eine signifikante Abnahme der Gaslöslichkeit einher (Sonnleitner & Chmiel, 2011).

Da alle biologischen Membranen eine hohe intrinsische Permeabilität gegenüber CO_2 besitzen, erfolgt die passive Aufnahme von gelöstem CO_2 bei allen Mikroalgen durch Diffusion über die Plasmamembran (Raven, 1993). Die Aufnahme von HCO_3^- erfolgt nur über spezifische Transporter und kann nicht von allen Algenspezies bewerkstelligt werden. Lediglich Mikroalgen, die zur Umwandlung von HCO_3^- in CO_2 durch eine rubiscoständige Carboanhydrase befähigt sind, können diese Kohlenstoffverbindung nutzen (Giordano *et al.*, 2005; Kaplan & Reinhold, 1999). Nachdem keine Mikroalgenspezies in der Lage ist, anorganischen Kohlenstoff in Form von CO_3^{2-} aufzunehmen, stellt der pH und daraus resultierend der Molanteil der Kohlenstoffverbindung eine essentielle Stellgröße bei der Mikroalgenkultivierung dar (Borowitzka, 2007). Die Aufnahme von anorganischem Kohlenstoff durch Mikroalgen führt zu einem vom Gleichgewicht abwei-

chenden Konzentrationsgradienten von CO_2 , HCO_3^- und CO_3^{2-} im umgebenden Medium. Um den Gleichgewichtszustand wieder herzustellen, wird aufgenommenes CO_2 aus HCO_3^- und HCO_3^- aus CO_3^{2-} nachgebildet (Riebesell *et al.*, 1993). Der simultane Verbrauch von Protonen führt in Folge zu einem Anstieg des pH. Dem kann jedoch mit der automatisierten Zugabe von CO_2 zur pH-Regelung entgegen gewirkt werden (Grobelaar, 2013), sodass der pH in einem für das Wachstum tolerablen Bereich konstant gehalten werden kann. Aufgrund der beschriebenen Aufnahmestrategien für Kohlenstoff ist es nicht verwunderlich, dass die meisten Mikroalgen einen neutralen bis leicht alkalischen pH von etwa 9 tolerieren (Goldman *et al.*, 1982; Gualtieri & Barsanti, 2006). Außerhalb dieses pH-Bereichs sind die meisten Mikroalgen nicht mehr in der Lage, einen geeigneten intrazellulären pH aufrecht zu erhalten. Dies führt dazu, dass aufgrund einer Schädigung der photosynthetischen Enzyme die Photosyntheserate deutlich abnimmt und schließlich ab einem speziesspezifischen kritischen pH gänzlich zum Erliegen kommt (Coleman & Coleman, 1981; Ying, 2014).

Der pH beeinflusst nicht nur das Wachstum der Mikroalgen, sondern wirkt sich auch auf die Akkumulation von Lipiden aus: In Folge eines erhöhten pH kann bei einigen Spezies eine deutliche Steigerung des Gesamtlipidgehaltes und auch der Triacylglyceride beobachtet werden (Gardner *et al.*, 2011; Santos *et al.*, 2012).

Temperatur

Die Temperatur stellt einen entscheidenden Parameter bei der Kultivierung von Mikroalgen dar, welcher eine Vielzahl an Prozessen innerhalb der Zelle beeinflusst. Enzyme und ihre Katalysatorwirkung, Transportvorgänge in der Zelle, Zellmembranen als Stoffbarrieren und weitere zelluläre Strukturen sind von der Temperatur abhängig. Suboptimale Temperaturen können dabei Kurzzeiteffekte hervorrufen oder gar in genotypischen sowie phänotypischen Anpassungsmechanismen der Mikroalgen resultieren.

Mit steigender Temperatur nimmt zunächst auch die Photosyntheseaktivität des Organismus zu, bis ein speziesspezifisches Optimum erreicht wird. Wird dieses überschritten, wird in der Regel eine rapide Abnahme der Photosynthese beobachtet (Davison, 1991). Das Temperaturoptimum bildet gemeinsam mit der minimalen und maximalen Temperatur, unter- beziehungsweise oberhalb derer kein Wachstum mehr verzeichnet wird, die drei speziesspezifischen *Kardinaltemperaturen* (Aragno, 1981). Die temperaturgetriebene Regulierung der Photosynthese kann dabei unterschiedlichen Ursprungs sein: Sowohl der Elektronentransport der Lichtreaktion (Kok, 1960) als auch die enzymatischen Prozesse der Dunkelreaktion (Goldman, 1979) limitieren die Photosynthese. So steigt beispielsweise die katalytische Rate von Enzymen zunächst mit der Temperatur an, bis Denaturierung weitere Umsetzungen unterbindet oder das Enzym durch seine temperaturstabile Isoform ersetzt wird (Raven & Geider, 1988). Weiterhin begünstigen hohe Temperaturen photorespiratorische Effekte, da sich die Halbsättigungskonstante des CO_2 mit steigender Temperatur schneller erhöht als die des O_2 (Berry & Raison, 1981). Niedrige Temperaturen reduzieren hingegen die Konversion der Lichtenergie in Algen, sodass daraus resultierende überschüssige Photonen zu Photoinhibition führen können

(Falk *et al.*, 1990). Ein möglicher Schutzmechanismus ist hier die vermehrte Expression der Enzyme des Photosyntheseapparates, um langfristig diese Temperatursenkung tolerieren zu können (Hu, 2013). Darüber hinaus beeinflussen weitere temperatursensitive Prozesse – die Diffusion, der aktive Transport anorganischer Kohlenstoffverbindungen sowie die Aktivität der Carboanhydrase – die Photosyntheserate (Davison, 1991). Passive Stofftransporte wie die Diffusion sind dabei abhängig von der Fluidität der Membran und dem Schmelzpunkt der Membranlipide (Aragno, 1981). Durch Adaptionsprozesse kann in Mikroalgen jedoch die Lipidzusammensetzung variiert und somit die Fluidität und Stabilität der Membran gewährleistet werden (Nishida & Murata, 1996; Raven & Geider, 1988): Niedrige Temperaturen führen zu einer Überexpression von Desaturasen (Sato & Murata, 1981), sodass vermehrt ungesättigte Fettsäuren gebildet werden (van Wageningen *et al.*, 2012; Hu, 2013). Mit steigender Temperatur überwiegen hingegen die gesättigten Fettsäuren (van Wageningen *et al.*, 2012), während keine konsistente Abhängigkeit des Gesamtlipidgehaltes von der Temperatur gegeben zu sein scheint (Thompson *et al.*, 1992).

Obwohl Mikroalgen durch zahlreiche Anpassungs- und Adaptionsmechanismen in der Lage sind Extremtemperaturen zu überstehen, ist es dennoch im Hinblick auf die Produktivität zielführend, diese Organismen nahe ihres Temperaturoptimums zu kultivieren. Dieses entspricht in der Regel dem ihres natürlichen Habitats, wobei Mikroalgen unter den phototrophen Organismen den breitesten Temperaturbereich, in dem noch Wachstum möglich ist, aufweisen: Psychrophile Spezies in (ant-)arktischen Eisschichten wachsen bei Temperaturen bis -2 °C (Palmisano *et al.*, 1987), während thermophile Cyanobakterien in heißen Quellen bis zu 85 °C tolerieren (Copeland, 1936). Die meisten Mikroalgen besitzen ein Temperaturoptimum im Bereich von 22 bis 35 °C (Singh & Singh, 2015), wobei die Temperaturabhängigkeit des Wachstums maßgeblich von der Flächendichte der Algensuspension beeinflusst wird. So wirkt sich bei sehr geringen Flächendichten mit gleichzeitiger Lichtsättigung eine Temperaturerhöhung wesentlich stärker auf die Photosyntheserate aus als bei optimalen Flächendichten (Soeder, 1971).

Salinität

Die Salinität, oder auch Salzgehalt, beeinflusst nicht nur das Wachstum von Mikroalgen, sondern kann auch bei Kultivierungen in offenen Photobioreaktoren als Antikontaminationsstrategie verwendet werden. Je nachdem welchem natürlichen Habitat eine Mikroalge entstammt, benötigt sie eine bestimmte Salinität für optimales Wachstum: Süßwasserspezies wachsen bei einer Salinität von 0% , während hypersaline Spezies wie *Dunaliella salina* bis zu 35% tolerieren (Borowitzka, 2005). Marine Mikroalgen besitzen ihr Wachstumsoptimum meist um 3% (Borowitzka, 2005), sind jedoch extrem tolerant gegenüber Schwankungen des Salzgehaltes – die meisten Spezies bevorzugen sogar eine Salinität, die leicht unterhalb derer ihres natürlichen Habitats liegt (Gualtieri & Barsanti, 2006). Diese Toleranz gegenüber variierender Salinität kann vor allem bei der Kultivierung in offenen Photobioreaktoren von großem Nutzen sein: Wechselnde klimatische Bedingungen führen zu deutlichen Schwankungen des Salzgehaltes aufgrund von Verdünnungs- und

Verdunstungseffekten durch Niederschlag und Verdunstung (Apel & Weuster-Botz, 2015). Zudem kann eine leichte Erhöhung der Salinität zielführend bei der Entfernung von Kontaminanten sein: Während der erhöhte Salzgehalt von den kultivierten Algen gerade noch toleriert wird, kann dieser für die kontaminierende Spezies bereits letal sein (Borowitzka, 2005). Die Halotoleranz mariner Mikroalgen spezialisiert resultiert in der Regel aus der Fähigkeit bei steigendem Salzgehalt kleine Moleküle als *Osmolyte* – osmoregulatorische Substanzen wie Glycerin – zu akkumulieren und so die Zelle vor Beschädigungen durch den osmotischen Druck der Umgebung zu schützen (Hu, 2013). Darüber hinaus kann ein gesteigerter Salzgehalt bei einigen Spezies zu einer Erhöhung des Gesamtlipidgehaltes führen, wobei allerdings der Anteil ungesättigter Fettsäuren abnimmt (Borowitzka & Borowitzka, 1988; Hu, 2013).

Sauerstoff

Ein weiterer wichtiger Parameter bei der Kultivierung von Mikroalgen ist der Sauerstoffpartialdruck im Medium. Vor allem bei hohen Zelldichten und gleichzeitig hohen Photonenflussdichten wird vermehrt Sauerstoff produziert. Dies kann zu reduzierter Produktivität aufgrund von Photorespiration führen. Zusätzlich begünstigt ein hoher Sauerstoffpartialdruck bei Lichtüberschuss die Entstehung reaktiver Sauerstoffspezies und somit die Reduktion der Photosynthese aufgrund von Photoinhibition (Moheimani & Borowitzka, 2007).

Nährstoffe

Mikroalgen bestehen zu 99,9 % aus den sechs Hauptelementen Kohlenstoff (C), Sauerstoff (O), Wasserstoff (H), Stickstoff (N), Schwefel (S) und Phosphor (P) (Gualtieri & Barsanti, 2006). Ebenfalls enthalten sein können – meist in katalytischen Mengen – Calcium (Ca), Kalium (K), Natrium (Na), Magnesium (Mg), Eisen (Fe) und weitere Spurenelemente (Grobbelaar, 2013; Gualtieri & Barsanti, 2006). Die Mineralstoffe sollten demnach über das Kultivierungsmedium in genau der Konzentration zugegeben werden, in welcher sie auch von den Algen aufgenommen und benötigt werden (Soeder, 1971). Die durchschnittliche elementare Zusammensetzung einer Algenzelle ist nach Oswald (1988b) gegeben mit: $\text{CH}_{1,7}\text{O}_{0,4}\text{N}_{0,15}\text{P}_{0,0094}$. Dabei variiert jedoch der Stickstoffgehalt je nach physiologischem Zustand der Zelle und Angebot des Substrats zwischen 4 und 8 % der Biomasse. Neben Stickstoff gilt vor allem Phosphor als limitierende Komponente für das Algenwachstum (Greenwell *et al.*, 2010). Darüber hinaus entspricht das Verhältnis von Kohlenstoff, Stickstoff und Phosphor bei marinen Mikroalgen spezialisiert typischerweise dem *Redfield-Ratio* von 106:16:1 (C:N:P) (Redfield, 1958), welcher ebenfalls berücksichtigt werden sollte. Unter optimalen Bedingungen bestehen Mikroalgen im Durchschnitt aus 30-50 % Proteinen, 20-40 % Kohlenhydraten und 5-20 % Lipiden. Die zelluläre Zusammensetzung kann jedoch unter ungünstigen Umweltbedingungen stark variieren (Hu, 2013; Thompson, 1996).

Stickstoff ist mit 4-8 % der Biotrockenmasse von Mikroalgen ein essentieller Baustein von Proteinen, Chlorophyll, Energietransfer-Molekülen und genetischem Material. Gasförmiger Stickstoff N_2 ist aufgrund seiner Dreifachbindung inert und kann deshalb von den meisten Mikroalgen nicht fixiert werden. Die einzigen assimilierbaren Formen anorganischen Stickstoffs sind für eukaryotische Algen Nitrat, Nitrit und Ammonium. Nitrat ist die thermodynamisch stabilste Verbindung in oxidierten wässrigen Umgebungen, weshalb diese die vorherrschende Form gebundenen Stickstoffs in aquatischen Ökosystemen darstellt (Gualtieri & Barsanti, 2006). Die Assimilation von Stickstoff in Form von Nitrat (NO_3^-) stellt einen sehr energieaufwändigen Prozess in Mikroalgen dar (Abbildung 3.12): Für zwei Transport- und zwei Reduktionsschritte sowie den finalen Einbau des Stickstoffs in die Biomasse des Organismus werden insgesamt 10 Elektronen und ein ATP benötigt (Bloom *et al.*, 1992). Dabei wird Nitrat zunächst über einen selektiven Nitrat-Transporter über die Plasmamembran transportiert und im Cytoplasma durch die Nitratreduktase (NR) zu Nitrit reduziert. Dieses wird erneut über einen selektiven Transporter über die Chloroplastenmembran geschleust und von der Nitritreduktase (NiR) zu Ammonium reduziert. Im Chloroplasten erfolgt schließlich auch die Integration des Stickstoffs in Biomoleküle: Ammonium wird über die Glutamin-Synthetase (GlnS) auf Glutamat übertragen, wobei Glutamin entsteht. Dieses wird mit α -Ketoglutarat über die Glutamat-Synthase (GluS) zu zwei Molekülen Glutamat umgesetzt, welche dem Organismus für weitere Umwandlungen zur Verfügung stehen (Fernandez & Galvan, 2008).

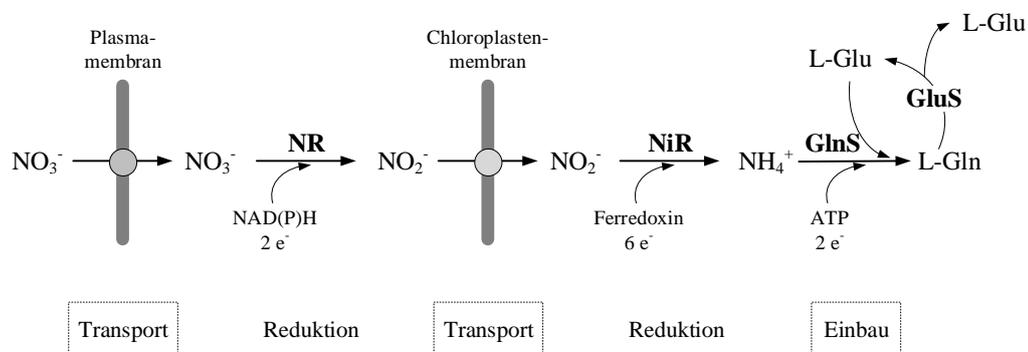


Abbildung 3.12: Vereinfachtes Schema der Nitratassimilation in phototrophen eukaryotischen Mikroalgen (nach Fernandez & Galvan (2008)). Nitrat (NO_3^-) wird über die Plasmamembran transportiert, durch die Nitratreduktase (NR) zu Nitrit (NO_2^-) reduziert, welches über die Chloroplastenmembran transportiert und durch die Nitritreduktase (NiR) zu Ammonium (NH_4^+) reduziert wird. Im Chloroplasten wird NH_4^+ durch die Glutamin-Synthetase (GlnS) auf Glutamat (Glu) übertragen, wobei Glutamin (Gln) entsteht. Dieses kann mit α -Ketoglutarat über die Glutamat-Synthase (GluS) zu zwei Molekülen Glutamat umgesetzt werden.

Für Mikroalgenkulturen im Dauerbetrieb sind Nitrate jedoch als Stickstoffquelle unzuweckmäßig, weshalb im technischen Maßstab meist auf die günstigeren Stickstoffquellen Harnstoff und Ammoniumhydroxid zurückgegriffen wird (Soeder, 1971). Nachdem Mikroalgen kaum in der Lage sind, Stickstoff bei ausreichender Verfügbarkeit als Speicherstoff einzulagern, wirkt sich eine Limitierung dieses Nährstoffs unverzüglich auf den Metabolismus aus: Die Photosyntheserate nimmt merklich ab (Hu, 2013), die meisten Algen stellen ihre Zellteilung sogar gänzlich ein (Hu *et al.*, 2008). Der Fluss des fixierten anorganischen Kohlenstoffs wird

im Falle eines Stickstoffmangels von der Proteinsynthese zu einer vermehrten Produktion von Lipiden oder Kohlenhydraten umgeleitet (Hu, 2013). Infolgedessen sind viele Mikroalgen in der Lage ihren Lipidgehalt um das mindestens zwei- bis dreifache zu steigern. Die synthetisierten Fettsäuren werden dabei hauptsächlich in Triacylglyceride (TAG) umgesetzt, um den Zellen als Energiespeicher zu dienen, bis erneut Stickstoff zur Verfügung steht (Thompson, 1996). Zudem erfordert die Biosynthese der Triacylglyceride große Mengen ATP sowie NADPH – für den Aufbau einer C₁₈-Fettsäure werden insgesamt etwa 24 NADPH benötigt, für die Synthese eines Proteins oder Kohlenhydrats derselben Masse wären es lediglich 12 (Hu *et al.*, 2008). Somit dient die Synthese von TAGs bei hohen Photonenflussdichten der überlasteten Elektronentransportkette als Elektronensenke und vermindert so photochemische Schädigungen durch oxidativen Stress, bis andere protektive Maßnahmen, wie die Reduktion der Photosysteme, greifen (Hu *et al.*, 2008; Roessler, 1990). Ein weiterer Mechanismus von Mikroalgen unter Stickstoffmangel ist die Akkumulation sekundärer Carotinoide, meist begleitet von einer simultanen Reduktion des Chlorophylls (Camacho-Rodríguez *et al.*, 2015; Guedes *et al.*, 2011; Hu, 2013).

Phosphor spielt mit 1 % der Biotrockenmasse (Goldman, 1980) ebenfalls eine wichtige Rolle im Metabolismus von Mikroalgen und dient dem Aufbau struktureller und funktioneller Komponenten in der Zelle wie beispielsweise Membranen, Coenzyme, DNA, RNA und ATP (Gualtieri & Barsanti, 2006; Hu, 2013). Natürlicherweise kommt anorganischer Phosphor hauptsächlich in gebundener Form als Phosphat (PO₄) des Minerals *Apatit* vor. In Lösung befindliches Orthophosphat (PO₄³⁻) kann von Mikroalgen über aktive Transporter aufgenommen und als organischer Phosphor der Zelle zugänglich gemacht werden (Jansson, 1988). Im Zuge des sogenannten *Luxury Uptake* sind Mikroalgen in der Lage, bei ausreichender Verfügbarkeit vermehrt Phosphor aufzunehmen, in Polyphosphat-Einschlusskörpern zu speichern und unter limitierenden Bedingungen dem Metabolismus zur Verfügung zu stellen (Grobbelaar, 2013). Zusätzlich steigt bei Phosphormangel die Aufnahmekapazität der Mikroalgen für Phosphat deutlich an (Jansson, 1988). Die intra- und extrazelluläre Verfügbarkeit von Phosphor beeinflusst ebenso wie die des Stickstoffs hauptsächlich den Gehalt an Lipiden und Kohlenhydraten (Borowitzka, 1988). Eine kontrollierte Induktion der Lipidproduktion durch extrazelluläre Phosphatlimitierung gestaltet sich bei Mikroalgen aufgrund der intrazellulären Phosphatspeicherung als schwierig: Selbst bei völliger Abwesenheit von Phosphat im Medium kann oftmals über mehrere Generationszeiten hinweg Wachstum beobachtet werden (Jansson, 1988). Es ist jedoch möglich, über das Verhältnis von Stickstoff zu Phosphor die Produktivität des Prozesses zu steuern (Grobbelaar, 2013): Mit der Gattung *Nannochloropsis* werden beispielsweise mit Verhältnissen von 16:1 bis 32:1 (N:P) maximale Produktivitäten erreicht (Mayers *et al.*, 2014). Nachdem die abbaubaren Phosphorressourcen der Erde endlich sind, stellt dieser Nährstoff den wohl kritischsten bei der Kultivierung von Mikroalgen dar (Gualtieri & Barsanti, 2006) und erfordert effiziente Wiederverwertungs-Strategien (Hannon *et al.*, 2010).

Schwefel spielt mit etwa 0,15-2 % der Biotrockenmasse in seiner reduzierten Oxidationsstufe eine unverzichtbare Rolle in der Struktur und Funktion von Proteinen und ist ein wichtiger Bestandteil von Sulfolipiden sowie Vitaminen (Gualtieri & Barsanti, 2006; Liu & Chen, 2016). Vor allem als Bestandteil von Eisen-Schwefel-Clustern in Proteinen der photosynthetischen Reaktionen spielt Schwefel eine zentrale Rolle im phototrophen Metabolismus. Marine Mikroalgen spezialisiert nutzen Schwefel zusätzlich für die Produktion von Dimethylsulfoniumpropionat, welches den Zellen als Osmolyt dienen kann, aber auch in das flüchtige Dimethylsulfid umgewandelt werden kann. Letzteres kann in seiner oxidierten Form (SO_2) als Wolkenkondensationskern (CCN, *cloud condensation nuclei*) durch Reduktion der Sonnenstrahlung die globale Temperatur reduzieren und so in letzter Konsequenz möglicherweise sogar den Treibhausgasen CO_2 und CH_4 entgegenwirken. Schwefel kommt entweder gasförmig als SO_2 oder als Sulfat-Verbindung in der Luft sowie in Schwefelsäure gebunden vor. In seiner komplett oxidierten Form kann Schwefel als SO_4^{2-} von Algen über Transporter aktiv aufgenommen, reduziert und in Aminosäuren assimiliert werden (Gualtieri & Barsanti, 2006). Der Entzug von Schwefel kann einige Algen spezialisiert zur vermehrten Produktion von Wasserstoff über anaerobe Stoffwechselwege anregen (Peters *et al.*, 2013).

Eisen wird von allen mineralischen Spurenelementen die wichtigste Rolle im Metabolismus von Mikroalgen zugeschrieben. Aufgrund seines Redoxpotentials ist Eisen an fundamentalen Prozessen wie der Photosynthese, Respiration, Stickstoff-Fixierung und DNA-Synthese beteiligt (Hu, 2013). Dabei kommt Eisen meist in Eisen-Schwefel-Clustern in photosynthetischen Proteinen vor und wird von Mikroalgen bevorzugt in der komplexierten Form aufgenommen (Hannon *et al.*, 2010). Eisenüberschuss resultiert in diversen physiologischen Veränderungen von Algenzellen aufgrund von oxidativem Stress (Hu, 2013). Eisenmangel hingegen führt zu biochemischen Anpassungen in der Zelle, wie der Degradierung von Chlorophyll a (Hardie *et al.*, 1983) oder dem Abbau von Ferredoxin in der Elektronentransportkette (McKay *et al.*, 1999).

Neben den bereits genannten Nährstoffen werden von Mikroalgen für die Aufrechterhaltung ihres Metabolismus vor allem die ionischen Komponenten K^+ , Mg^{2+} , Na^+ , Ca^{2+} , und Cl^- sowie Spurenelemente und Vitamine benötigt (Vonshak, 1986). Zusätzlich benötigen einige Spezia – vor allem Diatomeen – Silizium als essentiellen Bestandteil ihrer Kieselsäurewand (Healey, 1973). Die Versorgung der Mikroalgen suspension mit Nährstoffen kann beispielsweise über nährstoffreiches Abwasser oder Abflüsse landwirtschaftlicher Düngemittel erfolgen (Hannon *et al.*, 2010). Darüber hinaus können Nährstoffe mittels Remineralisierung der Algenrestbiomasse durch anaerobe Gärung wieder gewonnen werden (Quinn *et al.*, 2014; Sialve *et al.*, 2009). Die Aufnahme der Nährstoffe wird nicht nur von ihrer Verfügbarkeit, sondern auch von all jenen Faktoren beeinflusst, die auch auf das Algenwachstum wirken wie Lichtverfügbarkeit, Temperatur und Durchmischung (Grobelaar, 2013).

Zelldichte, Schichtdicke und Durchmischung

Der Einfluss aller genannten Faktoren auf das Wachstum wird wiederum maßgeblich von der Durchmischung, der Zelldichte sowie der Schichtdicke der Algensuspension beeinflusst. Diese drei Faktoren beeinflussen sich ebenfalls wechselseitig: Negative Effekte einer hohen Zelldichte können beispielsweise durch ausreichende Durchmischung und/oder eine geringere Schichtdicke vermindert werden.

Die **Zelldichte** und die **Schichtdicke** sind hauptverantwortlich für die Lichtverfügbarkeit pro Algenzelle im Reaktor: Einfallendes Licht wird von den Mikroalgen absorbiert, sodass mit steigender Eindringtiefe (Schichtdicke) immer weniger Licht zur Verfügung steht. Die Lichtquantität an einer bestimmten Position im Reaktor ist somit eine Funktion der vorherrschenden Zelldichte (Oswald, 1988a). Die Zelldichte oder auch *Flächendichte* in Gramm Algenbiomasse pro Quadratmeter sollte demnach optimal gewählt werden, um einen maximalen Flächenertrag erzielen zu können. Eine niedrige Flächendichte führt dazu, dass nur ein Teil der verfügbaren Photonen genutzt werden kann oder gar Photoinhibition auftritt, während eine zu hohe Flächendichte eine Lichtlimitierung durch gegenseitige Beschattung der Zellen hervorruft. Beide Szenarien führen als logische Konsequenz zu niedrigen Flächenerträgen. Eine optimale Flächendichte kann durch die Variation der Schichtdicke erreicht werden: Im technischen Maßstab wird vor allem aus erntetechnischen Gründen eine möglichst hohe Zelldichte bei gleichzeitig möglichst niedriger Schichtdicke angestrebt (Soeder, 1971). Eine weitere Möglichkeit um den Flächenertrag zu maximieren, ist der Betrieb des Photobioreaktors als *Luminostat*. Dabei wird die Zelldichte im Reaktorinneren kontinuierlich an die verfügbare Photonenflussdichte angepasst (Barbosa & Wijffels, 2013). Ebenfalls denkbar ist die umgekehrte Herangehensweise: Mit steigender Zelldichte wird sukzessive die Photonenflussdichte erhöht, um im Mittel eine optimale Lichtversorgung zu gewährleisten. Hierbei ist allerdings eine adäquate Durchmischung Voraussetzung, um die Fluktuation zwischen Starklicht auf der lichtzugewandten Seite des Reaktors und dunklen Bereichen an der lichtabgewandten Seite des Reaktors zu gewährleisten.

Die **Durchmischung** mikrobieller Suspensionen durch Erzeugung einer turbulenten Strömung stellt eine der wichtigsten Stellgrößen für das Erreichen hoher Produktivitäten dar. Ist eine Algensuspension ausreichend durchmischt, kann die Sedimentation der Zellen und die Ausbildung lokaler Konzentrationsgradienten (Nährstoffe, O₂, CO₂, Temperatur, pH) verhindert werden (Howaldt *et al.*, 2011; Eriksen, 2008; Grobbelaar, 2010). Weiterhin soll die kontinuierliche Homogenisierung speziell bei der Mikroalgenkultivierung durch Variation der Lichtqualität und -quantität geeignete Wachstumsbedingungen schaffen (Grobbelaar, 2010). Schnelle Fluktuationen der Lichtverfügbarkeit steigern dabei die spezifische Wachstumsrate und die Produktivität der Mikroalgen (Janssen *et al.*, 2001). Zusätzlich wird durch die Dispergierung der Gasphase der Stoffübergang in die Flüssigphase deutlich verbessert (Eriksen, 2008). Die Homogenisierung der Algensuspension kann je nach Maßstab durch Schütteln (Erlenmeyerkolben), Begasung (Blasensäulen), mit einem Schaufelrad oder einer Pumpe erfolgen (Gualtieri & Barsanti, 2006). Vor allem in offenen, großvolumigen

Reaktorsystemen stellt die Durchmischung aufgrund des notwendigen Leistungseintrags den kostspieligsten Faktor dar (Pires *et al.*, 2012). Bei einigen Mikroalgenspezies kann eine zu starke Durchmischung auch kontraproduktiv sein: In Rohrreaktoren kann beispielsweise die notwendige Pumpleistung in hydrodynamischem Stress und somit reduzierten Wachstumsraten der Mikroalgen resultieren (Gudin & Chaumont, 1991). Bei Bläsensäulen hingegen kann der Blasenbildungsprozess zu einer erhöhten Scherbeanspruchung führen und das Wachstum verringern. Vor allem geringe Porendurchmesser und hohe Gasleerrohrgeschwindigkeiten steigern die hydrodynamische Belastung der Zellen (Barbosa *et al.*, 2004). Dementgegen steht die reduzierte Stoffaustauschfläche bei geringen Gasleerrohrgeschwindigkeiten und hohen Flüssigkeitssäulen. Je höher der Flüssigkeitsspiegel in der Bläsensäule, desto mehr nimmt die Koaleszenz und somit die Blasengröße aufgrund der steigenden Kompression des Gases zu (Chmiel, 2011). Um maximale Produktivitäten auf wirtschaftlichem Wege zu erzielen, sollten demnach der Leistungseintrag, die Scherbeanspruchung und die Blasengröße bei der Auswahl der Durchmischungsstrategie berücksichtigt werden.

3.3 Modellierung des phototrophen Wachstums

Bei der Betrachtung und Charakterisierung biologischer Systeme sind vor allem *katalytische* Reaktionen von Interesse. Ein Katalysator ist dabei per Definition eine Substanz, die die Reaktionsgeschwindigkeit beeinflusst und unverändert aus der Reaktion hervorgeht ohne das Reaktionsgleichgewicht zu beeinflussen. Das Wachstum von Zellen bildet Katalysatoren als Produkt der Reaktion und ist somit eine *autokatalytische* Reaktion. Die Leistung solcher katalytischer Umsetzungen wird beispielsweise mit der Geschwindigkeit oder der Ausbeute der Reaktion bemessen und ist ausschlaggebend für die Auslegung und den Betrieb von Bioreaktoren (Doran, 2006). Aufgrund der Komplexität der intrazellulären Stoffwechselforgänge ist die Modellbildung für biologische Systeme eine große Herausforderung.

3.3.1 Mikroalgenkultivierung im Satzverfahren

In der Bioprozesstechnik werden kinetische Informationen über eine mikrobielle Population in *idealen* Rührkesselreaktoren generiert. Bei *idealen* Rührkesselreaktoren wird angenommen, dass die Konzentrationen aller Reaktionskomponenten, die physikalischen Eigenschaften der Reaktionsmischung sowie die Reaktionsgeschwindigkeiten im Reaktionsvolumen räumlich konstant sind (Weuster-Botz, 1999). Der im Reaktor ablaufende Bioprozess kann dann durch massenbilanzbasierte Modelle beschrieben werden. Dabei wird allgemein die zeitliche Änderung der Masse einer Komponente im System nach Gleichung 3.8 beschrieben. Der Konvektionsterm beinhaltet dabei die zeitliche Änderung der Masse einer bestimmten Komponente über Zu- sowie Abströme, während der Reaktionsterm die Umsetzung dieser Komponente mit der Zeit beschreibt (Sonnleitner & Chmiel, 2011).

$$\frac{dm_i}{dt} = \frac{d(c_i \cdot V)}{dt} = \underbrace{F_{ein} \cdot c_{i,ein} - F_{aus} \cdot c_{i,aus}}_{\text{Konvektion}} + \underbrace{r_i \cdot V}_{\text{Reaktion}} \quad (3.8)$$

mit	m_i	Masse einer Komponente i im System	g
	t	Zeit	h
	c_i	Konzentration einer Komponente i im System	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
	V	Reaktionsvolumen	L
	F	Volumenstrom des Zu- (<i>ein</i>) oder Ablaufs (<i>aus</i>)	$\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$
	r_i	Reaktionsgeschwindigkeit der Komponente i	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$

Die formalkinetische Betrachtung eines Bioprozesses erfolgt unter der Annahme eines unsegregierten und unstrukturierten zellulären Systems. Das bedeutet, dass die gesamte Zellpopulation als „Durchschnittszelle“ angesehen werden kann, in der intrazelluläre Vorgänge nicht betrachtet werden. Zudem wird balanciertes Zellwachstum angenommen, das heißt, die mittlere Zellzusammensetzung ist nicht von den Umgebungsbedingungen abhängig (Doran, 2006; Hass & Pörtner, 2008). Die Zellpopulation kann somit als eine *black box* angesehen werden, die über spezifische Aufnahme- oder Bildungsraten charakterisiert wird:

$$q_i \equiv \frac{1}{c_x} \cdot \frac{dc_i}{dt} = \frac{r_i}{c_x} \quad (3.9)$$

mit	q_i	spezifische Aufnahme- oder Bildungsrate der Komponente i	$\text{g}_i \cdot \text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$
	c_x	Biomassekonzentration	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

Liegen im Reaktionsmedium alle notwendigen Komponenten im Überschuss vor und kann eine Inhibition durch diese Komponenten ausgeschlossen werden, ergibt sich die spezifische Bildungsrate q_i für die Biomasse nach Gleichung 3.10 zur spezifischen Wachstumsrate μ (Sonnleitner & Chmiel, 2011).

$$\mu \equiv \frac{1}{c_x} \cdot \frac{dc_x}{dt} = \frac{r_x}{c_x} \quad (3.10)$$

mit	μ	spezifische Wachstumsrate	h^{-1}
	r_x	Wachstumsgeschwindigkeit	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$

Die Abhängigkeit der spezifischen Wachstumsrate von der Verfügbarkeit eines limitierenden Substrates wurde erstmals von Monod (1949) in Form einer Sättigungskinetik mit den beiden kinetischen Parametern μ_{max} und K_S beschrieben:

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{c_s}{K_S + c_s} \quad (3.11)$$

mit	μ_{max}	maximale spezifische Wachstumsrate	h^{-1}
	c_s	Substratkonzentration	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
	K_S	Sättigungskonstante des Substrates	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

Die maximale Wachstumsrate μ_{max} kann nahezu erreicht werden, wenn die Substratkonzentration c_s sehr viel größer ist als die Sättigungskonstante K_S und keine andere Medienkomponente inhibierend oder limitierend wirkt. Die Sättigungskonstante entspricht der Substratkonzentration, bei der die spezifische Wachstumsrate halbmaximal ist und gibt Aufschluss über die Affinität des Mikroorganismus zu diesem Substrat (Doran, 2006).

Die Kopplung von Biomasse- und Substratkonzentration erfolgt über den Ausbeutekoeffizient $Y_{x/s}$. Dieser ist ein Maß für das Verhältnis von Biomassewachstums- zu Substrataufnahmegeschwindigkeit beziehungsweise für die Masse gebildeter Biomasse pro Gramm eingesetztem Substrat (Sonnleitner & Chmiel, 2011):

$$Y_{x/s} = \left| \frac{r_x}{r_s} \right| = \frac{\mu}{q_s} = \frac{dc_x}{dc_s} \quad (3.12)$$

mit	$Y_{x/s}$	Ausbeutekoeffizient der Biomasse bezogen auf das Substrat	$\text{g}_{\text{Biomasse}} \cdot \text{g}_{\text{Substrat}}^{-1}$
	r_s	Substrataufnahmegeschwindigkeit	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$

Der Ausbeutekoeffizient kann analog zu Gleichung 3.12 für jedes beliebige Verhältnis einer Komponente i zu einer weiteren Komponente j bestimmt werden (Gleichung 3.13). Somit können sowohl Substrat- als auch Biomasse- und Produktströme zueinander in Beziehung gesetzt werden.

$$Y_{i/j} = \left| \frac{r_i}{r_j} \right| = \frac{q_i}{q_j} = \frac{dc_i}{dc_j} \quad (3.13)$$

mit	$Y_{i/j}$	Ausbeutekoeffizient von i bezogen auf j	$\text{g}_i \cdot \text{g}_j^{-1}$
-----	-----------	---	------------------------------------

Die einfachste Prozessführung bei Bioprocessen ist das Satzverfahren. Dabei wird eine Mindestmenge vitaler Zellen in das Reaktionsmedium überführt und das Reaktionsvolumen daraufhin konstant gehalten. Kleine Flüssigkeitsströme zur Titration des pH oder zur Schaumbekämpfung sowie zugeführte Gase können hierbei vernachlässigt werden. Typisch für einen Satzprozess ist somit die zeitliche Änderung der Konzentrationen aller beteiligten Komponenten mit dem Zellwachstum. Die allgemeine Stoffbilanz aus Gleichung 3.8 vereinfacht sich somit zu:

$$\frac{dm}{dt} = \frac{d(c_i \cdot V)}{dt} = r_i \cdot V \quad \longrightarrow \quad \frac{dc_i}{dt} = r_i \quad (3.14)$$

Die Produktbildungs- oder Substratverbrauchsgeschwindigkeit r_i hängt dabei immer vom allgemeinen Zustand der Zellpopulation und den Umgebungsbedingungen ab. Die Lösung der Differenzialgleichung für das Zellwachstum ($r_i = r_x$) liefert für den Fall, dass nur das limitierende Substrat relevanten Einfluss nimmt, folgenden Zusammenhang:

$$\frac{dc_x}{dt} = r_x \quad \xrightarrow{r_x = \mu \cdot c_x} \quad \frac{dc_x}{dt} = \mu_{max} \cdot \frac{c_s}{c_s + K_S} \cdot c_x \quad (3.15)$$

Üblicherweise wird bei einem Satzprozess zu Beginn eine sehr hohe Substratkonzentration vorgelegt, sodass über einen längeren Zeitraum gilt: $c_s \gg K_S$. Daraus ergibt sich $\frac{c_s}{c_s + K_S} \approx 1$ und führt zu einer Vereinfachung von Gleichung 3.15:

$$\frac{dc_x}{dt} = \mu_{max} \cdot c_x \quad (3.16)$$

Die Integration des Ausdrucks nach Variablenseparation über das Zeitintervall t_0 bis t ergibt den folgenden Zusammenhang:

$$c_x = c_{x,0} \cdot e^{\mu_{max} \cdot (t - t_0)} \quad (3.17)$$

Unter optimalen Bedingungen (keinerlei Limitierung oder Inhibition) verläuft das Zellwachstum demnach exponentiell. In realen Bioprozessen im Satzbetrieb werden jedoch – je nach Umgebungsbedingungen und Zustand der Zellpopulation – auch andere Phasen des Wachstums beobachtet. Werden die Zellen in das Reaktionsmedium überführt, tritt zunächst eine Verzögerung des Wachstums in der sogenannten Verzögerungsphase (*lag*-Phase) (I) auf (Abbildung 3.13). Auf zellulärer Ebene findet eine Adaption an die neuen Umgebungsbedingungen statt, die Wachstumsrate ist gleich Null. Darauf folgt die Beschleunigungsphase (II), in der die Wachstumsrate zunimmt. In der exponentiellen Wachstumsphase (III) ist die Wachstumsrate maximal ($\sim \mu_{max}$) und bleibt konstant, bis die Umgebungsbedingungen nicht mehr optimal sind. Dies kann hervorgerufen werden durch die Limitierung einer essentiellen Reaktionskomponente, die Inhibition durch Produkte oder Metabolite oder eine ungünstige Änderung der Temperatur, Salinität oder des pH. Daraus resultiert eine Abnahme der Wachstumsrate in der Übergangsphase (IV). Mit Erreichen der stationären Phase (V) wird die Wachstumsrate formal erneut Null, tatsächlich stellt sich jedoch vielmehr ein Gleichgewicht zwischen sich vermehrenden und sterbenden Zellen ein. Überwiegt die Sterberate die Wachstumsrate, ist eine Abnahme der Zellzahl in der Absterbephase (VI) zu verzeichnen (Monod, 1949).

Die in Gleichung 3.11 beschriebene Monod-Kinetik eignet sich aufgrund ihrer Simplizität lediglich für die Beschreibung der Wachstumsphasen III-V und berücksichtigt somit weder die Adaption an neue Umgebungsbedingungen noch ein Absterben der Zellen (Sonnleitner & Chmiel, 2011). Weiterhin ist das Modell nicht in der Lage, eine mögliche Inhibition durch das Substrat zu beschreiben, was vor allem bei der Kul-

tivierung Photosynthese betreibender Organismen von großer Bedeutung ist. Hierbei stellt Sonnenlicht das wohl wichtigste und somit limitierende Substrat dar, welches jedoch auch inhibierend werden kann. Aus diesem Grund muss das genannte Wachstumsmodell erweitert werden.

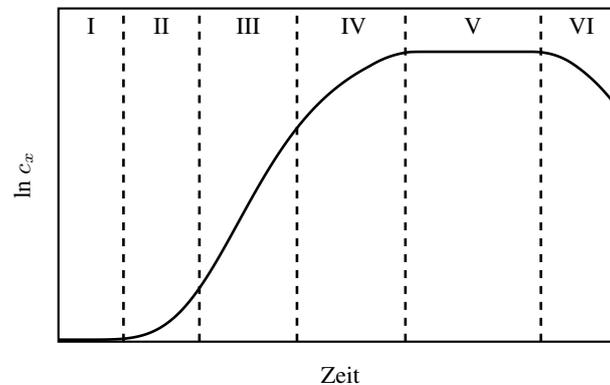


Abbildung 3.13: Schematische Darstellung der Wachstumsphasen von Mikroalgen im Satzverfahren (nach Monod (1949)). I - Verzögerungsphase (*lag*), II - Beschleunigungsphase, III - exponentielle Phase (*log*), IV - Übergangsphase, V - stationäre Phase, VI - Absterbephase.

3.3.2 Lichtabhängigkeit des Wachstums von Mikroalgen

Das Wachstum von Mikroalgen wird maßgeblich von der Verfügbarkeit des Lichts beeinflusst. Da die Pigmente der Lichtsammelkomplexe nur einen bestimmten Wellenlängenbereich absorbieren können (Abschnitt 3.2.1), ist nur ein kleiner Bereich des gesamten elektromagnetischen Strahlungsspektrums photosynthetisch nutzbar: Etwa 50 % des Sonnenlichtspektrums zwischen dem langwelligen UV- und dem nahen Infrarot-Bereich (Abbildung 3.14) können der photosynthetisch aktiven Strahlung (PAR, *photosynthetically active radiation*) zugeordnet werden (Häder, 1999). Dieser Bereich deckt sich nahezu mit dem für Menschen sichtbaren Bereich der Strahlung zwischen etwa 380 und 750 nm (Carvalho *et al.*, 2011).

Die Charakterisierung des Lichts als elektromagnetische Welle erfolgt durch seine Frequenz ν und die Wellenlänge λ nach Gleichung 3.18.

$$\nu \cdot \lambda = c_L \quad (3.18)$$

mit	ν	Frequenz	s^{-1}
	λ	Wellenlänge	nm
	c_L	Lichtgeschwindigkeit ($3 \cdot 10^8$)	$m \cdot s^{-1}$

Die Lichtenergie einer bestimmten Frequenz kann laut der *Quantentheorie* nur in ganzzahligen Vielfachen einer kleinsten Einheit ausgetauscht werden. Diese Lichtquanten werden auch *Photonen* genannt und besitzen die Energie E :

$$E = h \cdot \nu = h \cdot \frac{cL}{\lambda} \quad (3.19)$$

mit E Energie eines Photons J
 h Plancksches Wirkungsquantum ($6,626 \cdot 10^{-34}$) J·s

Demnach steigt die Energie eines Photons proportional mit der Frequenz des Lichts, während die Wellenlänge reziprok proportional ist.

Die Lichtmenge, die den Mikroalgen zur Verfügung steht, wird häufig auch als *Photonenflussdichte* bezeichnet und gibt Aufschluss darüber, welche Stoffmenge (μmol) an Photonen pro Fläche (m^{-2}) und Zeiteinheit (s^{-1}) verfügbar ist. Ebenfalls geläufig ist die Angabe der Lichtenergie in $\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$, wobei die Umrechnung im Bereich des sichtbaren Lichtes je nach Wellenlänge mit einem unterschiedlichen Faktor erfolgen muss – im Mittel entspricht $1 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$ etwa $4,7 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

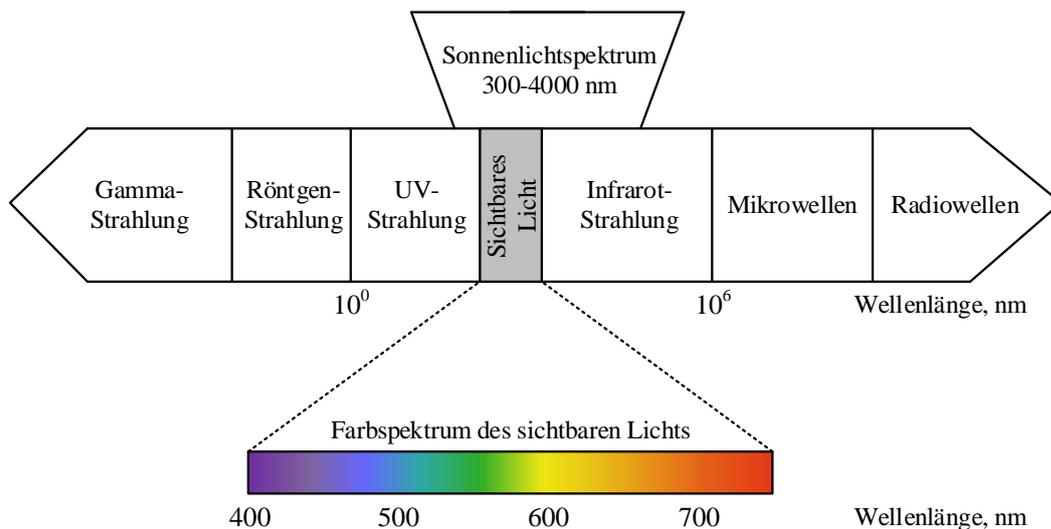


Abbildung 3.14: Darstellung des elektromagnetischen Strahlungsspektrums mit dem Sonnenlichtspektrum und dem Farbspektrum des sichtbaren Lichtes (nach Carvalho *et al.* (2011)).

Lichtabschwächung durch Mikroalgen

Bei der Kultivierung von Mikroalgen ist nicht nur die Lichtqualität – in Form des Wellenlängenbereichs – sondern auch die Photonenflussdichte auf der lichtzugewandten des Reaktors und vor allem im Inneren der Algensuspension von entscheidender Bedeutung (Grobbelaar, 2010). Das Licht trifft dabei mit einer bestimmten Eingangs-Bestrahlungsstärke I_0 auf der Oberfläche der Algensuspension auf und wird aufgrund unterschiedlicher physikalischer Effekte beim Durchgang durch die Schichtdicke der Suspension L abgeschwächt (Abbildung 3.15): Im Inneren der Mikroalgen werden einerseits Photonen von den Lichtsammelkomplexen absorbiert und als Energiequelle den photosynthetischen Reaktionen zugeführt. Andererseits

kommt es, vor allem mit steigender Zelldichte, zu Streuungseffekten oder – hauptsächlich bei Zellen mit geringer Chlorophyll-Packungsdichte – zu einer Passage der Photonen durch die Zellen (*Transmission*). Die Streuung wird in Abhängigkeit vom Verhältnis der Wellenlänge zum Partikeldurchmesser unterschieden in die *Rayleigh*- und *Mie*-Streuung. Letztere beschreibt die Ablenkung des Lichts durch einen meist elastischen Stoß mit Partikeln, deren Größe mit der Wellenlänge des Lichts vergleichbar ist und kann somit zur Beschreibung der durch Mikroalgen verursachten Streuungseffekte herangezogen werden (Häder, 1999). Sowohl gestreute als auch transmittierte Photonen stehen jedoch benachbarten Zellen weiterhin für die Absorption zur Verfügung. Somit gestaltet es sich schwierig, alle lichtabschwächenden Effekte in einer Mikroalgensuspension zu unterscheiden.

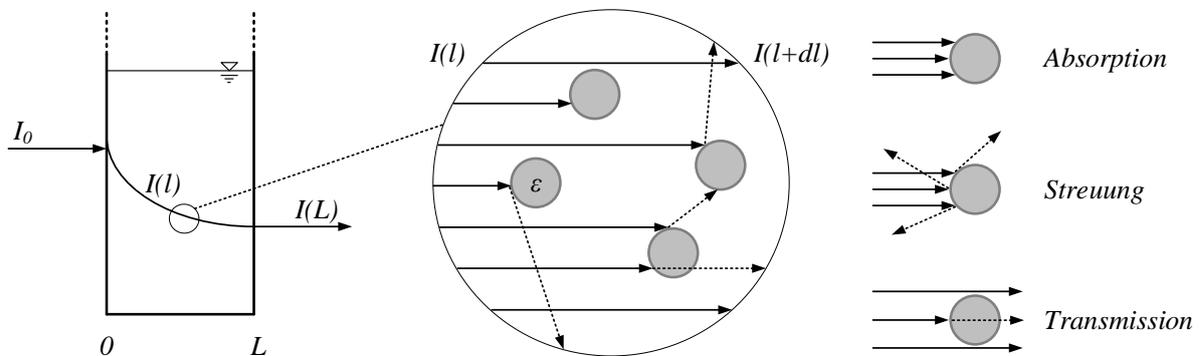


Abbildung 3.15: Darstellung der Lichtabschwächung durch einen Photobioreaktor. Das Licht trifft mit einer bestimmten Bestrahlungsstärke I_0 auf die Mikroalgensuspension auf. Beim Durchgang durch die Schichtdicke L des Reaktors wird die Bestrahlungsstärke nach einer bestimmten Funktion $I(l)$ (Gleichungen 3.20-3.22) in Abhängigkeit des spezifischen Extinktionskoeffizienten ε abgeschwächt und tritt mit $I(L)$ aus dem Reaktor aus. In der Detailansicht ist ein Ausschnitt aus dem Photobioreaktor gezeigt, an welchem die Extinktion des einfallenden Lichts durch die Mikroalgen deutlich wird. Aufgrund von Absorption und Streuung ist die transmittierte Strahlung $I(l + dl)$ kleiner als $I(l)$.

In einer homogen durchmischten Algensuspension, in welcher die Reflexion und Streuung durch die Partikel sowie die Grenzfläche der Flüssigkeit vernachlässigt werden kann und das auftreffende Licht monochromatisch und kollimiert ist, kann die Extinktion beziehungsweise Lichtabschwächung $I(l)$ in einem Photobioreaktor durch das *Bouguer-Lambert-Beersche Gesetz* dargestellt werden (Schmidt, 2000). Die Grundform dieses Gesetzes wurde von Bouguer (1729) postuliert und von Lambert (1760) überarbeitet. In seiner heutzutage bekannten Form (Gleichung 3.20) existiert das Gesetz seit Beer (1852), welcher erstmals die Konzentrationsabhängigkeit der Absorption berücksichtigte. Dieses Modell beschreibt die exponentielle Abschwächung des auftreffenden Lichts I_0 in Abhängigkeit der Konzentration der absorbierenden Substanz c_x , der Schichtdicke des durchstrahlten Mediums l sowie des spezifischen Extinktionskoeffizienten ε . Der Extinktionskoeffizient berücksichtigt dabei sowohl die Absorption als auch den Energieverlust des Lichts durch Streuung und ist spezifisch für jede Substanz.

Weiterhin gilt es nach der *Dispersionstheorie* zu beachten, dass nicht der Extinktionskoeffizient selbst, sondern vielmehr die Molrefraktion $R_{mol} = \varepsilon \cdot \frac{n}{(n^2+2)^2}$ konzentrationsunabhängig ist. Da sich der Brechungsindex n des Mediums mit der Konzentration verändert, kann eine gleichzeitig gegenläufige Änderung des Extinktionskoeffizienten erwartet werden (Schmidt, 2000). Strenggenommen ist das Bouguer-Lambert-Beersche Gesetz lediglich ein Grenzgesetz für verdünnte Lösungen (Schmidt, 2000), weshalb Havel (2006) die Verwendung eines modifizierten Bouguer-Lambert-Beerschen Gesetzes (Gleichung 3.21) bei hohen Zelldichten vorschlug. Eine weitere Möglichkeit zur Beschreibung der Lichtabschwächung ist das Modell nach Reynolds & Pacala (1993), welches ebenfalls die Streuung an den Partikeln vernachlässigt (Gleichung 3.22).

$$I = I_0 \cdot e^{-\varepsilon \cdot c_x \cdot l} \quad (3.20)$$

$$I = I_0 \cdot e^{-\varepsilon \cdot \sqrt{c_x} \cdot l} \quad (3.21)$$

$$I = \frac{I_0}{1 + \varepsilon \cdot c_x \cdot l} \quad (3.22)$$

mit	I	Bestrahlungsstärke bei Austritt aus dem Medium	$\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
	I_0	Bestrahlungsstärke bei Eintritt in das Medium	$\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
	ε	spezifischer Extinktionskoeffizient	$\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$
	c_x	Biotrockenmassekonzentration	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
	l	Schichtdicke des Reaktionsmediums	cm

Die Abschwächung der Eingangs-Bestrahlungsstärke I_0 aufgrund von Absorptions- und Streuungseffekten in der Mikroalgensuspension führt in Photobioreaktoren in Abhängigkeit der Schichtdicke des Reaktors L sowie I_0 zur Ausbildung verschiedener Zonen im Reaktor (Pruvost & Cornet, 2012): Auf die Algensuspension auftreffendes Licht kann zur *Photoinhibition* der Zellen in der dem Licht zugewandten Schicht des Reaktors (*III*, Abbildung 3.16) führen. Bis zu welcher Schichtdicke und in welchem Ausmaß die Zellen von dieser Starklichthemmung beeinträchtigt werden, hängt dabei sowohl von der Intensität des Lichts als auch von der vorherrschenden Zelldichte und der Durchmischung ab – je höher I_0 , je geringer die Zelldichte und je schlechter die Durchmischung, desto ausgeprägter ist die Photoinhibition. Dringt das Licht tiefer in die Mikroalgensuspension ein, führt die gegenseitige Beschattung der Zellen zu einer geringeren Lichtverfügbarkeit im Reaktorinneren, sodass dort die Möglichkeit zur Ausbildung einer Zone mit *Lichtsättigung* (*II*) besteht. Unter gesättigten Lichtverhältnissen wird bei Mikroalgen optimales Wachstum erwartet, da genau so viele Photonen zur Verfügung stehen, wie von den Lichtsammelkomplexen der Mikroalgen absorbiert werden können. Auf der lichtabgewandten Seite des Reaktors überwiegen schließlich die Beschattungseffekte, sodass nicht mehr jede Zelle mit ausreichend Licht versorgt werden kann. Je nachdem wie ausgeprägt die-

se *Lichtlimitierung* (*I*) ist, überwiegt letztlich sogar die *Dunkelrespiration* die Photosyntheseaktivität. Auch hier nimmt sowohl die Intensität des auftreffenden Lichts I_0 als auch die aktuell vorherrschende Zelldichte, die Schichtdicke der Algensuspension sowie die Durchmischung maßgeblichen Einfluss auf die Ausprägung dieser Zonen im Reaktor.

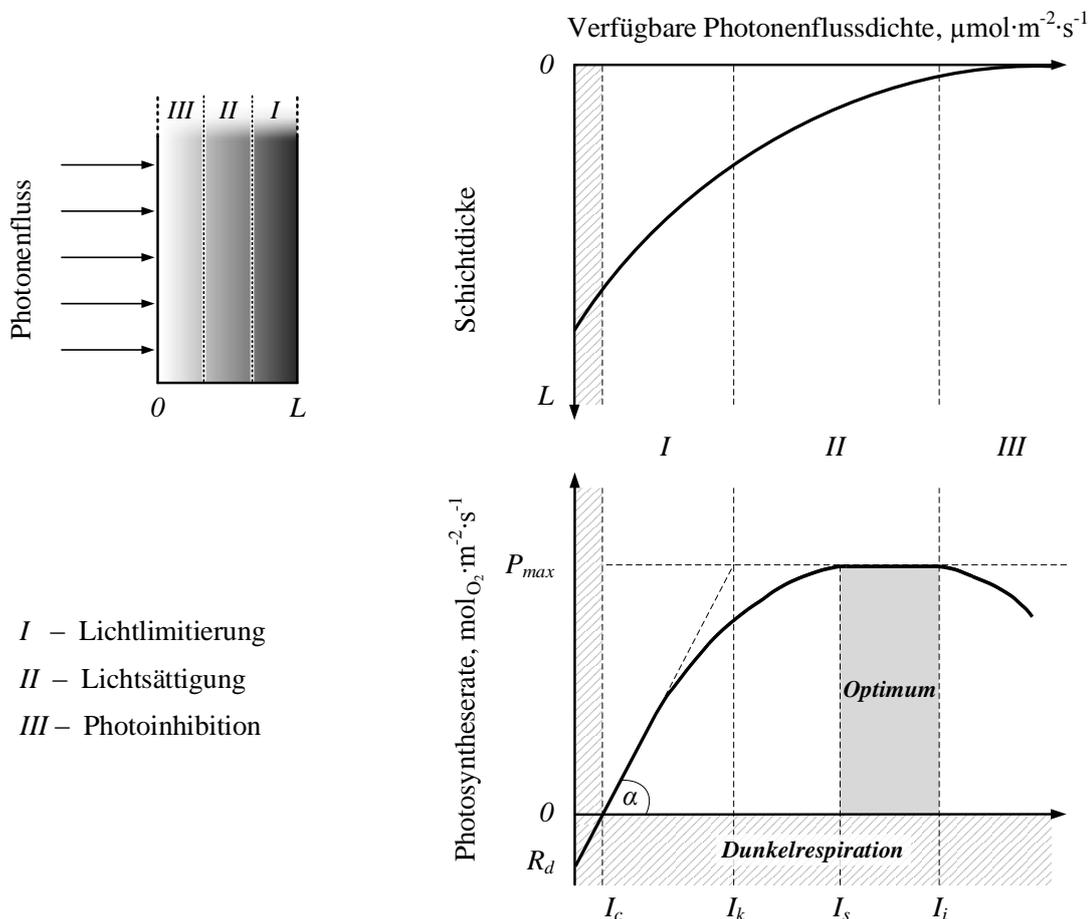


Abbildung 3.16: Schematische Darstellung des Zusammenhangs zwischen der Photonenflussdichte und der Ausbildung verschiedener Zonen im Photobioreaktor in Abhängigkeit der Schichtdicke des Reaktors (nach Grobelaar (2010); Pruvost & Cornet (2012); Tredici (2010)): Lichtlimitierung (*I*), Lichtsättigung (*II*) und Photoinhibition (*III*). Diese verschiedenen Zonen spiegeln sich in der Lichtantwortkurve (Abbildung 3.10) des phototrophen Wachstums wider.

Die Ausbildung der verschiedenen Zonen im Reaktor in Verbindung mit der Lichtantwortkurve (Abbildung 3.16 und Abschnitt 3.2.4) zeigt die Schwierigkeit auf, die eine Charakterisierung des phototrophen Wachstums mit sich bringt: Lediglich die Eingangs-Bestrahlungsstärke und die Transmission kann eindeutig bestimmt werden, das Reaktorinnere ähnelt hingegen einer *black box* mit heterogener Lichtverteilung, in der die Lichtverfügbarkeit pro Algenzelle nicht definiert werden kann. Ein Ansatz, dieses Problem zu umgehen, ist die Anwendung geeigneter Modelle zur differenzierten Beschreibung der Lichtabhängigkeit des Wachstums von Mikroalgen.

3.3.3 Mittlere integrale Bestrahlungsstärke in Photobioreaktoren

Eine Annäherung an die modellgestützte Beschreibung des phototrophen Wachstums in Reaktorsystemen mit beliebiger Schichtdicke bietet die Einführung der mittleren integralen Bestrahlungsstärke (Molina Grima *et al.*, 1994). Die in den Gleichungen 3.20-3.22 vorgestellten Modelle geben bereits die Möglichkeit, die Lichtverhältnisse an einem beliebigen Punkt im Photobioreaktor zu berechnen. Daraus kann wiederum mithilfe der speziesspezifischen Lichtantwortkurve (Abbildung 3.16) eine lokal vorherrschende Wachstumsrate oder Photosyntheseaktivität ermittelt werden. Dieses Vorgehen kann in beliebiger Auflösung für die gesamte Schichtdicke des Reaktors wiederholt werden, sodass sowohl für die Bestrahlungsstärke als auch für die Wachstumsrate Funktionen in Abhängigkeit von der Schichtdicke beschrieben werden können ($I(l)$, $\mu(l)$, Abbildung 3.17).

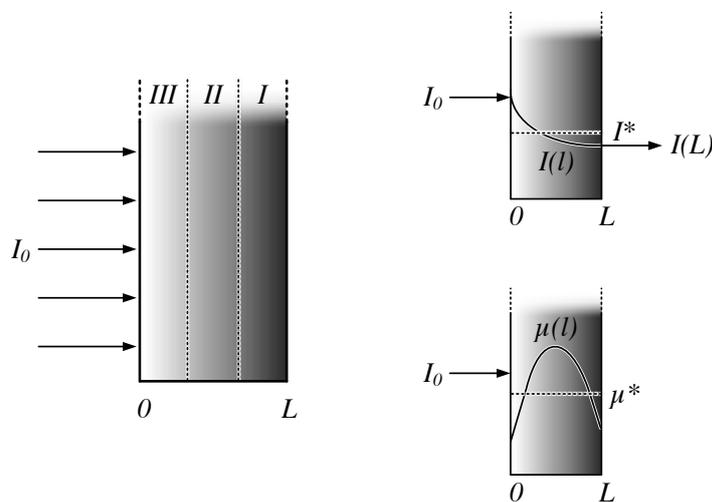


Abbildung 3.17: Darstellung der Lichtabschwächung der Eingangs-Bestrahlungsstärke und der Ausbildung verschiedener Zonen (I, II, III, vergleiche Abbildung 3.10/3.16) in Abhängigkeit der Schichtdicke in einem Photobioreaktor. Die auf die Oberfläche auftreffende Bestrahlungsstärke I_0 wird nach der Funktion $I(l)$ über die Schichtdicke L abgeschwächt und verlässt den Reaktor mit der Intensität $I(L)$. Die Wachstumsrate der Mikroalgen ist aufgrund der unterschiedlichen Zonen ebenfalls abhängig von der Position der Zelle im Reaktor ($\mu(l)$). Mit der Annahme einer homogenen Durchmischung der Algensuspension kann die mittlere integrale Bestrahlungsstärke I^* (Gleichung 3.23) beziehungsweise Wachstumsrate μ^* berechnet werden (nach Franco-Lara *et al.* (2006); Molina Grima *et al.* (1994)).

Mit der Annahme, dass Licht der einzige limitierende Faktor für das Wachstum ist, kann eine mittlere integrale Wachstumsrate μ^* für die gesamte Algensuspension nach Cornet *et al.* (1992a,b, 1995) über die lokal vorherrschenden Lichtverhältnisse abgeschätzt werden. Diese Abschätzung kann dabei sowohl für niedrige Biomassekonzentrationen mit exponentiellem Wachstum als auch für hohe Biomassekonzentrationen mit lichtlimitiertem linearem Wachstum erfolgen (Cornet *et al.*, 1992b). Beiden Fällen ist gemein, dass die Funktion der Wachstumsrate in Abhängigkeit der lokalen Photonendichte bekannt sein muss.

Ein alternativer Ansatz für die Bestimmung der mittleren integralen Wachstumsrate einer Algensuspension besteht darin, zunächst die mittlere integrale Bestrahlungsstärke I^* nach Gleichung 3.23 zu bestimmen

(Cornet *et al.*, 1992b; Molina Grima *et al.*, 1994). Zu diesem Zweck wird ein geeignetes Modell für die Lichtabschwächung ausgewählt und über die Schichtdicke L des Photobioreaktors integriert.

$$I^*(c_x) = \frac{1}{L} \int_0^L I(c_x, l) dl \quad (3.23)$$

mit	I^*	mittlere integrale Bestrahlungsstärke	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
	L	Schichtdicke des Photobioreaktors	cm
	I	Funktion nach Gleichung 3.20-3.22	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$

Die mittlere integrale Bestrahlungsstärke spiegelt somit die Bestrahlungsstärke wider, die bei einer bestimmten Biomassekonzentration c_x im Mittel jede Algenzelle im Photobioreaktor erreichen wird. Ausgehend von dieser globalen Bestrahlungsstärke kann wiederum die zugehörige globale Wachstumsrate der gesamten Algensuspension ermittelt werden, insofern die Lichtantwortkurve dieses Organismus bekannt ist. Dazu ist es lediglich notwendig, die Lichtabhängigkeit der Wachstumsrate mit einem geeigneten Modell zu beschreiben und die kinetisch relevanten Parameter zu bestimmen.

3.3.4 Formalkinetische Betrachtung der Licht- und Temperaturabhängigkeit

Das Wachstum phototropher Mikroorganismen kann unter optimalen Bedingungen – keine Limitierung, keine Inhibition – mit der Sättigungskinetik nach Gleichung 3.11 beschrieben werden, wobei Licht als Substrat betrachtet wird. Dieses Modell stellt die Realität jedoch stark idealisiert dar, denn der Einfluss anderer Nährstoffe oder mögliche Inhibitionen werden gänzlich ignoriert. Aus diesem Grund basieren viele Modelle auf einem erweiterten Ansatz der Form (Hass & Pörtner, 2008):

$$\mu = \mu_{max} \cdot \prod_{\text{Substrate } s} \left(\frac{c_s}{K_{S,s} + c_s} \right) \cdot \prod_{\text{Inhibitoren } i} \left(\frac{K_{I,i}}{K_{I,i} + c_i} \right) \quad (3.24)$$

mit	c_s	Konzentration des Substrates s	$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
	$K_{S,s}$	Sättigungskonstante des Substrates s	$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
	$K_{I,i}$	Inhibitionskonstante des Inhibitors i	$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
	c_i	Konzentration des Inhibitors i	$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

Dieser Modellansatz berücksichtigt nicht nur alle limitierenden Substrate, sondern auch mögliche Inhibitionen durch Einführen sogenannter *Schaltterme* (Hass & Pörtner, 2008). Die zellspezifische Wachstumsrate als Funktion eines Inhibitors kann mit diesem kinetischen Ansatz (Gleichung 3.24) jedoch nur eingeschränkt beschrieben werden: Die Gültigkeit des Modells ist lediglich für die *konvexe* Abhängigkeit der Wachstumsrate von der Inhibitorkonzentration gegeben (Abbildung 3.18,). Die Darstellung einer linearen oder

konkaven Abhängigkeit der spezifischen Wachstumsrate von der InhibitorKonzentration kann durch Einführen der *Schalterterme* hingegen nicht realisiert werden. Eine mögliche allgemeingültige Alternative stellt die Verwendung eines einfachen Exponentialansatzes nach Levenspiel (1980) dar:

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{c_s}{K_S + c_s} \cdot \left(1 - \frac{c_i}{c_{i,max}}\right)^n \quad (3.25)$$

mit $c_{i,max}$ maximale InhibitorKonzentration ($\mu = 0 \text{ h}^{-1}$) $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
 n Exponent -

Der Exponentialansatz berücksichtigt die limitierende Substratkonzentration ebenso wie die maximale InhibitorKonzentration $c_{i,max}$, welche zum Erliegen des Wachstums führt. Dabei kann sowohl das limitierende Substrat als auch ein gebildetes Produkt inhibierend auf das Zellwachstum wirken (Weuster-Botz, 1999). Der Exponent n beeinflusst maßgeblich die Reduktion der Wachstumsrate als Funktion der InhibitorKonzentration c_i (Abbildung 3.18, —): Während $n = 1$ die lineare Abnahme der zellspezifischen Wachstumsrate darstellt, beschreibt $n > 1$ die *konvexe* und $n < 1$ die *konkave* Abhängigkeit der Wachstumsrate von der InhibitorKonzentration (Levenspiel, 1980).

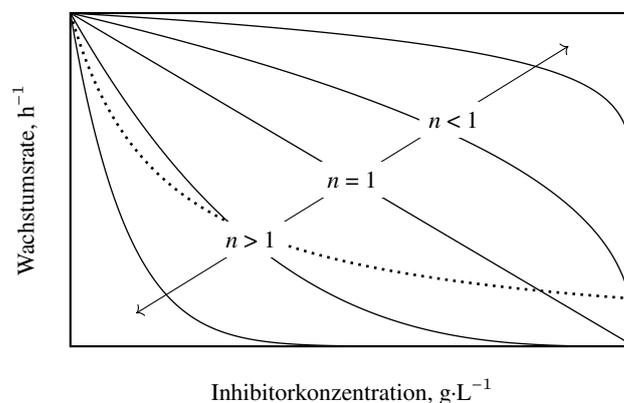


Abbildung 3.18: Darstellung der Reduktion der Wachstumsrate als Funktion der InhibitorKonzentration nach Gleichung 3.24 für ein inhibierendes Produkt (·····) beziehungsweise in Abhängigkeit des Exponenten n nach Gleichung 3.25 (—).

Kinetik der Lichtabhängigkeit

Bei der formalkinetischen Betrachtung des phototrophen Wachstums kann es zunächst sinnvoll sein, Licht als einziges essentielles Substrat ($c_s = I$) anzunehmen und vorauszusetzen, dass alle anderen das Wachstum beeinflussenden Nährstoffe in optimaler Konzentration vorliegen und keine Produktinhibition zu erwarten ist. Weiterhin ist anzunehmen, dass die Temperatur konstant und die Algensuspension ausreichend durchmischt ist (Talbot *et al.*, 1991; Pruvost *et al.*, 2011). Mit diesen Annahmen kann die Wachstumsrate als Funktion der Bestrahlungsstärke I beispielsweise wie folgt dargestellt werden (Storhas *et al.*, 2013):

$$\mu = \mu_{max} \cdot f(I) = \mu_{max} \cdot \frac{I}{K_S + I} \cdot \frac{K_I}{K_I + I} \quad (3.26)$$

Wirkt das Licht nicht nur limitierend, sondern auch inhibierend auf das Wachstum (Abbildung 3.16), ist die Wachstumsrate keine eindeutige Funktion der Bestrahlungsstärke I . Es existieren zwei verschiedene Bestrahlungsstärken, die dieselbe Wachstumsrate liefern: Die Sättigungskonstante K_S und die Inhibitionskonstante K_I (Abbildung 3.19, —). Hierbei gilt es zusätzlich zu beachten, dass die maximale Wachstumsrate μ_{max} ein kinetischer Parameter ist, welcher experimentell bei Substratinhibition nicht erreicht werden kann. Weiterhin kann aus Gleichung 3.26 abgeleitet werden, dass je kleiner K_I , desto ausgeprägter die Inhibition (Sonnleitner & Chmiel, 2011).

Ein weiterer sehr häufig verwendeter Ansatz zur Beschreibung der lichtabhängigen Wachstumskinetik kann wie folgt formuliert werden (Andrews, 1968):

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{I}{K_S + I + \frac{I^2}{K_I}} \quad (3.27)$$

Dieser häufig verwendete kinetische Ansatz berücksichtigt ebenfalls die Inhibition der spezifischen Wachstumsrate bei hohen Bestrahlungsstärken (Abbildung 3.19, ·····).

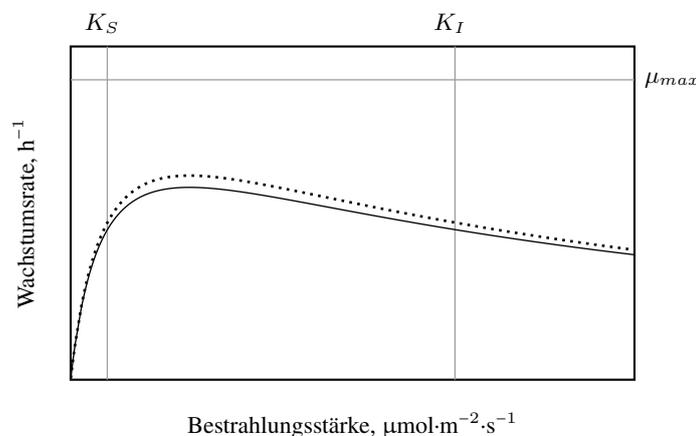


Abbildung 3.19: Vergleich zweier kinetischer Ansätze zur Beschreibung der Wachstumsrate als Funktion des limitierenden Substrates Licht mit Berücksichtigung der Substratinhibition nach Gleichung 3.26 (—) beziehungsweise nach Gleichung 3.27 (·····). Die Sättigungskonstante K_S , die Inhibitionskonstante K_I sowie die maximale Wachstumsrate μ_{max} stellen die kinetischen Parameter dar.

Darüber hinaus existieren weitere Modelle, die die Photoinhibition außer Acht lassen (Molina Grima *et al.*, 1994; van Oorschot, 1955; Tamiya *et al.*, 1953) als auch solche mit Berücksichtigung photoinhibierender Effekte (Andrews, 1968; Comacho Rubio *et al.*, 2003; Molina Grima *et al.*, 1999).

Steht bei einem biotechnologischen Prozess nicht die Produktion von Zellen, sondern von Wertstoffen im Vordergrund, ist eine Erweiterung der bisher genannten kinetischen Modelle erforderlich. Die zelluläre Bildung von Produkten kann dabei verschieden mit dem Wachstum der Zellen assoziiert sein. Je nachdem ob die Produktbildung (teilweise) wachstumsgekoppelt oder wachstumsentkoppelt erfolgt, können bei Vernachlässigung des Erhaltungsstoffwechsels unterschiedliche Ansätze formuliert werden (Sonnleitner & Chmiel, 2011; Weuster-Botz, 1999):

$$q_p = q_{p,\mu} + q_{p,k} = \frac{\mu}{Y_{x/p,\mu}} + q_{p,k} \quad (3.28)$$

mit	q_p	spezifische Produktbildungsrate	$\xi_{\text{Produkt}} \cdot \xi_{\text{Biomasse}}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$
	$q_{p,\mu}$	wachstumsgekoppelte Produktbildungsrate	$\xi_{\text{Produkt}} \cdot \xi_{\text{Biomasse}}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$
	$q_{p,k}$	wachstumsentkoppelte Produktbildungsrate	$\xi_{\text{Produkt}} \cdot \xi_{\text{Biomasse}}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$
	$Y_{x/p,\mu}$	Ausbeutekoeffizient	$\xi_{\text{Biomasse}} \cdot \xi_{\text{Produkt}}^{-1}$

Für vollständig mit dem Wachstum gekoppelte Produkte ist $q_{p,k} = 0$, während $q_{p,\mu}$ bei wachstumsentkoppelter Produktbildung zu vernachlässigen ist. Bei biotechnologisch relevanten Produkten kann jedoch oftmals eine partielle Wachstumsassoziation beobachtet werden (Sonnleitner & Chmiel, 2011).

Für die Beschreibung der spezifischen phototrophen Produktbildungsrate als Funktion des limitierenden Substrats Licht I , welches ebenfalls inhibierend wirken kann, existieren diverse Modelle, wie beispielsweise der empirische Zusammenhang nach Edwards (1970):

$$q_p = q_{p,max} \cdot \frac{I}{K_{S,p} + I} \cdot e^{-\frac{I}{K_{I,p}}} \quad (3.29)$$

mit	q_p	spezifische Produktbildungsrate	$\xi_{\text{Produkt}} \cdot \xi_{\text{Biomasse}}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$
	$q_{p,max}$	maximale spezifische Produktbildungsrate	$\xi_{\text{Produkt}} \cdot \xi_{\text{Biomasse}}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$
	I	Bestrahlungsstärke	$\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
	$K_{S,p}$	Sättigungskonstante der Produktbildung	$\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
	$K_{I,p}$	Inhibitionskonstante der Produktbildung	$\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$

Mit diesem Ansatz können die Sättigungskonstante $K_{S,p}$, die Inhibitionskonstante $K_{I,p}$ sowie die maximale spezifische Produktbildungsrate $q_{p,max}$ als kinetische Parameter identifiziert werden, wobei die maximale Produktbildungsrate bei Substratinhibition niemals erreicht werden kann. Die Zunahme der Produktbildungsrate als Funktion des limitierenden Substrates I entspricht einer Sättigungsfunktion, während die Inhibition bei zu hoher Bestrahlungsstärke eine exponentielle Abhängigkeit darstellt (Abbildung 3.20).

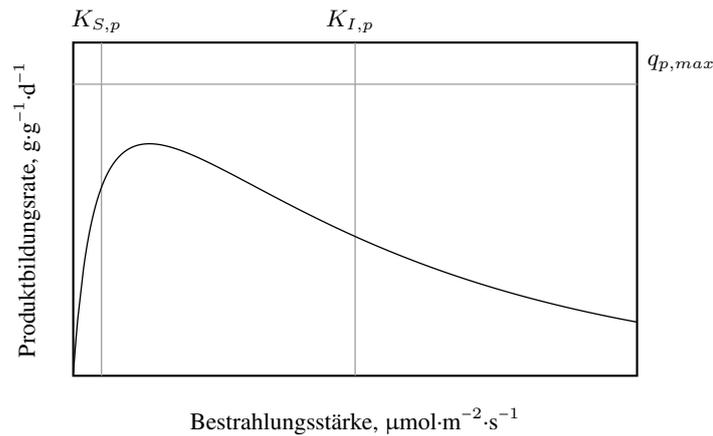


Abbildung 3.20: Darstellung des kinetischen Modells nach Gleichung 3.29 zur Beschreibung der spezifischen Produktbildungsrate als Funktion des limitierenden Substrates Licht mit Berücksichtigung der Substratinhibition. Die Sättigungskonstante $K_{S,p}$, die Inhibitionskonstante $K_{I,p}$ sowie die maximale Produktbildungsrate $q_{p,max}$ stellen die kinetischen Parameter dar.

Weitere Modelle zur Beschreibung der Produktbildungsrate als Funktion der Substratkonzentration basieren meist auf einer Sättigungsfunktion nach Monod (1949) und können je nach Abhängigkeit der Produktbildungsrate von der inhibierenden Substratkonzentration auf unterschiedliche Weise erweitert werden (Edwards, 1970; Sonnleitner & Chmiel, 2011).

Kinetik der Temperaturabhängigkeit

Neben der Bestrahlungsstärke stellt die Temperatur einen weiteren essentiellen – in offenen Reaktoren meist nicht kontrollierbaren – Parameter bei der Kultivierung von Mikroalgen dar. Üblicherweise wird für die Beschreibung des Zusammenhangs zwischen Reaktionsgeschwindigkeit und Temperatur chemischer Reaktionen das Modell nach *Arrhenius* verwendet (Goldman & Carpenter, 1974), welches jedoch die Abhängigkeit des biologischen Wachstums von der Temperatur nicht adäquat beschreiben kann, da vor allem die möglicherweise negativen Auswirkungen hoher Temperaturen nicht berücksichtigt werden (Ratkowsky *et al.*, 1982). Neben alternativen Modellen, die auf der Arrhenius-Gleichung basieren (Hinshelwood, 1946), gibt es weitere Modelle, welche einen empirischen Ansatz verfolgen (Ratkowsky *et al.*, 1982, 1983). Dieser Kategorie ist auch das *CTMI*-Modell (*cardinal temperature model with inflection*) nach Rosso *et al.* (1993) zuzuordnen, welches experimentelle Daten ohne mechanistische Erklärung mit den drei Kardinaltemperaturen (T_{min} , T_{opt} , T_{max}) und der optimalen Wachstumsrate (μ_{opt}), welche bei T_{opt} erreicht wird, beschreiben soll. Darüber hinaus sind die Parameter dieses Modells einfach zu interpretieren und es kann eine schnelle Konvergenz mit den zu identifizierenden Parametern erwartet werden. Das *CTMI*-Modell wurde von Bernard & Rémond (2012) weiterentwickelt und kann für die Vorhersage des temperaturabhängigen Wachstums von Mikroalgen verwendet werden. Die Gültigkeit des Modells ist dabei in den Grenzen T_{min} bis T_{max} wie folgt gegeben:

$$\mu(T) = \begin{cases} 0 & \text{für } T < T_{min} \\ \mu_{opt} \cdot \Theta(T) & \text{für } T_{min} < T < T_{max} \\ 0 & \text{für } T > T_{max} \end{cases} \quad (3.30)$$

$$\Theta(T) = \frac{(T - T_{max})(T - T_{min})^2}{(T_{opt} - T_{min}) [(T_{opt} - T_{min})(T - T_{opt}) - (T_{opt} - T_{max})(T_{opt} + T_{min} - 2T)]}$$

mit	$\mu(T)$	temperaturabhängige spezifische Wachstumsrate	h^{-1}
	μ_{opt}	optimale Wachstumsrate	h^{-1}
	$T_{(min/opt/max)}$	(minimale/optimale/maximale) Temperatur	$^{\circ}\text{C}$

Dieser kinetische Ansatz liefert eine für Mikroorganismen charakteristische Abhängigkeit der spezifischen Wachstumsrate von der Temperatur (Abbildung 3.21): Unterhalb der minimalen Temperatur T_{min} und oberhalb der maximalen Temperatur T_{max} ist kein Wachstum möglich. Die optimale Wachstumstemperatur T_{opt} führt zu einer optimalen Wachstumsrate μ_{opt} , welche auch experimentell erreicht werden kann.

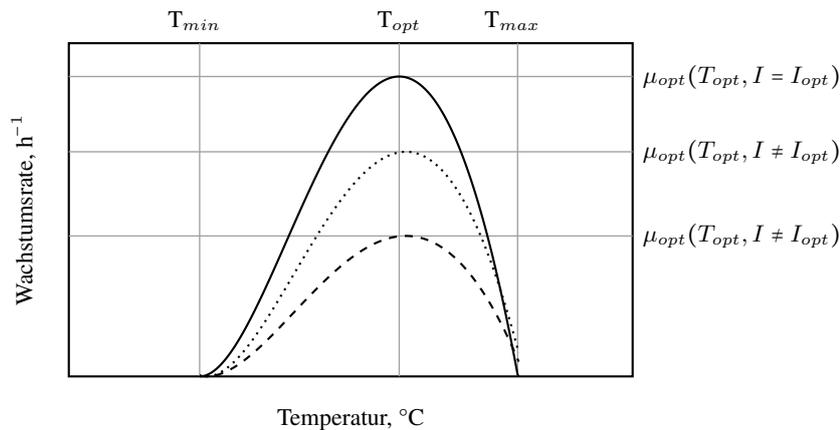


Abbildung 3.21: Darstellung der zellspezifischen Wachstumsrate als Funktion der Temperatur. Mit dem Modell nach Gleichung 3.30 können die drei Kardinaltemperaturen T_{min} , T_{opt} und T_{max} als kinetische Parameter identifiziert werden. Die optimale Temperatur T_{opt} führt zu einer experimentell erreichbaren optimalen Wachstumsrate μ_{opt} bei einer konstanten Bestrahlungsstärke I . Die Kopplung der Einflussgrößen Temperatur und Licht nach Gleichung 3.31 führt zu unterschiedlichen optimalen Wachstumsraten, die Kardinaltemperaturen sind hingegen identisch. Im Vergleich zu optimaler Bestrahlung I_{opt} (—) rufen Bestrahlungsstärken ober- oder unterhalb (·····, - - -) von I_{opt} eine reduzierte optimale Wachstumsrate hervor.

Das kinetische Modell zur Beschreibung der Temperaturabhängigkeit nach Gleichung 3.30 berücksichtigt lediglich die Temperatur als Einflussgröße auf das phototrophe Wachstum bei einer konstanten Bestrahlungsstärke. In der Realität besteht jedoch eine wechselseitige Abhängigkeit von Licht und Temperatur bei der Beeinflussung der Wachstumsrate. So können beispielsweise sub- und supraoptimale Temperaturen die Reduktion der Wachstumsrate aufgrund von Photoinhibition begünstigen (Sorokin & Krauss, 1962; Sandnes *et al.*, 2005).

Nachdem Licht und Temperatur die Parameter mit dem größten wechselseitigen Einfluss auf das Mikroalgenwachstum sind, welche zudem bei Nutzung des Sonnenlichts in offenen Reaktoren kaum zu kontrollieren sind, schlugen Bernard & Rémond (2012) die Kopplung zweier Modelle vor, um beiden Parametern Rechnung zu tragen. Diesem gekoppelten Modell liegt die Annahme zugrunde, dass die Beeinflussung der Kardinaltemperaturen durch die Bestrahlungsstärke zu vernachlässigen ist und somit $\Theta(T)$ nicht von I abhängig ist:

$$\mu(I, T) = \mu(I) \cdot \Theta(T) \quad (3.31)$$

$$\mu(I) = \mu_{max} \cdot \frac{I}{I + \frac{\mu_{max}}{\alpha} \left(\frac{I}{I_{opt}} - 1 \right)^2}$$

mit	$\mu(I)$	spezifische lichtabhängige Wachstumsrate	h^{-1}
	α	Anfangssteigung der Lichtantwortkurve	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-2}$
	I_{opt}	optimale Bestrahlungsstärke	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$

Die Kopplung der kinetischen Ansätze für die Licht- und Temperaturabhängigkeit beinhaltet zusätzlich die optimale Bestrahlungsstärke I_{opt} , welche bei gleichzeitig optimaler Wachstumstemperatur eine optimale Wachstumsrate bedingt. Für den Fall, dass die optimale Bestrahlungsstärke I_{opt} sehr hoch ist ($I_{opt} \gg I$), entspricht das in Gleichung 3.31 dargestellte Modell einer Sättigungskinetik mit der Sättigungskonstante $\frac{\mu_{max}}{\alpha}$. Werden Bestrahlungsstärken ober- oder unterhalb des Optimums erreicht, führt dies zu einer Reduktion der spezifischen Wachstumsrate als Funktion der Temperatur, im Vergleich zur Temperaturabhängigkeit bei optimaler Bestrahlungsstärke (Abbildung 3.21).

Allen vorgestellten Modellen für das licht- und/oder temperaturabhängige Wachstum ist gemein, dass alle übrigen essentiellen Nährstoffe in ausreichender Konzentration verfügbar sein müssen und keinerlei Limitierungen oder Inhibitionen, außer durch die betrachteten Parameter, zu erwarten sind. Sind diese Voraussetzungen gegeben, stellen solche Modelle eine prinzipielle Möglichkeit dar, das Wachstum von Mikroalgen zu beschreiben.

3.4 Industrielle Nutzung von Mikroalgen

Schon seit Hunderten von Jahren werden Algen als Nahrungs-, Futter-, Heil- sowie Düngemittel verwendet (Gualtieri & Barsanti, 2006; Rosello-Sastre, 2012). Die kommerzielle Nutzung von Mikroalgen als Produktionsplattform für wertvolle Produkte hielt jedoch erst vor weniger als 60 Jahren Einzug (Borowitzka & Moheimani, 2013a). Heutzutage werden Algen im industriellen Maßstab kultiviert und dienen als rentable Quelle für Biomasse sowie intrazelluläre Moleküle wie Lipide, Pigmente (Carotinoide), hochmolekulare Polysaccharide, Proteine und Vitamine (Rosello-Sastre, 2012; Chmiel, 2011).

So sind beispielsweise einige von Cyanobakterien gebildete Metabolite bekannt für ihre therapeutische Wirkung: Vor allem *Spirulina* sp. besitzen ein breites Wirkungsspektrum – sie können als Immunomodulatoren und in der Krebs-Therapie eingesetzt werden, wirken antiviral und vermögen den Cholesterinspiegel zu senken. Einem Glykoprotein aus *Chlorella vulgaris* wird weiterhin eine protektive Funktion im Bezug auf Tumor-Metastasen nachgesagt. Zusätzlich stellen Mikroalgen im Vergleich zu Fischöl eine deutlich bessere Quelle für mehrfach-ungesättigte Fettsäuren dar. Eicosapentaensäure (EPA) wird zum Beispiel vermehrt von Vertretern der Eustigmatophyceae (*Nannochloropsis* sp.) und Bacillariophyceae gebildet (Gualtieri & Barsanti, 2006). Die Fähigkeit der Algen Lipide zu produzieren, erhöht zunehmend das Interesse an diesen Organismen als Produzenten regenerativer Treibstoffe der dritten Generation (Posten, 2012).

Für die Kultivierung von photoautotrophen Mikroalgen werden lediglich Sonnenlicht als Energiequelle, Kohlenstoffdioxid, Wasser und verschiedene Nährstoffe benötigt (Abbildung 3.22).

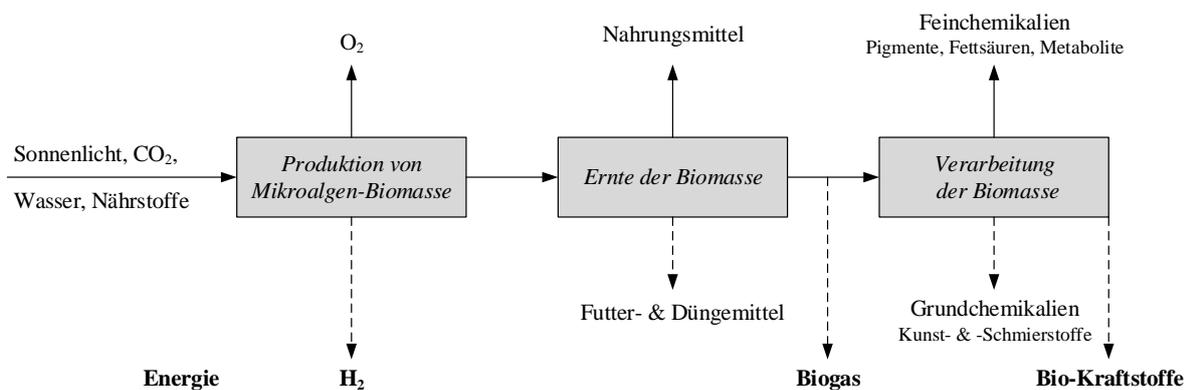


Abbildung 3.22: Schematischer Überblick über die gesamte Wertschöpfungskette der Biomasseproduktion mit Mikroalgen und möglichen Produkten (nach Rosello-Sastre (2012)). Dargestellt sind die Edukte, wichtigsten Prozessschritte sowie die Anwendungsbereiche der verschiedenen kommerziell etablierten (oben, ↑) und nicht-etablierten Produkte (unten, ↓).

Mit den eingesetzten Edukten wird in Photobioreaktoren Biomasse sowie Sauerstoff und im Falle einiger Spezies auch Energie in Form von Wasserstoff produziert. Die geernteten Mikroalgen können weiterhin je nach Spezies von der Nahrungsmittelindustrie zu Nahrungsergänzungsmitteln oder Lebensmittelfarben weiterverarbeitet werden. Weiterhin ist die Erzeugung von Dünger sowie Futtermitteln für Aquakulturen oder

Nutztiere möglich. Die bei der Verarbeitung der geernteten Algensuspension anfallende Restbiomasse kann in Biogasanlagen als Substrat für die Energieerzeugung eingesetzt werden. Die aufgereinigte Algenbiomasse kann schließlich der Erzeugung von Bio-Kraftstoffen sowie Grund- und Feinchemikalien dienen (Rosello-Sastre, 2012). Bisher ist jedoch nur die kommerzielle Produktion von Mikroalgen für die Nahrungsmittelindustrie und die Erzeugung von Feinchemikalien etabliert (Rosello-Sastre, 2012). Vor allem die Produktion von regenerativen Energien mit positiver Energiebilanz ist bislang strittig und wird maßgeblich durch das verwendete Gesamtsystem beeinflusst (Chmiel, 2011).

3.4.1 Mikroalgen zur Herstellung regenerativer Treibstoffe

In den 1940er Jahren postulierten Harder & von Witsch (1942a,b) erstmals die Nutzung von Mikroalgen als Quelle für regenerative Treibstoffe aufgrund ihrer Fähigkeit Lipide zu akkumulieren. Die von Mikroalgen akkumulierten Lipide bestehen vorwiegend aus Glycerin, welches mit gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren verestert ist. Hauptsächlich werden von Algen C₁₆- und C₁₈-Fettsäuren gebildet (Metting, 1996; Thompson, 1996). Unter ungünstigen Umweltbedingungen, wie beispielsweise Stickstoffmangel, sind Mikroalgen in der Lage, ihren Lipidgehalt auf bis zu 80 % ihrer Biotrockenmassekonzentration zu erhöhen, wobei die Lipide als Speicherstoffe dienen (Thompson, 1996; Sharma *et al.*, 2012; Chisti, 2007). Im Vergleich zu konventionellen Ölpflanzen wie Soja, Mais oder Raps, haben Mikroalgen eine deutlich erhöhte Flächenproduktivität (Chisti, 2007; Chen *et al.*, 2009), können auf landwirtschaftlich nicht nutzbaren Flächen kultiviert werden und konkurrieren demnach nicht mit der Nahrungsmittelproduktion (Mata *et al.*, 2010). Darüber hinaus ist die Ölproduktion mit Mikroalgen wesentlich weniger wetterabhängig und benötigt kein Frischwasser (Mata *et al.*, 2010; Tredici, 2010; Wijffels & Barbosa, 2010).

Die in Mikroalgen akkumulierten Lipide können über Extraktion gewonnen und beispielsweise chemisch mittels Umesterung in Biodiesel umgewandelt werden (Chisti, 2007). Es sind jedoch nicht nur die Öle der Algen von großem Interesse für die Produktion regenerativer Treibstoffe, die Algenrestbiomasse birgt ebenfalls großes Potential und kann auf verschiedenen Wegen nutzbar gemacht werden: Auf biochemischem Weg kann die Biomasse über aerobe oder anaerobe Gärung in Produkte wie Ethanol, Butanol, Methan oder Wasserstoff umgesetzt werden. Die thermochemische Umsetzung mittels Vergasung, Verflüssigung oder Pyrolyse bringt Brenngase und Öle hervor, während die direkte Verbrennung dem Energiegewinn in Form von Elektrizität dient (Sialve *et al.*, 2009; Quinn *et al.*, 2014; Hernández *et al.*, 2014; Tsukahara & Sawayama, 2005). Die Kultivierung von Mikroalgen für die Produktion von Biotreibstoffen kann in geschlossenen oder offenen Bioreaktoren stattfinden, wobei geschlossene Systeme für kontaminationsanfällige Stämme und offene Reaktoren für robuste Algen Verwendung finden (Huang *et al.*, 2010; Apel & Weuster-Botz, 2015).

3.4.2 Reaktorsysteme für die Kultivierung von Mikroalgen

Die Reaktorsysteme für die Kultivierung von Mikroalgen – sogenannte *Photobioreaktoren* – unterscheiden sich von anderen Bioreaktoren vor allem dadurch, dass dem Biokatalysator Lichtenergie zur Verfügung gestellt werden muss. In der Prozesstechnik werden Photobioreaktoren als Drei-Phasen-System betrachtet: Die Gasphase resultiert aus der Versorgung der Algensuspension mit Kohlenstoffdioxid über Begasung, das Medium bildet die Flüssigphase und die Algen stellen die partikuläre Phase dar. Typische Bauformen für die Kultivierung von Mikroalgen sind *Raceway Ponds* bei der offenen Bauweise sowie geschlossene Blasensäulen, Platten- oder Rohrreaktoren (Chmiel, 2011; Shields & Lupatsch, 2012). **Blasensäulen** (Abbildung 3.23 a) bestehen meist aus einem zylindrischen Gefäß und ermöglichen den Stoffaustausch durch Dispergierung des eingetragenen Gases in der Flüssigphase. Die pneumatische Betriebsweise (Chisti & Moo-Young, 1987) sowie die völlige Abwesenheit mechanisch bewegter Einbauten ist charakteristisch für dieses System (Weuster-Botz, 1999). Somit resultiert die Homogenisierung der Algensuspension allein aus der eingetragenen Leistung durch den Gaseintrag in das System sowie dem Impulstransport des Fluids selbst (Chisti & Moo-Young, 1987). Im Zentrum der Blasensäule strömt die Flüssigkeit aufgrund des höheren Gasanteils nach oben, während die Strömung an der Reaktorwand entgegengerichtet ist (Merchuk *et al.*, 1994).

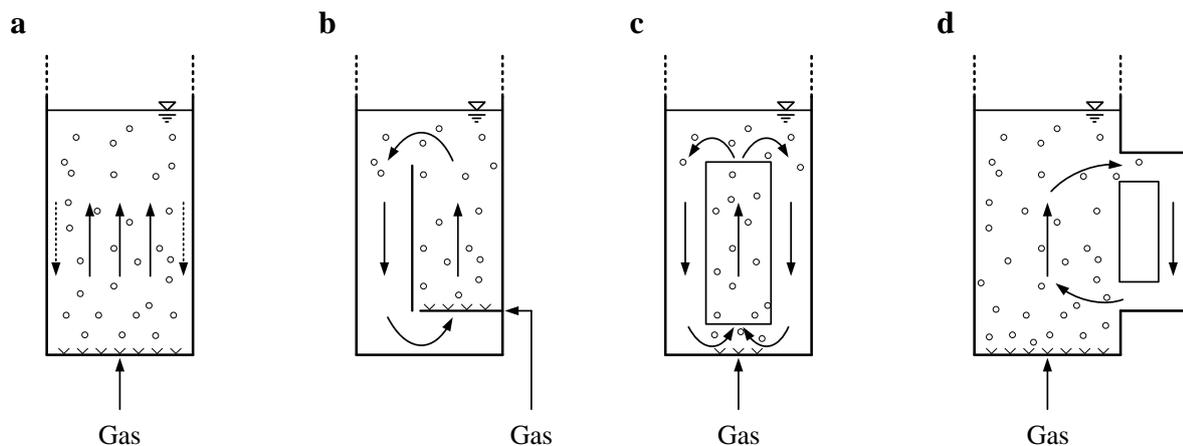


Abbildung 3.23: Schematische Darstellung verschiedener Varianten des Gaseintrages in Photobioreaktoren durch Blasendispergierung: Blasensäule mit Dispergierung des Gases über die gesamte Bodenfläche (a), *gas lift* mit innerem Umlauf durch Strömungsleitblech (b), *gas lift* mit innerem Umlauf durch konzentrisches Rohr (c) sowie *gas lift* mit äußerem Umlauf (d).

Die Verwendung von Einbauten oder Erweiterungen führt zu definierten Strömungsbereichen in der Blasensäule und wird als *gas lift* bezeichnet. Je nach Konstruktion erfolgt die Durchmischung in *gas lift*-Reaktoren mit einem inneren oder äußeren Umlauf (Chisti & Moo-Young, 1987): Der Einbau eines Strömungsleitblechs (Abbildung 3.23 b) oder konzentrischen Rohres (Abbildung 3.23 c) unterteilt den Reaktor in zwei Zonen – Auftrieb und Abtrieb. Die bodennahe Begasung im Bereich des Auftriebs erzeugt aufgrund der hydrostatischen Druckdifferenz zum Kopfraum des Reaktors einen nach oben gerichteten Flüssigkeitsstrom. In Folge dieser lokalen Erhöhung des Gasanteils strömt die Flüssigkeit im unbegasten Bereich des Reaktors nach

unten – es wird eine kontinuierliche Zirkulation des Fluids erzeugt. Nach diesem Prinzip werden auch *gas lift*-Reaktoren mit äußerem Umlauf betrieben (Abbildung 3.23 d): Die begaste Zone entspricht meist einer Blasensäule, während die Flüssigkeit in einem externen Rohr zurückströmt.

Charakteristisch für *gas lift*-Reaktoren ist der vergleichsweise geringe volumetrische Leistungseintrag, um erforderliche Stofftransportraten zu erreichen. Die eingetragene Gesamtleistung in einen *gas lift*-Reaktor setzt sich dabei aus der geleisteten Arbeit bei der isothermen Expansion des Gases, der kinetischen Energie des Gaseintrages und der Energie des Blasenbildungsprozesses zusammen (Chisti & Moo-Young, 1987; Weuster-Botz *et al.*, 2001). Der kinetische Anteil des Leistungseintrages kann dabei nach Chisti & Moo-Young (1987) im Allgemeinen vernachlässigt werden, sodass sich der volumetrische Leistungseintrag $\frac{P}{V}$ wie folgt ergibt:

$$\frac{P}{V} = \underbrace{\frac{w \cdot R \cdot T}{V_M \cdot H} \ln\left(\frac{p_b}{p_0}\right)}_{\text{Expansionsarbeit}} + \underbrace{\frac{6 \cdot w \cdot \sigma_G}{H \cdot d_B}}_{\text{Blasenbildung}} \quad (3.32)$$

mit	$\frac{P}{V}$	volumetrischer Leistungseintrag	$\text{W} \cdot \text{m}^{-3}$
	w	Gasleerrohrgeschwindigkeit	$\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$
	R	universelle Gaskonstante	$\text{J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$
	T	Temperatur	K
	V_M	molares Volumen eines idealen Gases, $22,41 \cdot 10^{-3}$	$\text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$
	H	Höhe der Flüssigkeitssäule über dem Gaseinlass	m
	p_b	Druck direkt über dem Gaseinlass des Reaktors	bar
	p_0	Druck im Kopfraum des Reaktors	bar
	σ_G	Grenzflächenspannung	$\text{N} \cdot \text{m}^{-1}$
	d_B	mittlerer Blasendurchmesser	m

Der volumetrische Leistungseintrag wird bei *gas lift*-Reaktoren maßgeblich von der Höhe der Flüssigkeitssäule H und der Gasleerrohrgeschwindigkeit w (Gleichung 3.33) beeinflusst. Je niedriger die Flüssigkeitssäule und je höher die Gasleerrohrgeschwindigkeit, desto größer ist der volumetrische Leistungseintrag. Zudem kann durch Verringerung des mittleren Porendurchmessers des statischen Begasers eine geringfügige Erhöhung des Leistungseintrages bewirkt werden. Bei der Nutzung von *gas lift*-Reaktoren im technischen Maßstab kann aufgrund der vergleichsweise hohen Flüssigkeitssäule der Leistungseintrag durch die Blasenbildung vernachlässigt werden (Weuster-Botz, 1999).

Weiterhin gilt es zu beachten, dass nach Chisti & Moo-Young (1987) für die Angabe des volumetrischen Leistungseintrages nach Gleichung 3.32 die gesamte Querschnittsfläche des Reaktors beziehungsweise das gesamte Volumen berücksichtigt werden soll. Dies bedeutet, dass bei *gas lift*-Reaktoren sowohl die Flä-

che des Auftriebs als auch des Abtriebs einbezogen werden soll, um die Vergleichbarkeit mit anderen *gas lift*-Systemen und Blasensäulen zu gewährleisten.

$$w = \frac{\dot{V}_m \cdot R \cdot T}{A_{Q,PBR} \cdot h_F \cdot \rho_F \cdot g} \cdot \ln \left(1 + \frac{h_F \cdot \rho_F \cdot g}{p_0} \right) \quad (3.33)$$

mit	\dot{V}_m	molarer Volumenstrom des Gases	$\text{mol} \cdot \text{s}^{-1}$
	$A_{Q,PBR}$	Querschnittsfläche des Reaktors	m^2
	h_F	Höhe der unbegasten Flüssigkeitssäule	m
	ρ_F	Dichte der Flüssigkeit im Reaktor	$\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$
	g	Erdbeschleunigung	$\text{m} \cdot \text{s}^{-2}$

Die spezielle Konstruktion eines *gas lift*-Reaktors mit innerem Umlauf und mindestens zwei parallelen transparenten Flächen, die eine dünne Algenschicht (1-5 cm) umschließen, wird **Plattenreaktor** genannt (Janssen *et al.*, 2003). Die bestrahlte Fläche ist deutlich größer als die nötige Standfläche und aufgrund der geringen Schichtdicke kann eine sehr gute Lichtverfügbarkeit gewährleistet werden (Chmiel, 2011). Im Gegensatz zu anderen geschlossenen Systemen konnten in Plattenreaktoren bereits Hochzelldichte-Kultivierungen mit *Nannochloropsis* sp. durchgeführt werden, wobei Biomassekonzentrationen von bis zu $67 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ erreicht wurden (Zou *et al.*, 2000).

Rohrreaktoren sind meist mäandrisch angeordnete, bis zu 100 m lange Glas- oder Kunststoffrohre mit Durchmessern von 3-6 cm (Janssen *et al.*, 2003). Ebenso wie bei Plattenreaktoren kann in diesem Reaktortyp ein sehr guter Lichteintrag in die Algensuspension realisiert werden.

Heutzutage findet jedoch ein Großteil der Mikroalgenproduktion in offenen Photobioreaktoren, welche meistens als **Raceway Pond** gestaltet sind, statt. Die Durchmischung in diesen großvolumigen Becken erfolgt mit einem Schaufelrad, und die Anschaffungskosten sind sehr niedrig, da keine transparenten Materialien benötigt werden. Aufgrund der vergleichsweise hohen Schichtdicke von bis zu 30 cm ist allerdings der Lichteintrag nicht optimal (Chmiel, 2011; Tredici, 2010). Dies führt dazu, dass die erreichbaren Produktivitäten niedrig und eher mit jenen terrestrischer Nutzpflanzen vergleichbar sind. Zusätzlich wirken sich mögliche Kontaminationen mit Bakterien, Pilzen, Fressfeinden oder konkurrierenden Algenspezies negativ auf den Ertrag aus. Diese können jedoch durch extremophile Bedingungen – hoher pH, hohe Salinität – minimiert werden (Posten, 2012). Weiterhin ist die Verdunstung in offenen Reaktoren deutlich höher als in geschlossenen Systemen, was die Zufuhr von Süßwasser erfordert, um Aufsalzung zu verhindern (Chisti, 2012).

Bei der Auswahl eines geeigneten Photobioreaktorsystems können mehrere Größen zur Bewertung herangezogen werden: Das Reaktorvolumen, die Apertur (Bodenfläche), die Reaktoroberfläche, die Bestrahlungsstärke im Jahresmittel, Produktivität sowohl im Bezug auf die bestrahlte Fläche als auch auf das Reaktorvolumen. Von all diesen Größen beeinflusst vor allem die Oberfläche des Reaktors entscheidend die Kosten und somit die Wirtschaftlichkeit des Prozesses. Das Volumen des Reaktors ist ausschlaggebend für den er-

forderlichen Leistungseintrag durch Mischen und Begasen. Die Durchmischung nimmt zudem maßgeblich Einfluss auf die mittlere Lichtverfügbarkeit pro Zelle (Abbildung 3.24): Mangelnde Durchmischung der Algensuspension führt zur Ausbildung unterschiedlicher Zonen im Reaktor (auch Abbildung 3.16). Während auf der Oberfläche Lichtinhibition auftreten kann, tritt im Inneren der Algensuspension meist Lichtsättigung auf. Auf der lichtabgewandten Seite des Photobioreaktors können sich hingegen Dunkelzonen ausbilden, welche zu einer Limitierung des Wachstums führen (Chmiel, 2011; Janssen *et al.*, 2003; Posten & Walter, 2012; Tredici, 2010). Eine Strategie zur Vermeidung von Lichtinhibition ist die über den Einstrahlwinkel erreichbare *Lichtverdünnung* des Sonnenlichtes. Dabei wird die Reaktoroberfläche schräg zum einfallenden Licht ausgerichtet und zusätzlich durch eine entsprechende Höhe des Reaktors die Oberfläche gegenüber der Apertur vergrößert. Um Lichtlimitierung zu vermeiden, gilt es die Eindringtiefe des Lichtes zu beachten, welche maßgeblich von der Schichtdicke sowie der Biomassekonzentration beeinflusst wird. Demnach werden mit geringeren Schichtdicken deutlich höhere Zelldichten aufgrund eines höheren Oberfläche/Volumen-Verhältnisses (SVR, *surface to volume ratio*) und daraus resultierender geringerer gegenseitiger Beschattung der Zellen erreicht (Chmiel, 2011; Tredici, 2010).

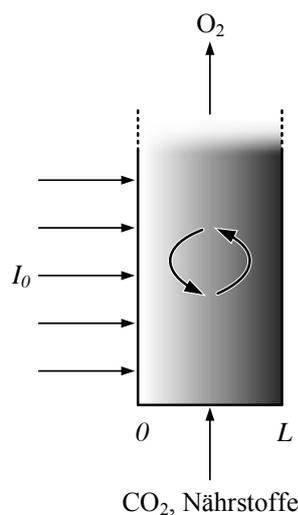


Abbildung 3.24: Schematische Darstellung eines Photobioreaktors mit verfahrenstechnisch zu berücksichtigenden Aspekten (nach Chmiel (2011)). Der zeitabhängige Einfall des Lichtes (I_0) führt zu unterschiedlichen Zonen (lichtinhibiert, -gesättigt oder -limitiert) über die Schichtdicke L des Reaktors. Für eine möglichst optimale Versorgung aller Zellen mit Licht, Nährstoffen und CO_2 ist der Eintrag von Mischenergie erforderlich. Neben einem ausreichenden CO_2 -Eintrag ist zudem der O_2 -Austrag erforderlich, um toxische Effekte zu verhindern.

Vor allem bei Reaktoren mit langer Fließstrecke kann es bei unzureichender Begasung zu einem Konzentrationsgradienten zwischen dem Ein- und Austritt des Gases kommen. Der relative Anstieg der Gelöstsauerstoffkonzentration auf deutlich über 100 % kann dabei sogar wachstumsinhibierend wirken (Chmiel, 2011).

Die Auswahl des geeigneten Photobioreaktors und die Prozessentwicklung muss individuell geschehen und an das Zielprodukt angepasst werden. Die Eignung des gewählten Systems und die Güte des Prozesses lässt sich an der Kapazität – der sogenannten *Raum-Zeit-Ausbeute* (RZA, Gleichung 3.34) – des Reaktors bemes-

sen. Die Raum-Zeit-Ausbeute wird auch spezifische Produktivität des Reaktors genannt und entspricht der pro Produktionsvolumen und Zeiteinheit gebildeten Produktmenge. Vor allem bei Photobioreaktoren beeinflusst die photosynthetisch aktive Fläche maßgeblich den Prozess, weshalb es in diesem Spezialfall sinnvoll sein kann, die *Flächen-Zeit-Ausbeute* (FZA, Gleichung 3.35) anzugeben (Chmiel, 2011).

$$\text{RZA} = \frac{\Delta m_p}{V_{\text{PBR}} \cdot \Delta t} \quad (3.34)$$

$$\text{FZA} = \frac{\Delta m_p}{A_{\text{PBR}} \cdot \Delta t} \quad (3.35)$$

mit	RZA	Raum-Zeit-Ausbeute	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$
	Δm_p	Masse des Produktes	g
	V_{PBR}	Reaktorvolumen	L
	Δt	Zeitspanne	d
	FZA	Flächen-Zeit-Ausbeute	$\text{g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$
	A_{PBR}	bestrahlte Fläche des Reaktors	m^2

Letztendlich wird ein Produktionsprozess jedoch nicht über die Kapazität der Anlage, sondern vielmehr über die Herstellungskosten bewertet. Mit geschlossenen Reaktoren kann Mikroalgenbiomasse derzeit beispielsweise zu einem Preis von $20 \text{ €} \cdot \text{kg}^{-1}$ produziert werden, was lediglich für hochpreisige Produkte wie Kosmetika und Nahrungsergänzungsmittel lohnenswert ist. Ein weiterer wichtiger Faktor bei der Auswahl des Photobioreaktors ist die Skalierbarkeit des Systems (Chmiel, 2011; Gualtieri & Barsanti, 2006).

3.4.3 Skalierung von Reaktoren und Maßstabsübertragung von Prozessen

Die Skalierung von geschlossenen Photobioreaktoren für den industriellen Maßstab stellt meist eine sehr große Herausforderung dar (Janssen *et al.*, 2003; Wigmosta *et al.*, 2011). Das Volumen von Blasensäulen kann beispielsweise nicht signifikant erhöht werden, da eine Vergrößerung in horizontaler sowie vertikaler Richtung nur begrenzt möglich ist: Ist die Blasensäule zu hoch, ist die axiale Durchmischung nicht mehr ausreichend und die Anfälligkeit gegenüber Windbelastungen steigt. Eine Steigerung des Durchmessers dieses Reaktortyps bringt immer einen Verlust der Zelldichte und somit Produktivität aufgrund einer schlechteren Lichtverfügbarkeit mit sich. Ebenso ist auch der maximale Durchmesser bei Rohrreaktoren limitiert (Janssen *et al.*, 2003). Auch in ihrer Länge sind diese Reaktorsysteme nicht beliebig skalierbar, da sich über die Fließstrecke Konzentrationsgradienten bezüglich pH, Sauerstoff und Kohlenstoffdioxid ausbilden (Chmiel, 2011). Die einzige Möglichkeit das Reaktionsvolumen zu vergrößern, ist die Verbindung der einzelnen Rohre über Sammelleitungen (Richmond *et al.*, 1993). Plattenreaktoren sind vergleichsweise einfach über die Vergrößerung der bestrahlten Fläche zu skalieren, eine große Erhöhung der Schichtdicke ist aufgrund der ge-

ringeren Lichtverfügbarkeit pro Zelle nicht ratsam (Richmond & Cheng-Wu, 2001). Jedoch kann auch dieser Reaktortyp nicht unbegrenzt vergrößert werden, da beispielsweise die Durchmischung limitierend wird. Die einfachste Möglichkeit, das Reaktionsvolumen eines Produktionsprozesses mit Mikroalgen zu vergrößern, ist die Anzahl der einzelnen Reaktoreinheiten zu erhöhen. Dabei werden jedoch für jede Einheit separate Kontrolleinheiten für die Prozessparameter benötigt, was zu einem großen Arbeitsaufwand und hohen Kosten führt (Janssen *et al.*, 2003).

Offene Photobioreaktoren – im Speziellen *Raceway Ponds* – sind nicht nur hinsichtlich der Konstruktion und des Betriebes ökonomischer, sie können zudem sehr einfach auf mehrere Hektar vergrößert werden. Vor allem im Hinblick auf die Herstellung niedrigpreisiger Produkte wie Biotreibstoffe, stellen diese Reaktorsysteme momentan die wirtschaftlichste sowie praktikabelste Alternative dar (Wigmosta *et al.*, 2011). Die vergleichsweise hohen Schichtdicken in diesen Systemen können jedoch nicht zu Gunsten höherer Produktivitäten deutlich verringert werden, da dann das Schaufelrad den notwendigen hydrodynamischen Druckgradienten nicht mehr aufbringen könnte (Chisti, 2012). Die Verwendung von hochdynamischen „Flachgerinnereaktoren“ (TLC, *thin layer cascades*, Šetlík *et al.* (1970)), welche wesentlich besser durchmischt sind, sehr dünne Schichtdicken im Millimeterbereich und ein höheres Oberfläche/Volumen-Verhältnis aufweisen, kann hingegen zu deutlich gesteigerten Ausbeuten führen (Doucha & Lívanský, 2014).

Die bessere Kontrollierbarkeit sowie die Möglichkeit der Sterilisation führen zu einer besseren Reproduzierbarkeit von Mikroalgenprozessen, weshalb vor allem für die Charakterisierung potentieller Produktionsstämme im Labormaßstab auf geschlossene Reaktionssysteme zurückgegriffen wird (Tredici, 2010). Aufgrund der großen konstruktiven und prozesstechnischen Unterschiede zwischen geschlossenen (Blasensäule, Platten- oder Rohrreaktor) und offenen Systemen, kompliziert sich jedoch die Maßstabsübertragung des Produktionsprozesses in den industriellen Maßstab.

Die erfolgreiche Übertragung in einen größeren Maßstab wird bei biotechnologischen Prozessen von einer Vielzahl von Faktoren beeinflusst. Diese Faktoren können dabei chemischer, biologischer oder physikalischer Natur sein. Bei physikalischen Maßstabs-Übertragungskriterien wird die *idem*-Annahme zugrunde gelegt: Das gewählte Kriterium nimmt im Produktionsmaßstab denselben Wert an wie im Labormaßstab. Gängige Übertragungskriterien, welche auch auf Photobioreaktoren anwendbar wären, sind dabei die geometrische Ähnlichkeit der beiden Maßstäbe, (volumenspezifische) Leistungseinträge, dimensionslose Kennzahlen (zum Beispiel Reynolds), Gastransfer oder Mischzeiten (Takors, 2014). Je nach verwendetem Reaktionssystem im Labor- und Pilot- oder industriellen Maßstab muss individuell entschieden werden, welches Übertragungskriterium geeignet scheint. Sind die Reaktionssysteme in beiden Maßstäben identisch, kann beispielsweise die Dauer der Hell-Dunkel-Zyklen als Übertragungskriterium für die Maßstabsvergrößerung von Rohrreaktoren verwendet werden (Molina Grima *et al.*, 2000), während die Skalierung von *gas lift*-Reaktoren über eine identische Lichtverteilung in der Algensuspension möglich ist (Vernerey *et al.*, 2001).

4 Material und Methoden

Im folgenden Kapitel sind alle für diese Arbeit relevanten Materialien und Methoden aufgeführt. Zunächst wird ein Überblick über die verwendeten Mikroalgenstämme und deren Kultivierung in den verschiedenen Reaktorsystemen gegeben, gefolgt von allen analytischen Methoden sowie den Methoden für die Modellierung des phototrophen Wachstums. Eine vollständige Auflistung der verwendeten Geräte, Materialien sowie Chemikalien ist den Anhängen A.2-A.5 zu entnehmen.

4.1 Mikroalgen

Im Rahmen dieser Arbeit wurden zwei verschiedene Mikroalgenstämme aus der Literatur ausgewählt und reaktionstechnisch hinsichtlich ihrer Eignung für die Produktion von Lipiden in offenen Photobioreaktoren untersucht.

Nannochloropsis salina SAG 40.85 (Abbildung 4.1 a) wurde von der Sammlung für Algenkulturen der Universität Göttingen (SAG) als axenische Kultur bezogen. Dieser Stamm wurde aus einer supralitoral Zone eines Gezeitentümpels auf der Isle of Cumbre, Schottland, isoliert. Es handelt sich somit um einen marinen Mikroalgenstamm, welcher natürlicherweise in gemäßigten Klimazonen zu finden ist.

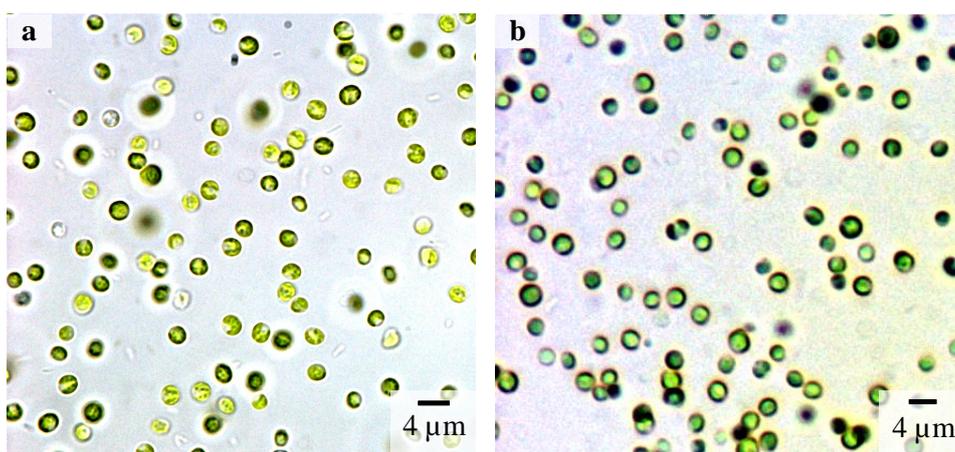


Abbildung 4.1: Lichtmikroskopische Aufnahme von *Nannochloropsis salina* (a) und *Nannochloropsis gaditana* (b) bei 100-facher Vergrößerung im Hellfeld.

Nannochloropsis gaditana SAG 2.99 (Abbildung 4.1 b) wurde ebenfalls von der SAG mit bakteriellen Kontaminationen bezogen. Das natürliche Habitat dieser Mikroalge sind die Comacchio Lagunen in Ferrara,

Italien. *Nannochloropsis gaditana* ist somit ebenfalls eine marine Mikroalge, welche bevorzugt bei gemäßigten Temperaturen wächst.

4.2 Kultivierung von Mikroalgen

Im Folgenden wird das verwendete Medium sowie alle für die Kultivierung der beiden *Nannochloropsis* sp. genutzten Systeme und deren Betriebsweise erläutert.

4.2.1 Artifizielles Meerwasser-Medium

Für die Kultivierung von *Nannochloropsis salina* und *Nannochloropsis gaditana* wurde eine modifizierte Variante des von Boussiba *et al.* (1987) publizierten artifiziiellen Meerwasser (*artificial seawater*, ASW) Mediums verwendet (Tabelle 4.1). Bei dem in dieser Arbeit verwendeten ASW-Medium wurde die Kaliumnitrat-Konzentration zu Gunsten höherer Biomassekonzentrationen von $1\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ auf $5\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ erhöht. Um ein Ausfallen von Medienbestandteilen zu verhindern, wurden die Komponenten zur Erstellung von Stammlösungen separat eingewogen, dampfsterilisiert (20 min bei $121\text{ }^{\circ}\text{C}$) und bis zur weiteren Verwendung – mit Ausnahme von Kaliumnitrat (Raumtemperatur, um Kristallisation zu verhindern) – bei $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert.

Tabelle 4.1: Zusammensetzung des ASW-Mediums nach Boussiba *et al.* (1987) mit der in dieser Arbeit verwendeten, höheren Kaliumnitrat-Konzentration

<i>Komponente</i>	<i>Konzentration, g·L⁻¹</i>
Natriumchlorid	27,0
Magnesiumsulfat-Heptahydrat	6,6
Calciumchlorid-Dihydrat	1,5
Kaliumnitrat	5,0
Kaliumdihydrogenphosphat	0,070
Eisenchlorid-Hexahydrat	0,014
Di-Natrium-EDTA	0,019
Spurenelementlösung	1,0 mL·L⁻¹
<i>Komponente</i>	<i>Konzentration, mg·L⁻¹</i>
Zinkchlorid	40,0
Borsäure	600,0
Calciumchlorid	1,5
Kupferchlorid-Dihydrat	40,0
Manganchlorid	400,0
Ammoniummolybdat-Tetrahydrat	370,0

Bei Bedarf wurden die Medienkomponenten steril vereint und mit VE-Wasser auf die in Tabelle 4.1 angegebenen Konzentrationen eingestellt. Abschließend erfolgte die sterile Titration des pH mit NaOH bzw. HCl auf pH 8,0.

4.2.2 Stammhaltung

Für die Stammhaltung der verwendeten Mikroalgenstämme wurden 500 mL-Erlenmeyerkolben mit 150 mL ASW-Medium (pH 8,0) befüllt und mit Zellen aus der Stammsammlung inokuliert. Die Kolben wurden bei Raumtemperatur und Laborlicht gehalten und die sedimentierten Algen täglich manuell aufgeschüttelt. Alle sechs Monate wurde ein Teil der Algensuspension in frisches Medium überführt.

4.2.3 Vorkulturherstellung in Erlenmeyerkolben

Zeitweise war es notwendig, die Mikroalgen vor der Inokulation der Blasensäulenreaktoren zunächst in beleuchteten Erlenmeyerkolben in einem Schüttelinkubator (WiseCube® WIS-20R, witeg Labortechnik GmbH, Wertheim, Deutschland) zu kultivieren, um übermäßig lange Adaptionsphasen aufgrund des großen Bestrahlungsstärken-Unterschiedes zwischen Laborplatz (tagsüber ca. $5\text{-}10\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) und den Positionen des Blasensäuleninkubators ($83 \pm 17\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, je nach Position) zu vermeiden. Zu diesem Zweck wurden 5 mL der Stammkultur in einen 500 mL-Erlenmeyerkolben mit 100 mL ASW-Medium (pH 8,0) überführt und bei $100\ \text{U}\cdot\text{min}^{-1}$, $25\ \text{°C}$ und einer Photonenflussdichte von $40\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ im Schüttelinkubator kultiviert, bis eine ausreichende Zelldichte ($\text{OD}_{750} = 1\text{-}2$) erreicht war. Für die Bestrahlung der Algen wurde ein LED-Modul (Teszla-S-LED-Modul, 84 W, Giesemann Lichttechnik und Aquaristic GmbH, Nettetal, Deutschland) verwendet. Eine Auflistung aller verwendeten Geräte kann dem Anhang (Kapitel A.1.1) entnommen werden.

4.2.4 Vorkulturherstellung in Blasensäulenreaktoren

Die Vorkulturherstellung erfolgte in Blasensäulenreaktoren (BSR) mit einem Arbeitsvolumen von 200 mL in einem modifizierten Profors-Inkubator (Infors HT, Bottmingen, Schweiz). Dieses System wurde von Altenbach-Rehm & Weuster-Botz (2002) entwickelt. Eine Auflistung aller benötigten Geräte für die Vorkulturherstellung in Blasensäulenreaktoren kann dem Anhang (Kapitel A.1.2) entnommen werden.

Aufbau der Blasensäulenreaktoren

Der modifizierte Profors-Inkubator für die Satzprozesse mit Blasensäulenreaktoren konnte über einen externen Durchlaufkühler DLK60 (Fryka Kältetechnik, Esslingen, Deutschland) temperiert werden. In diesen Inkubator war statt eines Tablars zur Fixierung von Erlenmeyerkolben ein Gasverteilersystem, bestehend aus einer Metallplatte mit 16 konischen Durchführungen für die Begasung der Blasensäulen, integriert. Die Aufteilung der Reaktorpositionen als Draufsicht sowie ein Querschnitt durch den Inkubator sind in Abbildung

A.2 dargestellt. Die Begasung der Blasensäulen wurde extern über eine Gasmischstation WMR 4000 (Westphal/Brooks Instruments, Dresden, Deutschland) sowie zwei Massendurchflussregler eingestellt. Es wurde mit reiner Druckluft begast, wobei CO_2 im Überschuss (5 % (v/v)) beigemischt wurde. Um zu hohe Verdunstungsraten durch das trockene Gas zu vermeiden, strömte dieses zunächst zur Sättigung mit Wasser vor dem Eintritt in das Gasverteilersystem durch eine mit VE-Wasser befüllte Waschflasche aus Kunststoff. Mithilfe von Ventilen war der Gasvolumenstrom an jeder Reaktorposition manuell einstellbar.

Oberhalb der Reaktoren waren insgesamt sechs Leuchtstoffröhren in drei Reihen angebracht. Jede Reihe bestand aus zwei verschiedenen Leuchtstoffröhren: *SunGlo* (Hagen, Holm, Deutschland) und *Fluora L77* (Osram, München, Deutschland), welche im Mittel eine Eingangsbestrahlungsstärke von $83 \pm 17 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ erzeugten. Für eine bessere Ausnutzung und Reproduzierbarkeit des Lichtangebotes standen Streulichtzylinder sowie Lochblenden mit unterschiedlichen Lochgrößen zur Verfügung. Der beschriebene Aufbau ermöglichte den parallelen Betrieb von bis zu 16 Blasensäulen.

In Abbildung 4.2 ist schematisch ein Blasensäulenreaktor dargestellt. Dieser bestand aus einem zylindrischen Glasgefäß (2) mit einem maximalen Fassungsvermögen von 400 mL. Das Gefäß verjüngte sich am oberen Ende zu einer kreisrunden Öffnung, welche der Befüllung des Reaktors diente und mit einer Aluminiumkappe (1) verschlossen wurde. Die Aluminiumkappe stellte eine Sterilbarriere dar, ermöglichte jedoch gleichzeitig das Entweichen überschüssigen Gases.

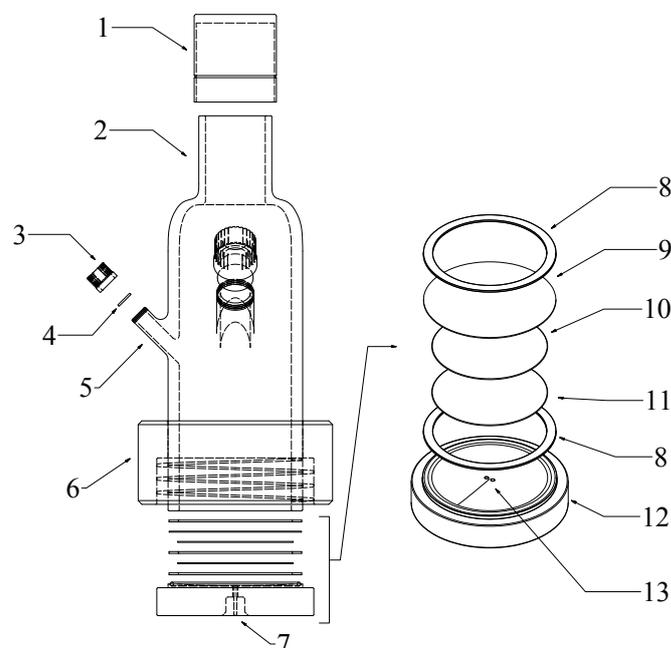


Abbildung 4.2: Schematische Darstellung eines Blasensäulenreaktors mit Detaildarstellung des Bodenaufbaus. 1 - Aluminiumkappe, 2 - Glasgefäß als Reaktionsraum, 3 - Lochkappe, 4 - Anstechmembran, 5 - Probenahmestutzen, 6 - Standfuß mit Federsystem, 7 - Bodenplatte mit Gaseinlass, 8 - O-Ring, 9 - Lasergebohrte Gasverteilerplatte (Lochgröße $60 \mu\text{m}$), 10 - Trenneinsatz, 11 - PTFE-Membran, 12 - Bodenplatte aus Edelstahl mit Dichtungsring, 13 - Bohrungen für den Gaseintrag. Der Aufbau des BSR ist in Abbildung A.1 als *Rendering* dargestellt.

Für die sterile Probenahme sowie pH-Titration und den Verdunstungsausgleich waren auf halber Höhe des Glasgefäßes zwei Stützen (5) mit Gewinde (*GL 14* und *25*) angebracht. Diese Stützen wurden mit Lochkappen (3) sowie Anstechmembranen (4) verschlossen. Über einen Standfuß mit Federsystem (6) wurde der Bodenaufbau des Reaktors fixiert. Der Bodenaufbau des Blasensäulenreaktors war aus mehreren funktionalen Elementen aufgebaut: Eine hydrophobe Membran aus *Polytetrafluorethylen* (11) verhinderte das Austreten des Wassers aus dem Reaktionsraum bei gleichzeitiger Gasdurchlässigkeit. Oberhalb dieser Membran befand sich – getrennt durch einen Gewebe-Trenneinsatz (10) – eine lasergebohrte Gasverteilerplatte (9) mit 60 µm großen Löchern für die gleichmäßige Dispergierung des Gases in der Flüssigkeit. Der Gas-eintrag erfolgte über die konischen Durchführungen des Gasverteilungssystems des Inkubators, welche von Bohrungen (13) in der Bodenplatte (12) des Reaktors aufgenommen wurden. Zur Abdichtung des gesamten Bodenaufbaus wurden zwei O-Ringe (8) verwendet, während eine Klemmfeder der Fixierung des Aufbaus im Standfuß des BSR diente.

Betrieb der Blasensäulenreaktoren

Für die Vorkulturherstellung in Blasensäulenreaktoren wurden diese zunächst, wie in Abbildung 4.2 dargestellt, zusammgebaut und bei 121 °C 20 min dampfsterilisiert. Daraufhin wurden die Reaktoren steril mit ASW-Medium (pH 8,0) befüllt und über Nacht zur Temperierung sowie Sättigung des Mediums mit CO₂ im Inkubator mit ~10 L·h⁻¹ pro Reaktor begast. Die Inokulation erfolgte steril mit einer Spritze mit Kanüle über die Anstechmembran mit etwa 10 mL der Stammkultur oder der Vorkultur aus Erlenmeyerkolben. Für den Verdunstungsausgleich, die pH-Titration sowie die aseptische Probenahme wurde ein Dreiweghahn mit Kanüle verwendet. Mit Erreichen einer ausreichenden Zelldichte ($OD_{750} > 5$) konnte die Vorkultur entweder für die Inokulation der Flachplatten-Photobioreaktoren verwendet oder in frisches Medium in einen weiteren BSR überführt werden. Die Inokulation aus der Stammkultur erfolgte in regelmäßigen Abständen einmal im Quartal.

4.2.5 Satzprozesse in Flachplatten-Photobioreaktoren im Labormaßstab

Die Kultivierung der Mikroalgen im Labormaßstab erfolgte im Satzverfahren in *Labfors 5 Lux Flachplatten-Photobioreaktoren* (PBR) der Firma Infors HT (Bottmingen, Schweiz).

Aufbau der Flachplatten-Photobioreaktoren

Die vier verwendeten Photobioreaktoren bestanden aus einem Grundgerät mit Bedieneinheit, einer Bestrahlungseinheit (LED-Paneel) und einem Kultivierungsgefäß mit einem Arbeitsvolumen von 1,6-1,8 L und einer Schichtdicke von 2 cm (siehe Abbildung A.3). Die benötigten Geräte für die Satzprozesse in Flachplatten-Photobioreaktoren können dem Anhang (Kapitel A.1.3) entnommen werden.

Grundgerät. Das Grundgerät der Photobioreaktoren bestand aus einer Grundplatte, einer Konsole mit Pumpen sowie Halterungen für Steuer-/Regeleinheiten des Luft-/Gasdurchflussmessers, Manometer, Druckreduzierventile sowie Bedieneinheit. Weiterhin waren an der Konsole Sensorkabel für die *online*-Messung von pH, Temperatur, Schaumbildung und die Gelöstsauerstoffkonzentration (pO_2) angebracht. Über die abnehmbaren, autoklavierbaren, peristaltischen Pumpen konnten während des Prozesses Korrekturmittel sowie Nährlösung zudosiert werden. Die Temperierung des Kultivierungsgefäßes erfolgte über die in der Konsole integrierte Temperierkammer. Um eine konstante Temperatur gewährleisten zu können, war pro Reaktor eine Kühlleistung von ca. 500 W und ein Kühlwasservolumenstrom von $3,2 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ erforderlich. Das in das Grundgerät eingespeiste Kühlwasser sollte eine Vorlauftemperatur von $10\text{-}20 \text{ }^\circ\text{C}$ besitzen und musste mindestens $5 \text{ }^\circ\text{C}$ unterhalb der gewünschten Kultivierungstemperatur liegen. An der Seite des Grundgerätes waren zwei Massendurchflussregler für Luft und CO_2 montiert. Für den Betrieb eines Grundgerätes war eine Stromstärke von 4 A und eine Spannung von 230 V notwendig.

Bestrahlungseinheit. Die Bestrahlungseinheit der Photobioreaktoren befand sich in einem Edelstahlgehäuse und war aus zwei Leiterplatten mit insgesamt 260 weißen Hochleistungs-LEDs mit Reflektoren aufgebaut, welche mit Plexiglas abgedeckt waren. Das Lichtspektrum der LEDs (Abbildung 4.3) deckte ausschließlich den Bereich der sichtbaren Strahlung (380-780 nm) ab. Die Bestrahlungsstärke, welche auf die Oberfläche des Kultivierungsgefäßes auftreffen kann, betrug laut Herstellerangaben bis zu $3000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

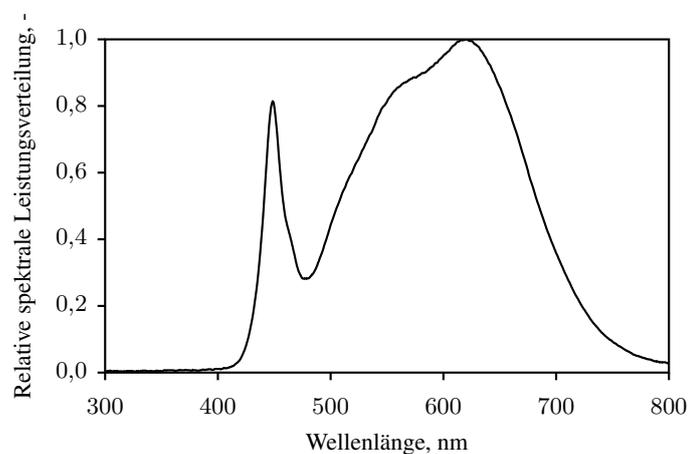


Abbildung 4.3: Darstellung der relativen spektralen Leistungsverteilung der Bestrahlungseinheit eines *Labfors 5 Lux Flachplatten-Photobioreaktors*.

Die Leistung der Beleuchtung war sowohl über die Bedieneinheit als auch über die Iris-Software digital mittels Pulsweiten-Modulation steuerbar und konnte in $0,1 \text{ } \%$ -Schritten von $0\text{-}100 \text{ } \%$ eingestellt werden. Die Steuerung arbeitete dabei linear, somit konnte die gewünschte Eingangs-Bestrahlungsstärke in $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ mithilfe einer Geradengleichung in den korrelierenden Sollwert in $\text{ } \%$ umgerechnet werden. Diese Korrelation wurde dabei in regelmäßigen Abständen neu bestimmt, da die Leistung der LEDs mit steigender Betriebszeit abnehmen kann.

Mithilfe der Prozess-Software Iris für den Labfors 5 Lux, konnten sowohl Hell-Dunkel-Zyklen als auch die Simulation von Tagesganglinien realisiert werden.

Um eine störungsfreie Beleuchtung des Kultivierungsgefäßes gewährleisten zu können, waren die Leiterplatten vollflächig auf ein Kühlelement aufgebracht, welches Wasser bei konstant 20 °C und eine Kühlleistung von ca. 600 W benötigte. Wurde die Bestrahlungseinheit bei einem Sollwert größer 10 % betrieben, diente ein in die Wasserkühlung integrierter Durchflussmesser der Überwachung des Kühlwasservolumenstroms. Sank dieser unter $0,75 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, wurden die LEDs automatisch abgeschaltet. Diese Abschaltung erfolgte ebenfalls bei einer Erhitzung der Leiterplatte aufgrund eines Ausfalls der Kühlung auf über 65 °C. Betrug die Temperatur der Leiterplatte wieder unter 50 °C, schalteten sich die LEDs automatisch wieder ein. Für den Betrieb der Bestrahlungseinheit war eine Stromquelle, welche eine Stromstärke von 10 A und eine Spannung von 230 V lieferte, notwendig.

Kultivierungsgefäß. Das Kultivierungsgefäß des Photobioreaktors, welches in Abbildung 4.4 in der Explosions-Darstellung gezeigt ist, bestand aus einer Kultivierungskammer, welche den LEDs zugewandt war, sowie einer dahinter anschließenden Temperierkammer. Die abgrenzenden Scheiben der Kammern waren aus 5,5 mm dickem, gehärtetem Borosilikat-Sicherheitsglas gefertigt und wurden von einem eloxierten Aluminiumrahmen (Randsegmente) an der vorgesehenen Stelle fixiert. Die Kultivierungskammer war von Edelstahl umgeben, wobei Gummidichtungen der Abdichtung dienten. Der obere Teil der Kultivierungskammer war mit einem Licht-Abschirmblech versehen, um das Anwachsen der Algen an den Glaswänden des Kopfraumes zu vermindern.

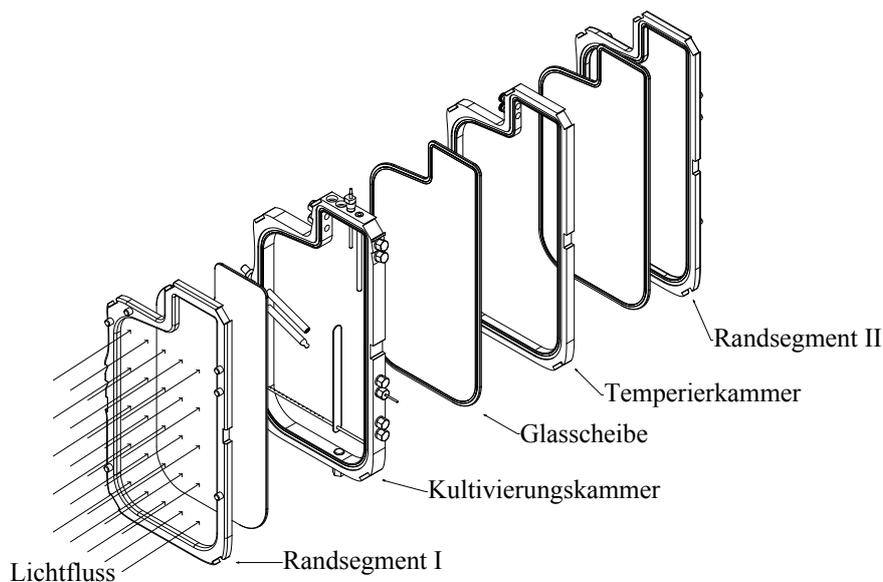


Abbildung 4.4: Explosions-Darstellung des Kultivierungsgefäßes des *Labfors 5 Lux Flachplatten-Photobioreaktors*.

Das Kultivierungsgefäß ist detailliert in Abbildung 4.5 als Konstruktionszeichnung in drei Ansichten dargestellt und zeigt die wichtigsten Bestandteile des Photobioreaktors. In den Edelstahlrahmen wurden Edelstahlstützen eingeschraubt, welche dem Anschluss der Schaumsonde (2), des Probenahmesystems (5), des Abgaskühlers (10) sowie der Fixierung der pH- (8) und der pO_2 -Sonde (9) mithilfe von Klemmrings dienen. Weiterhin ermöglichte ein Flammkorb mit Anstechmembran (1) die sterile Zugabe von Nährstoffen oder Titrationsmitteln über eine Spritze mit Kanüle und Sterilfilter während des Betriebs. Die Regelung der Temperatur erfolgte über einen Abgleich des Soll-Wertes mit dem Ist-Wert, welcher mithilfe eines PT100-Sensors (3) gemessen wurde. Bei Bedarf wurde somit frisches Kühlwasser aus dem angeschlossenen Umlaufkühler (DK1800, Wutke Kälte- und Klimatechnik GmbH, Schutterwald, Deutschland) bereitgestellt oder das bereits durch die Temperierkammer zirkulierende Wasser (11-13) in dem Grundgerät des Photobioreaktors erwärmt.

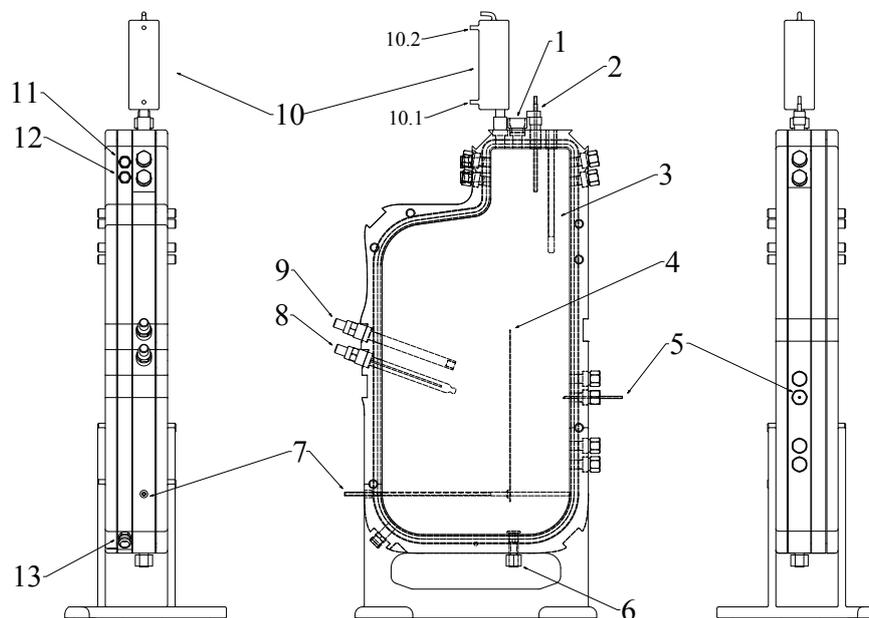


Abbildung 4.5: Schematische Darstellung des Flachplatten-Photobioreaktors in drei Ansichten.

1 - Flammkorb mit Anstechmembran, 2 - Schaumsonde, 3 - Blindrohr für den PT100-Temperatursensor, 4 - Strömungsleitblech, 5 - Anstechnadel als Probenahmesystem, 6 - Ablassventil, 7 - Begasungsrohr, 8 - pH-Sonde, 9 - optische pO_2 -Sonde, 10 - Abgaskühler mit Kühlwasserzulauf bzw. -ablauf (10.1 und 10.2), 11-13 - Anschlüsse für Kühlwasserzulauf, -ablauf sowie -überlauf der Temperierkammer. Die Abmessungen des PBR sowie die Durchmischung mittels *gas lift* sind schematisch im Anhang (Abbildung A.5) dargestellt.

Im unteren Teil der Kultivierungskammer befand sich horizontal ein Begasungsrohr (7) für einen gleichmäßigen Gaseintrag in die Algensuspension. Der Gaseintrag erfolgte über Bohrungen, welche bis zu einem vertikal angebrachten 253 mm langen und 19,3 mm breiten Strömungsleitblech (4) reichten. Dieses sorgte für die Durchmischung der Suspension mittels *gas lift*-Verfahren mit innerem Umlauf und war mit einem Abstand von 80 mm vom Ende des Luftrohres entfernt montiert. Die vertikale Unterteilung der Kammer durch das 1 mm dicke Edelstahl-Strömungsleitblech erzeugte auf der Seite des Gaseinlasses einen Auftrieb in der Flüssigkeit, während auf der anderen Seite die Flüssigkeit langsam absank. Über ein im Boden der Kultivierungskammer angebrachtes Ablassventil (6) konnte die Algensuspension steril entnommen werden.

Betrieb der Flachplatten-Photobioreaktoren

Für den sterilen Betrieb der Photobioreaktoren wurden diese zunächst mit 30 mM Kaliumchlorid-Lösung (Schutz der pH-Sonde) befüllt und bei 121 °C für 20 min dampfsterilisiert. Daraufhin wurden die Kultivierungsgefäße an das Grundgerät angeschlossen, die Betriebsparameter Temperatur, Gasvolumenstrom und Bestrahlungsstärke auf die versuchsspezifischen Werte eingestellt und die Flüssigkeit über das Ablassventil abgelassen. Mithilfe einer peristaltischen Pumpe wurden die Reaktoren mit sterilem ASW-Medium (pH 8,0) befüllt. Die Temperatur und die Bestrahlungsstärke wurden je nach Fragestellung variiert, während die Begasungsrate ($2 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$) und der pH (8,0) bei allen Satzprozessen identisch waren. Die Regelung des pH erfolgte über die variable Zugabe von CO_2 in steigenden Anteilen, je nach pH, wobei der Gesamtvolumenstrom stets konstant war. Die Sequenz zur pH-Regelung mithilfe der Infors-Software Iris kann dem Anhang (Kapitel A.1.3) entnommen werden. Zur Minimierung von Verdunstungsverlusten wurde zwischen Massendurchflussregler und Begasungsrohr eine kunststoffummantelte (Splitterschutz) 2 L-Laborglasflasche mit sterilem Wasser eingebunden, um hindurch strömendes Gas mit Wasser zu sättigen.

Eingangs-Bestrahlungsstärke. Bei Untersuchungen zum lichtabhängigen Wachstum war es Voraussetzung, dass die Eingangs-Bestrahlungsstärke, welche auf die Mikroalgensuspension hinter der ersten Glasscheibe des PBR traf, bekannt war. Die von der Bestrahlungseinheit erzeugte Photonendichte $I_{0,\text{PBR}}$ traf auf die erste Glasscheibe der Kultivierungskammer auf (Abbildung 4.6) und mit verminderter Intensität ($I_{0,\text{korriger}}$) aufgrund von Reflexions- und Streuungseffekten auf der Rückseite der Scheibe aus. Dieser Wert sollte per Definition die Eingangs-Bestrahlungsstärke I_0 sein.

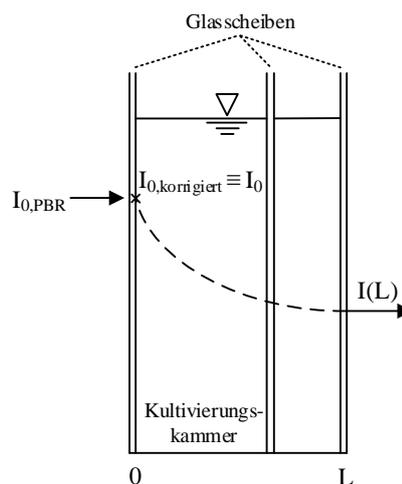


Abbildung 4.6: Schematische Darstellung der Kultivierungs- und Temperierkammer des Flachplatten-Photobioreaktors, unterteilt bzw. umgeben von drei Borosilikat-Glasscheiben. Die Photonen treffen mit einer bestimmten Flussdichte $I_{0,\text{PBR}}$ auf der ersten Glasscheibe des PBR auf. Diese schwächt den Photonfluss ab und führt zu einer PFD $I_{0,\text{korriger}}$ hinter der ersten Glasscheibe, welche per Definition als Eingangs-Bestrahlungsstärke I_0 verwendet wurde. Diese wurde beim Durchgang durch die Algensuspension, zwei weitere Glasscheiben und die Temperierkammer weiter abgeschwächt und verließ nach einer Schichtdicke L den PBR mit der PFD $I(L)$.

Um die Eingangs-Bestrahlungsstärke hinter der ersten Glasscheibe bestimmen zu können, wurde eine Scheibe in identischem Abstand wie im Photobioreaktor vor der Bestrahlungseinheit positioniert, sodass mithilfe eines Spektroradiometers (BLUE-Wave, StellarNet, Inc., Tempa, Florida, USA) die resultierende PFD in $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ bei verschiedenen eingestellten Bestrahlungsstärken I_{set} in % gemessen werden konnte. Die Korrelation dieser beiden Größen ist exemplarisch für eine Bestrahlungseinheit in Abbildung 4.7 dargestellt und zeigt den linearen Zusammenhang, welcher mit einer Geradengleichung aus der linearen Regression beschrieben werden kann. Dabei ist zu beachten, dass zwischen 0 und 1 % ein anderer linearer Zusammenhang besteht als zwischen 1 und 100 %. Die Korrelation wurde für jede Bestrahlungseinheit erstellt und halbjährlich wiederholt, da die Strahlungsleistung der LEDs abnehmen kann.

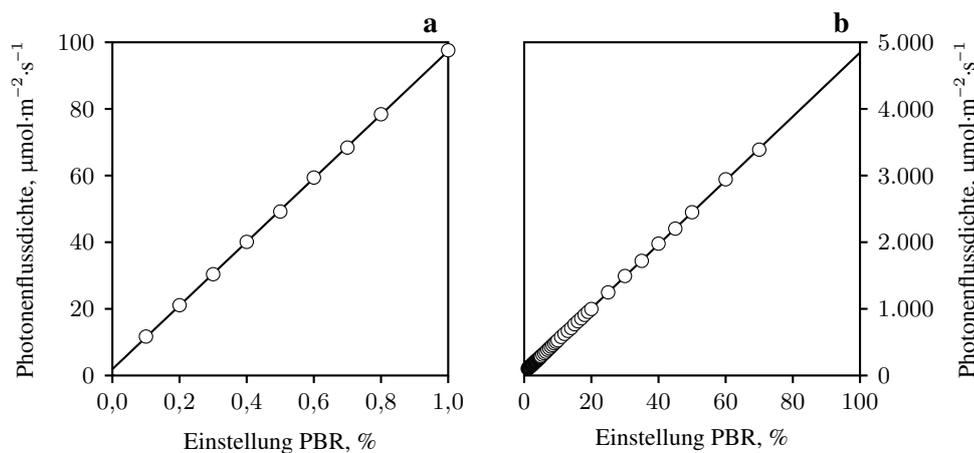


Abbildung 4.7: Exemplarische Korrelation der Photonendichte mit der Einstellung in % in der Software der Flachplatten-Photobioreaktoren.

a - Korrelation zwischen 0 und 100 %: $\text{PFD} = 95,47 \cdot I_{set} + 1,93$

b - Korrelation zwischen 1 und 100 %: $\text{PFD} = 47,97 \cdot I_{set} + 47,83$

Tagesganglinien. Weiterhin war in den verwendeten Flachplatten-Photobioreaktoren ein Betrieb mit Tagesganglinien zur realistischen Simulation eines ausgewählten Klimas in Almería, Spanien, möglich. Hierzu wurde der 15. Juni 2012 als Referenztag ausgewählt und in die Software der PBR integriert. In Abbildung 4.8 ist der Tagesverlauf der Luft-Temperatur sowie der Eingangs-Bestrahlungsstärke dargestellt. Diese Daten wurden mit einem Polynom dritter (Temperatur) bzw. vierter (Bestrahlungsstärke) Ordnung beschrieben und so mithilfe einer Sequenz (Kapitel A.1.3) in die Iris-Software integriert. Die Extremwerte lagen dabei bei $13,9\text{ }^{\circ}\text{C}$ und $0\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ nachts sowie $29,8\text{ }^{\circ}\text{C}$ und $1863\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ zur Mittagszeit.

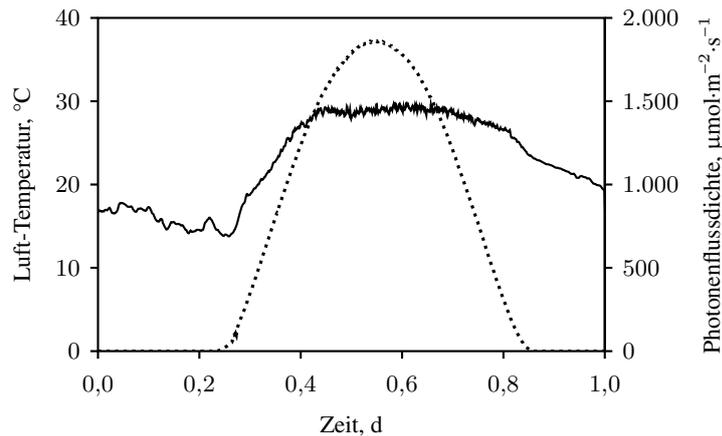


Abbildung 4.8: Darstellung der Luft-Temperatur (—) sowie Eingangs-Bestrahlungsstärke (·····) des 15. Juni 2012 in Almería, Spanien, im Tagesverlauf (Stefan Wilbert, DLR, Plataforma Solar de Almería).

Inokulation und Kultivierung. Die Inokulation der Photobioreaktoren erfolgte mit *Nannochloropsis salina* aus Blasensäulenreaktoren mit einer Spritze über die Anstechmembran des Reaktors. Zu diesem Zweck wurde steril eine ausreichende Menge Mikroalgensuspension aus der Blasensäule entnommen, um bei allen Satzprozessen zu Beginn eine optische Dichte (750 nm) von etwa 0,18 zu erreichen. Das resultierende Arbeitsvolumen betrug stets 1,8 L. Auf eine Abtrennung der Zellen von den Vorkultur-Medienbestandteilen durch Zentrifugation wurde verzichtet, um die Adaptionsphase der Mikroalgen aufgrund von Scherstress nicht unnötig zu verlängern.

Während des Prozesses wurden im Tagesverlauf eine bis mehrere Proben über das integrierte Probenahmesystem des PBR entnommen und gemäß Kapitel 4.3 analysiert. Je nach Fragestellung wurde die Analytik der Proben angepasst. Um das Reaktionsvolumen konstant zu halten und ausreichend Nährstoffe zur Verfügung zu stellen, wurde das Volumen der Probenahme mit ASW-Medium über einen Sterilfilter mit Kanüle über die Anstechmembran ausgeglichen.

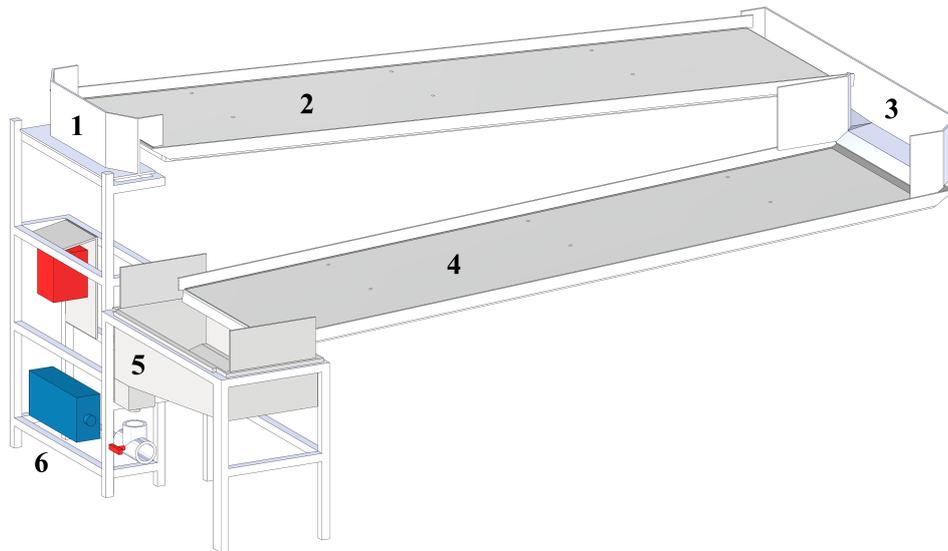
4.2.6 Satzprozesse in Flachgerinnereaktoren im Pilotmaßstab

Im Rahmen dieser Arbeit wurden *Flachgerinnereaktoren* im Pilotmaßstab sowohl für die Vorkulturherstellung als auch für die Satzprozesse verwendet. Diese Reaktoren sind im Algentechnikum auf dem *Ludwig-Bölkow-Campus* in Ottobrunn installiert. Details zu diesem Gebäude können dem Anhang entnommen werden (Kapitel A.6).

Aufbau der Flachgerinnereaktoren

Der Reaktortyp *Flachgerinne* (FGR) wurde von Andreas Apel am Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik entwickelt und bestand aus je einem Sammel- (5) und Einlaufbecken (1), zwei Gerinnen (2,4) mit variabel einstellbarer Neigung und einem Wendebcken (3, Abbildung 4.9). Die genannten Bauteile wurden aus Polyethylen hoher Dichte (PE-HD, *polyethylene high density*) gefertigt, was dem FGR eine gute chemische Beständigkeit verlieh. Für die Überwindung des Höhenunterschiedes vom Sammelbecken zum Einlaufbecken

wurde eine Magnetkreislumppe (6, Sondermann Pumpen und Filter GmbH & Co. KG, Köln, Deutschland) eingesetzt. Im Sammelbecken befand sich ein Schlauch (Solvocarb®, Linde AG, München, Deutschland) für die effiziente Versorgung der Mikroalgensuspension mit Kohlenstoffdioxid in Abhängigkeit des pH. Die Messung des pH sowie der Temperatur erfolgte online über den Kombisensor *tecline* (Jumo GmbH & Co. KG, Fulda, Deutschland), welcher im Sammelbecken über dem Auslauf montiert war.



Draufsicht

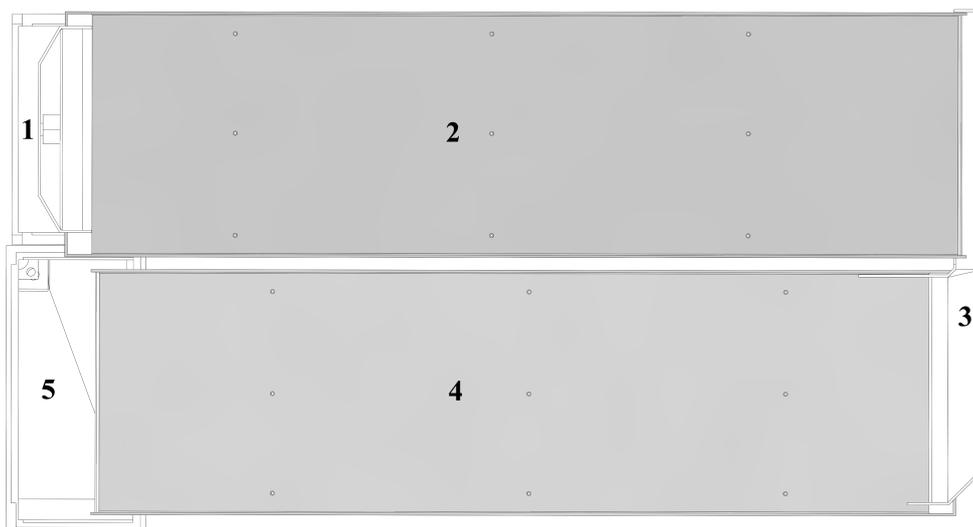


Abbildung 4.9: Schematische Darstellung des Flachgerinnereaktors (3D-Darstellung und Draufsicht). 1 - Einlaufbecken, 2 - oberes Gerinne, 3 - Wendeboden, 4 - unteres Gerinne, 5 - Sammelbecken, 6 - Magnetkreislumppe (Abbildungen von Andreas Apel). Auf die Darstellung des Gestelles für das FGR wurde in dieser Darstellung verzichtet, die LED-Anlage ist über den Reaktoren angebracht und kann Abbildung A.6 entnommen werden. In der Draufsicht sind die auf den beiden Gerinnen angebrachten Sichtfenster (neun pro Gerinne) für die Transmissionsmessung abgebildet.

Ein mittig angebrachtes Prallblech im Einlaufbecken gewährleistete die gleichmäßige Verteilung der Suspension über die gesamte Fläche des Beckens und somit auch ein gleichmäßig über die gesamte Breite verteiltes Einlaufen auf das erste Gerinne. Die beiden Gerinne des Kultivierungs-Reaktors waren 3,5 m lang, 1 m breit und mit einer Neigung von 1,7 % fixiert, sodass bei einem Volumenstrom von $2,4 \text{ L} \cdot \text{s}^{-1}$ eine Schichtdicke der Mikroalgensuspension von 0,6 cm erreicht wurde. Nach dem ersten Gerinne wurde die Algensuspension in einem Wendebecken auf das zweite Gerinne umgelenkt und gelangte schließlich wieder in das Sammelbecken. Das Arbeitsvolumen des FGR für die Satzprozesse betrug 65 L, wobei das Volumen mittels eines Füllstands-Sensors konstant gehalten wurde. Der Verdunstungsausgleich erfolgte mit Trinkwasser; mithilfe von Biomasse-Ausbeutekoeffizienten ($g_{\text{Biomasse}} \cdot g_{\text{Nährstoff}}^{-1}$) wurden erforderliche Nährstoffzugaben abgeschätzt, um Nährstoff-Limitierungen zu vermeiden. Die photosynthetisch aktive Fläche ergab sich bei dem Reaktortyp für die Satzprozesse mit beiden Gerinnen sowie Einlauf-, Wende- und Sammelbecken zu 8 m^2 . Mithilfe einer über dem FGR angebrachten LED-Anlage (Futureled GmbH, Berlin, Deutschland; Abbildung A.6) wurde eine ausreichende Lichtverfügbarkeit sichergestellt. Dabei wurde über den Sensor eines Spektroradiometers (Flame-T, Ocean Optics Inc., Florida, USA) die aktuell durch das Sonnenlicht vorherrschende Eingangs-Bestrahlungsstärke unterhalb des Glasdaches des Algentechnikums bestimmt und daraufhin mit der LED-Anlage der fehlende Anteil der gewünschten Eingangs-Bestrahlungsstärke additiv ausgeglichen. Darüber hinaus war ein Betrieb der LED-Anlage ohne Berücksichtigung der Sonneneinstrahlung möglich. Die Temperierung der Reaktoren erfolgte über die im Algentechnikum eingebaute Klimaanlage durch Temperierung der Umgebungsluft. Für die Vorkulturherstellung in FGR wurde ein kleinerer Reaktor (Gerinne 1,8 m auf 1 m) mit einem Arbeitsvolumen von 37 L und einer photosynthetisch aktiven Fläche von 4 m^2 verwendet, der jedoch prinzipiell analog aufgebaut war.

Betrieb der Flachgerinnereaktoren

Vorbereitend für die Satzprozesse wurde das FGR zunächst mit einem Hochdruckreiniger und durch Spülen zunächst mit Natronlauge sowie anschließend mit Salzsäure gereinigt. Daraufhin wurden 65 L (37 L für den Vorkultur-Reaktor) einer 2,7 %-igen Natriumchlorid-Lösung über die Hausleitung aus dem Salzsilo entnommen und im Sammelbecken des FGR mit allen restlichen vorher eingewogenen Bestandteilen des ASW-Mediums (Tabelle 4.1) vermengt. Die Inokulation des Vorkultur-Reaktors erfolgte mit einer in Flachplatten-Photobioreaktoren hergestellten Vorkultur auf eine Zellkonzentration von etwa $0,1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. Die Bestrahlungsstärke bei der Vorkulturherstellung betrug zwischen 240 und $730 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Da die Vorkultur-Reaktoren in der schwach klimatisierten Halle des Algentechnikums aufgebaut waren, variierte die Lufttemperatur zwischen 20 und $39 \text{ }^\circ\text{C}$, je nach klimatischen Bedingungen. Der pH wurde durch pH-abhängige CO_2 -Zugabe auf einen konstanten Wert von 8,5 geregelt. Das Wachstum der Mikroalgen wurde täglich durch Messung der optischen Dichte überprüft und die Suspension bei Erreichen der stationären Wachstumsphase etwa 1:10 mit frischem Medium verdünnt. Aus den so hergestellten Vorkulturen erfolgte die Inokulationen

der Flachgerinnereaktoren für die Satzprozesse auf eine Biotrockenmassekonzentration von etwa $0,1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (entspricht etwa einer optischen Dichte von 0,3). Die geringere Schichtdicke im Vergleich zu Flachplatten-Photobioreaktoren bedingte die höhere optische Dichte zu Beginn, da Photoinhibition bei vergleichbarer Eingangs-Bestrahlungsstärke vermieden werden sollte. Die Satzprozesse in Flachgerinnereaktoren wurden in unterschiedlichen Betriebsmodi in den klimatisierbaren Hallen des Algentechnikums (Kapitel A.6) durchgeführt: Für die Untersuchungen des Kriteriums zur Maßstabsübertragung wurden konstante Bestrahlungsstärken zwischen 48 und $1536 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ und eine konstante Temperatur von $25 \text{ }^\circ\text{C}$ eingestellt. Um die Genauigkeit der Transmissionsmessungen zu erhöhen, wurden die Reaktoren mit schwarzer Teichfolie abgedeckt, sodass die Sonneneinstrahlung das Messergebnis nicht verfälschen konnte. Für die Satzprozesse mit Tagesganglinien wurde eine realistische physikalische Klimasimulation analog zu Abbildung 4.8 vorgegeben und somit Luft-Temperatur, Bestrahlungsstärke sowie Luftfeuchtigkeit eines Modelltages (15. Juni 2012) in Almería, Spanien, simuliert.

Je nach Fragestellung wurde in definierten Abständen eine konzentrierte Nährstofflösung mit allen Komponenten des ASW-Mediums (mit Ausnahme von NaCl und MgSO_4) zugegeben, sodass eine Limitierung aufgrund von Nährstoffen ausgeschlossen werden konnte. Die Zugabe wurde dabei über den zuvor bestimmten Biomasse-Ausbeutekoeffizienten in Bezug auf Nitrat als Substrat (Gleichung 3.12) abgeschätzt. Ebenfalls abhängig von der Fragestellung war die Start-Nitrat-Konzentration und ob Nitrat der Nährstofflösung zugegeben wurde.

Analog zu den Satzprozessen in Flachplatten-Photobioreaktoren wurden im Tagesverlauf eine bis mehrere Proben entnommen und gemäß Kapitel 4.3 analysiert.

4.3 Analytische Methoden

Nachfolgend sind alle in dieser Arbeit verwendeten analytischen Methoden für die reaktionstechnische Untersuchung der beiden *Nannochloropsis* sp. aufgeführt und erläutert.

4.3.1 Bestimmung der optischen Dichte

Für die Messung der optischen Dichte (OD) wurde ein Einstrahl-Spektralphotometer (Genesys 10S UV-VI, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA) verwendet. Dieses sendet monochromatisches Licht einer bestimmten Wellenlänge und Intensität auf die zu untersuchende Probe, wobei die enthaltenen Zellen sowie Medienbestandteile das Licht absorbieren, reflektieren und/oder streuen. Der verbliebene Anteil des Lichts wird durch die Probe transmittiert und detektiert. Die Extinktion ist dabei von verschiedenen Parametern abhängig, welche von Bouguer, Lambert und Beer in einer Gleichung – dem Lambert-Beer'schen Gesetz – festgehalten wurden:

$$E_{\lambda} = \log \frac{I}{I_0} = -\varepsilon \cdot c \cdot l \quad (4.1)$$

mit	E_{λ}	Extinktion bei einer bestimmten Wellenlänge	-
	I	Intensität des transmittierten Lichts	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
	I_0	Intensität des einfallenden Lichts	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
	ε	molarer Extinktionskoeffizient	$\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$
	c	Konzentration der Lösung	$\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
	l	Schichtdicke des durchstrahlten Körpers	cm

Das Lambert-Beer'sche Gesetz ist in dieser Form jedoch nur bei sehr geringen Konzentrationen gültig, da es bei zu hohen Konzentrationen zu einer mehrfachen Streuung des Lichts kommen kann. Bei dem im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Photometer liegt die lineare Abhängigkeit der Extinktion von der Konzentration in einem Bereich von 0,1 bis 0,3. Die Messung der gegebenenfalls mit Phosphatpuffer (PBS, Tabelle A.7) verdünnten Probe erfolgte bei 750 nm, wobei Luft als Nullwert diente. Um lediglich die Extinktion der Zellen zu berücksichtigen, wurde eine Medienprobe in allen möglichen, während des Satzprozesses auftretenden, Verdünnungsstufen gemessen und die Probe um diese Extinktion korrigiert.

4.3.2 Bestimmung der Gesamtzellzahl

Für die Bestimmung der Gesamtzellzahl einer Mikroalgensuspension wurde ein Hämacytometer (Neubauer Improved, LaborOptik Ltd., Lancing, Großbritannien) verwendet, welches eine Kammerhöhe von 0,1 mm und eine Gruppenquadratgröße von $0,025 \text{ mm}^2$ aufwies. Die Besonderheit dieser Zählkammer waren die die Gruppenquadrate allseitig umfassenden dreifachen Grenzlinien. Dabei war die mittlere Linie die Begrenzungslinie und entschied darüber, ob Zellen in diesem Grenzbereich mitzuzählen waren. Für jede Probe von *N. salina* wurden sechs Gruppenquadrate ausgezählt, um Fehler zu minimieren. Die Berechnung der Gesamtzellzahl pro mL erfolgte nach Gleichung 4.2 und wurde für die Ermittlung eines Korrelationsfaktors als Funktion der zugehörigen optischen Dichte dargestellt.

$$N = \frac{N_{\text{Zellzahl}} \cdot \text{Verdünnung}}{A_{\text{GQ}} \cdot h_K \cdot N_{\text{GQ}}} \cdot 1000 \frac{\text{mm}^3}{\text{mL}} \quad (4.2)$$

mit	N	Gesamtzellzahl	mL^{-1}
	N_{Zellzahl}	Anzahl ausgezählter Zellen	-
	A_{GQ}	Gruppenquadratgröße	mm^2
	h_K	Kammerhöhe	mm
	N_{GQ}	Anzahl ausgezählter Gruppenquadrate	-

4.3.3 Bestimmung der Biotrockenmassekonzentration

Für die bessere Vergleichbarkeit der Satzprozesse mit Literaturdaten und die quantitative Bestimmung des Lipidgehaltes wurde die Biotrockenmassekonzentration mittels Vakuumfiltration bei allen Satzprozessen mindestens einmal pro Tag bestimmt. Zu diesem Zweck wurde zunächst über die optische Dichte das benötigte Probenvolumen für mindestens 1 mg Biotrockenmasse abgeschätzt. Dieses Volumen wurde dann auf einen zuvor bis zur Massenkonstanz bei 80 °C getrockneten und gewogenen Glas-Mikrofaser-Filter (GF/C, Whatman, GE Healthcare, Chalfont St. Giles, Großbritannien) mit einer Porengröße von 1,2 µm aufgegeben und mithilfe einer Saugflasche mit Büchnertrichter und einer Vakuumpumpe filtriert. Um eventuell an den Zellen anhaftende Salze auszuwaschen, wurde anschließend das doppelte Probenvolumen VE-Wasser auf den Filter gegeben und ebenfalls filtriert. Daraufhin wurde der Filter erneut bei 80 °C bis zur Massenkonstanz getrocknet und gewogen. Über die Massendifferenz zwischen beladenem und unbeladenem Filter und dem aufgegebenen Probenvolumen konnte die Biotrockenmassekonzentration bestimmt werden. Diese wurde schließlich als Funktion der zugehörigen optischen Dichte dargestellt, um einen Korrelationsfaktor zu ermitteln.

4.3.4 Quantitativer Nachweis von Nährstoffen

Für die Berechnung von Ausbeute-Koeffizienten zur Induktion der Lipidbildung aufgrund einer Nährstofflimitierung zu einem definierten Zeitpunkt des Prozesses, wurden (semi-)quantitative Nachweismethoden mittels Schnelltests und Colorimetrie verwendet.

Semiquantitative Schnelltests

Für eine grobe Abschätzung der Nährstoffkonzentrationen im Kultivierungsmedium wurden QUANTOFIX® Teststäbchen (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Deutschland) für Nitrat/Nitrit, Phosphat, Eisen sowie Sulfat verwendet. Die Stäbchen wurden dabei jeweils für ca. 1 s in den Überstand einer bei 13.000 U·min⁻¹ 10 min zentrifugierten Probe gehalten, 60 s inkubiert und anschließend mit einer Farbskala die Nährstoffkonzentration abgeschätzt.

Nitrat und Nitrit

Um zu jedem Probenahme-Zeitpunkt des Prozesses die Nitratkonzentration bestimmen zu können, wurde ein colorimetrischer Nitrit/Nitrat-Test (Roche Diagnostics GmbH, Rotkreuz, Schweiz) verwendet. Zunächst wurde die Probe bei 13.000 U·min⁻¹ 10 min zentrifugiert und der resultierende Überstand mit bidestilliertem Wasser verdünnt, um eine abgeschätzte Endkonzentration von 0,05-5 mg·L⁻¹ (Bereich der Kalibrierung des Testes) zu erhalten. Der Test basierte auf einer stöchiometrischen Farbreaktion von Nitrit. Somit wurde zunächst vorliegendes Nitrat durch das Enzym Nitrat-Reduktase unter Verbrauch von Nicotinamidadenindinucleotidphosphat (NADPH) zu Nitrit reduziert. Dieses reagierte dann mit den Farbreagenzien Sulfanilamid

und N-(1-Naphthyl)-Ethylendiamin Dihydrochlorid unter Ausbildung eines rot-violetten Diazo-Farbstoffes, dessen Absorption bei 540 nm Aufschluss über die Nitrit-Konzentration gab. Durch Messung der Nitritkonzentration vor und nach der Enzym-katalysierten Reduktion und durch parallele Erstellung einer Kalibriergerade für Nitrit sowie Nitrat, konnte die Nitratkonzentration bestimmt werden.

Phosphat

Für die Bestimmung der Phosphatkonzentration wurde ebenfalls ein colorimetrischer Test (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) verwendet. Dabei reagierte das in Lösung vorliegende Phosphat mit einem chromogenen Komplex zu einem colorimetrischen Produkt, welches bei 650 nm nachweisbar war und proportional zur Phosphatkonzentration vorlag. Die zu untersuchenden Proben wurden bei $13.000 \text{ U} \cdot \text{min}^{-1}$ 10 min zentrifugiert und der resultierende Überstand in einen Konzentrationsbereich von $0,48\text{-}2,37 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ mit bidestilliertem Wasser verdünnt. Die Abschätzung der notwendigen Verdünnung erfolgte dabei mit einem semiquantitativen Schnelltest. Die Berechnung der Phosphatkonzentration erfolgte mithilfe einer parallel erstellten Kalibriergerade im genannten Konzentrationsbereich.

4.3.5 Bestimmung der Salinität des Mediums

Zur Überprüfung des Salzgehaltes des Kultivierungsmediums wurde ein Refraktometer (Hanna Instruments Deutschland GmbH, Vöhringen, Deutschland) verwendet. Mithilfe des Refraktometers konnte der Brechungsindex der Flüssigkeit anhand des Lichtübergangs zwischen einem Prisma mit bekannten Eigenschaften und der unbekannt Probe bestimmt werden. Als Nullwert diente der Brechungsindex von VE-Wasser, die Probe konnte ohne vorheriges Zentrifugieren gemessen werden, da die Anwesenheit der Mikroalgen vernachlässigbar war. Als Referenz diente eine Messreihe mit unterschiedlich konzentriertem ASW-Medium (Tabelle 4.1).

4.3.6 Quantitativer Nachweis des Lipidgehaltes

Für die Bestimmung des Gesamt-Lipidgehaltes der Mikroalgen wurde ein ausreichendes Probenvolumen (10 bis 25 mL) entnommen, sodass, abgeschätzt über einen OD-BTM-Korrelationsfaktor (Kapitel 4.3.3), mindestens 5 mg reine Algenbiotrockenmasse enthalten waren. Diese Proben wurden stehend in 50 mL-Reaktionsgefäßen bei $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ für mindestens 4 h eingefroren und anschließend bei $-50 \text{ }^\circ\text{C}$ und 0,12 mbar 48 h gefriergetrocknet (Alpha 1-2 LD Plus, Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Osterode am Harz, Deutschland). Daraufhin wurde mithilfe der Biotrockenmassenkonzentration sowie der Salinität jeder Probe die benötigte Menge für 5 mg reine Algenbiotrockenmasse berechnet und in 10 mL Feingewindeflaschen abgewogen. Die Extraktion der Lipide erfolgte nach einem modifizierten Umesterungs- und Extraktionsprotokoll von Griffiths *et al.* (2010): Das gefriergetrocknete Algenpulver wurde zunächst in 900 μL eisgekühltem Toluol gelöst. Zusätzlich wurden 100 μL des internen Standards C_{12} -Triacylglycerid (C_{12} -TAG) in Toluol ($2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 200 μL 2,2-Dimethoxypropan sowie 2 mL eisgekühltes 0,5 M Natriummethoxid in

Methanol zugegeben. Die Proben wurden 20 min bei 80 °C und 600 U·min⁻¹ in einem Thermomixer inkubiert und anschließend auf Eis 5 min abgekühlt. Anschließend wurden 2 mL eisgekühltes HCl in Methanol (5 %, v/v) zugegeben und der Inkubationsschritt wiederholt. Es folgte die Zugabe von jeweils 800 µL bidestilliertem Wasser und eisgekühltem Hexan, die Homogenisierung der Suspension und die Zentrifugation bei 3.000 U·min⁻¹ für 2 min. Der resultierende Überstand mit den extrahierten Fettsäuremethylestern (FAME) und dem internen Standard wurde abgenommen und in GC-Vials überführt. Die Fettsäuremethylester wurden mit dem Gaschromatograph (GC-2010 Plus, Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Deutschland) über eine Quarzglas Stabilwax®-Säule (Restek GmbH, Bad Homburg, Deutschland) mithilfe eines Temperaturgradienten (150 °C für 1 min, bis 240 °C mit 5 °C·min⁻¹, 240 °C für 6 min) entsprechend der Kettenlängen aufgetrennt. Die Temperatur des Injektors (Split-Verhältnis 1:10) betrug 240 °C und die Temperatur des Flammenionisations-Detektors 245 °C. Wasserstoff mit einer Flussrate von 3 mL·min⁻¹ wurde als Trägergas genutzt. Zusätzlich zu den extrahierten Proben wurde ein externer Standard, bestehend aus einem marinen Ölmix (Marine Oil FAME Mix, C14:0 bis C24:1; Restek AG, Fuldabrück, Deutschland) in verschiedenen Konzentrationen, genutzt, um eine Kalibrierung zu erstellen. Diese diente dazu, die resultierenden Peaks den einzelnen Fettsäuren zuzuordnen zu können sowie deren Konzentration bestimmen zu können. Da Mikroalgen keine C₁₂-Fettsäuren bilden (Metting, 1996), konnte der interne Standard (C12-FAME) genutzt werden, um die Methylierungseffizienz über die zugegebene und die detektierte Menge der C12-FAMES zu berechnen und so die Konzentrationen der Proben zu korrigieren. Um den Gesamt-Lipidgehalt zu erhalten, wurden die Konzentrationen aller detektierter Fettsäuren summiert, mithilfe des Volumens der Oberphase (Hexan und Toluol) der Extraktion in g umgerechnet und auf die verwendete Biotrockenmasse bezogen:

$$c_{\text{TAG}} = \frac{c_{\text{C}_{12}, \text{detekt.}}}{c_{\text{C}_{12}, \text{theor.}}} \cdot \sum c_{\text{FA}} \cdot V_{\text{OP}} \cdot \frac{1}{m_x} \quad (4.3)$$

mit	c_{TAG}	Gesamt-Lipidgehalt	$\text{g}_{\text{Lipid}} \cdot \text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1}$
	$c_{\text{C}_{12}, \text{detekt./theor.}}$	detektierte/theoretische C ₁₂ -Konzentration	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
	c_{FA}	Konzentration einer Fettsäure	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
	V_{OP}	Volumen der Oberphase	L
	m_x	verwendete Biotrockenmasse	g

4.3.7 Bestimmung des Pigmentgehaltes

Für die Untersuchung des Pigmentgehaltes, mit Fokus auf Chlorophyll a und Carotinoiden, sowie dessen zeitlicher, stickstoff- oder lichtabhängiger Veränderung, wurde eine Methode zur Extraktion und Quantifizierung der Pigmente von *N. salina* sowie *N. gaditana* etabliert.

Die Extraktion der Pigmente erfolgte aus einem Probenvolumen von 5 mL, welches 20 min bei 3.000 U·min⁻¹ abzentrifugiert wurde. Der Überstand wurde verworfen, das resultierende Zellpellet in 5 mL

azidifiziertem 90 %-igem Aceton (mit 0,075 M HCl) resuspendiert und mindestens 24 h bei 4 °C im Dunkeln inkubiert. Daraufhin wurde erneut 20 min bei 3.000 U·min⁻¹ zentrifugiert und der Überstand für die Aufzeichnung eines Absorptionsspektrums zwischen 300 und 800 nm in 1 nm-Schritten verwendet. Um die korrelierende Konzentration von Chlorophyll a bzw. Carotinoiden zu bestimmen, wurden diese als Reinstoffen in azidifiziertem Aceton gelöst, sechs verschiedene Konzentrationen (0,5, 1, 2, 5, 10, 30 und 50 mg·L⁻¹) eingestellt und ebenfalls die Absorptionsspektren aufgezeichnet. Daraufhin wurden die spezifischen Absorptionsmaxima der einzelnen Pigmente mit den jeweiligen Konzentrationen korreliert und mittels linearer Regression eine Kalibriergerade erstellt.

Chlorophyll a (Sigma Aldrich, St. Louis, USA) weist zwei Absorptionsmaxima (411 und 666 nm) auf, wobei lediglich letzteres spezifisch ist, da Carotinoide ihr Absorptionsmaximum im Bereich des ersten Maximums (400-450 nm) besitzen. Aus diesem Grund wurden die Absorptionsmaxima bei 666 nm der verschiedenen Konzentrationen für die Erstellung der Kalibrierung genutzt. Die lineare Regression lieferte den ersten in Gleichung 4.4 dargestellten Zusammenhang.

Carotinoide (Sigma Aldrich, St. Louis, USA) weisen je nach Struktur leicht voneinander abweichende Absorptionsmaxima auf. Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Xanthophylle Zeaxanthin sowie Lutein und zusätzlich β -Carotin zur Erstellung der Kalibrierung genutzt. Die (lineare) Regression der jeweiligen Konzentrationen über der Absorption führte zu folgenden Zusammenhängen:

$$\begin{aligned}
 c_{Chl} &= 17,198 \cdot A_{max} \\
 c_{Zea} &= 15,091 \cdot A_{max} \\
 c_{Lut} &= 5,3329 \cdot A_{max} \\
 c_{Car} &= 52,594 \cdot (A_{max})^{2,3421}
 \end{aligned}
 \tag{4.4}$$

mit	c_{Chl}	Chlorophyll a-Konzentration	mg·L ⁻¹
	c_{Zea}	Zeaxanthin-Konzentration	mg·L ⁻¹
	c_{Lut}	Lutein-Konzentration	mg·L ⁻¹
	c_{Car}	β -Carotin-Konzentration	mg·L ⁻¹
	A_{max}	spezifisches Absorptionsmaximum	-

In Abbildung 4.10 sind die relativen Absorptionsspektren der drei Carotinoide sowie des Chlorophyll a, vergleichend zwischen 330 und 580 nm, dargestellt. Zeaxanthin und β -Carotin weisen ein Maximum bei 454 nm auf, weshalb diese beiden Carotinoide in der Extraktionslösung aus Algen nicht unterschieden werden können. Lutein hingegen besitzt ein Absorptionsmaximum bei 445 nm. Aufgrund der Überlagerung der

Absorption der Carotinoide untereinander und des Chlorophyll a ist es fraglich, wie spezifisch die Bestimmung der Carotinoid-Konzentration ist.

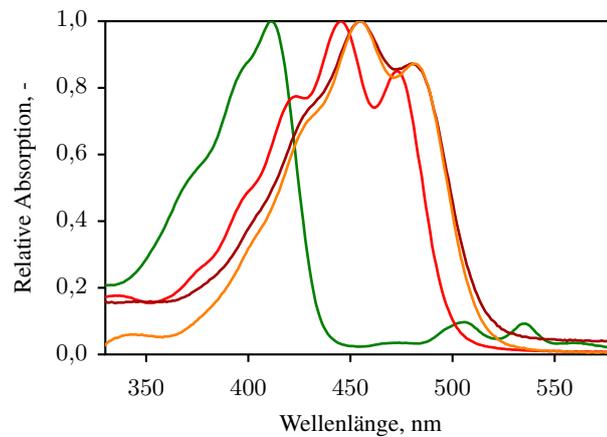


Abbildung 4.10: Darstellung der relativen Absorptionsmaxima zwischen 330 und 580 nm von Chlorophyll a (—), Lutein (—), β -Carotin (—) und Zeaxanthin (—).

4.3.8 Ermittlung relevanter Prozessparameter

Spezifische Wachstumsraten. Die Ermittlung der spezifischen Wachstumsrate erfolgte in der exponentiellen Wachstumsphase (nach Gleichung 3.10). Zu diesem Zweck wurde der natürliche Logarithmus der optischen Dichte als Funktion der Zeit dargestellt und mittels linearer Regression die Wachstumsrate, welche der Steigung entspricht, bestimmt. Die Auswahl des Bereichs, welcher noch in die exponentielle Wachstumsphase aufgenommen wurde, erfolgte über das maximale Bestimmtheitsmaß der linearen Regression. Weiterhin wurden die Standardfehler der Wachstumsraten über die Statistik der linearen Regressionen nach der Methode der kleinsten Fehlerquadrate berechnet.

Ausbeutekoeffizienten und Aufnahmeraten. Ebenso wie auch die Wachstumsraten wurden die Ausbeutekoeffizienten $Y_{i/j}$ (nach Gleichung 3.12) und Aufnahmeraten q_i (nach Gleichung 3.9) nur für die exponentiellen Wachstumsphasen berechnet.

Flächen-Zeit-Ausbeuten (FZA). Die Biomasse-FZA wurden ebenfalls für den Bereich des exponentiellen Wachstums berechnet. Für die Berechnung der Lipid-FZA wurde der natürliche Logarithmus der Lipidkonzentration als Funktion der Zeit dargestellt und so der Bereich der exponentiellen Lipidbildung bestimmt. In diesem Bereich wurde die Lipid-FZA ermittelt.

4.4 Methoden für die Modellierung des phototropen Wachstums und der Lipidbildung

Um das phototrophe Wachstum von *N. salina* und *N. gaditana* modellieren zu können, wurde zunächst das Absorptionsverhalten charakterisiert, die Lichtabschwächung in Photobioreaktoren untersucht, die Ermittlung der spezifischen Extinktionskoeffizienten etabliert und schließlich die mittlere integrale Bestrahlungsstärke zur Ermittlung relevanter kinetischer Parameter eingeführt.

4.4.1 Bestimmung der Lichtabschwächung zur Charakterisierung des Absorptionsverhaltens

Für die Modellierung des phototropen Wachstums war zunächst die Kenntnis über das Absorptionsverhalten der verwendeten Mikroalgenstämme essentiell. Die Absorption des auftreffenden Lichtes und die daraus resultierende Lichtabschwächung kann mit einer der Gleichungen 3.20-3.22 beschrieben werden. Um überprüfen zu können, welche der Gleichungen sich für die Beschreibung der Lichtabsorption der Mikroalgen eignet, wurde die Lichtabschwächung über eine bestimmte Schichtdicke experimentell bestimmt. Zu diesem Zweck wurde in dem in Abbildung 4.11 dargestellten Aufbau die Lichtabschwächung bei unterschiedlichen Biomassekonzentrationen über eine Schichtdicke von 3 cm gemessen.

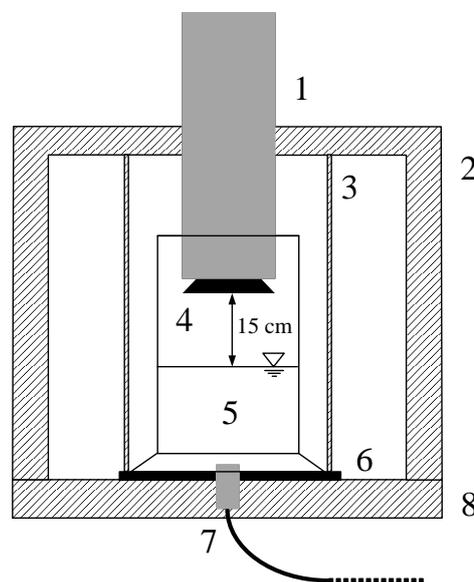


Abbildung 4.11: Schematische Schnitt-Darstellung des Aufbaus zur Messung der Transmission in unterschiedlichen Schichtdicken sowie bei verschiedenen Biomassekonzentrationen bei konstanter Eingangs-Bestrahlungsstärke. 1 - Kunststoffrohr, 2 - Styropor-Box, 3 - Kunststoffrohr, 4 - Leuchtdiode, 5 - gekürzter Messzylinder, 6 - Fuß zur Fixierung des Messzylinders, 7 - Lichtsensor des Spektroradiometers, 8 - Bodenplatte zur Fixierung des Lichtsensors.

Das konstruierte Messsystem bestand dabei aus einem Messzylinder (5), welcher in 0,25 cm-Schritten mit einer Algensuspension einer bestimmten Zelldichte befüllt wurde. Der Messzylinder wurde in einen angepassten Standfuß (6) eingesetzt und fixiert. Unterhalb des Zylinders wurde der Lichtsensor (7) des Spektro-

radiometers (BLUE-Wave, StellarNet, Inc., Tempa, Florida, USA) positioniert, wobei die Bodenplatte (8) das Abknicken des Glasfaserkabels verhinderte. Auf den Messzylinder wurde ein angepasstes Kunststoffrohr (3) aufgesetzt, welches durch die Styropor-Box (2) dringendes Umgebungslicht abschirmte. In dieses Kunststoffrohr wurde durch Aufsetzen der Box ein zweites Kunststoffrohr (1) eingeschoben, in welchem eine Leuchtdiode (4) befestigt war. Mit dieser Leuchtdiode konnten Eingangs-Bestrahlungsstärken bis zu $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ erreicht werden. Das Kunststoffrohr (1) war frei entlang der y-Achse verschiebbar und war ebenfalls mit Markierungen in 0,25 cm-Schritten versehen. Somit konnte sichergestellt werden, dass der Abstand der Leuchtdiode zur Oberfläche der Algensuspension bei jeder Messung sowie jeder Schichtdicke identisch (15 cm) war. Das Spektroradiometer war an einen PC angeschlossen und ermöglichte mithilfe der Software *SpectraWiz* die Auswertung der Messdaten.

Die mithilfe dieses Aufbaus erhaltenen Daten wurden für die Vorauswahl eines geeigneten Modells für die Bestimmung der Lichtabschwächung genutzt.

4.4.2 Messung des transmittierten Lichts durch eine Mikroalgensuspension in Photobioreaktoren

Im Rahmen der Untersuchungen zur Lichtabhängigkeit der Mikroalgen wurde die Lichtabschwächung in Photobioreaktoren im laufenden Betrieb bestimmt. Die Vorgehensweise war dabei bei den beiden verwendeten Photobioreaktoren unterschiedlich.

Flachplatten-Photobioreaktoren. Um die Lichtabschwächung mit steigender Zelldichte ermitteln zu können, wurden die Flachplatten-Photobioreaktoren mit schwarzen Silikonmatten, welche an sechs definierten Positionen mit Löchern versehen waren, auf der lichtabgewandten Seite des Reaktors ausgestattet. Diese Matten dienten einerseits der Abschirmung von Umgebungslicht und andererseits der Vorgabe von Messpunkten. In der exponentiellen Wachstumsphase wurde mit jeder Probenahme an diesen sechs Punkten (Abbildung A.4) mit dem Spektrometer (BLUE-Wave, StellarNet, Inc., Tempa, Florida, USA) die wellenlängenabhängige Transmission (zwischen 400 und 750 nm) gemessen und der Mittelwert über alle sechs Positionen gebildet. Die Eingangs-Bestrahlungsstärke wurde nach Abbildung 4.7 über die Lichtkorrelation berechnet, als Nullwert diente eine Messung des mit Medium befüllten Reaktors.

Flachgerinnereaktoren. Für die Bestimmung der Lichtabschwächung in Flachgerinnereaktoren wurden die auf den Gerinnen angebrachten Sichtfenster (Abbildung 4.9, Draufsicht) verwendet. Die Bestimmung der Eingangs-Bestrahlungsstärke I_0 , welche auf die Algensuspension auftrifft, erfolgte jeweils 5 cm oberhalb jeden Sichtfensters, da aufgrund lokal deutlich voneinander abweichender Bestrahlungsstärken kein allgemeingültiger Wert angenommen werden konnte. Mithilfe des verwendeten Spektrometers (Flame-T, Ocean Optics Inc., Florida, USA) war die Messung der absoluten Transmission, integriert über den Wellenlängen-

bereich 400-750 nm, möglich. Je nach Bestrahlungsstärke dauerte jede Messung 10-30 s und ergab so einen Mittelwert von 250 Abtastungen. Vor jeder Messung wurden die Sichtfenster von oben von anhaftenden Algen und Medienbestandteilen befreit und von unten mit Ethanol gereinigt. Bei jedem Fenster wurde zunächst I_0 und direkt im Anschluss die zugehörige Transmission gemessen, insgesamt wurden maximal 12 Sichtfenster für die Transmissionsmessung verwendet und die Ergebnisse gemittelt. Als Nullwert diente der mit Medium gefüllte Reaktor, um die Absorption des Mediums sowie der Fenster berücksichtigen zu können.

Die ermittelten Transmissionen wurden zusammen mit den zeitgleich bestimmten optischen Dichten genutzt, um den spezifischen Extinktionskoeffizienten zu bestimmen.

4.4.3 Bestimmung des spezifischen Extinktionskoeffizienten

Die Ermittlung des spezifischen Extinktionskoeffizienten ε wurde für jeden Satzprozess durchgeführt, die Vorgehensweise war für beide Photobioreaktoren identisch. Zunächst wurde die Transmission als Funktion der korrelierenden optischen Dichte dargestellt. Die Bestimmung von ε erfolgte mit Matlab mit der *Curve-fitting Toolbox* und unter Verwendung der Gleichungen 3.20-3.22, wobei die Auswahl des besten Modells über das maximale Bestimmtheitsmaß erfolgte. Als Eingangs-Bestrahlungsstärke I_0 wurde dabei der nach Abbildung 4.7 ermittelte Wert verwendet.

Die Berechnung der Standardabweichung erfolgte über ein 95 %-Konfidenzintervall, welches von Matlab ausgegeben wurde, unter der Annahme einer Gauß'schen Normalverteilung nach Gleichung 4.5. Der absolute Fehler e entspricht dabei der halben Breite des Konfidenzintervalls.

$$\sigma = \frac{e \cdot \sqrt{n}}{z_{(1-\frac{\alpha}{2})}} \quad (4.5)$$

mit	σ	Standardabweichung	cm^{-1}
	e	absoluter Fehler	cm^{-1}
	n	Stichprobenumfang	-
	$z_{(1-\frac{\alpha}{2})}$	$(1 - \frac{\alpha}{2})$ -Quantil der Standardnormalverteilung	-

4.4.4 Bestimmung der mittleren integralen Bestrahlungsstärke

Die Bestrahlungsstärke, die im Mittel jede Zelle im Reaktor erreicht, wird als mittlere integrale Bestrahlungsstärke bezeichnet und ergibt sich mit dem Lambert-Beer'schen Gesetz als Absorptionsmodell zu Gleichung 4.6. Mit dem zuvor ermittelten spezifischen Extinktionskoeffizienten ε , der bekannten Schichtdicke der Al-

gensuspension L sowie der Eingangs-Bestrahlungsstärke I_0 und der aktuell vorherrschenden Zelldichte OD kann somit die mittlere integrale Bestrahlungsstärke zu einem beliebigen Zeitpunkt berechnet werden.

$$I^* = \frac{1}{L} \int_0^L I(\text{OD}, l) dl \xrightarrow{I=I_0 \cdot e^{-\varepsilon \cdot \text{OD} \cdot l}} I^* = \frac{I_0 \cdot (1 - e^{-\varepsilon \cdot \text{OD} \cdot L})}{\varepsilon \cdot \text{OD} \cdot L} \quad (4.6)$$

$$I^{**} = \frac{1}{\Delta t} \int_{t_a}^{t_e} \frac{I_0 \cdot (1 - e^{-\varepsilon \cdot \text{OD} \cdot L})}{\varepsilon \cdot \text{OD} \cdot L} dt \quad (\Delta t = t_e - t_a) \quad (4.7)$$

$$\xrightarrow{\frac{d\text{OD}}{dt} = \mu \cdot \text{OD} \leftrightarrow dt = \frac{d\text{OD}}{\mu \cdot \text{OD}}} I^{**} = \frac{1}{\Delta t} \int_{\text{OD}_a}^{\text{OD}_e} \frac{I_0 \cdot (1 - e^{-\varepsilon \cdot \text{OD} \cdot L})}{\varepsilon \cdot \text{OD}^2 \cdot L \cdot \mu} d\text{OD} \quad (4.8)$$

$$\leftrightarrow I^{**} = \frac{I_0}{\Delta t \cdot \varepsilon \cdot L \cdot \mu} \int_{\text{OD}_a}^{\text{OD}_e} \frac{1 - e^{-\varepsilon \cdot \text{OD} \cdot L}}{\text{OD}^2} d\text{OD}$$

$$\xrightarrow{-\varepsilon \cdot L = k} I^{**} = \frac{I_0}{\Delta t \cdot k \cdot \mu} \left[\frac{-k \cdot \text{OD} \cdot Ei(k \cdot \text{OD}) + e^{k \cdot \text{OD}} - 1}{\text{OD}} \right]_{\text{OD}_a}^{\text{OD}_e} \quad (4.9)$$

$$\leftrightarrow Ei(x) = \gamma + \ln|x| + \sum_{n=1}^{\infty} \frac{x^n}{n! \cdot n}$$

$$\leftrightarrow \gamma = \int_1^{\infty} \left(\frac{1}{[x]} - \frac{1}{x} \right) dx = 0,577215664901532 \dots$$

mit	I^*	mittlere integrale Bestrahlungsstärke	$\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
	L, l	(maximale) Schichtdicke der Algensuspension	cm
	I	Photonenflussdichte an Position l	$\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
	I_0	Eingangs-Bestrahlungsstärke	$\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
	ε	spezifischer Extinktionskoeffizient	cm^{-1}
	I^{**}	mittlere integrale Bestrahlungsstärke im Zeitintervall t_a bis t_e	$\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
	$t_{a/e}$	Anfang/Ende der exponentiellen Wachstumsphase	d
	$\text{OD}_{a/e}$	OD am Anfang/Ende der exponentiellen Wachstumsphase	-
	μ	spezifische Wachstumsrate	d^{-1}
	Ei	Integraleponentialfunktion	-
	γ	Euler-Mascheroni-Konstante	-

Für die Untersuchung des lichtabhängigen Wachstums von *N. salina* und *N. gaditana* sollten jedoch die vorherrschenden Lichtverhältnisse während des unlimitierten Wachstums, also in der exponentiellen Wachstumsphase, bestimmt werden. Zu diesem Zweck wurde I^* über das Zeitintervall der exponentiellen Wachstumsphase nach Gleichung 4.7 zu I^{**} integriert. Da die zeitliche Änderung der integralen Bestrahlungsstärke von der Zelldichte abhängt, welche ebenfalls zeitlich veränderlich ist, erfolgte zunächst eine Trennung der Variablen, um das Integral lösen zu können. Somit wurde I^{**} nach Gleichung 4.8 über die Veränderung der optischen Dichte, welche die zeitliche Komponente bereits berücksichtigt, in der exponentiellen Wachstumsphase integriert. Gleichung 4.9 folgend wurde die Stammfunktion von I^{**} gebildet, wobei zu deren Vereinfachung der Term $-\varepsilon \cdot L$ durch k substituiert wurde.

Da in die Berechnung der mittleren integralen Bestrahlungsstärke I^{**} mehrere fehlerbehaftete Größen (ε , OD, μ) einfließen, wurde für diese Variable eine Fehlerfortpflanzung nach Gleichung 4.10 durchgeführt. Der Fehler des Extinktionskoeffizienten wurde nach Gleichung 4.5 aus dem 95 %-Konfidenzintervall berechnet, der Fehler der optischen Dichte ergab sich aus der Standardabweichung der Dreifachmessung, während der Fehler der Wachstumsrate nach Kapitel 4.3.8 aus der linearen Regression ermittelt wurde.

$$\sigma_{I^{**}} = \sqrt{\left(\frac{\partial I^{**}}{\partial \varepsilon} \cdot \sigma_{\varepsilon}\right)^2 + \left(\frac{\partial I^{**}}{\partial \text{OD}} \cdot \sigma_{\text{OD}}\right)^2 + \left(\frac{\partial I^{**}}{\partial \mu} \cdot \sigma_{\mu}\right)^2}$$

$$\frac{\partial I^{**}}{\partial \varepsilon} = \left(\frac{j - j \cdot e^{-u}}{\text{OD}_e \cdot \varepsilon^2}\right) - \left(\frac{j - j \cdot e^{-i}}{\text{OD}_a \cdot \varepsilon^2}\right)$$

$$\frac{\partial I^{**}}{\partial \text{OD}} = \frac{j \cdot (1 - e^{-\varepsilon \cdot \text{OD} \cdot L})}{\varepsilon \cdot \text{OD}^2} \quad (4.10)$$

$$\frac{\partial I^{**}}{\partial \mu} = \frac{-j}{\varepsilon \cdot \mu} \cdot \left(\frac{u \cdot \text{Ei}(-u) + e^{-u} - 1}{\text{OD}_e} - \frac{i \cdot \text{Ei}(-i) + e^{-i} - 1}{\text{OD}_a}\right)$$

$$j = \frac{I_0}{\Delta t \cdot L \cdot \mu} \quad i = \varepsilon \cdot L \cdot \text{OD}_a \quad u = \varepsilon \cdot L \cdot \text{OD}_e$$

mit	$\sigma_{I^{**}}$	Fehler von I^{**}	$\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
	σ_{ε}	Fehler von ε nach Gleichung 4.5	cm^{-1}
	σ_{OD}	Fehler der optischen Dichte (Dreifachmessung)	-
	σ_{μ}	Fehler der Wachstumsrate nach Kapitel 4.3.8	d^{-1}

4.4.5 Bestimmung kinetischer Parameter für das Wachstum

Sowohl zur Beschreibung des lichtabhängigen Wachstums als auch bei Berücksichtigung der Temperatur als Einflussgröße, wurden die spezifischen Wachstumsraten als Funktion der jeweiligen Größen (I^{**} , T) dargestellt. Es wurde eine geeignete Modellgleichung ausgewählt, mit der die experimentellen Daten beschrieben werden konnten. Daraus erfolgte die Ermittlung der kinetisch relevanten Parameter. Zu diesem Zweck wurde die *nlinfit*-Funktion von Matlab genutzt, welche mit dem nichtlinearen Levenberg-Marquardt-Algorithmus (Methode der kleinsten Fehlerquadrate) arbeitet. Um die Fehler von I^{**}/T und μ berücksichtigen zu können, wurden die Fehlerquadratsummen mithilfe der Standardabweichungen der Wachstumsraten und mittleren integralen Bestrahlungsstärken bzw. der Temperaturen gewichtet. Zu diesem Zweck wurde der x-Fehler von I^{**}/T in einen y-Fehler entsprechend dem Fehler von μ transformiert. Dies wurde für jeden Datenpunkt einzeln über die Fehlerrechnung zu dem jeweiligen Modell durchgeführt, wobei der Start-Schätzwert der jeweiligen Parameter verwendet wurde. Der Start-Schätzwert ergab sich als sinnvolle Abschätzung jeweils aus den experimentellen Daten und war zunächst beliebig gewählt. Die beiden y-Fehler wurden schließlich über eine weitere Fehlerrechnung vereint und in der Form $\frac{1}{\sigma^2}$ als Gewichtung der Fehlerquadrate genutzt. Nach der ersten nichtlinearen Regression wurden die erhaltenen Parameter als neuer Eingangswert für die Fehlerrechnung zur Gewichtung genutzt. Dieser Vorgang wurde wiederholt, bis die Abweichung der Eingangswerte von den neu bestimmten Parametern kleiner war als 1 %. Die Standardabweichungen der Parameter wurden aus den 95 %-Konfidenzintervallen nach Gleichung 4.5 berechnet, welche mithilfe der *nlparci*-Funktion bestimmt wurden.

4.4.6 Bestimmung kinetischer Parameter für die Lipidbildung

Für die Beschreibung der lichtabhängigen Lipidbildungskinetik bietet sich die Verwendung der spezifischen Lipidbildungsrate als Prozessparameter an. Diese beschreibt, wie viel Gramm Lipid pro Gramm Biomasse und Tag gebildet wurde. Da die Gesamtbiomasse c_x jedoch zu einem nicht unerheblichen Teil aus Lipiden c_L besteht, soll die spezifische Lipidbildungsrate auf den lipidfreien Anteil der Biomasse c_{x-L} bezogen werden. In limitierten *N. salina* ist die Zunahme der Lipidkonzentration zunächst mit der Zeit konstant. Ebenso verhält es sich mit der zeitlichen Zunahme der Biotrockenmassekonzentration. Unter dieser Voraussetzung ergibt sich eine ebenfalls konstante Steigerung der lipidfreien Biomassekonzentration:

$$\frac{dc_L}{dt} = \text{const.} \quad \longrightarrow \quad \frac{dc_x}{dt} = \text{const.} \quad \xrightarrow{c_{x-L} = c_x - c_L} \quad \frac{dc_{x-L}}{dt} = \text{const.} \quad (4.11)$$

mit	c_L	Lipidkonzentration	$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
	c_x	Biotrockenmassekonzentration	$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
	c_{x-L}	lipidfreie Biotrockenmassekonzentration	$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
	t	Zeit	d

Dieser Zusammenhang ist jedoch nur gegeben, wenn die Steigung der Biotrockenmassekonzentration und der Lipidkonzentration nicht identisch ist. In diesem Fall entspräche die Lipidbildungsrate der zeitlichen Änderung der Lipidkonzentration. Für den Fall, dass eine zeitliche Änderung der lipidfreien Biomassekonzentration beobachtet werden kann, ergibt sich die Wachstumsrate μ' nach Gleichung 4.12. Nach Integration ist es möglich, für jeden Zeitpunkt t mit der Wachstumsrate μ' die lipidfreie Biotrockenmassekonzentration zu bestimmen. Diese wiederum wird benötigt, um mit der spezifischen Lipidbildungsrate q_L die zeitliche Änderung der Lipidkonzentration c_L ausdrücken zu können. Wird dieser Ausdruck integriert, ergibt sich nach zwei Substitutionen eine quadratische Gleichung, welche nach der Lipidkonzentration aufgelöst werden kann. Es existieren dabei zwei mögliche Lösungen wobei hier nur eine sinnvoll ist:

$$\begin{aligned} \frac{dc_{x-L}}{dt} = \mu' &= \frac{dc_x}{dt} - \frac{dc_L}{dt} \quad \longrightarrow \quad c_{x-L} = c_{x-L,0} + \mu' \cdot t \\ \frac{dc_L}{dt} = q_L \cdot c_{x-L} &\quad \longrightarrow \quad \int_{c_{L,0}}^{c_L} dc_L = q_L \cdot \int_0^t (c_{x-L,0} + \mu' \cdot t) dt \\ \Rightarrow c_L - c_{L,0} &= q_L \cdot \left(c_{x-L,0} \cdot t + \frac{1}{2} \cdot \mu' \cdot t^2 \right) \\ \Rightarrow c_L - c_{L,0} &= \frac{c_{x-L}^2 - c_{x-L,0}^2}{2 \cdot \mu'} \cdot q_L \quad \text{mit} \quad t = \frac{c_{x-L} - c_{x-L,0}}{\mu'} \\ \Rightarrow c_L - c_{L,0} &= \frac{(c_x - c_L)^2 - (c_{x,0} - c_{L,0})^2}{2 \cdot \mu'} \cdot q_L \quad \text{mit} \quad c_{x-L} = c_x - c_L \\ c_L &= c_x + \frac{\mu'}{q_L} - \sqrt{2 \cdot \frac{\mu'}{q_L} \cdot (c_x - c_{L,0}) + (c_{x,0} - c_{L,0})^2 + \frac{\mu'^2}{q_L^2}} \end{aligned} \tag{4.12}$$

mit μ'	Wachstumsrate der lipidfreien Biomasse	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$
$c_{x-L,0}$	lipidfreie Biotrockenmassekonzentration zu Beginn	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
q_L	spezifische Lipidbildungsrate	$\text{g}_{\text{Lipid}} \cdot \text{g}_{\text{lipidfreie Biomasse}}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$
$c_{L/x,0}$	Lipid-/Biotrockenmassekonzentration zu Beginn	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

Die spezifische Lipidbildungsrate wurde in dieser Arbeit für die lineare Produktbildungsphase bestimmt. Zu diesem Zweck wurde zunächst die Steigung der lipidfreien Biotrockenmassekonzentration ermittelt. Weiterhin wurde die Gleichung für die Lipidkonzentration (Gleichung 4.12) genutzt, um die experimentellen Daten der Lipidkonzentration anzunähern und den unbekannt Parameter q_L abzuschätzen. Der zufällige Fehler der Lipidbildungsrate wurde bei dieser Vorgehensweise mit der Schätzmethode *Jackknife* abgeschätzt.

4.4.7 Simulation des Wachstums von Mikroalgen mit Tagesganglinien

Die Nutzbarkeit der Wachstumskinetik unter Dauerbestrahlung bei dynamischen Änderungen von Licht und Temperatur wurde anhand der Simulation der Wachstumskurve bei dynamischen Bedingungen überprüft. Zu diesem Zweck wurde der *ode45*-Solver in Matlab verwendet, welcher die verfügbaren Differentialgleichungen in einem vorgegebenen Zeitintervall integriert. Basierend auf der Anfangs-Zelldichte wurde mit der zu diesem Zeitpunkt vorherrschenden Eingangs-Bestrahlungsstärke nach Gleichung 4.6 zunächst die korrelierende mittlere integrale Bestrahlungsstärke abgeschätzt. Der verwendete spezifische Extinktionskoeffizient entsprach dabei dem Mittelwert aller im Labormaßstab ermittelten Extinktionskoeffizienten von *N. salina* unter konstanten Bedingungen von $0,93 \text{ L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. Die geschätzte mittlere integrale Bestrahlungsstärke ergab mit Gleichung 5.2 und den lichtabhängigen kinetischen Parametern, unter Dauerbestrahlung von *N. salina* (Tabelle 5.2), die zugehörige spezifische Wachstumsrate bei dieser Bestrahlungsstärke. Mit der Biotrockenmassekonzentration sowie der spezifischen Wachstumsrate konnte mithilfe des *ode45*-Solvers die Lösung der Differentialgleichung für das Wachstum iterativ nach Gleichung 3.16 angenähert werden.

Für die Simulation des gekoppelten Einflusses von Licht und Temperatur auf das Wachstum wurde analog verfahren, wobei zusätzlich die Änderung der Temperatur berücksichtigt wurde. In diesem Fall wurde das temperaturabhängige Wachstumsmodell nach Gleichung 3.30 genutzt und mit dem lichtabhängigen Wachstumsmodell gekoppelt.

5 Reaktionstechnische Charakterisierung von *Nannochloropsis salina* in Flachplatten-Photobioreaktoren¹

Die folgenden Abschnitte beschäftigen sich mit dem Einfluss der essentiellen Substrate Stickstoff und Phosphor auf das Wachstum der salinen Mikroalge *Nannochloropsis salina*. Es werden die Lichtabhängigkeit der Wachstums- und Lipidbildungskinetik betrachtet und basierend darauf ein Bestrahlungsprofil zur Steigerung der Biomasse- und Lipidproduktivität entwickelt. Abschließend wird die Temperaturabhängigkeit des Wachstums untersucht.

5.1 Einfluss des Nährstoffangebotes auf das Wachstum

Mikroalgen benötigen für den Aufbau ihrer Zellsubstanz und für metabolische Vorgänge eine Vielzahl an Nährstoffen. Vor allem den Elementen Stickstoff und Phosphor wird bei Mikroalgenprozessen zur Lipidproduktion eine große Bedeutung zugesprochen: Ein Mangel dieser beiden Nährstoffe führt zu einer vermehrten Einlagerung von Speicherlipiden als Schutz vor oxidativem Stress und zur Energiekonservierung. Um diese Akkumulation gezielt induzieren zu können, ist es von zentralem Interesse, den Bedarf der Mikroalge *Nannochloropsis salina* in Form von Biomasse-Ausbeutekoeffizienten und Aufnahmezeiten zu ermitteln. Weiterhin ist es möglich, das Wachstum durch ein geeignetes N:P-Verhältnis positiv zu beeinflussen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde *N. salina* Stickstoff in Form von Kaliumnitrat zugeführt. Standardmäßig beträgt die Konzentration $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ($\hat{=}$ $0,14 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Stickstoff, N:P - 9:1) im verwendeten ASW-Medium (Tabelle 4.1). Unter der Annahme, dass Algen zu 4-8 % aus Stickstoff bestehen (Abschnitt 3.2.4), könnten somit in einem Satzprozess theoretisch maximal $1,75\text{-}3,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Biomasse gebildet werden. Um höhere Biomassekonzentrationen erreichen zu können, wurde zunächst der Einfluss einer erhöhten Kaliumnitrat-Konzentration von bis zu $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (N:P - 44:1) auf das Wachstum von *N. salina* in Blasensäulenreaktoren untersucht. Zu diesem Zweck wurden parallele Satzprozesse mit Kaliumnitrat-Anfangskonzentrationen von $1\text{-}5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ in $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ -Schritten bei einer mittleren Eingangs-Bestrahlungsstärke von $83 \pm 17 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ durchgeführt. In Abbildung 5.1 ist der zeitliche Verlauf der Biotrockenmassekonzentration exemplarisch für 1 und $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ KNO_3 dargestellt. Es wird deutlich, dass die Anfangskonzentration des Nitrats weder einen Einfluss auf die Wachstumsrate noch auf den Wachstumsverlauf hatte. In beiden Fällen wurde in der exponentiellen Wachstumsphase (hellgrau hinterlegt) eine Wachstumsrate von $0,020 \text{ h}^{-1}$ erreicht und die Biotrockenmassekonzentration

¹Teile der Ergebnisse wurden bereits publiziert in:

Pfaffinger CE, Schöne D, Trunz S, Löwe H, Weuster-Botz D (2016): Model-based optimization of microalgae areal productivity in flat-plate gas-lift photobioreactors. *Algal Research* 20: 153–163; DOI: 10.1016/j.algal.2016.10.002

zentration am Ende des Prozesses betrug in beiden Fällen etwa $2,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Die Satzprozesse bei den übrigen Kaliumnitrat-Konzentrationen (2, 3, 4 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) führten zu nahezu identischen Ergebnissen.

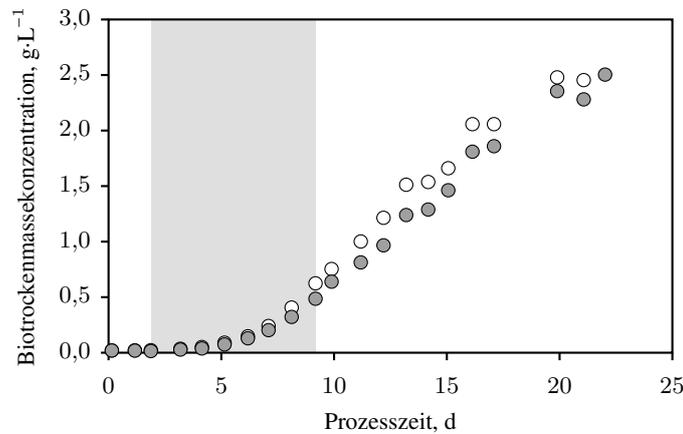


Abbildung 5.1: Darstellung der Biotrockenmassekonzentration von *Nannochloropsis salina* bei Satzprozessen in Blasensäulenreaktoren ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $I_0 = 83 \pm 17 \text{ } \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) als Funktion der Prozesszeit sowie der Nitrat-Anfangskonzentration von $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (○) beziehungsweise $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (●). Das initiale N:P-Verhältnis entspricht dabei etwa 9:1 beziehungsweise 44:1. Die exponentielle Wachstumsphase ist hellgrau hinterlegt und war unabhängig von der Start-Nitratkonzentration.

Für die Analyse der Nitrataufnahme durch *Nannochloropsis salina* wurden Satzprozesse in Blasensäulenreaktoren (BSR) ($I_0 = 83 \pm 17 \text{ } \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) mit Anfangskonzentrationen von $0,2, 0,8 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ in $0,2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ -Schritten sowie ein Satzprozess im Flachplatten-Photobioreaktor (PBR) mit einer Anfangskonzentration von $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ($\sim 3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Nitrat) und einer konstanten Eingangs-Bestrahlungsstärke von $220 \text{ } \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ durchgeführt. In Abbildung 5.2 ist exemplarisch der Prozess im Flachplatten-Photobioreaktor dargestellt.

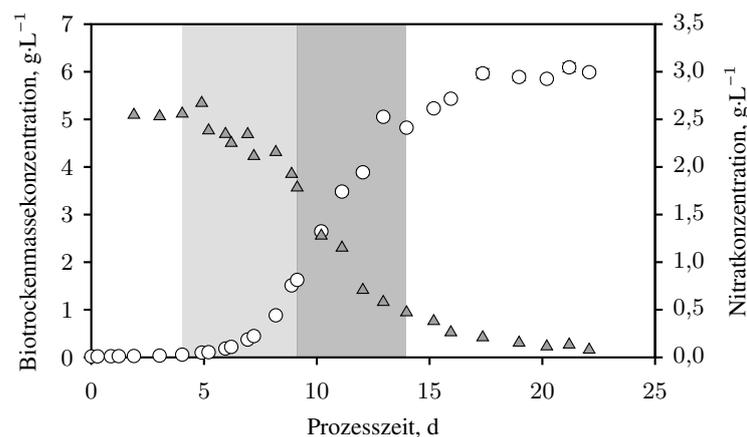


Abbildung 5.2: Zeitliche Veränderung der Biotrockenmassekonzentration (○) von *Nannochloropsis salina* sowie der Nitratkonzentration (▲) eines Satzprozesses im Flachplatten-Photobioreaktor ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $I_0 = 220 \text{ } \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Die Nitrat-Anfangskonzentration betrug etwa $2,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Die exponentielle Wachstumsphase ist hellgrau, die lineare Wachstumsphase dunkelgrau hinterlegt.

Zu Beginn des Satzprozesses im Flachplatten-Photobioreaktor war die Nitratkonzentration konstant, da aufgrund der Adaptionsphase kein Wachstum stattfand und somit kein Stickstoff verbraucht wurde. Mit Beginn des exponentiellen Wachstums ($\mu = 0,0281 \pm 0,0004 \text{ h}^{-1}$, hellgrau hinterlegter Bereich) nahm komplementär

zur Biomassebildung die Nitratkonzentration ab. Trotz ausreichenden Nährstoffangebotes schloss eine lineare Wachstumsphase an (dunkelgrau hinterlegt), welche eine Limitierung vermuten lässt. Die nahezu vollständige Aufnahme des Nitrats aus dem umgebenden Medium führte zum Eintritt der Mikroalgen in die stationäre Phase nach 17 Tagen, wobei etwa $6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Biomasse gebildet wurden. Unabhängig von der Anfangskonzentration des Nitrats sowie der Eingangs-Bestrahlungsstärke zeigte sich bei den übrigen Satzprozessen in Blasensäulenreaktoren und Flachplatten-Photobioreaktoren ein ähnlicher Zusammenhang zwischen der vollständigen Nitrataufnahme und dem Erreichen der stationären Wachstumsphase (Ergebnisse nicht dargestellt). Mit den zeitlichen Verläufen der Biomasse- und Nitratkonzentrationen in den verschiedenen Reaktorsystemen war es schließlich möglich, die Biomasseausbeute Y_{x/NO_3} in Bezug auf diesen Nährstoff zu bestimmen. Im Mittel konnten in Blasensäulenreaktoren mit 1 g Nitrat $2,04 \pm 0,03 \text{ g}$ Biotrockenmasse gebildet werden, im Flachplatten-Photobioreaktor ergab sich ein Koeffizient von $2,02 \pm 0,02 \text{ g}_{\text{Biomasse}} \cdot \text{g}_{\text{NO}_3}^{-1}$. Die spezifischen Nitrat-Aufnahmeraten q_{NO_3} ergaben sich gemittelt zu $0,1928 \pm 0,0013 \text{ g}_{\text{NO}_3} \cdot \text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (BSR) beziehungsweise zu $0,33 \pm 0,03 \text{ g}_{\text{NO}_3} \cdot \text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (PBR, Tabelle 5.1).

Zusätzlich zu dem spezifischen Stickstoffbedarf von *N. salina* wurde in Blasensäulenreaktoren der Verbrauch von Phosphor untersucht. Im Rahmen dieser Arbeit wurde den Mikroalgen Phosphor in Form von $70 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Kaliumdihydrogenphosphat ($\sim 49 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Phosphat oder $16 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Phosphor) zugeführt. Unter der Annahme, dass Mikroalgen zu etwa 1% aus Phosphor bestehen (Greenwell *et al.*, 2010), könnten mit dieser Phosphatkonzentration theoretisch maximal $1,6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Biomasse gebildet werden. Um den Effekt eines Phosphatmangels auf das Wachstum in Blasensäulenreaktoren beobachten zu können, wurde die Phosphatkonzentration zu Beginn des Satzprozesses auf etwa $16 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ gedrittelt. Die Untersuchung erfolgte im Dreifachansatz bei $I_0 = 83 \pm 17 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. In Abbildung 5.3 ist der zeitliche Verlauf der Biotrockenmassekonzentration sowie der Phosphatkonzentration als Mittelwert der drei Satzprozesse dargestellt. Bereits zu Beginn des Satzprozesses war eine deutliche Abnahme des Phosphates mit gleichzeitigem exponentiellem Wachstum ($\mu = 0,0203 \pm 0,0003 \text{ h}^{-1}$, hellgrau hinterlegt) der Mikroalgen zu verzeichnen. Als das Phosphat aus dem Medium komplett aufgenommen war, stagnierte das Wachstum von *N. salina* in allen drei Ansätzen für etwa einen Tag. Anschließendes lineares Wachstum führte zu einer Verdopplung der Biomasse auf $0,97 \pm 0,04 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Die Fähigkeit von Mikroalgen, Phosphat vermehrt aufzunehmen (*Luxury Uptakes*) und nicht direkt zu verstoffwechseln, sondern in Form von Polyphosphat-Einschlusskörperchen zu speichern (Grobbelaar, 2013), könnte die lineare Wachstumsphase trotz völliger Phosphat-Abwesenheit im Medium erklären. Möglicherweise rührt die kurze Stagnation der Biomassezunahme zwischen exponentieller und linearer Wachstumsphase von Anpassungsmechanismen der Mikroalgen, welche die Nutzung der gespeicherten Polyphosphate ermöglichen, her.

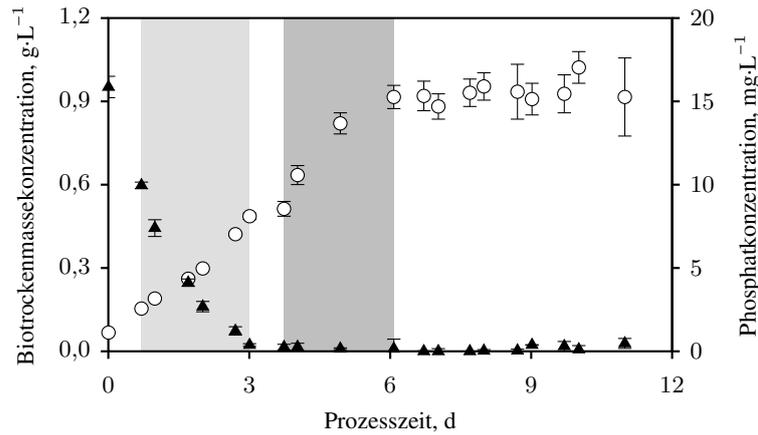


Abbildung 5.3: Zeitliche Veränderung der Biotrockenmassekonzentration (O) von *Nannochloropsis salina* sowie der Phosphatkonzentration (▲) bei Satzprozessen in Blasensäulenreaktoren ($T = 25\text{ °C}$, $I_0 = 83 \pm 17\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, $n = 3$). Die Start-Phosphatkonzentration betrug $16\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Die exponentielle Wachstumsphase ist hellgrau, die lineare Wachstumsphase dunkelgrau hinterlegt.

Die Aufnahme­rate des Phosphates q_{PO_4} in der exponentiellen Wachstumsphase von *N. salina* konnte zu $10,6 \pm 0,7\ \text{mg}_{\text{PO}_4} \cdot \text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ermittelt werden. Die Biomasse-Ausbeute in Bezug auf Phosphat Y_{x/PO_4} ergab sich am Ende des linearen Wachstums zu $55,0 \pm 7,3\ \text{g}_{\text{Biomasse}} \cdot \text{g}_{\text{PO}_4}^{-1}$ (Tabelle 5.1).

Tabelle 5.1: Zusammenfassung der Biomasse-Ausbeutekoeffizienten $Y_{x/\text{NO}_3/\text{PO}_4}$ in Bezug auf die essen­tiellen Nährstoffe Nitrat NO_3 und Phosphat PO_4 sowie der spezifischen Nitrat- und Phosphat-Aufnahmeraten $q_{\text{NO}_3/\text{PO}_4}$ von *Nannochloropsis salina* unter unlimitierten Bedingungen in Blasensäulenreaktoren (BSR) und Flachplatten-Photobioreaktoren (PBR).

Y_{x/NO_3}	Biomasse-Ausbeute in Bezug auf NO_3	BSR	$2,04 \pm 0,03$	$\text{g}_{\text{Biomasse}} \cdot \text{g}_{\text{NO}_3}^{-1}$
		PBR	$2,02 \pm 0,02$	$\text{g}_{\text{Biomasse}} \cdot \text{g}_{\text{NO}_3}^{-1}$
Y_{x/PO_4}	Biomasse-Ausbeute in Bezug auf PO_4	BSR	$55,0 \pm 7,3$	$\text{g}_{\text{Biomasse}} \cdot \text{g}_{\text{PO}_4}^{-1}$
q_{NO_3}	spezifische Nitrat-Aufnahmerate	BSR	$0,1928 \pm 0,013$	$\text{g}_{\text{NO}_3} \cdot \text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$
		PBR	$0,33 \pm 0,03$	$\text{g}_{\text{NO}_3} \cdot \text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$
q_{PO_4}	spezifische Phosphat-Aufnahmerate	BSR	$10,6 \pm 0,7$	$\text{mg}_{\text{PO}_4} \cdot \text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$

Diskussion

Die Untersuchung der Aufnahme des essentiellen Nährstoffes Nitrat durch *Nannochloropsis salina* zeigte, dass die spezifische Nitrat-Aufnahmerate zwar unabhängig von der Nitrat-Anfangskonzentration war, jedoch maßgeblich vom verwendeten Photobioreaktor beeinflusst wurde. Dies war zu erwarten, da die Aufnahmerate nach Gleichung 3.12 direkt proportional zur Wachstumsrate ist. Aufgrund der gesteigerten Lichtverfügbarkeit können in Flachplatten-Photobioreaktoren deutlich höhere Wachstumsraten ($0,028 \text{ h}^{-1}$ im Vergleich zu $0,020 \text{ h}^{-1}$) und demnach auch höhere spezifische Nitrat-Aufnahmeraten erreicht werden als in Blasensäulenreaktoren. Im Gegensatz dazu waren die Biomasse-Ausbeutekoeffizienten, bezogen auf Nitrat, nicht nur unabhängig von der Kaliumnitrat-Anfangskonzentration bis $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, sondern ebenfalls vom Photobioreaktor. Die nahezu identischen Ausbeutekoeffizienten von etwa $2 \text{ g}_{\text{Biomasse}}\cdot\text{g}_{\text{NO}_3}^{-1}$ führen bei Verwendung von $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Kaliumnitrat ($\sim 3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Nitrat) theoretisch zu einer maximal erreichbaren Biotrockenmassekonzentration von $6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Diese Konzentration konnte im Flachplatten-Photobioreaktor nach 17 Tagen erreicht werden, wobei exponentielles Wachstum nur neun Tage möglich war. Das darauf folgende lineare Wachstum ab einer Zelldichte von $1,6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ist charakteristisch für eine Limitierung der Algen. Diese kann entweder durch Nährstoffmangel oder unzureichende Lichtversorgung hervorgerufen werden. Die Ermittlung des Biomasse-Ausbeutekoeffizienten in Bezug auf Phosphat ($55,0 \text{ g}_{\text{Biomasse}}\cdot\text{g}_{\text{PO}_4}^{-1}$) zeigte jedoch, dass mit $70 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Kaliumdihydrogenphosphat ($\hat{=}$ $49 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Phosphat) etwa $2,7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Biomasse gebildet werden könnte. Nachdem auch die übrigen Nährstoffe in ausreichender Menge vorhanden waren, scheint eine Lichtlimitierung das lineare Wachstum von *N. salina* ab $1,6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ zu initiieren. Nach Erhöhung der Kaliumnitratkonzentration von 1 auf $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ stellt ab Biotrockenmassekonzentrationen von $2,7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Phosphat die limitierende Komponente dar. Auf eine Erhöhung der Phosphatkonzentration im Satzmedium wurde dennoch verzichtet, da laut Jansson (1988) die Effizienz der Phosphatnutzung bei niedrigen Konzentrationen deutlich höher ist. Zudem konnte auch die von Mayers *et al.* (2014) diskutierte wachstumsfördernde Wirkung eines N:P-Verhältnisses zwischen 16:1 und 32:1 in dieser Arbeit nicht bestätigt werden, sodass keine Notwendigkeit der Anpassung der Phosphatkonzentration gegeben war. Stattdessen wurde jedes Probenvolumen mit ASW-Medium ausgeglichen und die Nitrat- sowie Phosphatkonzentration mit einem quantitativen Schnelltest abgeschätzt, um Nährstoffmangel zu vermeiden.

5.2 Untersuchung des Absorptionsverhaltens von *Nannochloropsis salina*

Von allen das Mikroalgenwachstum beeinflussenden Größen stellt Licht den wohl wichtigsten Parameter dar. Mikroalgen absorbieren Licht, um dessen Energie für die Photosynthese nutzen zu können, was je nach Zelldichte zu einer mehr oder weniger ausgeprägten Abschwächung des Photonенflusses über die Schichtdicke des Reaktionssystems führt. In Abhängigkeit der Schichtdicke können somit lichtlimitierte Bereiche im Reaktor das Wachstum der Algen mindern. Somit stellt das Lichtabsorptionsverhalten von *Nannochloropsis salina* einen zentralen Aspekt bei der Charakterisierung dieser Mikroalge dar.

Für die Untersuchung des Absorptionsverhaltens wurden Mikroalgen in der exponentiellen Wachstumsphase einem Flachplatten-Photobioreaktor entnommen und mit ASW-Medium auf fünf verschiedene Zelldichten verdünnt: $0,25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, $0,51 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, $0,88 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, $1,77 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ und $2,96 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Diese Suspensionen wurden in dem in Abbildung 4.11 gezeigten Aufbau, hinsichtlich ihres Absorptionsverhaltens bei drei verschiedenen Eingangs-Bestrahlungsstärken (50 , 100 und $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), bis zu einer Schichtdicke der Algensuspension von 3 cm (in $0,25 \text{ cm}$ Schritten) untersucht. Abbildung 5.4 **a** zeigt die relative Photonенflussdichte nach Durchgang durch die Suspension exemplarisch für eine Eingangs-Bestrahlungsstärke I_0 von $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

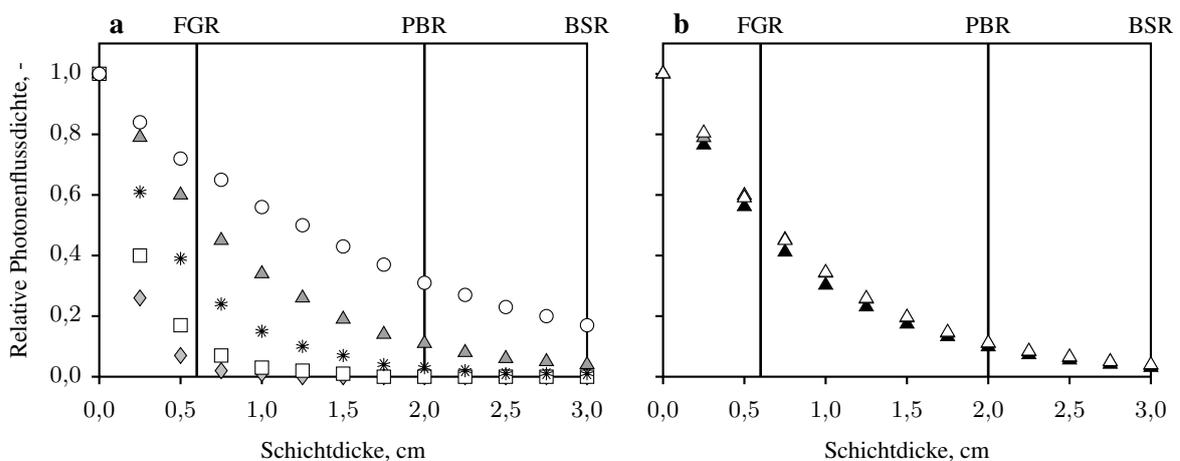


Abbildung 5.4: Darstellung der relativen Photonенflussdichte in Abhängigkeit der Schichtdicke nach Durchgang durch Suspensionen von *Nannochloropsis salina* unterschiedlicher Konzentration (**a**) bei einer Eingangs-Bestrahlungsstärke von $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$: $0,25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (○), $0,51 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (△), $0,88 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (*), $1,77 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (□), $2,96 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (◇). Verschiedene Eingangs-Bestrahlungsstärken von 50 (▲), 100 (△) und 200 (△) $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ nahmen bei einer Biotrockenmassekonzentration von $0,51 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ keinen Einfluss auf die relative Photonенflussdichte als Funktion der Schichtdicke (**b**). Die Flachgerinnereaktoren (FGR) wiesen eine Schichtdicke von $0,6 \text{ cm}$ und die Flachbett-Photobioreaktoren (PBR) von 2 cm auf, während der Radius eines Blasensäulenreaktors (BSR) 3 cm betrug.

Es wird deutlich, dass mit zunehmender Schichtdicke immer weniger Licht durch die Algensuspension transmittiert wurde. Dieser Effekt wurde verstärkt, je höher die vorliegende Biotrockenmassekonzentration war. In Abbildung 5.4 **a** sind zusätzlich die Schichtdicken der drei verwendeten Reaktionssysteme Flachgerinnereaktor (FGR, $0,6 \text{ cm}$), Flachplatten-Photobioreaktor (PBR, 2 cm) und Blasensäulenreaktor (BSR, Radius

3 cm) eingezeichnet. In Flachgerinnereaktoren würden demnach Zelldichten $> 3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ zu einer nahezu vollständigen Absorption der verfügbaren Photonen führen, während im Flachplatten-Photobioreaktor bereits bei Konzentrationen $\geq 0,9 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ nahezu keine Transmission mehr messbar wäre. In Blasensäulenreaktoren sollte die Biomassekonzentration sogar $0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ nicht überschreiten, um die Mikroalgen auch im Reaktorinneren mit Licht versorgen zu können. Die vorherrschende Eingangs-Bestrahlungsstärke hat, wie in Abbildung 5.4 b gezeigt, keinen Einfluss auf das Absorptionsverhalten: Die Lichtabschwächung in Abhängigkeit der Schichtdicke war für eine Zelldichte von $0,51 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ bei allen drei I_0 identisch. Selbiges konnte auch für alle übrigen Biomassekonzentrationen beobachtet werden (Ergebnisse nicht dargestellt).

Um die Lichtabschwächung mathematisch beschreiben zu können, wurden gängige Modelle wie das (modifizierte) Lambert-Beer'sche Gesetz und der Ansatz nach Reynolds-Pacala genutzt. Gleichzeitig war es somit möglich, den spezifischen Extinktionskoeffizienten ε mit den drei Modellen (Gleichungen 3.20-3.22) zu identifizieren. In Abbildung 5.5 ist die Beschreibung der experimentell ermittelten Lichtabschwächung mit den drei Modellen exemplarisch für drei Biomassekonzentrationen ($0,25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, $0,88 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ und $2,96 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) gezeigt.

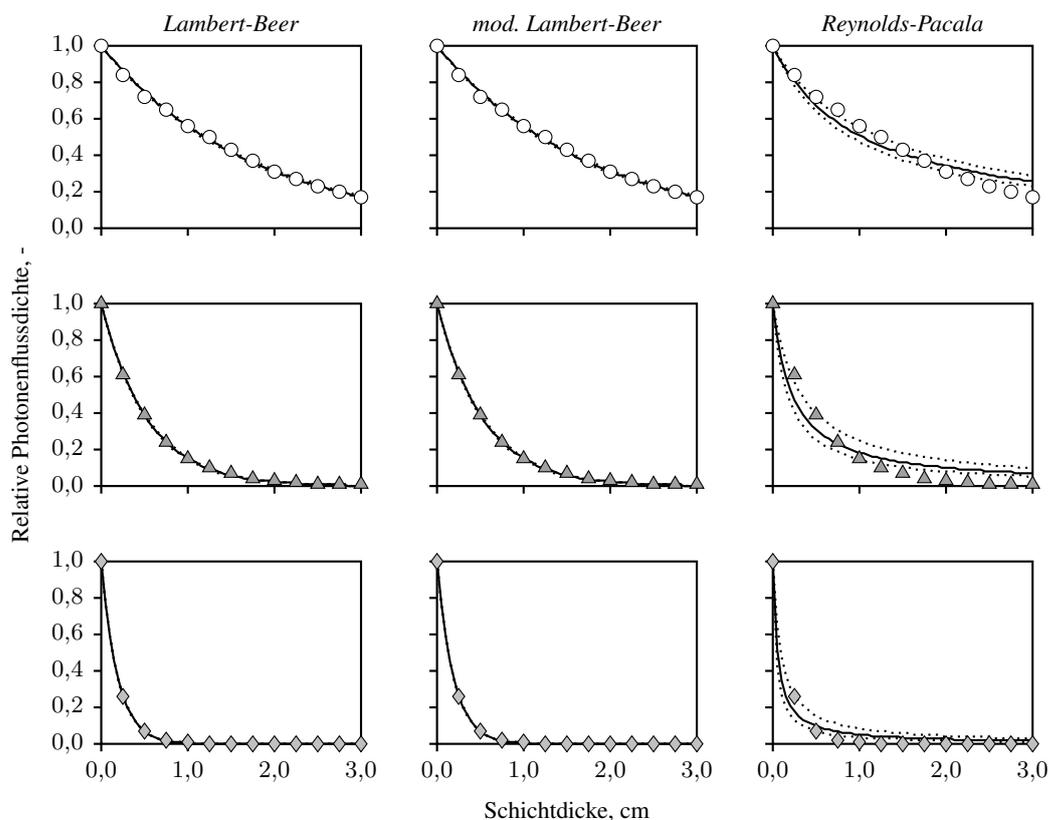


Abbildung 5.5: Exemplarische Darstellung der Modelle zur Beschreibung der experimentell ermittelten Lichtabschwächung (Abbildung 5.4) nach *Lambert-Beer*, dem *modifizierten Lambert-Beer* und *Reynolds-Pacala* für drei ausgewählte Konzentrationen von *N. salina*: $0,25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (○), $0,88 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (△) und $2,96 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (◇). Die relative Photonenflussdichte als Funktion der Schichtdicke lieferte mit den Gleichungen 3.20-3.22 für jedes der drei Modelle und jede Konzentration ein spezifisches ε . Mit diesem ε wurde für jedes Modell und jede Konzentration die Modellfunktion (—) mit dem jeweiligen 95 %-Konfidenzintervall (·····) bestimmt.

Aus Abbildung 5.5 geht hervor, dass sowohl das Lambert-Beer'sche Gesetz als auch dessen Modifikation nach Gleichung 3.21 die experimentellen Daten der Lichtabschwächung sehr gut widerspiegeln. Das Lichtabschwächungs-Modell nach Reynolds-Pacala (Gleichung 3.22) hingegen konnte die Lichtabschwächung weniger gut wiedergeben. Für eine Auswahl des am besten geeigneten Modells wurden daher zusätzlich die spezifischen Extinktionskoeffizienten als Funktion der Biotrockenmassekonzentration in Abbildung 5.6 dargestellt. Der Extinktionskoeffizient einer Mikroalge wird maßgeblich von der Packungsdichte der absorbierenden Pigmente, vor allem Chlorophyll a, beeinflusst (Abschnitt 3.2.2). Da die verschiedenen Biotrockenmassekonzentrationen durch Verdünnung einer Mikroalgensuspension erhalten wurden, muss der Extinktionskoeffizient unabhängig von der vorherrschenden Zelldichte sein. Wie Abbildung 5.6 zeigt, ist diese Gesetzmäßigkeit lediglich für das Lambert-Beer'sche Gesetz gegeben. Aus diesem Grund wurde dieses Modell gewählt, um die Lichtabschwächung durch *Nannochloropsis salina* in Photobioreaktoren beschreiben zu können.

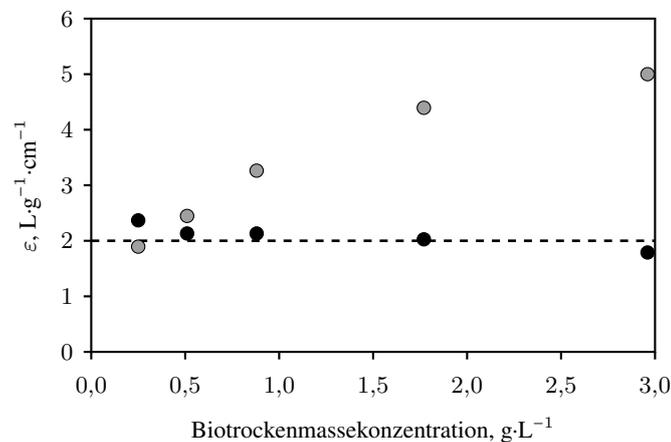


Abbildung 5.6: Darstellung des spezifischen Extinktionskoeffizienten ε in Abhängigkeit der Biotrockenmassekonzentration und des zur Bestimmung verwendeten Lichtabschwächungs-Modells: ε wurde für alle fünf Biotrockenmassekonzentrationen (Abbildung 5.4 a) mit dem Lambert-Beer'schen (●) und dem modifizierten Lambert-Beer'schen Gesetz (○) identifiziert. Die Standardabweichungen ergeben sich aus den 95 %-Konfidenzintervallen. Mit dem Lambert-Beer'schen Gesetz konnten nahezu konstante ε um $2 \text{ L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ (---) bei verschiedenen Biotrockenmassekonzentrationen identifiziert werden.

In einem realen Bioprozess mit *Nannochloropsis salina* ist die Konstanz des physiologischen Zustandes nicht mehr gegeben. Durch stetige Vermehrung der Mikroalgen nimmt die Absorption des Lichts durch zunehmende gegenseitige Beschattung der Zellen zu. Dies führt im Umkehrschluss zu einer vermehrten Bildung der Antennenpigmente – hauptsächlich Chlorophyll a – pro Zelle. Somit ist die Annahme eines konstanten Extinktionskoeffizienten mit steigender Zelldichte unter Realbedingungen möglicherweise nicht mehr gegeben. Daher wurde ein Satzverfahren mit *N. salina* im Flachplatten-Photobioreaktor bei einer Eingangs-Bestrahlungsstärke von $1108 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ unter unlimitierten Bedingungen durchgeführt. In Abbildung 5.7 a ist sowohl die Biotrockenmassekonzentration als auch die Transmission durch den Reaktor als Funktion der Zeit dargestellt.

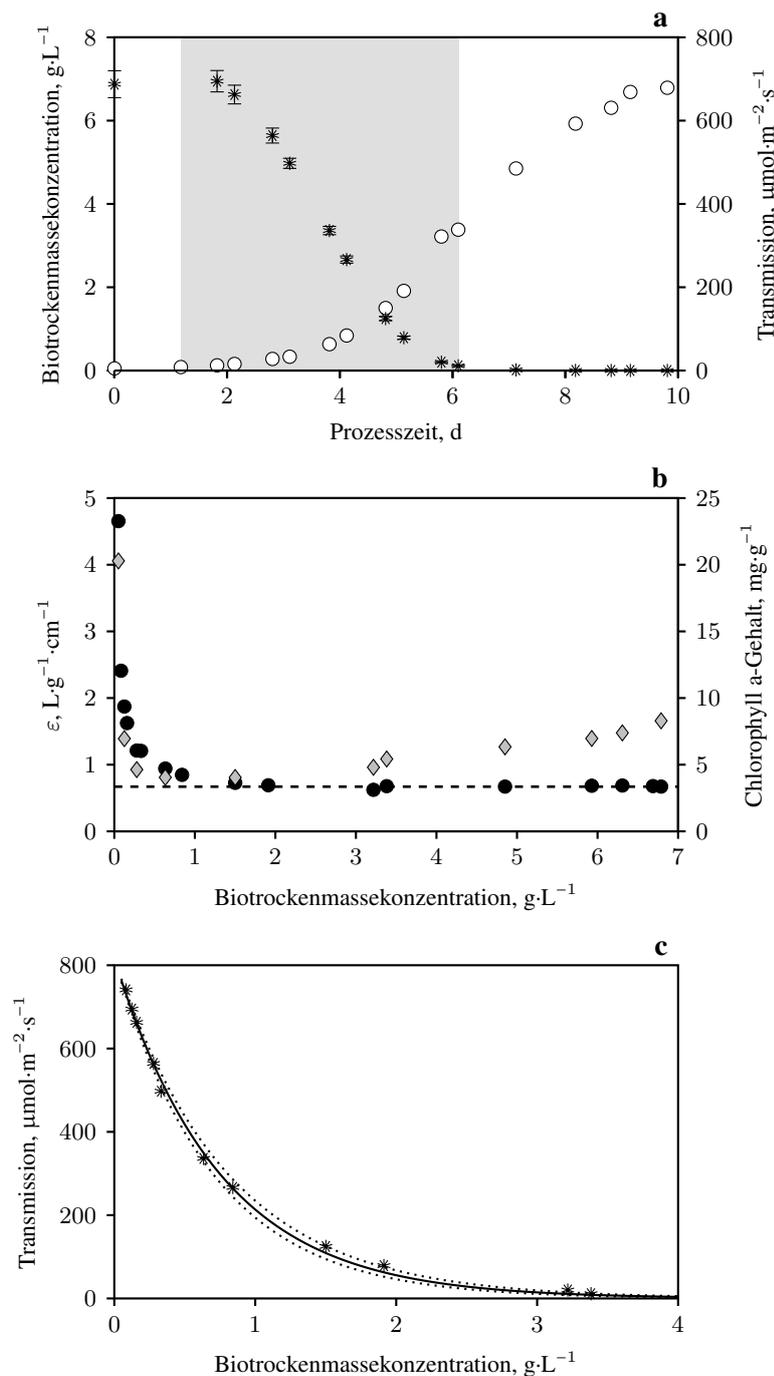


Abbildung 5.7: Darstellung der Biotrockenmassekonzentration (○) sowie der Transmission durch den Photobioreaktor (*) als Funktion der Prozesszeit eines unlimitierten Satzprozesses mit *Nannochloropsis salina* im Flachplatten-Photobioreaktor ($T = 25$ °C) bei einer Eingangsbestrahlungsstärke von $1108 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (a). Die exponentielle Wachstumsphase ist hellgrau hinterlegt. Mit dem Lambert-Beer'schen Gesetz wurde für jeden Messpunkt der spezifische Extinktionskoeffizient ϵ (●) und nach Gleichung 4.4 der spezifische Chlorophyll a-Gehalt (◇) in Abhängigkeit der Biotrockenmassekonzentration bestimmt. Ab einer Biotrockenmassekonzentration von etwa $1,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ blieb der Extinktionskoeffizient nahezu konstant bei etwa $0,67 \text{ L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ (---) (b). Nachdem der Extinktionskoeffizient aufgrund des *Sieffektes* des Chlorophylls in der exponentiellen Phase zu Beginn nicht konstant war, wurde dieser durch Minimierung der Fehlerquadratsumme mit dem Lambert-Beer'schen Gesetz (—) mit dem 95 %-Konfidenzintervall (·····) für diese Phase zu $0,67 \pm 0,02 \text{ L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ identifiziert (c).

Mit einsetzender exponentieller Wachstumsphase ($\mu = 0,0331 \pm 0,0006$, hellgrau hinterlegt) wurde die auf die lichtzugewandte Seite des Reaktors auftreffende Strahlung komplementär zur steigenden Biotrocken-

massekonzentration nach dem charakteristischen Verlauf der Lichtabschwächung durch *N. salina* gemindert. Sobald keine Transmission mehr auf der lichtabgewandten Seite des Reaktors messbar war (Tag 6), wurde das Ende des exponentiellen Wachstums erreicht. Aus den gezeigten experimentellen Daten konnte nach Gleichung 3.20 für jeden Messpunkt ein spezifischer Extinktionskoeffizient bestimmt und als Funktion der Biotrockenmassekonzentration in Abbildung 5.7 **b** dargestellt werden. Wie bereits angenommen, änderte sich der Extinktionskoeffizient mit der Biotrockenmassekonzentration: Bis zu einer Zelldichte von etwa $1,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ nahm ε von $4,7 \text{ L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ auf etwa $0,67 \text{ L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ab und blieb im weiteren Verlauf konstant. Da die Chlorophyll a-Dichte pro Zelle den größten Einfluss auf den Extinktionskoeffizienten nahm, soll der Gehalt dieses Pigments bestimmt und ebenfalls in Abbildung 5.7 **b** über der Biotrockenmassekonzentration aufgetragen werden. Ebenso wie auch der Extinktionskoeffizient nahm der Chlorophyll a-Gehalt zunächst mit steigender Zelldichte von $20 \text{ mg}_{\text{Chlorophyll}}\cdot\text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1}$ auf etwa $4 \text{ mg}_{\text{Chlorophyll}}\cdot\text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1}$ ab und blieb anschließend zunächst konstant. Ab einer Zelldichte von $> 1,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ stieg der Chlorophyll a-Gehalt jedoch im Gegensatz zum Extinktionskoeffizienten wieder an. Die These, dass ε abhängig von der Packungsdichte des Chlorophyll a pro Zelle ist, konnte somit zumindest bis zu einer Biotrockenmassekonzentration von mindestens $1,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ bestätigt werden. Weiterhin sollte untersucht werden, ob die Identifizierung des Extinktionskoeffizienten mit dem Lambert-Beer'schen Gesetz in der exponentiellen Wachstumsphase zu einem, mit dem konstanten ε von etwa $0,67 \text{ L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ab einer Zelldichte von $1,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, vergleichbaren Wert führt. Zu diesem Zweck wurde die Transmission über der zugehörigen Biotrockenmassekonzentration während der exponentiellen Wachstumsphase aufgetragen und die experimentellen Daten mit dem Lambert-Beer'schen Gesetz beschrieben (Abbildung 5.7 **c**). Das Modell ist in der Lage, die experimentellen Daten sehr gut widerzuspiegeln, was durch die sehr schmalen 95 %-Konfidenzbänder bestätigt wird. Es wurde ein spezifischer Extinktionskoeffizient von $0,67 \pm 0,02 \text{ L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ identifiziert, welcher mit dem konstanten ε ab einer Zelldichte von $1,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (Abbildung 5.7 **b**) übereinstimmt. Die beschriebenen Gesetzmäßigkeiten konnten für mehrere Eingangs-Bestrahlungsstärken zwischen 100 und $1500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ bestätigt werden (Ergebnisse nicht dargestellt). In allen Fällen eignete sich das Gesetz nach Lambert-Beer am besten, um die experimentellen Daten zu beschreiben und sollte somit bei allen weiteren Satzprozessen für die Ermittlung des Extinktionskoeffizienten genutzt werden.

Diskussion

Die Untersuchung des Absorptionsverhaltens zeigte, dass theoretisch mit dem Erreichen einer Biotrockenmassekonzentration von $> 3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ in Flachgerinnereaktoren, $\geq 0,9 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ in Flachplatten-Photobioreaktoren beziehungsweise $\geq 0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ in Blasensäulenreaktoren mit einer Lichtlimitierung auf der lichtabgewandten Seite beziehungsweise im Inneren des Reaktors zu rechnen ist. Für ein Satzverfahren in diesen drei Systemen bedeutet dies, dass ab den genannten Zelldichten im Reaktor das Zellwachstum eingeschränkt ist, da essentielles Substrat nicht mehr in ausreichender Menge verfügbar ist. Aufgrund dieses Mangels setzt die

in Abschnitt 5.1 bereits beschriebene lineare Wachstumsphase ein. Die Lichtabschwächung durch *N. salina* konnte am besten durch das Lambert-Beer'sche Gesetz beschrieben werden. Während der spezifische Extinktionskoeffizient bei physiologisch identischen Zellen unabhängig von der Biotrockenmassekonzentration war, führte vermutlich eine lichtgetriebene Veränderung auf zellulärer Ebene (Chlorophyll a) zu einer Anpassung des Extinktionskoeffizienten: Zu Beginn der Satzprozesse in Flachplatten-Photobioreaktoren erfolgte wohl eine Anpassung des Photosyntheseapparates an die im Vergleich zur Vorkultur in Blasensäulenreaktoren hohen Bestrahlungsstärken. Der Chlorophyll a-Gehalt pro Zelle nahm dadurch ab, was zu einer simultanen Abnahme des Extinktionskoeffizienten wahrscheinlich aufgrund des *Siebeffektes* führte (Häder, 1999). Gleichzeitig konnte ein exponentielles Wachstum der Mikroalgen beobachtet werden, da im Mittel ausreichend Photonen pro Zelle zur Verfügung standen. Ab einer gewissen Zellkonzentration ($\sim 1,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ bei $I_0 = 1108 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) wurden von *N. salina* vermehrt Antennenpigmente ausgebildet, um trotz der zunehmenden gegenseitigen Beschattung ausreichend Lichtenergie absorbieren zu können – der Chlorophyll a-Gehalt stieg. Dieser Anstieg wurde in Abhängigkeit von der Eingangs-Bestrahlungsstärke induziert: Je niedriger die Bestrahlungsstärke, desto niedriger war die Zelldichte, welche die vermehrte Bildung von Chlorophyll a bewirkte und umgekehrt. Die erneute Anpassung des Chlorophyll a-Gehaltes resultierte jedoch nicht in einer Änderung des Extinktionskoeffizienten. Vermutlich existiert eine Sättigungskonzentration des Chlorophylls, welche entweder durch eine hohe Packungsdichte pro Zelle oder durch eine ausreichend hohe Zellkonzentration und somit Überlagerung der Pigmente hervorgerufen werden kann. Ab dieser Konzentration bewirkte eine Steigerung des Pigmentgehaltes keine Änderung des Extinktionskoeffizienten mehr. Zudem konnte durch die Erhöhung des Pigmentgehaltes eine Lichtlimitierung ab einer gewissen Zelldichte nicht mehr abgewendet werden – die Mikroalgen erreichten lineares Wachstum.

5.3 Charakterisierung der Lichtabhängigkeit von *N. salina*

Als essentielles Substrat beeinflusst Licht nicht nur das Wachstum, sondern auch die Lipidbildung und in letzter Konsequenz die Produktivität eines Mikroalgenprozesses. Nachdem die auf die lichtzugewandte Seite des Reaktors auftreffende Photonenflussdichte über die Reaktor-Schichtdicke und mit steigender Zelldichte signifikant abgeschwächt wird (Abschnitt 5.2), ist die Eingangs-Bestrahlungsstärke kein geeigneter Parameter für die quantitative Beschreibung der Wachstumsrate. Um die im Mittel jede Algenzelle erreichende Bestrahlungsstärke bestimmen zu können, bietet sich die Verwendung der mittleren integralen Bestrahlungsstärke I^* (Gleichung 3.23) an. Diese beschreibt jedoch lediglich die Lichtverhältnisse bei einer konstanten Zelldichte und berücksichtigt nicht die Änderung der Biomassekonzentration während des exponentiellen Wachstums oder während der Produktbildung. Aus diesem Grund wurde im Rahmen dieser Arbeit die mittlere integrale Bestrahlungsstärke während eines definierten Zeitraumes (exponentielles Wachstum, lineare Produktbildung) I^{**} eingeführt:

$$I^{**} = \frac{1}{L \cdot \Delta t} \int_{t_a}^{t_e} \int_0^L I \, dl \, dt \quad (5.1)$$

mit	I^{**}	mittlere integrale Bestrahlungsstärke im Zeitintervall a-e	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
	L	maximale Schichtdicke der Algensuspension	cm
	$t_{(a/e)}$	Zeit zu Beginn (a) und am Ende (e) des Intervalls	d
	I	durch die Suspension auf der Länge l abgeschwächtes Licht	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
	l	Schichtdicke der Algensuspension	cm

In dieser Form beschreibt I^{**} somit die im Mittel über die gesamte Schichtdicke der Mikroalgensuspension im Reaktor in einem definierten Zeitraum (t_a bis t_e) jeder Zelle zur Verfügung stehende Bestrahlungsstärke. Wird diese Größe in Zusammenhang mit den relevanten Zustandsgrößen (Wachstumsrate, Produktbildungsrate) in diesem Zeitraum gebracht, ermöglicht dies die quantitative Beschreibung der Lichtabhängigkeit dieser Zustandsgrößen. Für *N. salina* wurde dies sowohl für die Wachstumsrate als auch für die zellspezifische Lipidbildungsrate bei verschiedenen mittleren integralen Bestrahlungsstärken I^{**} untersucht.

5.3.1 Lichtabhängige Wachstumskinetik

Die Charakterisierung der lichtabhängigen Wachstumskinetik von *N. salina* erfolgte durch Satzprozesse in Flachplatten-Photobioreaktoren bei unterschiedlichen konstanten Eingangs-Bestrahlungsstärken zwischen 70 und 2750 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Die Biotrockenmassekonzentration wurde als Funktion der Prozesszeit ermittelt und ist in Abbildung 5.8 für 12 mittlere integrale Bestrahlungsstärken exemplarisch gezeigt. Der hellgrau hinterlegte Bereich entspricht dabei jeweils der exponentiellen Wachstumsphase, für welche die mittlere integrale Bestrahlungsstärke I^{**} sowie die Wachstumsrate bestimmt wurde.

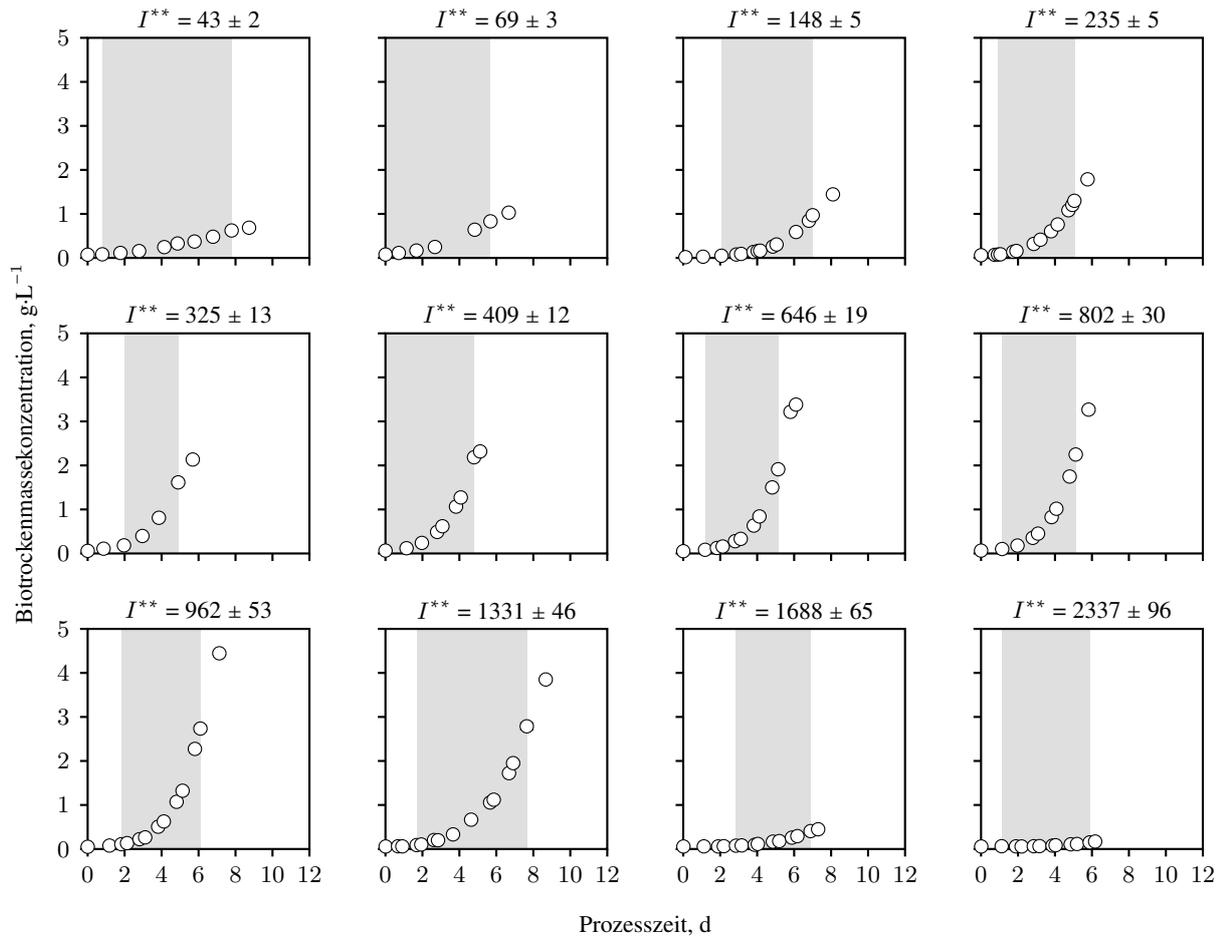


Abbildung 5.8: Darstellung der Biotrockenmassekonzentration von *Nannochloropsis salina* als Funktion der Prozesszeit und der mittleren integralen Bestrahlungsstärke I^{**} in $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ bei ausgewählten, unlimitierten Satzprozessen in Flachplatten-Photobioreaktoren ($T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$). Die Standardabweichungen der Biotrockenmassekonzentration ergeben sich aus der Dreifachmessung. Die exponentielle Wachstumsphase ist jeweils hellgrau hinterlegt.

Es wird deutlich, dass mit steigender mittlerer integraler Bestrahlungsstärke bis $646 \pm 19\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ die Biotrockenmassekonzentration am Ende der exponentiellen Wachstumsphase signifikant stieg. Wurde diese Bestrahlungsstärke überschritten, konnte nur noch ein leichter Anstieg der Zelldichte nach exponentiellem Wachstum bis $I^{**} = 1331 \pm 46\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ beobachtet werden. Eine weitere Steigerung der mittleren integralen Bestrahlungsstärke $\geq 1688 \pm 65\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ resultierte schließlich in einer deutlichen Abnahme der finalen Biotrockenmassekonzentration am Ende der exponentiellen Wachstumsphase. Die Dauer des exponentiellen Wachstums wurde ebenfalls von I^{**} beeinflusst: Bis zu $325 \pm 13\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ verkürzte sich diese Wachstumsphase merklich mit steigender Bestrahlungsstärke aufgrund der steigenden Wachstumsrate. Daraufhin blieb die Dauer des exponentiellen Wachstums mit steigender Bestrahlungsstärke bis $962 \pm 53\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ nahezu konstant. Wurde dieser Wert überschritten, konnte keine klare Abhängigkeit der Dauer der exponentiellen Wachstumsphase von I^{**} mehr erkannt werden. Darüber hinaus wurden unterschiedlich lange Verzögerungsphasen bei den verschiedenen Bestrahlungsstärken beobachtet, welche durch die Verwendung unterschiedlicher Vorkulturen erklärt werden können. Die Dauer der Verzögerungsphase

beeinflusst jedoch nicht die mittlere integrale Bestrahlungsstärke, da diese lediglich in der exponentiellen Wachstumsphase bestimmt wurde.

Aus den in Abbildung 5.8 gezeigten lichtabhängigen Wachstumskurven wurden jeweils in der exponentiellen Wachstumsphase die spezifischen Wachstumsraten ermittelt. Diese sind in Abbildung 5.9 als Funktion der mittleren integralen Bestrahlungsstärke während des exponentiellen Wachstums I^{**} aufgetragen. Bis zu einer mittleren integralen Bestrahlungsstärke von $325 \pm 13 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ führte eine Steigerung von I^{**} zu einer signifikanten Erhöhung der spezifischen Wachstumsrate: Beginnend mit $43 \pm 2 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ betrug diese lediglich $0,0121 \pm 0,0004 \text{ h}^{-1}$, während die Steigerung von I^{**} auf $325 \pm 13 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ die Wachstumsrate nahezu verdreifachte ($0,0310 \pm 0,0009 \text{ h}^{-1}$). Dieser erste Bereich der lichtabhängigen Wachstumskinetik entspricht dem in Abbildung 3.10 gezeigten lichtlimitierten Wachstum von Mikroalgen.

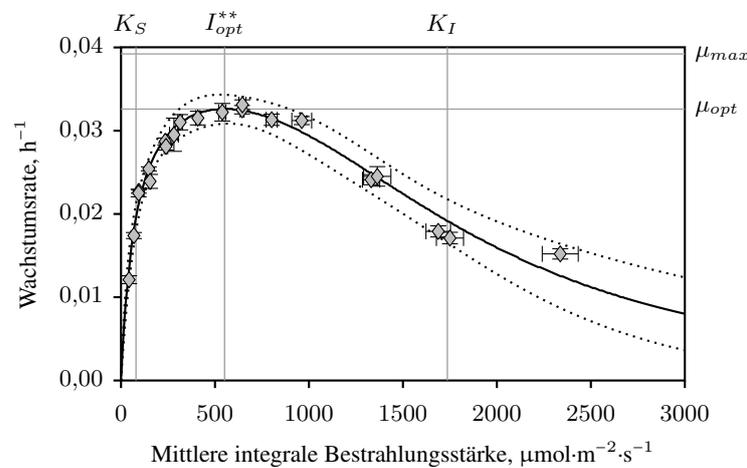


Abbildung 5.9: Darstellung der spezifischen Wachstumsraten bei unlimitiertem Wachstum von *Nannochloropsis salina* in Flachplatten-Photobioreaktoren ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$) in Abhängigkeit von der mittleren integralen Bestrahlungsstärke. Die experimentellen Daten (\diamond) wurden mit dem modifizierten Inhibitions-Modell nach Andrews (Gleichung 5.2) beschrieben (—) und mit dem 95 %-Konfidenzintervall (·····) dargestellt. Die Standardabweichungen ergeben sich aus der exponentiellen Regression (Wachstumsrate) beziehungsweise der Fehlerfortpflanzung nach Gleichung 4.10 (I^{**}). Die Sättigungskonstante K_S sowie die Inhibitionskonstante K_I entsprechen der Bestrahlungsstärke, bei der näherungsweise die halbmaximale Wachstumsrate erreicht wird. Die optimale Wachstumsrate $\mu_{opt} = 0,033 \pm 0,002 \text{ h}^{-1}$ wird mit der optimalen mittleren integralen Bestrahlungsstärke $I_{opt}^{**} = 551 \pm 166 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ erreicht.

Eine weitere Steigerung der mittleren integralen Bestrahlungsstärke ($> 325 \pm 13 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) führte zu keiner signifikanten Erhöhung der spezifischen Wachstumsrate von *N. salina*. Dies ist auf die Lichtsättigung der Photosysteme im Bereich bis etwa $962 \pm 53 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ zurückzuführen. Wurde diese Bestrahlungsstärke überschritten, konnte eine deutliche Abnahme der spezifischen Wachstumsrate mit steigendem I^{**} beobachtet werden, bis die Wachstumsrate bei $2337 \pm 96 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ lediglich $0,0151 \pm 0,0006 \text{ h}^{-1}$ betrug.

Für die Beschreibung der in Abbildung 5.9 dargestellten Wachstumsraten von *N. salina* als Funktion der mittleren integralen Bestrahlungsstärke wurde zunächst die von Andrews eingeführte Inhibitionskinetik nach Gleichung 3.27 verwendet. Dieses Inhibitionsmodell war jedoch nicht in der Lage, die experimentellen Da-

ten – vor allem die starke Abnahme der Wachstumsrate im photoinhibierten Bereich – in ausreichendem Maße wiederzugeben (Ergebnis nicht gezeigt). Aus diesem Grund wurde das Modell unter Einführung eines weiteren Modellparameters, des Sensitivitätsfaktors φ , modifiziert (Gleichung 5.2). Der Sensitivitätsfaktor φ entspricht dabei der negativen Steigung der lichtabhängigen Wachstumskinetik im Wendepunkt des photoinhibierten Bereichs der Kinetik, also bei $I^{**} \approx K_I$.

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{I^{**}}{K_S + I^{**} + I^{**} \cdot \left(\frac{I^{**}}{K_I}\right)^\varphi} \quad (5.2)$$

mit	μ	spezifische Wachstumsrate	h^{-1}
	μ_{max}	maximale spezifische Wachstumsrate	h^{-1}
	I^{**}	mittlere integrale Bestrahlungsstärke in der exponentiellen Wachstumsphase	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
	K_S	Sättigungskonstante	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
	K_I	Inhibitionskonstante	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
	φ	Sensitivitätsfaktor	-

In Abbildung 5.9 ist das identifizierte modifizierte Inhibitionsmodell nach Gleichung 5.2 im Vergleich zu den experimentellen Daten dargestellt. Es wird deutlich, dass das Modell die experimentellen Daten im Rahmen der Beobachtungsvarianz gut wiedergeben kann. Die identifizierten kinetischen Parameter sind in Tabelle 5.2 zusammengefasst.

Tabelle 5.2: Auflistung der identifizierten kinetischen Modellparameter nach Gleichung 5.2 für die Beschreibung des lichtabhängigen Wachstums von *Nannochloropsis salina* in Flachplatten-Photobioreaktoren (Abbildung 5.9).

μ_{max}	maximale spezifische Wachstumsrate	$0,0392 \pm 0,0019$	h^{-1}
K_S	Sättigungskonstante	$79,7 \pm 10,5$	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
K_I	Inhibitionskonstante	$1736,5 \pm 90,8$	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
φ	Sensitivitätsfaktor	$2,5 \pm 0,4$	

Die maximale spezifische Wachstumsrate beträgt nach dem modifizierten Inhibitionsmodell $\mu_{max} = 0,0392 \pm 0,0019 \text{ h}^{-1}$. Die optimale mittlere integrale Bestrahlungsstärke I_{opt}^{**} ergab sich aus der Nullstelle der Differentiation des modifizierten Inhibitionsmodells $\left(\frac{d\mu}{dI^{**}} = 0\right)$ zu $551 \pm 166 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ und führte zu einer optimalen Wachstumsrate $\mu_{opt} = 0,033 \pm 0,002 \text{ h}^{-1}$. Im Fall der vorliegenden Inhibitionskinetik führen zwei mittlere integrale Bestrahlungsstärken zu einer halbmaximalen Wachstumsrate: Die Sättigungskonstante K_S mit $79,7 \pm 10,5 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ sowie die Inhibitionskonstante K_I mit $1736,5 \pm 90,8 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Der in dieser Arbeit eingeführte Sensitivitätsfaktor φ ergibt sich für *N. salina* zu $2,5 \pm 0,4$.

Diskussion

Die Untersuchung der lichtabhängigen Wachstumskinetik von *Nannochloropsis salina* lieferte eine charakteristische *Lichtantwort*-Kurve mit lichtlimitiertem, -gesättigtem und -inhibiertem Bereich des Wachstums: In der Lichtlimitierungsphase steigt die Wachstumsrate linear mit der Steigung $\alpha = 0,059 \pm 0,002 \text{ m}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$, welche durch Extrapolation die horizontale Verlängerung der optimalen Wachstumsrate im Bereich der Übergangs-Bestrahlungsstärke $I_k \approx 150 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ schneidet. Dieser Punkt kennzeichnet somit den Übergang der Lichtlimitierung in die Lichtsättigung für *N. salina*. Im Vergleich dazu weist beispielsweise die Kieselalge *Phaeodactylum tricornutum* eine deutlich höhere Quantenausbeute von $\alpha = 0,29 \text{ m}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$ auf und erreicht die Lichtsättigung bereits bei einer Eingangs-Bestrahlungsstärke von $56 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (Geider *et al.*, 1985). Im Umkehrschluss bedeutet dies, dass die Photosynthese der Kieselalge wesentlich effizienter ist als die der Alge *Nannochloropsis salina*, was hauptsächlich auf die schnellere Photonenabsorption in der Lichtreaktion zurückzuführen ist (Kok, 1960; Tredici, 2010). Der Bereich der Lichtsättigung erstreckt sich bei *N. salina* von der Übergangs-Bestrahlungsstärke bei $150 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ bis zu $717 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, wobei zwischen 385 und $717 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ($I_{opt}^{**} = 551 \pm 166 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) die optimale Wachstumsrate von $0,033 \pm 0,002 \text{ h}^{-1}$ erreicht werden kann. Mit Überschreitung der mittleren integralen Bestrahlungsstärke von $717 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ist schließlich der Bereich der Photoinhibition erreicht und die Wachstumsrate sinkt mit steigendem I^{**} . Die beobachtete Verminderung der Wachstumsrate könnte aus lichtinduzierten Schädigungen am Photosystem II, verursacht durch den Überschuss photosynthetisch aktiver Strahlung, resultieren (Comacho Rubio *et al.*, 2003). Zudem ist bekannt, dass Mikroalgen bei inhibierenden Bestrahlungsstärken vermehrt Carotinoide synthetisieren, um so der Dissipation überschüssiger Lichtenergie zu dienen (Häder, 1999; Thompson, 1996). Die Energieableitung in Form von Wärme wird *nichtphotochemisches Quenching* (NPQ) genannt und bewahrt die Zellen vor Photoinhibition, jedoch zu Lasten der Photosyntheserate (Berteotti *et al.*, 2016). Diese Art der Photoprotektion wird bei *Chlamydomonas reinhardtii* durch den Proteinkomplex *LHCSR* (*light harvesting complex stress related*) katalysiert. Die Deletion zweier für diesen Komplex codierenden Gene führte dazu, dass diese Zellen deutlich höhere Bestrahlungsstärken tolerieren konnten ohne Einflüsse der Photoinhibition, wie vermindertes Wachstum, erkennen zu lassen (Berteotti *et al.*, 2016). Unter der Annahme, dass *Nannochloropsis* sp. ebenfalls den photoprotektiven *LHCSR*-Komplex oder ein vergleichbares Enzymsystem besitzen, ist der Sensitivitätsfaktor φ ein Maß für diesen photoregulatorischen Enzymkomplex und das daraus resultierende Ausmaß des nichtphotochemischen Quenchings. Je höher die Konzentration dieses Komplexes und je größer somit φ ist, desto höher ist die Energiedissipation beziehungsweise niedriger ist die Wachstumsrate der Mikroalgen unter hohen Bestrahlungsstärken. Mikroalgenspezies, die einen sehr breiten Bereich hoher Bestrahlungsstärken tolerieren, weisen somit einen niedrigen Wert für φ auf, während sehr sensitiven Spezies ein vergleichsweise großes φ zuzuordnen ist.

Die Lichtabhängigkeit des Wachstums wurde für *Nannochloropsis* sp. auch in anderen Arbeiten, jedoch teilweise unterschiedlichen Photobioreaktoren, untersucht, wobei abweichende optimale Bestrahlungsstärken ermittelt wurden: Kandilian *et al.* (2014) erhielten ohne die Verwendung eines Modells eine optimale mittlere Bestrahlungsstärke von $236 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ für *Nannochloropsis oculata* aus drei verschiedenen Bestrahlungsstärken. Sforza *et al.* (2012b) kultivierten *Nannochloropsis salina* ebenfalls in Flachplatten-Photobioreaktoren und ermittelten experimentell aus sieben Eingangs-Bestrahlungsstärken das Optimum bei $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Huesemann *et al.* (2013) und van Wagenen *et al.* (2012) untersuchten *N. salina* in Roux-Flaschen mit neun beziehungsweise sechs unterschiedlichen Eingangs-Bestrahlungsstärken bis zu $850 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Dabei konnte mithilfe eines Wachstumsmodells $250 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ als optimale Eingangs-Bestrahlungsstärke ermittelt werden. Sukenik (1991) untersuchte den Einfluss der Bestrahlung auf *Nannochloropsis* sp. in kontinuierlich betriebenen Reaktoren bis zu $550 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, wobei etwa $400 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ zu einer optimalen Wachstumsrate von etwa $0,03 \text{ h}^{-1}$ führten. Ein direkter Vergleich der Ergebnisse dieser Arbeit mit Literaturdaten gestaltet sich jedoch aufgrund der unterschiedlichen Reaktorsysteme schwierig. Die mittlere integrale Bestrahlungsstärke ist systemunabhängig und würde sich somit für einen Vergleich eignen, jedoch verwenden bisher veröffentlichte Studien zu *N. salina* statt dieser Größe die Eingangs-Bestrahlungsstärke für die Beschreibung des lichtabhängigen Wachstums. Zusätzlich variiert die Durchmischung bei den verschiedenen Systemen und beeinflusst so möglicherweise die optimale Bestrahlungsstärke: Bei guter Durchmischung kann eine ausreichende Fluktuation der Zellen zwischen bestrahlter Reaktoroberfläche und lichtabgewandter Seite des Reaktors geschaffen werden, weshalb höhere Bestrahlungsstärken toleriert werden können. Mangelnde Durchmischung führt hingegen unter Umständen zu einer längeren Verweilzeit der Algen in Starklichtzonen auf der Reaktoroberseite und begünstigt somit Photoinhibition.

5.3.2 Lichtabhängige Lipidbildungskinetik

Die Lipidbildung wird bei oleogenen Mikroalgen durch ungünstige Umweltbedingungen wie extreme Temperaturen oder Bestrahlungsstärken sowie Nährstoffmangel induziert. Bei der gezielten Induktion der Lipidproduktion kann einer oder eine Kombination aus mehreren dieser Stressfaktoren verwendet werden. Nachdem Licht eine der wichtigsten Einflussgrößen bei Mikroalgenprozessen darstellt, soll zunächst der Einfluss der Bestrahlungsstärke auf die Lipidbildung charakterisiert werden.

In fünf unlimitierten Satzprozessen mit *Nannochloropsis salina* in Flachplatten-Photobioreaktoren mit verschiedenen mittleren integralen Bestrahlungsstärken zwischen 239 und $2308 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ wurde zunächst der alleinige Einfluss des Lichts auf die Lipidakkumulation untersucht. Zu diesem Zweck wurde jeweils am Ende der exponentiellen Wachstumsphase der Lipidgehalt bestimmt. Aus Abbildung 5.10 geht hervor, dass die Erhöhung der mittleren integralen Bestrahlungsstärke bis $1624 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ eine deutliche Steigerung

des Lipidgehaltes von 18 % bei $239 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ auf 45 % mit sich brachte. Eine weitere Steigerung von I^{**} führte zu einer Abnahme des Lipidgehaltes. Somit kann bei unlimitierten *N. salina* eine verstärkte Lipidbildung alleine durch hohe Bestrahlungsstärken induziert werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Lipidbildung jedoch nicht alleine durch die Bestrahlungsstärke angeregt. Eine definierte Stickstofflimitierung sollte die Induktion der Lipidbildung verstärken.

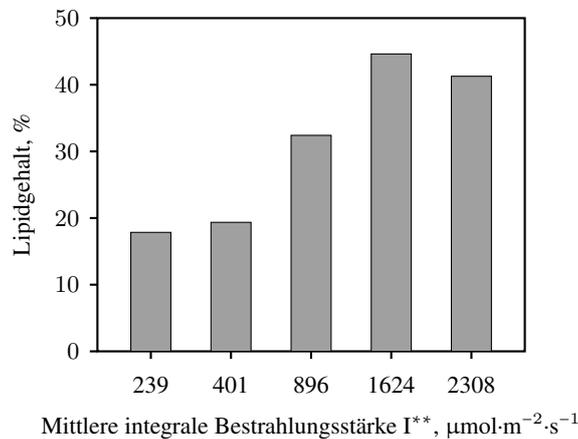


Abbildung 5.10: Darstellung des Lipidgehaltes in Prozent der Biotrockenmassekonzentration in unlimitierten Satzprozessen von *Nannochloropsis salina* in Flachplatten-Photobioreaktoren ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$) als Funktion der mittleren integralen Bestrahlungsstärke. Der Lipidgehalt wurde jeweils am Ende der exponentiellen Wachstumsphase bestimmt.

Für die Charakterisierung der lichtabhängigen Lipidbildungskinetik in stickstofflimitierten Suspensionen von *N. salina* wurde zunächst mit optimaler Bestrahlung ($551 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) in Flachplatten-Photobioreaktoren Biomasse produziert, um vergleichbare Ausgangsbedingungen zu schaffen. Diese Mikroalgensuspensionen wurden am Ende der exponentiellen Phase jeweils mit nitratfreiem Medium 1:10 verdünnt ($c_{\text{NO}_3} \approx 0,3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) und anschließend unterschiedlichen Bestrahlungsstärken in der Lipidbildungsphase ausgesetzt.

In Abbildung 5.11 sind die Biotrockenmasse- und Lipidkonzentrationen der Lipidbildungsphase als Funktion der Prozesszeit nach Induktion dargestellt. Die niedrigste mittlere integrale Bestrahlungsstärke von $38 \pm 4 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ führte am Ende der linearen Lipidbildungsphase (dunkelgrau hinterlegt) zu einer Lipidkonzentration von $0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, was einem Lipidgehalt von 28 % gleichkommt. Eine Steigerung der mittleren integralen Bestrahlungsstärke auf $90 \pm 5 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ bewirkte eine Erhöhung der Lipidkonzentration auf $1,0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ beziehungsweise des Lipidgehaltes auf 35 %. Mit weiterer Erhöhung von I^{**} bis auf $579 \pm 55 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ konnten sowohl die Lipidkonzentration als auch der -gehalt am Ende der linearen Produktbildung auf bis zu $2,2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ($\hat{=}$ 62 % Lipide) gesteigert werden. Die weitere Steigerung der mittleren integralen Bestrahlungsstärke bewirkte eine Abnahme der Lipidkonzentration auf $0,6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ beziehungsweise 27 % Lipide, gemessen an der Biotrockenmassekonzentration. Somit scheint ebenso wie bei der lichtabhängigen Wachstumskinetik ein optimaler Bereich für die Lipidbildung zu existieren.

Abbildung 5.11 kann zudem entnommen werden, dass die Produktbildung teilweise wachstumsgekoppelt war. Zu Beginn der Limitierung in der linearen Lipidbildungsphase war die Wachstumsrate bei allen mittleren integralen Bestrahlungsstärken deutlich größer als die Lipidbildungsrate, die Produktbildung war somit lediglich teilweise mit dem Wachstum assoziiert. An diese erste lineare Lipidbildungsphase schloss nach einer kurzen Übergangsphase eine zweite lineare Lipidproduktion bei $I^{**} \geq 90 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ an. In diesem Bereich war die Lipidbildungsrate wesentlich geringer als in der ersten linearen Phase und zudem bis $I^{**} = 270 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ nahezu identisch mit der Wachstumsrate. Diese Assoziation der Produktbildung mit dem Wachstum konnte jedoch für mittlere integrale Bestrahlungsstärken $I^{**} \geq 579 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ nicht gezeigt werden. Mit $I^{**} = 579 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ schien die Lipidbildungsrate höher zu sein als die Wachstumsrate, während bei $I^{**} = 1206 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ der umgekehrte Fall beobachtet wurde. Allerdings gilt es zu beachten, dass bei $579 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ lediglich drei Datenpunkte in der zweiten linearen Lipidbildungsphase ermittelt werden konnten, während bei $1206 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ die Lipidkonzentration in dieser Phase deutlichen Schwankungen unterlag.

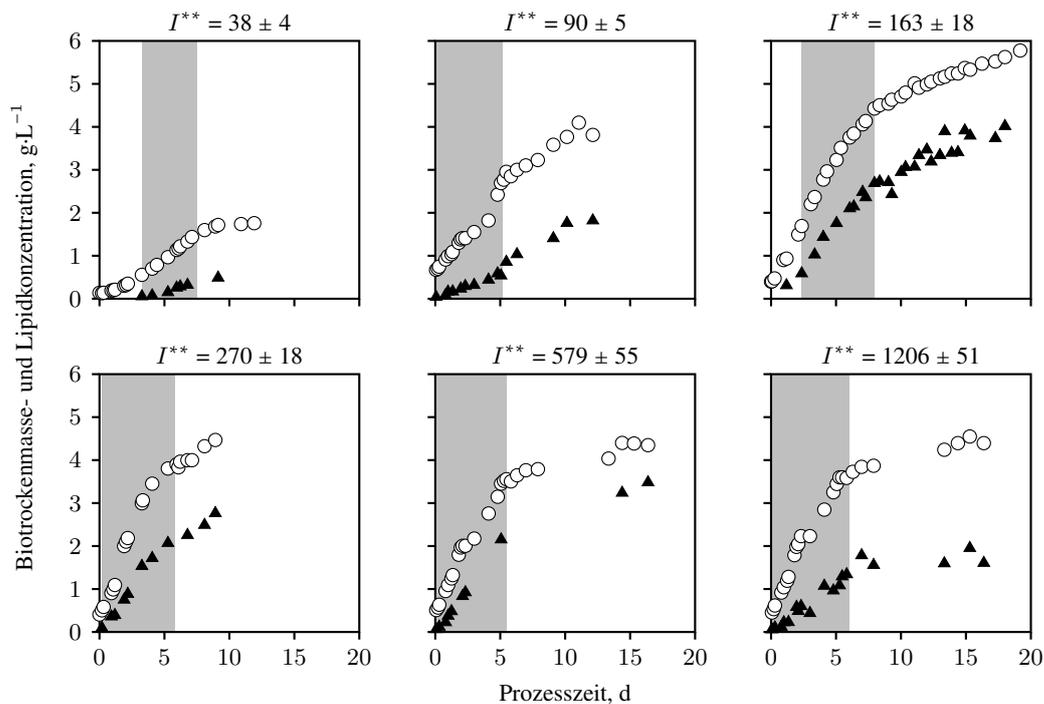


Abbildung 5.11: Darstellung der Biotrockenmasse- (○) und Lipidkonzentration (▲) von *Nannochloropsis salina* als Funktion der Prozesszeit und der mittleren integralen Bestrahlungsstärke I^{**} in $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ bei stickstofflimitierten ($c_{\text{NO}_3} \approx 0,3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) Satzprozessen in Flachplatten-Photobioreaktoren ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$). Der Bereich der linearen Lipidbildung ist jeweils dunkelgrau hinterlegt.

Allen stickstofflimitierten Satzprozessen war weiterhin gemein, dass zu Beginn der Lipidbildungsphase ein Grundlipidgehalt von etwa 15 % in den unlimitierten Zellen vorlag. Auch die Zusammensetzung der Triacylglyceride am Ende der linearen Lipidbildung war bei den verschiedenen Satzprozessen relativ konstant: Von *Nannochloropsis salina* wurde hauptsächlich Palmitinsäure (C16:0) mit einem Anteil von im Mittel 45 % aller Fettsäuren gebildet, gefolgt von der einfach ungesättigten Palmitoleinsäure (C16:1) mit etwa

32 %. Weiterhin konnten Ölsäure (C18:1) mit etwa 5 % sowie die mehrfach ungesättigte Eicosapentaensäure (C20:5, EPA) mit etwa 2 % nachgewiesen werden. Ein klarer Zusammenhang des prozentualen Anteils einzelner Fettsäuren mit der Bestrahlungsstärke war nicht erkennbar.

Auch wenn der maximal erreichbare Lipidgehalt ein interessanter Prozessparameter ist, stellt die Betrachtung der maximalen Flächen-Zeit-Ausbeute eine deutlich aussagekräftigere Größe dar. Denn bei einem wirtschaftlichen Produktionsprozess zählt nicht nur in welcher Konzentration das Produkt gebildet wurde, sondern vielmehr wie schnell diese Konzentration erreicht und welche Fläche dafür benötigt wurde. In Abbildung 5.12 sind die Flächen-Zeit-Ausbeuten am Ende der linearen Lipidbildung (FZA_L) mit *N. salina* in Abhängigkeit von der mittleren integralen Bestrahlungsstärke dargestellt. Ebenso wie bei der Lipidkonzentration zeigte sich ein vergleichbarer Zusammenhang mit I^{**} : Bis zu $579 \pm 55 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ bedingte eine Steigerung von I^{**} eine signifikante Erhöhung der FZA_L von $1,5 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ bei $38 \pm 4 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ bis auf $8,4 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$. Mit weiterer Steigerung der mittleren integralen Bestrahlungsstärke konnte eine deutliche Abnahme der Flächen-Zeit-Ausbeute auf $4,8 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ bei $1206 \pm 51 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ beobachtet werden.

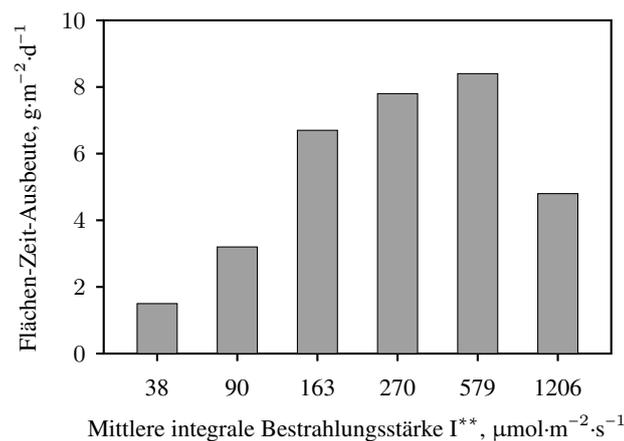


Abbildung 5.12: Darstellung der Flächen-Zeit-Ausbeute der Lipidbildung mit stickstofflimitierten Satzprozessen mit *Nannochloropsis salina* in Flachplatten-Photobioreaktoren ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$) als Funktion der mittleren integralen Bestrahlungsstärke. Die Flächen-Zeit-Ausbeute wurde jeweils am Ende der linearen Produktbildungsphase (dunkelgrau hinterlegter Bereich in Abbildung 5.11) bestimmt.

Für die Untersuchung der lichtabhängigen Lipidbildungskinetik sollte jedoch nicht die Flächen-Zeit-Ausbeute, sondern vielmehr eine zellspezifische Größe verwendet werden. Aus diesem Grund wurden zudem im Bereich der linearen Produktionsphase die spezifischen Lipidbildungsraten nach Gleichung 4.12 ermittelt und in Abbildung 5.13 als Funktion der mittleren integralen Bestrahlungsstärke dargestellt. Die Lichtabhängigkeit der Lipidbildung ergab ein vergleichbares Bild wie Lichtabhängigkeit der Lipidkonzentrationen und der Flächen-Zeit-Ausbeuten: Bis zu einer mittleren integralen Bestrahlungsstärke von $579 \pm 55 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ nahm die spezifische Lipidbildungsrate mit steigender Bestrahlungsstärke zu. Während mit $38 \pm 4 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ lediglich $0,09 \pm 0,01 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ erreicht werden konnten, lag der beobachtete Maximalwert bei $579 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ bei $0,40 \pm 0,05 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$. Wurde diese Bestrahlungsstärke überschritten,

so führte dies zu einer Abnahme der spezifischen Lipidbildungsrate auf bis zu $0,25 \pm 0,02 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ bei $1206 \pm 51 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

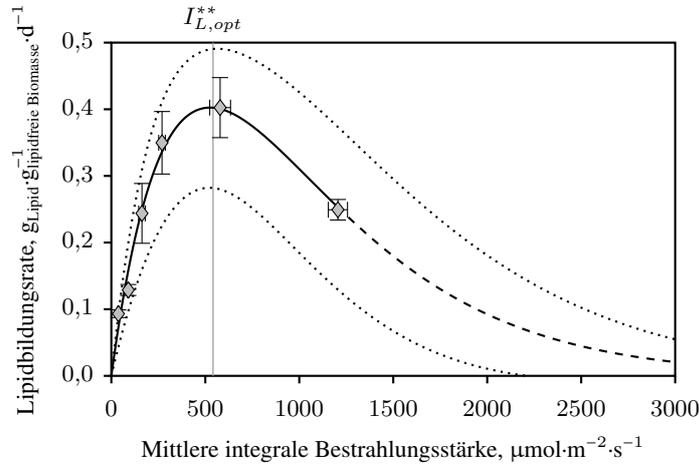


Abbildung 5.13: Darstellung der spezifischen Lipidbildungsraten von *Nannochloropsis salina* unter Stickstofflimitierung in Flachplatten-Photobioreaktoren ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$) als Funktion der mittleren integralen Bestrahlungsstärke. Die experimentellen Daten (\diamond) können mit dem Lipidbildungsmodell nach Gleichung 5.3 (—) mit dem 95 %-Konfidenzintervall (·····) abgebildet werden. Nachdem keine Messdaten bei $I^{**} \geq 1200 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ vorliegen, kann die Lichtabhängigkeit der Lipidbildung bei höheren Bestrahlungsstärken lediglich extrapoliert werden (---). Die Standardabweichungen ergeben sich aus der Fehlerfortpflanzung nach Gleichung 4.10 (I^{**}) sowie über die Abschätzung mittels der *Jackknife*-Methode. Mit der optimalen integralen Bestrahlungsstärke von $I_{L,opt}^{**} = 541 \pm 62 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ kann eine maximale spezifische Lipidbildungsrate von $0,40 \pm 0,04 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ erreicht werden.

Für die Identifizierung der kinetischen Parameter der lichtabhängigen Lipidbildung wurde zunächst versucht die Lipidbildungsraten als Funktion der mittleren integralen Bestrahlungsstärke mit Gleichung 3.29 nach Edwards zu beschreiben. Dieses Modell war jedoch nicht in der Lage die experimentellen Daten in ausreichendem Maße wiederzugeben (Ergebnis nicht dargestellt). Aus diesem Grund wurde das Modell nach Edwards wie folgt zu Gleichung 5.3 modifiziert. In dieser Form existieren zwei Modellparameter – die maximale Lipidbildungsrate $q_{L,max}$ sowie die für die Lipidbildung optimale mittlere integrale Bestrahlungsstärke $I_{L,opt}^{**}$. Der lineare Term der Gleichung beschreibt bei diesem Modell die zunächst lineare Zunahme der Lipidbildungsrate mit steigender Bestrahlungsstärke, während die Exponentialfunktion eine exponentielle Inhibition der Lipidbildung repräsentiert.

$$q_L = q_{L,max} \cdot \frac{I^{**}}{I_{L,opt}^{**}} \cdot e^{-\frac{I^{**}}{I_{L,opt}^{**}}} \quad (5.3)$$

mit $q_{L(max)}$ (maximale) spezifische Lipidbildungsrate $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$
 $I_{L,opt}^{**}$ Optimale mittlere integrale Bestrahlungsstärke für die Lipidbildung $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$

Wie Abbildung 5.13 zeigt, ist das modifizierte Modell in der Lage, die experimentellen Daten bis $I^{**} \leq 1200 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ widerzuspiegeln. Die Minimierung der Fehlerquadratsumme lieferte die in Tabelle 5.3 aufgelisteten kinetischen Parameter: Die maximal erreichbare optimale Lipidbildungsrate beträgt

$q_{L,max} = 0,40 \pm 0,04 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ und wird bei der für die Lipidbildung optimalen Bestrahlungsstärke $I_{L,opt}^{**} = 541 \pm 62 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ erreicht.

Tabelle 5.3: Auflistung der über Minimierung der Fehlerquadratsumme (Gleichung 5.3) identifizierten kinetischen Parameter für die Beschreibung der lichtabhängigen Lipidbildung von *Nannochloropsis salina* in Flachplatten-Photobioreaktoren (Abbildung 5.13).

$q_{L,max}$	Maximale spezifische Lipidbildungsrate	$0,40 \pm 0,04$	$\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$
$I_{L,opt}^{**}$	Optimale mittlere integrale Bestrahlungsstärke für die Lipidbildung	541 ± 62	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$

Diskussion

Die Untersuchung der lichtabhängigen Lipidbildungskinetik zeigte, dass die Lipidbildung ebenso wie das Wachstum von *Nannochloropsis salina* mit der verfügbaren mittleren integralen Bestrahlungsstärke gekoppelt ist: Im Bereich der Lichtlimitierung steigt die spezifische Lipidbildungsrate linear mit der Bestrahlungsstärke an und erreicht bei $479 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ den Bereich der Lichtsättigung. Dieser reicht bis $603 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ($I_{L,opt}^{**} = 541 \pm 62 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) und ist somit wesentlich schmaler als der Bereich lichtgesättigten Wachstums. Die optimalen mittleren integralen Bestrahlungsstärken sind für die Lipidbildung und das Wachstum hingegen nahezu identisch. Darüber hinaus scheinen sich hohe Bestrahlungsstärken bereits bei niedrigeren Werten negativ auf die Lipidbildungsrate auszuwirken als dies bei der Wachstumsrate der Fall war – Photoinhibition führte zu einem exponentiellen Abfall der Lipidbildungsrate. Nachdem in diesem Bereich jedoch bislang nur ein Datenpunkt ermittelt werden konnte, kann der Effekt der Photoinhibition nicht exakt abgebildet werden. Zudem ist das Lipidbildungsmodell aufgrund der fehlenden experimentellen Daten lediglich bis zu einer mittleren integralen Bestrahlungsstärke von $1200 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ verwendbar. Ebenso wie die Lipidbildungsrate werden auch die Flächen-Zeit-Ausbeute und der Lipidgehalt von der Bestrahlungsstärke beeinflusst – Maximalwerte wurden jeweils bei $I^{**} = 579 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ erreicht. Der Anstieg des Lipidgehaltes mit der Bestrahlungsstärke konnte ebenfalls von van Wagenen *et al.* (2012) für unlimitierte *Nannochloropsis salina* in Roux-Flaschen bis zu einer Eingangs-Bestrahlungsstärke von $850 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ gezeigt werden – der maximale Lipidgehalt betrug hier etwa 33 %. Dieser Wert deckt sich mit dem Lipidgehalt der unlimitierten Zellen in dieser Arbeit, bei einer vergleichbaren Bestrahlungsstärke. Pal *et al.* (2011) untersuchten den Einfluss des Lichts auf die Lipid-Produktivität von *Nannochloropsis* sp. in Blasensäulenreaktoren bei einer erhöhten Salzkonzentration von $40 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Die maximale Produktivität von $0,41 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ wurde hier mit einer Eingangs-Bestrahlungsstärke von $700 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ erreicht. In dieser Arbeit betrug die maximale Produktivität $0,42 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ($\hat{=} 8,4 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$) bei einer Eingangs-Bestrahlungsstärke von $1000 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ($\hat{=} I^{**} = 579 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Ein direkter Vergleich ist hier jedoch aufgrund der unterschiedlichen Reaktionssysteme schwierig. Zusätzlich wurde im Rahmen dieser

Arbeit die Lipidakkumulation durch einen Stickstoffmangel verstärkt, während Pal *et al.* (2011) eine erhöhte Salinität verwendeten. Weitere Studien (Bellou & Aggelis, 2012; Ma *et al.*, 2014) berichten ebenfalls von maximal akkumulierten Lipidgehalten in *N. salina* um 30 %. Der in dieser Arbeit mithilfe zweier kombinierter Stresstrategien erzielte Lipidgehalt von bis zu 62 % war somit deutlich höher als bisher in der Literatur für *N. salina* beschriebene Lipidgehalte. Weiterhin bildete *Nannochloropsis salina* unter stickstofflimitierten Bedingungen in dieser Arbeit hauptsächlich Palmitinsäure (C16:0), Palmitoleinsäure (C16:1), Ölsäure (C18:1) sowie Eicosapentaensäure (C20:5). Diese Fettsäuren wurden auch von Ma *et al.* (2014) als Hauptbestandteile der Triacylglyceride in *Nannochloropsis* sp. nachgewiesen. Diese Zusammensetzung rückt Mikroalgenöl in den Fokus der regenerativen Treibstoffproduktion: Vor allem ungesättigte und einfach-gesättigte Fettsäuren mit 16 bis 18 C-Atomen führen zu hohen Cetanzahlen und somit zu leichter entzündbaren Kraftstoffen. Zudem begünstigen ungesättigte Fettsäuren einen niedrigen Schmelzpunkt, während gesättigte Fettsäuren die oxidative Stabilität merklich erhöhen. Mikroalgenöle könnten somit aufgrund des günstigen Verhältnisses gesättigter und ungesättigter Fettsäuren sowie geeigneter Kettenlängen sowohl die Problematik der Oxidation des Kraftstoffs als auch der mangelnden Verflüssigung bei niedrigen Temperaturen lösen (Knothe, 2009). Entgegen der von Sukenik *et al.* (1989) und van Wagenen *et al.* (2012) publizierten Daten konnte in dieser Arbeit keine Beeinflussung des prozentualen Anteils einzelner Fettsäuren durch die Variation der Bestrahlungsstärke beobachtet werden. Beide Studien berichten von einer potentiellen Steigerung des Anteils der Palmitinsäure mit der Bestrahlungsstärke, während der Gehalt der Eicosapentaensäure abnimmt.

5.4 Implementierung eines Bestrahlungsprofils

Licht beeinflusst nicht nur das Wachstum, sondern ebenso die Produktbildung. Steigende Zelldichten bei Mikroalgenprozessen führen bei konstanten Eingangs-Bestrahlungsstärken zwangsläufig zu einer Lichtlimitierung und resultieren in limitierten Produktivitäten. Um die Flächen-Zeit-Ausbeute der Biomasse- und Lipidbildung in Flachplatten-Photobioreaktoren zu maximieren, könnte dieser als *Luminostat* betrieben werden: Mit steigender Zelldichte wird dabei die Eingangs-Bestrahlungsstärke sukzessive gesteigert, um möglichst lange eine bestimmte mittlere integrale Bestrahlungsstärke konstant halten zu können. Ein solches *Bestrahlungsprofil* gäbe somit durch die gewählte mittlere integrale Bestrahlungsstärke und die zuvor identifizierten kinetischen Parameter (Tabelle 5.2) mit Gleichung 5.2 eine bestimmte Wachstumsrate vor, welche während des Prozesses konstant sein sollte, so lange I^{**} konstant ist.

In ersten Satzprozessen mit Bestrahlungsprofil zeigte sich, dass eine Steigerung der Eingangs-Bestrahlungsstärke I_0 bis zum gerätespezifischen Maximum von knapp $5000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ nicht zielführend war. Die hohen Bestrahlungsstärken führten vermutlich an der lichtzugewandten Seite des Reaktors zu Photoinhibition und verlangsamten so das Wachstum, während die Lipidbildung sogar vollständig unterdrückt wurde. Aus diesem Grund wurde basierend auf der lichtabhängigen Wachstumskinetik ein optimaler Bereich

der Bestrahlung ausgewählt, sodass mindestens 90 % der optimalen Wachstumsrate erreicht werden können (Abbildung 5.14 a). Diese beiden Bestrahlungsstärken wurden als untere ($325 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) beziehungsweise obere Grenze ($1000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) des Bestrahlungsprofils definiert und sollten in keinem Fall von der Eingangs-Bestrahlungsstärke unter- oder überschritten werden. Die untere Grenze wurde ebenfalls als konstante mittlere integrale Bestrahlungsstärke ($I^{**} = 325 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1} = \text{konst.}$) gewählt. Diese Bestrahlungsstärke ergibt laut kinetischem Wachstumsmodell eine spezifische Wachstumsrate von $0,031 \text{ h}^{-1}$. Mit dieser Wachstumsrate und der gemessenen Biotrockenmassekonzentration zu Beginn des Satzprozesses ($c_{x,0} = 0,05 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) wurde mit Gleichung 3.17 die Biomassekonzentration in Abhängigkeit der Zeit geschätzt (Abbildung 5.14 b). Diese Schätzung war die Grundlage für die Anpassung der notwendigen Eingangs-Bestrahlungsstärke während des Prozesses nach Gleichung 4.6, sodass zu jedem Zeitpunkt eine mittlere integrale Bestrahlungsstärke $I^{**} = 325 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ erreicht werden kann. Die Eingangs-Bestrahlungsstärke als Funktion der Prozesszeit konnte im vorliegenden Fall durch ein Polynom dritten Grades wiedergegeben und in die Prozesssoftware der Flachplatten-Photobioreaktoren integriert werden. Mit Erreichen der oberen Grenze des optimalen Wachstumsbereichs von $1000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ wurde die Eingangs-Bestrahlungsstärke konstant gehalten, um Photoinhibition auf der Reaktoroberfläche zu minimieren. Als Referenz für das Bestrahlungsprofil diente ein Satzprozess mit konstanter Eingangs-Bestrahlungsstärke von $325 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Das Bestrahlungsprofil wurde sowohl für einen unlimitierten Satzprozess zur Biomasseproduktion als auch für einen stickstofflimitierten Satzprozess zur Lipidproduktion untersucht. Das Bestrahlungsprofil für den limitierten Prozess wurde analog erstellt.

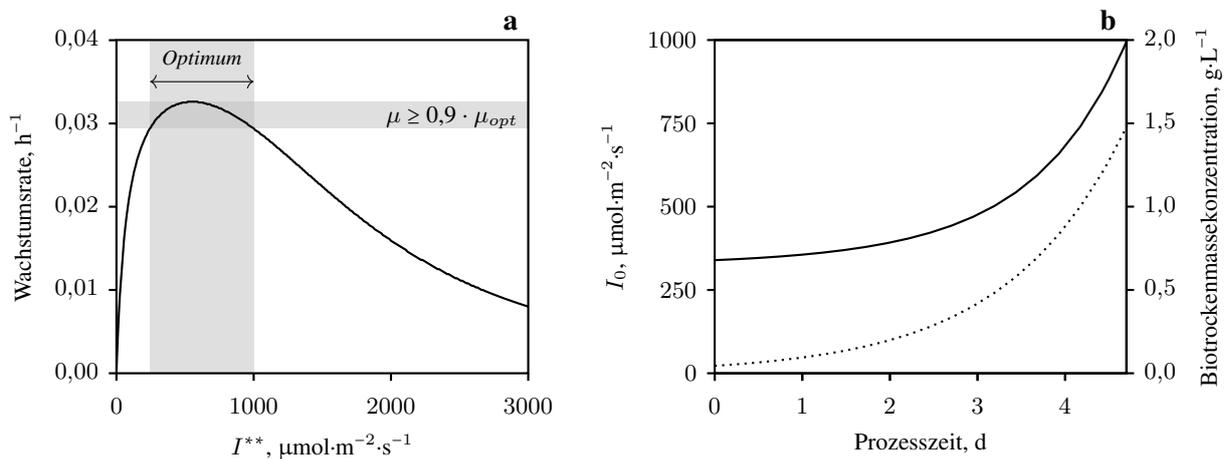


Abbildung 5.14: Ausarbeitung eines Bestrahlungsprofils für *Nannochloropsis salina* in Flachplatten-Photobioreaktoren: Mithilfe der lichtabhängigen Wachstumskinetik (Abbildung 5.9) wurde ein optimaler Bereich (*Optimum*) definiert, in dem die Wachstumsrate mindestens 90 % der optimalen Wachstumsrate beträgt (a). Die untere Grenze des Optimums ($325 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) wurde als I^{**} konstant gehalten und entspricht einer Wachstumsrate von $0,031 \text{ h}^{-1}$. Mit dieser Wachstumsrate und der Anfangs-Biomassekonzentration $c_{x,0} = 0,05 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ wurde die Zunahme der Biomassekonzentration (\cdots) und die daraus resultierende notwendige Eingangs-Bestrahlungsstärke I_0 (—), um I^{**} konstant zu halten, abgeschätzt (b). Mit Erreichen der oberen Grenze ($1000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) des Optimums wurde I_0 nicht mehr verändert.

In Abbildung 5.15 **a** ist die Implementierung des Bestrahlungsprofils für die Biomasseproduktion dargestellt. Die Eingangs-Bestrahlungsstärke wurde gesteigert, bis nach etwa 5,5 Tagen $1000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ erreicht waren; dieser Wert wurde im weiteren Verlauf konstant gehalten. Die kontinuierliche Erhöhung der Eingangs-Bestrahlungsstärke mit steigender Biotrockenmassekonzentration führte dazu, dass die mittlere integrale Bestrahlungsstärke zunächst über die Prozesszeit konstant war (Abbildung 5.15 **a**). Mit Erreichen des Maximalwerts der Eingangs-Bestrahlungsstärke wurde eine kontinuierliche Abnahme der mittleren integralen Bestrahlungsstärke verzeichnet. Letzteres zeigte sich ebenfalls bei konstanter Eingangs-Bestrahlungsstärke, allerdings setzte die Abnahme der mittleren integralen Bestrahlungsstärke hier deutlich früher (Tag 1,5) ein.

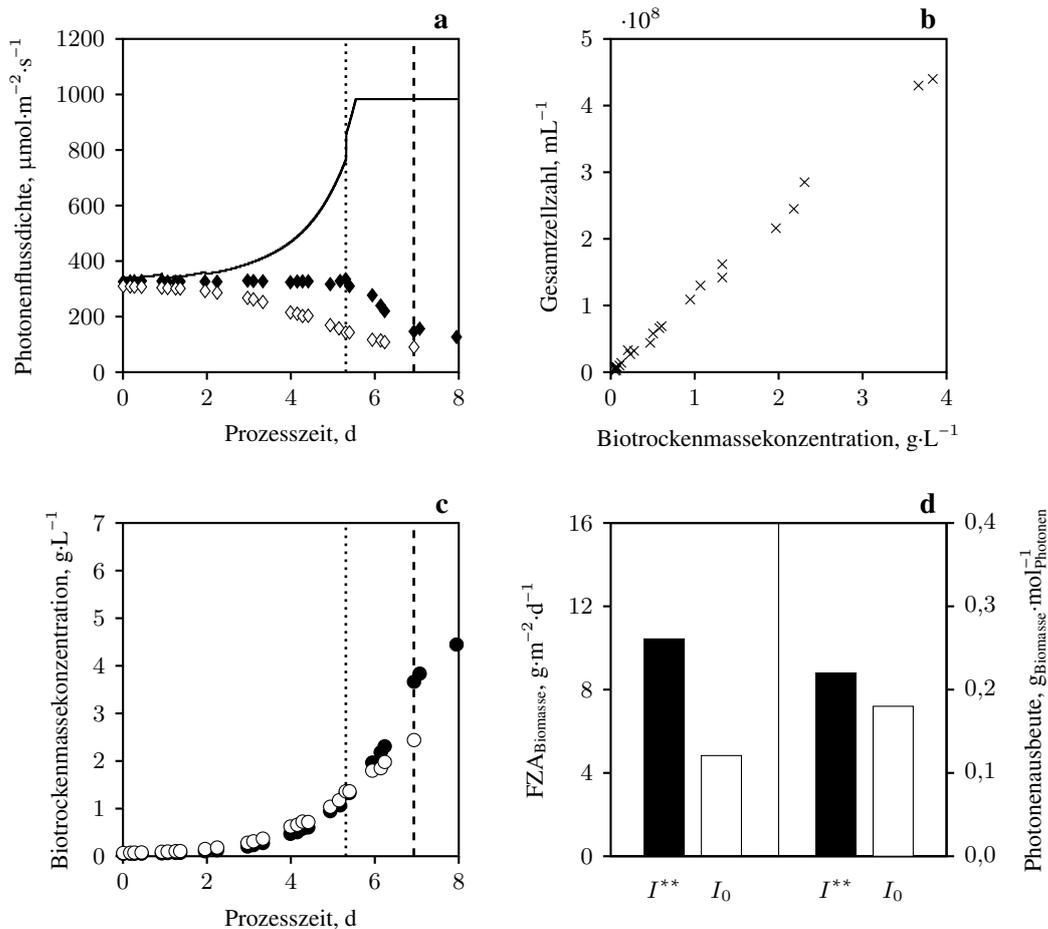


Abbildung 5.15: Vergleichende Darstellung relevanter Prozessparameter zweier unlimitierter Satzprozesse mit *Nannochloropsis salina* zur Biomasseproduktion mit konstanter Eingangsbestrahlungsstärke I_0 von $325 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (weiß) sowie Bestrahlungsprofil mit konstanter mittlerer integraler Photonenflussdichte von $I^{**} = 325 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (schwarz) in Flachplatten-Photobioreaktoren. Das Ende der exponentiellen Wachstumsphase ist durch eine senkrechte Linie (Bestrahlungsprofil - - -, konstante Bestrahlung ·····) gekennzeichnet.

a - Zeitabhängige Steigerung der Eingangsbestrahlungsstärke (—), um die mittlere integrale Bestrahlungsstärke I^{**} (◆) konstant zu halten sowie der zeitliche Verlauf von I^{**} bei konstanter Eingangsbestrahlungsstärke (◇). Nach knapp 5,5 Tagen war aufgrund einer zu geringen mittleren integralen Bestrahlungsstärke die manuelle Anpassung der Eingangs-Bestrahlungsstärke notwendig.

b - Darstellung der Gesamtzellzahl als Funktion der Biomassekonzentration (×) für das Bestrahlungsprofil.

c - Zeitliche Entwicklung der Biotrockenmassekonzentration mit Bestrahlungsprofil (●) und mit konstanter Eingangsbestrahlungsstärke (○). Die Wachstumsrate in der exponentiellen Phase betrug in beiden Fällen $0,031 \text{ h}^{-1}$.

d - Vergleich der erzielten Flächen-Zeit-Ausbeuten (FZA) sowie Photonenausbeuten des Biomasseproduktionsprozesses am Ende der exponentiellen Wachstumsphase mit Bestrahlungsprofil (schwarz, I^{**}) und konstanter Bestrahlung (weiß, I_0)

Wie Abbildung 5.15 c zeigt, beeinflusste die mittlere integrale Bestrahlungsstärke zudem während des Prozesses maßgeblich das Zellwachstum: Mit konstanter Bestrahlung war die exponentielle Wachstumsphase bereits nach fünf Tagen beendet, während das Bestrahlungsprofil diese Phase um zwei Tage verlängerte. Die Wachstumsrate während des exponentiellen Wachstums betrug in beiden Fällen $0,031 \text{ h}^{-1}$ und entsprach der über den optimalen Bereich der mittleren integralen Bestrahlungsstärke eingestellten Wachstumsrate. Die identischen Wachstumsraten bei beiden Bestrahlungsstrategien führten dazu, dass aufgrund identischer Anfangs-Biotrockenmassekonzentrationen die Wachstumskurven die ersten fünf Tage kongruent waren (Abbildung 5.15 c). Beiden Prozessen ist zusätzlich gemein, dass eine mittlere integrale Bestrahlungsstärke von etwa $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ die exponentielle Wachstumsphase beendete. Das Bestrahlungsprofil führte aufgrund der vergleichsweise höheren Photonenverfügbarkeit pro Zelle nicht nur zu einer Verlängerung des exponentiellen Wachstums, sondern in letzter Konsequenz auch zu einer signifikant erhöhten Biomassekonzentration von $3,67 \pm 0,03 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ im Vergleich zu $1,3630 \pm 0,0012 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ mit konstanter Bestrahlung am Ende der exponentiellen Phase. Im Bereich des exponentiellen Wachstums konnte weiterhin ein linearer Zusammenhang zwischen der Gesamtzellzahl und der Biotrockenmassekonzentration beobachtet werden (Abbildung 5.15 b). Dies bedeutet wiederum, dass ein Anstieg der Zelldichte durch die Vermehrung der Zellen und nicht durch morphologische Veränderungen hervorgerufen wurde. Die Implementierung des Bestrahlungsprofils resultierte aufgrund der Verlängerung der exponentiellen Wachstumsphase in einer signifikant erhöhten (+113 %) Flächen-Zeit-Ausbeute von $10,4 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ im Vergleich zu konstanter Bestrahlung ($4,9 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$). Ebenso konnte auch die Photonenausbeute von $0,18 \text{ g}_{\text{Biomasse}}\cdot\text{mol}_{\text{Photonen}}^{-1}$ auf $0,22 \text{ g}_{\text{Biomasse}}\cdot\text{mol}_{\text{Photonen}}^{-1}$ gesteigert werden (Abbildung 5.15 d). Ein weiteres wichtiges Kriterium für die Beurteilung des Bestrahlungsprofils stellt der Energiebedarf dar. Dieser war mit 38 MJ am Ende der exponentiellen Wachstumsphase mit Bestrahlungsprofil um 137 % höher als mit konstanter Bestrahlung (16 MJ). Aus energetischer Sicht ist somit die Anwendung des Bestrahlungsprofils trotz der immensen Steigerung der Flächen-Zeit-Ausbeute nicht sinnvoll.

Für die Untersuchung des Einflusses eines Bestrahlungsprofils auf die Lipidbildung wurden die Zellen aus dem Biomassebildungs-Prozess mit Bestrahlungsprofil steril geerntet und 1:10 mit nitratfreiem Medium in zwei Flachplatten-Photobioreaktoren verdünnt, um identische Ausgangsbedingungen zu schaffen. Die Implementierung des Bestrahlungsprofils für die stickstofflimitierte ($c_{\text{NO}_3} \leq 0,4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) Lipidproduktion mit *N. salina* ist in Abbildung 5.16 a dargestellt. Die Eingangs-Bestrahlungsstärke erreichte bereits nach knapp zwei Tagen den Maximalwert von $1000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Im Vergleich zur Biomasseproduktion wurde dieser wesentlich schneller erreicht, da einerseits die Anfangs-Biomassekonzentration mit $0,4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ deutlich höher war und andererseits eine höhere Wachstumsrate von $0,033 \text{ h}^{-1}$ erreicht wurde. Nachdem I_0 konstant auf $1000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ eingestellt wurde, begann die zuvor konstante mittlere integrale Bestrahlungsstärke leicht abzunehmen und erreichte nach etwa sechs Tagen einen nahezu konstanten Wert von etwa $90 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Im Gegensatz dazu sank die mittlere integrale Bestrahlungsstärke bei konstanter

Eingangs-Bestrahlungsstärke deutlich schneller und erreichte erst nach acht Tagen ein konstantes Niveau von etwa $35 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Sowohl bei konstanter Eingangs-Bestrahlungsstärke als auch bei Nutzung des Bestrahlungsprofils fiel das Ende der linearen Lipidbildung mit dem Erreichen der konstanten mittleren integralen Bestrahlungsstärke zusammen (Abbildung 5.16 c). Zu diesem Zeitpunkt wurde in beiden Fällen die Sättigungs-Lipidkonzentration ($3,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ mit Bestrahlungsprofil und $3,6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ mit konstanter Bestrahlung) erreicht, welche einem Lipidgehalt von $\sim 69 \%$ entspricht. Durch die Verwendung des Bestrahlungsprofils konnte die Sättigungs-Lipidkonzentration zwei Tage schneller erreicht werden als mit konstanter Bestrahlung. Der direkte Vergleich der Lipidbildung zeigt, dass die Konzentration bei beiden Prozessen zunächst identisch mit der Zeit zunahm. Erst nach drei Tagen Limitierung erfolgte die Lipidbildung mit Bestrahlungsprofil schneller als mit konstanter Bestrahlung. Ähnliches kann bei der zeitlichen Veränderung der Biotrockenmassekonzentration beobachtet werden, hier unterscheiden sich die Wachstumskurven bereits nach 1,5 Tagen. Wie Abbildung 5.16 b entnommen werden kann, resultierte der Anstieg der Biomassekonzentration im Gegensatz zu unlimitierten *N. salina* bei der Lipidproduktion mit Bestrahlungsprofil nicht ausschließlich aus einer Zunahme der Zellzahl. Ab einer Biotrockenmassekonzentration von $2,7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ konnte keine Änderung der Zellzahl mehr beobachtet werden. Die steigende Zelldichte wurde ab dieser Konzentration nur noch durch eine morphologische Veränderung der Zellen hervorgerufen. Der mikroskopische Vergleich der limitierten *N. salina* mit Bestrahlungsprofil am Ende der linearen Produktbildung ($c_x = 5,2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) mit den Zellen des Biomassebildungs-Prozesses am Ende der exponentiellen Wachstumsphase (Abbildung 5.15 a), zeigte eine Zunahme des mittleren Zelldurchmessers bei jeweils 50 Zellen von $2,9 \pm 0,4 \mu\text{m}$ auf $4,4 \pm 0,5 \mu\text{m}$. Unter der Annahme, dass der Durchmesser in allen drei Achsen nahezu identisch war, ergibt dies eine Volumenzunahme um das 3,4-fache, was auf die vermehrte Einlagerung von Lipiden zurückzuführen war. Die gesteigerte Lipidakkumulation beeinflusste ebenfalls die Absorption von Licht: Die optische Dichte stieg trotz gleichbleibender Zellzahl. Zusätzlich halbierte sich der spezifische Extinktionskoeffizient auf etwa $0,15 \text{ L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ im Vergleich zum Biomassebildungs-Prozess. Dies resultierte aus dem sukzessiven Abbau des stickstoffhaltigen Antennenpigments Chlorophyll a bei Stickstoffmangel. Der Grundgehalt unlimitierter Zellen während des exponentiellen Wachstums betrug bei *N. salina* in Abhängigkeit der Eingangs-Bestrahlungsstärke zwischen 4 und $10 \text{ mg}_{\text{Chlorophyll}}\cdot\text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1}$. Die Stickstofflimitierung mit Bestrahlungsprofil führte bis zu einer Biotrockenmassekonzentration von $2,7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ zu einem kontinuierlichen Abbau des Chlorophyll a-Gehaltes auf etwa $0,7 \text{ mg}_{\text{Chlorophyll}}\cdot\text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1}$. Im weiteren Verlauf war der Chlorophyll a-Gehalt nahezu konstant (Abbildung 5.16 b). Der Abbau des Antennenpigments resultierte in einer merklichen Veränderung der Färbung der Algensuspension im Prozessverlauf von ursprünglich tiefgrün, zu Beginn des Satzprozesses, zu gelb-orange mit fortschreitender Limitierung. Durch die Implementierung des Bestrahlungsprofils konnte weiterhin die Flächen-Zeit-Ausbeute der Lipidbildung signifikant um 59 % von $6,9 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ mit konstanter Bestrahlung auf $11,0 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ gesteigert werden. Die Photonenausbeute hingegen war unter konstanter Bestrahlung mit $0,24 \text{ g}_{\text{Lipid}}\cdot\text{mol}_{\text{Photonen}}^{-1}$ wesentlich höher als mit Bestrahlungspro-

fil ($0,14 \text{ g}_{\text{Lipid}} \cdot \text{mol}_{\text{Photonen}}^{-1}$, Abbildung 5.16 d). Die Produktivität des Lipidbildungsprozesses konnte mithilfe des Bestrahlungsprofils somit deutlich gesteigert werden. Die Ausnutzung der Photonen zeigte jedoch, dass die Lipidbildung mit konstanter Bestrahlung wesentlich effizienter war. Die Betrachtung des Energiebedarfs der unterschiedlichen Bestrahlungsstrategien spricht zusätzlich gegen die Verwendung des Bestrahlungsprofils: Mit konstanter Bestrahlung wurden während der linearen Lipidbildung lediglich 24 MJ benötigt, das Bestrahlungsprofil benötigte hingegen 60 MJ.

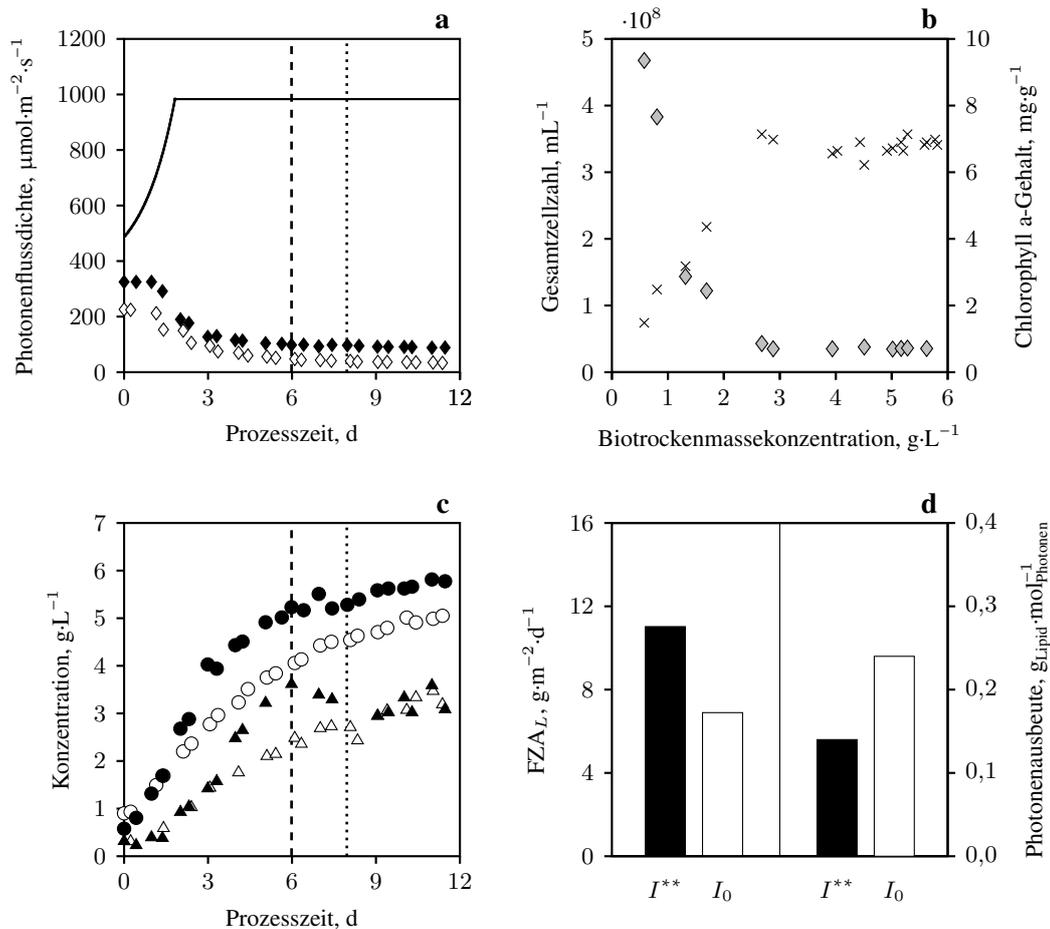


Abbildung 5.16: Vergleichende Darstellung relevanter Prozessparameter zweier stickstofflimitierter Satzprozesse mit *Nannochloropsis salina* zur Lipidproduktion mit konstanter Eingangsbestrahlungsstärke I_0 von $325 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (weiß) sowie Bestrahlungsprofil mit konstanter mittlerer integraler Photonenflussdichte von $I^{**} = 325 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (schwarz) in Flachplatten-Photobioreaktoren. Das Ende der linearen Lipidbildungsphase ist durch eine senkrechte Linie (Bestrahlungsprofil - - -, konstante Bestrahlung ·····) gekennzeichnet.

a - Zeitabhängige Steigerung der Eingangsbestrahlungsstärke (—), um die mittlere integrale Bestrahlungsstärke I^{**} (◆) konstant zu halten sowie der zeitliche Verlauf von I^{**} bei konstanter Eingangsbestrahlungsstärke (◇).

b - Darstellung der Gesamtzellzahl (×) sowie des Chlorophyll a-Gehaltes (◇) als Funktion der Biomassekonzentration für das Bestrahlungsprofil.

c - Zeitliche Entwicklung der Biotrockenmasse (●, ○) und Lipidkonzentration (▲, △) mit Bestrahlungsprofil (schwarz) und mit konstanter Eingangsbestrahlungsstärke (weiß). Die Sättigungskonzentration der Lipide betrug in beiden Fällen etwa 69 % der Biomasse.

d - Vergleich der erzielten Flächen-Zeit-Ausbeuten (FZA) sowie Photonenausbeuten des Lipidproduktionsprozesses am Ende der linearen Lipidproduktionsphase mit Bestrahlungsprofil (schwarz, I^{**}) und konstanter Bestrahlung (weiß, I_0)

Basierend auf der lichtabhängigen Lipidbildungskinetik (Abschnitt 5.3.2) konnte für die lineare Lipidbildung mit Bestrahlungsprofil die spezifische Lipidbildungsrate abgeschätzt werden: Mit der eingesetzten Bestrahlungsstärke von $I^{**} \approx 172 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ sollte theoretisch eine spezifische Lipidbildungsrate von $0,251 \pm 0,006 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ erreicht werden. Tatsächlich wurden $0,28 \pm 0,08 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ gemessen, was innerhalb der Beobachtungsvarianz liegt.

Diskussion

Die Implementierung des Bestrahlungsprofils für einen Satzprozess im Flachplatten-Photobioreaktor resultierte in einer Steigerung der Flächen-Zeit-Ausbeute der Biomassebildung um 113 % auf $10,4 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ ($\hat{=} 0,52 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), verglichen mit konstanter Bestrahlung. Im Vergleich mit der maximal erreichten FZA mit konstanter Bestrahlung und daraus resultierender $I^{**} = 409 \pm 12 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ von $8,8 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ konnte immerhin eine Steigerung um 18 % bewirkt werden, während die Effizienz der Photonennutzung sogar um 120 % durch das Bestrahlungsprofil erhöht werden konnte. In der Literatur werden bei konstanter Bestrahlung Produktivitäten zwischen $0,02$ - $0,36 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ für *Nannochloropsis salina* in einem kontinuierlich betriebenen offenen Labor-Photobioreaktor mit $120 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (Bellou & Aggelis, 2012) beziehungsweise in Blasensäulen mit $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (Ma *et al.*, 2014) genannt. Somit konnte in der vorliegenden Arbeit durch Optimierung der Lichtverfügbarkeit in Flachplatten-Photobioreaktoren die Produktivität von *N. salina* deutlich gesteigert werden. Ein direkter Vergleich ist jedoch schwierig, da nicht nur unterschiedliche Reaktorgeometrien und Lichtquellen, sondern auch der Zustand der Vorkultur die Produktivität maßgeblich beeinflussen können (Terry & Raymond, 1985). Ebenso verhält es sich mit der Produktivität der Lipidbildung: Der Vergleich zwischen Bestrahlungsprofil und konstanter Bestrahlung zeigte eine signifikante Steigerung der Flächen-Zeit-Ausbeute der Lipidbildung um 59 % auf $11,0 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ ($\hat{=} 0,55 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$). Selbst im Vergleich zur Flächen-Zeit-Ausbeute unter optimalen konstanten Bedingungen ($I^{**} = 579 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, Abschnitt 5.3.2) konnte durch das Bestrahlungsprofil eine Steigerung um 30 % erreicht werden. Andere Studien berichten von unterschiedlichen maximalen Lipidproduktivitäten: Während in kontinuierlich betriebenen offenen Labor-Photobioreaktoren mit $120 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ $0,002 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ erreicht wurden (Bellou & Aggelis, 2012), führte ein Satzprozess mit $170 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ in einer Blasensäule zu $0,41 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ (Pal *et al.*, 2011). Ebenfalls in Blasensäulen mit $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ erreichten Ma *et al.* (2014) mit *N. salina* Lipidproduktivitäten von etwa $0,13 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$.

Die Photonenausbeute als Maß für die Effizienz des Prozesses konnte lediglich für die Biomasseproduktion durch das Bestrahlungsprofil gesteigert werden. Für die Bildung der Lipide wurden im direkten Vergleich mit Bestrahlungsprofil wesentlich weniger Lipide pro mol Photonen gebildet. Das Bestrahlungsprofil wurde auf der Basis der lichtabhängigen Wachstumskinetik entworfen, welche die Lipidbildung jedoch nicht berücksichtigt. Es ist bekannt, dass sich im Zuge der vermehrten Lipidakkumulation durch Stickstoffmangel die Absorptionseigenschaften von Mikroalgen ändern können (Thompson, 1996), was auch in dieser Arbeit be-

obachtet wurde. Vermutlich bedingte die unzureichende Stickstoffversorgung den Abbau des Lichtsammel-pigments Chlorophyll a, von knapp $10 \text{ mg}_{\text{Chlorophyll}} \cdot \text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1}$ zu Beginn der Limitierung, auf einen konstanten Gehalt von etwa $0,7 \text{ mg}_{\text{Chlorophyll}} \cdot \text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1}$. Bis dieser konstante Chlorophyll a-Gehalt erreicht war, konnte zeitgleich eine Zunahme der Biotrockenmassekonzentration auf bis zu $2,7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ beobachtet werden, welche hauptsächlich auf eine Zunahme der Zellzahl zurückzuführen war. Diese Zunahme kann wahrscheinlich zum Teil auf den Verbrauch des restlichen Nitrats ($\leq 0,4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) im Medium zurückgeführt werden: Auf diesem Weg könnten bis zu $0,8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ($Y_{x/\text{NO}_3} = 2 \text{ g}_{\text{Biomasse}} \cdot \text{g}_{\text{NO}_3}^{-1}$) zusätzliche Biomasse gebildet werden, was unter Berücksichtigung der Anfangskonzentration zu einer Gesamtkonzentration von maximal $1,2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ geführt hätte. Für den Aufbau der restlichen $1,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ Zellsubstanz nutzte *N. salina* vermutlich nach Eintreten des extrazellulären Stickstoffmangels intrazelluläre Stickstoffverbindungen wie Chlorophyll a. Erst mit Erreichen eines essentiellen Grundgehaltes des Chlorophylls ($0,7 \text{ mg}_{\text{Chlorophyll}} \cdot \text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1}$), stellten die Mikroalgen die Zellteilung ein und führten die Lichtenergie in vermehrte Bildung von Lipiden ab. Zusätzlich wurde bei der vergleichsweise hohen Eingangs-Bestrahlungsstärke von $1000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ die Zunahme des Verhältnisses von Carotinoiden zu Chlorophyll a mit fortschreitender Prozesszeit beobachtet. Dies deutet darauf hin, dass *N. salina* die geringere Chlorophyll-Konzentration pro Zelle durch die vermehrte Bildung von Carotinoiden als alternative Energieakzeptoren kompensiert. Zudem bewirken die Lipid-Einschlusskörper eine erhöhte Absorption des Lichts (Sharma *et al.*, 2012; Thompson, 1996). Diesen Aspekten könnte Rechnung getragen werden, indem eine gesonderte lichtabhängige Wachstumskinetik für limitierte Algensuspensionen mit gesteigertem Lipidgehalt ermittelt wird. Unter Vernachlässigung energetischer Aspekte ist das Bestrahlungsprofil insgesamt sehr gut geeignet, um die Biomasseproduktion zu maximieren und gleichzeitig die Effizienz der Ausnutzung der Photonen zu steigern. Die Flächen-Zeit-Ausbeute der Lipidbildung konnte zwar gesteigert werden, das Bestrahlungsprofil ist jedoch für diese Anwendung noch nicht optimal.

5.5 Untersuchung der temperaturabhängigen Wachstumskinetik von *Nannochloropsis salina*

Ebenso wie Licht beeinflusst die Temperatur maßgeblich die Photosynthese und ist bei Prozessen in offenen Reaktoren unter realen Klimabedingungen dynamisch und schwer kontrollierbar. Für die Auswahl einer potentiell geeigneten Mikroalge für die Lipidproduktion im technischen Maßstab ist demnach der Temperaturbereich, in dem Wachstum stattfinden kann, von großem Interesse.

Die Untersuchung des temperaturabhängigen Wachstums von *Nannochloropsis salina* erfolgte mit sechs unterschiedlichen konstanten Temperaturen zwischen $15 \text{ }^\circ\text{C}$ und $40 \text{ }^\circ\text{C}$ in unlimitierten Satzprozessen in Flachplatten-Photobioreaktoren. Die Eingangs-Bestrahlungsstärke betrug konstant $639 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, so dass bis zu einer Biomassekonzentration von etwa $0,8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ der zuvor definierte optimale Bereich der

integralen Bestrahlungsstärke ($I^{**} = 325\text{-}1000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) erreicht werden konnte. Auf eine höhere Eingangs-Bestrahlungsstärke wurde verzichtet, um verstärkt auftretende Photoinhibition bei sub- sowie supraoptimalen Temperaturen zu vermeiden (Abschnitt 3.2.4). Die gewählte Bestrahlungsstärke stellt somit einen Kompromiss zwischen optimaler Bestrahlung und Verminderung möglicher photoinhibitorischer Effekte dar.

In Abbildung 5.17 ist die Biotrockenmassekonzentration als Funktion der Zeit bei den sechs Temperaturen 15 °C, 20 °C, 25 °C, 30 °C, 35 °C und 40 °C dargestellt. Während bei 15 °C nur ein minimaler Anstieg der Biotrockenmassekonzentration zu erkennen ist, wurde bereits bei 20 °C eine Zelldichte von $2,27 \pm 0,03 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ am Ende der exponentiellen Wachstumsphase (hellgrau hinterlegt) erreicht. Bei 25 °C und 30 °C kann auf den ersten Blick kein signifikanter Unterschied der Wachstumskurven sowie der Biotrockenmassekonzentration (etwa $2,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) nach exponentiellem Wachstum beobachtet werden. Eine weitere Erhöhung der Temperatur auf 35 °C führte zu einer Abnahme der maximal erreichbaren Zelldichte, während bei 40 °C kein Wachstum mehr verzeichnet werden konnte. Die Wachstumsrate bei der höchsten Temperatur wurde trotz der sinkenden Zelldichte als 0 h^{-1} definiert. Die Dauer des exponentiellen Wachstums wurde ebenfalls von der Temperatur beeinflusst: Bis 30 °C führte die Erhöhung der Temperatur zu einer Verkürzung der exponentiellen Wachstumsphase, bei 35 °C verlängerte sich diese Phase etwas.

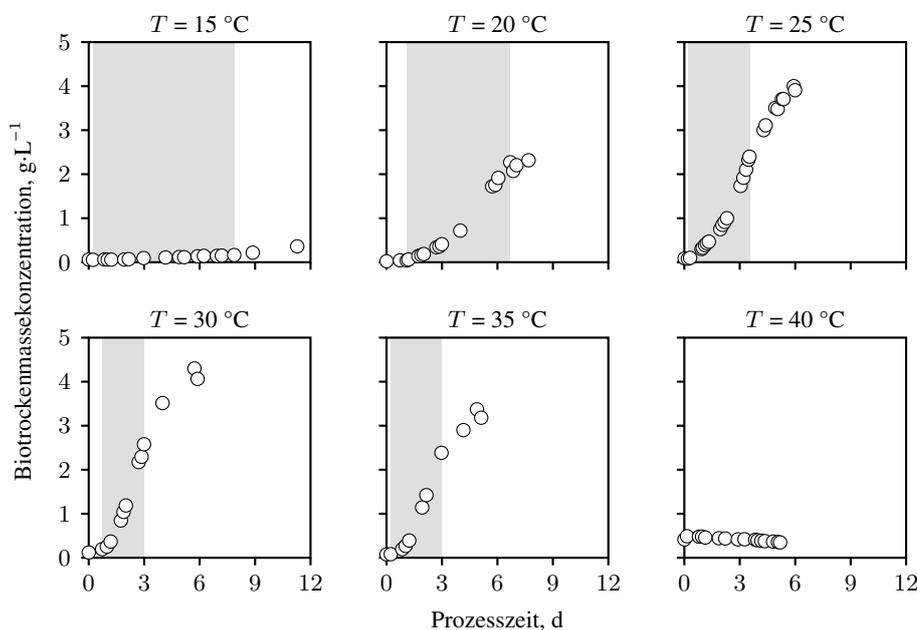


Abbildung 5.17: Darstellung der Biotrockenmassekonzentration von *Nannochloropsis salina* als Funktion der Prozesszeit und der Temperatur T bei unlimitierten Satzprozessen in Flachplatten-Photobioreaktoren ($I_0 = 639 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Die exponentielle Wachstumsphase ist jeweils hellgrau hinterlegt.

Für die Untersuchung der temperaturabhängigen Wachstumskinetik wurde die Wachstumsrate in der exponentiellen Phase aus den in Abbildung 5.17 gezeigten Wachstumskurven ermittelt und in Abbildung 5.18 als Funktion der Temperatur aufgetragen. Es zeigt sich der charakteristische Kurvenverlauf der Temperaturabhängigkeit phototropher Organismen: Bis zu einer minimalen Temperatur ist kein Wachstum möglich,

daraufhin steigt die Wachstumsrate deutlich mit steigender Temperatur an, bis schließlich das Temperatur optimum überschritten wird. Der darauf folgende Abfall der Wachstumsrate mit steigender Temperatur ist meist wesentlich ausgeprägter als die vorherige Zunahme mit der Temperatur. Im vorliegenden Fall wurde bei 15 °C eine Wachstumsrate von $0,0042 \pm 0,0002 \text{ h}^{-1}$ erreicht. Mit Erhöhung der Temperatur auf 20 °C konnte diese auf $0,0184 \pm 0,0009 \text{ h}^{-1}$ fast verfünffacht werden. Während die Temperatursteigerung auf 25 °C nahezu eine Verdopplung der Wachstumsrate auf $0,032 \pm 0,0005 \text{ h}^{-1}$ bewirkte, konnten weitere 5 °C mehr diese lediglich auf $0,035 \pm 0,0015 \text{ h}^{-1}$ steigern. Mit Überschreiten dieser Temperatur verringerte sich die Wachstumsrate zunächst auf $0,029 \pm 0,0025 \text{ h}^{-1}$ bei 35 °C, bis schließlich bei 40 °C kein Wachstum mehr beobachtet werden konnte. Die Abnahme der Wachstumsrate bei Temperaturen oberhalb des Temperatur optimums ist auch in diesem Fall wesentlich deutlicher als die Zunahme des Wachstums mit steigender Temperatur unterhalb des Optimums. Für die Identifizierung der kinetischen Parameter wurde zunächst versucht, die temperaturabhängigen Wachstumsraten mit unterschiedlichen *Arrhenius*-basierten Modellen zu beschreiben. Nachdem diese Modelle die experimentellen Daten nicht zufriedenstellend wiedergeben konnten (Ergebnisse nicht dargestellt), wurde auf das *CTMI*-Modell (Gleichung 3.30) zurückgegriffen.

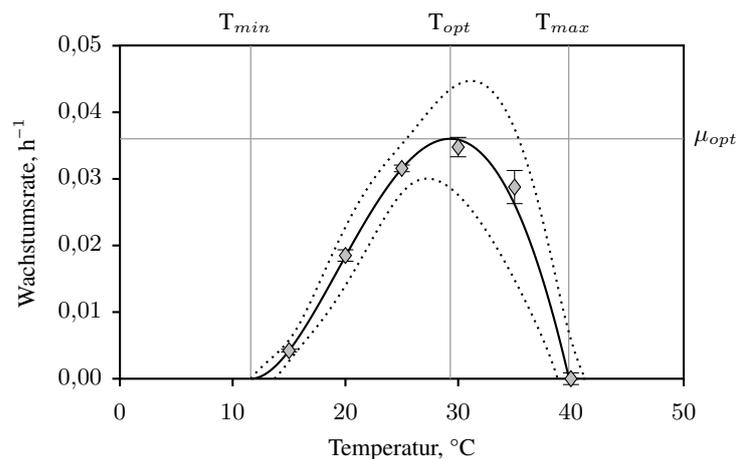


Abbildung 5.18: Darstellung der spezifischen Wachstumsraten bei unlimitiertem Wachstum von *Nannochloropsis salina* in Flachplatten-Photobioreaktoren ($I_0 = 639 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) in Abhängigkeit der Temperatur. Die experimentellen Daten (\diamond) können mit dem *CTMI*-Modell (Gleichung 3.30, —) mit dem 95 %-Konfidenzintervall (·····) wiedergegeben werden. Die Standardabweichungen ergeben sich aus der exponentiellen Regression zur Bestimmung der Wachstumsrate. Unterhalb der minimalen Temperatur T_{min} und oberhalb der maximalen Temperatur T_{max} ist kein Wachstum mehr möglich. Das Wachstumsoptimum $\mu_{opt} = 0,036 \pm 0,002 \text{ h}^{-1}$ wird bei der optimalen Temperatur T_{opt} von $29,3 \pm 0,7 \text{ °C}$ erreicht.

Die Interpolation der experimentellen Daten mit dem *CTMI*-Modell ist in Abbildung 5.18 mit den 95 %-Konfidenzbändern dargestellt und zeigt eine sehr gute Übereinstimmung mit diesen Daten. Die mit diesem Modell identifizierten kinetischen Parameter in Form der drei Kardinaltemperaturen sowie die optimale Wachstumsrate sind in Tabelle 5.4 zusammengefasst. Unterhalb der minimalen Temperatur $T_{min} = 11,6 \pm 0,6 \text{ °C}$ und oberhalb der maximalen Temperatur $T_{max} = 39,8 \pm 0,2 \text{ °C}$ ist für *Nannochloropsis salina* kein Wachstum möglich. Zwischen diesen beiden Extremwerten liegt das Temperaturoptimum $T_{opt} = 29,3 \pm 0,7 \text{ °C}$, welches zu einer optimalen Wachstumsrate von $\mu_{opt} = 0,036 \pm 0,002 \text{ h}^{-1}$ führt. Die

relativ geringen Standardabweichungen sprechen trotz der geringen Datendichte dafür, dass das Modell die tatsächliche Temperaturabhängigkeit von *N. salina* in Bezug auf das Wachstum sehr gut widerspiegelt.

Tabelle 5.4: Auflistung der über Minimierung der Fehlerquadratsumme (Gleichung 3.30) identifizierten kinetischen Parameter für die Beschreibung des temperaturabhängigen unlimitierten Wachstums von *Nannochloropsis salina* in Flachplatten-Photobioreaktoren (Abbildung 5.18).

μ_{opt}	optimale Wachstumsrate	$0,036 \pm 0,002$	h^{-1}
T_{min}	minimale Temperatur	$11,6 \pm 0,6$	$^{\circ}\text{C}$
T_{opt}	optimale Temperatur	$29,3 \pm 0,7$	$^{\circ}\text{C}$
T_{max}	maximale Temperatur	$39,8 \pm 0,2$	$^{\circ}\text{C}$

Diskussion

Die temperaturabhängige Wachstumskinetik von *Nannochloropsis salina* lieferte im Rahmen dieser Arbeit ein von bisher in der Literatur angegebenen Wachstumsoptima zwischen 25°C und 28°C (Boussiba *et al.*, 1987; Sukenik, 1991; van Wageningen *et al.*, 2012) leicht abweichendes Temperaturoptimum von $29,3 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$. In Erlenmeyerkolben unter konstanter Bestrahlung mit $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ wurde beispielsweise von van Wageningen *et al.* (2012) für diese Alge ein Temperaturoptimum von 26°C , aus acht unterschiedlichen Temperaturen, identifiziert. Oberhalb einer Temperatur von 35°C und unterhalb von etwa 12°C konnte kein Wachstum mehr beobachtet werden. In Bezug auf die Kardinaltemperaturen scheint somit die in dieser Studie ermittelte Temperaturabhängigkeit relativ ähnlich zu der in dieser Arbeit beobachteten Wachstumskinetik zu sein. Ein direkter Vergleich gestaltet sich hier jedoch aufgrund der unterschiedlichen Reaktionssysteme und Eingangs-Bestrahlungsstärken schwierig. Sandnes *et al.* (2005) untersuchten das temperaturabhängige Wachstum von *Nannochloropsis oceanica* und konnten ebenfalls ähnliche Abhängigkeiten beschreiben. Das Temperaturoptimum lag hier im Bereich von 29°C . Oberhalb von 35°C konnte kein Wachstum beobachtet werden und eine Temperatur von 15°C führte bereits zu einer deutlichen Reduktion der Wachstumsrate. Weiterhin ergab sich in dieser Studie eine signifikante Abhängigkeit der temperaturabhängigen Wachstumskinetik von der vorherrschenden Bestrahlungsstärke. Bereits eine Erhöhung der Bestrahlung von 34 auf $80 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ im Bereich des Temperaturoptimums resultierte in einer Steigerung der Wachstumsrate um 30% . Diese wechselseitige Abhängigkeit von Licht und Temperatur in Bezug auf das Mikroalgenwachstum wurde auch von Sorokin & Krauss (1962) für *Chlorella pyrenoidosa* beobachtet. Im Bereich sub- und supraoptimaler Temperaturen wurden deutlich niedrigere Wachstumsraten bei identischen Bestrahlungsstärken erreicht. Zudem tritt bei Temperaturen ober- und unterhalb des Optimums bei deutlich niedrigeren Bestrahlungsstärken Lichtsättigung und sogar Photoinhibition auf. Borowitzka (2005) und Vonshak *et al.* (2001) berichteten ebenfalls von verstärkt auftretender Photoinhibition bei vergleichsweise niedrigen Bestrahlungsstärken unter sub- und supraoptimalen Temperaturen.

6 Reaktionstechnische Charakterisierung von *Nannochloropsis gaditana* in Flachplatten-Photobioreaktoren¹

In den nachfolgenden Abschnitten werden zunächst die Nährstoffnutzung von *Nannochloropsis gaditana* sowie deren Lichtabsorptionseigenschaften untersucht. Weiterhin wird das lichtabhängige Wachstum von *N. gaditana* charakterisiert, basierend darauf ein Bestrahlungsprofil zur Steigerung der Produktivität erstellt und die Temperaturabhängigkeit des Wachstums betrachtet. Abschließend werden die beiden Spezies *Nannochloropsis gaditana* und *Nannochloropsis salina* vergleichend betrachtet.

6.1 Einfluss des Nährstoffangebotes auf das Wachstum

In Abschnitt 5.1 wurde bereits die Nutzung der Nährstoffe Stickstoff und Phosphor durch *Nannochloropsis salina* untersucht und basierend darauf die Kaliumnitrat-Konzentration des ASW-Mediums auf $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ erhöht. Aufgrund der engen Verwandtschaft der beiden Mikroalgen *N. gaditana* und *N. salina* kann angenommen werden, dass verfügbare Nährstoffe auf nahezu identische Weise aufgenommen und metabolisiert werden. Um dies bestätigen zu können, wurde die Nitrataufnahme sowie die daraus resultierende Biomasse-Ausbeute und der Einfluss des Verhältnisses von Stickstoff und Phosphor bei Verwendung des modifizierten ASW-Mediums untersucht.

Der Biomasse-Ausbeutekoeffizient und die spezifische Nitrat-Aufnahmerate von *N. gaditana* in der exponentiellen Wachstumsphase wurden in unlimitierten Satzprozessen in Flachplatten-Photobioreaktoren bei unterschiedlichen Eingangs-Bestrahlungsstärken (186 und $322 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) und $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ermittelt und sind in Tabelle 6.1 zusammengefasst. Unabhängig von der Eingangs-Bestrahlungsstärke konnten von *N. gaditana* unter Verwendung von 1 g Nitrat $2,20 \text{ g}$ Biomasse gebildet werden. Die spezifischen Aufnahmeraten waren bei beiden Eingangs-Bestrahlungsstärken vergleichbar: $0,31 \text{ g}_{\text{NO}_3} \cdot \text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ($186 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) und $0,32 \text{ g}_{\text{NO}_3} \cdot \text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ($322 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Die höhere Eingangs-Bestrahlungsstärke führte zwar zu einer geringfügig höheren Wachstumsrate von $0,0295 \pm 0,0005 \text{ h}^{-1}$ im Vergleich zu $0,0288 \pm 0,0010 \text{ h}^{-1}$, unter Berücksichtigung der Beobachtungsvarianz sind diese jedoch nahezu identisch. Aufgrund der vergleichsweise hohen Wachstumsraten kann eine negative Beeinflussung des Wachstums durch die erhöhte Kaliumnitrat-Konzentration ausgeschlossen werden.

¹Teile der Ergebnisse wurden bereits publiziert in:

Pfaffinger CE, Schöne D, Trunz S, Löwe H, Weuster-Botz D (2016): Model-based optimization of microalgae areal productivity in flat-plate gas-lift photobioreactors. *Algal Research* 20: 153–163; DOI: 10.1016/j.algal.2016.10.002

Tabelle 6.1: Zusammenfassung des Biomasse-Ausbeutekoeffizienten Y_{x/NO_3} in Bezug auf den essentiellen Nährstoff Nitrat NO_3 sowie der spezifischen Nitrat-Aufnahmerate q_{NO_3} von *Nannochloropsis gaditana* unter unlimitierten Bedingungen in Flachplatten-Photobioreaktoren bei verschiedenen Eingangs-Bestrahlungsstärken I_0 .

Y_{x/NO_3}	Biomasse-Ausbeute in Bezug auf NO_3	$186 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	2,20	$\text{g}_{\text{Biomasse}}\cdot\text{g}_{\text{NO}_3}^{-1}$
		$322 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	2,20	$\text{g}_{\text{Biomasse}}\cdot\text{g}_{\text{NO}_3}^{-1}$
q_{NO_3}	spezifische Nitrat-Aufnahmerate	$186 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	0,31	$\text{g}_{\text{NO}_3}\cdot\text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$
		$322 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	0,32	$\text{g}_{\text{NO}_3}\cdot\text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$

Die Untersuchung des Einflusses des N:P-Verhältnisses auf das Wachstum von *N. gaditana* erfolgte in Satzprozessen in Blasensäulenreaktoren mit Eingangs-Bestrahlungsstärken von $I_0 = 83 \pm 17 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Die Kaliumnitrat-Konzentration betrug zu Beginn $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, während die Kaliumdihydrogenphosphat-Anfangskonzentration variierte ($0,05$ - $1,52 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$). Die Variation der Phosphat-Konzentration lieferte unterschiedliche N:P-Verhältnisse zwischen 2:1 und 59:1, wobei 44:1 dem Verhältnis des modifizierten ASW-Mediums entsprach. In den exponentiellen Wachstumsphasen der Satzprozesse wurden die Wachstumsraten bestimmt und in Abbildung 6.1 vergleichend als Funktion des N:P-Verhältnisses dargestellt.

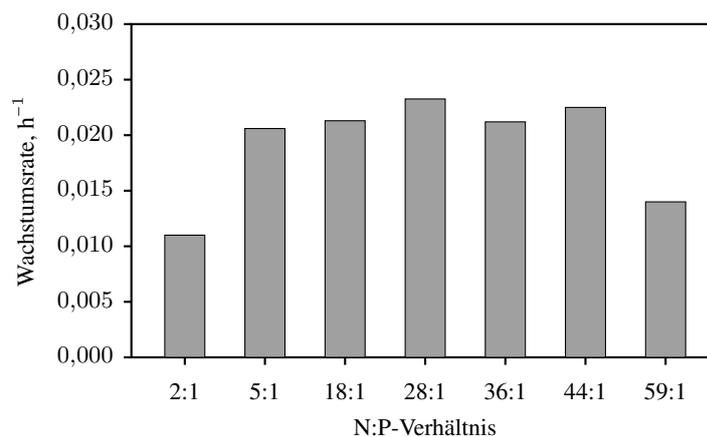


Abbildung 6.1: Darstellung der Wachstumsraten von *Nannochloropsis gaditana* bei unlimitierten Satzprozessen in Blasensäulenreaktoren als Funktion des initialen Verhältnisses von Stickstoff zu Phosphor (N:P). Das N:P-Verhältnis von 44:1 entspricht dem modifizierten ASW-Medium.

Lediglich das niedrigste sowie das höchste N:P-Verhältnis von 2:1 beziehungsweise 59:1 führten zu einer deutlichen Verlangsamung des Wachstums auf $0,011 \text{ h}^{-1}$ beziehungsweise $0,014 \text{ h}^{-1}$. Die übrigen N:P-Verhältnisse von 5:1, 18:1, 28:1, 36:1 und 44:1 bedingten vergleichbare Wachstumsraten um $0,022 \text{ h}^{-1}$.

Diskussion

Die Ermittlung des Biomasse-Ausbeutekoeffizienten und der spezifischen Nitrat-Aufnahmerate von *N. gaditana* ergab mit *N. salina* vergleichbare Ergebnisse: Die Ausbeuten ergaben sich zu $2,02 \text{ g}_{\text{Biomasse}}\cdot\text{g}_{\text{NO}_3}^{-1}$ für *N. salina* und $2,20 \text{ g}_{\text{Biomasse}}\cdot\text{g}_{\text{NO}_3}^{-1}$ für *N. gaditana*; die Aufnahmeraten waren mit $0,33 \text{ g}_{\text{Biomasse}}\cdot\text{g}_{\text{NO}_3}^{-1}$ (*N. salina*, $220 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), $0,31 \text{ g}_{\text{Biomasse}}\cdot\text{g}_{\text{NO}_3}^{-1}$ (*N. gaditana*, $186 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) sowie $0,32 \text{ g}_{\text{Biomasse}}\cdot\text{g}_{\text{NO}_3}^{-1}$

(*N. gaditana*, $322 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) ebenfalls vergleichbar. Wie auch bei *N. salina* hatte das initiale N:P-Verhältnis zumindest zwischen 5:1 und 44:1 keinen signifikanten Einfluss auf die Wachstumsrate. Dies widerspricht den Ergebnissen von Camacho-Rodríguez *et al.* (2013), welche für *Nannochloropsis gaditana* ein Verhältnis von 60:1 als optimal für das Wachstum identifizierten. In der vorliegenden Arbeit führte ein ähnliches Verhältnis von 59:1 bereits zu einer merklichen Reduktion der Wachstumsrate. Das N:P-Verhältnis von 44:1 entspricht dem modifizierten ASW-Medium und resultierte in einer Wachstumsrate, welche mit jener von *N. salina* in Blasensäulenreaktoren vergleichbar ist. Um die Vergleichbarkeit der beiden Stämme gewährleisten zu können, wurde somit das modifizierte ASW-Medium auch für *N. gaditana* beibehalten.

6.2 Untersuchung des Absorptionsverhaltens von *Nannochloropsis gaditana*

Nannochloropsis gaditana und *Nannochloropsis salina* sind derselben Gattung untergeordnet und weisen innerhalb des phylogenetischen Baumes die engste Verwandtschaft aller *Nannochloropsis* sp. auf. Somit kann davon ausgegangen werden, dass aufgrund der grundsätzlichen Übereinstimmung in Größe, Zellstruktur sowie Aufbau der Antennenpigmente und akzessorischen Pigmente auf vergleichbare Absorptionseigenschaften dieser beiden Spezies geschlossen werden kann. Um dies zu überprüfen, wurde mit *N. gaditana* ein Satzprozess im Flachplatten-Photobioreaktor bei einer Eingangs-Bestrahlungsstärke von $1200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ unter unlimitierten Bedingungen durchgeführt.

In Abbildung 6.2 a ist sowohl die Biotrockenmassekonzentration als auch die durch den Reaktor transmittierte Photonenflussdichte als Funktion der Prozesszeit dargestellt. Ohne Verzögerungsphase konnte exponentielles Wachstum (hellgrau hinterlegter Bereich) mit einer Wachstumsrate von $0,0206 \pm 0,0012 \text{ h}^{-1}$ bis 3,8 Tage nach Inokulation beobachtet werden. Gleichzeitig wurde die Eingangs-Bestrahlungsstärke komplementär zur steigenden Biotrockenmassekonzentration mit fortschreitender Prozesszeit abgeschwächt. Mit Erreichen einer transmittierten Photonenflussdichte von unter 2 % der Eingangs-Bestrahlungsstärke wurde das exponentielle Wachstum von *N. gaditana* beendet, wobei eine Biotrockenmassekonzentration von $2,13 \pm 0,01 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ gebildet werden konnte.

Für jeden Datenpunkt in der exponentiellen Phase wurde nach dem Lambert-Beer'schen Gesetz (Gleichung 3.20) der spezifische Extinktionskoeffizient bestimmt und in Abbildung 6.2 b als Funktion der Biotrockenmassekonzentration aufgetragen. Zu Beginn des Satzprozesses entsprach der Extinktionskoeffizient mit $4,3 \text{ L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ noch dem für Zellen aus einer Vorkultur mit geringer Bestrahlung entstammenden üblichen Wert. Mit fortschreitender Prozesszeit und steigender Zelldichte näherte sich der Extinktionskoeffizient einem konstanten Wert von etwa $0,8 \text{ L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ an. Diese Anpassung des Extinktionskoeffizienten resultierte vermutlich aus der Photoakklimation der Mikroalgen an die veränderten Umgebungsbedingungen: Der Unterschied zwischen den Eingangs-Bestrahlungsstärken der Vorkultur ($\sim 83 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) und die-

ses Satzprozesses ($1200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) führte zu einer sukzessiven Reduktion des Chlorophyll a-Gehaltes, wahrscheinlich als Reaktion auf die ausreichende Lichtverfügbarkeit (Abbildung 6.2 b).

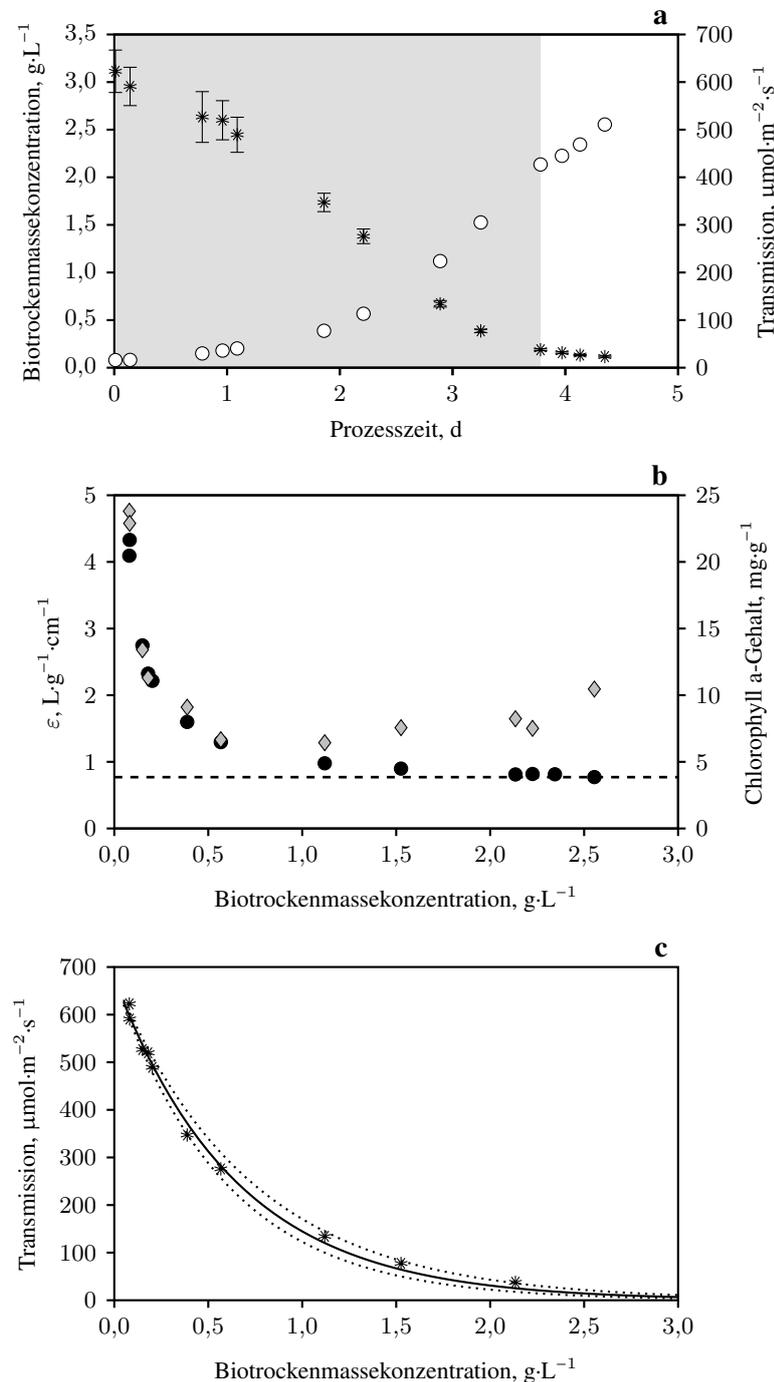


Abbildung 6.2: Darstellung der Biotrockenmassekonzentration (○) sowie der Transmission durch den Flachplatten-Photobioreaktor (*) als Funktion der Zeit eines unlimitierten Satzprozesses mit *Nannochloropsis gaditana* bei einer Eingangs-Bestrahlungsstärke von $1200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (a). Die exponentielle Wachstumsphase ist hellgrau hinterlegt. Mit dem Lambert-Beer'schen Gesetz wurde für jeden Messpunkt der spezifische Extinktionskoeffizient ε (●) und nach Gleichung 4.4 der spezifische Chlorophyll a-Gehalt (◇) bestimmt und in Abhängigkeit der Biotrockenmassekonzentration aufgetragen. Ab einer Biotrockenmassekonzentration von etwa $1,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ blieb der Extinktionskoeffizient nahezu konstant bei etwa $0,77 \text{ L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ (- - -) (b). Nachdem der Extinktionskoeffizient aufgrund des *Siebeffektes* des Chlorophylls in der exponentiellen Phase nicht konstant war, wurde dieser durch Minimierung der Fehlerquadratsumme mit dem Lambert-Beer'schen Gesetz (—) mit dem 95 %-Konfidenzintervall (·····) für diese Phase zu $0,77 \pm 0,04 \text{ L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ identifiziert (c).

Abbildung 6.2 **b** kann entnommen werden, dass der Chlorophyll a-Gehalt von anfangs $24 \text{ mg}_{\text{Chlorophyll}} \cdot \text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1}$ bis zu einer Biotrockenmassekonzentration von $0,6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ auf etwa $6,5 \text{ mg}_{\text{Chlorophyll}} \cdot \text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1}$ abnahm. In der Folge blieb dieser zunächst konstant und begann ab einer Biotrockenmassekonzentration von $1,1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ bis auf $10 \text{ mg}_{\text{Chlorophyll}} \cdot \text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1}$ anzusteigen, während der Extinktionskoeffizient keine Änderung mehr erfuhr. Trotz der vermehrten Bildung von Chlorophyll reichte ab einer Zelldichte von $2,13 \pm 0,01 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ die Absorptionskapazität der Zellen vermutlich nicht mehr aus, um exponentielles Wachstum zu gewährleisten – es wurde lineares Wachstum erreicht.

Für die Ermittlung eines für die exponentielle Wachstumsphase gültigen Extinktionskoeffizienten wurde in der exponentiellen Wachstumsphase die Transmission als Funktion der Biotrockenmassekonzentration in Abbildung 6.2 **c** dargestellt. Die experimentellen Datenpunkte wurden mit den Lichtabschwächungs-Modellen nach den Gleichungen 3.20-3.22 approximiert, wobei das Lambert-Beer'sche Gesetz die beste Übereinstimmung mit dem höchsten Bestimmtheitsmaß zeigte. Auch die niedrigen Konfidenzbänder in Abbildung 6.2 **c** sprechen dafür, dass dieses Gesetz sehr gut geeignet ist, um den spezifischen Extinktionskoeffizienten zu $0,77 \pm 0,04 \text{ L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ zu ermitteln. Dieser Wert entspricht dem konstanten ε von etwa $0,77 \text{ L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ der punktweisen Bestimmung in Abbildung 6.2 **b** ab einer Zelldichte von etwa $1,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. Die beschriebenen Zusammenhänge konnten zusätzlich für weitere Eingangs-Bestrahlungsstärken zwischen 100 und $620 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ in übereinstimmender Weise gezeigt werden (Ergebnisse nicht dargestellt).

Diskussion

Die Untersuchung der Absorptionseigenschaften von *Nannochloropsis gaditana* zeigte, dass diese wie bereits vermutet, jenen von *Nannochloropsis salina* sehr ähnlich sind. Zur Beschreibung der Lichtabschwächung durch die Mikroalgensuspension eignet sich ebenfalls das Lambert-Beer'sche Gesetz am besten. Die Extinktionskoeffizienten bei vergleichbaren Eingangs-Bestrahlungsstärken (1108 und $1200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) weichen mit $0,67 \text{ L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (*N. salina*) beziehungsweise $0,77 \text{ L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (*N. gaditana*) um 14% voneinander ab. Beiden Spezies ist jedoch gemein, dass, je höher die Eingangs-Bestrahlungsstärke, desto niedriger der Extinktionskoeffizient. Dieser wurde zudem im Prozessverlauf maßgeblich durch den Chlorophyll a-Gehalt beeinflusst. Die Menge an Chlorophyll pro Zelle zu Beginn des Satzprozesses entsprach typischerweise jener Menge in der Vorkultur in Blasensäulenreaktoren von 20 - $25 \text{ mg}_{\text{Chlorophyll}} \cdot \text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1}$ und nahm mit der Prozesszeit unabhängig von der Eingangs-Bestrahlungsstärke zunächst ab. Dieser Vorgang entspricht vermutlich den Anpassungsreaktionen der Mikroalgen an die erhöhte Lichtverfügbarkeit im Flachplatten-Photobioreaktor. Mit steigender Zelldichte führte die zunehmende gegenseitige Beschattung der Zellen in Abhängigkeit von der Eingangs-Bestrahlungsstärke wohl zu einer Erhöhung des Chlorophyll a-Gehaltes. Je höher die Bestrahlungsstärke war, desto höher war die Zelldichte, ab der mutmaßlich die Beschattungseffekte Einfluss auf die Lichtabsorption nahmen und die Chlorophyll-Produktion angeregt wurde. Unabhängig von der Bestrahlungsstärke und der daraus resultierenden maximalen Zelldichte konnte für *N. gaditana* ebenso

wie für *N. salina* gezeigt werden, dass die Lichtabschwächung durch die Mikroalgensuspension am besten mit dem Lambert-Beer'schen Gesetz wiedergegeben werden kann.

6.3 Charakterisierung des lichtabhängigen Wachstums von *Nannochloropsis gaditana*

Die Charakterisierung des lichtabhängigen Wachstums erfolgte für *Nannochloropsis gaditana* unter Verwendung der mittleren integralen Bestrahlungsstärke während der exponentiellen Wachstumsphase nach Gleichung 5.2. Zu diesem Zweck wurden unlimitierte Satzprozesse in Flachplatten-Photobioreaktoren mit unterschiedlichen Eingangs-Bestrahlungsstärken zwischen 64 und 2540 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ durchgeführt. Die resultierenden Wachstumskurven sind in Abbildung 6.3 als Funktion der Prozesszeit sowie der mittleren integralen Bestrahlungsstärke I^{**} für acht ausgewählte Satzprozesse dargestellt. Es wird deutlich, dass eine klare Abhängigkeit des Wachstums von der Lichtverfügbarkeit besteht: Das Wachstum und somit auch die Biotrockenmassekonzentration am Ende der exponentiellen Wachstumsphase (hellgrau hinterlegter Bereich) stieg mit der Bestrahlungsstärke bis $557 \pm 21 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ an, sodass statt $0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ($40 \pm 1 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) knapp $4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ erreicht werden konnten. Eine weitere Erhöhung der mittleren integralen Bestrahlungsstärke bewirkte hingegen eine deutliche Abnahme der Zelldichte am Ende der exponentiellen Wachstumsphase, sodass bei $1640 \pm 67 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ nur noch $0,3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ erreicht wurden.

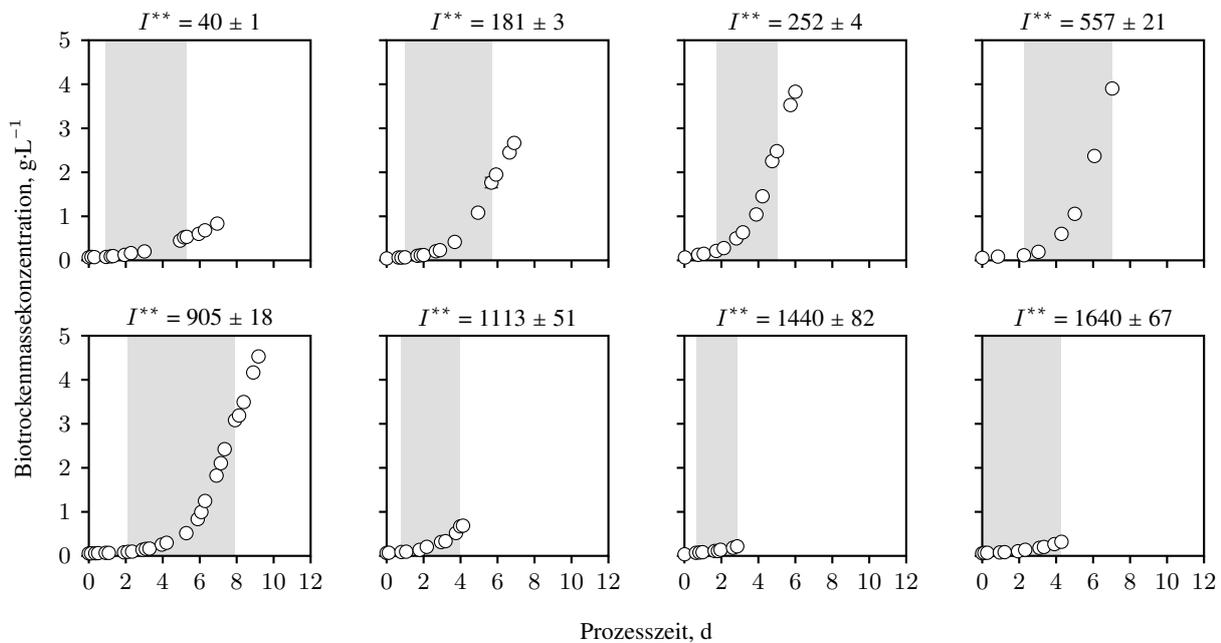


Abbildung 6.3: Darstellung der Biotrockenmassekonzentration von *Nannochloropsis gaditana* als Funktion der Prozesszeit und der mittleren integralen Bestrahlungsstärke I^{**} in $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ bei ausgewählten, unlimitierten Satzprozessen in Flachplatten-Photobioreaktoren ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$). Die Standardabweichungen der Biotrockenmassekonzentration ergeben sich aus der Dreifachmessung. Die exponentielle Wachstumsphase ist jeweils hellgrau hinterlegt.

Die lichtabhängigen Wachstumskurven wurden genutzt, um im Bereich des exponentiellen Wachstums die spezifischen Wachstumsraten zu bestimmen und als Funktion der mittleren integralen Bestrahlungsstärke in Abbildung 6.4 aufzutragen. Es zeigt sich das bereits bekannte Bild der Lichtantwort des phototrophen Wachstums mit Lichtlimitierung, Lichtsättigung und Photoinhibition. Im Bereich lichtlimitierten Wachstums bewirkte eine vergleichsweise kleine Steigerung der mittleren integralen Bestrahlungsstärke von $40 \pm 21 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ auf $252 \pm 4 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ nahezu eine Verdopplung der spezifischen Wachstumsrate von $0,0181 \pm 0,0004 \text{ h}^{-1}$ auf $0,0318 \pm 0,0006 \text{ h}^{-1}$. Darauf folgte der Bereich der Lichtsättigung bis $557 \pm 21 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, in dem die Steigerung der Bestrahlungsstärke keine merkliche Erhöhung der Wachstumsrate mit sich brachte. Wurde diese Bestrahlungsstärke überschritten, konnte aufgrund photoinhibitorischer Effekte eine deutliche Abnahme der spezifischen Wachstumsrate mit steigender mittlerer integraler Bestrahlungsstärke auf bis zu $0,0066 \pm 0,0005 \text{ h}^{-1}$ bei $2540 \pm 190 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ beobachtet werden.

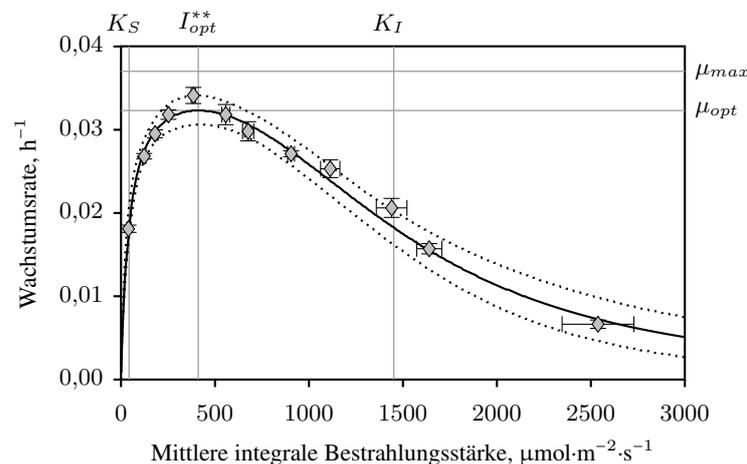


Abbildung 6.4: Darstellung der spezifischen Wachstumsraten bei unlimitiertem Wachstum von *Nannochloropsis gaditana* in Flachplatten-Photobioreaktoren ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$) in Abhängigkeit von der mittleren integralen Bestrahlungsstärke. Die experimentellen Daten (\diamond) werden mit dem modifizierten Inhibitionsmodell nach Gleichung 5.2 wiedergegeben (—) und mit dem 95 %-Konfidenzintervall (·····) dargestellt. Die Standardabweichungen ergeben sich aus der exponentiellen Regression (Wachstumsrate) beziehungsweise der Fehlerfortpflanzung nach Gleichung 4.10 (I^{**}). Die Sättigungskonstante K_S sowie die Inhibitionskonstante K_I entsprechen der Bestrahlungsstärke, bei der näherungsweise halbmaximale Wachstumsraten erreicht werden. Die optimale Wachstumsrate $\mu_{opt} = 0,033 \text{ h}^{-1}$ wird mit der optimalen Bestrahlungsstärke $I_{opt}^{**} = 411 \pm 68 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ erreicht.

Die experimentell ermittelten, lichtabhängigen Wachstumsraten wurden zur Identifikation der kinetischen Modellparameter mit Gleichung 5.2 beschrieben. Wie Abbildung 6.4 entnommen werden kann, beschreibt das modifizierte Inhibitionsmodell die experimentellen Daten in adäquater Weise. Die maximale spezifische Wachstumsrate ist $\mu_{max} = 0,0370 \pm 0,0012 \text{ h}^{-1}$. Das Maximum des modifizierten Inhibitionsmodells entspricht der optimalen Bestrahlungsstärke $I_{opt}^{**} = 411 \pm 68 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, welche zu einer optimalen Wachstumsrate $\mu_{opt} = 0,033 \text{ h}^{-1}$ führt. Die Sättigungskonstante K_S von $42,9 \pm 5,6 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ bedingt ebenso wie die Inhibitionskonstante $K_I = 1451,3 \pm 58,6 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ näherungsweise eine halbmaximale Wachstumsrate. Die Photosensitivität im Bereich photoinhibierender Bestrahlungsstärken, ausgedrückt durch den

Sensitivitätsfaktor φ , entspricht der negativen Steigung der lichtabhängigen Wachstumskinetik im Wendepunkt $I^{**} = K_I$ und wurde für *N. gaditana* zu $2,5 \pm 0,2$ identifiziert. Die kinetischen Parameter von *N. gaditana* sind in Tabelle 6.2 zusammengefasst.

Tabelle 6.2: Auflistung der über Parameteridentifikation für das modifizierte Inhibitionsmodell nach Gleichung 5.2 ermittelten kinetischen Parameter für die Beschreibung des lichtabhängigen Wachstums von *Nannochloropsis gaditana* in Flachplatten-Photobioreaktoren (Abbildung 6.4).

μ_{max}	maximale spezifische Wachstumsrate	$0,0370 \pm 0,0012$	h^{-1}
K_S	Sättigungskonstante	$42,9 \pm 5,6$	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
K_I	Inhibitionskonstante	$1451,3 \pm 58,6$	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
φ	Sensitivitätsfaktor	$2,5 \pm 0,2$	

Diskussion

Die Charakterisierung der lichtabhängigen Wachstumskinetik führte analog zu *Nannochloropsis salina* zu einer charakteristischen Lichtantwort-Kurve (Abbildung 3.10). In der Lichtlimitierungsphase führte die Steigerung der mittleren integralen Bestrahlungsstärke zu einer linearen Zunahme der Wachstumsrate mit der Steigung $\alpha = 0,125 \pm 0,005 \text{ m}^2\cdot\text{mol}^{-1}$. Die Extrapolation dieser Geraden schneidet die horizontale Verlängerung der optimalen Wachstumsrate im Bereich der Übergangs-Bestrahlungsstärke $I_k \approx 67 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ und kennzeichnet den Übergang in lichtgesättigtes Wachstum. *Nannochloropsis gaditana* weist demnach eine mehr als doppelt so hohe Quantenausbeute auf wie *N. salina* ($\alpha = 0,059 \pm 0,002 \text{ m}^2\cdot\text{mol}^{-1}$) und erreicht infolgedessen bei einer deutlich niedrigeren Übergangs-Bestrahlungsstärke (67 im Vergleich zu $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) Lichtsättigung. Dies und die wesentlich niedrigere Sättigungskonstante von $42,9 \pm 5,6 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (im Vergleich zu $79,7 \pm 10,5 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) deuten darauf hin, dass die Photosynthese von *N. gaditana* deutlich effizienter ist. Dies ist möglicherweise auf die verstärkte Photonenabsorption, begünstigt durch einen vergleichsweise höheren Chlorophyll a-Gehalt bei vergleichbaren Bestrahlungsstärken, zurückzuführen. Während die Senke des Chlorophyll a-Gehaltes bei exponentiellem Wachstum von *N. gaditana* im Bereich niedriger Bestrahlungsstärken bis etwa $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ Werte von $\geq 20 \text{ mg}_{\text{Chlorophyll}}\cdot\text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1}$ aufwies, wurden bei *N. salina* maximal $15 \text{ mg}_{\text{Chlorophyll}}\cdot\text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1}$ nachgewiesen. Der Bereich lichtgesättigten Wachstums reicht bei *N. gaditana* von 67 bis $479 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, wobei zwischen 343 und $479 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ($I_{opt}^{**} = 411 \pm 68 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) die optimale Wachstumsrate erreicht werden kann. Der Bereich der Lichtsättigung ist somit wesentlich weniger stark ausgeprägt als bei *N. salina* (150 - $717 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Dies bedeutet im Umkehrschluss, dass *N. gaditana* bereits bei niedrigeren Bestrahlungsstärken von Photoinhibition betroffen ist. Dies wird bestätigt durch die Inhibitionskonstante, welche mit $1451,3 \pm 58,6 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ deutlich geringer ist als bei *N. salina* ($1736,5 \pm 90,8 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Die Photosensitivität ist bei beiden Mikroalgenpezies mit $\varphi = 2,5$ identisch. Aufgrund des wesentlich schmäleren

Lichtsättigungsbereichs bedingt, trotz der identischen negativen Steigung, eine mittlere integrale Bestrahlungsstärke im Bereich der Photoinhibition von beispielsweise $2500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ deutlich unterschiedliche Wachstumsraten von $0,007 \text{ h}^{-1}$ (*N. gaditana*) und $0,011 \text{ h}^{-1}$ (*N. salina*). *Nannochloropsis gaditana* eignet sich somit eher für den Einsatz bei niedrigeren Bestrahlungsstärken, während *Nannochloropsis salina* im Bereich hoher Bestrahlungsstärken ($\geq 450 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) Wachstumsvorteile besitzt.

6.4 Implementierung eines Bestrahlungsprofils

Basierend auf der lichtabhängigen Wachstumskinetik wurde für *Nannochloropsis gaditana* ein Bestrahlungsprofil zur Steigerung der Produktivität im Labormaßstab in Flachplatten-Photobioreaktoren entwickelt. Die Vorgehensweise war analog zur Erstellung des Bestrahlungsprofils für *Nannochloropsis salina* (Abschnitt 5.4). Lediglich die Grenzen des optimalen Bereichs der Bestrahlungsstärken, welche theoretisch zu Wachstumsraten $\mu \geq 0,9\cdot\mu_{opt}$ führen, waren unterschiedlich: Die untere Grenze wurde auf $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, die obere Grenze auf $700 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ festgelegt, während die mittlere integrale Bestrahlungsstärke konstant $I^{**} = 200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ betragen sollte. Unter Verwendung dieser Bestrahlungsstärke ergibt sich nach dem lichtabhängigen Wachstumsmodell für *N. gaditana* eine Wachstumsrate von $0,030 \text{ h}^{-1}$, welche genutzt wurde, um Zunahme der Biomassekonzentration als Funktion der Prozesszeit abzuschätzen. Diese wurde wiederum genutzt, um letztendlich die Eingangs-Bestrahlungsstärke als Funktion der Biotrockenmassekonzentration in Form eines Polynoms dritter Ordnung zu bestimmen, sodass I^{**} während des Prozesses konstant ist. Als Referenz wurde ein Satzprozess mit konstanter Eingangs-Bestrahlungsstärke von $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ durchgeführt. Das Bestrahlungsprofil wurde sowohl für die Biomasseproduktion unter unlimitierten Bedingungen als auch für die stickstofflimitierte Lipidbildung untersucht.

Abbildung 6.5 a zeigt die Umsetzung des Bestrahlungsprofils: Die Eingangs-Bestrahlungsstärke wurde mit steigender Biotrockenmassekonzentration gesteigert, bis die obere Grenze von $700 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ erreicht war. Die mittlere integrale Bestrahlungsstärke konnte auf diese Weise knapp fünf Tage konstant gehalten werden. Im Gegensatz dazu war die mittlere integrale Bestrahlungsstärke bei konstanter Bestrahlung lediglich den ersten Tag, aufgrund der ausreichend niedrigen Zelldichte, nahezu konstant. Beiden Bestrahlungsstrategien war gemein, dass eine mittlere integrale Bestrahlungsstärke von etwa $50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ die exponentielle Wachstumsphase nach fünf (konstante Bestrahlung) beziehungsweise sieben (Bestrahlungsprofil) Tagen beendete (Abbildung 6.5 c). Dabei wurden in beiden Fällen Wachstumsraten von $0,030 \text{ h}^{-1}$, wie durch das lichtabhängige Wachstumsmodell abgeschätzt, erreicht. Die Verlängerung des exponentiellen Wachstums durch Implementierung des Bestrahlungsprofils bedingte zusätzlich eine Steigerung der Biotrockenmassekonzentration auf $5,3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ im Vergleich zu $1,2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ mit konstanter Bestrahlung.

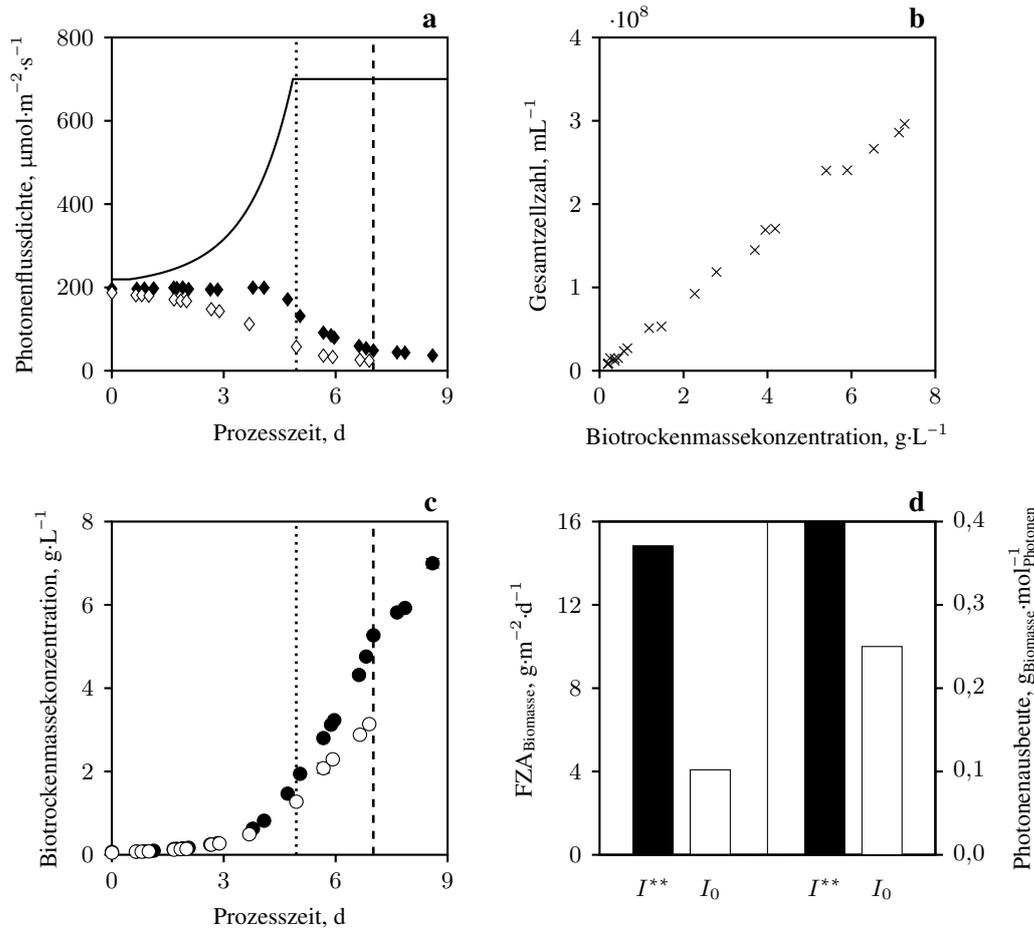


Abbildung 6.5: Vergleichende Darstellung relevanter Prozessparameter zweier unlimitierter Satzprozesse mit *Nannochloropsis gaditana* zur Biomasseproduktion mit konstanter Eingangs-Bestrahlungsstärke I_0 von $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (weiß) sowie Bestrahlungsprofil mit konstanter mittlerer integraler Photonenflussdichte von $I^{**} = 200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (schwarz) in Flachplatten-Photobioreaktoren. Das Ende der exponentiellen Wachstumsphase ist durch eine senkrechte Linie (Bestrahlungsprofil - - -, konstante Bestrahlung ·····) gekennzeichnet.

a - Zeitabhängige Steigerung der Eingangs-Bestrahlungsstärke (—), um die mittlere integrale Bestrahlungsstärke I^{**} (◆) konstant zu halten sowie der zeitliche Verlauf von I^{**} bei konstanter Eingangs-Bestrahlungsstärke (◇).

b - Darstellung der Gesamtzellzahl als Funktion der Biomassekonzentration (×) für das Bestrahlungsprofil.

c - Zeitliche Entwicklung der Biotrockenmassekonzentration mit Bestrahlungsprofil (●) und mit konstanter Eingangs-Bestrahlungsstärke (○). Die Wachstumsrate in der exponentiellen Phase betrug in beiden Fällen $0,030 \text{ h}^{-1}$.

d - Vergleich der erzielten Flächen-Zeit-Ausbeuten (FZA) sowie Photonenausbeuten des Biomasseproduktionsprozesses am Ende der exponentiellen Wachstumsphase mit Bestrahlungsprofil (schwarz, I^{**}) und konstanter Bestrahlung (weiß, I_0)

Wie Abbildung 6.5 **b** entnommen werden kann, resultierte die Steigerung der Zelldichte im Bereich des exponentiellen Wachstums allein aus der Zunahme der Gesamtzellzahl und nicht aus morphologischen Veränderungen. Die höhere mittlere Photonenverfügbarkeit pro Zelle durch Implementierung des Bestrahlungsprofils führte, aufgrund der Verlängerung des exponentiellen Wachstums, zu einer signifikanten Steigerung der Flächen-Zeit-Ausbeute der Biomassebildung um 107 % von $7,2 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ mit konstanter Bestrahlung auf $14,8 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$. Ebenso verhielt es sich mit der Photonenausbeute: Die verfügbaren Photonen wurden bei Anwendung des Bestrahlungsprofils wesentlich effizienter genutzt, sodass $0,40 \text{ g}_{\text{Biomasse}}\cdot\text{mol}_{\text{Photonen}}^{-1}$ im Vergleich zu $0,25 \text{ g}_{\text{Biomasse}}\cdot\text{mol}_{\text{Photonen}}^{-1}$ (konstante Bestrahlung) gebildet werden konnten (Abbildung 6.5 **d**).

In Kontrast dazu steht der Energiebedarf, welcher jedoch mit 28 MJ bei Nutzung des Bestrahlungsprofils bis zum Ende der exponentiellen Phase deutlich höher ist als bei konstanter Bestrahlung (9 MJ).

Für die Untersuchung des Einflusses eines Bestrahlungsprofils ($I^{**} = 200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1} = \text{konst.}$) auf die Lipidbildung, wurden die Zellen nach der Biomassebildung mit Bestrahlungsprofil steril geerntet und 1:10 mit nitratfreiem Medium verdünnt, um identische Ausgangsbedingungen mit dem Referenzprozess ($I_0 = 200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1} = \text{konst.}$) zu schaffen. Die Biotrockenmassekonzentration betrug so $0,7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ zu Beginn der stickstofflimitierten ($c_{\text{NO}_3} \leq 0,4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) Lipidproduktion.

Die Verwendung des Bestrahlungsprofils konnte aufgrund der vergleichsweise hohen Anfangs-Biotrockenmassekonzentration die mittlere integrale Bestrahlungsstärke lediglich einen Tag konstant auf $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ halten, bevor die maximale Eingangs-Bestrahlungsstärke von $700 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ erreicht war (Abbildung 6.6 a). Die darauffolgende Abnahme der mittleren integralen Bestrahlungsstärke erreichte nach 4,5 Tagen einen konstanten Wert von etwa $60 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Die mittlere integrale Bestrahlungsstärke bei konstanter Eingangs-Bestrahlungsstärke betrug zu Beginn aufgrund der hohen Biotrockenmassekonzentration lediglich $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ und nahm mit der Prozesszeit stetig bis auf etwa $17 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ nach 10 Tagen ab. In beiden Fällen brachte das Erreichen der konstanten mittleren integralen Bestrahlungsstärke das Ende der linearen Lipidbildung mit sich (Abbildung 6.6 c). Zu diesem Zeitpunkt waren von *Nannochloropsis gaditana* mit Bestrahlungsprofil $1,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (4,5 Tage) und mit konstanter Bestrahlung $1,6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (10 Tage) Lipide akkumuliert worden, was in beiden Fällen dem spezifischen Sättigungs-Lipidgehalt von *N. gaditana* von 39 % gleichkommt. Die ersten zwei Tage der Limitierung waren sowohl die Wachstums- als auch die Lipidbildungs-Kurven deckungsgleich. In der Folge nahm die Biomasse- und auch die Lipidkonzentration aufgrund der höheren Photonenverfügbarkeit mit Bestrahlungsprofil merklich schneller zu als mit konstanter Bestrahlung (Abbildung 6.6 c). Die Zunahme der Zelldichte resultierte die ersten zwei Tage bis zu einer Biotrockenmassekonzentration von $2,6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ aus der Zunahme der Gesamtzellzahl (Abbildung 6.6 b). In diesem Zeitraum wurden vermutlich restliches Nitrat aus dem Medium sowie interne Stickstoffreserven, beispielsweise in Form stickstoffhaltiger Verbindungen wie Chlorophyll a, für die Zellteilung verwendet. Waren diese Reserven verbraucht, führte die Zunahme des Lipidgehaltes zu einem weiteren Anstieg der Zelldichte, während die Zellzahl konstant blieb. Der maximale Lipidgehalt konnte durch die Implementierung des Bestrahlungsprofils zwar nicht gesteigert werden, jedoch wurde dieser 5,5 Tage früher erreicht als mit konstanter Bestrahlung. Dies spiegelt sich auch in der Flächen-Zeit-Ausbeute der Lipidproduktion wider. Mit Bestrahlungsprofil wurden $6,5 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ im Vergleich zu $3,5 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ (konstante Bestrahlung) erreicht, was einer Steigerung von 83 % entspricht (Abbildung 6.6 d). Im Gegensatz dazu war die Nutzung der verfügbaren Photonen mit konstanter Bestrahlung wesentlich effizienter, sodass $0,35 \text{ g}$ Lipide pro mol Photonen gebildet werden konnten, während die Photonenausbeute mit Bestrahlungsprofil lediglich $0,12 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ betrug. Zudem war die verbrauchte Energie während der linearen Lipidbildung mit 29 MJ bei Nutzung des Bestrahlungsprofils um 70 % höher als bei konstanter Bestrahlung mit 17 MJ.

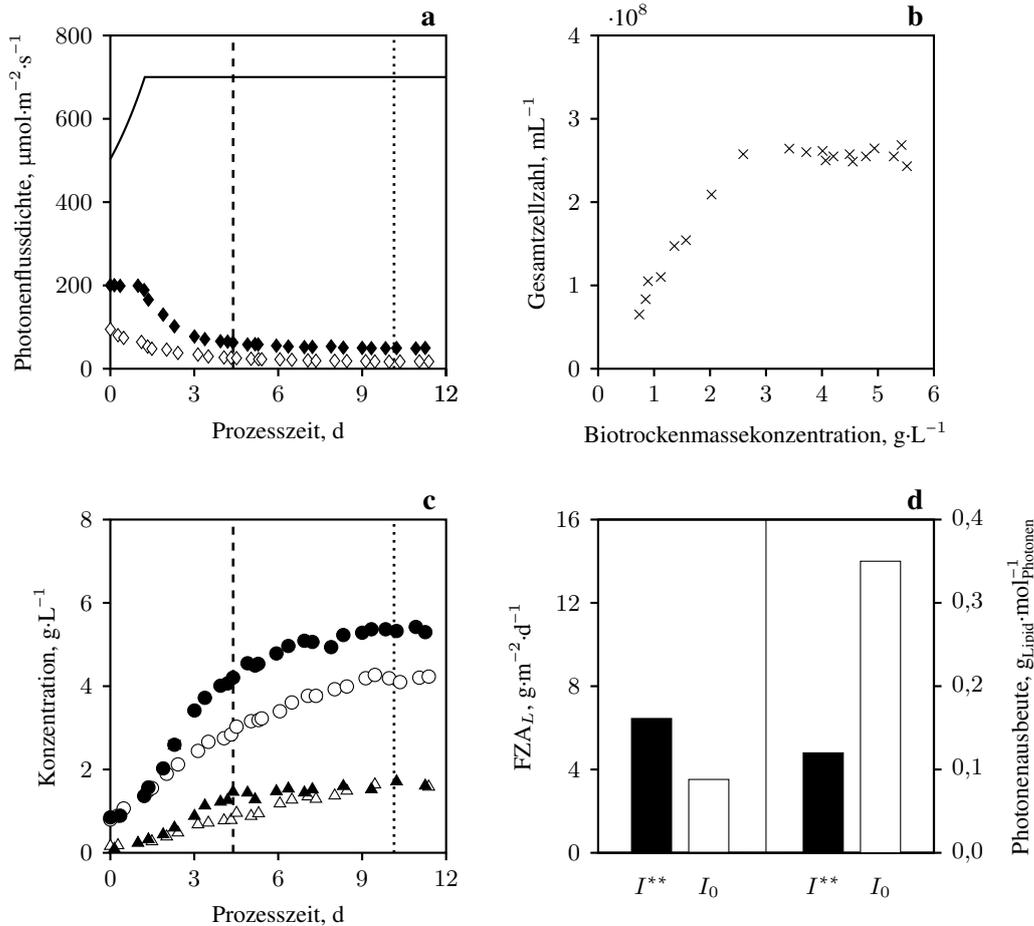


Abbildung 6.6: Vergleichende Darstellung relevanter Prozessparameter zweier stickstofflimitierter Satzprozesse mit *Nannochloropsis gaditana* zur Lipidproduktion mit konstanter Eingangs-Bestrahlungsstärke I_0 von $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (weiß) sowie Bestrahlungsprofil mit konstanter mittlerer integraler Photonenflussdichte von $I^{**} = 200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (schwarz) in Flachplatten-Photobioreaktoren. Das Ende der linearen Lipidbildungsphase ist durch eine senkrechte Linie (Bestrahlungsprofil ---, konstante Bestrahlung ·····) gekennzeichnet.

a - Zeitabhängige Steigerung der Eingangs-Bestrahlungsstärke (—), um die mittlere integrale Bestrahlungsstärke I^{**} (◆) konstant zu halten sowie der zeitliche Verlauf von I^{**} bei konstanter Eingangs-Bestrahlungsstärke (◇).

b - Darstellung der Gesamtzellzahl als Funktion der Biomassekonzentration (×) für das Bestrahlungsprofil.

c - Zeitliche Entwicklung der Biotrockenmasse- (●, ○) und Lipidkonzentration (▲, △) mit Bestrahlungsprofil (schwarz) und mit konstanter Eingangs-Bestrahlungsstärke (weiß). Die Sättigungskonzentration der Lipide betrug in beiden Fällen etwa 39 % der Biomasse.

d - Vergleich der erzielten Flächen-Zeit-Ausbeuten (FZA) sowie Photonenausbeuten des Lipidproduktionsprozesses am Ende der linearen Lipidproduktionsphase mit Bestrahlungsprofil (schwarz, I^{**}) und konstanter Bestrahlung (weiß, I_0)

Diskussion

Ebenso wie auch für *Nannochloropsis salina* konnte das Bestrahlungsprofil als Anwendungsbeispiel der lichtabhängigen Wachstumskinetik auch die Produktivität von *Nannochloropsis gaditana* in Flachplatten-Photobioreaktoren signifikant erhöhen: Die Steigerung der Biomasse-Produktivität um 107 % auf $14,8 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ ($0,74 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) ist derselben Größenordnung zuzuordnen wie die Produktivitäts-Steigerung von *N. salina* (+113 %). Im Labormaßstab in Blasensäulen im Satzbetrieb mit einer Eingangs-Bestrahlungsstärke von $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ erreichten Ma *et al.* (2014) mit *N. gaditana* $0,30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, während Camacho-Rodríguez *et al.* (2015) in kontinuierlich betriebenen Blasensäulen mit $170 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ bis zu

0,43 g·L⁻¹·d⁻¹ erzielten. In Satzprozessen unter realen Klimabedingungen konnten in *raceway ponds* bis zu 0,19 g·L⁻¹·d⁻¹ (San Pedro *et al.*, 2015) und in Rohrreaktoren 0,48 g·L⁻¹·d⁻¹ (Ledda *et al.*, 2015) mit *N. gaditana* erreicht werden. Der Vergleich mit Literaturdaten gestaltet sich allerdings aufgrund der unterschiedlichen Reaktorsysteme und Bestrahlungsstärken schwierig und bietet nur eine grobe Orientierung. Sinnvoller erscheint hier die zusätzliche Betrachtung der im Rahmen dieser Arbeit maximal mit *N. gaditana* erreichten FZA_{Biomasse} von 9,1 g·m⁻²·d⁻¹. Obwohl die zugehörige mittlere integrale Bestrahlungsstärke von 385 ± 11 μmol·m⁻²·s⁻¹ eine höhere Wachstumsrate von 0,034 h⁻¹ (0,031 h⁻¹ mit Bestrahlungsprofil) bedingte, konnte mit Bestrahlungsprofil ($I^{**} = 200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1} = \text{konst.}$) dennoch eine wesentlich höhere Produktivität aufgrund der verlängerten exponentiellen Wachstumsphase erzielt werden. Der zusätzliche Vergleich mit *N. salina* mit Bestrahlungsprofil ($I^{**} = 325 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1} = \text{konst.}$) zeigt, dass mit *N. gaditana* eine um 42 % höhere Biomasse-FZA erreicht werden konnte. Zudem konnte bei *N. gaditana* bis zu einem prozentualen Anteil von 25 % der gesetzten konstanten Eingangs-Bestrahlungsstärke (200 μmol·m⁻²·s⁻¹) exponentielles Wachstum aufrecht erhalten werden, während dies bei *N. salina* nur bis zu etwa 50 % der Fall war. Dies bestätigt die Ergebnisse in Abschnitt 6.3, welche zeigten, dass *N. gaditana* niedrigere Photonendichten wesentlich effizienter für das Wachstum nutzen kann als *N. salina*.

Der direkte Vergleich der beiden Mikroalgenstämme, die Lipidbildung in limitierten Satzprozessen mit Bestrahlungsprofil betreffend, führt zu gegensätzlichen Erkenntnissen: Die Flächen-Zeit-Ausbeute der Lipidbildung ist im Falle von *N. salina* mit 11,0 g·m⁻²·d⁻¹ um 69 % höher als mit *N. gaditana* (6,5 g·m⁻²·d⁻¹ oder 0,32 g·L⁻¹·d⁻¹) und auch der maximale Lipidgehalt von *N. salina* übersteigt mit 69 % der Biotrockenmassenkonzentration jenen von *N. gaditana* mit 39 %. Ma *et al.* (2014) erzielten mit *N. gaditana* in Blasensäulen einen etwas höheren Lipidgehalt von 45 % mit einer volumetrischen Lipid-Produktivität von 0,13 g·L⁻¹·d⁻¹. Dieser Wert ist vergleichbar mit jenem dieser Arbeit bei konstanter Bestrahlung mit 200 μmol·m⁻²·s⁻¹ von 0,18 g·L⁻¹·d⁻¹, auch wenn die Reaktionssysteme und Lichtverfügbarkeiten unterschiedlich sind. In offenen Systemen konnten mit *N. gaditana* deutlich geringere Produktivitäten von bis zu 0,03 g·L⁻¹·d⁻¹ in Satzprozessen erreicht werden (San Pedro *et al.*, 2015). Die kontinuierliche Prozessführung in Rohrreaktoren zeigte dagegen vergleichbare Produktivitäten von 0,11 g·L⁻¹·d⁻¹ (San Pedro *et al.*, 2014). Die Photonenausbeute als Maß für die Effizienz der Bestrahlungsstrategie konnte mit Bestrahlungsprofil für *N. gaditana* lediglich für die Biomasseproduktion gesteigert werden. Bei der Akkumulation von Lipiden führten wahrscheinlich veränderte Absorptionseigenschaften – hervorgerufen durch die Lipid-Einschlusskörperchen – bei Verwendung des Bestrahlungsprofils zu einem Überangebot an Photonen und einer verringerten Effizienz des Prozesses.

6.5 Untersuchung der temperaturabhängigen Wachstumskinetik von *Nannochloropsis gaditana*

Für die Untersuchung des temperaturabhängigen Wachstums von *Nannochloropsis gaditana* in unlimitierten Satzprozessen in Flachplatten-Photobioreaktoren wurden sechs unterschiedlich konstante Temperaturen zwischen 15 und 40 °C gewählt. Die Eingangs-Bestrahlungsstärke betrug in allen Fällen $411 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, sodass, wie auch bei der Untersuchung der Temperaturabhängigkeit von *N. salina* in Abschnitt 5.5, bis zu einer Zelldichte von etwa $0,8 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ die mittlere integrale Bestrahlungsstärke im definierten optimalen Bereich ($200\text{-}700 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) liegen kann. In Abbildung 6.7 ist die Biotrockenmassekonzentration als Funktion der Prozesszeit bei den sechs Temperaturen 15 °C, 20 °C, 25 °C, 30 °C, 35 °C und 40 °C dargestellt.

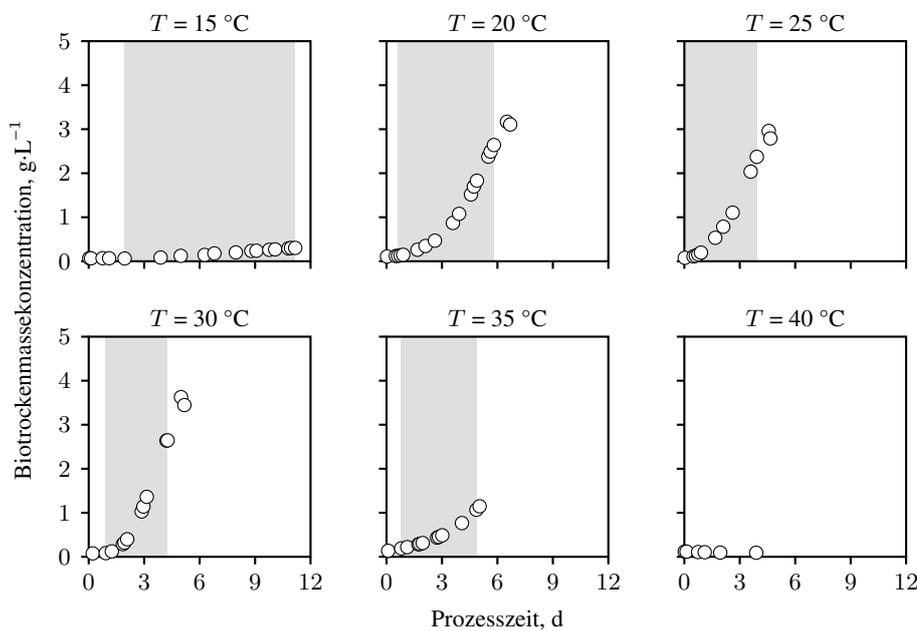


Abbildung 6.7: Darstellung der Biotrockenmassekonzentration von *Nannochloropsis gaditana* als Funktion der Prozesszeit und der Temperatur T bei unlimitierten Satzprozessen in Flachplatten-Photobioreaktoren ($I_0 = 411 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Die exponentielle Wachstumsphase ist jeweils hellgrau hinterlegt.

Bei einer Temperatur von 15 °C konnte kaum Wachstum verzeichnet werden, sodass am Ende der exponentiellen Wachstumsphase (hellgrau hinterlegter Bereich) lediglich $0,4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Biomasse gebildet werden konnten. Bereits die Erhöhung der Temperatur auf 20 °C führte zu einer Bildung von $2,6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, während eine weitere Steigerung der Temperatur bis auf 30 °C nahezu keinen Effekt auf die maximal erreichbare Biotrockenmassekonzentration am Ende der exponentiellen Phase hatte. 35 °C führten hingegen zu einer deutlichen Reduktion der erreichten Zelldichte auf $1,1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, während bei 40 °C im betrachteten Zeitraum kein Wachstum mehr möglich war. Weiterhin hatte die Temperatur Einfluss auf die Dauer des exponentiellen Wachstums: Mit steigender Temperatur verkürzte sich diese bis 30 °C. Bei 35 °C war die exponentielle Wachstumsphase wiederum etwas länger als bei 30 °C.

Um die Temperaturabhängigkeit der Wachstumskinetik darstellen zu können, wurden die Wachstumsraten in der exponentiellen Phase der Wachstumskurven (Abbildung 6.7) bestimmt und in Abbildung 6.8 als Funktion der Temperatur aufgetragen. Dies ergab den für phototrophe Organismen charakteristischen Kurvenverlauf der Temperaturabhängigkeit des Wachstums. Während bei 15 °C lediglich eine Wachstumsrate von $0,00464 \pm 0,00013 \text{ h}^{-1}$ erreicht wurde, führte eine Erhöhung der Temperatur um 5 °C zu einer Vervierfachung der Wachstumsrate auf $0,0208 \pm 0,0008 \text{ h}^{-1}$. Bei 25 °C betrug die Wachstumsrate $0,0273 \pm 0,0013 \text{ h}^{-1}$ und blieb bei weiterer Steigerung der Temperatur auf 30 °C nahezu konstant ($0,0275 \pm 0,0013 \text{ h}^{-1}$). Mit Überschreitung dieser Temperatur wurde eine stetige Abnahme der Wachstumsrate über $0,0176 \pm 0,0009 \text{ h}^{-1}$ bei 35 °C bis auf 0 h^{-1} bei 40 °C beobachtet.

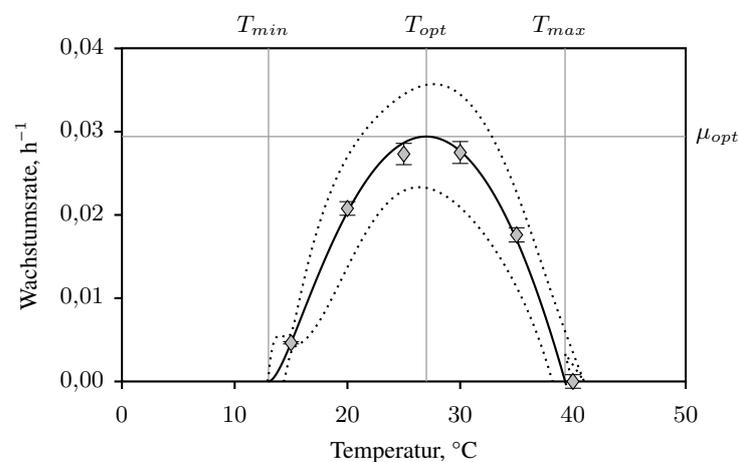


Abbildung 6.8: Darstellung der spezifischen Wachstumsraten bei unlimitiertem Wachstum von *Nannochloropsis gaditana* in Flachplatten-Photobioreaktoren ($I_0 = 411 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) in Abhängigkeit der Temperatur. Die experimentellen Daten (\diamond) können mit dem *CTMI*-Modell nach Gleichung 3.31 (—) mit dem 95 %-Konfidenzintervall (·····) wiedergegeben werden. Die Standardabweichungen ergeben sich aus der exponentiellen Regression zur Bestimmung der Wachstumsrate. Unterhalb der minimalen Temperatur T_{min} und oberhalb der maximalen Temperatur T_{max} ist kein Wachstum mehr möglich. Das Wachstumsoptimum $\mu_{opt} = 0,029 \pm 0,002 \text{ h}^{-1}$ wird bei der optimalen Temperatur $T_{opt} = 27,0 \pm 0,6 \text{ °C}$ erreicht.

Die experimentellen Wachstumsraten wurden mit dem *CTMI*-Modell nach Gleichung 3.30 wiedergegeben und in Abbildung 6.8 mit den 95 %-Konfidenzbändern dargestellt. Die experimentellen Daten konnten mit diesem Wachstumsmodell sehr gut wiedergegeben und die kinetischen Parameter erfolgreich identifiziert werden: Unterhalb der minimalen Temperatur $T_{min} = 13,0 \pm 1,0 \text{ °C}$ und oberhalb der maximalen Temperatur $T_{max} = 39,3 \pm 0,3 \text{ °C}$ ist für *Nannochloropsis gaditana* kein Wachstum möglich. Zwischen diesen beiden Kardinaltemperaturen liegt das Temperaturoptimum dieser Mikroalge bei $T_{opt} = 27,0 \pm 0,6 \text{ °C}$, welches eine optimale Wachstumsrate $\mu_{opt} = 0,029 \pm 0,002 \text{ h}^{-1}$ bedingt. Die Modellparameter der temperaturabhängigen Wachstumskinetik in Form der drei Kardinaltemperaturen und der optimalen Wachstumsrate sind in Tabelle 6.3 zusammengefasst.

Tabelle 6.3: Auflistung der identifizierten kinetischen Modellparameter nach Gleichung 3.30 für die Beschreibung des temperaturabhängigen unlimitierten Wachstums von *Nannochloropsis gaditana* in Flachplatten-Photobioreaktoren (Abbildung 6.8).

μ_{opt}	optimale Wachstumsrate	$0,029 \pm 0,002$	h^{-1}
T_{min}	minimale Temperatur	$13,0 \pm 1,0$	$^{\circ}\text{C}$
T_{opt}	optimale Temperatur	$27,0 \pm 0,6$	$^{\circ}\text{C}$
T_{max}	maximale Temperatur	$39,3 \pm 0,3$	$^{\circ}\text{C}$

Diskussion

Die Untersuchung der temperaturabhängigen Wachstumskinetik lieferte ein leicht von den Literaturdaten abweichendes Optimum ($27,0 \pm 0,6$ °C), welches ebenfalls unterschiedlich zu dem für *N. salina* ermittelten Temperaturoptimum ($29,3 \pm 0,7$ °C) ist. Die minimalen und maximalen Temperaturen, welche gerade noch Wachstum erlauben, entsprechen Literaturdaten für *Nannochloropsis* sp. (Sandnes *et al.*, 2005) und sind zudem mit den von *N. salina* tolerierten Temperaturen vergleichbar. Es ist allerdings bekannt (Sandnes *et al.*, 2005; Sorokin & Krauss, 1962), dass Temperatur und Licht bezüglich ihrer Auswirkung auf das Mikroalgenwachstum in enger Wechselwirkung stehen. Figueroa *et al.* (1997) zeigten für *Nannochloropsis gaditana* den Einfluss verschiedener Bestrahlungsstärken und Temperaturen auf die photochemische Effizienz als Indikator für Photoinhibition: Während das Ausmaß der Reduktion der photochemischen Effizienz bei 25 °C und 35 °C nahezu unabhängig von der Bestrahlung war, führten 30 min bei 40 °C bereits bei vergleichsweise niedriger Bestrahlung mit $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ zu ausgeprägter Photoinhibition, vermutlich hervorgerufen durch die Verminderung des nichtphotochemischen Quenchings. Andererseits konnte Soeder (1971) zeigen, dass eine *Scenedesmus* sp. unter konstanten Temperaturen maximal 35 °C tolerieren kann, während bei dynamischen Temperaturen Wachstum bis zu 40 °C möglich war. Die temperaturabhängige Wachstumskinetik unter konstanten Bedingungen ermöglicht somit zwar eine gute Einordnung von *N. gaditana*, die Dynamik von Licht und Temperatur unter realen Klimabedingungen würde jedoch möglicherweise diese Kinetik verändern.

6.6 Vergleich von *Nannochloropsis gaditana* und *Nannochloropsis salina*

Wachstum in einem möglichst breiten Temperaturbereich sowie die effiziente Nutzung verfügbarer Photonen sind für technische Anwendungen unter dynamischen Änderungen von Licht und Temperatur (Tages- und Nachtganglinien) ebenso unerlässlich wie die Toleranz gegenüber hohen Bestrahlungsstärken über $1500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Darüber hinaus sind der maximal erreichbare Lipidgehalt und die potentielle Produktivität der Alge wichtige Auswahlkriterien für potentielle Produktionsstämme.

Für eine vergleichende Betrachtung von *N. gaditana* und *N. salina* sind zunächst die licht- und temperaturabhängigen Wachstumskinetiken der beiden Mikroalgenspezies in Abbildung 6.9 dargestellt. Zudem sind die wichtigsten Größen bezüglich Ausbeute, Licht und Temperatur vergleichend in Tabelle 6.4 aufgelistet. Die Lichtabhängigkeit des Wachstums bei 25°C (Abbildung 6.9 a) zeigt, dass *N. gaditana* zwar im Bereich niedriger Bestrahlungsstärken effizientere Photonennutzung betreibt, Photoinhibition jedoch bereits bei niedrigeren Bestrahlungsstärken auftritt als bei *N. salina*.

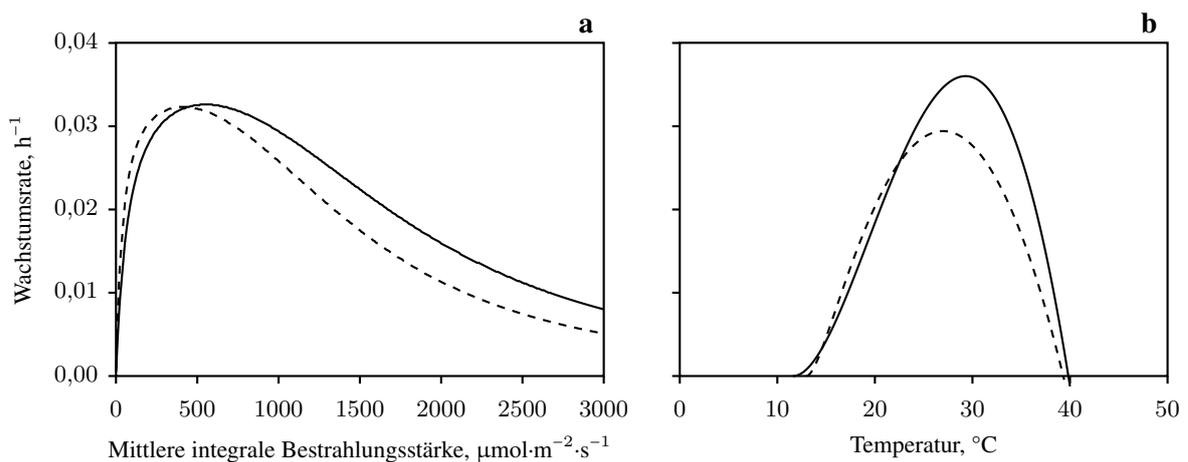


Abbildung 6.9: Vergleichende Darstellung der lichtabhängigen (a) und temperaturabhängigen (b) Wachstumskinetiken von *Nannochloropsis gaditana* (---) sowie *Nannochloropsis salina* (—) in Flachplatten-Photobioreaktoren.

Die Quantenausbeute von *N. gaditana* ($0,125 \pm 0,005 \text{ m}^2\cdot\text{mol}^{-1}$) spricht dafür, dass die Nutzung verfügbarer Photonen durch diese Alge doppelt so effizient ist wie jene von *N. salina* ($0,059 \pm 0,002 \text{ m}^2\cdot\text{mol}^{-1}$), dafür ist *N. gaditana* jedoch bei niedrigeren Bestrahlungsstärken bereits von Photoinhibition betroffen. Die Inhibitionskonstanten der beiden Mikroalgenspezies zeigen, dass *N. salina* bis zu $300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ mehr im Bereich photoinhibierender Bestrahlung toleriert als *N. gaditana*, bevor die Wachstumsrate halbmaximal wird. Der lichtabhängigen Wachstumskinetik kann zudem entnommen werden, dass *N. salina* bei mittleren integralen Bestrahlungsstärken über $450 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ im Vergleich zu *N. gaditana* immer höhere Wachstumsraten aufweisen wird. So kann beispielsweise theoretisch bei einer mittleren integralen Bestrahlungsstärke von $2000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ von *N. salina* eine um 40 % höhere Wachstumsrate von $0,016 \text{ h}^{-1}$ im Vergleich zu $0,011 \text{ h}^{-1}$ (*N. gaditana*) erzielt werden. Die maximal erreichbare Wachstumsrate μ_{opt} ist dage-

gen mit etwa $0,032 \text{ h}^{-1}$ für beide Algen vergleichbar und wird im Bereich der Lichtsättigung erreicht. Dieser Bereich ist bei *N. salina* mit $150\text{-}717 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ allerdings deutlich ausgeprägter als bei *N. gaditana* mit $67\text{-}479 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Die Wahrscheinlichkeit, dass die optimale Wachstumsrate mit dynamischer Bestrahlung im Tagesgang erreicht wird, ist demnach für *N. salina* wesentlich höher als für *N. gaditana*.

Tabelle 6.4: Vergleichende Auflistung der wichtigsten Eigenschaften der beiden Mikroalgenspezies *Nannochloropsis gaditana* und *Nannochloropsis salina*.

Parameter	<i>N. salina</i>	<i>N. gaditana</i>	
Ausbeute			
Biomasse-FZA (max.)	10,4	14,8	$\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$
Lipid-FZA (max.)	11,0	6,5	$\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$
Lipidgehalt (max.)	69	39	%
Licht			
Inhibitionskonstante	1736,5 ± 90,8	1451,3 ± 58,6	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
Sättigungsbereich	150-717	67-479	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
Quantenausbeute	0,059 ± 0,002	0,125 ± 0,005	$\text{m}^2\cdot\text{mol}^{-1}$
Temperatur			
Wachstumsbereich	11,6-39,8	13,0-39,3	°C
Optimum	29,3 ± 0,7	27,0 ± 0,6	°C

Die Temperaturabhängigkeit des Wachstums (Abbildung 6.9 b) weist deutliche Unterschiede bei der maximal erreichbaren Wachstumsrate auf: Die Steigerung der Temperatur über $25 \text{ }^\circ\text{C}$ hatte bei *N. gaditana* nahezu keinen Effekt, während nach dem temperaturabhängigen Wachstumsmodell für *N. salina* eine Erhöhung der Temperatur auf $29 \text{ }^\circ\text{C}$ zu einer Steigerung der Wachstumsrate um 14% auf bis zu $0,036 \text{ h}^{-1}$ möglich ist. Die Grenzen des Wachstums in Form der minimalen und maximalen Temperatur sind für beide Mikroalgen nahezu vergleichbar – *N. salina* deckt einen etwas breiteren Wachstumsbereich ab (Tabelle 6.4). Auch die etwas höhere optimale Temperatur von *N. salina* von $29,3 \pm 0,7 \text{ }^\circ\text{C}$ im Vergleich zu $27,0 \pm 0,6 \text{ }^\circ\text{C}$ ist vorteilhaft, da sich in offenen Reaktoren unter realistischen Klimabedingungen die Temperatur der Algensuspension bei hohen Bestrahlungsstärken kurzfristig auf bis zu $40 \text{ }^\circ\text{C}$ erwärmen kann. Ein hohes Temperaturoptimum zusätzlich zu einem möglichst hohen Temperaturmaximum erhöhen die Produktivität der Mikroalge in solchen Systemen. Die Ergebnisse der Temperaturabhängigkeit der beiden Mikroalgenspezies sprechen somit für die Verwendung von *N. salina*.

Neben der Toleranz eines breiten Bestrahlungsstärken- sowie Temperaturbereichs stellt die Ausbeute – in diesem Fall die Flächen-Zeit-Ausbeute – die wohl wichtigste Größe zur Beurteilung eines biotechnologischen Prozesses mit Mikroalgen dar. Die Ausbeuten sind in Tabelle 6.4 für *N. salina* und *N. gaditana* mit

den jeweils maximal erreichten Werten unter optimaler Bestrahlung gegenübergestellt. Die vergleichsweise effizientere Nutzung der verfügbaren Photonen von *N. gaditana* führte dazu, dass mit $14,8 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ eine wesentlich höhere Biomasse-Ausbeute erzielt werden konnte als mit *N. salina* ($10,4 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$). Nachdem das primäre Prozessziel jedoch die Akkumulation möglichst hoher Lipidkonzentrationen mit kleinstmöglichem Zeitaufwand ist, ist abermals *N. salina* positiv hervorzuheben: Der maximale Lipidgehalt von 69 % übersteigt nicht nur jenen von *N. gaditana* um das 1,8-fache, er liegt auch weit über den in der Literatur für *N. salina* publizierten prozentualen Anteilen von bis zu 38 % (Ma *et al.*, 2014; Pal *et al.*, 2011; van Wagenen *et al.*, 2012). Ebenso verhält es sich mit der Lipid-Ausbeute, welche mit $11,0 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ ($\hat{=} 0,55 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) signifikant höher ist als die Ausbeute von *N. gaditana* mit $6,5 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ ($\hat{=} 0,33 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$). Radakovits *et al.* (2012) berichteten ebenfalls von Ausbeuten um $0,3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ für *N. gaditana*. Die für *N. salina* postulierte Ausbeute von etwa $0,17 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ wurde in dieser Arbeit jedoch um das Dreifache übertroffen.

7 Maßstabsübertragung in den Pilotmaßstab

Die systematische Verfahrensentwicklung beinhaltet bei biotechnologischen Prozessen in der Regel unter anderem die Optimierung der Reaktionsbedingungen, die Identifikation der Reaktionskinetik sowie abschließend die Maßstabsvergrößerung (*scale-up*) in den (halb-)technischen Maßstab. Dabei gilt es zu beachten, dass Stoffumwandlungen mit dem Stoff-, Wärme- und Impulsaustausch gekoppelt und maßstabsabhängig sind. Die Grundlage einer erfolgreichen Maßstabsübertragung ist somit die Identifikation eines geeigneten Übertragungskriteriums, welches in beiden Maßstäben denselben Wert annimmt.

In dieser Arbeit wurde die Reaktionskinetik des Wachstums für *Nannochloropsis salina* sowie *Nannochloropsis gaditana* in Abhängigkeit der Temperatur und des Lichts charakterisiert. Nachfolgend soll nun die Skalierbarkeit des Wachstums der beiden Spezies von Flachplatten-Photobioreaktoren (PBR, Abbildung 4.5) im Labormaßstab in Flachgerinnereaktoren (FGR, Abbildung 4.9) im Pilotmaßstab untersucht werden. In einem ersten Schritt wurden dazu die konstruktiven und prozessspezifischen Unterschiede der Photobioreaktoren im Labor- und im Pilotmaßstab analysiert und vergleichend für beide Maßstäbe in Tabelle 7.1 zusammengefasst.

Bei der Betrachtung der geometrischen Eigenschaften zeigt sich, dass die beiden Photobioreaktoren deutlich unterschiedliche Schichtdicken (2 cm im PBR, 0,6 cm im FGR) und photosynthetisch aktive Flächen mit 0,09 m² (PBR) und 8 m² (FGR) aufwiesen. Ebenso unterschied sich das Oberfläche/Volumen-Verhältnis mit 50 m⁻¹ (PBR) und 120 m⁻¹ (FGR). Zudem wurde die Reaktoroberfläche des Flachplatten-Photobioreaktors aufgrund seines stehenden Aufbaus im 90°-Winkel bestrahlt, während eine 1,7 %-ige Neigung der Gerinne des FGR dazu führte, dass der Einstrahlwinkel des Lichts 91° betrug. Die geometrischen Eigenschaften der beiden Photobioreaktoren im Labor- und Pilotmaßstab wiesen somit keinerlei Ähnlichkeiten auf.

Der Leistungseintrag in die Algensuspension erfolgte bei Flachplatten-Photobioreaktoren alleine über die Begasung mittels *gas lift*-Verfahren. Nach Gleichung 3.32 konnte der volumetrische Leistungseintrag $\frac{P}{V}$ zu 80 W·m⁻³ abgeschätzt werden. Im Gegensatz dazu erfolgte der Leistungseintrag bei Flachgerinnereaktoren über die potentielle Energie, welche sich aus der Höhendifferenz zwischen Einlauf- und Sammelbecken (1,4 m) des FGR ergab. Daraus folgte bei einem Reaktionsvolumen von 65 L ein volumetrischer Leistungseintrag von etwa 520 W·m⁻³. Der volumetrische Leistungseintrag der Flachgerinnereaktoren war somit um ein Vielfaches höher als in Flachplatten-Photobioreaktoren.

Tabelle 7.1: Auflistung der Eigenschaften des Flachplatten-Photobioreaktors (PBR) im Labormaßstab und des Flachgerinnereaktors (FGR) im Pilotmaßstab.

<i>Eigenschaften</i>	<i>Vergleich der Photobioreaktoren</i>
Geometrische Eigenschaften	<p><i>PBR:</i> stehender Flachplattenreaktor (22,5 cm auf 40 cm, Abbildung A.5)</p> <p>Schichtdicke – 2 cm</p> <p>photosynthetisch aktive Fläche – 0,09 m²</p> <p>Arbeitsvolumen – 1,8 L</p> <p>Oberfläche/Volumen-Verhältnis – 50 m⁻¹</p> <p><i>FGR:</i> Zwei Gerinne (je 1 m auf 3,5 m) mit einer Neigung von 1,7 %</p> <p>Schichtdicke - 0,6 cm</p> <p>photosynthetisch aktive Fläche - 8 m²</p> <p>Arbeitsvolumen – 65 L</p> <p>Oberfläche/Volumen-Verhältnis – 120 m⁻¹</p>
Volumetrischer Leistungseintrag	<p><i>PBR:</i> Leistungseintrag über die Begasung (<i>gas lift</i>)</p> <p>$\frac{P}{V} \approx 80 \text{ W} \cdot \text{m}^{-3}$ (Gleichung 3.32)</p> <p><i>FGR:</i> Leistungseintrag aufgrund der potentiellen Energie (Höhendifferenz Einlauf-/Sammelbecken: 1,4 m)</p> <p>$\frac{P}{V} \approx 520 \text{ W} \cdot \text{m}^{-3}$</p>
Gastransfer (CO ₂)	<p><i>PBR:</i> CO₂-Eintrag in Abhängigkeit vom pH über die Begasung; theoretisch Gasaustausch über die gesamte Auftriebsstrecke</p> <p><i>FGR:</i> CO₂-Eintrag in Abhängigkeit vom pH über einen Solvcarb®-Schlauch nur im Sammelbecken</p>

Das bei photoautotrophen Prozessen essentielle Kohlenstoffdioxid wurde sowohl in Flachplatten-Photobioreaktoren als auch in Flachgerinnereaktoren für die pH-Regelung verwendet und somit in variablen Anteilen der Zuluft beigemischt. Für keines der beiden Systeme wurde der Stoffübergangskoeffizient für CO₂ bestimmt, es war lediglich bekannt, dass die Dispergierung des Gases in beiden Reaktoren auf unterschiedliche Weise erfolgte. In Flachplatten-Photobioreaktoren wurde das Gas über ein bodennahes Begasungsrohr mit 14 Poren mit einem Durchmesser von je 0,4 mm dispergiert. Der Stoffübergang war dabei theoretisch über die gesamte Auftriebsstrecke von 0,35 m möglich. In Flachgerinnereaktoren hingegen erfolgte der Gastransfer ausschließlich im Sammelbecken über einen fein perforierten Begasungsschlauch, welcher mit geringem Druck Mikroblasen erzeugte.

Der Vergleich der beiden Photobioreaktoren im Labor- und Pilotmaßstab zeigt deutlich die grundlegenden Unterschiede der Reaktorkonstruktion und der Prozessführung auf. In der Literatur wurden bisher keine Ansätze für die Maßstabsübertragung zwischen unterschiedlichen Photobioreaktoren veröffentlicht, sodass zunächst ein geeignetes Maßstabsübertragungskriterium identifiziert werden sollte. Nachdem die zellspezifischen Wachstumsraten von *N. salina* und *N. gaditana* in dieser Arbeit als Funktion der mittleren integralen Bestrahlungsstärke und der Temperatur beschrieben wurden, können lediglich diese Einflussgrößen zur Maßstabsvergrößerung verwendet werden. Dabei bietet sich vor allem die mittlere integrale Bestrahlungsstärke als systemunabhängige Größe an, welche bei Kenntnis der Eingangs-Bestrahlungsstärke und des spezifischen Extinktionskoeffizienten nur von der Schichtdicke sowie der Biomassekonzentration beeinflusst wird (Gleichung 4.6). Die Schichtdicke der Flachgerinnereaktoren war über die Neigung der Gerinne variabel einstellbar, wobei im Fall einer Neigung von 1,7 % (Schichtdicke 0,6 cm) von einer näherungsweise konstanten Schichtdickenverteilung ausgegangen werden konnte. Somit sollte bei einer konstanten Eingangs-Bestrahlungsstärke in der exponentiellen Wachstumsphase eine mittlere integrale Bestrahlungsstärke in Flachgerinnereaktoren abgeschätzt werden können. Gemäß des lichtabhängigen Wachstumsmodells sollten weiterhin die Wachstumsraten bei vergleichbaren mittleren integralen Bestrahlungsstärken in den beiden Maßstäben identisch sein, sodass eine erfolgreiche Skalierung möglich sein sollte. Diese Hypothese wurde im Folgenden auf ihre Realisierbarkeit überprüft.

7.1 Mittlere integrale Bestrahlungsstärke als Kriterium zur Maßstabsübertragung

Für die Überprüfung der Eignung der mittleren integralen Bestrahlungsstärke als Kriterium für die Maßstabsübertragung vom Labor- (1,8 L) in den Pilotmaßstab (65 L) wurden unlimitierte Satzprozesse mit *Nannochloropsis salina* und *Nannochloropsis gaditana* in Flachgerinnereaktoren mit unterschiedlichen konstanten Eingangs-Bestrahlungsstärken und konstanter Temperatur ($T = 25^{\circ}\text{C}$) durchgeführt. Die resultierenden Wachstumskurven sind in Abbildung 7.1 als Funktion der Prozesszeit sowie der mittleren integralen Bestrahlungsstärke I^{**} für jeweils vier Satzprozesse dargestellt. Es wird deutlich, dass, wie auch im Labormaßstab beobachtet, eine klare Abhängigkeit des Wachstums von der mittleren Lichtverfügbarkeit besteht. Bei *N. salina* nahm das Wachstum und somit auch die Biotrockenmassekonzentration am Ende der exponentiellen Wachstumsphase (hellgrau hinterlegter Bereich) mit der mittleren integralen Bestrahlungsstärke bis auf knapp $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ bei $1013 \pm 61 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ zu. Für *N. gaditana* wurde eine vergleichbare Abhängigkeit des Wachstums von der mittleren Lichtverfügbarkeit beobachtet: Mit steigender mittlerer integraler Bestrahlungsstärke wurden am Ende der exponentiellen Wachstumsphase höhere Biotrockenmassekonzentrationen bis zu $9 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ bei $876 \pm 61 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ erreicht. Im Vergleich zu den Satzprozessen in Flachplatten-Photobioreaktoren bei vergleichbaren mittleren integralen Bestrahlungsstärken (Abschnitte 5.3.1 und 6.3) wurden

in Flachgerinnereaktoren am Ende der exponentiellen Wachstumsphase aufgrund der deutlich geringeren Schichtdicke höhere Biotrockenmassekonzentrationen erreicht. Die Dauer des exponentiellen Wachstums sowie die Dauer der Verzögerungsphase zeigte in Flachgerinnereaktoren keine Abhängigkeit von der mittleren integralen Bestrahlungsstärke.

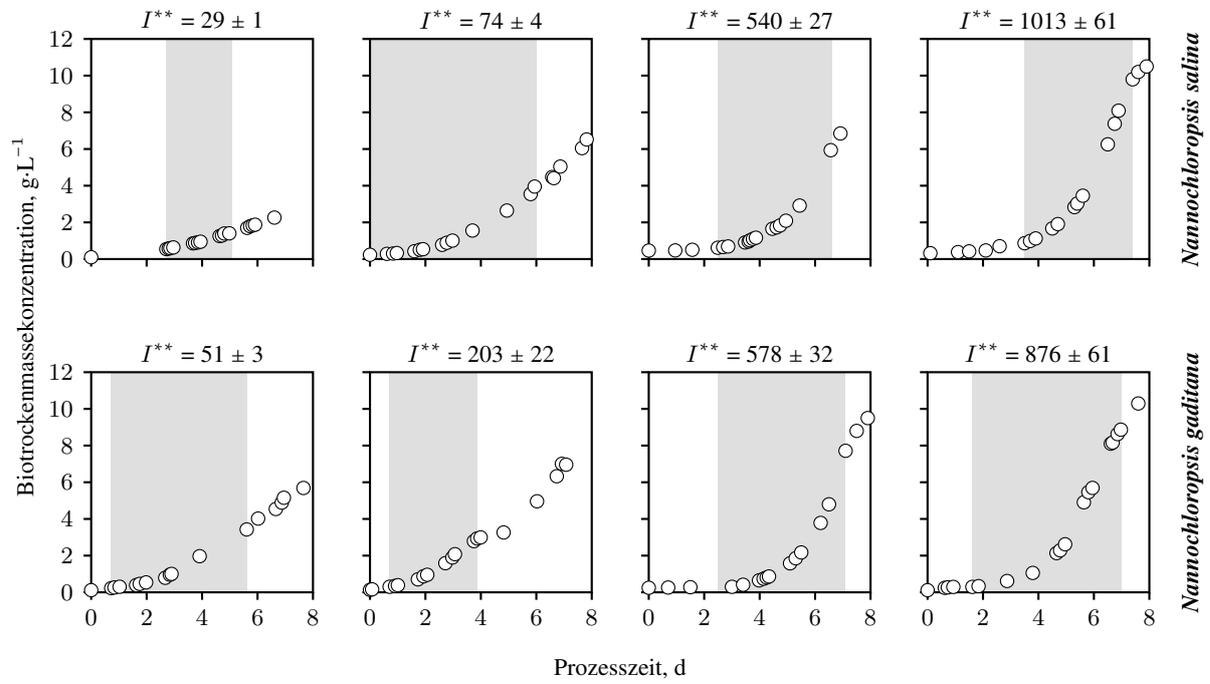


Abbildung 7.1: Darstellung der Biotrockenmassekonzentration von *Nannochloropsis salina* (oben) und *Nannochloropsis gaditana* (unten) als Funktion der Prozesszeit und der mittleren integralen Bestrahlungsstärke I^{**} in $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ bei jeweils vier unlimitierten Satzprozessen in Flachgerinnereaktoren ($T = 25$ °C). Die exponentielle Wachstumsphase ist jeweils hellgrau hinterlegt.

Die jeweiligen spezifischen Wachstumsraten der Satzprozesse und zugehörigen mittleren integralen Bestrahlungsstärken sind in Abbildung 7.2 sowohl für *N. salina* (a) als auch für *N. gaditana* (b) dargestellt. Der Vergleich der experimentell ermittelten Wachstumsraten in Flachgerinnereaktoren mit den zuvor im Labormaßstab identifizierten lichtabhängigen Wachstumskinetiken zeigt für beide Mikroalgenpezies, bis zur experimentell überprüften mittleren integralen Bestrahlungsstärke von $I^{**} \leq 1000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, eine sehr gute Übereinstimmung im Bereich des 95 %-igen Konfidenzintervalls. Die Skalierung vom Labor- in den Pilotmaßstab mit der mittleren integralen Bestrahlungsstärke war somit bis $I^{**} \leq 1000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ erfolgreich. Im Bereich höherer mittlerer integraler Bestrahlungsstärken konnte kein Wachstum im FGR beobachtet werden, da die notwendigen hohen Eingangs-Bestrahlungsstärken ($\geq 1300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) in Kombination mit der niedrigen Anfangs-Zelldichte ($\sim 0,1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) und der geringen Schichtdicke ($0,6 \text{ cm}$) vermutlich photoinhibierend auf die Mikroalgen wirkten. Im Labormaßstab konnte dieses Phänomen nicht beobachtet werden, da die höhere Schichtdicke (2 cm), wahrscheinlich auch bei niedrigen Anfangs-Zelldichten ($\sim 0,07 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), ausreichende gegenseitige Beschattung der Zellen ermöglichte und somit photoinhibitorische Effekte minimiert wurden. Die daraus resultierende Fluktuation der Zellen zwischen lichtabgewandter Seite mit Beschattungs-

effekten durch andere Zellen und lichtzugewandter Seite mit photoinhibierender Bestrahlung war im Labormaßstab offensichtlich ausreichend, um Wachstum auch bei Eingangs-Bestrahlungsstärken deutlich über $1300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ zu erlauben. In Flachgerinnereaktoren könnten möglicherweise durch eine Steigerung der gegenseitigen Beschattung höhere Eingangs-Bestrahlungsstärken toleriert werden. Eine ausgeprägtere Beschattung könnte entweder durch eine höhere Anfangs-Zelldichte oder eine größere Schichtdicke realisiert werden.

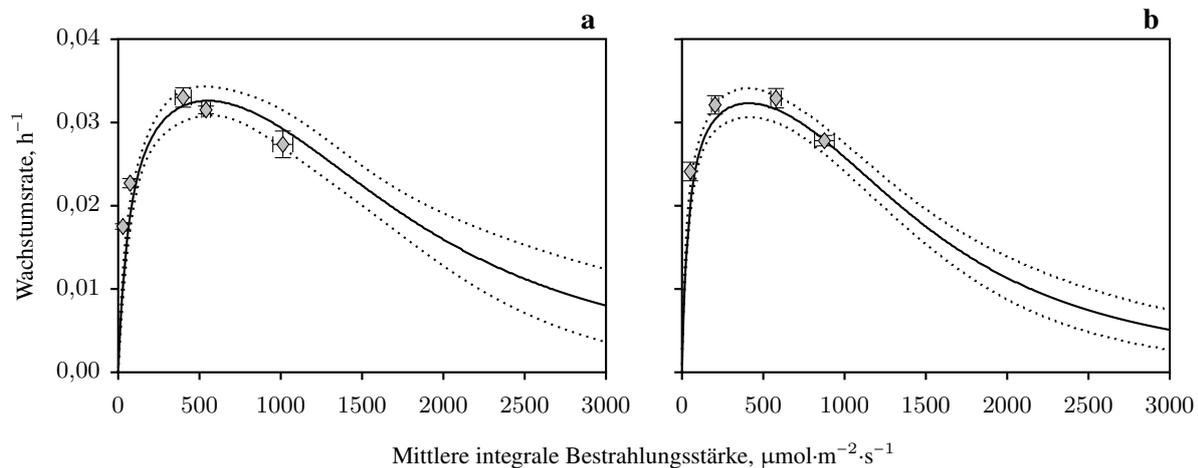


Abbildung 7.2: Darstellung zur Überprüfung der Eignung der mittleren integralen Bestrahlungsstärke als Übertragungskriterium der Mikroalgenprozesse vom Labor- in den Pilotmaßstab. Abgebildet sind die experimentell bei definierten I^{**} ermittelten spezifischen Wachstumsraten (\diamond) von *Nannochloropsis salina* (a) und *Nannochloropsis gaditana* (b) im Flachgerinnereaktor im Pilotmaßstab. Vergleichend dazu ist die im Labormaßstab in Flachplatten-Photobioreaktoren ermittelte Kinetik des lichtabhängigen Wachstums (—) beider Stämme mit dem 95 %-Konfidenzintervall (·····) dargestellt. Die Standardabweichungen ergeben sich aus der exponentiellen Regression (Wachstumsrate) beziehungsweise der Fehlerrechnung nach Gleichung 4.10 (I^{**}).

Unter der Voraussetzung, dass das Zellwachstum nicht durch zu hohe Eingangs-Bestrahlungsstärken inhibiert wird und die Bestrahlung konstant ist, eignet sich somit die mittlere integrale Bestrahlungsstärke sehr gut als Übertragungskriterium zwischen Flachplatten-Photobioreaktor im Labor- und Flachgerinnereaktor im Pilotmaßstab.

7.2 Maßstabsübertragung der Biomasseproduktion mit Tagesganglinien

Für die Maßstabsübertragung der Biomasseproduktion in Flachgerinnereaktoren mit dynamischen Änderungen von Licht und Temperatur wurde zunächst auf der Basis des Vergleichs der beiden Mikroalgenpezies *Nannochloropsis salina* und *Nannochloropsis gaditana* (Abschnitt 6.6) die potentiell besser geeignete Alge ausgewählt: Die Gesamtheit der betrachteten Eigenschaften in Tabelle 6.4 zeigt deutlich, dass *N. salina* die robustere Mikroalge mit wesentlich höherem Produktionspotential bezüglich der Lipidherstellung ist.

Um zu überprüfen, inwieweit die im Labormaßstab mit Dauerbeleuchtung und konstanter Temperatur ermittelte Wachstumskinetik auch bei dynamischen Änderungen von Licht und Temperatur nutzbar ist, wurde das Wachstum der ausgewählten Mikroalge *Nannochloropsis salina* zunächst in einem Satzprozess im Labormaßstab im Flachplatten-Photobioreaktor mit realistischer physikalischer Klimasimulation untersucht. Dabei wurden die Tages- und Nachtganglinien von Licht und Temperatur des 15. Juni 2012 in Almería, Spanien (Abbildung 4.8), für jeden Prozesstag simuliert. Die vorgegebenen Extremwerte dieser Simulation betragen 13,9 °C sowie $0 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ zur Nachtzeit und 29,8 °C sowie $1863 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ zur Mittagszeit.

In Abbildung 7.3 a ist die Umsetzung der realistischen physikalischen Klimasimulation mit erreichter Eingangs-Bestrahlungsstärke sowie Reaktortemperatur als Funktion der Zeit dargestellt. Es ist zu erkennen, dass die durch die Klimasimulation vorgegebenen dynamischen Änderungen von Licht und Temperatur im Vergleich zu Abbildung 4.8 nahezu ohne Abweichungen wiedergegeben werden konnten.

Die physikalische Simulation der realistischen Klimabedingungen führte zu der in Abbildung 7.3 b dargestellten Wachstumskurve. Die Biotrockenmassekonzentration nahm im gezeigten Zeitraum (9 Tage) bis auf $3,9 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ zu, wobei die Zelldichte lediglich tagsüber stieg und nachts nahezu konstant blieb. Für die Bestimmung der spezifischen Wachstumsrate des Gesamtprozesses wurde jeweils die Biotrockenmassekonzentration zu Beginn jeden Tages als Funktion der Zeit aufgetragen und die exponentielle Wachstumsphase des Gesamtprozesses identifiziert. Diese ergab sich bei vorliegendem Prozess zwischen Tag 1 und 7 (Abbildung 7.3 b) und resultierte in einer Gesamt-Wachstumsrate von $0,0209 \pm 0,0007 \text{ h}^{-1}$, wobei mit einer Flächen-Zeit-Ausbeute von $7,0 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ am Ende der exponentiellen Phase des Gesamtprozesses eine Biotrockenmassekonzentration von $2,35 \pm 0,02 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ erreicht werden konnte. Die Gesamt-Wachstumsrate berücksichtigt auf diese Weise nicht nur die Biomassezunahme im Tagesverlauf, sondern ebenso den Erhaltungstoffwechsel in der Dunkelphase. Im Gegensatz dazu spiegeln die ebenfalls ermittelten Tages-Wachstumsraten die Biomassezunahme eines einzelnen Tages bei Anwesenheit von Licht wider. Um diese Tages-Wachstumsraten zu ermitteln, wurde jeden Tag die exponentielle Wachstumsphase bestimmt und daraus die jeweilige Tages-Wachstumsrate abgeschätzt. Auf diese Weise wurde die maximal erreichte Tages-Wachstumsrate mit $0,056 \pm 0,002 \text{ h}^{-1}$ an Tag 4 ermittelt. Im weiteren Prozessverlauf resultierte die steigende Zelldichte in sinkenden mittleren Lichtverfügbarkeiten und somit niedrigeren Tages-Wachstumsraten ($0,044 \pm 0,006 \text{ h}^{-1}$ an Tag 7). Weiterhin geht aus Abbildung 7.3 b hervor, dass mit Überschreiten einer Zelldichte von $2,35 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$

nach sieben Tagen die Photonenflussdichte ausschließlich zur Mittagszeit ausreichend hoch war, um exponentielles Wachstum zu ermöglichen. Morgens und abends dagegen war das Wachstum reduziert, was vermutlich auf eine Lichtlimitierung zurückzuführen ist.

Weiterhin wurde für die Überprüfung der Anwendbarkeit der lichtabhängigen Wachstumskinetik unter Dauerbestrahlung auf das Wachstum mit Tagesganglinien die Anfangs-Zelldichte von *N. salina* des Satzprozesses im PBR (Abbildung 7.3 b) von $0,09 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ genutzt, um nach Abschnitt 4.4.7 die Wachstumskurve im PBR zu simulieren. Mit den kinetischen Modellparametern unter Dauerbestrahlung ergab sich dabei die in Abbildung 7.3 b dargestellte simulierte Wachstumskurve (—). Es wird deutlich, dass die Simulation der Wachstumskurve auf der Basis des lichtabhängigen Wachstumsmodells unter Dauerbestrahlung wesentlich geringere Biomassekonzentrationen als Funktion der Prozesszeit abschätzte, als tatsächlich experimentell erreicht wurden.

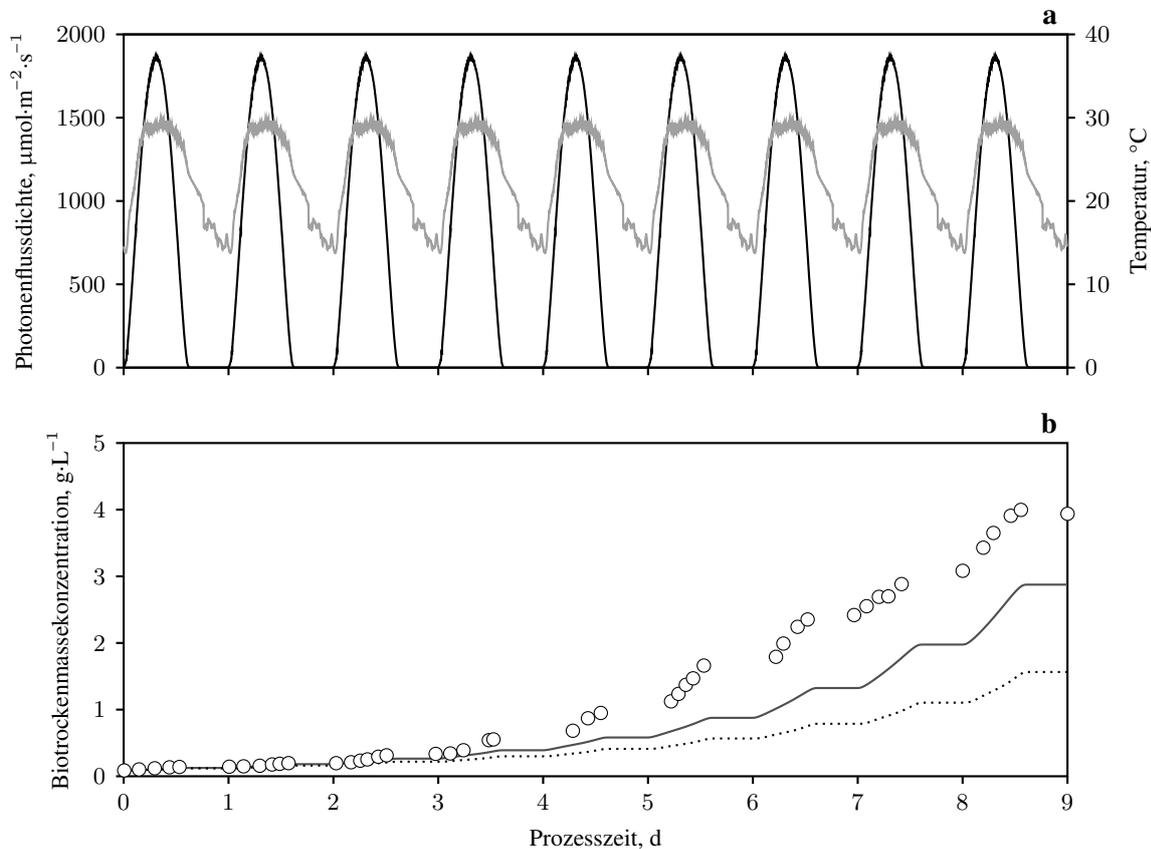


Abbildung 7.3: Darstellung eines unlimitierten Satzprozesses von *Nannochloropsis salina* mit realistischer physikalischer Klimasimulation (15. Juni 2012 in Almería, Spanien) im Flachplatten-Photobioreaktor.

a - Auf die Reaktoroberfläche auftreffende Photonenflussdichte (—) sowie Temperatur der Flüssigphase im Reaktor (—) im Tagesverlauf.

b - Biotrockenmassekonzentration als Funktion der Prozesszeit: Experimentelle Daten (○), Vorhersage des Wachstums in Abhängigkeit der mittleren integralen Bestrahlungsstärke I^{**} nach Gleichung 5.2 (—) sowie in Abhängigkeit von I^{**} und der Temperatur nach Gleichung 7.1 (·····).

Darüber hinaus wurde in einem weiteren Schritt der gekoppelte Einfluss der Licht- und Temperaturabhängigkeit von *N. salina* auf die Wachstumssimulation durch zusätzliche Berücksichtigung des temperaturabhängigen Wachstumsmodells analog zu Gleichung 3.31 untersucht. Dieses setzte sich aus dem lichtabhängigen

Wachstumsmodell $\mu(I^{**})$ nach Gleichung 5.2 sowie der Temperaturabhängigkeit des Wachstums $\Theta(T)$ nach Gleichung 3.30 zusammen:

$$\mu(I^{**}, T) = \mu(I^{**}) \cdot \Theta(T) \quad (7.1)$$

mit	$\mu(I^{**}, T)$	spezifische licht- und temperaturabhängige Wachstumsrate	h^{-1}
	$\mu(I^{**})$	spezifische lichtabhängige Wachstumsrate nach Gleichung 5.2	h^{-1}
	$\Theta(T)$	Temperaturabhängigkeit des Wachstums nach Gleichung 3.30	-

Die simulierte Wachstumskurve unter Berücksichtigung der dynamischen Änderung von Licht und Temperatur ist ebenfalls in Abbildung 7.3 **b** (·····) dargestellt. Es wird deutlich, dass die zusätzliche Berücksichtigung der Tages- und Nachtganglinien der Temperatur dazu führte, dass das reale Wachstum im Beobachtungszeitraum von neun Tagen wiederum deutlich unterschätzt wurde. Die simulierten Biomassekonzentrationen als Funktion der Prozesszeit waren dabei noch geringer als bei alleiniger Berücksichtigung des lichtabhängigen Wachstumsmodells. Die unter Dauerbestrahlung und konstanter Temperatur im Labormaßstab ermittelten Wachstumskinetiken sind demnach für *Nannochloropsis salina* nicht bei dynamischen Änderungen von Licht und Temperatur im Flachplatten-Photobioreaktor nutzbar.

In einem weiteren Schritt wurde das Wachstum von *N. salina* mit realistischer physikalischer Klimasimulation von Licht und Temperatur des 15. Juni 2012 in Almería auch im Flachgerinnereaktor untersucht. Die Betrachtung von Reaktortemperatur und Photonenflussdichte im Tagesverlauf in Abbildung 7.4 **a** im Vergleich zu Abbildung 4.8 zeigt, dass die vorgegebenen Werte der Klimasimulation sehr gut angenähert werden konnten. Die Reaktortemperatur sank zu keinem Zeitpunkt unter 9 °C oder stieg über 31 °C, an den meisten Tagen konnten die vorgegebenen Werte sogar nahezu exakt eingehalten werden. Die Eingangsbestrahlungsstärke betrug jeden Tag um die Mittagszeit kurzzeitig etwa $1900 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ und entsprach somit dem maximalen Sollwert von $1863 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

Die physikalisch simulierten Klimabedingungen führten dazu, dass im gesamten Zeitintervall eine kontinuierliche Zunahme der Biotrockenmassekonzentration möglich war (Abbildung 7.4 **b**). Aufgrund der dynamischen Umgebungsbedingungen wuchsen die Zellen lediglich tagsüber, während nachts die Zelldichte nahezu konstant blieb. Auf diese Weise konnten nach 14 Tagen im Flachgerinnereaktor $33 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Biomasse mit *N. salina* gebildet werden. Die Flächen-Zeit-Ausbeute für den Gesamtprozess betrug zu diesem Zeitpunkt etwa $17 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$. Die spezifische Wachstumsrate in der exponentiellen Phase des Gesamtprozesses ergab sich bei vorliegendem Prozess zwischen Tag 1 und 7 (Abbildung 7.4 **b**) zu $0,023 \pm 0,002 \text{ h}^{-1}$. In diesem Zeitraum wurde mit einer Flächen-Zeit-Ausbeute von $13,6 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ eine Biotrockenmassekonzentration von $12,93 \pm 0,18 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ erreicht. Um lediglich die Biomassezunahme im Tagesverlauf bei Anwesenheit von Licht beurteilen zu können, wurden zusätzlich die Tages-Wachstumsraten des Satzprozesses bestimmt. Dabei wurde die maximale Tages-Wachstumsrate mit $0,065 \pm 0,001 \text{ h}^{-1}$ an Tag 3 ermittelt. Im weiteren Prozessver-

lauf resultierte die steigende Zelldichte in sinkenden mittleren Lichtverfügbarkeiten und somit niedrigeren Tages-Wachstumsraten ($0,037 \pm 0,002 \text{ h}^{-1}$ an Tag 7).

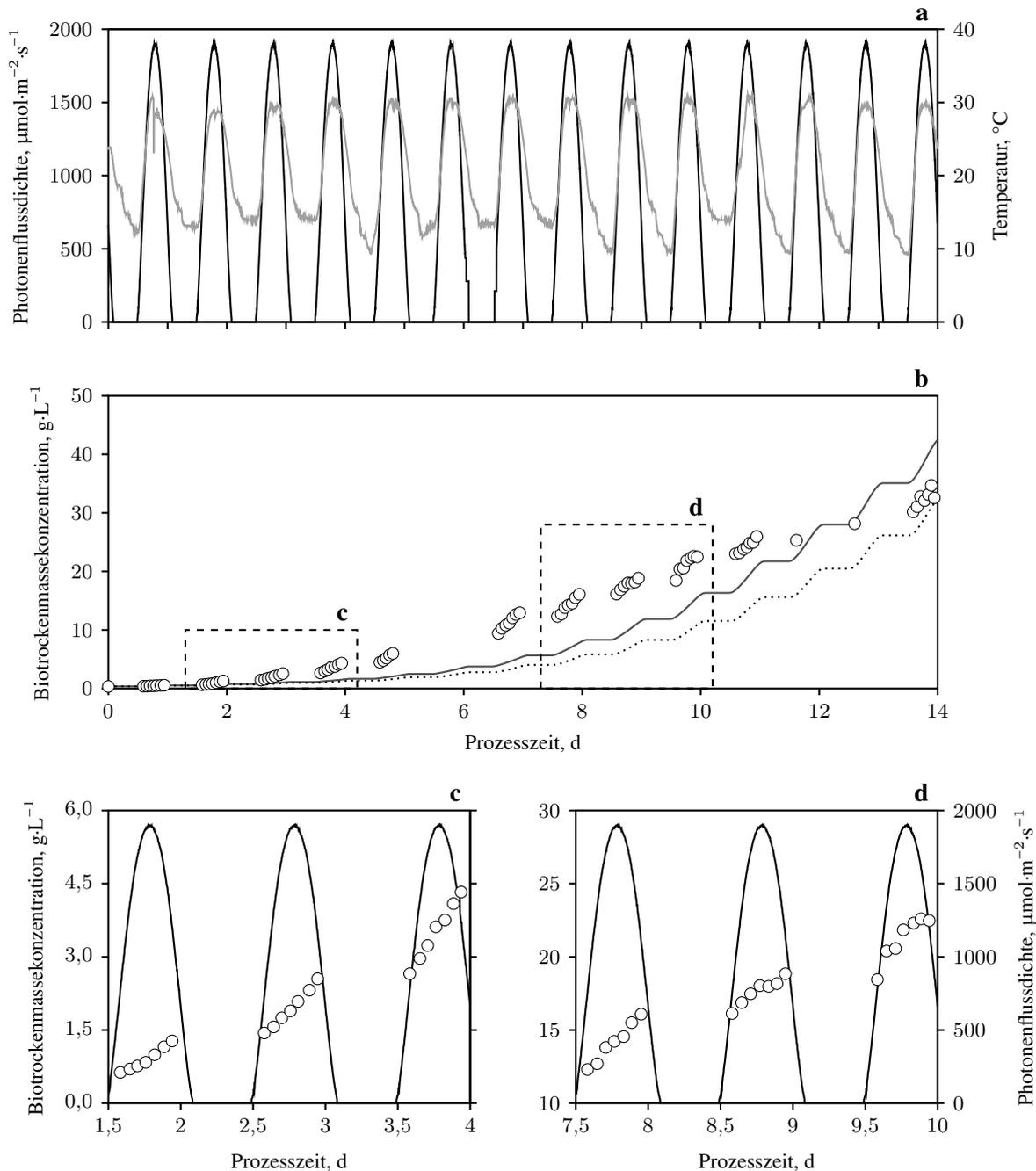


Abbildung 7.4: Darstellung eines unlimitierten Satzprozesses von *Nannochloropsis salina* mit realistischer physikalischer Klimasimulation (15. Juni 2012 in Almería, Spanien) im Flachgerinnereaktor.

a - Auf die Reaktoroberfläche auftreffende Photonflussdichte (—) sowie Temperatur der Flüssigphase im Reaktor (—) im Tagesverlauf.

b - Biotrockenmassekonzentration als Funktion der Prozesszeit: Experimentelle Daten (\circ), Vorhersage des Wachstums in Abhängigkeit der mittleren integralen Bestrahlungsstärke I^{**} nach Gleichung 5.2 (—) sowie in Abhängigkeit von I^{**} und der Temperatur nach Gleichung 7.1 (·····).

Die Ausschnitte **c** und **d** zeigen die Auswirkungen verschiedener Zelldichten (\circ) auf das Wachstum im Tagesverlauf. Während Biotrockenmassekonzentrationen $\leq 13 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ exponentielles Wachstum im gesamten Tagesverlauf erlaubten (**c**), führten höhere Zelldichten dazu, dass nur noch zur Mittagszeit die Photonflussdichte (—) ausreichend hoch für exponentielles Wachstum war (**d**).

Wie den Abbildungen 7.4 **c** & **d** entnommen werden kann, nahm die mittlere Lichtverfügbarkeit zudem maßgeblichen Einfluss auf die Dauer des exponentiellen Wachstums im Tagesverlauf. Zu Beginn des Satzprozesses war die Zelldichte noch so gering, dass im gesamten Tagesverlauf exponentielles Wachstum mit vergleichsweise hohen Wachstumsraten erreicht werden konnte (Abbildung 7.4 **c**). Mit Überschreiten einer Zelldichte von etwa $13 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ an Tag 7, lieferten die vergleichsweise niedrigen Bestrahlungsstärken in den Morgen- und Abendstunden wahrscheinlich nicht mehr ausreichend Photonen, um exponentielles Wachstum zu gewährleisten (Abbildung 7.4 **d**). Die exponentielle Wachstumsphase war somit auf die Mittagszeit reduziert und erreichbare Tages-Wachstumsraten betragen nur noch etwa $0,030 \text{ h}^{-1}$.

Die Simulation des lichtabhängigen Wachstums von *N. salina* im Flachgerinnereaktor erfolgte analog zur Wachstumssimulation im Flachplatten-Photobioreaktor nach Abschnitt 4.4.7. Wie Abbildung 7.4 **b** entnommen werden kann, wurde auch im Flachgerinnereaktor die experimentelle Wachstumskurve mit der Simulation des lichtabhängigen Wachstums (—) die ersten 13 Tage unterschätzt. Darauf folgend wurden höhere Zelldichten als die experimentell erreichten abgeschätzt. Bei der Betrachtung der gekoppelten Wachstumsabhängigkeit von Licht und Temperatur wurde die Wachstumskurve (·····) hingegen während der gesamten Prozesszeit von 14 Tagen unterschätzt. Lediglich am letzten Tag näherte sich die simulierte Kurve den experimentellen Daten etwas an. Die unter Dauerbestrahlung und konstanter Temperatur im Labormaßstab ermittelten Wachstumskinetiken sind demnach bei dynamischen Änderungen von Licht und Temperatur auch in Flachgerinnereaktoren nicht nutzbar.

Um zu überprüfen, ob die Satzprozesse im Labor- und Pilotmaßstab bei dynamischen Änderungen von Licht und Temperatur vergleichbar sind, sind die relativen Wachstumskurven der ersten 7 Tage beider Satzprozesse (Abbildungen 7.3 und 7.4) in Abbildung 7.5 **a** vergleichend dargestellt. Nachdem die Anfangs-Zelldichten der Satzprozesse in den beiden Maßstäben nicht vergleichbar waren ($0,09 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ im PBR und $0,34 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ im FGR), wurden die Biotrockenmassekonzentrationen relativ zur maximalen Konzentration des jeweiligen Prozesses nach 7 Tagen für den Vergleich verwendet. Es wird deutlich, dass der Verlauf der relativen Wachstumskurven der Satzprozesse im Flachplatten-Photobioreaktor und im Flachgerinnereaktor nahezu deckungsgleich war. Zur besseren Bewertung der Vergleichbarkeit der beiden Maßstäbe wurden zusätzlich die jeweiligen Tages-Wachstumsraten in Abbildung 7.5 **b** gegenübergestellt. Obwohl die Wachstumsraten nur an einigen Tagen (1, 4 und 5) zwischen den beiden Maßstäben vergleichbar waren, ist dennoch ein ähnlicher Trend erkennbar: Die ersten vier Tage konnte eine Zunahme der Tages-Wachstumsraten in beiden Systemen beobachtet werden, was vermutlich auf die Akklimation der Zellen zurückzuführen ist. Beginnend mit dem fünften Tag nahmen die Wachstumsraten, wahrscheinlich bedingt durch eintretende Lichtlimitierung, wieder ab. Die Abweichungen der Wachstumsraten im FGR und PBR an den einzelnen Tagen waren jedoch aufgrund der konstruktiven Unterschiede der Photobioreaktoren zu erwarten. Vor allem die unterschiedliche Schichtdicke des Flachplatten-Photobioreaktors (2 cm) und des Flachgerinnereaktors (0,6 cm) beeinflusste vermutlich die mittlere Lichtverfügbarkeit und somit das Wachstum der Mikroalgen.

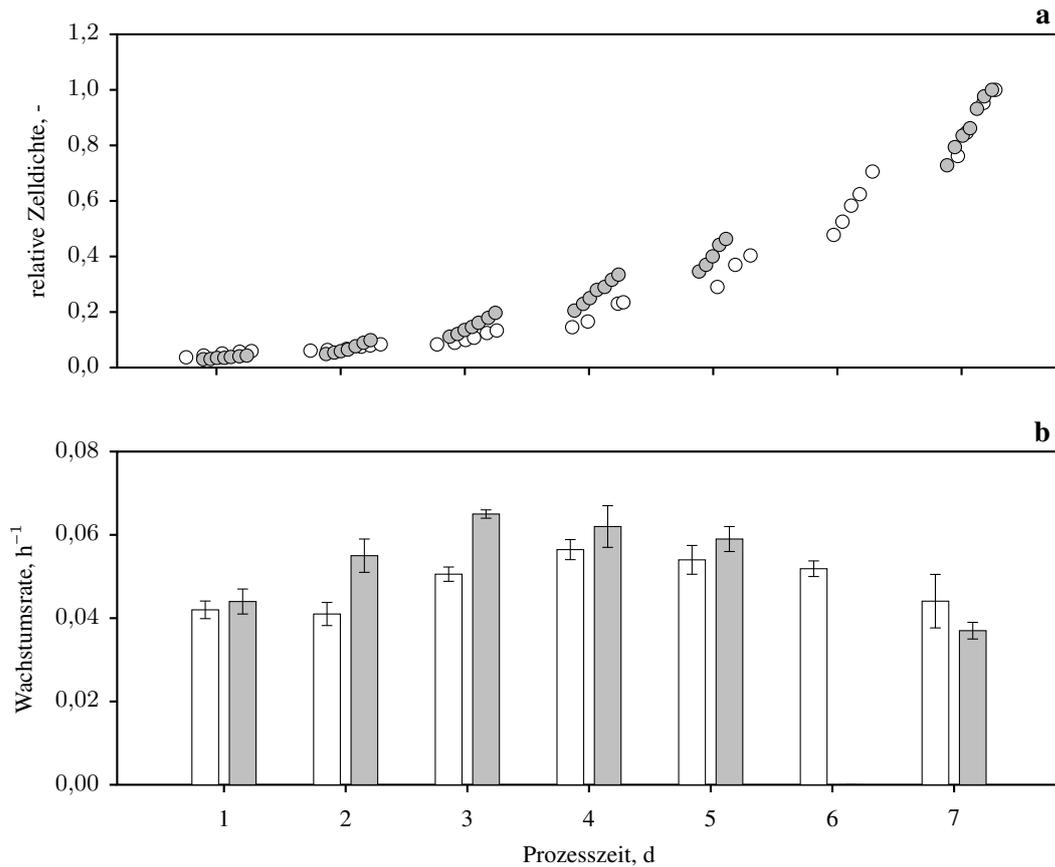


Abbildung 7.5: Vergleichende Darstellung zweier Satzprozesse von *Nannochloropsis salina* mit realistischer physikalischer Klimasimulation (15. Juni 2012 in Almería, Spanien) im Flachplatten-Photobioreaktor (○) und im Flachgerinnereaktor (●). Dargestellt sind die ersten sieben Tage, die aufgrund nicht limitierender Bedingungen zu exponentiellem Wachstum im gesamten Tagesverlauf führten.

a - Vergleich der relativen Zelldichten (normiert auf die maximale Zelldichte) der beiden Satzprozesse

b - Vergleich der Tages-Wachstumsraten in den beiden Reaktortypen

Für die systemunabhängige Betrachtung der Tages-Wachstumsraten unter dynamischen Klimabedingungen im Labor- und Pilotmaßstab sind diese in Abbildung 7.6 als Funktion der mittleren integralen Bestrahlungsstärke dargestellt. Die mittlere integrale Bestrahlungsstärke wurde für jeden Tag in dem jeweiligen Maßstab über die Integration der Eingangs-Bestrahlungsstärke sowie die mittlere Biotrockenmassekonzentration dieses Tages quantitativ angenähert. Aufgrund der steigenden Zelldichte ergab sich sowohl im Flachplatten-Photobioreaktor als auch im Flachgerinnereaktor eine Abnahme der mittleren integralen Bestrahlungsstärke mit zunehmender Prozesszeit. Abbildung 7.6 kann entnommen werden, dass bis zu einer mittleren integralen Bestrahlungsstärke von etwa $600 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ zunächst eine deutliche Zunahme der Wachstumsrate mit der Bestrahlungsstärke erzielt werden konnte. Mit Überschreitung von $I^{**} \approx 600 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ zeigte sich in beiden Systemen eine rasche Abnahme der Tages-Wachstumsrate mit steigender mittlerer integraler Bestrahlungsstärke. Diese Lichtabhängigkeit des Wachstums war sowohl für den Satzprozess im PBR als auch im FGR gleichermaßen gültig und konnte mit dem Inhibitionsmodell nach Gleichung 5.2 beschrieben werden. Nachdem die Betrachtung der Tages-Wachstumsraten auf diese Weise nur in grober Näherung möglich war, wurde auf die Darstellung kinetischer Parameter verzichtet.

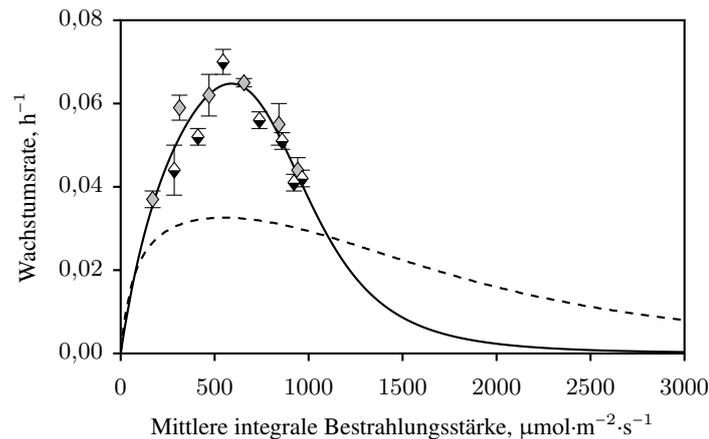


Abbildung 7.6: Darstellung der spezifischen Tages-Wachstumsraten von *Nannochloropsis salina* unter dynamischen Bedingungen (Simulation des 15. Juni 2012 in Almería, Spanien) in Flachgerinnereaktoren (\diamond) sowie Flachplatten-Photobioreaktoren (\blacklozenge) in Abhängigkeit von der mittleren integralen Bestrahlungsstärke. Die experimentellen Daten wurden mit dem modifizierten Inhibitions-Modell nach Andrews (1968) (Gleichung 5.2) angenähert (—) und sind vergleichend zur lichtabhängigen Wachstumskinetik von *N. salina* unter konstanten Bedingungen (- - -, Abbildung 5.9) dargestellt. Die Standardabweichungen ergeben sich aus der exponentiellen Regression.

Die Vergleichbarkeit der lichtabhängigen Wachstumskinetik von *N. salina* im Labor- und Pilotmaßstab mit dynamischer Änderung von Licht und Temperatur im Tagesgang (Abbildung 7.6) spricht dafür, dass prinzipiell die Maßstabsübertragung zwischen den beiden Systemen über die mittlere integrale Bestrahlungsstärke möglich ist. Dafür wären jedoch die Charakterisierung der Wachstumskinetik und die Identifizierung der kinetischen Parameter für diese Art der Prozessführung unabdingbar. Für die Vergleichbarkeit des Labor- und Pilotmaßstabes unter dynamischen Bedingungen sprechen ebenfalls die vergleichbaren Wachstumsraten der Gesamtprozesse (Tag 1-7) von $0,0209 \pm 0,0007 \text{ h}^{-1}$ (PBR) und $0,023 \pm 0,002 \text{ h}^{-1}$ (FGR, Tabelle 7.2). Im Gegensatz dazu überstieg die Flächen-Zeit-Ausbeute der Biomasse im FGR an Tag 7 mit $13,6 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ jene im PBR ($7,0 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$) um nahezu 100 %, sodass im FGR nach 7 Tagen auch eine signifikant höhere Biotrockenmassekonzentration von $12,93 \pm 0,18 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ im Vergleich zu $2,35 \pm 0,02 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (PBR) erreicht wurde. Die höhere Ausbeute und Zelldichte im FGR war aufgrund der geringeren Schichtdicke und der daraus resultierenden höheren mittleren Lichtverfügbarkeit zu erwarten. Die Konstruktion der Flachgerinnereaktoren begünstigte somit das Erreichen wesentlich höherer Zelldichten im Vergleich zum Flachplatten-Photobioreaktor bevor Lichtlimitierung eintrat.

Tabelle 7.2: Gegenüberstellung der relevanten Zustandsgrößen für die unlimitierte Biomasseproduktion von *Nannochloropsis salina* im Flachplatten-Photobioreaktor (Labormaßstab) sowie im Flachgerinnereaktor (Pilotmaßstab) mit Tagesganglinien. Die Zustandsgrößen wurden jeweils am Ende der exponentiellen Phase des Gesamtprozesses ermittelt.

Zustandsgröße		Labormaßstab	Pilotmaßstab	
μ	spezifische Wachstumsrate	$0,0209 \pm 0,0007$	$0,023 \pm 0,002$	h^{-1}
FZA_x	Biomasse-Flächen-Zeit-Ausbeute	7,0	13,6	$\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$
$c_{x,max}$	maximale Biotrockenmassekonzentration	$2,35 \pm 0,02$	$12,93 \pm 0,18$	$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

Wie bereits gezeigt werden konnte (Abbildung 7.3 **b** & 7.4 **b**), war die Wachstumskinetik von *N. salina* unter Dauerbestrahlung im Labormaßstab nicht auf das Wachstum von *N. salina* mit dynamischer Änderung von Licht und Temperatur im Labor- oder Pilotmaßstab übertragbar. Eine mögliche Ursache können signifikante Unterschiede in der lichtabhängigen Wachstumskinetik von *N. salina* unter konstanten und dynamischen Klimabedingungen sein. Um dies zu verifizieren und den direkten Vergleich mit der Lichtabhängigkeit unter dynamischer Änderung von Licht und Temperatur zu ermöglichen, wurde die Lichtabhängigkeit des Wachstums von *N. salina* bei Dauerbestrahlung ebenfalls in Abbildung 7.6 (---) dargestellt. Es wird deutlich, dass im Bereich der Lichtlimitierung bis etwa $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ die Modelle der Lichtabhängigkeit bei konstanten und dynamischen Bedingungen deckungsgleich sind. Im Bereich höherer mittlerer integraler Bestrahlungsstärken ($> 100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) kann hingegen keinerlei Übereinstimmung der beiden Wachstumsmodelle bei unterschiedlichen Bestrahlungsstrategien mehr beobachtet werden. So betrug beispielsweise die optimale Wachstumsrate bei konstanten Bedingungen mit $0,033 \text{ h}^{-1}$ weniger als die Hälfte der maximal erreichbaren Tages-Wachstumsrate von $0,070 \text{ h}^{-1}$ unter dynamischen Bedingungen. Zudem vollzog sich die Abnahme der Wachstumsrate bei hohen Bestrahlungsstärken deutlich langsamer als *N. salina* einer konstanten Bestrahlung und Temperatur ausgesetzt war. Die Unterschiede in den lichtabhängigen Wachstumskinetiken könnten demnach erklären, warum sich die Wachstumskinetik bei Dauerbestrahlung im Labormaßstab nicht auf das Wachstum bei dynamischer Änderung von Licht und Temperatur anwenden ließ.

Diskussion

Die Satzprozesse von *Nannochloropsis salina* im Flachgerinnereaktor und Flachplatten-Photobioreaktor mit dynamischer Bestrahlung und Temperatur im Tagesverlauf zeigten, dass sich die zuvor unter konstanten Bedingungen charakterisierten Licht- und Temperaturabhängigkeiten des Wachstums dieser Alge nicht auf die dynamischen Bedingungen übertragen ließen. Die Veränderung der Bestrahlung und Temperatur sowie die Wechselwirkung dieser beiden Parameter führten zu einer insgesamt deutlich veränderten lichtabhängigen Wachstumskinetik von *N. salina* im Vergleich zu konstanten Bedingungen: Einzig die der maximalen Quantenausbeute entsprechende Steigung im Bereich der Lichtlimitierung war mit $\alpha = 0,060 \pm 0,001 \text{ m}^2\cdot\text{mol}^{-1}$ bei dynamischer Bestrahlung nahezu identisch zu jener unter konstanten Bedingungen ($\alpha = 0,059 \pm 0,002 \text{ m}^2\cdot\text{mol}^{-1}$). Während jedoch die maximale Quantenausbeute bei konstanter Bestrahlung lediglich bis zu einer mittleren integralen Bestrahlungsstärke von $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ erreicht werden konnte, war *N. salina* unter dynamischer Bestrahlung bis $I^{**} \approx 200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ in der Lage, die verfügbaren Photonen mit maximaler Effizienz zu nutzen. Zudem wurde der Übergang zwischen lichtlimitiertem und -gesättigtem Wachstum bei dynamischen Bedingungen bei einer deutlich höheren mittleren integralen Bestrahlungsstärke von $294 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, im Vergleich zu $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ bei konstanten Bedingungen, erreicht. Diese Ergebnisse sprechen wiederum dafür, dass der dynamische Wechsel zwischen Hell- und Dunkel-Zyklen bei *N. salina* die Rate der Photonenabsorption in der Lichtreaktion der Photosynthese

se erheblich steigern konnte (Kok, 1960). Die maximal innerhalb eines Tages erreichbare Wachstumsrate von $0,070 \text{ h}^{-1}$ überstieg die optimale Wachstumsrate unter konstanter Bestrahlung um mehr als 100 % und bestätigt somit die Annahme der Effizienzsteigerung der Photosynthese von *N. salina* durch dynamische Bestrahlung. Das Phänomen unterschiedlich hoher Wachstumsraten bei konstanter und dynamischer Bestrahlung wurde bereits in der Literatur für *N. salina* diskutiert. Sforza *et al.* (2012b) konnten mit Lichtpulsen (*flashing light*) in geschlossenen Reaktoren die Wachstumsrate bei photoinhibierender Bestrahlung ($1200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) signifikant gegenüber der Wachstumsrate bei Dauerbestrahlung mit $1200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ steigern. Vermutlich begünstigten die kurzen Dunkelphasen die notwendige Regeneration des Photosyntheseapparates, sodass die Zellen vor oxidativen Schädigungen durch Lichtüberschuss bewahrt werden konnten. Eine weitere Studie (Sforza *et al.*, 2012a) ermittelte eine um 38 % niedrigere Wachstumsrate des Gesamtprozesses in Blasensäulen mit Hell-Dunkel-Zyklen (12:12) im Vergleich zu konstanter Bestrahlung. Die Tatsache, dass jedoch mit 50 % der Photonen immer noch 62 % der Wachstumsrate unter konstanter Bestrahlung erreicht werden konnten, unterstreicht die bereits beschriebene Annahme, dass *N. salina* unter dynamischer Bestrahlung die Lichtphasen tatsächlich wesentlich effizienter für die Photosynthese nutzen kann. Wahrscheinlich benötigen Mikroalgen regelmäßige Dunkelphasen, um bei Anwesenheit von Licht die Photonen effizienter nutzen zu können. Vor allem hohe Bestrahlungsstärken können bei Dauerbestrahlung zu einer Überbeanspruchung der Elektronentransportkette und einer daraus resultierenden oxidativen Schädigung der Photosysteme führen (Häder, 1999). Es ist zwar bekannt, dass Mikroalgen in der Lage sind beschädigte Photosysteme zu reparieren, doch dieser Vorgang benötigt in der Regel mehrere Stunden (Comacho Rubio *et al.*, 2003). Sind die Zellen während des Reparaturvorgangs weiterhin photoinhibierender Bestrahlung ausgesetzt, stellt sich womöglich ein Gleichgewicht zwischen Wiederherstellung und Schädigung ein. Die dynamische Bestrahlung mit ausreichend langen Dunkelphasen hingegen ermöglicht in der Theorie nicht nur die Regeneration der Elektronentransporter, sondern ebenso die Reparatur geschädigter Photosysteme. Dies wiederum könnte die Effizienz der Photonennutzung bei Anwesenheit von Licht erheblich steigern und so zu den deutlich höheren Wachstumsraten im Vergleich zu konstanter Bestrahlung mit identischer mittlerer Lichtverfügbarkeit geführt haben. Ein weiterer Effekt der dynamischen Bestrahlung war in dieser Arbeit die Abnahme der Wachstumsrate aufgrund von Photoinhibition bei merklich niedrigeren mittleren integralen Bestrahlungsstärken im Vergleich zu konstanten Lichtverhältnissen. Die Ursache dafür liegt möglicherweise in der von Sorokin & Krauss (1962) beschriebenen Wechselwirkung von Licht und Temperatur begründet: Photoinhibition tritt bei Mikroalgen verstärkt im Bereich sub- und supraoptimaler Temperaturen auf. Bei dem Prozess mit Tagesganglinien konnten Temperaturextrema von $9 \text{ }^\circ\text{C}$ beziehungsweise $31 \text{ }^\circ\text{C}$ beobachtet werden. Während $31 \text{ }^\circ\text{C}$ aufgrund des Temperaturoptimums von *N. salina* bei $29,3 \text{ }^\circ\text{C}$ (Abschnitt 5.5) ohne negative Auswirkungen auf das Wachstum toleriert wurde, könnten vor allem bei geringen Zelldichten die Temperaturen in der ersten Tageshälfte Photoinhibition begünstigt haben. Die Algensuspension erreichte nachts die minimale Temperatur von bis zu $9 \text{ }^\circ\text{C}$. Mit steigender Bestrahlungsstärke erwärmte sich im Tages-

verlauf die gesamte Algensuspension, wobei allerdings ungünstige Kombinationen aus Licht und Temperatur möglich waren. Beispielsweise erreichte die Bestrahlungsstärke $450 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ bei einer Temperatur von 15°C und bereits $850 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ bei 20°C . Die Temperaturabhängigkeit des Wachstums von *N. salina* (Abschnitt 5.5) zeigte, dass bei 15°C kaum Wachstum möglich war und auch bei einer Temperatur von 20°C die Wachstumsrate merklich reduziert war. Nachdem bei *N. salina* unter konstanten Bedingungen bei 25°C bereits ab $I^{**} = 717 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ der photoinhibierte Bereich des Wachstums beginnt (Abschnitt 5.3.1), kann davon ausgegangen werden, dass dieser Bereich bei niedrigeren Temperaturen bei deutlich geringeren Bestrahlungsstärken beginnt. Während die suboptimalen Temperaturen einerseits Photoinhibition begünstigen, können diese andererseits den Biomasseverlust in den Dunkelphasen minimieren. Bei Abwesenheit von Licht gewinnen Mikroalgen die für den Erhaltungsstoffwechsel notwendige Energie aus dem Abbau energiereicher Verbindungen im Rahmen der Dunkelrespiration (Tredici, 2010), wobei die Biomassekonzentration innerhalb von 12 Stunden im Durchschnitt um 10 % abnimmt (Grobbelaar & Soeder, 1985). Edmundson & Huesemann (2015) berichten zudem für *N. salina* von einer erheblichen Abhängigkeit des Biomasseabbaus von der vorherrschenden Temperatur. Während bei 20°C in der 10-stündigen Dunkelphase 20 % der Biomasse für die Energiegewinnung genutzt wurden, waren es bei 10°C lediglich 2 %. Bei den in dieser Arbeit gezeigten Satzprozessen in Flachgerinnereaktoren und Flachplatten-Photobioreaktoren mit Tagesganglinien dauerte die Dunkelphase ebenfalls 10 Stunden bei $9\text{--}13^\circ\text{C}$, wobei maximal 3 % der Biomasse abgebaut wurden.

Die beschriebenen Unterschiede in der Lichtabhängigkeit des Wachstums von *N. salina* zwischen konstanter Bestrahlung und Tagesganglinien erklären, dass die Biomassebildung bei unterschiedlichen Bestrahlungsstrategien weder im Labormaßstab noch im Pilotmaßstab identisch war. Dessen ungeachtet waren die Wachstumskurven unter dynamischen Bedingungen im Flachgerinnereaktor und im Flachplatten-Photobioreaktor qualitativ sehr gut vergleichbar. Nahezu identische Wachstumsraten in der exponentiellen Wachstumsphase des Gesamtprozesses sowie vergleichbare Lichtabhängigkeiten der Tages-Wachstumsraten legen die Vermutung nahe, dass die Maßstabsübertragung vom Labor- in den Pilotmaßstab mit einer geeigneten Wachstumskinetik für dynamische Bedingungen möglich ist. Dabei gilt es allerdings zu berücksichtigen, dass aufgrund konstruktiver Unterschiede der Reaktoren im Labor- (Flachplatten-Photobioreaktor) und Pilotmaßstab (Flachgerinnereaktor) die Maßstabsübertragung lediglich qualitativ erfolgen konnte. Die geringere Schichtdicke des Flachgerinnereaktors (0,6 cm) im Vergleich zum Flachplatten-Photobioreaktor (2 cm) ermöglicht eine deutlich bessere mittlere Lichtverfügbarkeit, sodass im Pilotmaßstab mit Tagesganglinien wesentlich höhere Zelldichten erreichbar sind als im Labormaßstab. Die signifikant höhere Zelldichte ($12,93 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) und Flächen-Zeit-Ausbeute ($13,6 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$) am Ende des exponentiellen Wachstums des Gesamtprozesses im Flachgerinnereaktor im Vergleich zum Flachplatten-Photobioreaktor ($2,35 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, $7,0 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$) unterstützt die Annahme der besseren Lichtverfügbarkeit im FGR. Selbst mit optimierter konstanter Lichtverfügbarkeit im Flachplatten-Photobioreaktor (Abschnitt 5.4) betrug die Flächen-Zeit-Ausbeute von *N. salina* lediglich

$10,4 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ und war somit um 24 % geringer als im Flachgerinnereaktor.

Der Vergleich der Ausbeuten bei konstanter und dynamischer Bestrahlung ist jedoch aufgrund der bereits diskutierten unterschiedlichen Lichtabhängigkeit unter Dauerbestrahlung beziehungsweise Tagesganglinien schwierig. Ebenso ist es kaum möglich, die Ergebnisse dieser Arbeit im FGR mit realistischer physikalischer Klimasimulation mit Literaturdaten zu vergleichen, da *Nannochloropsis salina* bis zu diesem Zeitpunkt nicht in vergleichbaren Reaktoren mit vergleichbaren dynamischen Bedingungen kultiviert wurde. Es können jedoch Daten unter realen Klimabedingungen in unterschiedlichen Reaktoren für eine grobe Einordnung der Ergebnisse dieser Arbeit genutzt werden. Beispielsweise berichteten de Vree *et al.* (2015) von maximalen Flächen-Zeit-Ausbeuten von *Nannochloropsis* sp. von bis zu $27,5 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ ($\hat{=}$ $1,2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) in kontinuierlich betriebenen Flachplatten-Reaktoren in Holland. Boussiba *et al.* (1987) konnten ähnliche Flächen-Zeit-Ausbeuten von $24,5 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ ($\hat{=}$ $0,2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) bei Satzprozessen mit *N. salina* in *raceway ponds* in Israel erzielen. Im Vergleich dazu war die maximal in dieser Arbeit erreichbare Flächen-Zeit-Ausbeute von $17,3 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ zwar wesentlich geringer, die Raum-Zeit-Ausbeute war jedoch mit $2,3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ deutlich höher. Dies spricht wiederum dafür, dass das Oberfläche/Volumen-Verhältnis im Flachgerinnereaktor deutlich höher ist als bei den von de Vree *et al.* (2015) und Boussiba *et al.* (1987) verwendeten Reaktortypen. Dies ist wiederum positiv zu bewerten, da ein höheres Oberfläche/Volumen-Verhältnis zu geringerer gegenseitiger Beschattung führt und somit höhere finale Zelldichten erreicht werden können (Chmiel, 2011).

7.3 Maßstabsübertragung der Lipidproduktion mit *Nannochloropsis salina*

Die Maßstabsübertragung des Wachstums von *Nannochloropsis salina* mit der mittleren integralen Bestrahlungsstärke als Übertragungskriterium konnte vom Labor- in den Pilotmaßstab für konstante Bestrahlung und Temperatur erfolgreich demonstriert werden. Die Anwendbarkeit der unter konstanten Reaktionsbedingungen ermittelten licht- und temperaturabhängigen Wachstumskinetik bei dynamischer Änderung von Licht und Temperatur konnte hingegen nicht gezeigt werden. Es war lediglich möglich, eine qualitative Vergleichbarkeit zwischen Labor- und Pilotmaßstab mit realistischer physikalischer Klimasimulation zu veranschaulichen. Nachfolgend soll nun ebenfalls die Skalierbarkeit der Lipidbildung mit *N. salina* zunächst unter konstanten und abschließend unter dynamischen Bedingungen untersucht werden.

7.3.1 Lipidproduktion mit konstanter Eingangsbestrahlungsstärke

Für die Untersuchung der Vergleichbarkeit der Lipidbildung mit vergleichbarer konstanter Eingangsbestrahlungsstärke im Labor- und Pilotmaßstab wurden Satzprozesse mit *N. salina* im Flachplatten-Photobioreaktor ($I_0 = 640 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) und Flachgerinnereaktor ($I_0 = 580 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) durchgeführt. Die Lipidakkumulation wurde jeweils durch eine Stickstofflimitierung ($c_{\text{NO}_3} \leq 0,3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) induziert. In Abbildung 7.7 ist sowohl die Biotrockenmasse- als auch die Lipidkonzentration als Funktion der Prozesszeit im Flachplatten-Photobioreaktor (a) und Flachgerinnereaktor (b) dargestellt. In Tabelle 7.3 sind die wichtigsten Prozessparameter der Lipidbildung für beide Maßstäbe zusammengefasst.

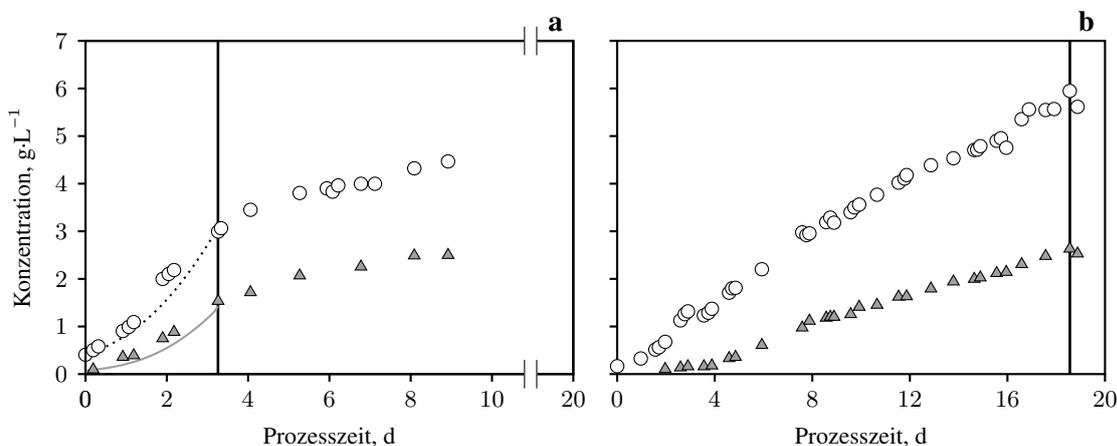


Abbildung 7.7: Darstellung der Lipidproduktion mit *Nannochloropsis salina* mit konstanter Eingangsbestrahlungsstärke im Flachplatten-Photobioreaktor (a, $I_0 = 640 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) und im Flachgerinnereaktor (b, $I_0 = 580 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Gezeigt sind sowohl die Biotrockenmassekonzentration (○) als auch die Lipidkonzentration (△) als Funktion der Zeit. Das Ende der linearen Lipidbildung ist durch eine senkrechte schwarze Linie gekennzeichnet. Zudem ist die Vorhersage der Biomasse- (·····) und Lipidbildung (—) im PBR nach den Gleichungen 4.12 und 5.3 dargestellt. Die Lipidproduktion wurde durch eine Stickstofflimitierung ($c_{\text{NO}_3} \leq 0,3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) induziert.

Abbildung 7.7 kann entnommen werden, dass die Lipidbildung im Flachplatten-Photobioreaktor wesentlich schneller vonstatten ging als im Flachgerinnereaktor. Während die lineare Lipidbildungsphase im Labormaßstab bereits nach 3,5 Tagen den Sättigungs-Lipidgehalt von etwa 60 % ($\hat{=} 1,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) der Biotrocken-

massekonzentration erreichte, dauerte die lineare Lipidbildung im Pilotmaßstab nahezu 19 Tage an und führte mit lediglich 45 % ($\hat{=} 2,6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) zu einem wesentlich geringeren Lipidgehalt. Am Ende des jeweiligen Prozesses (PBR - 9 Tage, FGR - 19 Tage) wurde in beiden Maßstäben eine nahezu identische absolute Lipidkonzentration von etwa $2,6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ erzielt. Die merklich schnellere Lipidakkumulation im Flachplatten-Photobioreaktor spiegelte sich ebenfalls in der fast fünffach höheren spezifischen Lipidbildungsrate ($0,35 \pm 0,05 \text{ g}_{\text{Lipid}}\cdot\text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ im Vergleich zu $0,074 \pm 0,004 \text{ g}_{\text{Lipid}}\cdot\text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) wider. Ebenso verhält es sich mit der Flächen-Zeit-Ausbeute der Lipidbildung: Mit $9,4 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ konnte im Labormaßstab eine wesentlich höhere Ausbeute erzielt werden als im Pilotmaßstab mit $3,4 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$.

Tabelle 7.3: Gegenüberstellung der relevanten Zustandsgrößen für die Lipidproduktion von *Nannochloropsis salina* im Flachplatten-Photobioreaktor (Labormaßstab) sowie im Flachgerinnereaktor (Pilotmaßstab) bei konstanter Eingangsbestrahlungsstärke und Stickstofflimitierung. Die Zustandsgrößen wurden jeweils am Ende der linearen Lipidbildungsphase ermittelt.

Zustandsgröße		Labormaßstab	Pilotmaßstab	
q_L	Lipidbildungsrate	$0,35 \pm 0,05$	$0,074 \pm 0,004$	$\text{g}_{\text{Lipid}}\cdot\text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$
FZA_L	Lipid-Flächen-Zeit-Ausbeute	9,4	3,4	$\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$
$c_{L,max}$	maximaler Lipidgehalt	0,60	0,45	$\text{g}_{\text{Lipid}}\cdot\text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1}$

Die Gegenüberstellung der Lipidbildung mit *N. salina* bei konstanter Bestrahlung im Flachplatten-Photobioreaktor sowie Flachgerinnereaktor zeigte, dass die Lipidbildung im Pilotmaßstab aufgrund der deutlich geringeren Lipidbildungsrate und des niedrigeren Lipidgehaltes nicht als vergleichbar bewertet werden kann. Aus diesem Grund wurde auf eine vergleichende Vorhersage der Lipidbildung im FGR mit der lichtabhängigen Lipidbildungskinetik von *N. salina* unter konstanten Bedingungen (Abschnitt 5.3.2) verzichtet.

Die Lipidbildung mit *N. salina* im Flachplatten-Photobioreaktor führte zu einem maximalen Lipidgehalt von rund 60 %, was dem in dieser Arbeit identifizierten Sättigungs-Lipidgehalt entspricht. Deshalb wurde für den Satzprozess im PBR der theoretisch mögliche zeitliche Verlauf der Biomasse- und Lipidkonzentration simuliert, um die Anwendbarkeit der lichtabhängigen Lipidbildungskinetik zu überprüfen. Zu diesem Zweck wurden zunächst mit den in Abbildung 5.11 dargestellten Wachstumskurven die lichtabhängigen Wachstumsraten der gesamten Biomasse sowie der lipidfreien Biomasse in der linearen Produktbildungsphase ermittelt. Diese Wachstumsraten wurden als Funktion der zugehörigen mittleren integralen Bestrahlungsstärke aufgetragen und mit einer Sättigungsfunktion angenähert. Diese lieferte die kinetischen Parameter für die Lichtabhängigkeit der Wachstumsraten der Gesamtbiomasse ($\mu_{max,x} = 0,038 \text{ h}^{-1}$, $K_{S,x} = 105 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) sowie der lipidfreien Biomasse ($\mu_{max,x-L} = 0,025 \text{ h}^{-1}$, $K_{S,x-L} = 228 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). In einem iterativen Prozess wurde daraufhin mit der Eingangs-Bestrahlungsstärke von $640 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ und der Anfangs-Zell-dichte zu Beginn der Limitierung ($0,4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) die lineare Wachstumskurve ($dc_x = c_x \cdot \mu_x$) in Abhängigkeit der mittleren integralen Bestrahlungsstärke abgeschätzt. Diese Wachstumskurve wurde weiterhin genutzt, um mit

den kinetischen Parametern der lipidfreien Biomasse sowie mit den Gleichungen 4.12 und 5.3 die Lipidkonzentration als Funktion der Zeit abzuschätzen. Diese Vorgehensweise erforderte allerdings die Annahme, dass die Zunahme der Gesamt-Biomasse nicht allein auf der steigenden Lipidkonzentration beruht, sondern zusätzlich lipidfreie Biomasse gebildet werden konnte. Zudem erfolgte die Simulation der zeitlichen Entwicklung der Biomasse und Lipide lediglich bis zu einem maximalen Lipidgehalt von 60 % und wurde dann beendet. Diese Vorgehensweise ergab die in Abbildung 7.7 **a** dargestellten simulierten Biomasse- (·····) und Lipidkonzentrationen (—) als Funktion der Zeit. Es wird deutlich, dass die simulierte Biomasse- und Lipidbildung bis zum Erreichen des Sättigungs-Lipidgehaltes von 60 % mit den experimentellen Daten relativ gut vergleichbar sind. Die in dieser Arbeit charakterisierte Lipidbildungskinetik (Abschnitt 5.3.2) scheint somit für die Vorhersage der Lipidbildung unter konstanten Bedingungen geeignet zu sein.

7.3.2 Lipidproduktion mit Tagesganglinien

Um die Vergleichbarkeit der Lipidproduktion mit *Nannochloropsis salina* unter physikalisch simulierten Klimabedingungen des 15. Juni 2012 in Almería, Spanien, im Flachplatten-Photobioreaktor sowie Flachgerinnereaktor untersuchen zu können, wurden Satzprozesse in diesen beiden Maßstäben durchgeführt. Dabei wurde zu Beginn eine deutlich reduzierte Nitratkonzentration von $1,1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ im Flachplatten-Photobioreaktor beziehungsweise $0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ im Flachgerinnereaktor zugegeben. Auf diese Weise sollte nach dem Biomasse-Ausbeutekoeffizienten von *N. salina* ($Y_{x/\text{NO}_3} \approx 2 \text{ g}_{\text{Biomasse}} \cdot \text{g}_{\text{NO}_3}^{-1}$) im Labormaßstab eine Zelldichte von etwa $2,2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ und im Pilotmaßstab von etwa $1,0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ erreicht werden, bevor die Lipidbildung durch Stickstoffmangel induziert wird. In Abbildung 7.8 sind die Biotrockenmasse- und Lipidkonzentrationen der Satzprozesse von *N. salina* als Funktion der Zeit im Flachplatten-Photobioreaktor (**a**) sowie im Flachgerinnereaktor (**b**) dargestellt. In Tabelle 7.4 sind die relevanten Parameter der Lipidbildung für beide Maßstäbe gegenüber gestellt.

Abbildung 7.8 **a** kann entnommen werden, dass die Satz-Nitratkonzentration von $1,1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ im PBR wie erwartet zu einer Biotrockenmassekonzentration von $2,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ führte, bevor nach etwa 7 Tagen eine verstärkte Lipidbildung beobachtet werden konnte. Die Anfangs-Lipidkonzentration von $0,3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ entsprach mit etwa 12 % dem vielfach in dieser Arbeit beobachteten Grund-Lipidgehalt von *N. salina*. Durch die vermehrte Akkumulation von Lipiden wurde nach einer Prozesszeit von 13,5 Tagen eine Konzentration von $3,8 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ erreicht, was dem Sättigungs-Lipidgehalt von etwa 60 % entsprach. Im weiteren Prozessverlauf blieb sowohl die Biotrockenmasse- als auch die Lipidkonzentration nahezu konstant. Im Bereich der linearen Lipidbildung (Tage 7-13,5) wurde so eine spezifische Lipidbildungsrate von $0,19 \pm 0,05 \text{ g}_{\text{Lipid}} \cdot \text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ und eine Flächen-Zeit-Ausbeute von $11,1 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ erzielt.

Des Weiteren wurde wie bei konstanter Bestrahlung auch für den Prozess mit Tagesganglinien im Labormaßstab die theoretische Biomasse- und Lipidbildung unter Stickstofflimitierung simuliert. Die Vorgehensweise

war derer unter konstanter Bestrahlung gleich (Abschnitt 7.3.1), außer dass die Eingangs-Bestrahlungsstärke den Tagesganglinien der Bestrahlung entnommen wurde. Die in Abbildung 7.8 a dargestellten Ergebnisse der Simulation zeigen, dass die Nutzung der Lipidbildungskinetik, die unter konstanten Bedingungen ermittelt wurde, auf dynamische Bedingungen nicht anwendbar war, da sowohl die Biomasse- als auch die Lipidbildung deutlich überschätzt wurden.

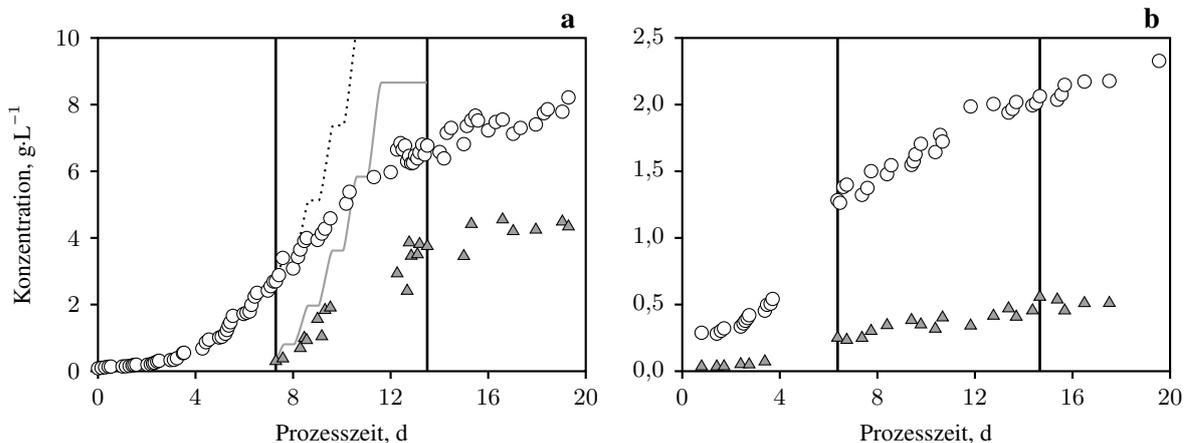


Abbildung 7.8: Darstellung der Lipidproduktion mit *Nannochloropsis salina* mit realistischer physikalischer Klimasimulation (15. Juni 2012 in Almería, Spanien) im Flachplatten-Photobioreaktor (a) und im Flachgerinnereaktor (b). Gezeigt sind sowohl die Biotrockenmassekonzentration (○) als auch die Lipidkonzentration (△) als Funktion der Zeit, Beginn und Ende der linearen Lipidbildung sind jeweils durch eine senkrechte schwarze Linie gekennzeichnet. Zudem ist die Vorhersage der Biomasse- (·····) und Lipidbildung (—) im PBR nach Gleichung 4.12 und 5.3 dargestellt. Die Lipidproduktion wurde induziert, nachdem das zu Beginn zugegebene Nitrat ($1,1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ im PBR und $0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ im FGR) vollständig von den Zellen aufgenommen worden war.

Im Gegensatz zu Abbildung 7.8 a geht aus Abbildung 7.8 b hervor, dass kaum Lipidbildung mit *N. salina* bei Tagesganglinien im Flachgerinnereaktor beobachtet werden konnte. Nach 6,5 Tagen war die Anfangs-Nitratkonzentration von $0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ aufgebraucht, wobei, wie erwartet, eine Zelldichte von etwa $1,2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ gebildet werden konnte. Daraufhin stieg die Lipidkonzentration leicht von $0,1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ auf bis zu $0,6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ an, was einem Lipidgehalt von 27 % entsprach. Im weiteren Prozessverlauf konnte zwar noch ein geringer Anstieg der Biotrockenmassekonzentration verzeichnet werden, die Lipidkonzentration blieb hingegen konstant. Die geringe Zunahme der Lipidkonzentration in der linearen Phase resultierte in einer spezifischen Lipidbildungsrate, welche mit $0,019 \pm 0,002 \text{ g}_{\text{Lipid}}\cdot\text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ lediglich ein Zehntel der Lipidbildungsrate im Labormaßstab betrug. Ähnliches zeigte sich bei der Flächen-Zeit-Ausbeute der Lipide, welche mit $0,8 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ um mehr als 90 % geringer war als jene im Flachplatten-Photobioreaktor. Auf eine vergleichende Simulation der Lipidbildung im Flachgerinnereaktor mit Tagesganglinien wurde aufgrund der sehr geringen Lipidbildungsrate und des niedrigen Lipidgehaltes verzichtet.

Tabelle 7.4: Gegenüberstellung der relevanten Zustandsgrößen für die Lipidproduktion von *Nannochloropsis salina* im Flachplatten-Photobioreaktor (Labormaßstab) sowie im Flachgerinnereaktor (Pilotmaßstab) mit Tagesganglinien und Stickstofflimitierung. Die Parameter wurden jeweils am Ende der linearen Lipidbildungsphase des Gesamtprozesses ermittelt.

Zustandsgrößen		Labormaßstab	Pilotmaßstab	
q_L	Lipidbildungsrate	$0,19 \pm 0,05$	$0,019 \pm 0,002$	$g_{\text{Lipid}} \cdot g_{\text{Biomasse}}^{-1} \cdot d^{-1}$
FZA_L	Lipid-Flächen-Zeit-Ausbeute	11,1	0,8	$g \cdot m^{-2} \cdot d^{-1}$
$c_{L,max}$	maximaler Lipidgehalt	0,60	0,27	$g_{\text{Lipid}} \cdot g_{\text{Biomasse}}^{-1}$

Diskussion

Die Lipidbildung im Labormaßstab führte sowohl mit konstanter Bestrahlung als auch mit Tagesganglinien zu dem in dieser Arbeit identifizierten Sättigungs-Lipidgehalt von 60 %. Auch die spezifischen Lipidbildungsrate ließen sich in die bereits in dieser Arbeit erzielten Ergebnisse (Abschnitt 5.3.2) einordnen, wobei die spezifische Lipidbildung mit $0,35 \pm 0,05 g_{\text{Lipid}} \cdot g_{\text{Biomasse}}^{-1} \cdot d^{-1}$ mit konstanter Bestrahlung schneller vorstatten ging als mit Tagesganglinien ($0,19 \pm 0,05 g_{\text{Lipid}} \cdot g_{\text{Biomasse}}^{-1} \cdot d^{-1}$). Die spezifische Lipidbildungsrate mit dynamischer Bestrahlung betrug lediglich 54 % der Lipidbildungsrate unter konstanter Bestrahlung. Vor dem Hintergrund, dass bei dynamischer Bestrahlung lediglich 14 Stunden des Tages ($\hat{=}$ 58 %) Photonen für die Photosynthese zur Verfügung standen, sind die Lipidbildungsrate bei konstanten und dynamischen Bedingungen im Labormaßstab vergleichbar. Die Flächen-Zeit-Ausbeute am Ende der linearen Lipidbildung war im Labormaßstab mit Tagesganglinien trotz der Dunkelphasen mit $11,1 g \cdot m^{-2} \cdot d^{-1}$ sogar um 18 % höher als mit konstanter Bestrahlung ($9,4 g \cdot m^{-2} \cdot d^{-1}$). Da bei Abwesenheit von Licht gespeicherte Lipide üblicherweise für den Aufbau polarer Strukturlipide als Bestandteil von Zellmembranen genutzt werden (Thompson, 1996) und keine weitere Akkumulation von Speicherlipiden stattfindet, ist die höhere Flächen-Zeit-Ausbeute bei dynamischer Bestrahlung erstaunlich. Möglicherweise greift auch hier der bereits in Abschnitt 7.2 beschriebene positive Einfluss der Dunkelphasen auf die Reparaturmechanismen sowie die Regenerationskapazität der Mikroalgen (Comacho Rubio *et al.*, 2003; Sforza *et al.*, 2012a). Die in dieser Arbeit ermittelte Flächen-Zeit-Ausbeute unter realistischer physikalischer Klimasimulation übersteigt zudem deutlich die in der Literatur publizierten Werte für *N. salina* von beispielsweise bis zu $4 g \cdot m^{-2} \cdot d^{-1}$ in *Raceway Ponds* in Israel unter realen Klimabedingungen (Boussiba *et al.*, 1987).

Im Gegensatz zu den aseptischen Satzprozessen in Flachplatten-Photobioreaktoren im Labormaßstab wurden in offenen Flachgerinnereaktoren wesentlich geringere Lipid-Flächen-Zeit-Ausbeuten von $3,4 g \cdot m^{-2} \cdot d^{-1}$ mit konstanter Bestrahlung und lediglich $0,8 g \cdot m^{-2} \cdot d^{-1}$ mit Tagesganglinien erreicht. Auch die maximal erreichten Lipidgehalte von 45 % mit konstanter Bestrahlung und 27 % unter dynamischen Bedingungen lagen ebenso deutlich unter den erreichbaren Werten in Flachplatten-Photobioreaktoren wie die spezifischen Lipidbildungsrate. Eine mögliche und sehr wahrscheinliche Ursache ist der negative Einfluss von Kontaminationen in den offenen Photobioreaktoren (FGR). Trotz des hohen Salzgehaltes von $27 g \cdot L^{-1}$ und des hohen

pH von 8,0 zur Verminderung von Kontaminationen, wurden bei den Satzprozessen im Flachgerinnereaktor mikroskopisch sowohl Bakterien als auch andere Algenspezies und Fressfeinde identifiziert. Dabei war die Algensuspension im Satzprozess mit realistischer physikalischer Klimasimulation deutlich stärker kontaminiert als bei konstanter Bestrahlung. Sukenik *et al.* (1993) berichten ebenfalls von signifikanten negativen Einflüssen von Kontamination auf das Wachstum und die Lipidbildung bei der Massenproduktion von *N. salina* im Freien, bis hin zu einem vollständigen Erliegen des Wachstums beziehungsweise der Lipidbildung. Daher wird auch bei den in dieser Arbeit vorliegenden Ergebnissen davon ausgegangen, dass die Kontamination der Algensuspension im Flachgerinnereaktor ausschlaggebend war für die vergleichsweise sehr geringe Lipidakkumulation.

Die unter konstanten Reaktionsbedingungen ermittelte lichtabhängige Lipidbildungskinetik im Labormaßstab konnte nicht für die Beschreibung der Lipidbildung bei dynamischer Änderung von Licht und Temperatur genutzt werden. Vermutlich wirken sich Hell- und Dunkelphasen sowie die Wechselwirkung von Licht und Temperatur ebenso auf die lichtabhängige Lipidbildungskinetik aus wie bereits bei der Wachstumskinetik in Abschnitt 7.2 gezeigt. Im Gegensatz dazu konnte die lichtabhängige Lipidbildungskinetik (Abschnitt 5.3.2) für den Satzprozess mit konstanter Bestrahlung im Flachplatten-Photobioreaktor angewandt werden. Die ermittelten kinetischen Parameter ermöglichten die erfolgreiche Vorhersage der zeitlichen Lipid- und Biomassebildung von *N. salina* bei konstanter Eingangs-Bestrahlungsstärke und Stickstofflimitierung im Flachplatten-Photobioreaktor.

8 Zusammenfassung und Ausblick

Das Potential von Mikroalgen, ein breites Spektrum biotechnologisch interessanter Produkte unter der Nutzung von Sonnenlicht und Kohlenstoffdioxid herzustellen, erklärt das große Interesse an diesen Organismen (Borowitzka & Moheimani, 2013a; Brennan & Owende, 2010; de la Noue & de Pauw, 1988). Mikroalgen können ganzjährig auf landwirtschaftlich nicht nutzbaren Flächen zur Herstellung von Substanzen genutzt werden, die in der chemischen, kosmetischen oder pharmazeutischen Industrie Anwendung finden (Posten & Walter, 2012; Rosello-Sastre, 2012). Zudem sind einige Spezies in der Lage, in Stresssituationen einen Großteil ihrer Biomasse in Form energiereicher Lipide zu akkumulieren und so als Treibstoffproduzenten zu fungieren (Posten, 2012). Die geringe Wertschöpfung bei der Herstellung von Mikroalgenöl stellt eine Herausforderung bei der Gestaltung ökonomischer Produktionsprozesse dar (Chisti, 2012). Eine Reduktion der Herstellungskosten kann beispielsweise durch möglichst hohe Biomassekonzentrationen vor der Ernte erzielt werden (Brennan & Owende, 2010; Lee, 2001). Vor allem geschlossene Plattenreaktoren oder offene Flachgerinnereaktoren können aufgrund ihrer geringen Schichtdicke für die Produktion hoher Zelldichten genutzt werden (Doucha & Lívanský, 2014; Zou *et al.*, 2000). Während geschlossene Photobioreaktoren definierte Reaktionsbedingungen ermöglichen, stellen offene Systeme die wesentlich kostengünstigere Alternative dar (Brennan & Owende, 2010; Huesemann & Benemann, 2009). Offene Photobioreaktoren sind jedoch dynamischen Änderungen des Klimas sowie dem Risiko von Kontaminationen ausgesetzt und erfordern demnach robuste Mikroalgenspezies für die erfolgreiche Produktion von Lipiden mit möglichst hohem Flächenertrag (Castillo *et al.*, 1980; Harun *et al.*, 2010; Lee, 1986). Diese Forderung könnten von *Nannochloropsis* sp. erfüllt werden. Diese Mikroalgengattung zeichnet sich durch einen hohen erreichbaren Lipidgehalt, schnelles Wachstum sowie eine ausgeprägte Toleranz gegenüber einem breiten Licht- und Temperaturbereich aus (Amaro *et al.*, 2011; Boussiba *et al.*, 1987; Figueroa *et al.*, 1997; Rodolfi *et al.*, 2009). Obwohl *Nannochloropsis* sp. in der Literatur bereits vielfältig beschrieben wurden, fehlen kinetische Informationen zu den licht- und temperaturabhängigen spezifischen Wachstums- und Produktbildungsraten als Basis für die Auslegung und Maßstabsvergrößerung von Produktionsprozessen mit Mikroalgen.

Nachdem Licht und Temperatur den wohl größten Einfluss auf das Wachstum von Mikroalgen nehmen und zudem in offenen Photobioreaktoren schwer kontrollierbar sind, war das primäre Ziel dieser Arbeit die reaktionstechnische Charakterisierung der licht- und temperaturabhängigen Wachstums- und Produktbildungskinetik von *Nannochloropsis salina* und *Nannochloropsis gaditana*. Die Reaktionskinetiken sollten dabei zunächst unter konstanten Reaktionsbedingungen in Flachplatten-Photobioreaktoren im Labormaßstab cha-

rakterisiert werden. Im Pilotmaßstab sollte hingegen ein kostengünstigerer offener Flachgerinnereaktor mit geringerer Schichtdicke verwendet werden. Nachdem die Reaktoren in den beiden Maßstäben keinerlei geometrische Ähnlichkeit aufwiesen und in der Literatur keine Vorschläge für die Skalierung unterschiedlicher Reaktortypen existieren, sollte in dieser Arbeit die Maßstabsübertragung mit einem geeigneten Kriterium für unterschiedliche Photobioreaktoren erarbeitet werden. Abschließend sollte für eine Mikroalgenpezies die Anwendbarkeit der unter konstanten Bedingungen identifizierten Reaktionskinetiken im Labormaßstab für Mikroalgenprozesse unter dynamischer Änderung von Licht und Temperatur in Tages- und Nachtganglinien in Flachplatten-Photobioreaktoren und Flachgerinnereaktoren überprüft werden.

In einem ersten Schritt wurden jeweils die Absorptionseigenschaften der beiden *Nannochloropsis* sp. und die daraus resultierende Lichtabschwächung über die Schichtdicke des Flachplatten-Photobioreaktors untersucht. Aufgrund der engen Verwandtschaft von *N. salina* und *N. gaditana* war das Absorptionsverhalten nahezu identisch, sodass die Lichtabschwächung durch die Algensuspension jeweils am besten mit dem Lambert-Beer'schen Gesetz angenähert werden konnte. Zudem konnte für beide *Nannochloropsis* sp. gezeigt werden, dass der spezifische Extinktionskoeffizient maßgeblich durch den spezifischen Chlorophyll a-Gehalt beeinflusst wurde: Je mehr Chlorophyll a pro Zelle vorlag, desto höher war der Extinktionskoeffizient. In einer wachsenden Algensuspension führte demnach Photoakklimation zu einer stetigen Anpassung des Extinktionskoeffizienten. Aus diesem Grund wurde die Ermittlung dieses Koeffizienten bei jedem Satzprozess in der exponentiellen Wachstumsphase über Minimierung der Fehlerquadratsumme mit dem Lambert-Beer'schen Gesetz vorgenommen.

Die Untersuchung des Absorptionsverhaltens von *N. salina* und *N. gaditana* zeigte weiterhin, dass die Eingangs-Bestrahlungsstärke aufgrund der zunehmenden Lichtabschwächung mit steigender Schichtdicke und Zelldichte der Mikroalgensuspension keine geeignete Größe für die Charakterisierung der Lichtabhängigkeit des Wachstums ist. Wesentlich aussagekräftiger ist hingegen die mittlere integrale Bestrahlungsstärke I^* , welche näherungsweise jede Algenzelle im Photobioreaktor erreicht. Nachdem diese Bestrahlungsstärke jedoch eine Funktion der Biomassekonzentration ist und sich diese über die Prozesszeit verändert, wurde die Ermittlung der mittleren integralen Bestrahlungsstärke während des exponentiellen Wachstums beziehungsweise der linearen Lipidbildung I^{**} in dieser Arbeit etabliert. Dieser Parameter bildete die Basis für die Charakterisierung der Lichtabhängigkeit der beiden *Nannochloropsis*-Spezies. Die Untersuchung der lichtabhängigen Wachstumskinetik bei einer konstanten Temperatur von 25 °C lieferte sowohl für *Nannochloropsis salina* als auch für *Nannochloropsis gaditana* eine klare Abhängigkeit der Wachstumsrate von der mittleren integralen Bestrahlungsstärke in Form einer für Mikroalgen charakteristischen Lichtantwortkurve (Abbildung 8.1). Die Lichtabhängigkeit konnte für beide *Nannochloropsis* sp. mit einem modifizierten Inhibitionsmodell nach Andrews (1968) angenähert und zur Abschätzung kinetischer Parameter genutzt werden. Der Vergleich beider Mikroalgenpezies lässt die wesentlich effizientere Photonennutzung (+111 %) von *N. gaditana* (maximale Quantenausbeute) unter lichtlimitierten Wachstumsbedingungen er-

kennen. Dies wurde durch die deutlich niedrigere Sättigungskonstante des Wachstums von *N. gaditana* ($42,9 \pm 5,6 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) im Vergleich zu *N. salina* ($79,7 \pm 10,5 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) bestätigt. Der Bereich lichtgesättigten Wachstums war hingegen bei *N. salina* mit $150\text{-}717 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ merklich breiter als bei *N. gaditana* mit $67\text{-}479 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Die Lichtsättigung der Photosysteme führte bei beiden Mikroalgen-spezies zu vergleichbaren optimalen Wachstumsraten von etwa $0,033 \text{ h}^{-1}$ bei einer optimalen mittleren integralen Bestrahlungsstärke von $551 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (*N. salina*) beziehungsweise $411 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (*N. gaditana*). Wurde der lichtgesättigte Bereich durch weitere Erhöhung der mittleren integralen Bestrahlungsstärke verlassen, war die Auswirkung der Photoinhibition bei beiden Spezies erkennbar. Die Auswirkung der Photoinhibition kann durch die Inhibitionskonstante sowie den Sensitivitätsfaktor in Zahlen gefasst werden: Die Inhibitionskonstante war mit $1736,5 \pm 90,8 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ bei *N. salina* deutlich höher als bei *N. gaditana* mit $1451,3 \pm 58,6 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, was bedeutet, dass *N. salina* bei einer wesentlich höheren mittleren integralen Bestrahlungsstärke halbmaximales Wachstum aufgrund von Photoinhibition erreicht als *N. gaditana*. Der Sensitivitätsfaktor als Maß für die Reduktion der Wachstumsrate war für beide Mikroalgen-spezies mit 2,5 identisch. Wären die photoinhibitorischen Effekte vernachlässigbar, wären vergleichbare maximale Wachstumsraten von $0,0392 \pm 0,0019 \text{ h}^{-1}$ mit *N. salina* beziehungsweise $0,0370 \pm 0,0012 \text{ h}^{-1}$ mit *N. gaditana* erreichbar.

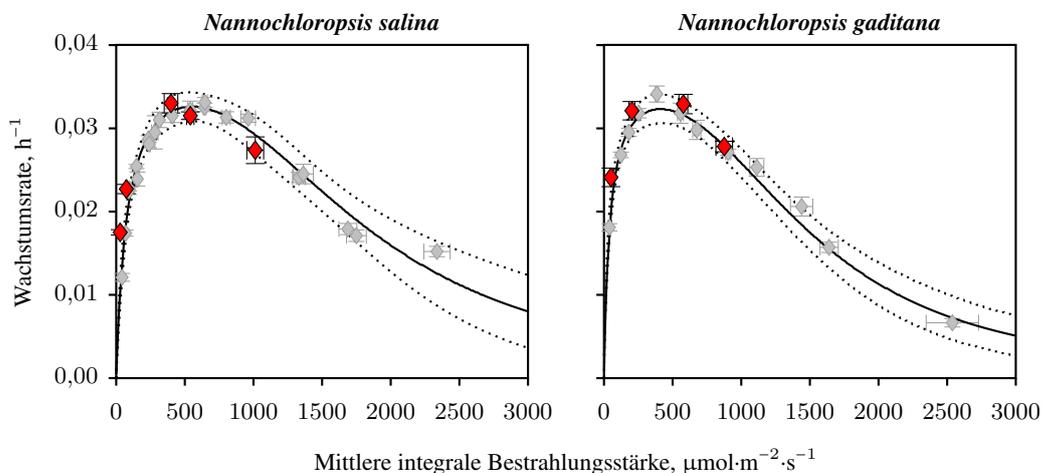


Abbildung 8.1: Darstellung der in dieser Arbeit unter konstanten Bedingungen in Flachplatten-Photobioreaktoren für *Nannochloropsis salina* und *Nannochloropsis gaditana* identifizierten lichtabhängigen Wachstumskinetik (—) mit den 95 %-Konfidenzintervallen (·····). Die Wachstumsmodelle in Form einer modifizierten Inhibitionskinetik boten die Grundlage für die erfolgreiche Maßstabsübertragung vom Labor- (◊, Flachplatten-Photobioreaktor) in den Pilotmaßstab (♦, Flachgerinnereaktor) mit der mittleren integralen Bestrahlungsstärke als Übertragungskriterium.

Als ein mögliches Anwendungsbeispiel der lichtabhängigen Wachstumskinetik im Labormaßstab wurde in dieser Arbeit die Implementierung eines Bestrahlungsprofils zur Steigerung der Produktivität untersucht. Für dessen Umsetzung wurde ein optimaler Bereich der mittleren integralen Bestrahlungsstärke, welcher 90 % der optimalen Wachstumsrate ermöglichen sollte, definiert. Die minimale mittlere integrale Bestrahlungsstärke dieses Bereiches wurde durch eine sukzessive Erhöhung der Eingangs-Bestrahlungsstärke in

Abhängigkeit der Biomassekonzentration erfolgreich konstant gehalten. Durch die Anwendung des Bestrahlungsprofils in dieser Form konnte im Vergleich zu konstanter Bestrahlung sowohl die Biomasse- als auch die Lipidproduktivität beider *Nannochloropsis* sp. erheblich gesteigert werden: Die Biomasseproduktivität konnte für *N. salina* um 113 % und für *N. gaditana* um 107 % erhöht werden. Die Steigerung der Lipidproduktivität betrug zudem 59 % (*N. salina*) beziehungsweise 83 % (*N. gaditana*). Vor dem Hintergrund einer energetischen Prozessführung ist die ökonomische Anwendbarkeit eines Bestrahlungsprofils jedoch aufgrund des deutlich erhöhten Energiebedarfs fraglich.

Die Charakterisierung der Lichtabhängigkeit wurde für *Nannochloropsis salina* zusätzlich für die Akkumulation energiereicher Lipide unter stickstofflimitierten Bedingungen untersucht. Die spezifische Lipidbildungsrate war in ähnlicher Weise von der mittleren integralen Bestrahlungsstärke abhängig wie das Wachstum von *N. salina* und konnte mit einem modifizierten Modell nach Edwards (1970) angenähert werden: Der Bereich der Lichtsättigung war zwar deutlich schmaler ($479\text{-}603 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), die optimale mittlere integrale Bestrahlungsstärke war mit $541 \pm 62 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ jedoch vergleichbar. Die maximal erreichbare Lipidbildungsrate bei optimaler Bestrahlungsstärke ergab sich zu $0,40 \pm 0,04 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$. Im Gegensatz zu lichtabhängigem Wachstum wurde die spezifische Lipidbildungsrate bereits bei Überschreiten einer mittleren integralen Bestrahlungsstärke von $603 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, vermutlich durch photoinhibitorische Effekte, reduziert. Die ermittelte lichtabhängige Lipidbildungskinetik konnte bei konstanter Bestrahlung nachweislich für die Simulation der Lipidkonzentration als Funktion der Zeit genutzt werden.

Die Untersuchung der Lipidbildung mit *N. salina* zeigte zudem, dass der maximal erreichbare Sättigungslipidgehalt mit 69 % deutlich höher war als bei *N. gaditana* mit 39 % der Biomasse. Darüber hinaus konnte demonstriert werden, dass von *N. salina* hauptsächlich die Fettsäuren C16:0, C16:1, C18:1 sowie C20:5 mit absteigenden Anteilen gebildet wurden, wobei die Lichtverfügbarkeit keinen Einfluss auf die Mengenanteile der Fettsäuren hatte. Die Zusammensetzung des mit *N. salina* produzierten Öls stellt darüber hinaus ein günstiges Verhältnis für die Nutzung zur Treibstoffproduktion dar.

In einem weiteren Schritt wurde die temperaturabhängige Wachstumskinetik der beiden *Nannochloropsis* sp. bei konstanter Bestrahlungsstärke im Bereich der Lichtsättigung in Flachplatten-Photobioreaktoren untersucht, wobei eine für phototrophe Organismen charakteristische Abhängigkeit ermittelt wurde: Unterhalb einer minimalen Temperatur von $11,6 \text{ }^\circ\text{C}$ (*N. salina*) beziehungsweise $13,0 \text{ }^\circ\text{C}$ (*N. gaditana*) und oberhalb einer maximalen Temperatur von $39,8 \text{ }^\circ\text{C}$ (*N. salina*) beziehungsweise $39,3 \text{ }^\circ\text{C}$ (*N. gaditana*) war bei beiden Spezies kein Wachstum möglich. Die optimale Wachstumstemperatur von $29,3 \text{ }^\circ\text{C}$ (*N. salina*) beziehungsweise $27,0 \text{ }^\circ\text{C}$ (*N. gaditana*) führte zu unterschiedlichen optimalen Wachstumsraten von $0,036 \pm 0,002 \text{ h}^{-1}$ (*N. salina*) beziehungsweise $0,029 \pm 0,002 \text{ h}^{-1}$ (*N. gaditana*). Somit konnte für *N. salina* durch eine Erhöhung der Temperatur um $4 \text{ }^\circ\text{C}$ eine Steigerung der Wachstumsrate um 10 % erreicht werden, während dies bei *N. gaditana* keinen merklichen Effekt hatte.

Nachdem die licht- und temperaturabhängigen Wachstumskinetiken für beide *Nannochloropsis* sp. erfolgreich charakterisiert werden konnten, sollte nun auf deren Basis die Maßstabsübertragung in Flachgerinnereaktoren erarbeitet werden. Die mangelnde geometrische Ähnlichkeit der Reaktionssysteme im Labor- (Flachplatten-Photobioreaktoren) und Pilotmaßstab (Flachgerinnereaktor) führte zur Identifikation der systemunabhängigen mittleren integralen Bestrahlungsstärke als geeignetes Übertragungskriterium. In Satzprozessen mit konstanten Klimabedingungen in Flachgerinnereaktoren konnte sowohl für *N. salina* als auch für *N. gaditana* demonstriert werden, dass identische mittlere integrale Bestrahlungsstärken zu vergleichbaren spezifischen Wachstumsraten führten (Abbildung 8.1). Die Skalierung des Wachstums vom Labor- in den Pilotmaßstab unter konstanten Bedingungen mit der mittleren integralen Bestrahlungsstärke konnte somit als erfolgreich bewertet werden.

Abschließend wurde aufgrund des breiteren tolerierbaren Licht- und Temperaturbereichs sowie des höheren akkumulierbaren Lipidgehaltes *Nannochloropsis salina* für die Produktion mit realistischer physikalischer Klimasimulation im Pilotmaßstab ausgewählt. Die licht- und temperaturabhängige Wachstumskinetik, die unter konstanten Reaktionsbedingungen ermittelt wurde, konnte nicht zur Simulation von Wachstum und Produktbildung bei dynamischen Licht- und Temperaturverhältnissen im Flachgerinnereaktor genutzt werden. Vermutlich nahmen die wechselseitige Beeinflussung von Licht und Temperatur, ebenso wie die Möglichkeit zur Regeneration der Photosysteme in den Dunkelphasen, erheblichen Einfluss auf das Wachstum von *N. salina*. Dies führte dazu, dass unter dynamischen Bedingungen um mehr als 100 % erhöhte Wachstumsraten innerhalb eines Tages möglich waren als bei konstanter Bestrahlung und Temperatur. Die dynamische Änderung von Licht und Temperatur führte somit zu einer veränderten lichtabhängigen Wachstumskinetik von *Nannochloropsis salina* im Vergleich zu konstanten Reaktionsbedingungen. Diese modifizierte lichtabhängige Wachstumskinetik unter dynamischen Bedingungen war für Flachplatten-Photobioreaktoren und Flachgerinnereaktoren gleichermaßen gültig.

Die lichtabhängige Lipidbildungskinetik, die unter konstanter Bestrahlung ermittelt wurde, konnte ebenfalls nicht zur Simulation der Lipidbildung bei dynamischer Änderung von Licht und Temperatur genutzt werden. Vermutlich beeinflusste auch hier die Wechselwirkung von Licht und Temperatur die Lipidbildungskinetik von *Nannochloropsis salina*. Der Vergleich der Lipidbildung in beiden Maßstäben zeigte, dass im Labormaßstab – sowohl bei konstanten Reaktionsbedingungen als auch bei dynamischen Licht- und Temperaturverhältnissen – deutlich höhere Lipidkonzentrationen und Flächen-Zeit-Ausbeuten erzielt werden konnten als im Pilotmaßstab. Möglicherweise war die Lipidbildung in offenen Flachgerinnereaktoren aufgrund von Kontaminationen verringert.

Da in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden konnte, dass in offenen Photobioreaktoren trotz eines vergleichsweise hohen pH sowie hoher Salzkonzentration Kontaminationen auftreten können, sind weiterführende Ansätze zur Minimierung oder gar gänzlichen Vermeidung von Kontaminationen notwendig. Da *Nannochloropsis salina* in der Lage ist, relativ hohe Alkalinitäten sowie Salinitäten zu tolerieren, wäre beispielsweise eine weitere Erhöhung des pH oder der Salzkonzentration eine denkbare Anti-Kontaminationsstrategie. Um reduzierte Produktivitäten aufgrund inhibierender Auswirkungen erhöhter Alkalinität oder Salinität vermeiden zu können, sollte zunächst die pH- und Salzabhängigkeit von Wachstum und Produktbildung von *Nannochloropsis salina* charakterisiert werden. Weiterhin sollte bei der Erhöhung des pH die Verfügbarkeit anorganischen Kohlenstoffs, in Form von in der Flüssigphase gelöstem Bicarbonat, über das Bicarbonat-Gleichgewicht abgeschätzt werden, um eine Limitierung dieses Substrats auszuschließen.

Weiterhin steht bei photoautotrophen Prozessen mit Mikroalgen vor allem die Maximierung der Flächen-Zeit-Ausbeute im Vordergrund. Dies kann erreicht werden, indem die optimale Zelldichte der Mikroalgensuspension, welche den Zellen optimale Lichtausnutzung ermöglicht, eingestellt wird. Nachdem sich die Lichtverfügbarkeit bei technischen Anwendungen im Tagesgang ändert, sollte im Idealfall die Zelldichte den dynamischen Lichtverhältnissen angepasst werden. Die Einstellung der Algensuspension auf eine optimale Zelldichte kann beispielsweise durch regelmäßiges Ernten oder eine kontinuierliche Prozessführung realisiert werden.

Obwohl *Nannochloropsis salina* schnelles Wachstum und einen hohen Lipidgehalt aufweist, ist die Herstellung von Treibstoffen aus Mikroalgenöl – selbst in offenen Photobioreaktoren – bislang nicht konkurrenzfähig zur konventionellen Treibstoffproduktion. Die Identifikation weiterer mit *N. salina* herstellbarer Produkte mit höherer Wertschöpfung könnte die Wirtschaftlichkeit eines solchen Prozesses erheblich steigern.

Literaturverzeichnis

- Altenbach-Rehm, J. Weuster-Botz, D. Vorrichtung zur Serien-Kultivierung von Mikroorganismen bzw. Zellen in begasten Flüssigkeitssäulen. *Patentschrift EP0845029 B1*, 2002.
- Amaro, H. M., Guedes, A. C., Malcata, F. X. Advances and perspectives in using microalgae to produce biodiesel. *Applied Energy*, 88(10):3402–3410, 2011.
- Andersen, R. A. The microalgal cell. In Richmond, A. Hu, Q. (Herausgeber), *Handbook of microalgal culture*, Seiten 3–20. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK, 2013. ISBN 978-0-470-67389-8.
- Andrews, J. F. A mathematical model for the continuous culture of microorganisms utilizing inhibitory substrates. *Biotechnology and Bioengineering*, 10(6):707–723, 1968.
- Apel, A. C. Weuster-Botz, D. Engineering solutions for open microalgae mass cultivation and realistic indoor simulation of outdoor environments. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 38(6):995–1008, 2015.
- Aragno, A. Responses of microorganisms to temperature. In Lange, O. L., Nobel, P. S., Osmond, C. B., Ziegler, H. (Herausgeber), *Physiological Plant Ecology I*, Seiten 339–365. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 1981. ISBN 978-3-642-68092-2.
- Barbosa, M. J. Wijffels, R. H. Biofuels from microalgae. In Richmond, A. Hu, Q. (Herausgeber), *Handbook of microalgal culture*, Seiten 566–577. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK, 2013. ISBN 978-0-470-67389-8.
- Barbosa, M. J., Hadiyanto, , Wijffels, R. H. Overcoming shear stress of microalgae cultures in sparged photobioreactors. *Biotechnology and Bioengineering*, 85(1):78–85, 2004.
- Beer, A. Bestimmung der Absorption des rothen Lichts in farbigen Flüssigkeiten. *Annalen der Physik und Chemie*, 86(1):78–88, 1852.
- Bellou, Stamatia Aggelis, George. Biochemical activities in *Chlorella* sp. and *Nannochloropsis salina* during lipid and sugar synthesis in a lab-scale open pond simulating reactor. *Journal of Biotechnology*, 164(2): 318–329, 2012.
- Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Stryer, L. *Stryer Biochemie*. Springer-Spektrum-Lehrbuch. Spektrum, Heidelberg, 7 Auflage, 2012. ISBN 978-3-8274-2989-6.
- Bernard, O. Rémond, B. Validation of a simple model accounting for light and temperature effect on microalgal growth. *Bioresource Technology*, 123:520–527, 2012.
- Berry, J. A. Raison, J. K. Responses of macrophytes to temperature. In Lange, O. L., Nobel, P. S., Osmond, C. B., Ziegler, H. (Herausgeber), *Physiological Plant Ecology I*, Seiten 277–338. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 1981. ISBN 978-3-642-68092-2.
- Berteotti, Silvia, Ballottari, Matteo, Bassi, Roberto. Increased biomass productivity in green algae by tuning non-photochemical quenching. *Scientific reports*, 6:21339, 2016.
- Blatti, J. L., Michaud, J., Burkart, M. D. Engineering fatty acid biosynthesis in microalgae for sustainable biodiesel. *Current opinion in chemical biology*, 17(3):496–505, 2013.
- Bloom, A. J., Sukrapanna, S. S., Warner, R. L. Root respiration associated with ammonium and nitrate absorption and assimilation by barley. *Journal of Plant Physiology*, 99:1294–1301, 1992.

- Blumenbach, J. F. Über eine ungemein einfache Fortpflanzungsart. *Göttingisches Magazin der Wissenschaften und Litteratur*, 2(1):80–89, 1781.
- Bongi, G. Long, S. P. Light-dependent damage to photosynthesis in olive leaves during chilling and high temperature stress. *Plant, Cell and Environment*, 10(3):241–249, 1987.
- Borowitzka, M. A. Fats, oils and carbohydrates. In Borowitzka, M. A. Borowitzka, L. J. (Herausgeber), *Micro-algal biotechnology*, Seiten 257–287. Cambridge University Press, Cambridge [Cambridgeshire] and New York, 1988. ISBN 978-0521323499.
- Borowitzka, M. A. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of Biotechnology*, 70(1-3):313–321, 1999.
- Borowitzka, M. A. Culturing microalgae in outdoor ponds. In Andersen, R. A. (Herausgeber), *Algal culturing techniques*, Seiten 205–218. Elsevier/Academic Press, Burlington, Mass., 2005. ISBN 0-12-088426-7.
- Borowitzka, M. A. *Algal Culture and Biotechnology: Topic 8*. 2007.
- Borowitzka, M. A. Borowitzka, L. J. *Dunaliella*. In Borowitzka, M. A. Borowitzka, L. J. (Herausgeber), *Micro-algal biotechnology*, Seiten 27–58. Cambridge University Press, Cambridge [Cambridgeshire] and New York, 1988. ISBN 978-0521323499.
- Borowitzka, M. A. Moheimani, N. R. (Herausgeber). *Algae for Biofuels and Energy*. Springer Netherlands, Dordrecht, 2013a. ISBN 978-94-007-5478-2.
- Borowitzka, M. A. Moheimani, N. R. Open pond culture systems. In Borowitzka, M. A. Moheimani, N. R. (Herausgeber), *Algae for Biofuels and Energy*, Seiten 133–152. Springer Netherlands, Dordrecht, 2013b. ISBN 978-94-007-5478-2.
- Bouguer, P. Essai d'optique: Sur la gradation de la lumière. *Claude Jombert*, 1729.
- Boussiba, S., Vonshak, A., Cohen, Z., Avissar, Y., Richmond, A. Lipid and biomass production by the halotolerant microalga *Nannochloropsis salina*. *Biomass*, 12(1):37–47, 1987.
- Brennan, L. Owende, P. Biofuels from microalgae - A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(2):557–577, 2010.
- Camacho-Rodríguez, J., Cerón-García, M. C., González-López, C. V., Fernández-Sevilla, J. M., Contreras-Gómez, A., Molina-Grima, E. A low-cost culture medium for the production of *Nannochloropsis gaditana* biomass optimized for aquaculture. *Bioresource Technology*, 144:57–66, 2013.
- Camacho-Rodríguez, J., Cerón-García, M. C., Fernández-Sevilla, J. M., Molina-Grima, E. The influence of culture conditions on biomass and high value product generation by *Nannochloropsis gaditana* in aquaculture. *Algal Research*, 11:63–73, 2015.
- Cantrell, K. B., Ducey, T., Ro, K. S., Hunt, P. G. Livestock waste-to-bioenergy generation opportunities. *Bioresource Technology*, 99(17):7941–7953, 2008.
- Carvalho, A. P., Silva, S. O., Baptista, J. M., Malcata, F. X. Light requirements in microalgal photobioreactors: an overview of biophotonic aspects. *Applied microbiology and biotechnology*, 89(5):1275–1288, 2011.
- Castillo, J. S., Merino, F. M., Heussler, P. Production and ecological implications of algae mass culture under peruvian conditions. In Shelef, G., Soeder, C. J., Balaban, M. (Herausgeber), *Algae biomass*. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam and New York, 1980. ISBN 0-444-80242-8.

- Chen, Wei, Zhang, Chengwu, Song, Lirong, Sommerfeld, Milton, Hu, Qiang. A high throughput Nile red method for quantitative measurement of neutral lipids in microalgae. *Journal of microbiological methods*, 77(1):41–47, 2009.
- Chen, X. Khanna, M. Food vs. Fuel: The Effect of Biofuel Policies. *American Journal of Agricultural Economics*, 95(2):289–295, 2013.
- Chisti, M. Y. Moo-Young, M. Airlift reactors: Characteristics, applications and design considerations. *Chemical Engineering Communications*, 60:195–242, 1987.
- Chisti, Y. Raceways-based production of algal crude oil. In Posten, C. Walter, C. (Herausgeber), *Microalgal biotechnology*, Seiten 113–146. deGruyter, Berlin [u.a.], 2012. ISBN 978-3-11-022501-3.
- Chisti, Yusuf. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25(3):294–306, 2007.
- Chmiel, H. Bioreaktoren. In Chmiel, H. (Herausgeber), *Bioprozesstechnik*, Seiten 197–236. Spektrum Akad. Verl., Heidelberg, 2011. ISBN 978-3-8274-2476-1.
- Coleman, J. R. Coleman, B. Inorganic carbon accumulation and photosynthesis in a blue-green alga as a function of external pH. *Plant Physiology*, 67(5):917–921, 1981.
- Comacho Rubio, F., García Camacho, F., Fernández Sevilla, J. M., Chisti, Y., Molina Grima, E. A mechanistic model of photosynthesis in microalgae. *Biotechnology and Bioengineering*, 81(4):459–473, 2003.
- Copeland, J. J. Yellowstone thermal Myxophyceae. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 36(1): 4–223, 1936.
- Cornet, J. F., Dussap, C. G., Cluzel, P., Dubertret, G. A structured model for simulation of cultures of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in photobioreactors: II. Identification of kinetic parameters under light and mineral limitations. *Biotechnology and Bioengineering*, 40(7):826–834, 1992a.
- Cornet, J. F., Dussap, C. G., Dubertret, G. A structured model for simulation of cultures of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in photobioreactors: I. Coupling between light transfer and growth kinetics. *Biotechnology and Bioengineering*, 40(7):817–825, 1992b.
- Cornet, J.-F., Dussap, C. G., Gros, J.-B., Binois, C., Lasseur, C. A simplified monodimensional approach for modeling coupling between radiant light transfer and growth kinetics in photobioreactors. *Chemical Engineering Science*, 50(9):1489–1500, 1995.
- Davison, I. R. Environmental effects on algal photosynthesis: Temperature. *Journal of Phycology*, 27(1): 2–8, 1991.
- de la Noue, J. de Pauw, N. The potential of microalgal biotechnology: A review of production and uses of microalgae. *Biotechnology Advances*, 6(4):725–770, 1988.
- de Vree, J. H., Bosma, R., Janssen, M., Barbosa, M. J., Wijffels, R. H. Comparison of four outdoor pilot-scale photobioreactors. *Biotechnology for biofuels*, 8:215, 2015.
- Demmig-Adams, B. Adams, W. W. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends in Plant Science*, 1(1):21–26, 1996.
- Doran, P. M. *Bioprocess engineering principles*. Academic Press, Waltham, MA, 1. Auflage, 2006. ISBN 978-0122208515.
- Doucha, J. Lívanský, K. High Density Outdoor Microalgal Culture. In Bajpai, R., Prokop, A., Zappi, M. (Herausgeber), *Algal Biorefineries*, Seiten 147–173. Springer Netherlands, Dordrecht, 2014. ISBN 978-94-007-7493-3.

- Dubinsky, Z. Stambler, N. Photoacclimation processes in phytoplankton: mechanisms, consequences, and applications. *Aquatic Microbial Ecology*, 56:163–176, 2009.
- Edmundson, S. J. Huesemann, M. H. The dark side of algae cultivation: Characterizing night biomass loss in three photosynthetic algae, *Chlorella sorokiniana*, *Nannochloropsis salina* and *Picochlorum* sp. *Algal Research*, 12:470–476, 2015.
- Edwards, V. H. The influence of high substrate concentrations on microbial kinetics. *Biotechnology and Bioengineering*, 12(5):679–712, 1970.
- Eriksen, N. T. The technology of microalgal culturing. *Biotechnology Letters*, 30(9):1525–1536, 2008.
- Falk, S., Samuelsson, G., Oquist, G. Temperature-dependent photoinhibition and recovery of photosynthesis in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* acclimated to 12 and 27°C. *Physiologia Plantarum*, 78(2): 173–180, 1990.
- Falkowski, P. G. Owens, T. G. Light–Shade Adaptation: Two strategies in marine phytoplankton. *Plant Physiology*, 66(4):592–595, 1980.
- Falkowski, P. G. Raven, J. A. *Aquatic photosynthesis*. Blackwell Science, Boston, 2. Auflage, 1997. ISBN 978-0-691-11550-4.
- Fernandez, E. Galvan, A. Nitrate assimilation in *Chlamydomonas*. *Eukaryotic cell*, 7(4):555–559, 2008.
- Figuerola, F. L., Jiménez, C., Lubian, L. M., Montero, O., Lebert, M., Häder, D.-P. Effects of high irradiance and temperature on photosynthesis and photoinhibition in *Nannochloropsis gaditana* Lubian (Eustigmatophyceae). *Journal of Plant Physiology*, 151(1):6–15, 1997.
- Fischer, L. Chmiel, H. Einführung in die Zellbiologie. In Chmiel, H. (Herausgeber), *Bioprozesstechnik*, Seiten 1–22. Spektrum Akad. Verl., Heidelberg, 2011. ISBN 978-3-8274-2476-1.
- Franco-Lara, E., Havel, J., Peterat, F., Weuster-Botz, D. Model-supported optimization of phototrophic growth in a stirred-tank photobioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 95(6):1177–1187, 2006.
- Gardner, R., Peters, P., Peyton, B., Cooksey, K. E. Medium pH and nitrate concentration effects on accumulation of triacylglycerol in two members of the chlorophyta. *Journal of Applied Phycology*, 23(6): 1005–1016, 2011.
- Geider, R. J., Osborne, B. A., Raven, J. A. Light dependence of growth and photosynthesis in *Phaeodactylum tricorutum* (Bacillariophyceae). *Journal of Phycology*, 21(4):609–619, 1985.
- Giordano, M., Beardall, J., Raven, J. A. CO₂ concentrating mechanisms in algae: mechanisms, environmental modulation, and evolution. *Annual review of plant biology*, 56:99–131, 2005.
- Goldman, J. C. Outdoor algal mass cultures—II. Photosynthetic yield limitations. *Water Research*, 13(2): 119–136, 1979.
- Goldman, J. C. Physiological aspects in algal mass cultures. In Shelef, G., Soeder, C. J., Balaban, M. (Herausgeber), *Algae biomass*, Seiten 343–360. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam and New York, 1980. ISBN 0-444-80242-8.
- Goldman, J. C. Carpenter, E. J. A kinetic approach to the effect of temperature. *Limnology and Oceanography*, 19(5):756–766, 1974.
- Goldman, J. C., Azov, Y., Riley, C. B., Dennett, M. R. The effect of pH in intensive microalgal cultures. I. Biomass regulation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 57(1):1–13, 1982.
- Greenwell, H. C., Laurens, L M L, , Shields, R. J., Lovitt, R. W., Flynn, K. J. Placing microalgae on the biofuels priority list: a review of the technological challenges. *Journal of the Royal Society, Interface*, 7 (46):703–726, 2010.

- Griffiths, M. J., Hille, R. P., van, Harrison, S. T. L. Selection of direct transesterification as the preferred method for assay of fatty acid content of microalgae. *Lipids*, 45(11):1053–1060, 2010.
- Grobbelaar, J. U. Microalgal biomass production: challenges and realities. *Photosynthesis research*, 106 (1-2):135–144, 2010.
- Grobbelaar, J. U. Inorganic algal nutrition: Mineral nutrition. In Richmond, A. Hu, Q. (Herausgeber), *Handbook of microalgal culture*, Seiten 123–133. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK, 2013. ISBN 978-0-470-67389-8.
- Grobbelaar, J. U. Soeder, C. J. Respiration losses in planktonic green algae cultivated in raceway ponds. *Journal of Plankton Research*, 7(4):497–506, 1985.
- Grobbelaar, Johan U. Influence of areal density on β -carotene production by *Dunaliella salina*. *Journal of Applied Phycology*, 7(1):69–73, 1995.
- Gualtieri, P. Barsanti, L. *Algae: Anatomy, biochemistry, and biotechnology*. Taylor & Francis, Boca Raton, 2006. ISBN 978-0-8493-1467-4.
- Gudin, C. Chaumont, D. Cell fragility — The key problem of microalgae mass production in closed photobioreactors. *Bioresource Technology*, 38(2-3):145–151, 1991.
- Guedes, A. C., Amaro, H. M., Malcata, F. X. Microalgae as sources of carotenoids. *Marine Drugs*, 9(4): 625–644, 2011.
- Guschina, I. A. Harwood, J. L. Algal Lipids and Their Metabolism. In Borowitzka, M. A. Moheimani, N. R. (Herausgeber), *Algae for Biofuels and Energy*, Seiten 17–36. Springer Netherlands, Dordrecht, 2013. ISBN 978-94-007-5478-2.
- Häder, D.-P. *Photosynthese: Photosynthese der Algen*. Georg Thieme, Stuttgart, New York, 1999.
- Hager, A. Untersuchungen über die lichtinduzierten reversiblen Xantophyllumwandlungen an *Chlorella* und *Spinacia*. *Planta*, 74(2):148–172, 1967a.
- Hager, A. Untersuchungen über die Rückreaktion im Xantophyll-Cyclus bei *Chlorella*, *Spinacia* und *Taxus*. *Planta*, 76(2):138–148, 1967b.
- Hager, A. Lichtbedingte pH-Erniedrigung in einem Chloroplasten-Kompartiment als Ursache der enzymatischen Violaxanthin-Zeaxanthin-Umwandlung: Beziehungen zur Photophosphorylierung. *Planta*, 89(3): 224–243, 1969.
- Hannon, M., Gimpel, J., Tran, M., Rasala, B., Mayfield, S. Biofuels from algae: challenges and potential. *Biofuels*, 1(5):763–784, 2010.
- Harder, R. Witsch, H. von. Bericht über Versuche zur Fettsynthese mittels autotropher Mikroorganismen. *Forschungsdienst Sonderheft*, 16:270–275, 1942a.
- Harder, R. Witsch, H. von. Die Massenkultur von Diatomeen. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, 60:146–152, 1942b.
- Hardie, L. P., Balkwill, D. L., Stevens Jr., S. E. Effects of iron starvation on the physiology of the cyanobacterium *Agmenellum quadruplicatum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 45(3):999–1006, 1983.
- Harun, R., Singh, M., Forde, G. M., Danquah, M. K. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(3):1037–1047, 2010.
- Hass, V. C. Pörtner, R. *Praxis der Bioprozesstechnik*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Neckar, 1. Auflage, 2008. ISBN 978-3-8274-1795-4.

- Havel, J. *Assymetrische Synthesen mit phototrophen Mikroorganismen*. Doktorarbeit, Technische Universität München, München, 2006.
- Healey, F. P. Inorganic nutrient uptake and deficiency in algae. *CRC Critical Reviews in Microbiology*, 3(1): 69–113, 1973.
- Hernández, D., Solana, M., Riaño, B., García-González, M. C., Bertucco, A. Biofuels from microalgae: lipid extraction and methane production from the residual biomass in a biorefinery approach. *Bioresource Technology*, 170:370–378, 2014.
- Herzig, R., Falkowski, G. Nitrogen limitation of *Isochrysis galbana*. I. Photosynthetic energy conversion and growth efficiencies. *Journal of Phycology*, 25(3):462–471, 1989.
- Hinshelwood, C. N. Influence of temperature on the growth of bacteria. In Hinshelwood, C. N. (Herausgeber), *The chemical kinetics of the bacterial cell*, Seiten 254–257. Clarendon Press, Oxford, 1946.
- Howaldt, M., Walz, F., Kempken, R. Kultivierung von Säugetierzellen. In Chmiel, H. (Herausgeber), *Bioproszess-technik*, Seiten 373–426. Spektrum Akad. Verl., Heidelberg, 2011. ISBN 978-3-8274-2476-1.
- Hu, Q. Environmental effects on cell composition. In Richmond, A., Hu, Q. (Herausgeber), *Handbook of microalgal culture*, Seiten 114–122. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK, 2013. ISBN 978-0-470-67389-8.
- Hu, Q., Guterman, H., Richmond, A. Physiological characteristics of *Spirulina platensis* (cyanobacteria) cultured at ultrahigh cell densities. *Journal of Phycology*, 32(6):1066–1073, 1996.
- Hu, Q., Sommerfeld, M., Jarvis, E., Ghirardi, M., Posewitz, M., Seibert, M., Darzins, A. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. *The Plant Journal*, 54:621–639, 2008.
- Huang, GuanHua, Chen, Feng, Wei, Dong, Zhang, XueWu, Chen, Gu. Biodiesel production by microalgal biotechnology. *Applied Energy*, 87(1):38–46, 2010.
- Huesemann, M. H., Benemann, J. R. Biofuels from microalgae: Review of products, processes and potential, with special focus on *Dunaliella* sp. In Ben-Amotz, A., Polle, J. E. W., Subba Rao, D. V., D. V. (Herausgeber), *The alga Dunaliella*, Seiten 445–474. Science Publishers, Enfield, N.H, 2009. ISBN 9781578085453.
- Huesemann, M. H., van Wageningen, J., Miller, T., Chavis, A., Hobbs, S., Crowe, B. A screening model to predict microalgae biomass growth in photobioreactors and raceway ponds. *Biotechnology and Bioengineering*, 110(6):1583–1594, 2013.
- Jahns, P., Latowski, D., Strzalka, K. Mechanism and regulation of the violaxanthin cycle: the role of antenna proteins and membrane lipids. *Biochimica et biophysica acta*, 1787(1):3–14, 2009.
- Janssen, M., Slenders, P., Tramper, J., Mur, L. R., Wijffels, R. H. Photosynthetic efficiency of *Dunaliella tertiolecta* under short light/dark cycles. *Enzyme and Microbial Technology*, 29(4-5):298–305, 2001.
- Janssen, M., Tramper, J., Mur, L. R., Wijffels, R. H. Enclosed outdoor photobioreactors: light regime, photosynthetic efficiency, scale-up, and future prospects. *Biotechnology and Bioengineering*, 81(2):193–210, 2003.
- Jansson, M. Phosphate Uptake and Utilization by Bacteria and Algae. In Persson, G., Jansson, M. (Herausgeber), *Phosphorus in Freshwater Ecosystems*, Seiten 177–189. Springer Netherlands, Dordrecht, 1988. ISBN 978-94-010-7898-6.
- Kandilian, R., Tsao, T.-C., Pilon, L. Control of incident irradiance on a batch operated flat-plate photobioreactor. *Chemical Engineering Science*, 119:99–108, 2014.

- Kaplan, Aaron Reinhold, Leonora. CO₂ concentrating mechanisms in photosynthetic microorganisms. *Annual review of plant physiology and plant molecular biology*, 50:539–570, 1999.
- Kawaguchi, K. Microalgae production systems in asia. In Shelef, G., Soeder, C. J., Balaban, M. (Herausgeber), *Algae biomass*, Seiten 25–33. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam and New York, 1980. ISBN 0-444-80242-8.
- Kiehl, J. T. Trenberth, K. E. Earth's Annual Global Mean Energy Budget. *Bulletin of the American Meteorological Society*, 78(2):197–208, 1997.
- Knothe, G. Improving biodiesel fuel properties by modifying fatty ester composition. *Energy & Environmental Science*, 2(7):759, 2009.
- Kok, B. Efficiency of photosynthesis. In Ruhland, W. (Herausgeber), *Die CO₂-Assimilation / The Assimilation of Carbon Dioxide*, Seiten 566–633. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 1960. ISBN 978-3-642-94799-5.
- Lambert, J. H. Photometria, sive de mensura et gradibus luminis, colorum et umbrae. *Sumptibus Vidae Eberhardi Klett, Augsburg*, 1760.
- Ledda, C., Romero Villegas, G. I., Adani, F., Ación Fernández, F. G., Molina Grima, E. Utilization of centrate from wastewater treatment for the outdoor production of *Nannochloropsis gaditana* biomass at pilot-scale. *Algal Research*, 12:17–25, 2015.
- Lee, Y.-K. Enclosed bioreactors for the mass cultivation of photosynthetic microorganisms: the future trend. *Trends in Biotechnology*, 4(7):186–189, 1986.
- Lee, Y.-K. Microalgal mass culture systems and methods: Their limitation and potential. *Journal of Applied Phycology*, 13(4):307–315, 2001.
- Levenspiel, O. The monod equation: A revisit and a generalization to product inhibition situations. *Biotechnology and Bioengineering*, 22(8):1671–1687, 1980.
- Liu, J. Chen, F. Biology and Industrial Applications of *Chlorella*: Advances and Prospects. In Posten, C. Feng Chen, S. (Herausgeber), *Microalgae Biotechnology*, volume 153, Seiten 1–35. Springer International Publishing, Cham, 2016. ISBN 978-3-319-23807-4.
- Ma, Y., Wang, Z., Yu, C., Yin, Y., Zhou, G. Evaluation of the potential of 9 *Nannochloropsis* strains for biodiesel production. *Bioresource Technology*, 167:503–509, 2014.
- Masojídek, J., Torzillo, G., Koblížek, M. Photosynthesis in microalgae. In Richmond, A. Hu, Q. (Herausgeber), *Handbook of microalgal culture*, Seiten 21–36. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK, 2013. ISBN 978-0-470-67389-8.
- Mata, T. M., Martins, A. A., Caetano, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(1):217–232, 2010.
- Mayers, J. J., Flynn, K. J., Shields, R. J. Influence of the N:P supply ratio on biomass productivity and time-resolved changes in elemental and bulk biochemical composition of *Nannochloropsis* sp. *Bioresource Technology*, 169:588–595, 2014.
- McKay, R. M. L., La Roche, J., Yakunin, A. F., Durnford, D. G., Geider, R. J. Accumulation of ferredoxin and flavodoxin in a marine diatom in response to Fe. *Journal of Phycology*, 35(3):510–519, 1999.
- Merchuk, J. C., Sigal, B.-Z., Niranjana, K. Why use bubble-column bioreactors? *Trends in Biotechnology*, 12(12):501–511, 1994.
- Mereschkowsky, C. Über Natur und Ursprung der Chromatophoren im Pflanzenreiche. *Biologisches Centralblatt*, 25(18):593–604, 1905.

- Metting, F. B. Biodiversity and application of microalgae. *Journal of Industrial Microbiology*, 17:477–489, 1996.
- Moheimani, N. R. Borowitzka, M. A. Limits to productivity of the alga *Pleurochrysis carterae* (Haptophyta) grown in outdoor raceway ponds. *Biotechnology and Bioengineering*, 96(1):27–36, 2007.
- Molina Grima, E., García Camacho, F., Sánchez Pérez, J. A., Fernández Sevilla, J. M., Ación Fernández, F. G., Contreras Gómez, A. A mathematical model of microalgal growth in light-limited chemostat culture. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 61(2):167–173, 1994.
- Molina Grima, E., Ación Fernández, F. G., García Camacho, F., Chisti, Y. Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup. *Journal of Biotechnology*, 70(1-3):231–247, 1999.
- Molina Grima, E., Ación Fernández, F. G., García Camacho, F., Camacho Rubio, F., Chisti, Y. Scale-up of tubular photobioreactors. *Journal of Applied Phycology*, 12(3/5):355–368, 2000.
- Monod, J. The growth of bacterial cultures. *Annual Review of Microbiology*, 3:371–394, 1949.
- Myers, J. Burr, G. O. Studies on Photosynthesis. *The Journal of General Physiology*, 24(1):45–67, 1940.
- Nelson, D. L., Cox, M. M., Lehninger, A. L. *Lehninger Biochemie*. Springer-Lehrbuch. Springer, Berlin [u.a.], 3. Auflage, 2001. ISBN 9783540418139.
- Nishida, I. Murata, N. Chilling sensitivity in plants and cyabobacteria: The Crucial Contribution of Membrane Lipids. *Annual review of plant physiology and plant molecular biology*, 47:541–568, 1996.
- Norton, T. A., Melkonian, M., Andersen, R. A. Algal biodiversity. *Phycologia*, 35(4):308–326, 1996.
- Ohlrogge, J. Browse, J. Lipid biosynthesis. *The Plant cell*, 7(7):957–970, 1995.
- Oswald, W. J. Algal production - problems, achievements and potential. In Shelef, G., Soeder, C. J., Balaban, M. (Herausgeber), *Algae biomass*, Seiten 1–8. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam and New York, 1980. ISBN 0-444-80242-8.
- Oswald, W. J. Large-scale algal culture systems (engineering aspects). In Borowitzka, M. A. Borowitzka, L. J. (Herausgeber), *Micro-algal biotechnology*, Seiten 357–394. Cambridge University Press, Cambridge [Cambridgeshire] and New York, 1988a. ISBN 978-0521323499.
- Oswald, W. J. Microalgae and waste water treatment. In Borowitzka, M. A. Borowitzka, L. J. (Herausgeber), *Micro-algal biotechnology*, Seiten 254–260. Cambridge University Press, Cambridge [Cambridgeshire] and New York, 1988b. ISBN 978-0521323499.
- Pal, D., Khozin-Goldberg, I., Cohen, Z., Boussiba, S. The effect of light, salinity, and nitrogen availability on lipid production by *Nannochloropsis* sp. *Applied microbiology and biotechnology*, 90(4):1429–1441, 2011.
- Palmisano, A. C., Beeler SooHoo, J., Sullivan, C. W. Effects of four environmental variables on photosynthesis-irradiance relationships in Antarctic sea-ice microalgae. *Marine Biology*, 94(2):299–306, 1987.
- Peters, J. W., Boyd, E. S., D'Adamo, S., Mulder, D. W., Therien, J., Posewitz, M. C. Hydrogenases, nitrogenases, anoxia and H₂ production in water-oxidizing phototrophs. In Borowitzka, M. A. Moheimani, N. R. (Herausgeber), *Algae for Biofuels and Energy*, Seiten 37–75. Springer Netherlands, Dordrecht, 2013. ISBN 978-94-007-5478-2.
- Pires, J. C. M., Alvim-Ferraz, M. C. M., Martins, F. G., Simões, M. Carbon dioxide capture from flue gases using microalgae: Engineering aspects and biorefinery concept. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(5):3043–3053, 2012.

- Posten, C. Discovering microalgae as a source for sustainable biomass. In Posten, C. Walter, C. (Herausgeber), *Microalgal biotechnology*, Seiten 1–10. deGruyter, Berlin [u.a.], 2012. ISBN 978-3-11-022501-3.
- Posten, C. Walter, C. (Herausgeber). *Microalgal biotechnology: Potential and Production*. deGruyter, Berlin [u.a.], 2012. ISBN 978-3-11-022501-3.
- Pruvost, J. Cornet, J.-F. Knowledge models for the engineering and optimization of photobioreactors. In Posten, C. Walter, C. (Herausgeber), *Microalgal biotechnology*, Seiten 181–224. deGruyter, Berlin [u.a.], 2012. ISBN 978-3-11-022501-3.
- Pruvost, J., van Vooren, G., Le Gouic, B., Couzinet-Mossion, A., Legrand, J. Systematic investigation of biomass and lipid productivity by microalgae in photobioreactors for biodiesel application. *Bioresource Technology*, 102(1):150–158, 2011.
- Quinn, J. C., Hanif, A., Sharvelle, S., Bradley, T. H. Microalgae to biofuels: life cycle impacts of methane production of anaerobically digested lipid extracted algae. *Bioresource Technology*, 171:37–43, 2014.
- Radakovits, Randor, Jinkerson, Robert E., Fuerstenberg, Susan I., Tae, Hongseok, Settlage, Robert E., Boore, Jeffrey L., Posewitz, Matthew C. Draft genome sequence and genetic transformation of the oleaginous alga *Nannochloropsis gaditana*. *Nature Communications*, 3:1–10, 2012.
- Rahmstorf, S. Schellnhuber, H.-J. *Der Klimawandel: Diagnose, Prognose, Therapie*, volume 2366 : Wissen of Beck'sche Reihe. Beck, München, 7 Auflage, 2012. ISBN 978-3-406-63385-0.
- Ratkowsky, D. A., Olley, J., McMeekin, T. A., Ball, A. Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures. *Journal of Bacteriology*, 149(1):1–5, 1982.
- Ratkowsky, D. A., Lowry, R. K., McMeekin, T. A., Stokes, A. N., Chandler, R. E. Model for bacterial culture growth rate throughout the entire biokinetic temperature range. *Journal of Bacteriology*, 154(3): 1222–1226, 1983.
- Raven, J. A. Limits on growth rates. *Nature*, 361(6409):209–210, 1993.
- Raven, J. A. Geider, R. J. Temperature and algal growth. *New Phytologist*, 110(4):441–461, 1988.
- Rawat, I., Ranjith Kumar, R., Mutanda, T., Bux, F. Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Applied Energy*, 88(10):3411–3424, 2011.
- Redfield, A. C. The biological control of chemical factors in the environment. *American Scientist*, 46(3): 205–221, 1958.
- Reynolds, H. L. Pacala, S. W. An Analytical Treatment of Root-to-Shoot Ratio and Plant Competition for Soil Nutrient and Light. *The American Naturalist*, 141(1), 1993.
- Richmond, A. Cheng-Wu, Z. Optimization of a flat plate glass reactor for mass production of *Nannochloropsis* sp. outdoors. *Journal of Biotechnology*, 85(3):259–269, 2001.
- Richmond, A., Boussiba, S., Vonshak, A., Kopel, R. A new tubular reactor for mass production of microalgae outdoors. *Journal of Applied Phycology*, 5(3):327–332, 1993.
- Riebesell, U., Wolf-Gladrow, D. A., Smetacek, V. Carbon dioxide limitation of marine phytoplankton growth rates. *Nature*, 361(6409):249–251, 1993.
- Rodolfi, L., Chini Zittelli, G., Bassi, N., Padovani, G., Biondi, N., Bonini, G., Tredici, M. R. Microalgae for oil: Strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 102(1):100–112, 2009.

- Roessler, P. G. Environmental control of glycerolipid metabolism in microalgae: commercial implications and future research directions. *Journal of Phycology*, 26(3):393–399, 1990.
- Rosello-Sastre, R. Products from microalgae: an overview. In Posten, C. Walter, C. (Herausgeber), *Microalgal Biotechnology*, Seiten 13–50. De Gruyter, Berlin, 2012. ISBN 978-3-11-029832-1.
- Rosso, L., Lobry, J. R., Flandrois, J. P. An unexpected correlation between cardinal temperatures of microbial growth highlighted by a new model. *Journal of Theoretical Biology*, 162(4):447–463, 1993.
- Sacksteder, C. A., Kanazawa, A., Jacoby, M. E., Kramer, D. M. The proton to electron stoichiometry of steady-state photosynthesis in living plants: A proton-pumping Q cycle is continuously engaged. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(26):14283–14288, 2000.
- San Pedro, A., González-López, C. V., Ación, F. G., Molina-Grima, E. Outdoor pilot-scale production of *Nannochloropsis gaditana*: influence of culture parameters and lipid production rates in tubular photobioreactors. *Bioresource Technology*, 169:667–676, 2014.
- San Pedro, A., González-López, C. V., Ación, F. G., Molina-Grima, E. Outdoor pilot production of *Nannochloropsis gaditana*: Influence of culture parameters and lipid production rates in raceway ponds. *Algal Research*, 8:205–213, 2015.
- Sandnes, J. M., Källqvist, T., Wenner, D., Gislerød, H. R. Combined influence of light and temperature on growth rates of *Nannochloropsis oceanica*: linking cellular responses to large-scale biomass production. *Journal of Applied Phycology*, 17(6):515–525, 2005.
- Santos, A. M., Janssen, M., Lamers, P. P., Evers, W A C, , Wijffels, R. H. Growth of oil accumulating microalga *Neochloris oleoabundans* under alkaline-saline conditions. *Bioresource Technology*, 104:593–599, 2012.
- Sato, N. Murata, N. Studies on the temperature shift-induced desaturation of fatty acids in monogalactosyl diacylglycerol in the blue-green alga (cyanobacterium), *Anabaena variabilis*. *Plant & Cell Physiology*, 22(6):1043–1050, 1981.
- Sauermost, R. Freudig, D. *Lexikon der Biologie: In fünfzehn Bänden*. Spektrum, Akad. Verl., Heidelberg, 1. Auflage, 2004. ISBN 3-8274-0320-0.
- Schenk, P. M., Thomas-Hall, S. R., Stephens, E., Marx, U. C., Mussgnug, J. H., Posten, C., Kruse, O., Hankamer, B. Second Generation Biofuels: High-Efficiency Microalgae for Biodiesel Production. *BioEnergy Research*, 1(1):20–43, 2008.
- Schlagermann, P., Göttlicher, G., Dillschneider, R., Rosello-Sastre, R., Posten, C. Composition of Algal Oil and Its Potential as Biofuel. *Journal of Combustion*, 2012(4571):1–14, 2012.
- Schmidt, W. *Optische Spektroskopie: Eine Einführung*. Wiley-VCH, Weinheim and New York and Chichester and Brisbane and Singapore and Toronto, 2. Auflage, 2000. ISBN 9783527298280.
- Sforza, E., Bertuccio, A., Morosinotto, T., Giacometti, G. M. Photobioreactors for microalgal growth and oil production with *Nannochloropsis salina*: From lab-scale experiments to large-scale design. *Chemical Engineering Research and Design*, 90(9):1151–1158, 2012a.
- Sforza, E., Simionato, D., Giacometti, G. M., Bertuccio, A., Morosinotto, T. Adjusted light and dark cycles can optimize photosynthetic efficiency in algae growing in photobioreactors. *PloS one*, 7(6):1–10, 2012b.
- Sharma, K. K., Schuhmann, H., Schenk, P. M. High Lipid Induction in Microalgae for Biodiesel Production. *Energies*, 5(12):1532–1553, 2012.
- Shields, R. Lupatsch, I. Algae for aquaculture and animal feeds. In Posten, C. Walter, C. (Herausgeber), *Microalgal Biotechnology*, Seiten 79–100. De Gruyter, Berlin, 2012. ISBN 978-3-11-029832-1.

- Sialve, B., Bernet, N., Bernard, O. Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable. *Biotechnology Advances*, 27(4):409–416, 2009.
- Singh, S. P. Singh, P. Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 50:431–444, 2015.
- Soeder, C. J. Mikroalgenkultur im technischen Maßstab. *Biologie in unserer Zeit*, 1(5):133–142, 1971.
- Sonnleitner, B. Chmiel, H. Wachstum: Kinetik und Prozessführung. In Chmiel, H. (Herausgeber), *Bioprozessstechnik*, Seiten 99–150. Spektrum Akad. Verl., Heidelberg, 2011. ISBN 978-3-8274-2476-1.
- Sorokin, C. Krauss, R. W. Effects of temperatur & illuminance on *Chlorella* growth uncoupled from cell division. *Plant Physiology*, 37(1):37–42, 1962.
- Stocker, T. F., Qin, D., Plattner, G.-K., Tignor, M. M. B., Allen, S. K., Boschung, J., Nauels, A., Xia, Y., Bex, V., Midgley, P. M. *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 2013.
- Storhas, W., Behrendt, U., Rubbeling, H., Wiedemann, P. *Bioverfahrensentwicklung*. Wiley-VCH, Weinheim, 2. Auflage, 2013. ISBN 978-3-527-32899-4.
- Sukenik, A. Ecophysiological considerations in the optimization of eicosapentaenoic acid production by *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae). *Bioresource Technology*, 35(3):263–269, 1991.
- Sukenik, A., Carmeli, Y., Berner, T. Regulation of fatty acid composition by irradiance level in the eustigmatophyte *Nannochloropsis* sp. *Journal of Phycology*, 25(4):686–692, 1989.
- Sukenik, A., Zmora, O., Carmeli, Y. Biochemical quality of marine unicellular algae with special emphasis on lipid composition. II. *Nannochloropsis* sp. *Aquaculture*, 117(3-4):313–326, 1993.
- Takors, R. *Kommentierte Formelsammlung Bioverfahrenstechnik*. SpringerLink : Bücher. Springer Spektrum, Berlin, Heidelberg, 2014. ISBN 978-3-642-41903-4.
- Talbot, P., Thébault, J.-M., Dauta, A., de la Noue, J. A comparative study and mathematical modeling of temperature, light and growth of three microalgae potentially useful for wastewater treatment. *Water Research*, 25(4):465–472, 1991.
- Tamiya, E. L., Hase, E., Shibata, K., Mituya, A., Iwamura, T., Nihei, T., Sasa, T. Kinetics of *Chlorella*, with special reference to its dependence on quantity of available light and on temperature. In Burlew, J. S. (Herausgeber), *Algal culture, from laboratory to pilot plant*, Seiten 204–232. Carnegie Institution, Washington, 1953. ISBN 0-87279-611-6.
- Terry, K. L. Raymond, L. P. System design for the autotrophic production of microalgae. *Enzyme and Microbial Technology*, 7(10):474–487, 1985.
- Thompson, G. A. Lipids and membrane function in green algae. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism*, 1302(1):17–45, 1996.
- Thompson, P. A., Guo, M.-X., Harrison, P. J. Effects of variation on temperature. I. On the biochemical composition of eight species of marine phytoplankton. *Journal of Phycology*, 28(4):481–488, 1992.
- Torzillo, G., Accolla, P., Pinzani, E., Masojádek, J. In situ monitoring of chlorophyll fluorescence to assess the synergistic effect of low temperature and high irradiance stresses in *Spirulina* cultures grown outdoors in photobioreactors. *Journal of Applied Phycology*, 8(4-5):283–291, 1996.
- Tredici, M. R. Photobiology of microalgae mass cultures: understanding the tools for the next green revolution. *Biofuels*, 1(1):143–162, 2010.

- Tsukahara, K. Sawayama, S. Liquid fuel production using microalgae. *Journal of the Japan Petroleum Institute*, 48(5):251–259, 2005.
- UN Population Division, Department of Economic & Social Affairs. *World urbanization prospects: The 2014 revision : highlights*. United Nations, 2014. ISBN 978-92-1-151517-6.
- Hoek, C. van den, Jahns, H. M., Mann, D. G. *Algen*. Thieme, Stuttgart, 3. Auflage, 1993. ISBN 3135511030.
- Oorschot, J. P. L. van. *Conversion of light energy in algal culture*. Doktorarbeit, Landbouwhogeschool Wageningen, Wageningen, 1955.
- van Wagenen, J., Miller, T. W., Hobbs, S., Hook, P., Crowe, B., Huesemann, M. Effects of Light and Temperature on Fatty Acid Production in *Nannochloropsis Salina*. *Energies*, 5(12):731–740, 2012.
- Vernerey, A., Albiol, J., Lasseur, C., Gòdia, F. Scale-up and design of a pilot-plant photobioreactor for the continuous culture of *Spirulina platensis*. *Biotechnology progress*, 17(3):431–438, 2001.
- Vonshak, A. Laboratory techniques for the cultivation of microalgae. In Richmond, A. (Herausgeber), *Handbook of microalgal mass culture*, Seiten 117–145. CRC Press, Boca Raton, 1986.
- Vonshak, A. Richmond, A. Photosynthetic and respiratory activity in *Anacystis nidulans* adapted to osmotic stress. *Plant Physiology*, 68(2):504–505, 1981.
- Vonshak, A., Torzillo, G., Masojidek, J., Boussiba, S. Sub-optimal morning temperature induces photoinhibition in dense outdoor cultures of the alga *Monodus subterraneus* (Eustigmatophyta). *Plant, Cell and Environment*, 24(10):1113–1118, 2001.
- Šetlík, I., Šust, V., Málek, I. Dual Purpose Open Circulation Units for Large Scale Culture of Algae in Temperate Zones: I. Basic Design Considerations and Scheme of a Pilot Plant. *Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes*, 1:111–164, 1970.
- Wang, B., Li, Y., Wu, N., Lan, C. Q. CO₂ bio-mitigation using microalgae. *Applied microbiology and biotechnology*, 79(5):707–718, 2008.
- Wang, D., Ning, K., Li, J., Hu, J., Han, D., Wang, H., Zeng, X., Jing, X., Zhou, Q., Su, X., Chang, X., Wang, A., Wang, W., Jia, J., Wei, L., Xin, Yi., Qiao, Y., Huang, R., Chen, J., Han, B., Yoon, K., Hill, R. T., Zohar, Y., Chen, F., Hu, Q., Xu, J., Feschotte, C. *Nannochloropsis* Genomes Reveal Evolution of Microalgal Oleaginous Traits. *PLoS Genetics*, 10(1):e1004094, 2014.
- Weuster-Botz, D. *Die Rolle der Reaktionstechnik in der mikrobiellen Verfahrensentwicklung*, volume Bd. 2 of *Schriften des Forschungszentrums Jülich. Reihe Lebenswissenschaften = Life sciences*. Forschungszentrum Jülich, Zentralbibliothek, Jülich, 1999. ISBN 3-89336-245-2.
- Weuster-Botz, D., Altenbach-Rehm, J., Hawrylenko, A. Process-engineering characterization of small-scale bubble columns for microbial process development. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 24(1):3–11, 2001.
- Wigmosta, M. S., Coleman, A. M., Skaggs, R. J., Huesemann, M. H., Lane, L. J. National microalgae biofuel production potential and resource demand. *Water Resources Research*, 47(3), 2011.
- Wijffels, R. H. Barbosa, M. J. An Outlook on microalgal biofuels. *Science (New York, N.Y.)*, 329, 2010.
- Wilhelm, C. Jakob, T. Balancing the conversion efficiency from photon to biomass. In Posten, C. Walter, C. (Herausgeber), *Microalgal biotechnology*, Seiten 39–54. deGruyter, Berlin [u.a.], 2012. ISBN 978-3-11-022501-3.
- Ying, Kezhen. Effects of CO₂ and pH on growth of the microalga *Dunaliella salina*. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 06(03), 2014.

Zou, N., Zhang, C., Cohen, Z., Richmond, A. Production of cell mass and eicosapentaenoic acid (EPA) in ultrahigh cell density cultures of *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae). *European Journal of Phycology*, 35(2):127–133, 2000.

Abkürzungs- und Symbolverzeichnis

Abkürzungen

A	A	Ampere; Maßeinheit für die elektrische Stromstärke
	A _{0/1}	Elektronenakzeptoren (0: monomeres Chlorophyll, 1: Naphtochinon)
	ACP	Acyl-Carrier-Protein
	ADP	Adenosindiphosphat
	ASW	artificial seawater; artifizielles Meerwasser
	ATP	Adenosintriphosphat
B	bar	Einheit für den Druck ($10^5 \frac{\text{kg}}{\text{m}\cdot\text{s}^2}$)
	1,3-BPG	1,3-Bisphosphoglycerat
	BTM	Biotrockenmassekonzentration in g·L ⁻¹
C	C	Kohlenstoff
	C ₁₂	Fettsäure mit 12 C-Atomen
	°C	Grad Celsius, Maßeinheit der Temperatur
	Ca	Calcium
	Car	Carotinoid
	CCN	cloud condensation nuclei; Wolkenkondensationskern
	Chl	Chlorophyll
	CH ₄	Methan
	CH ₂ O	reduzierte organische Verbindung
	C ₆ H ₁₂ O ₆	Glucose
	Cl	Chlor
	CO ₂	Kohlenstoffdioxid
	CO ₃ ²⁻	Carbonat
	CoA	Coenzym A
	<i>CTMI</i>	cardinal temperature model with inflection; Modell zur mathematischen Beschreibung der Temperaturabhängigkeit des Wachstums
	Cyt <i>b₆f</i>	Cytochrome
D	D1/2	assoziierte Proteinen des Photosystem II
	DAG	Diacylglycerid

	DHAP	Dihydroxyacetonphosphat
	DMS	Dimethylsulfid
	DMSP	Dimethylsulfoniumpropionat
E	e^-	Elektron
	EDTA	Ethylendiamintetraacetat
	EPA	Eicosapentaensäure; mehrfach ungesättigte C ₂₀ -Fettsäure
F	FAME	fatty acid methyl ester; Fettsäuremethylester
	FD	Ferredoxin
	Fe	Eisen
	FeS	Eisen-Schwefel-Proteine
	Fe ₄ S ₄	Eisen-Schwefel-Cluster
	FGR	Flachgerinnereaktor
	FS	Fettsäure
	FZA	Flächen-Zeit-Ausbeute
G	g	Gramm
	GC	Gaschromatographie
	Gln	Glutamin
	GlnS	Glutamin-Synthetase
	G3P	Glycerinaldehyd-3-phosphat
	Glu	Glutamat
	GluS	Glutamat-Synthase
H	h	Stunde
	H	Wasserstoff
	H ⁺	Proton
	HCl	Salzsäure
	HCO ₃ ⁻	Hydrogencarbonat
	H ₂ O	Wasser
	<i>i</i>	beliebiger Platzhalter
J	<i>j</i>	beliebiger Platzhalter
	J	Joule; Einheit der Energie ($\frac{\text{kg}\cdot\text{m}^2}{\text{s}^2}$)
K	K	Kelvin, Maßeinheit der absoluten Temperatur
	K	Kalium
L	L	Liter
	LED	light-emitting diode; Leuchtdiode
	LHC	light harvesting complex; Lichtsammelkomplex

M	m	Meter	
	M	Stoffmengenkonzentration in mol·L ⁻¹	
	Mg	Magnesium	
	min	Minute	
	Mn	Mangan	
	mol	Mol, Einheit der Stoffmenge	
N	N	Stickstoff	
	Na	Natrium	
	NADP	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat	
	NADP ⁺	oxidierte Form des NADP	
	NADPH	reduzierte Form des NADP	
	NaOH	Natriumhydroxid, Natronlauge	
	NH ₄ ⁺	Ammonium	
	NiR	Nitrit-Reduktase	
	NO ₂	Nitrit	
	NO ₃	Nitrat	
	NR	Nitrat-Reduktase	
	O	Ω	Ohm; Maßeinheit des elektrischen Widerstandes
		O ₂	Sauerstoff
		OD	Optische Dichte
P	P	Phosphor	
	<i>P</i>	Photosyntheseaktivität	
	P680	Photosystem II, Anregung bei 680 nm	
	P700	Photosystem I, Anregung bei 700 nm	
	PAR	photosynthetically active radiation; photosynthetisch aktive Strahlung	
	PE-HD	polyethylene high density; Polyethylen hoher Dichte	
	PBR	Photobioreaktor	
	PC	Plastocyanin	
	PFD	Photonenflussdichte	
	3-PG	3-Phosphoglycerat	
	pH	pondus Hydrogenii	
	Phaeo	Phaeophytin; magnesiumfreie Form des Chlorophylls	
	P _i , PO ₄ ⁽³⁻⁾	Phosphat	
	pO ₂	Sauerstoffpartialdruck	
	PQ	Plastochinon	

	PQH ₂	Plastohydrochinon
	PT100	Temperatursensor; Platin-Messwiderstand: 100 Ω
	PTFE	Polytetrafluorethylen
Q	Q _{A/B}	gebundene Plastochinone
R	R _d	Dunkelrespiration
	Rubisco	Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase
	RuBP	Ribulose-1,5-bisphosphat
	Ru5P	Ribulose-5-phosphat
	RZA	Raum-Zeit-Ausbeute
S	s	Sekunden
	S	Schwefel
	SAG	Sammlung für Algenkulturen der Universität Göttingen
	S ₀ (Chl)	Grundzustand des Chlorophylls
	SO ₂	Schwefeldioxid, Anhydrid der Schwefligen Säure H ₂ SO ₃
	SO ₄ ²⁻	Sulfat
	SVR	surface to volume ratio; Oberfläche/Volumen-Verhältnis
T	TAG	Triacylglycerid
U	<i>u</i>	beliebiger Platzhalter
	U	Umdrehungen; als Einheit U·min ⁻¹
V	V	Volt; Maßeinheit für die elektrische Spannung
	VE	vollentsalzt
	v/v	volume per volume; Volumenanteil in %
W	W	Watt; Maßeinheit für die Leistung ($\frac{J}{s}$)
	w/v	weight per volume; Massenkonzentration in %
Y	<i>y</i>	beliebiger Platzhalter

Indizes

¹ y*	Singulett-y
³ y*	Triplett-y
<i>max</i>	maximal

Präfixe

c	Zenti
k	Kilo
m	Milli
μ	Mikro

	n	Nano	
Symbole			
A	<i>A</i>	Absorption	-
	A_{GQ}	Gruppenquadratgröße	mm ²
	A_{PBR}	bestrahlte Fläche des Photobioreaktors	m ²
	$A_{Q,PBR}$	Querschnittsfläche des Photobioreaktors	m ²
	α	Anfangssteigung der Lichtantwortkurve	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-2}$
C	<i>c</i>	Konzentration	$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
	c_L	Lichtgeschwindigkeit	$\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$
D	d_B	mittlerer Blasendurchmesser	m
	Δ	Differenz	variabel
E	<i>e</i>	absoluter Fehler	variabel
	<i>E</i>	Energie	J
	<i>Ei</i>	Integralexponentialfunktion	-
	ε	spezifischer Extinktionskoeffizient	$\text{L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$
F	<i>F</i>	Volumenstrom	$\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$
G	<i>g</i>	Erdbeschleunigung	$\text{m}\cdot\text{s}^{-2}$
	γ	Euler-Mascheroni-Konstante	-
H	<i>h</i>	Plancksches Wirkungsquantum	J·s
	<i>H</i>	Höhe der begasten Flüssigkeitssäule	m
	h_F	Höhe der unbegasten Flüssigkeitssäule	m
	h_K	Kammerhöhe	mm
I	<i>I</i>	Bestrahlungsstärke	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
	I^*	mittlere integrale Bestrahlungsstärke	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
	I^{**}	mittlere integrale Bestrahlungsstärke in der exponentiellen Wachstumsphase	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
	I_c	<i>I</i> am Lichtkompensationspunkt	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
	I_k	Übergangsbestrahlungsstärke zwischen licht- limitierter und -gesättigter Photosynthese	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
	I_s	Sättigungs-Bestrahlungsstärke	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
	I_i	Bestrahlungsstärke, ab der Photoinhibition eintritt	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
K	K_I	Inhibitionskonstante	$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ oder $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
	K_S	Sättigungskonstante	$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ oder $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$

L	L	Schichtdicke des Photobiorektors	cm
	l	beliebige Schichtdicke	cm
	λ	Wellenlänge	nm
M	m	Masse	g
	μ	spezifische Wachstumsrate	h^{-1}
	μ^*	mittlere integrale Wachstumsrate	h^{-1}
N	n	Brechungsindex	-
	n	beliebige Anzahl	-
	N	Gesamtzellzahl	mL^{-1}
	N_{Zellzahl}	Anzahl ausgezählter Zellen	-
	N_{GQ}	Anzahl ausgezählter Gruppenquadrate	-
	ν	Frequenz	s^{-1}
P	p_b	Druck direkt über dem Gaseinlass des Reaktor	bar
	p_0	Druck im Kopfraum des Reaktor	bar
	$\frac{P}{V}$	volumetrischer Leistungseintrag	$\text{W}\cdot\text{m}^{-3}$
Q	q	spezifische Aufnahme- oder Bildungsrate	$\text{g}\cdot\text{g}_{\text{Biomasse}}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$
R	r	Reaktionsgeschwindigkeit	$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$
	R	universelle Gaskonstante	$\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$
	R_{mol}	Molrefraktion	$\text{L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$
	ρ_F	Dichte der Flüssigkeit	$\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$
S	σ	Standardabweichung	variabel
	σ_G	Grenzflächenspannung	$\text{N}\cdot\text{m}^{-1}$
T	t	Zeit	h
	T	Temperatur	$^{\circ}\text{C}$
	Θ	spezifische Funktion für die Temperaturabhängigkeit	-
V	V	Reaktionsvolumen	L
	V_M	molares Volumen eines idealen Gases ($22,41\cdot 10^{-3}$)	$\text{m}^3\cdot\text{mol}^{-1}$
	\dot{V}_m	molarer Volumenstrom	$\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$
W	w	Gasleerrohrgeschwindigkeit	$\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$
Y	$Y_{x/s}$	Ausbeutekoeffizient der Biomasse bezogen auf das Substrat	$\text{g}_{\text{Biomasse}}\cdot\text{g}_{\text{Substrat}}^{-1}$
Z	$z_{(1-\frac{\alpha}{2})}$	$(1 - \frac{\alpha}{2})$ -Quantil der Standardnormalverteilung	-

Indizes

<i>0</i>	zu Beginn (zeitlich)/Oberfläche (örtlich)
<i>a</i>	Anfang der exponentiellen Wachstumsphase
<i>C₁₂</i>	Fettsäure mit 12 C-Atomen
<i>Car</i>	β-Carotin
<i>Chl</i>	Chlorophyll
<i>e</i>	Ende der exponentiellen Wachstumsphase
<i>FA</i>	Fettsäure
<i>i</i>	beliebiger Platzhalter
<i>j</i>	beliebiger Platzhalter
<i>Lut</i>	Lutein
<i>max</i>	maximal
<i>min</i>	minimal
OP	Oberphase
<i>opt</i>	optimal
<i>p</i>	Produkt
PBR	Photobioreaktor
<i>s</i>	Substrat
<i>set</i>	eingestellt/vorgegeben
TAG	Triacylglycerid
<i>x</i>	Biomasse
<i>Zea</i>	Zeaxanthin

Abbildungsverzeichnis

3.1	Schematische Darstellung eines Chloroplasten	11
3.2	Schematische Übersicht der Photosynthese mit Licht- und Dunkelreaktion in den Chloroplasten.	11
3.3	Schematische Darstellung eines Lichtsammelkomplexes in Mikroalgen	12
3.4	Darstellung des linearen Elektronentransportes der Photosynthese in einem Energiediagramm (Z-Schema)	14
3.5	Schematische Darstellung der lichtabhängigen sowie lichtunabhängigen Reaktion der Photosynthese.	17
3.6	Schematische Darstellung der Schutzfunktion der Carotinoide bei Lichtüberschuss	20
3.7	Schematische Darstellung des Violaxanthinzyklus als Anpassungsreaktion an variierende Bestrahlungsstärken	21
3.8	Vereinfachtes Schema der Fettsäuresynthese sowie der Biosynthese der Glycerolipide	23
3.9	Schematische Darstellung der Reaktionen des Fettsäure-Synthase-Komplexes im Chloroplasten von Mikroalgen	24
3.10	Schematische Darstellung des Zusammenhangs zwischen der Photonenflussdichte und der Photosyntheserate (<i>P/I-Kurve, Lichtantwortkurve</i>)	27
3.11	Darstellung des Kohlensäure-Bicarbonat-Puffersystems in Abhängigkeit des pH sowie der Salinität	29
3.12	Vereinfachtes Schema der Nitratassimilation in phototrophen eukaryotischen Mikroalgen	33
3.13	Schematische Darstellung der Wachstumsphasen von Mikroalgen im Satzverfahren	41
3.14	Darstellung des elektromagnetischen Strahlungsspektrums	42
3.15	Darstellung der Lichtabschwächung durch einen Photobioreaktor	43
3.16	Schematische Darstellung des Zusammenhangs zwischen der Photonenflussdichte und der Ausbildung verschiedener Zonen im Photobioreaktor in Abhängigkeit der Schichtdicke des Reaktors)	45
3.17	Darstellung der Lichtabschwächung der Eingangs-Bestrahlungsstärke und der Ausbildung verschiedener Zonen in Abhängigkeit der Schichtdicke in einem Photobioreaktor zur Erläuterung der mittleren integralen Bestrahlungsstärke	46

3.18	Darstellung der Reduktion der Wachstumsrate als Funktion der InhibitorKonzentration nach verschiedenen Modellen	48
3.19	Vergleich zweier kinetischer Ansätze zur Beschreibung der Wachstumsrate als Funktion des limitierenden Substrates Licht mit Berücksichtigung der Substratinhibition	49
3.20	Darstellung der spezifischen Produktbildungsrate als Funktion des limitierenden Substrates Licht mit Berücksichtigung der Substratinhibition	51
3.21	Darstellung der zellspezifischen Wachstumsrate als Funktion der Temperatur.	52
3.22	Schematischer Überblick über die gesamte Wertschöpfungskette der Biomasseproduktion mit Mikroalgen mit möglichen Produkten	54
3.23	Schematische Darstellung verschiedener Varianten des Gaseintrages in Photobioreaktoren durch Blasendispergierung	56
3.24	Schematische Darstellung eines Photobioreaktors mit verfahrenstechnisch zu berücksichtigenden Aspekten	59
4.1	Lichtmikroskopische Aufnahme von <i>Nannochloropsis salina</i> und <i>Nannochloropsis gaditana</i>	62
4.2	Schematische Darstellung eines Blasensäulenreaktors mit Detaildarstellung des Bodenaufbaus	65
4.3	Darstellung der relativen spektralen Leistungsverteilung der Bestrahlungseinheit eines <i>Labfors 5 Lux Flachplatten-Photobioreaktors</i>	67
4.4	Explosions-Darstellung des Kultivierungsgefäßes des Flachplatten-Photobioreaktors	68
4.5	Schematische Darstellung des Flachplatten-Photobioreaktors in drei Ansichten	69
4.6	Schematische Darstellung der Bestimmung der Eingangs-Bestrahlungsstärke	70
4.7	Exemplarische Korrelation der Photonenflussdichte mit der Einstellung in % in der Software der Flachplatten-Photobioreaktoren	71
4.8	Darstellung des Temperatur- sowie Bestrahlungsstärken-Verlaufes für die Klimasimulation .	72
4.9	Schematische Darstellung des Flachgerinnereaktors	73
4.10	Darstellung der relativen Absorptionsmaxima zwischen 330 und 580 nm von Chlorophyll a, Zeaxanthin, Lutein und β -Carotin	81
4.11	Schematische Schnitt-Darstellung des Aufbaus zur Messung der Transmission in unterschiedlichen Schichtdicken	82
5.1	Darstellung der Biotrockenmassekonzentration von <i>N. salina</i> bei Satzprozessen in Blasensäulenreaktoren als Funktion der Prozesszeit sowie der Nitrat-Anfangskonzentration	91
5.2	Zeitliche Veränderung der Biotrockenmassekonzentration von <i>Nannochloropsis salina</i> sowie der Nitratkonzentration eines Satzprozesses im Flachplatten-Photobioreaktor	91
5.3	Zeitliche Veränderung der Biotrockenmassekonzentration von <i>Nannochloropsis salina</i> sowie der Phosphatkonzentration von Satzprozessen in Blasensäulenreaktoren	93

5.4	Darstellung der relativen Photonenflussdichte in Abhängigkeit der Schichtdicke nach Durchgang durch Suspensionen von <i>Nannochloropsis salina</i> unterschiedlicher Konzentration . . .	95
5.5	Exemplarische Darstellung der Beschreibung der Lichtabschwächung nach <i>Lambert-Beer</i> , dem <i>modifizierten Lambert-Beer</i> und <i>Reynolds-Pacala</i> für drei ausgewählte Konzentrationen von <i>N. salina</i>	96
5.6	Darstellung des spezifischen Extinktionskoeffizienten ε in Abhängigkeit der Biotrockenmassekonzentration und des zur Bestimmung verwendeten Lichtabschwächungs-Modells	97
5.7	Exemplarische Darstellung der Entwicklung der Methode zur Bestimmung des spezifischen Extinktionskoeffizienten bei Satzprozessen in Flachplatten-Photobioreaktoren mit <i>Nannochloropsis salina</i>	98
5.8	Darstellung der Biotrockenmassekonzentration von <i>Nannochloropsis salina</i> als Funktion der Prozesszeit und der mittleren integralen Bestrahlungsstärke bei ausgewählten, unlimitierten Satzprozessen in Flachplatten-Photobioreaktoren	102
5.9	Darstellung der spezifischen Wachstumsraten bei unlimitiertem Wachstum von <i>Nannochloropsis salina</i> in Flachplatten-Photobioreaktoren in Abhängigkeit von der mittleren integralen Bestrahlungsstärke	103
5.10	Darstellung des Lipidgehaltes in unlimitierten Satzprozessen von <i>N. salina</i> als Funktion der mittleren integralen Bestrahlungsstärke in Flachplatten-Photobioreaktoren	107
5.11	Darstellung der Biotrockenmasse- und Lipidkonzentration von <i>Nannochloropsis salina</i> als Funktion der Prozesszeit und der mittleren integralen Bestrahlungsstärke bei stickstofflimitierten Satzprozessen in Flachplatten-Photobioreaktoren	108
5.12	Darstellung der Flächen-Zeit-Ausbeute der Lipidbildung mit stickstofflimitierten Satzprozessen mit <i>Nannochloropsis salina</i> in Flachplatten-Photobioreaktoren als Funktion der mittleren integralen Bestrahlungsstärke	109
5.13	Darstellung der spezifischen Lipidbildungsraten von <i>Nannochloropsis salina</i> unter Stickstofflimitierung in Flachplatten-Photobioreaktoren als Funktion der mittleren integralen Bestrahlungsstärke	110
5.14	Ausarbeitung eines Bestrahlungsprofils für <i>N. salina</i> in Flachplatten-Photobioreaktoren . . .	113
5.15	Vergleichende Darstellung relevanter Prozessparameter zweier unlimitierter Satzprozesse mit <i>Nannochloropsis salina</i> zur Biomasseproduktion mit konstanter Eingangsbestrahlungsstärke sowie optimiertem Bestrahlungsprofil in Flachplatten-Photobioreaktoren	114
5.16	Vergleichende Darstellung relevanter Prozessparameter zweier stickstofflimitierter Satzprozesse mit <i>Nannochloropsis salina</i> zur Lipidproduktion mit konstanter Eingangsbestrahlungsstärke sowie Bestrahlungsprofil in Flachplatten-Photobioreaktoren	117

5.17	Darstellung der Biotrockenmassekonzentration von <i>N. salina</i> als Funktion der Prozesszeit und der Temperatur bei unlimitierten Satzprozessen in Flachplatten-Photobioreaktoren . . .	120
5.18	Darstellung der spezifischen Wachstumsraten bei unlimitiertem Wachstum von <i>N. salina</i> in Flachplatten-Photobioreaktoren in Abhängigkeit der Temperatur	121
6.1	Darstellung der Wachstumsraten von <i>Nannochloropsis gaditana</i> bei unlimitierten Satzprozessen in Blasensäulenreaktoren als Funktion des initialen N:P-Verhältnisses	124
6.2	Exemplarische Darstellung der Überprüfung der Methode zur Bestimmung des spezifischen Extinktionskoeffizienten bei Satzprozessen in Flachplatten-Photobioreaktoren mit <i>Nannochloropsis gaditana</i>	126
6.3	Darstellung der Biotrockenmassekonzentration von <i>Nannochloropsis gaditana</i> als Funktion der Prozesszeit und der mittleren integralen Bestrahlungsstärke bei ausgewählten, unlimitierten Satzprozessen in Flachplatten-Photobioreaktoren	128
6.4	Darstellung der spezifischen Wachstumsraten bei unlimitiertem Wachstum von <i>Nannochloropsis gaditana</i> in Flachplatten-Photobioreaktoren in Abhängigkeit von der mittleren integralen Bestrahlungsstärke	129
6.5	Vergleichende Darstellung relevanter Prozessparameter zweier unlimitierter Satzprozesse mit <i>N. gaditana</i> zur Biomasseproduktion mit konstanter Eingangs-Bestrahlungsstärke sowie optimiertem Bestrahlungsprofil in Flachplatten-Photobioreaktoren	132
6.6	Vergleichende Darstellung relevanter Prozessparameter zweier stickstofflimitierter Satzprozesse mit <i>N. gaditana</i> zur Lipidproduktion mit konstanter Eingangs-Bestrahlungsstärke sowie Bestrahlungsprofil in Flachplatten-Photobioreaktoren	134
6.7	Darstellung der Biotrockenmassekonzentration von <i>Nannochloropsis gaditana</i> als Funktion der Prozesszeit und der Temperatur bei unlimitierten Satzprozessen in Flachplatten-Photobioreaktoren	136
6.8	Darstellung der spezifischen Wachstumsraten bei unlimitiertem Wachstum von <i>Nannochloropsis gaditana</i> in Flachplatten-Photobioreaktoren in Abhängigkeit der Temperatur	137
6.9	Vergleichende Darstellung der lichtabhängigen und temperaturabhängigen Wachstumskinetiken von <i>Nannochloropsis gaditana</i> sowie <i>Nannochloropsis salina</i> in Flachplatten-Photobioreaktoren	139
7.1	Darstellung der Biotrockenmassekonzentration von <i>Nannochloropsis salina</i> und <i>Nannochloropsis gaditana</i> als Funktion der Prozesszeit und der mittleren integralen Bestrahlungsstärke bei jeweils vier unlimitierten Satzprozessen in Flachgerinnereaktoren	145
7.2	Darstellung zur Überprüfung der Eignung der mittleren integralen Bestrahlungsstärke als Übertragungskriterium der Mikroalgenprozesse vom Labor- in den Pilotmaßstab	146

7.3	Darstellung eines unlimitierten Satzprozesses von <i>Nannochloropsis salina</i> mit realistischer physikalischer Klimasimulation im Flachplatten-Photobioreaktor	148
7.4	Darstellung eines unlimitierten Satzprozesses von <i>Nannochloropsis salina</i> mit realistischer physikalischer Klimasimulation im Flachgerinnereaktor	150
7.5	Vergleichende Darstellung zweier Satzprozesse von <i>Nannochloropsis salina</i> mit realistischer physikalischer Klimasimulation im Flachplatten-Photobioreaktor und im Flachgerinnereaktor	152
7.6	Darstellung der spezifischen Tages-Wachstumsraten von <i>Nannochloropsis salina</i> unter dynamischen Bedingungen in Flachgerinnereaktoren sowie Flachplatten-Photobioreaktoren in Abhängigkeit von der mittleren integralen Bestrahlungsstärke	153
7.7	Darstellung der Lipidproduktion mit <i>Nannochloropsis salina</i> mit konstanter Eingangsbestrahlungsstärke im Flachplatten-Photobioreaktor und im Flachgerinnereaktor	158
7.8	Darstellung der Lipidproduktion mit <i>Nannochloropsis salina</i> mit realistischer physikalischer Klimasimulation im Flachplatten-Photobioreaktor und im Flachgerinnereaktor	161
8.1	Darstellung der Lichtabhängigkeit des Wachstums von <i>Nannochloropsis salina</i> und <i>Nannochloropsis gaditana</i> in Flachplatten-Photobioreaktoren sowie der erfolgreichen Maßstabsübertragung vom Labor- in den Pilotmaßstab	166
A.1	Darstellung eines Blasensäulenreaktors	197
A.2	Draufsicht und Querschnitt des Blasensäuleninkubators	198
A.3	Darstellung des Aufbaus eines Labfors 5 Lux Flachplatten-Photobioreaktors	199
A.4	Schematische Darstellung der Messpunkte für die Bestimmung der Transmission durch den Photobioreaktor	199
A.5	Darstellung der Abmessungen eines Flachplatten-Photobioreaktors	200
A.6	Fotografische Darstellung eines Flachgerinnereaktors im Betrieb	203
A.7	Außenansicht des Algentechnikums	207
A.8	Darstellung der spektralen Leistungsverteilung der LED-Bestrahlungseinheit im Pilotmaßstab (Flachgerinnereaktoren).	208
A.9	Fotografische Darstellung einer LED-Platine im Algentechnikum von unten mit acht unterschiedlichen Leuchtdioden.	208

Tabellenverzeichnis

4.1	Zusammensetzung des ASW-Mediums nach Boussiba <i>et al.</i> (1987) mit der in dieser Arbeit verwendeten, höheren Kaliumnitrat-Konzentration	63
5.1	Zusammenfassung der Biomasse-Ausbeutekoeffizienten in Bezug auf die essentiellen Nährstoffe Nitrat und Phosphat sowie der spezifischen Nitrat- und Phosphat-Aufnahmeraten von <i>Nannochloropsis salina</i> unter unlimitierten Bedingungen	93
5.2	Auflistung der identifizierten kinetischen Modellparameter für die Beschreibung des lichtabhängigen Wachstums von <i>Nannochloropsis salina</i> in Flachplatten-Photobioreaktoren	104
5.3	Auflistung der über Minimierung der Fehlerquadratsumme identifizierten kinetischen Parameter für die Beschreibung der lichtabhängigen Lipidbildung von <i>Nannochloropsis salina</i> in Flachplatten-Photobioreaktoren	111
5.4	Auflistung der über Minimierung der Fehlerquadratsumme identifizierten kinetischen Parameter für die Beschreibung des temperaturabhängigen unlimitierten Wachstums von <i>Nannochloropsis salina</i> in Flachplatten-Photobioreaktoren	122
6.1	Zusammenfassung des Biomasse-Ausbeutekoeffizienten in Bezug auf den essentiellen Nährstoff Nitrat sowie der spezifischen Nitrat-Aufnahmerate von <i>Nannochloropsis gaditana</i> unter unlimitierten Bedingungen im Flachplatten-Photobioreaktoren bei verschiedenen Eingangsbestrahlungsstärken	124
6.2	Auflistung der über Parameteridentifikation ermittelten kinetischen Parameter für die Beschreibung des lichtabhängigen Wachstums von <i>Nannochloropsis gaditana</i> in Flachplatten-Photobioreaktoren	130
6.3	Auflistung der identifizierten kinetischen Parameter für die Beschreibung des temperaturabhängigen unlimitierten Wachstums von <i>Nannochloropsis gaditana</i> in Flachplatten-Photobioreaktoren	138
6.4	Vergleichende Auflistung der wichtigsten Eigenschaften der beiden Mikroalgenpezies <i>Nannochloropsis salina</i> und <i>Nannochloropsis gaditana</i>	140
7.1	Auflistung der Eigenschaften des Flachplatten-Photobioreaktors im Labormaßstab und des Flachgerinnereaktors im Pilotmaßstab.	143

7.2	Gegenüberstellung der relevanten Zustandsgrößen für die unlimitierte Biomasseproduktion von <i>Nannochloropsis salina</i> im Flachplatten-Photobioreaktor sowie im Flachgerinnereaktor mit Tagesganglinien	153
7.3	Gegenüberstellung der relevanten Zustandsgrößen für die Lipidproduktion von <i>Nannochloropsis salina</i> im Flachplatten-Photobioreaktor sowie im Flachgerinnereaktor bei konstanter Eingangsbestrahlungsstärke und Stickstofflimitierung	159
7.4	Gegenüberstellung der relevanten Zustandsgrößen für die Lipidproduktion von <i>Nannochloropsis salina</i> im Flachplatten-Photobioreaktor sowie im Flachgerinnereaktor mit Tagesganglinien und Stickstofflimitierung	162
A.1	Geräte für die Vorkulturherstellung in Erlenmeyerkolben	197
A.2	Geräte für die Vorkulturherstellung in Blasensäulenreaktoren	198
A.3	Geräte für die Satzprozesse in Flachplatten-Photobioreaktoren	199
A.4	Geräte für die Satzprozesse und Vorkulturherstellung in Flachgerinnereaktoren	203
A.5	Auflistung der allgemeinen Geräte am Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik und im Algentechnikum	204
A.6	Auflistung der in dieser Arbeit verwendeten Materialien	205
A.7	Zusammensetzung des Phosphatpuffers (PBS)	205
A.8	Auflistung der in dieser Arbeit verwendeten Chemikalien	206

Anhang

A.1 Kultivierungssysteme

A.1.1 Erlenmeyerkolben

Tabelle A.1: Geräte für die Vorkulturherstellung in Erlenmeyerkolben.

<i>Gerät</i>	<i>Bezeichnung</i>	<i>Hersteller</i>
Aquarienleuchte	Tesla-S-LED-Modul, 84 Watt	Giesemann GmbH, Nettetal
Schüttelinkubator	WiseCube® WIS20-R	witeg Labortechnik GmbH, Wertheim

A.1.2 Blasensäulenreaktoren



Abbildung A.1: Darstellung eines Blasensäulenreaktors (*Rendering*) mit Aufbau des Bodens (links), allen Einzelteilen des Reaktors (Mitte) und dem zusammengesetzten Blasensäulenreaktor (rechts).

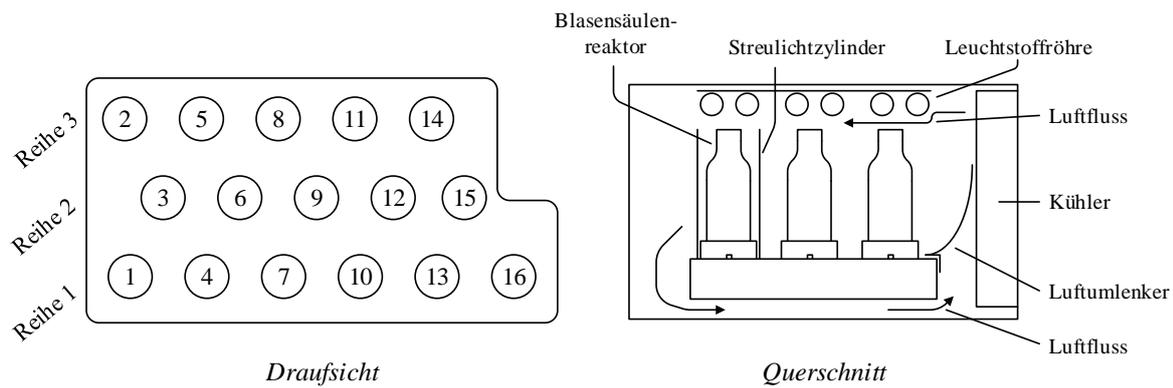


Abbildung A.2: Draufsicht, Querschnitt und Darstellung der Funktionsweise der Luftkühlung durch Zirkulation des modifizierten Profors-Inkubators (Infors HT, Bottmingen, Schweiz) für Blasensäulenreaktoren. Die Draufsicht zeigt die Anordnung der verschiedenen Reaktorpositionen. Im Querschnitt werden die drei Reihen mit jeweils zwei Leuchtstoffröhren für die Erzeugung einer ausreichenden Photonenflussdichte gezeigt.

Tabelle A.2: Geräte für die Vorkulturherstellung in Blasensäulenreaktoren.

Gerät	Bezeichnung	Hersteller
Blasensäulenreaktor	Patent EP0845029 B1	Altenbach-Rehm & Weuster-Botz (2002)
Dreiwegehahn	Mini-Dreiwegehahn (2-4190)	NeoLab, Heidelberg
Durchlaufkühler	DLK 60	Fryka Kältetechnik, Esslingen
Gasmischstation	WMR 4000 (Westphal)	Brooks Instruments, Dresden
Leuchtstoffröhre	Fluora 77	Osram, München
Leuchtstoffröhre	SunGlo	Hagen, Holm
Massendurchflussregler	5850E	Brooks Instruments, Dresden
Inkubator (modifiziert)	Profors	Infors HT, Bottmingen, Schweiz

A.1.3 Flachplatten-Photobioreaktoren



Abbildung A.3: Darstellung des Aufbaus eines Labfors 5 Lux Flachplatten-Photobioreaktors mit Grundgerät und Bedieneinheit, LED-Paneel sowie Kultivierungsgefäß (Infors HT, Bottmingen, Schweiz).

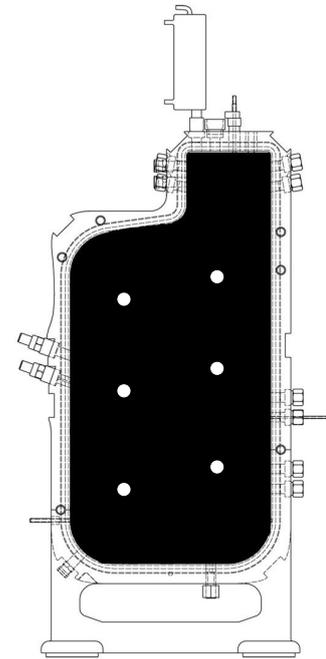


Abbildung A.4: Schematische Darstellung der Messpunkte für die Bestimmung der Transmission durch den Photobioreaktor (Kapitel 4.4.2).

Tabelle A.3: Geräte für die Satzprozesse in Flachplatten-Photobioreaktoren.

<i>Gerät</i>	<i>Bezeichnung</i>	<i>Hersteller</i>
Flachplatten-Photobioreaktor	<i>Labfors 5 Lux</i>	Infors HT, Bottmingen, Schweiz
Gelöstsauerstoffsensoren	VisiFerm DO ECS 120 H0	Hamilton Germany GmbH, Planegg
pH-Sensoren	EasyFerm Plus PHI Arc 120	Hamilton Germany GmbH, Planegg
Schlauchpumpe	BVP 501U	Watson Marlow, Großbritannien
Software	Iris V.6.0	Infors HT, Bottmingen, Schweiz
Spektrometer	BLUE-Wave	StellarNet Inc., USA
Umlaufkühler PBR	DK1800	Wutke, Schutterwald
Umlaufkühler LED	DK2700	Wutke, Schutterwald

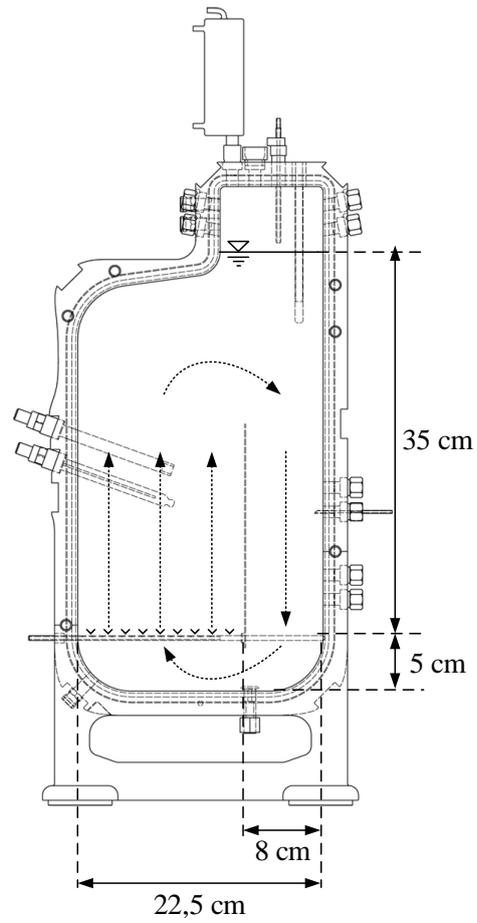


Abbildung A.5: Darstellung der Abmessungen eines Flachplatten-Photobioreaktors: Die Höhe der Flüssigkeitssäule bei einem Arbeitsvolumen von 1,8 L beträgt insgesamt 40 cm, wobei 5 cm unterhalb des Begasungsrohres liegen. In der Breite füllt die Flüssigkeit 22,5 cm, davon entsprechen 14,5 cm dem Bereich des Auftriebs durch die Begasung (*gas lift*), während die Abtriebszone 8 cm misst.

Sequenzen zur Prozesssteuerung

pH-Regelung. Die Sequenz zur Regelung des pH prüft in Abständen von 20 Sekunden (#1 der Sequenz) den Ist-Wert des pH (pH.v). Überschreitet dieser den Soll-Wert (8,0), wird je nach pH-Ist-Wert der CO₂-Volumenstrom (CO₂_Flow.sp) in mL·min⁻¹ erhöht, während der Druckluft-Volumenstrom (Air_Flow.sp) in L·min⁻¹ um denselben Wert erniedrigt wird, sodass der Gesamtvolumenstrom identisch bleibt.

Sequenz:

#0, initial settings, 10

Air_Flow.sp=2.0

CO₂_Flow.sp=0

if(seq_time>1){seq=1}

#1, pH-control, 20

if(pH.v<=8.00){CO₂_Flow.sp=0;Air_Flow.sp=2.0}

if(pH.v>=8.01){CO₂_Flow.sp=10;Air_Flow.sp=1.990}

if(pH.v>=8.05){CO₂_Flow.sp=15;Air_Flow.sp=1.985}

if(pH.v>=8.10){CO₂_Flow.sp=20;Air_Flow.sp=1.980}

if(pH.v>=8.15){CO₂_Flow.sp=25;Air_Flow.sp=1.975}

if(pH.v>=8.20){CO₂_Flow.sp=30;Air_Flow.sp=1.970}

if(pH.v>=8.25){CO₂_Flow.sp=35;Air_Flow.sp=1.965}

if(pH.v>=8.30){CO₂_Flow.sp=40;Air_Flow.sp=1.960}

Tages-Ganglinien. Die Sequenz zur Klimasimulation des Modelltages (15. Juni 2012) in Almería, Spanien, gibt der Bedieneinheit der Flachplatten-Photobioreaktoren den Tagesverlauf der Temperatur sowie der Eingangsbestrahlungsstärke entsprechend Abbildung 4.8 vor.

Sequenz:

#0, initial settings, 10

Light.sp=0 Temp.sp=25 Air_Flow.sp=2.0

CO₂_Flow.sp=0

if(seq_time>1){seq=1}

#1, Tag, 20

Light.sp=0.0071*((seq_time/3600)^4)-0.1945*((seq_time/3600)^3)+0.8675*((seq_time/3600)^2)+6.5263*(seq_time/3600)-0.5332

Temp.sp=0.0082*((seq_time/3600)^3)-0.3796*((seq_time/3600)^2)+4.3559*(seq_time/3600)+15.142

```
if(pH.v<=8.00){CO2_Flow.sp=0;Air_Flow.sp=2.0}  
if(pH.v>=8.01){CO2_Flow.sp=10;Air_Flow.sp=1.990}  
if(pH.v>=8.05){CO2_Flow.sp=15;Air_Flow.sp=1.985}  
if(pH.v>=8.10){CO2_Flow.sp=20;Air_Flow.sp=1.980}  
if(pH.v>=8.15){CO2_Flow.sp=25;Air_Flow.sp=1.975}  
if(pH.v>=8.20){CO2_Flow.sp=30;Air_Flow.sp=1.970}  
if(pH.v>=8.25){CO2_Flow.sp=35;Air_Flow.sp=1.965}  
if(pH.v>=8.30){CO2_Flow.sp=40;Air_Flow.sp=1.960}
```

```
if seq_time > time(14:00){Light.sp=0}
```

```
if seq_time > time(22:00){seq=2}
```

```
#2, Nacht, 20
```

```
Light.sp=0
```

```
Temp.sp=15
```

```
if(pH.v<=8.00){CO2_Flow.sp=0;Air_Flow.sp=2.0}  
if(pH.v>=8.01){CO2_Flow.sp=10;Air_Flow.sp=1.990}  
if(pH.v>=8.05){CO2_Flow.sp=15;Air_Flow.sp=1.985}  
if(pH.v>=8.10){CO2_Flow.sp=20;Air_Flow.sp=1.980}  
if(pH.v>=8.15){CO2_Flow.sp=25;Air_Flow.sp=1.975}  
if(pH.v>=8.20){CO2_Flow.sp=30;Air_Flow.sp=1.970}  
if(pH.v>=8.25){CO2_Flow.sp=35;Air_Flow.sp=1.965}  
if(pH.v>=8.30){CO2_Flow.sp=40;Air_Flow.sp=1.960}
```

```
if seq_time > time(2:00){seq=1}
```

A.1.4 Flachgerinnereaktor

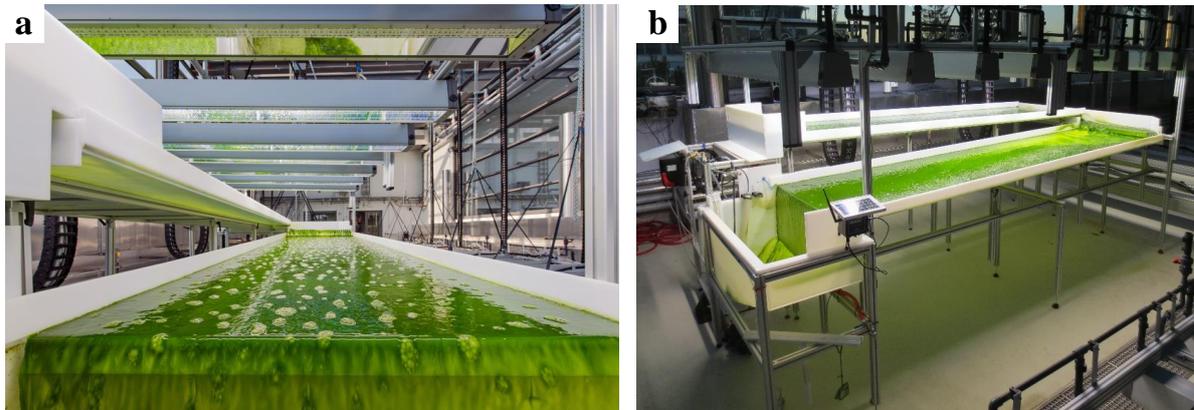


Abbildung A.6: Fotografische Darstellung eines Flachgerinnereaktors im Betrieb mit LED-Anlage über den Reaktoren. **a** - Vorderansicht des FGR vom Sammelbecken aus, **b** - Seitenansicht des FGR mit dem Gerinne 2 im Vordergrund.

Tabelle A.4: Geräte für die Satzprozesse und Vorkulturherstellung in Flachgerinnereaktoren.

<i>Gerät/Bauteil</i>	<i>Bezeichnung</i>	<i>Hersteller</i>
Aluminium-Gestell	-	Alváris, Suhl
Durchflussmesser	MIK-5NA65AL343	Kobold Messring GmbH, Hofheim
Frequenzumrichter	Movitrac LTE-B	SEW-Eurodrive, Bruchsal
Füllstandssensor	LFFS 034	Baumer GmbH, Schweiz
LED-Beleuchtung	-	Futureled, Berlin
Magnetkreislumpen:		
Satzprozess	BGR 4 RM-PP-VGKKK-18/240-60(45S)-1, 1/3-IE2	Sondermann, Köln
Vorkultur	MKPG3PPE/40-25-055	Ventaix GmbH, Monschau
PE-HD-Bauteile	Becken und Gerinne	Rauch, Taufkirchen
Spektrometer	BLUE-Wave	StellarNet Inc., USA
Umlaufkühler PBR	DK1800	Wutke, Schutterwald
Umlaufkühler LED	DK2700	Wutke, Schutterwald

A.2 Allgemeine Geräte

Nachfolgend sind allgemein genutzte Geräte (am Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik (BVT) sowie im Algentechnikum) aufgelistet.

Tabelle A.5: Auflistung der allgemeinen Geräte am Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik und im Algentechnikum.

<i>Gerät</i>	<i>Bezeichnung</i>	<i>Hersteller</i>
BVT		
Analysenwaage	New Classic MS104S	Mettler Toledo, USA
Autoklav	Varioklav 500 E	H+P Labortechnik, Oberschleißheim
Lyophilie	Alpha 1-2 LD plus	Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen, Osterode am Harz
Membran-Vakuumpumpe	LABOPORT® N 938.50 KN18	KNF Group International, Freiburg
MTP-Photometer	Infinite 200 PRO	Tecan, Schweiz
pH-Meter	HandyLab 100	Schott (SI Analytics), Weilheim
Spektralphotometer	Genesys 10S UV-Vis	Thermo Fisher Scientific, USA
Spektroradiometer	BLUE-Wave UVNb-50	StellarNet, USA
Standzentrifuge	ROTIXA 50 RS	Hettich Zentrifugen, Tuttlingen
Thermomixer	basic	CellMedia, Elsteraue
Thermoshaker für MTP	DTS-2	neoLab, Heidelberg
Tischzentrifuge	Espresso	Thermo Fisher Scientific, USA
Tischzentrifuge	Mikro 220	Hettich Zentrifugen, Tuttlingen
Tischzentrifuge	mySPIN 12	Thermo Fisher Scientific, USA
Transferpipetten	20 µL bis 10 mL	Brand, Wertheim
Trockenschrank	UN260	Memmert, Schwabach
Vortexmischer	Vortex-Genie 2, G560 E	Scientific Industries Inc., USA
Algentechnikum		
Analysenwaage	New Classic MS104S	Mettler Toledo, USA
Membran-Vakuumpumpe	LABOPORT® N 938.50 KN18	KNF Group International, Freiburg
Mikroskop	Eclipse E200	Nikon, Düsseldorf
Spektralphotometer	Genesys 10S UV-Vis	Thermo Fisher Scientific, USA
Spektroradiometer	Flame-T	Ocean Optics Inc., USA
Tischzentrifuge	Espresso	Thermo Fisher Scientific, USA
Tischzentrifuge	5810 R	Eppendorf, Hamburg
Transferpipetten	20 µL bis 10 mL	Brand, Wertheim
Trockenschrank	UF450	Memmert, Schwabach
Vortexmischer	Vortex-Genie 2, G560 E	Scientific Industries Inc., USA

A.3 Allgemeine Materialien

Nachfolgend sind allgemein genutzte Materialien (am Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik (BVT) sowie im Algentechnikum) aufgelistet.

Tabelle A.6: Auflistung der in dieser Arbeit verwendeten Materialien.

<i>Gerät</i>	<i>Hersteller</i>	<i>Artikelnummer</i>
Allzweck-Aluschalen	Carl Roth	PP65.1
Büchner-Trichter	Haldenwanger	-
Einmalspritzen Omnifix (Luer-Lock)	Carl Roth	C542.1
Glas-Feingewindflaschen 10 mL	neoLab	7-0840
Magnetische Schraubverschlüsse mit Septen	neoLab	7-0849
Mikroeinsätze, konisch (15 mm Spitze)	neoLab	7-0632
Minisart Plus 0,2 µm Spritzenfilter	Sigma Aldrich	17823K
Nitrite/Nitrate Colorimetric Test	Roche	11746081001
Phosphate Colorimetric Kit	Sigma Aldrich	MAK030-1KT
Präzisions-Glasküvette, Halb-Mikro	Carl Roth	AHA5.1
Quantofix-Teststreifen:		
Gesamteisen 1000	Macherey-Nagel	91330
Nitrat/Nitrit	Macherey-Nagel	91313
Phosphat	Macherey-Nagel	91320
Sulfat	Macherey-Nagel	91329
Saugflasche 100 mL	Schott	-
Whatman Glasfaser-Mikrofilter Ø 25 mm	VWR	513-5225

A.4 Lösungen

Tabelle A.7: Zusammensetzung des Phosphatpuffers (PBS, *phosphate buffered saline*) für die Verdünnung der Proben für die Messung der optischen Dichte.

<i>Komponente</i>	<i>Konzentration, g·L⁻¹</i>
Kaliumchlorid	0,20
Kaliumdihydrogenphosphat	0,24
Natriumchlorid	8,00
Di-Natriumhydrogenphosphat	1,44

A.5 Chemikalien

Nachfolgend sind alle (am Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik (BVT) sowie im Algentechnikum) verwendeten Chemikalien aufgelistet.

Tabelle A.8: Auflistung der in dieser Arbeit verwendeten Chemikalien.

<i>Chemikalie</i>	<i>Summenformel</i>	<i>Hersteller</i>
Aceton Rotipuran >99,8 %	C_3H_6O	Carl Roth
Ammoniumheptamolybdat-Tetrahydrat	$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4 H_2O$	Merck
Antischaum	Antifoam 204	Sigma Aldrich
Borsäure	H_3BO_3	Merck
Calciumchlorid-Dihydrat	$CaCl_2 \cdot 2 H_2O$	Merck
β -Carotin	$C_{40}H_{56}$	Sigma Aldrich
Chlorophyll a	$C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$	Sigma-Aldrich
2,2-Dimethoxypropan	$C_5H_{12}O_2$	Sigma Aldrich
Eisen(III)-chlorid-Hexahydrat	$FeCl_3 \cdot 6 H_2O$	Merck
Glyceryl tridodecanoat	$C_{39}H_{74}O_6$	Sigma Aldrich
n-Hexan	C_6H_{14}	Sigma Aldrich
Kaliumchlorid	KCl	Carl Roth
Kaliumdihydrogenphosphat	KH_2PO_4	Merck
Kaliumnitrat	KNO_3	Merck
Kupferchlorid-Dihydrat	$CuCl_2 \cdot 2 H_2O$	Merck
Magnesiumsulfat-Heptahydrat	$MgSO_4 \cdot 7 H_2O$	Carl Roth
Mangan(II)-Chlorid	$MnCl_2$	VWR-International
Methanol anhydrous, 99,8 %	CH_3OH	Sigma Aldrich
Natriumchlorid	NaCl	Food Grade (DM)
Di-Natrium-Ethylendiamintetraacetat	Na_2EDTA	Carl Roth
Di-Natriumhydrogenphosphat	Na_2HPO_4	Carl Roth
Natriumhydroxid	NaOH	Carl Roth
Natriummethoxid	CH_3ONa	Sigma Aldrich
Phosphorsäure	H_3PO_4	Carl Roth
Salzsäure 37 %	HCl	Carl Roth
Toluol	$C_6H_5CH_3$	Sigma Aldrich
Xantophyll	$C_{40}H_{56}O_2$	Sigma Aldrich
Zeaxanthin	$C_{40}H_{56}O_2$	Sigma Aldrich
Zinkchlorid	$ZnCl_2$	Merck

A.6 Algentechnikum



Abbildung A.7: Außenansicht des Algentechnikums mit den Hallen 1-3 zur Klimasimulation (a), den Laborräumen (b) sowie der Klimaanlage (c).

Für die Entwicklung wirtschaftlicher Prozesse zur Herstellung erneuerbarer Treibstoffe mit Mikroalgen, wurde auf dem *Ludwig-Bölkow-Campus* auf dem Gelände der Airbus Group in Ottobrunn ein wissenschaftliches Versuchsgebäude – das Algentechnikum (Abbildung A.7) – errichtet. Dieses Gebäude wurde maßgeblich durch den Freistaat Bayern gefördert und durch die Technische Universität München geleitet. Um Mikroalgenprozesse in offenen Photobioreaktoren unter verschiedensten simulierten Klimabedingungen durchführen zu können, wurde das Algentechnikum mit einer aufwendigen Klima-, Licht- und Wassertechnik ausgestattet. Das Gebäude bestand aus einem vorderen Teil (a) mit drei, durch Glaswände voneinander getrennte Versuchshallen, von denen zwei (Halle 1 & 3) klimatisiert werden konnten sowie dem Laborbereich (b) und der Klimaanlage (c). In den beiden klimatisierten Hallen konnte nahezu jedes gewünschte Klima, mit realistischer Bestrahlung, Temperatur sowie Luftfeuchtigkeit simuliert werden. Die Bestrahlung erfolgte mittels eigens für das Algentechnikum konzipierten LED-Platinen (Abbildung A.9), welche in der Lage waren ein realistisches Sonnenlichtspektrum (ASTM G-137-Spektrum) nachzubilden. Die spektrale Leistungsverteilung liegt dabei zwischen 400 und 800 nm (Abbildung A.8), wobei $0\text{-}392\text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$ erreicht werden konnten. Die LED-Platinen bestanden aus acht verschiedenen Leuchtdioden, mehrere Platinen wurden zu einer LED-Leuchte zusammengefasst. Vier LED-Leuchten bildeten wiederum ein LED-Segment, welches eine Fläche von $2,2 \cdot 2\text{ m}$ abdeckte. Für die Satzprozesse in Flachgerinnereaktoren waren zwei Segmente notwendig, während bei den Vorkultur-Reaktoren ein Segment ausreichend war. Die erforderliche Bestrahlungsstärke wurde zunächst primär durch das, durch das Glasdach dringende, Sonnenlicht erreicht, lediglich der fehlende (spektrale) Anteil wurde additiv durch die LED-Anlage ausgeglichen. Weiterhin stand im Algentechnikum

ein Salzsilo mit Soleerzeuger zur Verfügung, um die kontinuierliche Kultivierung halotoleranter Mikroalgenpezies zu ermöglichen.

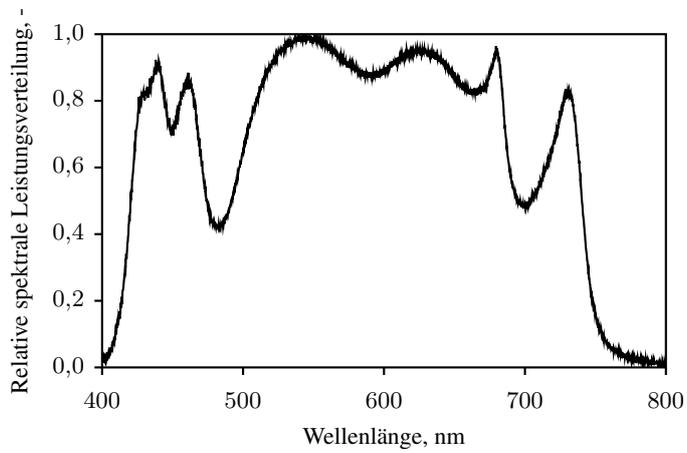


Abbildung A.8: Darstellung der spektralen Leistungsverteilung der LED-Bestrahlungseinheit im Pilotmaßstab (Flachgerinnereaktoren).



Abbildung A.9: Fotografische Darstellung einer LED-Platine im Algentechnikum von unten mit acht unterschiedlichen Leuchtdioden.