

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik

**Reaktionskinetik des lichtabhängigen Wachstums
von *Scenedesmus spec.* in
Flachplattenphotobioreaktoren**

Anja Pia Koller

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

Doktors der Naturwissenschaften
genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr.-Ing. Harald Klein
Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr.-Ing. Dirk Weuster-Botz
2. Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Thomas Brück

Die Dissertation wurde am 25.10.2016 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Maschinenwesen am 29.01.2017
angenommen.

Wege entstehen dadurch, dass man sie geht.

nach Antonio Machado
(1875–1939)
spanischer Lyriker

Danksagung

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 denjenigen bedanken, die mich in dieser herausfordernden, aber auch ungemein lohnenden Phase meines akademischen Lebensabschnitts begleitet und unterstützt haben.

An erster Stelle möchte ich meinen Doktorvater Herrn Prof. Dr.-Ing. Dirk Weuster-Botz nennen, dessen hervorragende Unterstützung maßgeblich zum Gelingen dieser Dissertation beigetragen hat. Konstruktive Kritiken und Ideen anstoßende Gespräche haben mir stets eine Weisung in die richtige Richtung gegeben ohne die Gestaltungsfreiheit meiner Tätigkeiten einzuschränken. Allen Arbeiten wurde zu jeder Zeit vollstes Vertrauen entgegengebracht, was die Themenbearbeitung in gewisser Weise forderte, gleichzeitig aber auch zweifellos die Entwicklung der Eigenständigkeit und die persönliche Entfaltung lehrreich förderte. Sowohl den akademischen Gedankenaustausch als auch motivierende und hilfestellende Worte habe ich jederzeit als positiv und vorwärtsbringend empfunden, wodurch ich mit Spaß und Freude durch das spannende Thema gegangen bin. Vielen Dank dafür.

Beim Coreferenten Prof. Dr. rer. nat. Thomas Brück (Professur für Industrielle Biokatalyse) und bei dem Prüfungsvorsitzenden Prof. Dr.-Ing. Harald Klein (Professur für Anlagen- und Prozesstechnik) bedanke ich mich für die Übernahme der jeweiligen Aufgabe.

Den Projektpartnern Frau Priv.-Doz. Dr. Sabine Mundt und Herrn Dipl.-Pharm. Christian Schulze (Institut für Pharmazie der Ernst-Moritz-Arndt Universität Greifswald) danke ich für die Vorselektion und Bereitstellung der beiden *Scenedesmus* Stämme.

Herrn Dr. Dominik Maslak und Herrn M.Sc. Markus Weise bin ich für die tatkräftige Unterstützung bei jeglichen Arbeiten am Forschungszentrum für Weiße Biotechnologie überaus dankbar.

Auch bei meiner Mentorin, Frau Dr. Kathrin Castiglione, geb. Hölsch, möchte ich mich recht herzlich für ihre Hilfestellung bedanken. Sowohl auf fachlicher als auch auf privater Ebene hatte sie stets ein offenes Ohr für mich und mir mit wertvollen Ratschlägen bei mir wichtigen Entscheidungen geholfen. Vielen Dank.

Natürlich dürfen an dieser Stelle meine Kolleginnen und Kollegen vom Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik nicht unerwähnt bleiben. Vielen lieben Dank für das ausgezeichnete Arbeitsklima und die entspannte Atmosphäre am Lehrstuhl. Ich habe mich zu jeder Zeit gemeinschaftlich willkommen und daher wohl aufgehoben gefühlt.

Mein besonderer Dank gilt dabei dem „Algenteam“ Andi, Timm und Tina sowie Hannes für die helfenden und auf jeden Fall witzigen und unterhaltsamen Diskussionen rund um das Thema Algen. Euch ein überragendes Dankeschön für den starken und stabilisierenden Zusammenhalt im Team sowie die tollen Freundschaften, die daraus entstanden sind.

Einen maßgeblichen Beitrag für das Gelingen dieser Arbeit haben auch die von mir betreuten Studenten Andreas, Burcak, Daniel, Dominik, Felix, Lara, Marc, Nikolas, Regina, Tatjana und Verena geleistet. Vielen Dank für Eure Unterstützung.

Last but not least möchte ich mich bei meinen Freunden und meiner Familie bedanken. Johannes, Eva, Conny, Sarah und Hannes, vielen Dank, dass ihr wirklich immer für mich da seid. Dieses kostbare Glück werde ich mir sorgfältig bewahren. Genauso wie das Vertrauen und die Geborgenheit, die mir meine Familie schenkt. Ein herzlichstes Vergelt's Gott dafür, dass ihr mich mit so viel Geduld in meinem Tun unterstützt, freizügig begleitend und doch auffangend im richtigen Moment. –

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
2	Problemstellung und Zielsetzung	2
3	Theoretische Grundlagen.....	6
3.1	Mikroalgen.....	6
3.1.1	Allgemeine Eigenschaften und Merkmale von Mikroalgen.....	6
3.1.2	Klassifizierung von Mikroalgen	7
3.1.3	<i>Scenedesmus spec.</i>	8
3.1.4	Reaktorsysteme zur Produktion von Mikroalgen	9
3.2	Phototropher Metabolismus	11
3.2.1	Chloroplasten, der Ort der Photosynthese	11
3.2.2	Lichtreaktion	12
3.2.3	Dunkelreaktion	17
3.2.4	Photorespiration.....	18
3.2.5	Photoakklimation und Photoinhibition.....	19
3.3	Wachstum von Mikroalgen.....	21
3.3.1	Wachstumsphasen im Satzverfahren.....	21
3.3.2	Formalkinetische Ansätze des phototrophen Wachstums	22
3.3.3	Betrieb von Bioreaktoren	24
3.3.4	Einflussfaktoren auf das Mikroalgenwachstum	27
3.4	Modellierung des phototrophen Wachstums.....	34
3.4.1	Definition von Licht	34
3.4.2	Lichtabschwächung im Flachplattenphotobioreaktor.....	35
3.4.3	Mittlere integrale Photonenflussdichte im Flachplattenphotobioreaktor	38
3.4.4	Kinetische Wachstumsmodelle und Modellvergleich	39
4	Material und Methoden	40
4.1	Mikroorganismen und Stammhaltung.....	40
4.1.1	<i>Scenedesmus ovalternus</i> SAG 52.80	40

4.1.2	<i>Scenedesmus obtusiusculus</i>	40
4.1.3	Stammhaltung.....	41
4.2	Kulturmedium	41
4.3	Kultivierung von Mikroalgen.....	41
4.3.1	Vorkulturherstellung in Blasensäulenreaktoren	42
4.3.2	Satzprozess im Flachplattenphotobioreaktor im Labormaßstab.....	43
4.3.3	Vorkulturherstellung im offenen Photobioreaktor	46
4.3.4	Satzprozess im Flachplattenphotobioreaktor im Pilotmaßstab.....	48
4.4	Analytische Methoden	54
4.4.1	Nachweis von Nährstoffen	54
4.4.2	Bestimmung der optischen Dichte	55
4.4.3	Bestimmung der Biotrockenmassekonzentration	55
4.4.4	Bestimmung der Raum-Zeit-Ausbeute.....	56
4.4.5	Probenaufbereitung zur Quantifizierung intrazellulärer Metabolite	56
4.4.6	Bestimmung der Pigmentzusammensetzung.....	57
4.5	Methoden zur Modellierung des lichtabhängigen Wachstums	58
4.5.1	Lichtmessung am Flachplattenphotobioreaktor	58
4.5.2	Lichtmessung zur Charakterisierung des Absorptionsverhaltens von Mikroalgen	59
4.5.3	Berechnung mittlerer integraler Photonenflussdichten	60
5	Wachstum von <i>Scenedesmus obtusiusculus</i> im Flachplattenphotobioreaktor	63
5.1	Reaktionstechnische Charakterisierung von <i>S. obtusiusculus</i>	63
5.1.1	pH-Abhängigkeit des Wachstums von <i>S. obtusiusculus</i>	63
5.1.2	Temperaturabhängigkeit des Wachstums von <i>S. obtusiusculus</i>	66
5.1.3	Lichtabhängigkeit des Wachstums von <i>S. obtusiusculus</i>	69
5.2	Reaktionskinetik des lichtabhängigen Wachstums von <i>Scenedesmus obtusiusculus</i>	75
5.2.1	Lichttransfer im Flachplattenphotobioreaktor	75
5.2.2	Einfluss der Zellzusammensetzung auf das Lichtabsorptionsverhalten von <i>Scenedesmus obtusiusculus</i>	80
5.2.3	Bestimmung von mittleren integralen Photonenflussdichten.....	84

5.2.4	Identifizierung von kinetischen Parametern und Modellvergleich	87
5.2.5	Gestaltung und Anwendung eines Lichtprofils	90
6	Wachstum von <i>Scenedesmus ovalternus</i> SAG 52.80 im Flachplattenphotobioreaktor	100
6.1	Reaktionstechnische Charakterisierung von <i>S. ovalternus</i>	100
6.1.1	pH-Abhängigkeit des Wachstums von <i>S. ovalternus</i>	100
6.1.2	Temperaturabhängigkeit des Wachstums von <i>S. ovalternus</i>	103
6.1.3	Lichtabhängigkeit des Wachstums von <i>S. ovalternus</i>	105
6.1.4	Vergleich mit <i>Scenedesmus obtusiusculus</i>	111
6.2	Reaktionskinetik des lichtabhängigen Wachstums von <i>Scenedesmus ovalternus</i>	113
6.2.1	Bestimmung von mittleren integralen Photonenflussdichten.....	113
6.2.2	Identifizierung von kinetischen Parametern und Modellvergleich	114
6.2.3	Anwendung eines Lichtprofils	116
6.2.4	Diskussion und Vergleich mit <i>Scenedesmus obtusiusculus</i>	118
7	Maßstabsvergrößerung in den Pilotmaßstab	120
7.1	<i>Scenedesmus obtusiusculus</i>	121
7.1.1	Untersuchungen zur Skalierbarkeit eines Laborprozesses (0,09 m ²) in den Pilotmaßstab (14 m ²)	121
7.1.2	Zulaufverfahren im Pilotmaßstab (14 m ²).....	125
7.2	<i>Scenedesmus ovalternus</i> SAG 52.80	127
7.2.1	Untersuchung der Skalierbarkeit eines Laborprozesses (0,09 m ²) in den Pilotmaßstab (14 m ²)	127
7.2.2	Zulaufverfahren im Pilotmaßstab (14 m ²).....	130
7.3	Vergleich der Skalierbarkeit mit <i>S. obtusiusculus</i> und <i>S. ovalternus</i>	133
8	Zusammenfassung	135
9	Ausblick	140
	Literaturverzeichnis.....	141
	Symbol- und Abkürzungsverzeichnis.....	155
	Anhang	158
A.1	Verwendete Chemikalien und allgemeine Materialien und Geräte.....	158

A.2	Medien und Lösungen	161
A.3	Kultivierungssysteme	162
A.3.1	Blasensäulenreaktor	162
A.3.2	Flachplattenphotobioreaktor im Labormaßstab (Labfors 5 LUX).....	163
A.3.3	Flaches Schräggerinne FSG 1 (offener Photobioreaktor).....	165
A.3.4	Flachplattenphotobioreaktor im Pilotmaßstab (300L).....	166
A.4	Algentechnikum	167
A.5	Reaktionskinetik des lichtabhängigen Wachstums.....	168
A.6	Maßstabsvergrößerung in den Pilotmaßstab (14 m ² , 300 L)	171

1 Einleitung

Seit etwa 200 Jahren beschäftigt die Wissenschaft das Phänomen des Klimawandels. Jean Baptiste Fourier dokumentierte schon 1824 wie sich das Klima durch Spurengase in der Atmosphäre erwärmt. Dieser Anstieg ist hauptsächlich auf eine Zunahme des CO₂-Gehaltes in der Atmosphäre zurückzuführen, wie der Physiker John Tyndall und der schwedische Nobelpreisträger Svante Arrhenius Mitte bis Ende des 19. Jahrhunderts zeigten (Rahmstorf und Schellnhuber 2007). Auch aktuell werden – bedingt durch eine ständig wachsende Bevölkerung – fossile Ressourcen nicht nur knapp, sondern durch deren Verbrennung und Umsetzung vermehrt CO₂ in die Atmosphäre freigesetzt. Dies stellt eine der wesentlichen Motivationen dar, neue und nachhaltige Ressourcen zu konstituieren, welche vollständig energetisch und stofflich verwertet werden können.

Ein vielversprechender Ansatz liegt in der Nutzung von Mikroalgen, welche in der Lage sind, durch Photosynthese CO₂ aus der Umgebung zu fixieren (Chiu *et al.* 2008; Karube *et al.* 1992). Die Idee der Massenproduktion von Mikroalgen entwickelte sich in den frühen 1940er Jahren. Anfang der 50er Jahre intensivierten sich die Arbeiten, wobei Algenbiomasse zunächst für Ernährungszwecke eingesetzt wurde. Sie wurde als Proteinquelle verwendet und diente als Rohstoff für Anwendungen in der chemische Industrie (Burlew 1953). Gerade in der heutigen Zeit gewinnt zunehmend die Herstellung von Kraftstoffen aus erneuerbaren Ressourcen mehr und mehr an Bedeutung. Speziell im Hinblick auf die Luftfahrtindustrie kann für das Jahr 2020 von einem Kraftstoffbedarf von insgesamt 400 Millionen Tonnen ausgegangen werden. Daneben verstärken steigende Rohölpreise und strenger werdende Umweltgesetzgebungen die Bestrebungen, alternative Strategien für die Biokraftstoffherstellung zu entwickeln (Greenwell *et al.* 2010; Li *et al.* 2008). Schon 1953 war der Chemiker Burlew davon überzeugt, dass Mikroalgen als Quelle zur Energiegewinnung eingesetzt werden können. Mikroalgen sind in der Lage, hocheffizient Sonnenlicht und Kohlenstoffdioxid zur Produktion von Biomasse zu nutzen. Sie stehen nicht in Konkurrenz zur Nahrungsmittelherstellung und benötigen darüber hinaus geringere Anbauflächen bei höherer Produktivität im Vergleich zu herkömmlichen Nutzpflanzen (Hannon *et al.* 2010). Ein weiterer Vorteil liegt in der Möglichkeit, Mikroalgen das ganze Jahr über zu kultivieren, wobei nur geringe Anforderungen an das Land bestehen und Brackwasser für die Biomassebildung verwendet werden kann (Quinn *et al.* 2011). Ihre Verdoppelungszeit von sechs bis zwölf Stunden lässt eine schnelle Biomassegewinnung zu, wobei wertvolle Nebenprodukte entstehen, welche industriell genutzt werden können (Brennan und Owende 2010). Diese Vorzüge machen die Mikroalgenkultivierung zu einem wichtigen Werkzeug für nachhaltige Anwendungen. Grundvoraussetzung ist dabei stets eine ausreichende Verfügbarkeit von Algenbiomasse. In diesem Zusammenhang manifestiert sich die aufkommende Notwendigkeit definierter Produktionsprozesse für eine effiziente und industriell relevante Herstellung von Algenbiomasse.

2 Problemstellung und Zielsetzung

Licht und Kohlenstoffdioxid sind in der Atmosphäre unbegrenzt verfügbar. Dies hebt den Photosynthese-betreibenden Organismus *Mikroalge* als eine interessante primäre Biomassequelle hervor (Ho *et al.* 2010; Morais und Vieira Costa 2007; Yoo *et al.* 2010; Yang und Gao 2003). Potentielle Anwendungen sind in der kosmetischen, der chemischen oder der Nahrungsmittelindustrie (Kim 2015) zu finden. Darüber hinaus können Mikroalgen für energetische Zwecke eingesetzt werden.

Ein Beispiel für einen vielversprechenden Produktionsstamm ist die Grünalgenattung *Scenedesmus* (Qin *et al.* 2008). *Scenedesmus spec.* werden im Allgemeinen als schnell wachsende und robuste Mikroalgen charakterisiert (Sánchez *et al.* 2008; Orosa *et al.* 2000). Unter Mangelbedingungen ist der phototrophe Organismus in der Lage, intrazellulär Produkte wie Lipide und Kohlenhydrate oder Sekundärmetabolite wie Karotinoide zu synthetisieren (Allard und Templier 2000; Ho *et al.* 2010; Kim *et al.* 2007). Dies macht den Mikroorganismus für vielfältige industrielle Applikationen attraktiv. So weisen auch *Scenedesmus obtusiusculus* (Neuisolat aus der Ostsee) und *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 unter einer Vielzahl an *Scenedesmus spec.* ein interessantes intrazelluläres Produktspektrum auf (Schulze *et al.* 2016). Darüber hinaus sind die beiden Mikroalgenstämme allerdings weitestgehend unerforscht. Aus diesem Grund wurden die beiden Grünalgenpezies für eine detaillierte reaktionstechnische Charakterisierung im Rahmen dieser Forschungsarbeit ausgewählt.

Herstellungsprozesse mit Mikroalgen werden oftmals in Blasensäulenreaktoren mit integriertem Umlauf durchgeführt (Bechet *et al.* 2013; Zhang *et al.* 2015). Der Leistungseintrag erfolgt hierbei durch Begasung des Reaktionsraumes vom Boden des Reaktors (*gas-lift*-Reaktoren). Eine spezielle Form dieses Reaktortyps ist der Flachplattenphotobioreaktor. Der Reaktionsraum wird hier von zwei lichtdurchlässigen Platten (meist Glas) mit definiertem Abstand begrenzt. Da Flachplattenphotobioreaktoren vielfach für Mikroalgenproduktionsprozesse sowohl im industriell relevanten als auch im Labormaßstab Anwendung finden (Bergmann *et al.* 2013; Breuer *et al.* 2013), wurde dieser Reaktortyp für die reaktionstechnische Charakterisierung von *Scenedesmus obtusiusculus* und *Scenedesmus ovalternus* SAG 51.80 gewählt. Eine künstliche LED-Beleuchtung gestattet es hierbei, den Lichteintrag definiert zu verändern und somit Reaktionsbedingungen für eine geeignete Prozessführung zu identifizieren.

Eine Herausforderung bei der Nutzung von Mikroalgen ist, dass die Produkte in der Regel zellintern vorliegen (Krienitz und Wirth 2006; Qin *et al.* 2008). Für die Herstellung von Produkten muss daher ein geeignetes Verfahren zur Massenproduktion der nutzbaren Mikroalgenbiomasse vorliegen, um

die höchste Biomassebildung zu erzielen. Die Beschreibung der Lichtkinetik stellt dabei einen der Hauptaspekte phototropher Produktionsprozesse dar (Aiba 1982; Andrews 1968).

Um die Reaktionskinetik des lichtabhängigen Zellwachstums in Flachplattenphotobioreaktoren untersuchen zu können, müssen zunächst geeignete Reaktionsbedingungen (pH, Temperatur, Licht) identifiziert werden, die ein schnelles Zellwachstum im Satzverfahren im Labormaßstab ermöglichen. Da diese für jeden Mikroalgenstamm individuell und für *Scenedesmus obtusiusculus* und *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 noch nicht beschrieben sind, ist die reaktionstechnische Untersuchung des Wachstums der ausgewählten *Scenedesmus* spec. im Labormaßstab (2 L) sowie die Identifikation dafür geeigneter Reaktionsbedingungen ein Ziel dieser Arbeit.

Ein häufig in der Literatur beschriebenes Problem stellt dabei die Lichtverfügbarkeit im Reaktionsraum dar (Acién Fernández *et al.* 1997; Cornet *et al.* 1994). Diese ist hauptsächlich von der Reaktorschichtdicke (Lichteindringtiefe), den optischen Eigenschaften der Mikroalgen (Lichtabsorption und -streuung) sowie der Zelldichte und den Strömungsverhältnissen im Reaktor (gegenseitige Beschattung und Durchmischung) abhängig (Cornet *et al.* 1992b; Li *et al.* 2015; Soeder 1971). Licht ist daher in vielen Massenkultivierungssystemen für Mikroalgen nicht homogen im Reaktor verteilt, weshalb sich die Lichtabschwächung im Reaktor nur schwer vorhersagen lässt (Choi *et al.* 2003; Soeder 1971; Yun und Park 2003). Mehrere Studien beschäftigten sich deswegen mit der mathematischen Beschreibung der Lichtabschwächung in Photobioreaktoren (Cornet *et al.* 1992a; Lee *et al.* 1987; Rabe und Benoit 1962; Yun und Park 2003). Ziel dieser Arbeit ist es, aus diesen zur Verfügung stehenden Modellansätzen ein geeignetes Modell zur Beschreibung der speziesspezifischen Lichtabschwächung im Flachplattenphotobioreaktor für die gewählten *Scenedesmus* spec. zu identifizieren.

Ausgehend von dem gewählten Modell ist eine weitere Zielsetzung, mittlere integrale Photonenflussdichten für die Analyse der lichtabhängigen Reaktionskinetik abzuschätzen. Diese können verwendet werden, um den Zusammenhang zwischen dem phototrophen Metabolismus, oft in Form der zellspezifischen Wachstumsrate μ , und der Lichtverfügbarkeit im Reaktor modellgestützt zu analysieren (Lichtantwortkurve). Auch hierfür stehen verschiedene kinetische Wachstumsmodelle für eine mathematische Beschreibung dieses Zusammenhangs zur Verfügung (Andrews 1968; Camacho Rubio *et al.* 2003; Steele 1965). Ziel dieser Arbeit ist es, daraus ein geeignetes kinetisches Modell zu identifizieren, welches das Wachstum von *Scenedesmus obtusiusculus* und *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 am besten beschreiben kann. Im Wesentlichen sollen hierbei die kinetischen Parameter μ_{max} (maximale Wachstumsrate), K_I (Lichtinhibierungskonstante) und K_S (Lichtsättigungskonstante) identifiziert werden. Anhand derer lässt sich das Zellwachstum der gewählten *Scenedesmus* spec. eindeutig charakterisieren und der Einfluss von Licht auf das Mikroalgenwachstum aufzeigen.

Eine Möglichkeit, die Reaktionskinetik anschließend zu nutzen, ist die Anwendung eines Lichtprofils, bei dem die Eingangsphotonenflussdichte mit steigender Biomassekonzentration im Reaktor erhöht wird. Damit kann der Einfluss einer dynamischen Lichteinstrahlung im Vergleich zu einer konstanten Lichteinstrahlung auf die Biomasseherstellung im Flachplattenphotobioreaktor untersucht werden.

Ein weiterer Aspekt der Nutzbarmachung von Algenbiomasse ist die Übertragung schneller Biomasseproduktionsprozesse ausgehend dem Labormaßstab in einen technisch relevanten Maßstab. Dies ist für *Scenedesmus obtusiusculus* und *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 noch nicht beschrieben. Ausgehend von den während der reaktionstechnischen Charakterisierung der gewählten *Scenedesmus* spec. identifizierten Prozessbedingungen für eine schnelle Biomasseproduktion im Labormaßstab ist die Untersuchung der Skalierung der Prozesse in den Pilotmaßstab (300 L) daher eine weitere Zielsetzung dieser Arbeit. Ein Vergleich der Prozesse unter gleichen Reaktionsbedingungen im Labor- und Pilotmaßstab gestattet es, die Durchführbarkeit der Maßstabsvergrößerung zu untersuchen und die Skalierbarkeit abschließend zu bewerten. Ein wesentlicher Aspekt hierbei ist die Biomasseproduktivität, welche Aufschluss darüber geben kann, ob mit den gewählten *Scenedesmus* spec. eine Biomasseproduktion im Pilotmaßstab sinnvoll ist.

Ausgehend von der beschriebenen Problemstellung und Zielsetzung sollen daher folgende Fragestellungen bearbeitet werden:

- Reaktionstechnische Charakterisierung zweier *Scenedesmus* spec. zur Identifikation geeigneter Prozessbedingungen für die Biomasseproduktion im Labormaßstab
 - Charakterisierung des pH-abhängigen Wachstums
 - Charakterisierung des Temperaturabhängigen Wachstums
 - Charakterisierung des Lichtabhängigen Wachstums
- Modell-basierte Beschreibung des Lichttransfers im Flachplattenphotobioreaktor
 - Auswahl möglicher Lichtabschwächungsmodelle
 - Abschätzung mittlerer integraler Photonflussdichten im Bereich des exponentiellen Wachstums unter Berücksichtigung der Reaktorschichtdicke sowie der Biomassekonzentration im Reaktor
- Detaillierte Untersuchung der Reaktionskinetik des lichtabhängigen Wachstums zweier *Scenedesmus* spec. im Flachplattenphotobioreaktor
 - Modellierung des lichtabhängigen Wachstums unter Berücksichtigung photoinhibitorischer Einflüsse

-
- Modellgestützte Bestimmung und Interpretation von kinetischen Parametern
 - Anwendung eines Lichtprofils in Abhängigkeit der Biomassekonzentration im Reaktor
-
- Übertragung eines Laborprozesses zur Massenproduktion von Algenbiomasse mit verschiedenen *Scenedesmus spec.*
 - Charakterisierung der Maßstabsvergrößerung in den Pilotmaßstab
 - Realisierung eines Biomasseproduktionsprozesses im Pilotmaßstab

3 Theoretische Grundlagen

3.1 Mikroalgen

Algen sind Organismen des Pflanzenreichs, welche keine Wurzeln, Stämme oder Blätter ausdifferenzieren. Sie gehören somit zu den *Thallophyten* und tragen Chlorophyll a als primäres photosynthetisches Pigment (Lee 2008). Neben multizellulären Makroalgen, welche bis zu mehrere Meter lang werden können, existiert eine Vielzahl an ein- oder mehrzelligen Mikroalgen, welche nur wenige Mikrometer groß sind. Im Folgenden werden die grundlegenden Merkmale und Eigenschaften dieser phototrophen Mikroorganismen genauer beschrieben.

3.1.1 Allgemeine Eigenschaften und Merkmale von Mikroalgen

Mikroalgen stellen eine der wichtigsten primären Biomassequellen dar. Die Möglichkeit, sie für kosmetische und chemische Anwendungen oder als Nahrungsmittel einzusetzen, unterstreicht ihr Potential für die kommerzielle Nutzung und macht sie zu einem interessanten Gegenstand der aktuellen Forschung (Kim 2015). Pro Hektar Anbaufläche produzieren Mikroalgen fünfmal mehr Biomasse im Vergleich zu herkömmlichen Nutzpflanzen (Posten und Walter 2012b). Dabei können unfruchtbare Bodenflächen sowie Abwasser oder Brackwasser für ihre Kultivierung verwendet werden. Ihre Eigenschaft, intrazellulär mehr als 50 % Lipide akkumulieren oder andere hochwertige Stoffe produzieren zu können, macht sie zusätzlich für eine energetische oder chemische Nutzung attraktiv.

Mikroalgen kommen hauptsächlich in wässriger Umgebung vor. Sie wachsen sowohl in Süßwasser als auch in Salz- oder Brackwasser. Darüber hinaus können sie in Lebensräumen wie heißen Quellen, trockenen Böden, auf Pflanzen, Felsen oder im Eis überleben (Borowitzka 2007; Lee 2008). Bedingt durch diese hohe Variabilität ist die Biodiversität von Mikroalgen erheblich. Unter den eukaryotischen Gruppen werden etwa 30 taxonomische Klassen unterschieden. Insgesamt wird die Zahl an Algenspezies auf etwa 200.000 geschätzt, wovon bisher weniger als 60.000 beschrieben sind (Posten und Walter 2012a). Ihre stammesgeschichtliche Entwicklung ist im Allgemeinen stark umstritten. Die Theorie über die Entstehung von Plastiden basiert meist auf der Hypothese der primären Endosymbiose, bei der eine Aufnahme einer kokkoiden Bakterienzelle durch eine nicht phototrophe eukaryotische Zelle angenommen wird. Da einige Mikroalgen Plastide mit mehreren Membranen tragen, wird darüber hinaus eine sekundäre Endosymbiose bereits existierender Algenzellen für wahrscheinlich gehalten (Bhattacharya 1997). Bezüglich ihrer Morphologie sind zahlreiche Erscheinungsformen von Mikroalgenzellen beschrieben. Es existieren einzellige oder mehrzellige Spezies, welche ein bis mehrere Flagellen zur Fortbewegung ausgeprägt haben oder keine Motilität aufweisen. Neben nackten und Zellwand tragenden Zellen gibt es eingebettete Zellen, welche von Kieselsäure, proteinösen oder organischen Platten sowie von kalkhaltigen

Schuppen umgeben sind (Berner 1993; Borowitzka 2007). Intrazellulär sind neben einem Zellkern (Eukaryoten) verschiedene Organelle wie Vakuolen, Chloroplasten, Pyrenoide, Golgi-Apparat, Pigmente und andere Ultrastrukturen enthalten. Diese befinden sich im Zytoplasma, welches von einer dünnen Membran umfasst wird. Während des zellulären Reproduktionszyklus nimmt eine Zelle an Größe zu und vervielfacht die Komponenten (DNA, Organelle etc.), welche anschließend auf die Tochterzellen verteilt werden. Diese Phase wird als Interphase bezeichnet. Neben der Interphase durchlaufen eukaryotische Zellen eine zweite Phase, die Mitose, in der die Teilung des Zellkerns erfolgt. In der Regel wird die Zellgröße während des Zellzyklus verdoppelt, bevor sich die Zelle in zwei Tochterzellen teilt (Richmond und Hu 2004). Das Wachstum wird bei Mikroalgen hormonell gesteuert. Die Fortpflanzung kann sowohl vegetativ als auch asexuell (Sporen) oder sexuell (Gameten) stattfinden (Sharma 1986). Im Allgemeinen wird bei Mikroalgen zwischen phototrophem und heterotrophem Wachstum, oder einer Kombination aus beiden Formen (mixotrophes Wachstum) unterschieden. Die meisten Mikroalgen spezialisiert wachsen phototroph und nutzen Licht und Kohlenstoffdioxid für ihre Energiegewinnung. Bei heterotrophen Prozessen wachsen Algenzellen auch im Dunkeln, wobei ihre Energie vollständig aus organischem Kohlenstoff bezogen wird (Alkhamis und Qin 2013; Lee 2001; Perez-Garcia *et al.* 2011).

3.1.2 Klassifizierung von Mikroalgen

Eine Klassifizierung von Mikroalgen kann nach einer Vielzahl verschiedener Merkmale erfolgen. Im Allgemeinen werden Mikroalgen in die zwei grundlegenden Zelltypen Prokaryoten und Eukaryoten gegliedert. Eukaryoten besitzen membrangebundene Organellen wie Plastide, Mitochondrien, Zellkern, Golgi-Apparat und Flagellen, welche in prokaryotischen Zellen fehlen. Eukaryotische Zellen haben darüber hinaus eine sehr heterogene Ausprägung in den Merkmalen. So können verschiedene Eigenschaften wie Beweglichkeit oder Reproduktion sowie der Aufbau der Zellwand stark variieren (Borowitzka 2007). Unterschiede im Lebenszyklus, in der Ultrastruktur oder in der biochemischen Zusammensetzung von Speicherstoffen und anderen Zellbestandteilen werden oft für eine Einteilung in Untergruppen herangezogen. Meist erfolgt eine Unterscheidung aufgrund der Pigmentierung, also der Farbgebung der Alge. Zu den wichtigsten Algengruppen zählen die Eukaryoten Bacillophyta (Diatomeen), Prymnesiophyta/Haptophyta, Eustigmatophyta, Chlorophyta (Grünalgen) sowie die Prokaryoten Cyanophyta (Blaugrünalgen). Die biologischen Eigenschaften der Cyanophyta und Chlorophyta sind stellvertretend für den prokaryotischen und eukaryotischen Mikroalgenzelltyp im Folgenden genauer beschrieben.

Cyanophyta (Blaugrünalgen). Blaugrünalgen sind photoautotrophe Mikroorganismen, welche in unterschiedlichsten Habitaten von Meerwasser über Süßwasser bis hin zu trockenen und felsigen Lebensräumen zu finden sind. Sie zählen zu den prokaryotischen Mikroalgen und werden auch als Cyanobakterien bezeichnet. Dies lässt sich unter anderem auf ihre Zelleigenschaften zurückführen,

welche den charakteristischen Merkmalen gramnegativer Bakterien ähneln. Die Zellwand ist dabei oftmals von einer gelartigen Membran aus Polysacchariden umgeben. Manche Formen enthalten gasgefüllte Vakuolen oder filamentöse Ausprägungen, welche ein Treiben beziehungsweise Gleiten im Wasser ermöglichen. Die Farbgebung von Blaugrünalgen ist auf die Pigmente Phycocyanin und Phycoerithrin zurückzuführen, welche meist das Hauptpigment Chlorophyll a überdecken. Ihre Zellgröße kann bis zu 30 µm betragen, wobei Zellen einzeln oder in Kolonien vorliegen können. Die bei der Photosynthese gewonnene Energie wird überwiegend in Form von α -1,4-glykosidisch verknüpftem Glykogen gespeichert. Eine Reproduktion erfolgt sowohl durch Sprossung als auch durch Zellteilung (Andersen 2005; Lee 2008; Richmond und Hu 2004).

Chlorophyta (Grünalgen). Grünalgen sind phototrophe Mikroorganismen mit einer hohen morphologischen Variabilität. Sie kommen überwiegend in Süßwasserhabitaten vor, wobei auch marine oder terrestrische Lebensräume nicht ausgeschlossen sind. Es existieren etwa 6.000 verschiedene Grünalgenspezies, welche unizellular oder als Kolonie sowie in kokkoider oder filamentöser Form vorliegen können. Grünalgen sind den höheren Pflanzen sehr ähnlich. Sie besitzen Chloroplasten mit gestapelten Thylakoiden, welche die Pigmente Chlorophyll a und b enthalten. Diese sind verantwortlich für die Grünfärbung des Mikroorganismus. Neben den beiden Hauptpigmenten bilden Grünalgen außerhalb der Chloroplasten unter anderem Karotinoide, welche die Zellen vor allem in Stresssituationen orange oder rot färben. Da die Chloroplasten über eine Doppelmembran verfügen, wird eine Aufnahme über direkte Endosymbiose von Cyanobakterien vermutet. Im Gegensatz zu anderen Mikroalgengruppen wird die bei der Photosynthese gewonnene Energie bei Grünalgen nicht im Zytoplasma sondern innerhalb der Chloroplasten in Form von Stärke gespeichert. Diese besteht überwiegend aus den Bestandteilen Amylose und Amylopektin (α -1,4-glykosidisch verknüpft). Im Allgemeinen sind Grünalgen relativ robuste Mikroorganismen. Sie sind von einer Cellulose haltigen Zellwand umgeben, in der oft weitere stabilisierende Strukturen wie Chitin oder Sporopollenin eingelagert sind. Ihre Reproduktion erfolgt meist vegetativ durch Zellteilung (Andersen 2005; AquaFuels 2009; Lee 2008; Richmond und Hu 2004).

3.1.3 *Scenedesmus spec.*

Mikroalgen der Gattung *Scenedesmus* werden der Gruppe der Grünalgen zugeordnet. Es handelt sich dabei um einen einzelligen Organismus mit einer Größe von bis zu 30 µm, welcher als einzelne Zelle oder in Form von Kolonien vorliegen kann. Seine Form ist naviculoid (bootförmig) bis oval und oft mit einem oder mehreren Stacheln versehen (Schiemer 1983). Die Fortpflanzung erfolgt in den meisten Fällen vegetativ. Aber auch eine (a)sexuelle Reproduktion ist möglich wie Cepák und Pribyl (2006) beschreiben. Bei beweglichen *Scenedesmus* Spezies ist die Motilität oftmals durch die Ausbildungen zweier Flagellen gegeben (Buchheim *et al.* 2001). Im Allgemeinen sind *Scenedesmus spec.* schnell wachsende und robuste Mikroalgen (Ho *et al.* 2010; Morais und Vieira

Costa 2007; Yang und Gao 2003; Yoo *et al.* 2010). Viele Spezies haben mesophile Eigenschaften, sind aber auch in extremen Habitaten überlebensfähig und tolerant gegenüber hohen Temperaturen und Bestrahlungsstärken (Sánchez *et al.* 2008; Orosa *et al.* 2000). Auch unter Mangelbedingungen kann der Organismus wachsen, wobei für gewöhnlich eine schnelle metabolische Antwort auf Änderungen der Umgebungsbedingungen zu beobachten ist (Dean *et al.* 2010). Unter solchen limitierten Bedingungen sind die Zellen in der Lage, intrazellulär hohe Mengen an Lipiden und Kohlenhydraten oder an Sekundärmetaboliten wie Karotinoiden zu synthetisieren. Diese Eigenschaft macht *Scenedesmus spec.* für verschiedene industrielle Anwendungen attraktiv. So können Zellen bis zu 73 % (w/w) Lipide akkumulieren (Matsunaga *et al.* 2009). Diese bestehen überwiegend aus den gesättigten C16- und C18-Fettsäuren Palmitin- und Stearinsäure (Allard und Templier 2000; Ho *et al.* 2010; Krienitz und Wirth 2006), welche für die Produktion von Biokraftstoffen verwendet werden können (Ho *et al.* 2010; Jena *et al.* 2012; Prabakaran und Ravindran 2012; Xin *et al.* 2010). Neben der Lipidsynthese ist die Gattung *Scenedesmus* bekannt für die Bildung von sekundären Pflanzenstoffen wie Karotinoide. Karotinoide sind essentielle Pigmente der Photosynthese in den Chloroplasten. Während der Photomorphogenese wird neben anderen Komponenten die Menge an Chlorophyll und Karotinoid erhöht, wodurch ein funktioneller Photosynthese-Apparat entsteht (Lintig *et al.* 1997). Der Karotinoid-Metabolismus wird dabei durch Starklicht oder durch eine Nährstofflimitierung angeregt (Hanagata und Dubinsky 1999). Die dabei entstehenden Hauptkarotinoide sind die Xanthophylle Astaxanthin, Canthaxanthin und Lutein (Brown 1987; Forján Lozano *et al.* 2007; Kim *et al.* 2007; Masojidek *et al.* 1999; Qin *et al.* 2008). Da es sich bei diesem Prozess um einen reversiblen Prozess handelt, der über die Reaktionsbedingungen gesteuert werden kann, ist der Einsatz von *Scenedesmus* für eine vielseitige kommerzielle Anwendung attraktiv (Qin *et al.* 2008). Darüber hinaus beschreiben Ördög *et al.* (2004) eine hohe antimikrobielle Aktivität der Mikroalge, wodurch eine Anwendung auch in diesem Bereich möglich ist (Gupta und Shrivastava 1965).

3.1.4 Reaktorsysteme zur Produktion von Mikroalgen

Für eine industrielle und kommerzielle Anwendung von Mikroalgen ist es unabdingbar, geeignete Produktionssysteme für die Herstellung großer Mengen an Algenbiomasse und somit deren intrazellulären Produkte zur Verfügung zu haben. In der Literatur sind sowohl zur Atmosphäre hin offene als auch geschlossene Reaktorsysteme für die Massenproduktion beschrieben (Chini Zittelli *et al.* 2000; Janssen *et al.* 2003; Tredici 2004). Offene Reaktorsysteme weisen den Vorteil auf, dass sie einfacher und kostengünstiger gebaut und betrieben werden können. Die häufigsten, für kommerzielle Zwecke eingesetzten Formen offener Photobioreaktoren sind flache/geneigte Systeme sowie sogenannte *Raceway ponds* mit Becken von bis zu 150.000 m² Fläche. Der Leistungseintrag erfolgt hier in der Regel durch Kreislaufführung der Algensuspension (Apel und

Weuster-Botz 2015; Chini Zittelli *et al.* 2004; Tredici 2004). Neben offenen Reaktorsystemen kommen darüber hinaus geschlossene Photobioreaktoren zum Einsatz. Ihr Vorteil liegt im geringeren Kontaminationsrisiko während des Betriebs. Zudem sind geschlossene Reaktoren flexibler, da eine speziesspezifische Anpassung durch eine präzise Steuerung und Kontrolle der biotechnologischen Prozesse möglich ist (Tredici *et al.* 2010).

Licht hat neben der Medienzusammensetzung, der CO₂-Verfügbarkeit und der Temperatur den größten Einfluss auf das Wachstum phototropher Mikroorganismen. Daher ist auf eine geeignete Konstruktion mit hinreichender Lichtverfügbarkeit im Reaktor zu achten. Hohe Zelldichten führen zu einer gegenseitigen Beschattung phototropher Zellen (Soeder 1971), wodurch eine Anwendung im industriellen Maßstab eingeschränkt ist. Wird der Reaktordurchmesser zu groß gewählt, so steht den Mikroalgen ab einer gewissen Zelldichte nicht mehr ausreichend Licht zur Verfügung. Darüber hinaus wird oftmals eine externe, künstliche Lichtquelle benötigt. Herkömmliche Rührkesselreaktoren, wie sie für heterotrophe biotechnologische Prozesse verwendet werden (Chmiel 2011), sind für phototrophe Kultivierungsprozesse folglich nicht geeignet. Die am häufigsten für phototrophe Prozesse eingesetzten geschlossenen Reaktortypen sind Blasensäulenreaktoren, bei denen der Energieeintrag durch Expansion einer Gasphase im sogenannten *gas-lift*-Betrieb erfolgt (aufsteigende Gasblasen vom Boden des Reaktors). Üblicherweise werden hierfür zylindrische Gefäße (Bechet *et al.* 2013) oder Flachplattenphotobioreaktoren mit definierter Schichtdicke (Zhang *et al.* 2015) verwendet, welche horizontal, geneigt, vertikal, mehrreihig oder in anderer Form angeordnet sein können. Daneben kommen Rohrreaktoren (Camacho Rubio *et al.* 1999; Huang und Rorrer 2002; Rorrer und Mullikin 1999) zum Einsatz, bei denen der Energieeintrag durch Kreislaufführung der Algensuspension mit einer Pumpe erfolgt. Um eine Versorgung mit Licht zu gewährleisten, werden für die Reaktionskammern von geschlossenen Photobioreaktoren lichtdurchlässige Materialien wie Glas oder transparente Kunststoffe verwendet. Die Hauptkriterien für die Planung von Photobioreaktoren sind das Oberflächen zu Volumen Verhältnis, die Orientierung und Neigung zum Sonnenstand, die Durchmischung und der Stofftransport (gas-flüssig), die eingesetzten Materialien sowie die Temperaturkontrolle (Richmond und Hu 2004; Tredici *et al.* 2010). Darüber hinaus spielt die Skalierbarkeit der Photobioreaktoren eine wichtige Rolle. Für Flachplattenphotobioreaktoren sind Volumina sowohl im Labor-Maßstab (1 L) als auch im Produktionsmaßstab (4300 L) beschrieben (Bergmann *et al.* 2013; Breuer *et al.* 2013). Einen wesentlichen Aspekt für die Durchführbarkeit einer Maßstabsvergrößerung stellt dabei die Lichtverfügbarkeit im Reaktor dar. Der Lichtweg in einer Zellsuspension sollte nicht mehr als 10 cm betragen, um Photorespiration in möglichen Dunkelzonen zu vermeiden (Li *et al.* 2015). Der Durchmesser von geschlossenen Gefäßen wie Blasensäulenreaktoren kann demnach nicht beliebig vergrößert werden. Bei Rohrreaktoren kann bei hohen Zelldichten zudem das Problem der toxischen

Sauerstoffakkumulation mit zunehmender Rohrlänge auftreten, da das gebildete Gas im Gegensatz zu einem Blasensäulenreaktor nicht entweichen kann (Molina *et al.* 2001). Eine Vergrößerung des Volumens oder der photosynthetisch aktiven Oberfläche wird daher häufig durch Kaskadierung mehrerer Einzelmodule realisiert.

3.2 Phototropher Metabolismus

Seit mehr als 200 Jahren ist der biochemische Prozess der Photosynthese bekannt. Er umfasst die Umwandlung von Lichtenergie in chemische Energie, welche in Form von Biomasse gespeichert wird. Dabei wird zwischen der anoxygenen und oxygenen Photosynthese unterschieden. Algen setzen wie Pflanzen oder Cyanobakterien Sauerstoff bei der Photosynthese frei und zählen zu den oxygenen phototrophen Organismen (Fuchs *et al.* 2007). Die oxygene Photosynthese ist eine lichtgetriebene Redoxreaktion, bei der Kohlenstoffdioxid (CO_2) und Wasser (H_2O) in Kohlenhydrate (CH_2O) und Sauerstoff (O_2) umgewandelt werden. Die Reaktion findet in den Chloroplasten statt und wird in die zwei Phasen Lichtreaktion und Dunkelreaktion unterteilt (Abbildung 3-1).

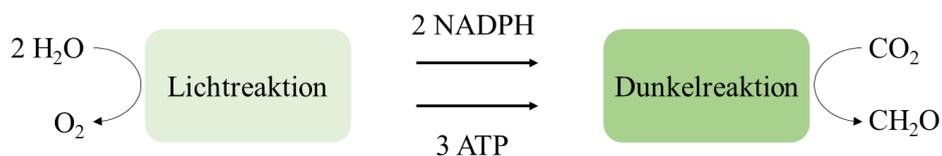


Abbildung 3-1: Schematischer Überblick über die beiden Phasen der oxygenen Photosynthese (nach Masojídek 2013). In der Lichtreaktion wird Licht absorbiert und Wasser (H_2O) zu Sauerstoff (O_2) oxidiert. Die dabei entstehenden Produkte NADPH und ATP werden in der Dunkelreaktion verbraucht, um Kohlenstoffdioxid (CO_2) zu reduzieren und Kohlenhydrate (CH_2O) zu synthetisieren.

In der Lichtreaktion wird Lichtenergie von Pigmentmolekülen (Chlorophylle) eingefangen und für die Oxidation von Wasser verwendet. Dabei werden unter Freisetzung von Sauerstoff die beiden Produkte NADPH und ATP gebildet. Diese stehen in der Dunkelreaktion für die Reduktion von Kohlenstoffdioxid zu Kohlenhydraten zur Verfügung (Masojídek *et al.* 2013). Etwa 50 % des weltweiten Sauerstoffaufkommens wird auf diese Art und Weise von marinen Algen unter Verwertung von Kohlenstoffdioxid gebildet (Posten und Walter 2012b). Die Dunkelreaktion wird daher auch als CO_2 -Fixierung bezeichnet.

3.2.1 Chloroplasten, der Ort der Photosynthese

Die Photosynthese findet in speziellen Organellen, den Chloroplasten, statt. Diese besitzen eine äußere und eine innere Membran, welche den *Intermembranraum* einschließen (Abbildung 3-2).

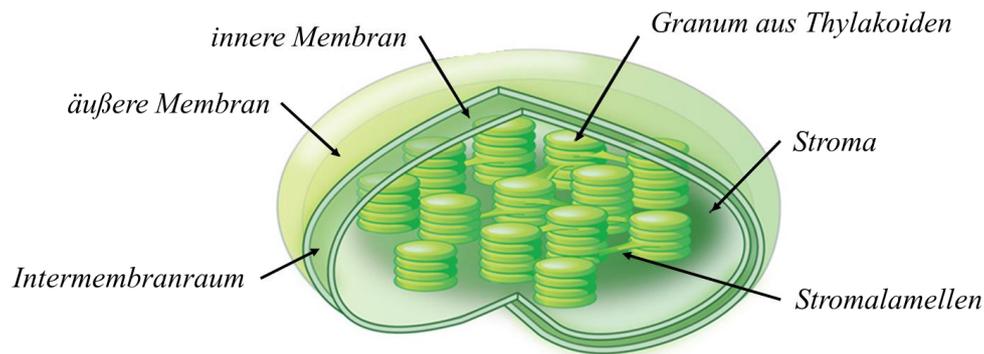


Abbildung 3-2: Schema eines Chloroplasten (nach Nature Education 2010).

Die innere Membran umgibt das *Stroma*, in dem die Dunkelreaktion abläuft. Die Lichtreaktion erfolgt in den Membranstrukturen von *Thylakoiden*, welche im Stroma vorhanden sind. Thylakoide bestehen aus einer Doppelschicht, in der Proteine eingebettet sind. Diese Proteine formen flache, scheibenartige Vesikel, welche den Thylakoidraum, das *Lumen*, einschließen und in Stapeln angeordnet sind. Diese Stapel werden *Grana* genannt. Sie sind über *Stromalamellen* miteinander verbunden (Berg *et al.* 2007).

Die an der Energieumwandlung beteiligten Hauptkomponenten der Photosynthese sind in der Thylakoidmembran verankert. Über sie werden der photosynthetische Elektronentransport und der Mechanismus der Photosynthese aufrechterhalten. Zu den wichtigsten Bestandteilen gehören die Lichtsammelkomplexe oder -antennen (lichtsammelnde Proteine), die Reaktionszentren (Photosystem I und Photosystem II), die Elektronentransportkette (Cytochrom b6/f) sowie die ATP-Synthase (Masojidek *et al.* 2013). Aufbau und Funktion der Komponenten werden im Folgenden genauer beschrieben.

3.2.2 Lichtreaktion

In der Lichtreaktion werden durch Spaltung von Wasser unter Freisetzung von Sauerstoff die beiden Produkte NADPH und ATP generiert. Alle dafür nötigen Vorgänge finden in der Thylakoidmembran statt.

Der erste Schritt der Lichtreaktion ist die Absorption von Licht. Photosynthese-betreibende Organismen besitzen hierfür Antennensysteme, welche die Lichtenergie zu den Reaktionszentren leiten. Sie bestehen aus zahlreichen Proteinen und organischen Pigmenten, die an der Lichtabsorption sowie dem Elektronentransfer beteiligt sind. Dabei wird zwischen den hydrophilen Phycobilinen, die in Cyanobakterien und Rotalgen vorkommen, und den lipophilen Pigment-Protein-Komplexen LHC II und LHC I unterschieden. Die Lichtsammelkomplexe LHC II und LHC I enthalten den primären Photonenrezeptor Chlorophyll a sowie Chlorophyll b und Karotinoide und sind für die Absorption von Licht verantwortlich (Abbildung 3-3).

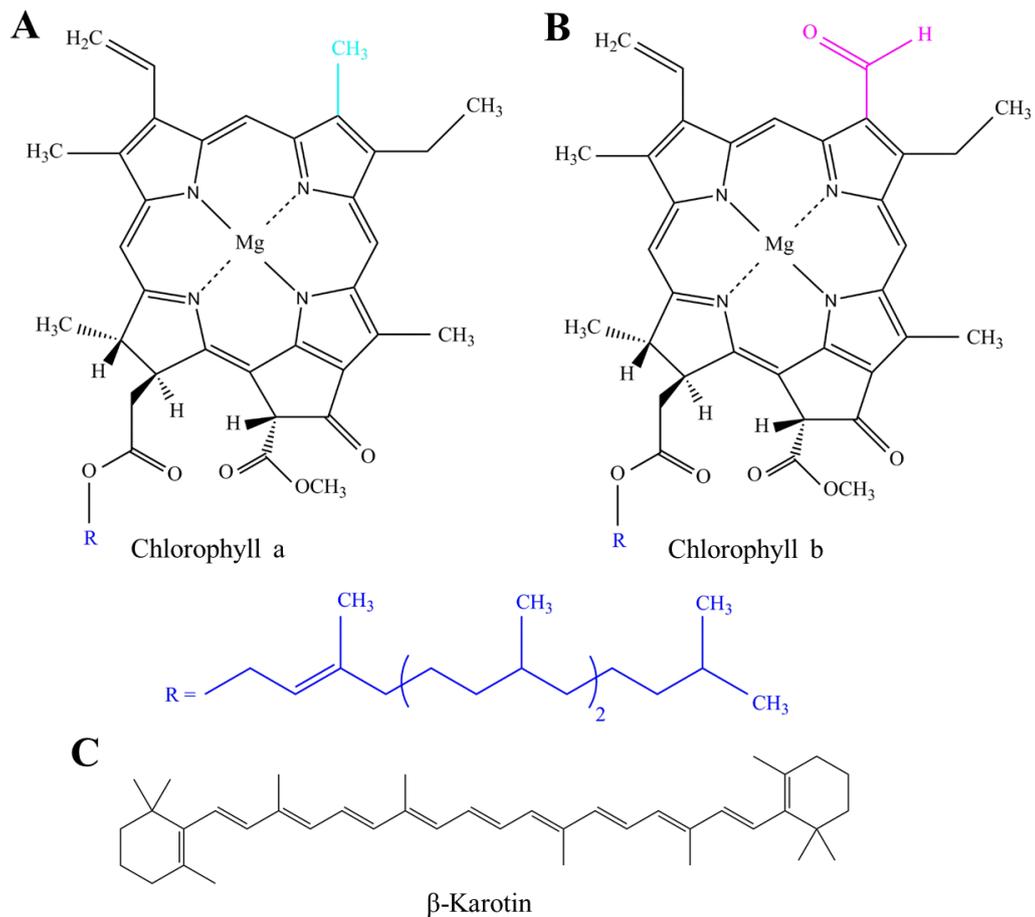


Abbildung 3-3: Chemische Struktur des Hauptpigments Chlorophyll a (**A**) sowie der akzessorischen Pigmente Chlorophyll b (**B**) und β -Karotin (Karotinoid, **C**) oxygener phototropher Organismen (nach Berg *et al.* 2007). Chlorophyll besteht aus einem Tetrapyrrolring mit einem zentral gebundenen Magnesiumatom. Eine Phytolgruppe (**R**) ist über eine Esterbindung an das Chlorophyll gebunden. Chlorophyll b unterscheidet sich von Chlorophyll a durch eine Formyl- (**CHO**) anstelle einer Methylgruppe (**CH₃**).

Chlorophyll a ist unter den photosynthetischen Pigmenten der wichtigste Photonenrezeptor, während es sich bei Chlorophyll b und den Karotinoiden um akzessorische Pigmente handelt. Das Molekül Chlorophyll a ist ein wesentlicher Bestandteil der Reaktionszentren und besteht aus einem Tetrapyrrolring mit einem zentralen Magnesiumatom und einem langkettigen, hydrophoben Alkohol, dem Phytol. Dieser ist über eine Esterbindung an eine saure Seitengruppe des Chlorophylls gebunden (Berg *et al.* 2007). Die Funktionsweise von Chlorophyll a besteht darin, die Energie von Licht aufzunehmen und Elektronen auf ein höheres Energieniveau anzuregen. Dabei kehrt das Elektron nicht in den Grundzustand zurück wie bei den meisten lichtabsorbierenden Verbindungen, sondern wird auf einen Akzeptor in der Nähe des Chlorophylls übertragen (Ladungstrennung). Dadurch entsteht ein Reduktionspotential, welches in einer Reihe von chemischen Reaktionen zur Erzeugung von NADPH und ATP verwendet wird. Die Dichte von Chlorophyll a-Molekülen im Reaktionszentrum ist allerdings relativ gering. Darüber hinaus absorbiert Chlorophyll a nur Licht

in einem bestimmten Wellenlängenbereich (Abbildung 3-4). Licht des mittleren sichtbaren Bereichs zwischen 450 und 650 nm würde mit Chlorophyll a als einziges photosynthetisches Pigment nicht eingefangen werden. Daher wird das Hauptpigment durch weitere lichtabsorbierende Moleküle (Chlorophyll b und Karotinoide) unterstützt. Diese umgeben das Reaktionszentrum vollständig und leiten zusätzliche Lichtenergie darauf weiter.

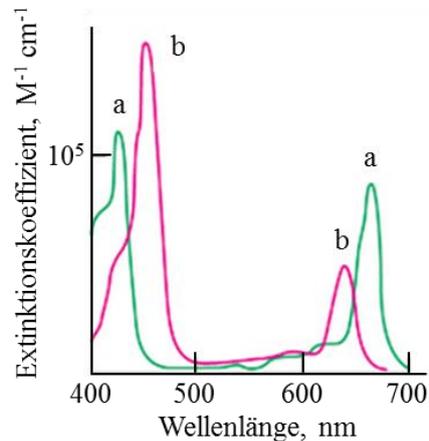


Abbildung 3-4: Extinktionsspektren der an der Photosynthese beteiligten Pigmente Chlorophyll a (a) und Chlorophyll b (b) (nach Berg *et al.* 2007).

Chlorophyll b (Abbildung 3-3 B) absorbiert Licht hauptsächlich zwischen 450 und 500 nm und erhöht damit die Effizienz der Lichtabsorption (Abbildung 3-4). Karotinoide (Abbildung 3-3 C) absorbieren in einem ähnlichen Wellenlängenbereich zwischen 400 und 550 nm. Neben ihrer strukturellen und unterstützenden Funktion als Energieüberträger für die Reaktionszentren übernehmen Karotinoide auch eine Schutzfunktion bei zu hohen Bestrahlungsstärken. Sie unterdrücken schädigende photochemische Reaktionen und bewahren die Zelle vor der Bildung freier Radikale (Berg *et al.* 2007; Masojidek *et al.* 2013; Posten und Walter 2012b).

Die an die Absorption anschließenden Schritte der Lichtreaktion bestehen in der Freisetzung und dem Transport von Elektronen zur Bereitstellung des biochemischen Cofaktors NADPH. Der Elektronenfluss von Wasser zu NADP^+ wird für gewöhnlich in einem sogenannten Z-Schema der Photosynthese zusammengefasst (Abbildung 3-5).

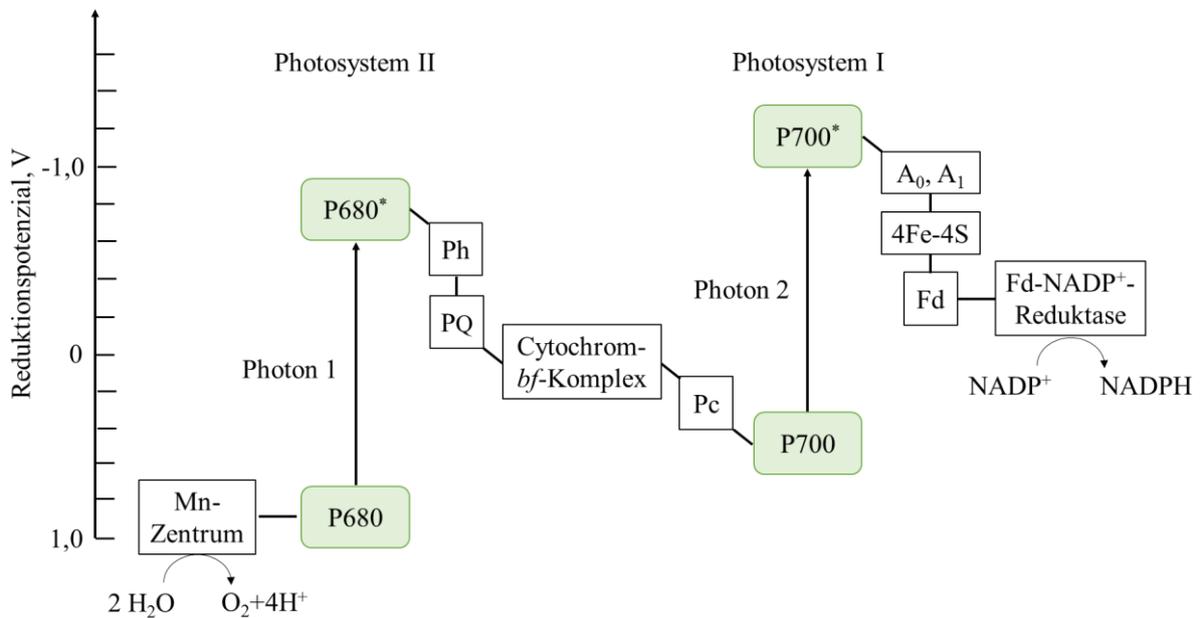


Abbildung 3-5: Z-Schema der Photosynthese (nach Berg *et. al.* 2007). Im Mangan(Mn)-Zentrum werden zwei Moleküle Wasser zu einem Molekül Sauerstoff oxidiert. Die freigesetzten Elektronen fließen vom Photosystem II zum Photosystem I und werden dort von einer Ferredoxin-NADP⁺-Reduktase unter Bildung von NADPH übertragen. Die endergonische Reaktion wird durch die Absorption von Licht der Wellenlänge 680 (P680) und 700 nm (P700) angeregt. Der Elektronentransport erfolgt über Phäophytin (Ph), Plastochinon (PQ), Cytochrom-*bf*-Komplex, Plastocyanin (Pc), den Elektronenakzeptoren A_0 und A_1 , sowie durch Eisen-Schwefel-Cluster (4Fe-4S) und Ferredoxin (Fd).

Die an dieser Reaktionskette beteiligten Hauptkomplexe sind die beiden Photosysteme PS I und PS II. Es handelt sich dabei um Transmembrankomplexe, die in der Thylakoidmembran verankert sind. Im Reaktionszentrum des Photosystems I ist ein spezielles Paar von Chlorophyll a-Molekülen vorhanden, welches durch Licht mit einer Wellenlänge von maximal 700 nm zur Ladungstrennung angeregt wird (P700). Über weitere photochemische Reaktionen ($\text{A}_0, \text{A}_1, 4\text{Fe-4S}, \text{Fd}$) entsteht ein Redoxpotential, das für die Herstellung von NADPH benötigt wird. Die NADPH-Generierung erfolgt auf der Stromaseite der Membran und wird von der Ferredoxin-NADP⁺-Reduktase katalysiert. Für diese Reaktion werden Elektronen benötigt, welche im Photosystem II durch Oxidation von Wassermolekülen erzeugt und über eine Elektronentransportkette zum Photosystem I transportiert werden.

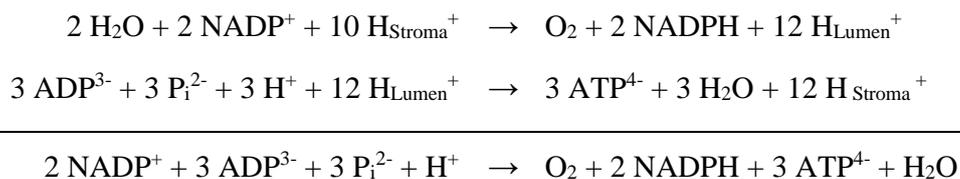
Die Elektronenerzeugung im Photosystem II erfolgt ebenfalls über ein spezielles Paar von Chlorophyll a-Molekülen im Reaktionszentrum. Die Ladungstrennung wird durch Licht der Wellenlänge 680 nm angeregt (P680). Die dabei freigesetzten Elektronen werden zunächst auf ein Phäophytin (Ph) und über weitere Transporter (PQ, Cytochrom-*bf*, Pc) auf das Photosystem I

übertragen. Zur Neutralisierung der nun positiven Ladung des Chlorophyll-Moleküls werden Elektroden aus der Oxidation von zwei Molekülen Wasser zu einem Molekül Sauerstoff gezogen. Die Oxidation findet an einem Mangan(Mn)-Zentrum im Photosystem II statt.

Hierbei werden darüber hinaus Protonen in das Lumen freigesetzt, wodurch im Thylakoidraum ein Protonenüberschuss gegenüber dem Stroma entsteht. Dieser Überschuss wird durch den Elektronentransport zwischen Photosystem I und Photosystem II weiter ausgebaut, indem beim Transport über den Cytochrom-*bf*-Komplex weitere Protonen aus dem Stroma in den Thylakoidraum überführt werden. Der so entstehende Protonengradient wird in einem weiteren Schritt der Photosynthese für die Gewinnung von ATP genutzt (siehe auch Abbildung 3-6).

Im letzten Schritt der Lichtreaktion erfolgt die Synthese von ATP. Die Umwandlung der durch den Protonengradienten erzeugten protonenmotorischen Kraft in ATP erfolgt in ATP-Synthasen. Diese Reaktion wird auch als Photophosphorylierung bezeichnet. Die ATP-Synthase ist ein komplexes Enzym, welches aus mehreren Untereinheiten besteht. CF_0 ist in der Thylakoidmembran verankert und ermöglicht den Transport von Protonen aus dem Lumen in das Stroma. Die Bildung von ATP aus ADP und anorganischem Phosphat (P_i) erfolgt in der CF_1 -Einheit, welche auf der Stromaseite der Thylakoidmembran lokalisiert ist. So wird ATP direkt in das Stroma abgegeben und kann für die Dunkelreaktion verwendet werden. Auf ähnliche Weise wird auch das vom Photosystem I gebildete NADPH in das Stroma freigesetzt und steht der Dunkelreaktion zur Verfügung.

Für die Lichtreaktion werden insgesamt 8 Photonen benötigt, um ein Molekül Sauerstoff, zwei Moleküle NADPH und 3 Moleküle ATP zu erzeugen. Aus den beiden stöchiometrischen Gleichungen für die lichtgesteuerte NADPH- und ATP-Synthese lässt sich die gesamte Lichtreaktion stöchiometrisch zusammenfassen:



In Abbildung 3-6 ist der gesamte Mechanismus der photosynthetischen Lichtreaktion nochmals schematisch resümiert.

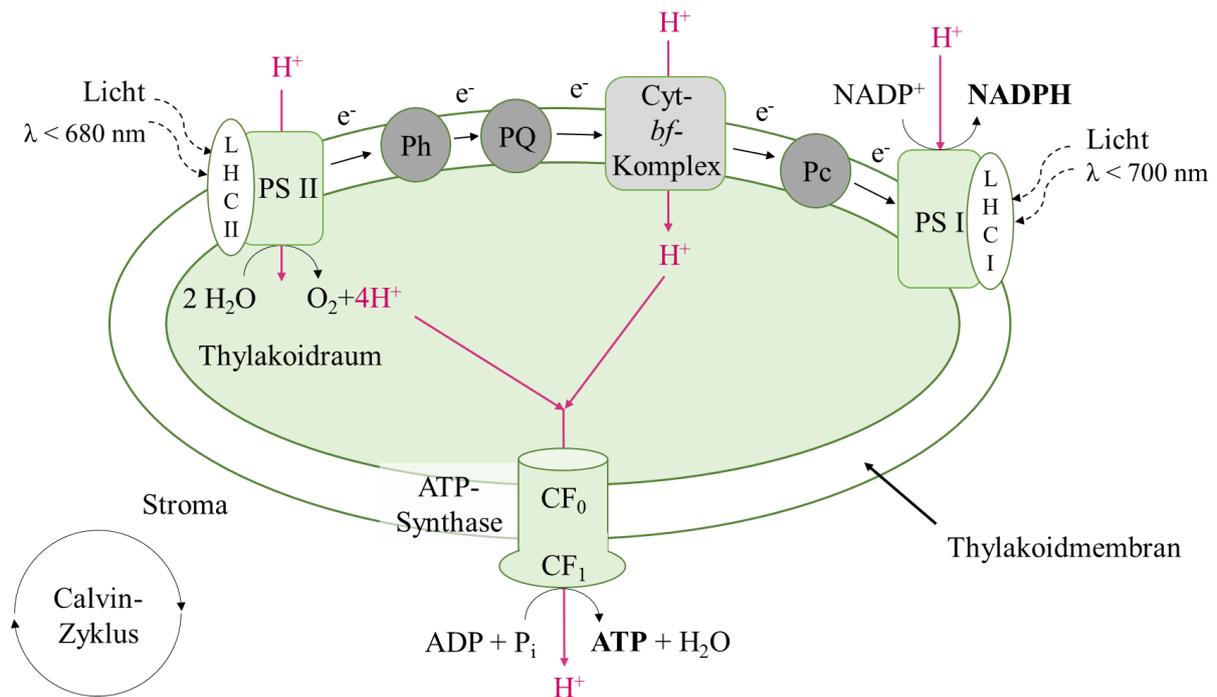


Abbildung 3-6: Schematischer Überblick über den Mechanismus der Photosynthese.

Die an der Photosynthese beteiligten Hauptkomponenten sind in der Thylakoidmembran verankert. Die beiden Photosysteme PS I und PS II bilden das Kernstück der funktionellen Einheit. Über die Lichtsammelkomplexe LHC I und II wird Lichtenergie der Wellenlänge 680 oder 700 nm absorbiert und in die Reaktionszentren der Photosysteme geleitet. Dadurch werden die NADPH-Synthese am PS I sowie der Elektronentransport von Photosystem II auf das Photosystem I induziert. Der Elektronentransport erfolgt über Phäophytin (Ph) und die Transportproteine Plastochinon (PQ), Cytochrom-*b*-f-Komplex und Plastocyanin (Pc). Dabei werden Protonen vom Stroma in den Thylakoidraum transportiert, welche für die ATP-Synthase verwendet werden. Zusätzliche Protonen werden durch die Spaltung von Wasser am Photosystem I in den Thylakoidraum freigesetzt und stehen ebenfalls der ATP-Synthase zur Verfügung. Die beiden Produkte NADPH und ATP der Lichtreaktion werden direkt ins Stroma freigesetzt und werden für weitere biochemische Reaktionen im Calvinzyklus (Dunkelreaktion) verwendet.

3.2.3 Dunkelreaktion

In der Dunkelreaktion werden die beiden Produkte der Lichtreaktion NADPH und ATP für die Fixierung von Kohlendioxid verwendet. Die biochemischen Reaktionen finden im Stroma der Chloroplasten statt und erfolgen im sogenannten Calvin-Zyklus. Der Calvin-Zyklus wird in die vier Phasen Carboxylierung, Reduktion, Regeneration und Produktion unterteilt (Abbildung 3-7).

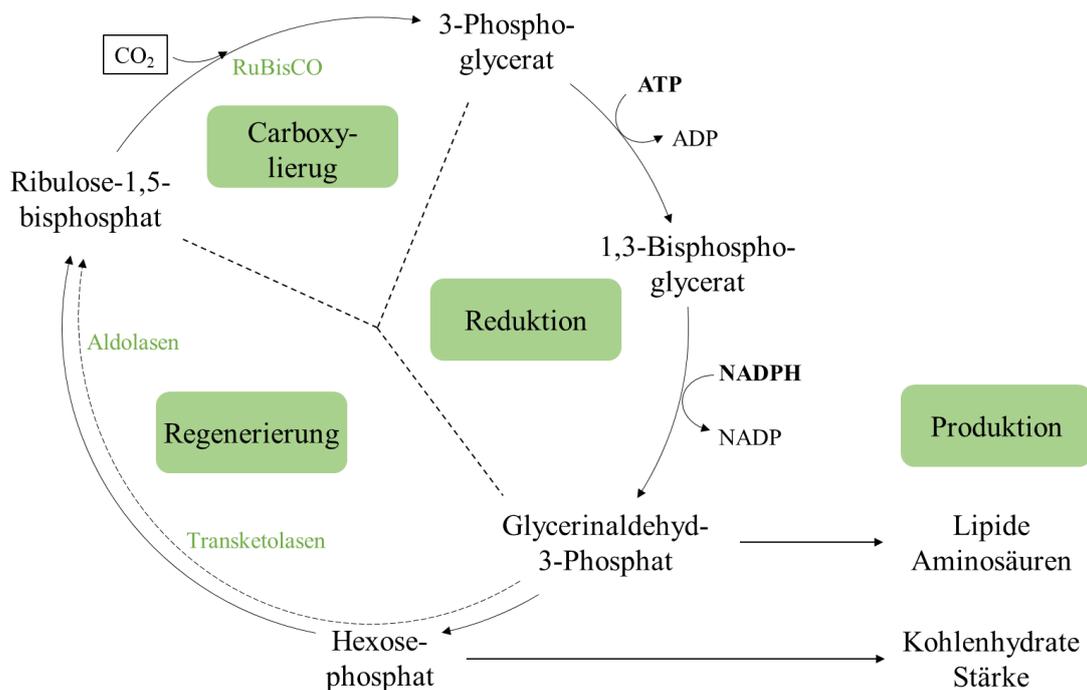


Abbildung 3-7: Vereinfachte Darstellung des Calvin-Zyklus.

Der Calvin-Zyklus wird in vier Phasen unterteilt. Im ersten Schritt erfolgt die Fixierung von CO₂ durch Carboxylierung von Ribulose-1,5-bisphosphat. Das gebildete Produkt 3-Phosphoglycerat wird im nächsten Schritt unter Verbrauch der Stoffwechselprodukte der Lichtreaktion zu Hexose reduziert. Anschließend erfolgt die Regenerierung der Ausgangsverbindung Ribulose-1,5-bisphosphat. Das Hauptprodukt der Photosynthese sind Kohlenhydrate. Als Nebenprodukte werden Lipide, Aminosäuren und andere organische Säuren gebildet.

In der Carboxylierung erfolgt die Fixierung von Kohlenstoffdioxid (CO₂). CO₂ wird dabei mit Ribulose-1,5-bisphosphat zu zwei Molekülen 3-Phosphoglycerat umgesetzt. Diese Reaktion wird von dem Enzym Ribulose-1,5-bisphosphat-carboxylase/-oxygenase (RuBisCO) katalysiert. In der anschließenden Reduktionsphase wird 3-Phosphoglycerat unter Verbrauch der Produkte der Lichtreaktion, ATP und NADPH, in mehreren Schritten zu Hexose reduziert. Ausgehend von diesem Produkt sowie von Triosephosphaten wird die Ausgangsverbindung Ribulose-1,5-bisphosphat in einer komplexen Abfolge von Reaktionen regeneriert. An der Umstrukturierung von Kohlenhydrataten sind insbesondere Transketolasen und Aldolasen beteiligt. Insgesamt werden für die Reaktionen des Calvin-Zyklus drei Moleküle ATP und zwei Moleküle NADPH verbraucht. Dabei entstehen Kohlenhydrate als Hauptprodukt sowie verschiedene Nebenprodukte wie Fettsäuren, Aminosäuren oder andere organische Säuren (Berg *et al.* 2007; Masojidek *et al.* 2013).

3.2.4 Photorespiration

Abhängig von der CO₂-Konzentration in der Umgebung kann das Enzym RuBisCO neben seiner Funktion als Carboxylase in der Dunkelreaktion auch als Oxygenase wirken. In diesem Fall wird nicht Kohlenstoffdioxid sondern Sauerstoff an ein anderes Molekül gebunden. Durch die Sauerstoff-Fixierung wird aus Ribulose-1,5-bisphosphat unter anderem ein Molekül Phosphoglycolat gebildet, welches über mehrere chemische Reaktionen schließlich zu CO₂

abgebaut wird (Nabors und Scheibe 2007). Da die CO₂-Bildung bei Licht und unter Sauerstoffverbrauch stattfindet, wird dieser Vorgang auch als Photorespiration bezeichnet. RuBisCO hat im Allgemeinen eine schwache Affinität zu CO₂. Liegt ein hohes O₂ zu CO₂-Verhältnis vor, so wird der Prozess der Photorespiration begünstigt. Ist das O₂ zu CO₂-Verhältnis dagegen niedrig, so findet bevorzugt der Vorgang der Carboxylierung statt (Masojidek *et al.* 2013). Bei manchen Spezies wird der Verlust der photosynthetischen Effizienz durch Photorespiration auf bis zu 50 % geschätzt (Reddy und Madhusudana 2004). Für einen optimalen Kultivierungsprozess sollte daher darauf geachtet werden, photorespiratorische Vorgänge durch eine geeignete Prozessführung möglichst gering zu halten.

3.2.5 Photoakklimation und Photoinhibition

Mikroalgen sind wie nahezu alle stoffwechselbetreibenden Organismen Schwankungen ihrer Umgebungsbedingungen ausgesetzt. Um ihren Metabolismus aufrechtzuerhalten, haben Mikroalgen mannigfache Mechanismen zur Anpassung an solche Änderungen entwickelt (Tredici 2004). Modifikationen, die durch einen Wechsel der Lichtverhältnisse hervorgerufen werden, werden als Photoakklimation bezeichnet. Ziel der Photoakklimation ist es, das Gleichgewicht zwischen der photosynthetischen Licht- und Dunkelreaktionen zu erhalten (Grobelaar 2010). Bei einer Änderung der Lichtverhältnisse (Qualität und Stärke) kommt es häufig zu einer Umstrukturierung von Komponenten des Photosyntheseapparates. Dadurch sollen die Lichtabsorption sowie die Bildung von NADPH und ATP und damit das Zellwachstum aufrechterhalten werden (Richmond und Hu 2004). Algen unterliegen nicht nur biochemischen Mechanismen sondern auch ultrastrukturellen, biophysikalischen oder physiologischen Änderungsprozessen zum Erhalt der photosynthetischen Aktivität und zur Fortführung des phototrophen Wachstums (Dubinsky und Stambler 2009; Post *et al.* 1985). Die Vorgänge können dabei wenige Sekunden bis hin zu mehrere Stunden oder Tage dauern (Torzillo und Vonshak 2013). Ein vielfach beobachteter Adaptionsmechanismus bei Mikroalgen ist eine Anpassung der Größe von Lichtsammelkomplexen und der Anzahl an Reaktionszentren des Photosystems PS II (Dubinsky und Stambler 2009; Falkowski 1998; Falkowski und Owens 1980; Sukenik *et al.* 1987). Darüber hinaus wird häufig eine Änderung der Pigmentzusammensetzung in der Zelle als Antwort auf veränderte Lichtverhältnisse beobachtet. Bei niedrigen Photonenflussdichten wird die Konzentration an Chlorophyll a oder anderen Lichtsammelpigmenten erhöht. Bei sehr starkem Licht bilden Algen dagegen oft übermäßig viele sekundäre Karotinoide wie Xanthophyll, Astxanthin oder Canthaxanthin aus. Die Pigmente liegen im Cytoplasma vor, wobei ihre Funktion noch weitestgehend unbekannt ist (Richmond und Hu 2004). Hu (2013) beschreibt, dass eine Erhöhung der sekundären Pigmente zu einer Verringerung der Anzahl der auf die Photosysteme aufprallenden Photonen führt und somit einen aktiven Schutz vor übermäßig hohen

Photonenflussdichten darstellt. Karotinoide fangen freie Radikale ab und wandeln überschüssige Lichtenergie in Wärme um (Dubinsky und Stambler 2009). Eine besondere Bedeutung kommt dabei dem Xanthophyllzyklus zu. Bei der Bildung von Zeaxanthin aus Violaxanthin wird überschüssige Anregungsenergie des Antennensystems im Photosystem II in Form von Wärme freigesetzt. Diese Wärmedissipation führt zu einer Art Energielöschung und schützt den photosynthetischen Apparat vor Starklicht-induzierten Schäden am Photosystem II (Torzillo und Vonshak 2013). Nichtsdestotrotz kann es zu einem Verlust oder einer Hemmung der Photosynthese kommen, wenn die Zellen weiterhin sehr hohen Photonendichten ausgesetzt sind, oder diese weiter erhöht wird. Solche Prozesse werden als photoschädigende Prozesse oder Photoinhibition bezeichnet (Long *et al.* 1994). Häufig werden dabei Schlüsselkomponenten des Photosyntheseapparates vollständig oder partiell deaktiviert (Camacho Rubio *et al.* 2003; Han 2000; Nedbal *et al.* 1996). Der Begriff Photoinhibition wird oft auch als Synonym für die Schädigung des Reaktionszentrums am Photosystem II verwendet. Da die Photosyntheserate für gewöhnlich von der Rate der CO₂-Fixierung abhängt, muss eine Schädigung von Reaktionszentren nicht zwangsläufig einen Einfluss auf die Photosyntheseleistung haben (Behrenfeld *et al.* 1998). Photoinhibition bezeichnet den Prozess der Inaktivierung von PS II daher nur bei einem gleichzeitigen Rückgang der Photosyntheserate (Long *et al.* 1994). Die Inhibition ist dabei ein zunächst vollständig reversibler Schritt (Myers und Burr 1940). Wird eine kritische Photonendichte überschritten, so kann das Photosystem II der photosynthetischen Einheit beschädigt werden. Als Konsequenz werden weitere Systeme wie der Sauerstoff-freisetzende Komplex, Elektronentransporter oder Schlüsselproteine des Photosystems II (D1/D2) ebenfalls beeinträchtigt (Camacho Rubio *et al.* 2003). Werden die Zellen weiterhin hohen Photonendichten ausgesetzt, so können Reparaturmechanismen unterdrückt und das Photosystem II dauerhaft inaktiviert werden (Myers und Burr 1940; Prasil *et al.* 1992). Die genauen Ursachen und Mechanismen der Photoinhibition sind bisher allerdings noch nicht vollständig aufgeklärt (Long *et al.* 1994; Yamamoto 2016).

Das Verständnis der protektiven Mechanismen phototropher Mikroorganismen ist nicht nur für die Grundlagenforschung von Bedeutung. Auch die angewandte Forschung unter der Nutzung phototropher Organismen wie Mikroalgen profitiert von dem Wissen über die Grundaspekte photoakklimatorischer und photoinhibitorischer Vorgänge. So kann der Lichteinfluss durch Anpassung des Reaktordesigns (Schichtdicke, Materialien) in gewisser Weise gesteuert werden. Durch eine entsprechend abgestimmte Prozessführung (Zelldichte, Durchmischung, Bestrahlung, Temperierung) ist es möglich, Effekte der Photoakklimation und Photoinhibition zu minimieren und eine Verbesserung der Prozesse zur Massenproduktion von Mikroalgen zu erzielen (Torzillo und Vonshak 2013).

3.3 Wachstum von Mikroalgen

Mikrobielles Wachstum setzt voraus, dass den Zellen einer Suspension alle essentiellen Nährstoffe zur Verfügung stehen. Liegen zudem geeignete Bedingungen, wie eine passende Temperatur und ein passender pH vor, so wird eine Zunahme an Biomasse beobachtet. Die Zunahme an Zellgröße resultiert in der Regel in einer Erhöhung der Zellzahl.

Mikroalgen zählen zu den phototrophen Mikroorganismen. Sie nutzen Licht als primäre Energiequelle für ihre phototrophe Reproduktion. Kohlenstoffdioxid stellt ein weiteres essentielles Substrat dar und wird für das Wachstum benötigt. Im Folgenden werden die Grundlagen des Mikroalgenwachstums sowie die mathematischen Ansätze mikrobieller Prozesse unter kontrollierten Bedingungen beschrieben. Anschließend werden die wichtigsten Einflussfaktoren auf Prozesse mit phototrophen Mikroorganismen vorgestellt.

3.3.1 Wachstumsphasen im Satzverfahren

Ein biotechnologischer Prozess im Satzverfahren ist ein Prozess im geschlossenen System, welchem außer Gas, Antischaum- und Titrationsmittel nichts hinzugefügt oder entnommen wird. Probenvolumina sind in der Regel gering in Relation zum Reaktorvolumen und daher vernachlässigbar. Bei einem Satzverfahren wird das Nährmedium im Reaktor vorgelegt und mit der Starterkultur inokuliert (Inokulum). Die Zellen beginnen sich zu vermehren und durchlaufen dabei verschiedene Wachstumsphasen. Liegen begrenzte Nährstoffbedingungen, aber sonst unlimitierte und nicht inhibierte Gegebenheiten vor, so lassen sich für Mikroalgen sechs Phasen unterscheiden. Eine idealisierte Wachstumskurve, wie sie üblicherweise auch für nicht-phototrophe Mikroorganismen beschrieben wird, ist in Abbildung 3-8 gezeigt.

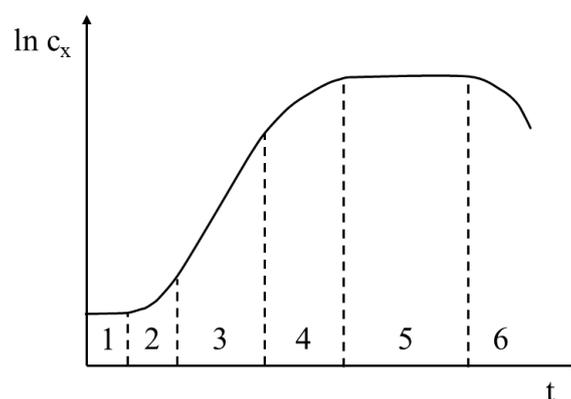


Abbildung 3-8: Idealisierte Wachstumskurve einer Mikroalgenkultur im unlimitierten, begrenzten Satzverfahren.

1: Adaptionphase	2: Übergangsphase	3: Exponentielles Wachstum
4: Übergangsphase	5: Stationäre Phase	6: Absterbephase

Wird ein Mikroorganismus in eine andere Umgebung überführt, so passen sich die Zellen zunächst an die neuen Gegebenheiten an (Phase 1). Der Stoffwechsel wird umgestellt und es ist kaum ein Zellwachstum zu beobachten. Die Dauer der Adaptionphase hängt dabei vom physiologischen

Zustand und der Vitalität der Zellen ab. Der Mikroorganismus reagiert in dieser Wachstumsphase sensitiver auf Änderungen anderer Umgebungsbedingungen wie Temperatur oder Licht und weist eine erhöhte physiologische Aktivität auf. Sobald die Zellen an die neuen Bedingungen adaptiert sind, gehen sie in ein exponentielles Wachstumsverhalten über (Phase 2 und 3). Licht ist in dieser Phase nicht limitierend und die Nährstoffaufnahme gering im Vergleich zum Nährstoffangebot. Unter diesen nicht-limitierten Bedingungen teilen sich die Zellen und wachsen mit einer konstanten spezifischen Wachstumsrate μ . Dabei wird eine maximal mögliche Wachstumsrate μ_{max} aufrechterhalten bis eine kritische Zelldichte erreicht ist. Wird diese Zelldichte überschritten, so beschatten sich die Zellen gegenseitig und die Lichtausbeute pro Zelle sinkt. Licht wird daraufhin zum limitierenden Substrat und führt zu einem verlangsamten Zellwachstum (Phase 4). Für phototrophe Mikroorganismen ist dabei eine lineare Zunahme an Biomasse charakteristisch (Tamiya 1957). Das lineare Zellwachstum setzt sich fort bis ein anderes Substrat oder ein anderer Medienbestandteil limitierend wird. Es folgt die stationäre Wachstumsphase, in der die Wachstums- und Absterberate im Gleichgewicht stehen (Phase 5). In dieser Phase ist keine Zunahme an Biomasse zu beobachten. Eine entscheidende Rolle spielt dabei die Photorespiration der Zellen. Dabei werden bereits synthetisierte Substanzen oxidativ abgebaut. Dieser Abbau steht der Biomassebildung gegenüber, so dass das Zellwachstum stagniert und die im Satzverfahren maximal mögliche Biomassekonzentration erreicht ist. Im weiteren Prozessverlauf sinkt die Zellviabilität mit freiwerdendem organischen, meist wachstumshemmendem Material bis die Absterberate die spezifische Wachstumsrate übersteigt und eine Abnahme der Biomassekonzentration zu beobachten ist (Phase 6) (Becker 1994; Lee 2016).

3.3.2 Formalkinetische Ansätze des phototrophen Wachstums

Liegen in einem biotechnologischen Prozess im Satzverfahren unlimitierte Bedingungen vor, so vermehrt sich ein Mikroorganismus exponentiell mit einer konstanten spezifischen Wachstumsrate μ . Die Wachstumskinetik kann dabei vereinfachend mit einem unstrukturierten und unsegregierten Ansatz beschrieben werden, welcher die Zellpopulation als eine einzelne homogene Größe zusammenfasst und das zelluläre System nicht in Substrukturen unterteilt. Der Zuwachs an Biomasse c_x pro Zeit t ist bei dieser Betrachtung direkt proportional zur vorliegenden Biomasse und wird durch die Wachstumsrate r_x beschrieben:

$$r_x = \frac{dc_x}{dt} = \mu \cdot c_x \quad \text{Gleichung 3-1}$$

Mit	r_x	Wachstumsrate, $\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$
	c_x	Biomassekonzentration, g L^{-1}
	t	Zeit, h
	μ	Spezifische Wachstumsrate, h^{-1}

Unter der Annahme einer idealen Durchmischung und homogenen Verteilung der Biomasse sowie von isothermen Bedingungen, lässt sich die spezifische Wachstumsrate wie folgt definieren:

$$\mu \equiv \frac{1}{c_x} \cdot \frac{dc_x}{dt} \quad \text{Gleichung 3-2}$$

Zur Beschreibung der exponentiellen Wachstumskinetik ergibt sich nach Integration von Gleichung 3-2 folgender Zusammenhang:

$$c_x = c_{x0} \cdot e^{\mu \cdot t} \quad \text{Gleichung 3-3}$$

Mit c_{x0} Anfangsbiomassekonzentration, g L⁻¹

Im Satzverfahren ist exponentielles Wachstum nur zu beobachten, solange nicht-limitierte Bedingungen vorliegen. Ist ein Substrat vollständig verbraucht, so stellt dieses den limitierenden Faktor dar. Der formalkinetische Zusammenhang zwischen der spezifischen Wachstumsrate μ und der limitierenden Substratkonzentration c_s wird in der Regel durch die von Monod (1949) beschriebene Sättigungskinetik hergestellt:

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{c_s}{c_s + K_s} \quad \text{Gleichung 3-4}$$

Mit μ_{max} Maximale spezifische Wachstumsrate, h⁻¹

c_s Substratkonzentration, g L⁻¹

K_s Halbsättigungskonstante, g L⁻¹

Die maximale spezifische Wachstumsrate μ_{max} entspricht dabei der Wachstumsrate, welche theoretisch unter Substratüberschuss maximal erreicht werden kann. Die Substratkonzentration, bei der die halbe maximale spezifische Wachstumsrate vorliegt, wird als Halbsättigungskonstante K_s bezeichnet. Da der Energiestoffwechsel phototropher Mikroorganismen im Wesentlichen von der Photosynthese abhängt, stellt Licht als Photonenflussdichte I neben CO₂, Temperatur und Nährstoffen im Medium das wichtigste Substrat für phototrophe Mikroorganismen dar (Acién Fernández *et al.* 1997; Kurano und Miyachi 2005):

$$\mu = \mu_{max} \cdot f(I) \quad \text{Gleichung 3-5}$$

Eine Besonderheit bei phototrophen Mikroorganismen ist, dass neben der Lichtlimitierung bei niedrigen Photonenflussdichten auch das Phänomen der Lichtinhibition bei sehr hohen Photonenflussdichten berücksichtigt werden muss. Die spezifische Wachstumsrate μ steigt bei phototrophen Kulturen mit zunehmender Photonenflussdichte I solange an, bis eine optimale

spezifische Wachstumsrate μ_{opt} erreicht ist. Wird dieser Sättigungspunkt überschritten, so treten photoinhibitorische Effekte auf, welche zu verminderten Wachstumsraten führen. Dieser Zusammenhang lässt sich als erweiterte Sättigungskinetik beschreiben (Tabelle 3-1).

Tabelle 3-1: Auswahl an Modellen zur Beschreibung der formalkinetischen Wachstumskinetik unter Berücksichtigung des Effekts der Photoinhibition (Andrews 1968; Camacho Rubio *et al.* 2003; Kurano und Miyachi 2005; Steele 1965; Tazdait *et al.* 2013; Webb 1963). Bei phototrophen Mikroorganismen hängt die spezifische Wachstumsrate μ im Wesentlichen von der Photonenflussdichte I ab und erreicht ein Optimum μ_{opt} am Lichtsättigungspunkt. Die Sättigungskonstante K_s ist die niedrigste Photonenflussdichte, bei der die halb-maximale Wachstumsrate μ_{max} erreicht ist. K_I ist die Inhibierungskonstante. φ , ω und κ sind empirische Parameters von Camacho Rubio (2003). β ist eine empirische Konstante von Webb (1963).

$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{I \cdot \left(1 + \frac{\beta \cdot I}{K_I}\right)}{I + K_s + \frac{I^2}{K_I}}$	Webb (1963)
$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{I}{K_I} \cdot e^{\left(1 - \frac{I}{K_I}\right)}$	Steel (1965)
$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{I}{K_s + I + \frac{I^2}{K_I}}$	Andrews (1968)
$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{1}{2\varphi} \cdot \left(\left(1 + \kappa + \frac{\varphi}{I}\right) - \sqrt{\left(1 - \kappa - \frac{\varphi}{I}\right)^2 + 4\kappa} \right) \cdot \left(\frac{1}{1 + \omega\sqrt{I}} \right)$	Camacho-Rubio (2003)

Wie auch der vereinfachende formalkinetische Ansatz von Monod (1949) setzen die in Tabelle 3-1 aufgelisteten kinetischen Modelle voraus, dass die Wachstumsrate von einem einzigen limitierenden Substrat abhängt und andere Prozessparameter wie pH, Temperatur und andere Substrate als konstant angesehen werden können.

3.3.3 Betrieb von Bioreaktoren

Rührkesselreaktoren gehören zu der wichtigsten Gruppe an Produktionsreaktoren in der Biotechnologie (Weuster-Botz 2006). In der Regel werden sie mit Scheibenblattrührer als Rührorgan betrieben, wodurch eine ideale Durchmischung des Reaktionsansatzes sowie räumlich konstante (isotrope) Prozessbedingungen (Konzentrationen, Reaktionsgeschwindigkeiten) gewährleistet werden sollen. Unter der zusätzlichen Annahme isobarer und isothermer Reaktionsbedingungen ist die Stoffbilanzgleichung für den idealen Rührkesselreaktor wie folgt beschrieben (Schügerl 1985):

$$\frac{d(V_R \cdot c_i)}{dt} = F_{ein} \cdot c_{i,ein} - F_{aus} \cdot c_{i,aus} + r_i \cdot V_R \quad \text{Gleichung 3-6}$$

Mit	F_{ein}	Zulaufstrom, L h ⁻¹
	F_{aus}	Ablaufstrom, L h ⁻¹
	c_i	Konzentration der Komponente i im Reaktor, g L ⁻¹
	$c_{i, ein}$	Konzentration der Komponente i im Zulauf, g L ⁻¹
	$c_{i, aus}$	Konzentration der Komponente i im Ablauf, g L ⁻¹
	r_i	Reaktionsgeschwindigkeit der Komponente i, g L ⁻¹ h ⁻¹
	V_R	Volumen des Reaktionsansatzes, L

Bioreaktoren können dabei unterschiedlich betrieben werden: im Satzbetrieb, im halb-kontinuierlichen Betrieb und im kontinuierlichen Betrieb.

Satzbetrieb

Im Satzbetrieb werden alle benötigten Nährstoffe im Reaktionsansatz vorgelegt und mit Ausnahme von Gasen und geringen Mengen an Titrationsmitteln keine weiteren Medien während des Betriebs zu- oder abgeführt. Durch die einfache Betriebsweise ergibt sich ein näherungsweise konstantes Reaktionsvolumen und die Stoffbilanzgleichung für ideale Rührkesselreaktoren (Gleichung 3-6) kann wie folgt vereinfacht werden:

$$\frac{dc_i}{dt} = r_i \quad \text{Gleichung 3-7}$$

Halb-kontinuierlicher Betrieb

Bei einem halb-kontinuierlich betriebenen Prozess werden dem Reaktionsansatz von außen ein oder mehrere Nährstoffe zugeführt. Solche Prozesse werden daher auch als Zulaufverfahren bezeichnet. Der Vorteil gegenüber Satzprozessen liegt in der Möglichkeit, Substratüberschussinhibierungen und Stofflimitierungen zu umgehen. Während des Prozesses nimmt das Reaktionsvolumen über die Prozesszeit zu und es ergibt sich folgende Stoffbilanzgleichung:

$$\frac{d(V_R \cdot c_i)}{dt} = F_{ein} \cdot c_{i,ein} + r_i \cdot V_R \quad \text{Gleichung 3-8}$$

Mit der Volumenzunahme einhergehend erfolgt eine Verdünnung des Reaktionsansatzes V_R , wodurch eine getrennte Beschreibung der zeitlichen Änderungen von V_R und c_i notwendig wird:

$$V_R \cdot \frac{dc_i}{dt} + c_i \cdot \frac{dV_R}{dt} = F_{ein} \cdot c_{i,ein} + r_i \cdot V_R \quad \text{Gleichung 3-9}$$

Die Volumenänderung wird hierbei durch den Zulaufvolumenstrom F_{ein} beschrieben:

$$\frac{dV_R}{dt} = F_{ein} \quad \text{Gleichung 3-10}$$

Durch Einsetzen von Gleichung 3-9 in Gleichung 3-8 und anschließender Umformung kann die zeitliche Konzentrationsänderung einer beliebigen Komponente i im Reaktionsansatz folgendermaßen beschrieben werden:

$$\frac{dc_i}{dt} = \frac{F_{ein}}{V_R} \cdot (c_{i,ein} - c_i) + r_i \quad \text{Gleichung 3-11}$$

Für die Realisierung eines substratlimitierten Zulaufverfahrens kann unter der Annahme einer zeitlich konstanten Substratkonzentration ($dc_s/dt = 0$) folgendes Zulaufprofil mit dem Zulaufvolumenstrom F_{ein} eingestellt werden:

$$F_{ein} = \frac{-V_R \cdot r_s}{(c_{s,ein} - c_s)} \quad \text{Gleichung 3-12}$$

Kontinuierlicher Betrieb

Bei kontinuierlich betriebenen Prozessen kann die im Reaktionsansatz vorliegende Konzentration c_i zeitlich konstant gehalten werden ($dc_i/dt = 0$). Hierfür wird bei einer Zufuhr von Nährstoffen mit einem konstanten Zulaufstrom F_{ein} gleichzeitig ein äquivalenter Ablaufstrom F_{aus} dem Bioreaktor entnommen ($F = F_{ein} = F_{aus}$). Dadurch wird ein gleichbleibendes Reaktorvolumen aufrechterhalten. Die Stoffbilanzgleichung (Gleichung 3-6) für ideale Rührkesselreaktoren vereinfacht sich damit zu:

$$\frac{dV_R}{dt} = 0 = F \cdot (c_{i,ein} - c_i) + r_i \cdot V_R \quad \text{Gleichung 3-13}$$

Die Verdünnungsrate D (englisch für *dilution rate*) wird bei gleichen Volumenströmen im Zu- und Ablauf folgendermaßen definiert:

$$D = \frac{F}{V_R} = \frac{F_{ein}}{V_R} = \frac{F_{aus}}{V_R} \quad \text{Gleichung 3-14}$$

Mit F_{ein} Volumenstrom, $L h^{-1}$

Damit ergibt sich für Gleichung 3-8 folgende Vereinfachung:

$$r_i = D \cdot (c_{i,aus} - c_{i,ein}) \quad \text{Gleichung 3-15}$$

3.3.4 Einflussfaktoren auf das Mikroalgenwachstum

Das Wachstum von Mikroalgen ist in hohem Maße von Umgebungsbedingungen abhängig. Für eine zielführende Durchführung mikrobieller phototropher Prozesse, sollten die wichtigsten Einflussgrößen während eines Kultivierungsprozesses beachtet und kontrolliert werden. Dies stellt eine große Herausforderung für die Gestaltung effizienter und robuster Produktionsprozesse dar. Insbesondere das Nährstoff- sowie das Lichtangebot können limitierend oder inhibierend für das Mikroalgenwachstum sein. Auch andere Reaktionsbedingungen wie pH, Salzgehalt im Medium sowie Temperatur haben einen Einfluss auf die Biomassegewinnung (Hannon *et al.* 2010; Grobbelaar 2010; Soeder 1971). Durch die Umgebungsbedingungen werden allerdings nicht nur die Photosynthese sowie die Biomassebildung beeinflusst. Auch andere Stoffwechselwege werden durch Umweltfaktoren manipuliert und die Aktivität des zellulären Metabolismus verändert.

Neben dem herausfordernden Aspekt der Biomasseproduktivitätsverluste stellt die Stoffwechsellage ein hohes Potential für die Etablierung spezieller biotechnologischer Wertschöpfungsprozesse dar. Durch eine gezielte Modulation der Umgebungsbedingung kann die umgebungsbedingte Variabilität der Zellzusammensetzung genutzt werden, um hochwertige Produkte mit Hilfe von Mikroalgen zu erzeugen (Hu 2013). Im Folgenden wird auf die wichtigsten Einflussfaktoren und Stellgrößen des Mikroalgenwachstums eingegangen.

Salinität. Mikroalgen kommen in unterschiedlichsten Lebensräumen vor. Es gibt terrestrische, marine oder in Süßwasser lebende Spezies. Der Salzanteil wird meistens auf den Gehalt an Natriumchlorid (% (w/v) NaCl) im Medium bezogen und sollte möglichst dem der natürlichen Umgebung des isolierten Mikroalgenstamms entsprechen (Grobbelaar 2010). Viele Spezies wachsen bei einer Salinität, die etwas unterhalb des Salzgehalts ihres natürlichen Habitats liegt am besten. Halophile Organismen sind an bestimmte Salzkonzentrationen angepasst und können nur in einer solchen Umgebung überleben. Halotolerante Organismen sind dagegen auch unterhalb des optimalen Salzgehaltes überlebensfähig. Die Salzkonzentration von Habitaten gängiger mariner Mikroalgen beträgt zwischen 20 und 28 g L⁻¹ NaCl (Coutteau 1996). *Dunaliella salina* ist eine der halotolerantesten Mikroalgenpezies und wächst bei Salzgehalten von bis zu 33 % (w/v) NaCl (Borowitzka 2007). Der Salzgehalt im Medium hat einen maßgeblichen Einfluss auf die Lipid- und Karotinoidsynthese sowie auf die Synthese verschiedener Osmotika in der Zelle (Hu 2013).

Nährstoffe. Die wichtigsten Substrate für Mikroalgenwachstum sind Wasser, Licht und Kohlenstoffdioxid. Daneben werden für den Metabolismus weitere Nährstoffe wie Stickstoff, Phosphor, Eisen und Schwefel benötigt. Für die Durchführung mikrobieller Prozesse sollte die Nährstoffzusammensetzung des Kulturmediums möglichst genau auf die Ansprüche der verwendeten Mikroalge abgestimmt sein. Dabei ist es sinnvoll, Mineralstoffe und Spurenelemente

in dem Verhältnis zuzugeben, wie sie von der Algenzelle aufgenommen werden (Soeder 1971). $\text{CH}_{1,7}\text{O}_{0,4}\text{N}_{0,15}\text{P}_{0,0094}$ ist nach Oswald (1988) die durchschnittliche elementare Zusammensetzung von Mikroalgen (Greenwell *et al.* 2010). Liegen Nährstoffe im Überschuss vor und ist Licht das limitierende Substrat, so liegen etwa 45–50 % Kohlenstoff, 4–10 % Stickstoff und 1 % Phosphor in der Zelle vor. Eine Zelle setzt sich unter diesen Bedingungen aus etwa 50 % Proteinen, 30–40 % Kohlenhydraten und 10–20 % Lipiden zusammen (Shelef 1980).

Stickstoff wird in Algenzellen als essentieller Baustein aller strukturellen und funktionellen Proteine benötigt. Die meisten Algen können Stickstoff nicht selbst fixieren, weshalb Verbindungen mit gebundenem Stickstoff benötigt werden. Aus Kostengründen werden vorwiegend Harnstoff ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$) und Ammonium(hydroxid) (NH_4^+ bzw. NH_4OH) als Stickstoffquellen verwendet. Auch Nitrat wird für die Mikroalgenkultivierung eingesetzt (Borowitzka 2007; Hu 2013).

Phosphor wird wie auch Stickstoff für die Herstellung funktioneller und struktureller Komponenten in der Zelle benötigt. Als Phosphorquelle wird häufig anorganisches Phosphat wie H_2PO_4^- oder HPO_4^{2-} verwendet. Ein Phosphorgehalt von etwa 0,03 bis 0,06 % im Medium wird bei der Mikroalgenkultivierung eingesetzt (Hannon *et al.* 2010; Richmond und Hu 2004). Wie bei Stickstoff können auch hohe Phosphorkonzentrationen zu einer Wachstumsinhibierung führen (Borowitzka 2007).

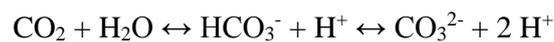
Eisen ist eine weitere wichtige Komponente für den biochemischen Stoffwechsel einer Zelle. Es besitzt besondere Redox Eigenschaften und wird für grundlegende Stoffwechselprozesse wie Atmung, Stickstofffixierung, DNA-Synthese oder den Elektronentransport in der Photosynthese benötigt. Eisen kommt in Eisen-Schwefel-Clustern vor und wird vorzugsweise in der komplexierten Form aufgenommen (Hannon *et al.* 2010; Hu 2013).

Schwefel wird für den Elektronentransport, die Proteinsynthese und den Lipidmetabolismus in Algen benötigt. Da er limitierend auf die Algendichte wirkt und das Algenwachstum beeinträchtigt, wird er nur in geringen Konzentrationen eingesetzt (Hannon *et al.* 2010; Richmond und Hu 2004). Als weitere Medienzusätze werden ionische Komponenten wie K^+ , Mg^{2+} , Na^+ , Ca^{2+} , SO_4^- oder Cl^- , Spurenelemente, Komplexbildner wie EDTA und Vitamine (B1 und B12) verwendet. Bei Diatomeen wird häufig Silikat dem Kulturmedium zugesetzt, da es Bestandteil der Zellwand ist (Grobelaar 2010; Lebeau und Robert 2003).

Für die Anwendung von Mikroalgen als Produktionsorganismus stellen Kultivierungsprozesse unter Nährstofflimitierung einen vielversprechenden Ansatz dar. Biotechnologische Produktionsprozesse mit Mikroalgen werden häufig unter Stickstoff oder Phosphor-limitierten Bedingungen durchgeführt. Ein Mangel an Nährstoff führt zu einer Stresssituation, in der Mikroalgen Kohlenhydrate und sekundäre Karotinoide akkumulieren. Darüber hinaus können manche Spezies unter Abwesenheit von Stickstoff bis zu 70 % (w/w) Lipide einlagern (Matsunaga

et al. 2009). Die Effekte unter Phosphormangel sind dabei nicht so stark wie bei einem Stickstoffmangel. Ein häufiges Anwendungsgebiet ist die Herstellung von Lipiden, welche für energetische Zwecke wie die Biokraftstoffgewinnung eingesetzt werden können (Greenwell *et al.* 2010; Lebeau und Robert 2003; Rodolfi *et al.* 2009). Ein Nachteil liegt in der Verfügbarkeit der Nährstoffe. Um mit einer Mikroalgenkultivierung die Produktionsmenge an konventionell hergestelltem Petroleum in den USA zu erreichen, müsste mehr Phosphor erzeugt werden, als momentan zur Verfügung steht. Dies stellt eine besondere Herausforderung dar und erfordert neue Recycling-Strategien. Im Gegensatz zu Stickstoff und Phosphor ist Eisen einfacher zugänglich (Hannon *et al.* 2010).

Kohlenstoffdioxid und pH. Kohlenstoffdioxid ist ein essentielles Substrat zur photosynthetischen Energiegewinnung und wird von Mikroalgen als anorganische Kohlenstoffquelle verwendet. Anorganischer Kohlenstoff liegt in wässriger Lösung in Form von Kohlenstoffdioxid (CO_2), Hydrogencarbonat (HCO_3^-) und Carbonat (CO_3^{2-}) in folgendem Gleichgewicht vor:



Abhängig vom pH sind die Kohlenstoffverbindungen zu unterschiedlichen Anteilen im wässrigen System vorhanden (Abbildung 3-9). Bis pH 4 ist fast ausschließlich CO_2 und ab pH 11 überwiegend CO_3^{2-} gelöst. Die Konzentration an HCO_3^- ist im leicht alkalischen pH-Bereich (pH 8) am höchsten. Die Löslichkeit von anorganischem Kohlenstoff wird unter anderem vom Salzgehalt des Kulturmediums sowie von der Temperatur beeinflusst (Borowitzka 2007).

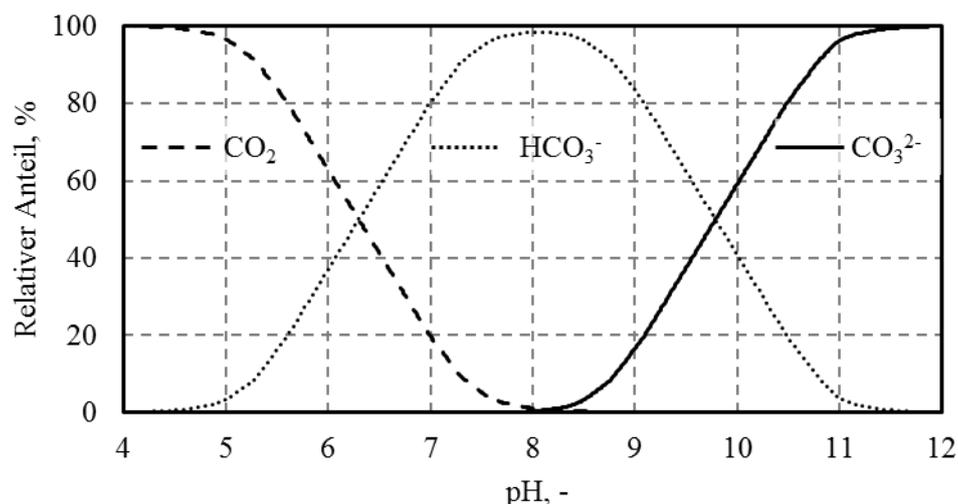


Abbildung 3-9: Bicarbonat-Puffersystem. Abhängig vom pH liegen unterschiedliche relative Anteile der Kohlenstoffverbindungen Kohlenstoffdioxid CO_2 , Hydrogencarbonat HCO_3^- und Carbonat CO_3^{2-} in wässriger Lösung vor.

In welchem Umfang verfügbarer anorganischer Kohlenstoff von Mikroalgen für die Photosynthese aufgenommen wird, ist stark vom pH abhängig. CO_2 kann von allen Mikroalgenstämmen durch

Diffusion über das Plasmalemma durch die permeable Membran aufgenommen werden. Für die Aufnahme von HCO_3^- wird ein aktives Transportsystem benötigt, das in vielen Mikroalgen vorhanden ist. CO_3^{2-} kann dagegen von keiner Mikroalge natürlicherweise aufgenommen werden (Borowitzka 2007). Je höher der pH ist, desto besser wird CO_2 einer wässrigen Lösung absorbiert. Die Ausnutzung des Kohlenstoffdioxids wird durch ein alkalisches Milieu gefördert (Soeder 1971). Für Mikroalgen ist ein optimales Wachstum im neutralen bis leicht alkalischen pH-Bereich beschrieben (Bartley *et al.* 2014; Goldman *et al.* 1982; Talukdar 2012). Nur ein schmaler pH-Bereich zwischen pH 7 und pH 9 erlaubt Mikroalgenzellen, ihren intrazellulären pH aufrecht zu erhalten (Coleman und Colman 1981). Da metabolische Prozesse und Enzymaktivitäten sowie Transportvorgänge innerhalb einer Zelle vom pH abhängig sind, werden außerhalb dieses optimalen Bereichs rückläufige Biomasserträge beobachtet (Ying *et al.* 2014).

Aufgrund des Zusammenhangs zwischen Kohlenstoffdioxid und pH ist die CO_2 -Konzentration im Kulturmedium ein wichtiger Parameter, der photosynthetische Prozesse beeinflusst. Die Bestimmung der optimalen CO_2 -Konzentration für die Kultivierung von Mikroalgen stellt eine Herausforderung dar. Zu hohe Konzentrationen führen zu einem Absinken des pH, was einen Abfall der Wachstumsrate zur Folge haben kann. Zu niedrige Konzentrationen bewirken einen pH-Anstieg und können die Photosynthese und damit das Algenwachstum ebenfalls limitieren. Höhere CO_2 -Konzentrationen erscheinen trotzdem sinnvoll, da sie den Massentransfer zwischen Gas und Medium verbessern (Pires *et al.* 2012). In der Praxis wird der pH für gewöhnlich durch automatisierte CO_2 -Zugabe geregelt (Raven 1993). Üblicherweise wird ein CO_2 -Anteil von 0,5 bis 5,0 % zur Begasung bei der Kultivierung von Mikroalgen angegeben (Lebeau und Robert 2003). Im Allgemeinen reicht die Photosyntheseeffizienz von Mikroalgen aus, um CO_2 sowohl aus der Atmosphäre als auch aus industriellen Abgasen zu fixieren. Bis zu 70 % des eingetragenen CO_2 konnten von Mikroalgen für die Photosynthese absorbiert werden. Bei einer Erhöhung des CO_2 -Eintrags durch Steigerung der Gasflussraten wurde trotz höherer Konzentration an verfügbarem Gas weniger CO_2 umgesetzt. Höhere Flussraten führen zur Koaleszenz von CO_2 -Blasen, was eine geringere spezifische Grenzfläche zwischen Gas und Flüssigkeit bedingt. Dadurch kann nur ein geringer Anteil des eingetragenen CO_2 von den Algen verwertet werden (Borowitzka 2007; Doucha und Lívanský 2006; Pires *et al.* 2012). Für die Biosynthese von 1 g Biotrockenmasse werden nach Doucha und Lívanský (2006) etwa 1,7 g CO_2 benötigt.

Sauerstoff O_2 . Sauerstoff entsteht bei der CO_2 -Fixierung während der Lichtreaktion der Photosynthese. Da O_2 zu Photoinhibition und Photorespiration und somit zu reduzierten Photosynthese- und Wachstumsraten führen kann, sollte die Konzentration des Gases im Kulturmedium möglichst gering gehalten werden (Borowitzka 2007; Pires *et al.* 2012).

Licht. Licht ist neben Kohlenstoffdioxid und Wasser ein essentielles Substrat für phototrophe Mikroorganismen. Die von Mikroalgen aufgenommene Lichtenergie ist abhängig von der Photonenflussdichte, welche auf die Algenkultur auftrifft. Die Zellen absorbieren je nach Zelldichte, optischen Eigenschaften der Zellen, Lichtweg und Durchmischung im Reaktor nur einen Teil der zur Verfügung stehenden Photonen. Der restliche Photonenfluss wird reflektiert oder in Wärme umgesetzt (Richmond und Hu 2004). Zur Analyse des Wachstums photosynthetisch aktiver Zellen in Abhängigkeit der Lichtverhältnisse wird häufig die Photosyntheserate, die Sauerstoffbildungsrate oder die Wachstumsrate als Bewertungskriterium herangezogen. Der Zusammenhang zwischen Photosynthese und Photonenflussdichte wurde ursprünglich von Myers und Burr (1940) beschrieben. Die Abhängigkeit lässt sich mit einem charakteristischen Kurvenverlauf (*Lichtantwortkurve* oder *P/I-Kurve*) veranschaulichen (Abbildung 3-10).

(1) Lichtlimitierungs-Phase (2) Lichtsättigungs-Phase (3) Photoinhibitions-Phase

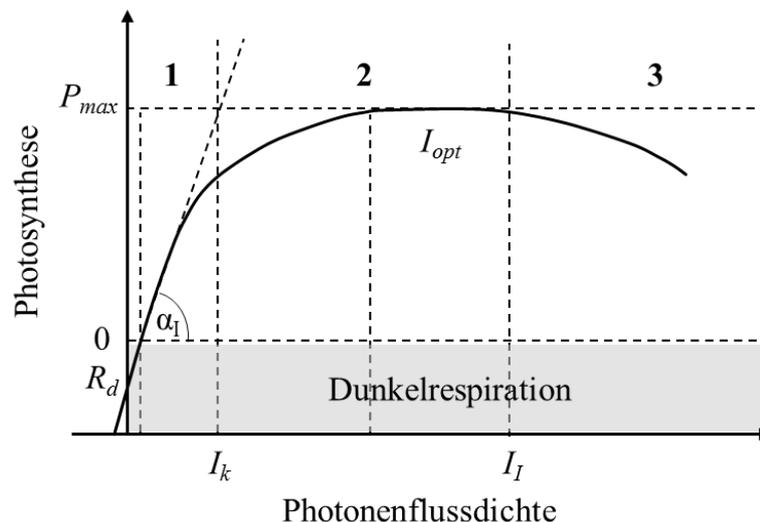


Abbildung 3-10: Schematische Darstellung der Photosyntheserate in Abhängigkeit der Photonenflussdichte (*P/I-Kurve*) (nach Grobbelaar 2010).

Die Photosyntheserate ist bei gesättigten Lichtverhältnissen maximal (P_{max}). Bei niedrigeren Photonenflussdichten I ist ein linearer Zusammenhang zwischen der Photonenflussdichte und der Photosyntheserate mit der Steigung α_I gegeben. Bei Photonenflussdichten oberhalb des optimalen Lichtbereichs I_{opt} sinkt die Photosyntheserate sobald eine inhibierende Photonenflussdichte I_I überschritten ist. Die Dunkelrespiration wird mit R_d bezeichnet. α_I beschreibt die maximale Photosyntheseeffizienz und I_k den Lichtkompensationspunkt, bei dem die Menge an fixiertem Kohlenstoffdioxid der Menge des bei der Atmung entstehenden Kohlenstoffdioxids entspricht.

Die Lichtantwort gliedert sich in die drei Phasen Lichtlimitierung, Lichtsättigung und Photoinhibition. Werden photosynthetisch aktive Zellen einer Lichtquelle mit geringer Photonenflussdichte ausgesetzt, so befinden sich die Zellen in der lichtlimitierten Phase, in der die Photosyntheserate mit zunehmender Photonenflussdichte zunächst linear ansteigt (1). Die Rate der Photonenabsorption steht dabei im Gleichgewicht mit der Elektronentransportrate von Wasser zu CO_2 unter Freisetzung von Sauerstoff. Die Steigung wird mit α_I bezeichnet und kann unter

Berücksichtigung des Chlorophyllgehalts als maximale Quantenausbeute der Photosynthese betrachtet werden. Wird die Photonenflussdichte weiter erhöht, so steigt die Photosyntheserate nicht mehr linear an. Die Photonenabsorptionsrate ist höher als die Rate des Elektronentransports und es tritt der Zustand der Lichtsättigung ein (2). In dieser Phase wird eine maximale Photosyntheserate P_{max} erreicht, welche schließlich mit steigender Photonenflussdichte in die Phase der Photoinhibition (3) übergeht (Grobbelaar 2010; Richmond und Hu 2004).

Die Photosynthese und damit das Wachstum von Mikroalgen sind stark von den umgebenden Lichtverhältnissen abhängig. Dabei spielt nicht nur die Stärke des Lichts, sondern auch die spektrale Eigenschaft der Lichtquelle eine entscheidende Rolle. Blaues und rotes Licht bieten den für die Photosynthese optimalen Wellenlängenbereich von etwa 400 bis 700 nm (Lebeau und Robert 2003; LI-COR 2009). Der Einstrahlwinkel sowie die Dauer der Bestrahlung (hell zu dunkel Verhältnis) sind darüber hinaus ebenfalls von Bedeutung (Tredici 2004). Bereits 1953 war der Einfluss von Photonenflussdichte, hell/dunkel (L/D) Fluktuationen sowie der Einfluss des Verhältnisses hell zu dunkel auf die Photosynthese bekannt (Kok 1953). Die Dauer oder Frequenz der Zyklen ist dabei stark speziesspezifisch und kann von 5 Hz bis zu 37 kHz reichen (Park und Lee 2000; Sforza *et al.* 2012). Durch eine Verringerung der Dauer der Hell- und Dunkelphasen von 3000/3000 ms über 20/20 ms auf 5/5 ms (gleiche Dauer der Hell/Dunkel-Phasen) lässt sich die maximale spezifische Wachstumsrate erhöhen (Chmiel 2011). Eine solche schnelle Abfolge von hellen und dunklen Phase, überwiegend im Millisekundenbereich, kann darüber hinaus die photosynthetische Effizienz steigern und wird als *Flashing-Light* bezeichnet. Dabei wird von den Algenzellen Energie in den hellen Reaktorbereichen gespeichert, welche in den Dunkelzonen zu Stoffwechselenergie abreagieren kann (Kaltschmitt *et al.* 2016). Dadurch können negative Folgen der Lichtsättigung oder Lichtlimitierung abgeschwächt werden (*Flashing-Light*-Effekt). Zur Anpassung an die unterschiedlichen Phasen, die für gewöhnlich während eines Kultivierungsprozesses durchlaufen werden, haben Mikroalgen zahlreiche Adaptionenmechanismen entwickelt, welche bereits in Kapitel 3.2.5 erläutert sind.

Zelldichte und Reaktorschichtdicke. In Zusammenhang mit der Bereitstellung des essentiellen Substrats Licht sind die Dichte einer Mikroalgenkultur sowie die Reaktorschichtdicke von Bedeutung. Die Lichtverfügbarkeit in einer Zellsuspension nimmt mit dem Abstand einer Zelle zur Lichtquelle sowie mit zunehmender Zelldichte ab. Suspensionsdichten, bei denen eine gegenseitige Beschattung der Zellen auftritt, sollten während eines Kultivierungsprozesses vermieden werden. Zellen der Population sollten dem Licht gleichermaßen ausgesetzt sein, da die Photonenflussdichte sonst limitierend wirken könnte (Lebeau und Robert 2003). Ist die Photonenflussdichte zu hoch, so kann eine Starklichthemmung des Photosyntheseapparats auftreten und es setzt der in Abbildung 3-10 (Phase 3) charakteristische Kurvenverlauf ein. Die Suspensionsdichte einer

Mikroalgenkultur sollte daher auf eine optimale Flächendichte (Gramm Algenbiomasse pro m²) eingestellt werden, bei der weder limitierende noch photoschädigende Effekte zu erwarten sind. Bei niedriger Flächendichte kann nicht die gesamte Strahlungsenergie ausgenutzt werden, sodass der Flächenertrag gering ist. Bei zu hoher Flächendichte beschatten die jeweils oben (außen) befindlichen Zellen die unten (innen) befindlichen Zellen (Soeder 1971). Anstelle der Photosynthese findet dann die unerwünschte Photorespiration statt, bei der organischer Kohlenstoff in CO₂ umgewandelt wird (Kapitel 3.2.4). Eine optimale Nutzung der Lichtenergie kann nach Soeder (1971) durch hohe Suspensionsdichten bei niedriger Reaktorschichtdicke erreicht werden. In der Praxis stellt die Bereitstellung der optimalen Lichtenergie eine effektive Methode zur Massenproduktion von Mikroalgen dar (Choi *et al.* 2003). Hohe Zelldichten können durch eine lumostatische Betriebsführung des Kultivierungsprozesses realisiert werden. Hierbei wird die auf eine Zellsuspension auftreffende Photonenflussdichte mit zunehmender Zelldichte schrittweise erhöht, um die spezifische Lichtaufnahme im Reaktor konstant zu halten. Die Lichtverfügbarkeit hängt dabei nicht nur von der Zelldichte sowie der Lichtquantität ab. Begasungsraten sowie die Fließgeschwindigkeit (Durchmischung und Turbulenz) spielen bei phototrophen Kultivierungsprozessen ebenfalls eine wichtige Rolle (Lebeau und Robert 2003).

Durchmischung. Die Durchmischung mikrobieller Kulturen dient der homogenen Verteilung von Zellen, Nährstoffen und der Temperatur. Dadurch sollen die Sedimentation von Zellen sowie die Bildung von Gas- und Nährstoffgradienten verhindert werden. Hohe Gasflussraten verbessern zudem den Massentransfer zwischen Gas- und Flüssigphase. Speziell bei der Kultivierung von Mikroalgen soll die Durchmischung geeignete Lichtverhältnisse schaffen. Lokale Turbulenzen führen zu einer Verteilung der Zellen innerhalb des Photobioreaktors, wodurch gut beleuchtete Volumenelemente auf der Reaktorvorderseite (lichtzugewandt) und weniger beleuchtete Volumenelemente auf der Reaktorrückseite (lichtabgewandt) von den Algenzellen zufällig durchströmt werden. Je höher die Gasflussrate ist, desto stärkere Turbulenzen ergeben sich. Jede Zelle ist somit statistischen Hell-/Dunkel-Zyklen ausgesetzt, wodurch der zuvor beschriebene *Flashing-Light*-Effekt begünstigt wird (Unterpunkt: Licht). Liegen ausreichend hohe Fluktuationen (mikroalgenspezifisch: > 10 – 1000 Hz) in der Photonenflussdichte vor, so können gesteigerte spezifische Wachstumsraten und Produktivität von Mikroalgenkulturen beobachtet werden (Fathurrahman *et al.* 2013; Jacobi und Posten 2012; Park und Lee 2000). Dabei muss ein Gleichgewicht zwischen optimaler Durchmischung und optimalem Energieeintrag sowie der Zerstörung der Zellen durch hydrodynamischen Stress oder Scherbeanspruchung gefunden werden (Eriksen 2008; Grobbelaar 2000; Grobbelaar 2010; Pires *et al.* 2012). Zur mathematischen Beschreibung von Photobioreaktoren oder zur modellbasierten Charakterisierung der

Reaktionskinetik wird in der Regel ein ideal durchmischter Photobioreaktor angenommen (vergleiche Kapitel 3.3.3).

Temperatur. Die Temperatur stellt einen entscheidenden Parameter für das Zellwachstum und die Metabolitsynthese dar. Mikroalgenmotilität (Flagellen) sowie genotypische und phänotypische Anpassungsmechanismen sind von der Temperatur abhängig. Auch chemische Transformationen und Transportprozesse durch oder innerhalb von Membranen werden von der Temperatur beeinflusst (Raven und Geider 1988). Darüber hinaus ist die katalytische Funktion von Enzymen wie RuBisCO von der Temperatur abhängig. RuBisCO ist maßgeblich an der Photosynthese beteiligt und kann bei suboptimalen Temperaturen wachstumslimitierend wirken (Berry und Bjorkman 1980; Li 1980; Li *et al.* 1984). Die Enzymaktivität steigt in der Regel mit erhöhter Temperatur bis ein Optimum erreicht ist. Temperaturen oberhalb des Optimums verursachen Hitzestress und resultieren in einem Verlust der Enzym- oder Proteinaktivität, wodurch das Mikroalgenwachstum vermindert wird (Renaud *et al.* 2002; Salvucci und Crafts-Brandner 2004). Jede Mikroalgenpezies bevorzugt ein Temperaturoptimum, bei dem das Wachstum optimal ist. Abhängig von anderen Wachstumsbedingungen können extreme Temperaturen oberhalb oder unterhalb des Optimums von den Mikroorganismen toleriert werden. Die meisten Algen wachsen im Temperaturbereich zwischen 16 und 27 °C am besten (Lebeau und Robert 2003). Ähnlich wie Licht, ist auch der Einfluss der Temperatur von der Suspensionsdichte abhängig (Soeder 1971). Wird der optimale Temperaturbereich während eines Kultivierungsprozesses nicht gewährleistet, so können der Zellmetabolismus und damit der Produktionsprozess beeinträchtigt sein.

3.4 Modellierung des phototrophen Wachstums

Phototrophe Mikroorganismen nutzen Licht als primäre Energiequelle für ihren Metabolismus. Das Mikroalgenwachstum sowie Veränderungsvorgänge in der Zelle werden maßgeblich durch das Hauptsubstrat beeinflusst. Für ein besseres Verständnis, wie sich Licht in einem Reaktor verteilt und welche Auswirkungen die Lichtverfügbarkeit auf das Mikroalgenwachstum in Photobioreaktoren hat, werden unterstützende Modellierungsansätze herangezogen. Die Modellierung des lichtabhängigen Mikroalgenwachstums hilft dabei, den Verlauf phototropher Prozesse abzuschätzen. Ihre Verwendung kann eine Verbesserung der Prozessführung unterstützen (Aiba 1982; Evers 1991; Rabe und Benoit 1962).

3.4.1 Definition von Licht

Phototrophe Mikroorganismen nutzen Licht als primäre Energiequelle für die Photosynthese. Licht setzt sich aus elektromagnetischen Wellen zusammen und wird meist als der für das menschliche Auge sichtbare Teil des elektromagnetischen Spektrums definiert. Lichtwellen breiten sich im

Vakuum mit einer Geschwindigkeit von $2,997 \cdot 10^8 \text{ m s}^{-1}$ aus und werden anhand der Wellenlänge λ oder der Frequenz ν charakterisiert:

$$\nu = \frac{c}{\lambda} \quad \text{Gleichung 3-16}$$

Mit	ν	Frequenz; Anzahl an Schwingungen pro Sekunde, Hz
	c	Lichtgeschwindigkeit, $2,997 \cdot 10^8 \text{ m s}^{-1}$
	λ	Wellenlänge, nm

Der sichtbare Bereich der Sonnenenergie umfasst den spektralen Wellenlängenbereich zwischen 380 und 750 nm und beinhaltet etwa 45–50 % der eingestrahnten Sonnenenergie. Er wird von Mikroalgen zur Photosynthese genutzt und gilt daher auch als photosynthetisch aktive Strahlung (PAR, englisch für *photosynthetically active radiation*) im Wellenlängenbereich zwischen 400 und 700 nm. Nach der Quantentheorie besteht Licht aus Photonen, welche als Träger der elektromagnetischen Strahlung aufgefasst werden können. Die einfallende Lichtmenge wird demnach als Photonenflussdichte bezeichnet und gibt die Menge an Photonen (μmol), die pro Flächeneinheit (m^2) und Zeiteinheit (s^{-1}) auf eine Mikroalgenkultur auftrifft, wieder. Für die Photosynthese ist die Anzahl an Photonen entscheidend, die von einer Zelle absorbiert werden. Pro fixiertem Kohlenstoffdioxidmolekül müssen etwa 8 bis 10 Photonen aufgenommen werden (Nobel 1991). Dabei werden Photonen zwischen 400 und 700 nm unabhängig von der Wellenlänge mit ähnlicher Effizienz für die Photosynthese verwendet. Photosynthetische Pigmente absorbieren die Energie der Photonen und leiten sie an die Reaktionszentren weiter. Der Energiegehalt eines einzelnen Lichtquanten (Photons) E wird durch das Produkt aus Lichtfrequenz und Plank'sches Wirkungsquantum h definiert:

$$E = h \cdot \nu = h \cdot \frac{c}{\lambda} \quad \text{Gleichung 3-17}$$

Mit	E	Energiegehalt eines Photons, J
	h	Plank'sches Wirkungsquantum, $6,63 \cdot 10^{-34} \text{ Js}$

Häufig wird die Lichtmenge auch als Lichtenergie in der Energieeinheit W m^{-2} angegeben. Die Umrechnung der integralen Quanteneinheit in Energieeinheit ist sehr spezifisch und abhängig von der spektralen Zusammensetzung des Lichts. Durchschnittlich entspricht 1 W m^{-2} etwa $4,7 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Nobel 1991; Masojidek *et al.* 2013).

3.4.2 Lichtabschwächung im Flachplattenphotobioreaktor

Für die Produktion und Nutzung von Mikroalgenbiomasse zur Herstellung hochwertiger intrazellulärer Produkte werden häufig Flachplattenphotobioreaktoren eingesetzt. Flachplattenphotobioreaktoren bestehen aus zwei lichtdurchlässigen Platten, die in einem

definierten Abstand den Reaktionsraum begrenzen. Der Leistungseintrag erfolgt dabei durch eine Begasung über den Fußraum des Reaktors. Flachplattenphotobioreaktoren zählen somit zu den Blasensäulenreaktoren, welche im sogenannten *gas-lift*-Verfahren betrieben werden. Hohe Zelldichten oder Reaktorschichtdicken verursachen in solchen Photobioreaktoren oft Effekte wie Beschattung oder Lichtstreuung, weshalb die Massenkultivierung von Mikroalgen häufig lichtlimitiert ist (Soeder 1971). Aufgrund der unterschiedlichen Verteilung der Algenbiomasse im Reaktor variiert die Photonenflussdichte innerhalb des Photobioreaktors. Insbesondere die Lichtabsorption durch photosynthetische Pigmente und Lichtstreuung an der gesamten Mikroalgenzelle oder an Reaktorkomponenten führen zu einer räumlichen Lichtverteilung im Reaktor (Evers 1991; Rabe und Benoit 1962). Diese lässt sich nur schwer vorhersagen (Choi *et al.* 2003; Yun und Park 2003). Um dennoch eine Abschätzung vornehmen zu können, werden häufig modellgestützte Ansätze für eine mathematische Beschreibung der Lichtverteilung in Photobioreaktoren angewandt (Huesemann *et al.* 2013; Lee *et al.* 1987; Rabe und Benoit 1962). Hierfür ist es notwendig, den Zusammenhang zwischen dem phototrophen Metabolismus und den reaktorspezifischen Besonderheiten wie dem Lichttransfer im Reaktor detailliert zu charakterisieren (Cornet *et al.* 1992a; Cornet *et al.* 1992b; Cornet *et al.* 1994; Lee *et al.* 1987; Yun und Park 2003).

Licht wird mit zunehmender Schichtdicke S eines Photobioreaktors abgeschwächt. Die Lichtabschwächung im Reaktor wird in einer Mikroalgenkultur auch als *Beschattungseffekt* bezeichnet (Cornet *et al.* 1992a; Hoopen *et al.* 1981; Sorokin und Krauss 1958). Trifft Licht mit einer einfallenden Photonenflussdichte I_0 auf die Reaktoroberfläche auf, so können, wie in Abbildung 3-11 schematisch für einen Flachplattenphotobioreaktor veranschaulicht ist, mehrere Lichtzonen innerhalb des Reaktors unterschieden werden (Cornet *et al.* 1992a; Grobbelaar 2010). Im vorderen Teil des Reaktors ist die Photonenflussdichte am höchsten und die Zellen können photoschädigenden Effekten ausgesetzt sein (A). Mit zunehmender Schichtdicke wird das einfallende Licht abgeschwächt, bis im mittleren Reaktorbereich eine photogesättigte Zone vorliegt (B). Hier ist das Mikroalgenwachstum $\mu(s)$ maximal. Auf der lichtabgewandten Seite des Reaktors (Rückseite), wird das einfallende Licht noch weiter abgeschwächt, weshalb sich Zellen in dieser Zone an lichtlimitierte Bedingungen adaptieren müssen (C). Das Mikroalgenwachstum ist limitiert und austretendes Licht I ist geringer als das einfallende Licht I_0 .

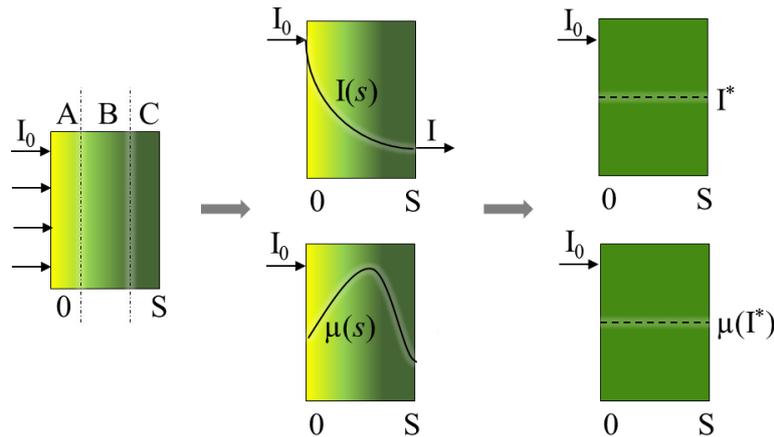


Abbildung 3-11: Schematische Darstellung der Lichtabschwächung innerhalb eines Flachplattenphotobioreaktors mit der Schichtdicke S (Franco-Lara *et al.* 2006; Molina Grima *et al.* 1994).

Trifft Licht mit der einfallenden Photonflussdichte I_0 auf einen Reaktor auf, so bilden sich mehrere Lichtzonen innerhalb des Reaktors aus: **A** photoinhibierte, **B** photogesättigte, **C** photonlimitierte Schicht (Grobelaar, 2010). Einfallendes Licht (I_0) wird auf ein austretendes Licht (I) mit im Vergleich niedrigerer Photonflussdichte abgeschwächt. Dieser Abfall kann mit der Funktion $I(s)$ beschrieben werden. Nachdem die Wachstumsrate von den Umgebungsbedingungen abhängig ist, kann auch für den Verlauf der Wachstumsrate innerhalb des Bioreaktors eine lokale Abhängigkeit $\mu(s)$ erwartet werden. Unter der Annahme, dass die Biomasse im gesamten Reaktor gleichmäßig verteilt ist, ist die Angabe eine integrale Photonflussdichte I^* (beziehungsweise $\mu(I^*)$) möglich.

Die innerhalb eines Flachplattenphotobioreaktors auftretende Lichtabschwächung kann als Funktion der Schichtdicke $I(s)$ beschrieben werden. Für gewöhnlich wird das Gesetz von Lambert und Beer als Modell zur Beschreibung der Lichtabschwächung in einem Photobioreaktor herangezogen (Lee *et al.* 1987; Martínez *et al.* 1997; Rorrer und Mullikin 1999):

$$I(s) = I_0 \cdot e^{-\varepsilon \cdot c_x \cdot s} \quad \text{Gleichung 3-18}$$

Mit	I_0	auf die Reaktoroberfläche einfallende Photonflussdichte, $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$
	I	auf der Reaktorrückseite austretende Photonflussdichte, $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$
	ε	Extinktionskoeffizient, $\text{L m}^{-1} \text{g}_{\text{BTM}}^{-1}$
	c_x	Biomassekonzentration im Reaktor, g L^{-1}
	s	Schichtdicke, m

Daneben existieren weitere Modelle wie das Gesetz von Reynolds und Pacala (1993) (Gleichung 3-19) oder ein von Franco-Lara *et al.* (2006) modifiziertes Lambert-Beer'sches Modell (Gleichung 3-20), welche für die Beschreibung der Lichtabschwächung im Reaktor eingesetzt werden können:

$$I(s) = I_0 \frac{1}{1 + e^{-\varepsilon \cdot c_x \cdot s}} \quad \text{Gleichung 3-19}$$

$$I(s) = I_0 \cdot e^{-\varepsilon \cdot \sqrt{c_x} \cdot s} \quad \text{Gleichung 3-20}$$

Den drei Abschwächungsmodellen ist gemeinsam, dass der charakteristische Extinktionskoeffizient ε nur das Phänomen der Lichtabsorption berücksichtigt. Effekte der Lichtstreuung werden dagegen vernachlässigt. Sollen Streulichteffekte im Bioreaktor, insbesondere bei dichten Zellkulturen, mit einbezogen werden, so stehen weitere Modelle zur Verfügung (Acién Fernández *et al.* 1997; Aiba 1982; Cornet *et al.* 1992a; Cornet *et al.* 1992b; Cornet *et al.* 1994). Unter den Modellen, welche beide Phänomene berücksichtigen, ist die von Cornet *et al.* (1992a) beschriebene Hypothese nach Schuster (1905) algebraisch lösbar:

$$I(s) = I_0 \cdot \frac{4\alpha}{(1 + \alpha)^2 \cdot e^{\delta \cdot c_x \cdot s} - (1 - \alpha)^2 \cdot e^{-\delta \cdot c_x \cdot s}} \quad \text{Gleichung 3-21}$$

Die beiden Koeffizienten α und δ sind folgendermaßen definiert:

$$\alpha = \sqrt{\frac{E_a}{(E_a + E_s)}} \quad \text{Gleichung 3-22}$$

$$\delta = \sqrt{E_a \cdot (E_a + E_s)} \quad \text{Gleichung 3-23}$$

Mit E_a Lichtabsorptionskoeffizient
 E_s Lichtstreckoeffizient

Schusters Modell schließt zwei unabhängige Parameter mit ein. Den Lichtabsorptionskoeffizienten E_a und den Lichtstreckoeffizienten E_s . E_s berücksichtigt Änderungen in der Biomassekonzentration sowie der Zellzusammensetzung und soll dadurch die Genauigkeit des Modells verbessern (Cornet *et al.* 1992a).

3.4.3 Mittlere integrale Photonenflussdichte im Flachplattenphotobioreaktor

Wie in Kapitel 3.4.2 beschrieben, ist Licht in einem Photobioreaktor sehr inhomogen verteilt. Für bestimmte Anwendungen wie der Charakterisierung oder Modellierung der Reaktionskinetik des lichtabhängigen Wachstums phototropher Mikroorganismen muss die im Reaktor zur Verfügung stehende Photonenflussdichte allerdings klar definiert sein. Daher werden häufig sogenannte integrale Photonenflussdichten berechnet, welche eine durchschnittliche, über die gesamte Reaktorschichtdicke vorliegende Photonenflussdichte abschätzend wiedergeben (Acién Fernández *et al.* 1997; Cornet *et al.* 1992a; Rorrer und Mullikin 1999; Yun und Park 2003):

$$I^* = \frac{1}{S} \int_0^S I(s) ds \quad \text{Gleichung 3-24}$$

Die integrale Photonenflussdichte I^* beschreibt die Photonenflussdichte in der Kultivierkammer nur unter der Annahme, dass die Biomasse im gesamten Reaktorvolumen gleichmäßig verteilt. Für das Gesetz nach Lambert und Beer ist sie wie folgt definiert:

$$I^* = \frac{I_0}{\varepsilon \cdot c_x \cdot S} \cdot (1 - e^{-\varepsilon \cdot c_x \cdot S}) \quad \text{Gleichung 3-25}$$

Für Schusters Hypothese ergibt sich folgende integrale Photonenflussdichte:

$$I^* = \frac{2 \cdot I_0}{\delta \cdot c_x \cdot S} \cdot \left(\frac{e^{\delta \cdot c_x \cdot S} - 1}{e^{\delta \cdot c_x \cdot S} - \alpha + \alpha \cdot e^{\delta \cdot c_x \cdot S} + 1} \right) \quad \text{Gleichung 3-26}$$

Die so ermittelten integralen Photonenflussdichten sind ein vielversprechender Ansatz, um die Auswirkungen von Licht auf das Mikroalgenwachstum in einem Photobioreaktor verstehen und interpretieren zu können. Basierend auf der durchschnittlichen Photonenflussdichte im Bioreaktor lassen sich kinetische Wachstumsmodelle ableiten, die dabei unterstützen können, den kinetischen Zusammenhang zwischen der spezifischen Wachstumsrate und der auf die Reaktoroberfläche auftreffenden Photonenflussdichte mathematisch beschreiben zu können.

3.4.4 Kinetische Wachstumsmodelle und Modellvergleich

Für die Untersuchung der Reaktionskinetik des lichtabhängigen Wachstums phototropher Mikroorganismen stehen verschiedene kinetische Wachstumsmodelle zur Verfügung (Kapitel 3.3.2, Tabelle 3-1). Zusammen mit dem Ansatz der integralen Photonenflussdichten kann damit der kinetische Zusammenhang zwischen der Lichtverfügbarkeit im Reaktor und dem davon abhängigen Wachstumsverhalten von Mikroalgen charakterisiert werden. Um eine Auswahl zu treffen, welches der Modelle unter den verwendeten die experimentellen Daten am besten beschreibt, steht neben Standardabweichungen und Konfidenzintervallen auch Akaike's Informationskriterium für einen Modellvergleich zur Verfügung (Motulsky und Christopoulos 2004). Das Kriterium basiert auf der Informationstheorie und lässt den Schluss zu, welches Modell das zutreffendere der untersuchten ist. Es gibt keine Information über die absolute Qualität des Modells, sondern beurteilt Modelle immer relativ zueinander:

$$AIC = N \cdot \ln \left(\frac{SS}{N} \right) + 2K \quad \text{Gleichung 3-27}$$

SS ist die Summe der Fehlerquadrate zwischen experimentellen und vorhergesagten Daten. Ist die Anzahl an Datenpunkten N klein im Vergleich zur Anzahl an Parametern K , welche angepasst werden plus 1, so wird AIC zu klein und es sollte ein korrigiertes Informationskriterium AIC_c (corrected AIC) herangezogen werden:

$$AIC_c = AIC + \frac{2K(K+1)}{(N-K-1)} \quad \text{Gleichung 3-28}$$

Das Modell, welches den kleineren Wert für AIC_c ergibt, ist das Modell, welches die experimentellen Daten am besten beschreibt im Vergleich zu den anderen untersuchten Modellen. Die Werte können dabei positiv oder negativ sein.

4 Material und Methoden

In den nachfolgenden Kapiteln werden die für vorliegende Arbeit wesentlichen Methoden sowie die dafür verwendeten Materialien und Gerätschaften beschrieben. Eine Auflistung aller allgemein genutzten Apparaturen und Chemikalien ist im Anhang gegeben (Kapitel A.1).

4.1 Mikroorganismen und Stammhaltung

Die beiden in dieser Arbeit verwendeten *Scenedesmus* spec wurden von Frau Dr. Mundt vom Institut für Pharmazie (Pharmazeutische Biologie) der Ernst-Moritz-Arndt Universität in Greifswald zur Verfügung gestellt.

4.1.1 *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80

Scenedesmus ovalternus SAG 52.80 wurde von der Sammlung von Algenkulturen (SAG 2016) der Universität Göttingen bezogen. Der phototrophe Mikroorganismus gehört zu den Grünalgen (Chlorophyta) und ist eine elliptische oder spindelförmige Mikroalge mit Abmessungen bis zu 13 x 9 µm (Länge x Breite). Die Zellen treten meist in Form von Kolonien, bestehend aus zwei, vier, acht oder sechzehn Zellen, auf (Abbildung 4-1). *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 gilt als weitestgehend unerforscht (Protist Information Server 2016).

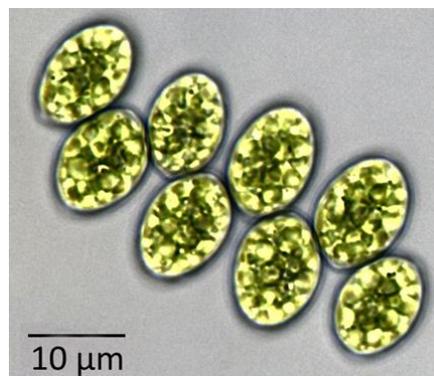


Abbildung 4-1: Lichtmikroskopische Aufnahme der Mikroalge *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 (Hellfeld, 100x Vergrößerung).

4.1.2 *Scenedesmus obtusiusculus*

Bei dem Mikroalgenstamm *Scenedesmus obtusiusculus* handelt es sich um ein Eigenisolat (Ostsee) des Instituts für Pharmazie (Pharmazeutische Biologie) der Ernst-Moritz-Arndt Universität (Schulze *et al.* 2016). Die Mikroalge gehört ebenfalls zur Abteilung der Chlorophyta und liegt meist als Einzeller vor, wobei die Größe stark variabel ist (Abbildung 4-2). In Coahuila, Mexiko, existiert ein weiteres Isolat dieser Grünalge, welches taxonomisch als *Scenedesmus obtusiusculus* eingeordnet wurde. Der Stamm der mexikanischen Gruppe zeichnet sich durch eine hohe CO₂-Fixierungsrate, eine hohe Biomasseproduktivität sowie durch eine hohe Lipidbildung mit bis zu 55 % (w/w) der Biotrockenmasse aus (Toledo-Cervantes *et al.* 2013). Das in dieser Arbeit

verwendete Eigenisolat des Projektpartners aus der Ostsee ist dagegen neu und weitestgehend unerforscht.



Abbildung 4-2: Lichtmikroskopische Aufnahme der Mikroalge *Scenedesmus obtusiusculus* (Hellfeld, 100x Vergrößerung).

4.1.3 Stammhaltung

Die Stammhaltung beider Mikroalgenstämme erfolgte bei Raumtemperatur (RT) und Laborlicht in Flüssigkulturen (100 mL in 250 mL-Kulturkolben). Die vom Projektpartner zur Verfügung gestellten Stämme wurden dazu in steriles BG-11 Medium (Kapitel 4.2) überführt und alle 3-4 Monate in frisches Medium überimpft. Aufgrund ausgeprägter Sedimentation wurden die Kulturen einmal täglich durch manuelles Schwenken der Kulturkolben resuspendiert.

4.2 Kulturmedium

Zur Stammhaltung der beiden *Scenedesmus* spec. sowie für alle Kultivierungsprozesse im Satzverfahren wurde ein Medium für blaugrüne Algen (BG-11) nach Waterbury und Stanier (1981) verwendet. Die Spurenelementlösung für das BG-11 Medium wurde nach Kuhl und Lorenzen (1964) angesetzt. Die genaue Zusammensetzung ist im Anhang in den Tabellen Tab. A-5 und Tab. A-6 beschrieben. Zur Vermeidung chemischer und thermischer Reaktionen der Medienkomponenten wurde von allen Bestandteilen des Grundmediums (Tab. A-5) jeweils eine konzentrierte Lösung hergestellt, welche anschließend sterilfiltriert (0,22 µm) und bei 4 °C gelagert wurde. Die Komponenten der Spurenelementlösung (Tab. A-6) wurden ebenfalls als einzelne konzentrierte Lösungen sterilfiltriert und zu einer angereicherten Spurenelementlösung vereint. Zur Herstellung des BG-11 Mediums wurde vollentsalztes Wasser (VE-H₂O) durch Autoklavieren (121 °C, 20 min) sterilisiert. Anschließend wurden unter aseptischen Bedingungen die sterilen, konzentrierten Medienbestandteile hinzugefügt und das finale Volumen eingestellt.

4.3 Kultivierung von Mikroalgen

Kultivierungsprozesse im Labormaßstab wurden zweistufig durchgeführt: Die Vorkulturherstellung erfolgte in licht- und temperaturkontrollierten parallelen

Blasensäulenreaktoren (200 mL). Die nachfolgende Hauptkultivierung wurde in automatisierten Flachplattenphotobioreaktoren (1,8 L) im Satzverfahren durchgeführt. Kultivierungsprozesse im Pilotmaßstab erfolgten dagegen vierstufig: Hierbei kamen parallele Blasensäulenreaktoren sowie Flachplattenphotobioreaktoren (1,8 L) zur Mikroalgenanzucht zum Einsatz. Das Hauptinokulum wurde aufgrund des hohen Biomassebedarfs in offenen Photobioreaktoren des Typs *Flaches Schräggerinne FSG 1* hergestellt und für Experimente im Pilot-Flachplattenphotobioreaktor (300 L) eingesetzt. Die verwendeten Algenbioreaktoren sowie die genaue Versuchsdurchführung werden im Folgenden beschrieben. Detailbeschreibungen einzelner Anlagenkomponenten sowie eine genaue Auflistung der für die verschiedenen Algenbioreaktoren eingesetzten Bauteile, Gerätschaften und Computerprogramme sind im Anhang (Kapitel A.3) gegeben.

4.3.1 Vorkulturherstellung in Blasensäulenreaktoren

Für die Vorkulturherstellung zur reaktionstechnischen Charakterisierung verschiedener Mikroalgenstämme wurde ein temperatur- und lichtkontrolliertes Blasensäulenreaktorsystem eingesetzt (Altenbach-Rehm *et al.* 1999; Havel *et al.* 2008). Eine schematische Darstellung des Systems ist in Abbildung 4-3 gegeben. Der Aufbau eines Blasensäulenreaktors kann dem Anhang (Abb. A-1) entnommen werden.

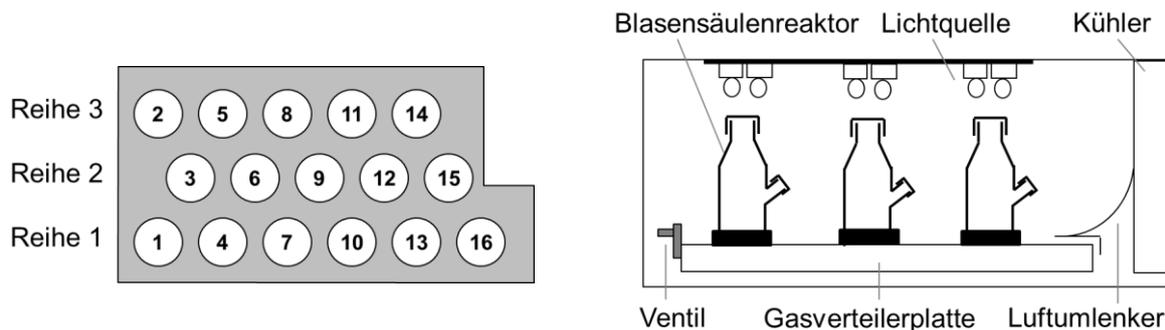


Abbildung 4-3: Schematische Darstellung der Blasensäulenverteilung im Inkubator (Aufsicht) sowie des seitlichen Querschnitts des parallelen Blasensäulensystems (nach Havel 2006).

Der modifizierte Inkubator (Profors, Infors HT, Bottmingen, Schweiz) bietet Platz für den Parallelbetrieb von bis zu 16 Blasensäulenreaktoren. Jeder Blasensäulenreaktor wird dabei individuell mit Gas versorgt ($\sim 10 \text{ L h}^{-1}$). Dies ermöglicht eine Gasverteilerplatte, an der für jede Blasensäule ein separates Ventil zur Steuerung des Gasvolumenstroms angebracht ist. Die Zusammensetzung des Gases (5 % v/v CO_2 , 95 % v/v Luft) wird extern über eine Gasmischstation (WMR 4000, Westphal, Brooks Instrument GmbH, Dresden) gesteuert und geregelt. Als Lichtquelle ($100 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) dient eine Kombination aus den Leuchtstoffröhren Fluora L77 (30 W, Osram, München) und Sun-Glo (30 W, Hagen, Holm). Die zugehörige spektrale Energieverteilung ist in Abbildung 4-4 dargestellt.

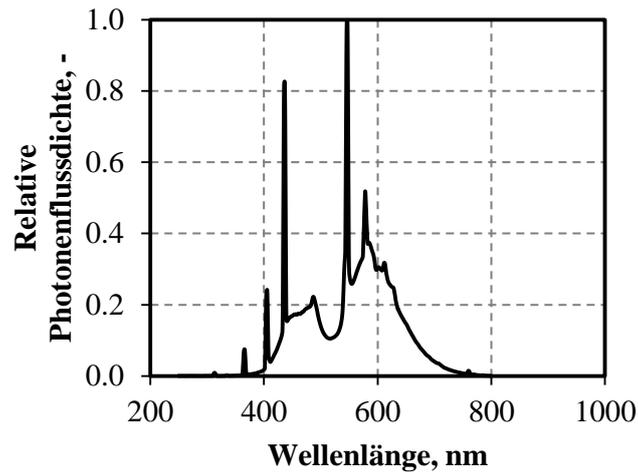


Abbildung 4-4: Spektrale Energieverteilung der Leuchtstoffröhrenkombination des Blasensäuleninkubators.

Die Temperierung des Inkubators (25 °C) erfolgt über ein externes Kühlthermostat, welches den Wärmetauscher des Inkubators bedient. Luftumlenker sorgen für eine gleichmäßige Verteilung der temperierten Luft im Inkubator.

Zur Vorkulturherstellung wurden leere Blasensäulenreaktoren im Autoklaven sterilisiert (121 °C, 20 min) und anschließend unter sterilen Bedingungen mit dem in Tab. A-5 beschriebenen Medium (200 mL BG-11) befüllt. Als Inokulum dienten 2 bis 5 mL der jeweiligen Stammkultur (Kapitel 4.1). Während des Betriebs des Blasensäulenreaktorsystems wurde auf eine homogene Gasblasenverteilung im Reaktor geachtet. Verdunstungseffekte wurden bei Bedarf manuell über einen sterilen Spritzenvorsatzfilter (0,22 µm) mit BG-11 Medium ausgeglichen. Der pH wurde nicht kontrolliert. Die Inokulumsernte erfolgte innerhalb der exponentiellen Wachstumsphase, wobei der Vorkulturansatz ohne weitere Vorbehandlung über Einwegspritzen in die Flachplattenphotobioreaktoren überführt wurde.

4.3.2 Satzprozess im Flachplattenphotobioreaktor im Labormaßstab

Zur reaktionstechnischen Charakterisierung der beiden Mikroalgenstämme wurden Satzprozesse in einem automatisierten Flachplattenphotobioreaktor im Labormaßstab (Labfors 5 LUX, Infors HT, Bottmingen, Schweiz) durchgeführt. Das in dieser Arbeit verwendete Reaktorsystem wurde von Infors HT speziell für die Kultivierung von phototrophen Mikroorganismen entwickelt. Im Gegensatz zu einem klassischen Rührkesselreaktor besteht ein solcher Reaktor aus einem flachen Kultivierungsgefäß, welches in eine Kultivierkammer (lichtzugewandte Seite; Vorderseite) und in eine Temperierkammer (lichtabgewandte Seite, Rückseite) unterteilt wird. Die Trennscheibe der beiden Kammern sowie die Vorder- und Rückseite des Flachplattenphotobioreaktors besteht aus 5,5 mm dickem Borsilikatglas (gehärtetes Sicherheitsglas). Daneben soll eine geringe Schichtdicke von 2 cm in der Kultivierkammer eine möglichst optimale Lichtausnutzung gewährleisten. Ein Überblick über den Versuchsaufbau ist in Abbildung 4-5 gegeben.

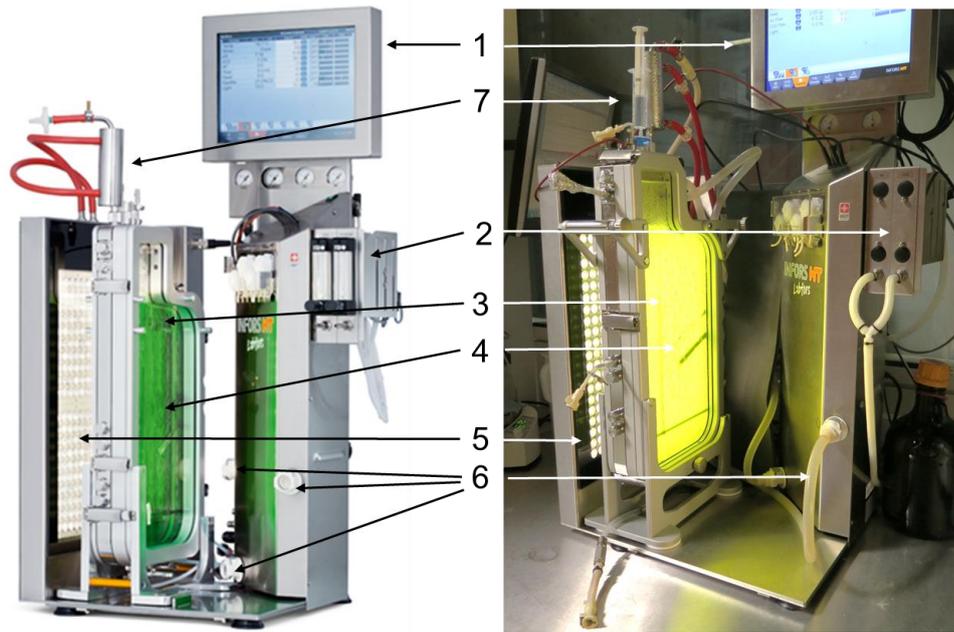


Abbildung 4-5: Versuchsaufbau zur Mikroalgenkultivierung im Satzprozess im Labormaßstab (1,8 L) als schematische (Infors HT) und fotografische Darstellung des Labfors 5 LUX Flachplatten-photobioreaktorsystems.

- | | |
|----------------------------------|--------------------------------------|
| 1 Bedieneinheit | 5 LED-Bestrahlungseinheit |
| 2 Massendurchflussregler | 6 Anschlüsse für die Temperierkammer |
| 3 Kultivierungsgefäß | 7 Abgaskühler |
| 4 pH- und pO ₂ -Sonde | |

Über die Bedieneinheit (1) ist eine Steuerung von relevanten Reaktionsbedingungen wie pH, Temperatur, Photonenflussdichte und Gasvolumenstrom möglich. Alternativ kann eine Prozessüberwachung mit Hilfe der Bediensoftware IRIS (Infors HT) realisiert werden. Diese erlaubt gleichzeitig eine Verlaufsdocumentation prozessrelevanter Größen. Die Temperierung des Kulturmediums wird über eine separate Temperierkammer durch Wärmeaustausch über die gesamte Fläche der Kultivierkammer (3) realisiert (6). Für die Messung des pH und der Gelöstsauerstoffkonzentration stehen eine pH- sowie pO₂-Sonde zur Verfügung (3). Eine LED-Bestrahlungseinheit (5) mit 260 warmweißen Hochleistungsleuchtdioden erlaubt eine Bestrahlung im sichtbaren Wellenlängenbereich (400 nm bis 800 nm) mit Eingangsphotonenflussdichten I_0 zwischen 0 und 4200 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (0 – 100 %) in Schritten von 4,2 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (0,1 %). Die zugehörige spektrale Lichtverteilung ist in Abbildung 4-6 dargestellt.

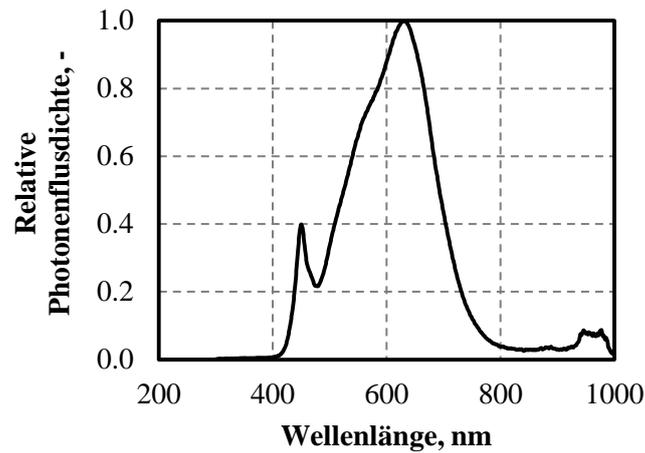


Abbildung 4-6: Spektrale Energieverteilung der LED-Bestrahlungseinheit des Labfors 5 LUX Flachplattenphotobioreaktors.

Wie in Abbildung 4-7 schematisch gezeigt ist, wird der Flachplattenphotobioreaktor als Blasensäule mit integriertem Umlauf (*gas-lift*-Reaktor mit Strömungsleitblech) betrieben.

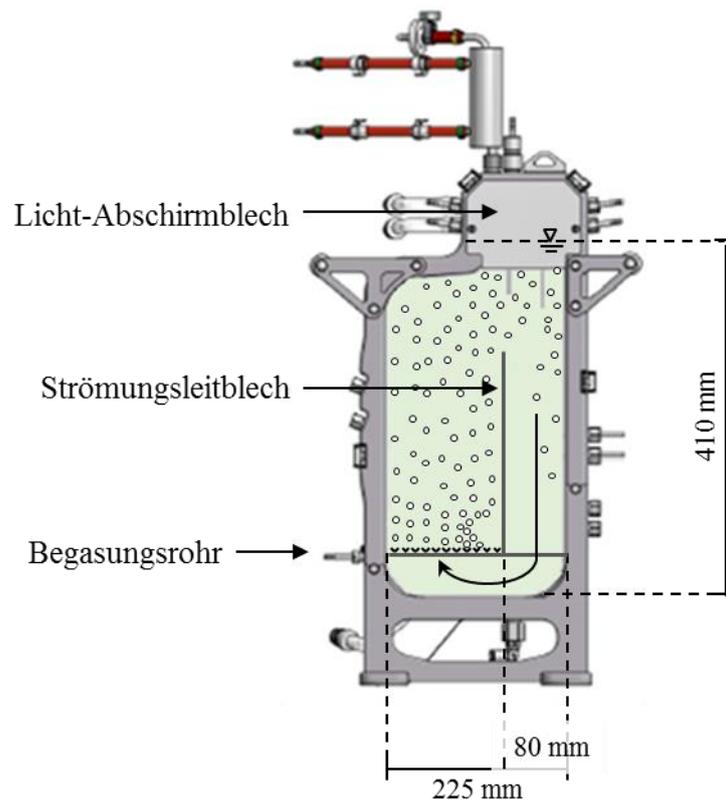


Abbildung 4-7: Schematische Abbildung der Kultivierkammer eines Flachplattenphotobioreaktors Labfors 5 LUX (Arbeitsvolum: 1,8 L; Photosynthetisch aktive Fläche: 0,09 m²; L: 225 mm, B: 20 mm, H: 410 mm). Der Photobioreaktor wird als Blasensäule mit integriertem Umlauf betrieben. Die Begasung (CO₂-Luft, kontinuierlich) erfolgt über ein Begasungsrohr im Fußraum des Reaktors (Ø: 6 mm; 14 Poren mit je 0,4 mm Ø). Ein Strömungsleitblech (L: 1 mm, B: 19,3 mm, H: 253 mm) teilt die Kultivierkammer in zwei Bereiche: aufsteigende Gasblasen führen zu einem Auftrieb der Algensuspension im begasten Bereich; im nicht begasten Bereich sinkt die Algensuspension wieder ab (Umlauf). Ein auf der Frontplatte des Kultivierungsgefäßes befestigtes Licht-Abschirmblech soll eine Biofilmbildung im Kopfraum des Reaktors reduzieren.

Hierzu wird ein Gasgemisch bestehend aus CO₂ und Luft über ein Begasungsrohr von unten in die Kultivierungskammer eingetragen. Mit einer Breite von 225 mm, einer Kultivierungshöhe von 410 mm und einer Schichtdicke von 20 mm beträgt das Arbeitsvolumen etwa 1,8 L (0,09 m² photosynthetisch aktive Fläche). Das Begasungsrohr, über das der Gaseintrag erfolgt, hat einen Durchmesser von 6 mm und enthält 14 Bohrungen mit einem Porendurchmesser von jeweils 0,4 mm. Ein Strömungsleitblech (L: 1 mm, B: 19,3 mm, H: 253 mm) teilt die Kultivierkammer in zwei Bereiche: auf der begasten Seite werden Gasblasen nach oben geleitet und somit ein Auftrieb der Algensuspension induziert. Überschüssiges Gas kann über den Kopfraum des Reaktors entweichen. Auf der nicht begasten Seite entsteht ein Strömungsumlauf, wodurch es zu einem Abstieg der Flüssigkeit und somit zur Durchmischung der Algensuspension im Bioreaktor kommt. Neben der Durchmischung ermöglicht die Begasung (2 NL min⁻¹) auch eine pH-Kontrolle durch automatisierte Anpassung des CO₂-Gehalts im Gasgemisch. Die Einstellung der Gaszusammensetzung (0 % v/v bis 10 % v/v CO₂) erfolgt über zwei Massendurchflussregler (2, Abbildung 4-5). Ein Licht-Abschirmblech am Gefäßkopf des Reaktors dient dazu, die Bildung von Schaum oder Biofilm im Kopfraum der Kultivierkammer zu reduzieren.

Die Satzprozesse zur Charakterisierung der in dieser Arbeit eingesetzten *Scenedesmus spec.* wurden mit dem in Tab. A-5 beschriebenen Medium (BG-11) durchgeführt. Aufgrund von Temperaturkatalysierten chemischen Reaktionen der Medienbestandteile erfolgte die Sterilisation des Reaktors im Autoklaven (121 °C, 20 min) mit einer Kaliumchloridlösung. Im Anschluss an die Sterilisation wurde die KCl-Lösung aus der Kultivierungskammer entfernt und BG-11 Medium über eine Mediovorlageflasche steril in den Reaktor überführt. Nach Einstellen der Prozessbedingungen (20–40 °C, pH 7–10, 102–3794 μmol Photonen m⁻² s⁻¹) erfolgte die Zugabe des Inokulums. Zusammen mit dem Inokulum wurde jeweils ein Anfangsvolumen von 1,8 L und eine Biomasseanfängskonzentration von 0,08 g_{BTM} L⁻¹ realisiert. Verdunstungseffekte sowie Probenahmen während der Satzprozesse wurden manuell mit BG-11 Medium ausgeglichen.

4.3.3 Vorkulturherstellung im offenen Photobioreaktor

Vorkulturen zur Inokulation des Pilot-Flachplattenphotobioreaktors im 300 L-Maßstab wurden in einem dreistufigen Prozess gewonnen. In einem ersten Schritt wurde eine Mikroalgenkultur in Blasensäulenreaktoren, wie in Kapitel 4.3.1 beschrieben, im Satzverfahren angezogen. Nach einer Kultivierungsdauer von sieben Tagen wurde der gesamte Inhalt einer Blasensäule für eine drei- bis viertägige Satzkultivierung bei 1200 μmol Photonen m⁻² s⁻¹, 30 °C, pH 7,5 oder pH 8,0 in 1,8 L-Flachplattenphotobioreaktoren überführt. Dieser Schritt fand ebenfalls unter sterilen Bedingungen statt (Kapitel 4.3.2), um eine Kontamination der Kultur im Pilot-Flachplattenphotobioreaktor möglichst gering zu halten. Die so gewonnene Algensuspension wurde zur Herstellung des Hauptinokulums in einem weiteren Schritt in ein offenes Photobioreaktorsystem gegeben. Dabei

handelte es sich um ein sogenanntes *Flaches Schrägerinne FSG 1*, das von Herrn Dipl.-Ing. Dipl.-Wirt.Ing. Andreas Apel am Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik der Technischen Universität München entwickelt wurde. Der Reaktor wurde in einem von der Technischen Universität München in Zusammenarbeit mit der Airbus Group auf dem Ludwig Bölkow Campus in Ottobrunn südlich von München errichteten Algentechnikum betrieben. Der schematische Aufbau des dort für die Herstellung der Hauptvorkultur genutzten Reaktors ist in Abbildung 4-8 gegeben. Nähere Informationen zum Algentechnikum können dem Anhang entnommen werden (Kapitel A.4).

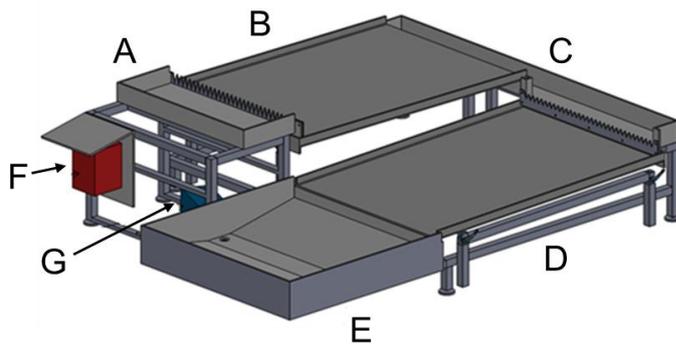


Abbildung 4-8: Schematischer Aufbau (links) und photographische Abbildung (rechts) des *Flaches Schrägerinnes* zur Herstellung des Hauptinokulums für Satzprozesse im 300 L-Flachplattenphotobioreaktor.

- | | |
|---------------------|-----------------------|
| (A) Einlaufbecken | (E) Sammelbecken |
| (B) oberes Gerinne | (F) Frequenzumrichter |
| (C) Wendebecken | (G) Pumpe |
| (D) unteres Gerinne | (H) LED-Beleuchtung |

Das flache Schrägerinne wurde zur Vorkulturherstellung mit einem Minimalvolumen von 80 L betrieben. Dazu wurde Trinkwasser im Sammelbecken (E) vorgelegt und die in 5 L Trinkwasser vorgelösten Bestandteile für 80 L BG-11 Medium hinzugefügt (Tab. A-5). Nach der Inokulation wurde ein Gesamtvolumen von 80 L eingestellt und die Kreislaufführung gestartet (Pumpendrehzahl: 40 Hz; 2 L s^{-1}). Diese erfolgte durch Steuerung einer Magnetkreislumpumpe (G) mit Hilfe eines Frequenzumrichters (F). Die Algensuspension wurde aus dem Sammelbecken (E) in ein Einlaufbecken (A) gepumpt, woraus sie auf das obere Gerinne (B) gleichmäßig verteilt wurde. Über ein Wendebecken (C) gelangte die Kultur nach Passieren des unteren Gerinnes (D) zurück in das Sammelbecken. Die Gerinne waren in einem Winkel von 1,75 % geneigt angeordnet. Zur Prozessüberwachung ($25\text{--}30^\circ\text{C}$, pH 7,5–8,0) standen ein Temperatur- sowie ein pH-Sensor im Sammelbecken zur Verfügung. Die pH-Regelung erfolgte durch automatisierte Dosierung von Kohlenstoffdioxid. Als Beleuchtung (33 W m^{-2} , entspricht $158 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) dienten über dem Schrägerinne befestigte LED-Leuchten (H; FUTURELED, Berlin). Die spektrale Verteilung ist in Abbildung 4-9 gegeben. Die eingesetzten Bestandteile, Software und Messtechnik der Anlage sind im Anhang in Kapitel A.3.3 detailliert aufgeführt.

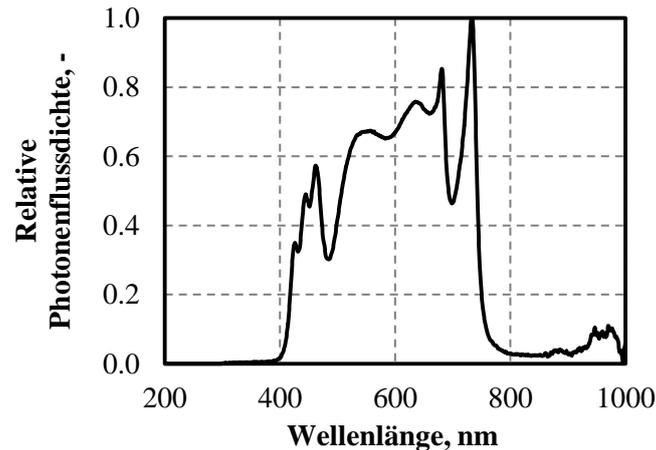


Abbildung 4-9: Spektrale Energieverteilung der LED-Bestrahlungseinheit des flachen Schräggerinnes sowie des Flachplattenphotobioreaktors im Pilotmaßstab (300 L).

Nach einer Kultivierungsdauer von fünf Tagen wurde ein Teil der Vorkultur aus dem offenen Photobioreaktor entnommen und ohne weitere Vorbehandlung für die Inokulation des Flachplattenphotobioreaktors im Pilotmaßstab (300 L) eingesetzt.

4.3.4 Satzprozess im Flachplattenphotobioreaktor im Pilotmaßstab

Zur Übertragung ausgewählter im Labormaßstab analysierter Satzprozesse in den Pilotmaßstab wurde ein Flachplattenphotobioreaktor mit einem Fassungsvermögen von maximal 300 L und einer photosynthetisch aktiven Fläche von bis zu 14 m² eingesetzt (Mikroalgenforschungsanlage, SSC GmbH, Hamburg). Die Forschungsanlage wurde speziell für den Betrieb im Algentechnikum auf dem Ludwig Bölkow Campus in Ottobrunn bei München (Kapitel A.4) ausgelegt. Ein Überblick über den Aufbau des Flachplattenphotobioreaktors ist in Abbildung 4-10 gegeben.

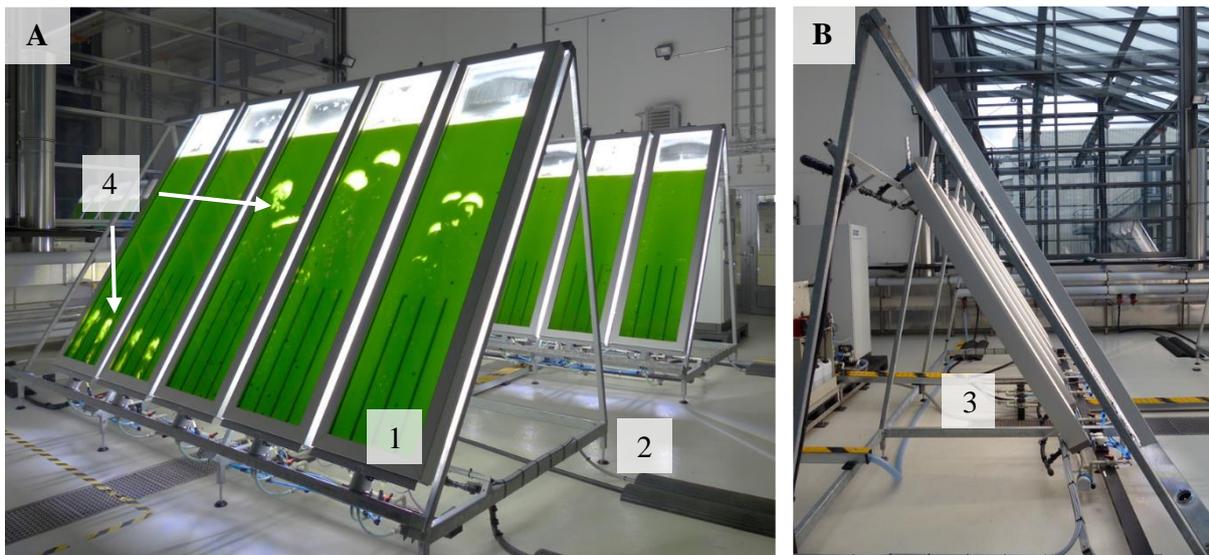


Abbildung 4-10: Aufbau des Flachplattenphotobioreaktors im Pilotmaßstab (300 L). **A:** Ansicht von vorne auf die zweireihig angeordneten Reaktormodule (zwei Reaktorlinien). **B:** Ansicht von der Seite auf eine Reaktorlinie der Pilotforschungsanlage.

1: Reaktormodule (zehn Stück)
2: Feuerverzinktes Trägergestell

3: LED-Beleuchtung
4: Begasung mit Luft

Der Flachplattenphotobioreaktor im Pilotmaßstab besteht aus insgesamt zehn Reaktormodulen (1). Jedes Reaktormodul ist 2,5 m hoch sowie 0,57 m breit. Mit einer Schichtdicke von jeweils 2,2 cm beträgt das maximale Arbeitsvolumen (maximaler Füllstand: 2,4 m) 10 x 30 L (300 L). Dies entspricht einer photosynthetisch aktiven Fläche von etwa 14 m². Zur Minimierung von Biofilmbildung befinden sich Ikosaeder unterschiedlicher Dichte in den Reaktormodulen, die an den Innenseiten der Glasscheiben reiben. Die Reaktormodule sind mit aus Weißglas hergestelltem Verbundsicherheitsglas einfach verglast und in zwei Linien hintereinander angeordnet. Dabei sind jeweils fünf Reaktormodule auf einem feuerverzinkten Trägergestell (2) angebracht. Die beiden Reaktorlinien sind dabei so ausgerichtet, dass ihre gegenseitige Beschattung minimal ist. Eine Neigung der Reaktormodule im 60°-Winkel zum Glasdach des Algentechnikums ermöglicht neben einer künstlichen LED-Beleuchtung (3; FUTURELED, Berlin) die Nutzung von natürlichem Sonnenlicht. Die Lichtemission der LED-Segmente kann dabei mit Hilfe eines Sensors in Abhängigkeit der natürlichen Sonneneinstrahlung geregelt werden, so dass eine konstante Photonenflussdichte energiesparend realisiert werden kann. Jedes Reaktormodul wird von einem LED-Segment mittig bestrahlt. Der Einbau von acht verschiedenen Leuchtdioden erlaubt eine beliebige Variation der spektralen Zusammensetzung sowie der Photonenflussdichte bis zu 1550 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Die für die Experimente gewählte spektrale Energieverteilung (Tageslichtspektrum) sowie eine Abbildung der im LED-Segment angeordneten Leuchtdioden sind in Abbildung 4-11 gezeigt.

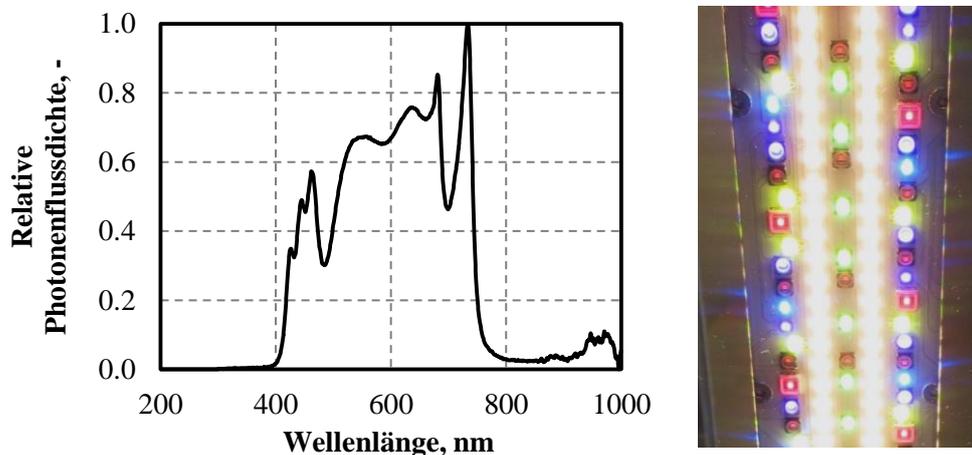


Abbildung 4-11: Spektrale Energieverteilung der LED-Bestrahlungseinheit des Flachplattenphotobioreaktors im Pilotmaßstab (300 L) (links).

Abbildung eines LED-Segments im Algentechnikum von unten (rechts). Insgesamt sind acht verschiedenartige Leuchtdioden verbaut, die einzeln steuerbar sind. Dadurch können individuelle Spektren bis hin zu einem sonnenlichtähnlichen Spektrum (links) realisiert werden.

Steuerung und Prozesskontrolle

Abbildung 4-12 gibt einen Überblick über die Steuer- und Prozesseinheit des Pilot-Flachplattenphotobioreaktors. Darüber hinaus ist ein schematischer Überblick über die gesamte Pilotanlage in Abbildung 4-15 gegeben. Die Steuerung der Anlage erfolgt entweder direkt an der Forschungsanlage über eine Steuereinheit (a) oder online per Fernzugriff über eine Steuerungssoftware (*Endress+Hauser Messtechnik GmbH+Co. KG*, Weil am Rhein).



Abbildung 4-12: Überblick über die Prozesseinheit des Flachplattenphotobioreaktors im Pilotmaßstab. **A:** Rückansicht. **B:** Frontansicht.

a: Steuereinheit	d: Tank	g: Messstrecke (Abbildung 4-13)
b: Begasungseinheit	e: Wärmetauscher	h: Vorlagebehälter für Medienzulauf
c: Kreislumpumpe	f: Ventil des Wärmetauschers	i: Probenahmehahn

Die technische Umsetzung der vorgegebenen Befehle (Reaktionsbedingungen wie pH und Temperatur) wird in der Prozesseinheit realisiert. Diese enthält einen Tank (d), über den die Befüllung der Reaktormodule erfolgt. Hierfür wird an der Steuereinheit ein Füllstand definiert, wodurch automatisiert Ventile des Trinkwasseranschlusses sowie eine Hochdruck-Kreislumpumpe (c) zur Beförderung des Trinkwassers aus dem Tank in die Reaktormodule aktiviert werden. Die Befüllung erfolgt dabei periodisch, sodass währenddessen Medienkomponenten, Inokulum oder andere Substanzen manuell über den Tank zugeführt werden können. Die Prozesseinheit bietet darüber hinaus die Möglichkeit Zusätze wie konzentrierte Medienlösung, Antischaum oder Titrationsmittel über steuerbare Pumpen automatisiert zuzugeben (h). Eine Probenentnahme kann über einen separaten Ablauf der Prozesseinheit erfolgen (i). Nach Erreichen des erforderlichen Prozessvolumens wird eine Umwälzpumpe gestartet (20 L min^{-1} ; nicht gezeigt), welche die Zellsuspension im Kreislauf führt. Die Kultur durchströmt dabei alle zehn Reaktoren sowie die gesamte Prozesseinheit (Abbildung 4-15). Dort durchläuft sie einen Wärmetauscher (e), worüber die Temperierung des Reaktorinhaltes erfolgt. Die Kühlwassermenge wird dabei automatisiert über ein Ventil (f) geregelt. Dem Wärmetauscher ist eine Messstrecke (g) vorgeschaltet, welche die

Sensorik zur Überwachung von Biomasse (optische Dichte), Nitratkonzentration, pH, Gelöstsauerstoffkonzentration, Temperatur sowie Salinität (Leitfähigkeit) enthält. Ein vergrößerter Überblick über die Messstrecke ist in Abbildung 4-13 gegeben. Über die Sensorik der Messstrecke wird neben dem Wärmetauscher auch die CO₂-Zugabe geregelt. Diese erfolgt automatisiert in Abhängigkeit des pH über die Begasungseinheit (b).

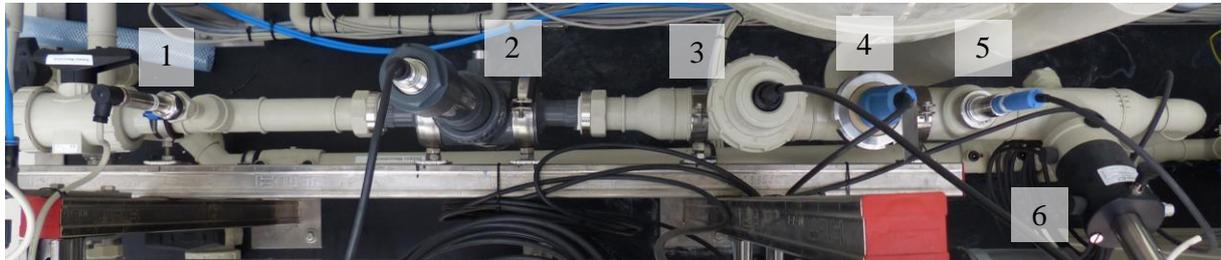


Abbildung 4-13: Überblick über die Messstrecke der Prozesseinheit des Flachplattenphotobioreaktors im Pilotmaßstab.

- | | | |
|--------------------------------|-------------------------|--|
| 1: Kompaktthermometer | 2: Nitrat-Sensor | 3: optischer Gelöstsauerstoff-Sensor |
| 4: Leitfähigkeitssensor | 5: pH-Sensor | 6: Zellwachstums- und Biomassensensor |

Betriebsweise des Pilot-Flachplattenphotobioreaktors

Der Flachplattenphotobioreaktor im Pilotmaßstab wird als Blasensäule mit Umlauf (*gas-lift*) betrieben (Abbildung 4-14). Hierfür wird Luft mit Hilfe der Begasungseinheit periodisch über zwei Öffnungen im Fußraum eines Reaktormoduls in den Reaktionsraum geleitet.

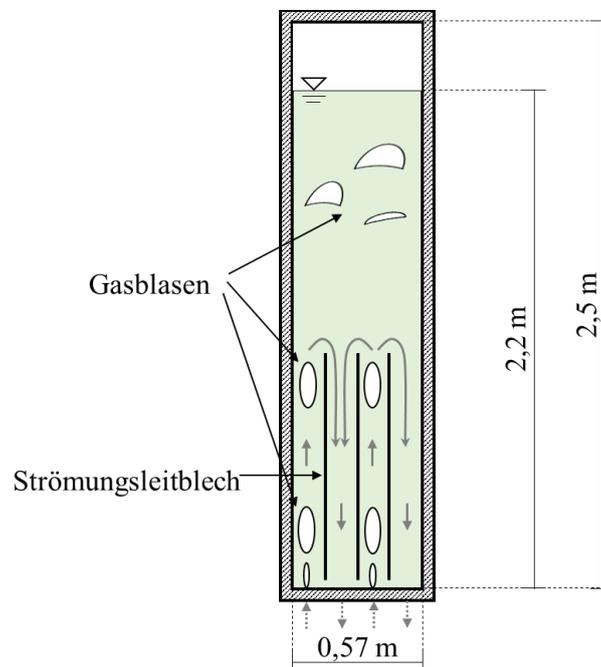


Abbildung 4-14: Schematische Darstellung eines Reaktormoduls des Flachplattenphotobioreaktors im Pilotmaßstab (300 L; Photosynthetisch aktive Fläche: 14 m²; L: 0,57 m, B: 22 mm, H: 2,5 m). Der Photobioreaktor wird als Blasensäule mit integriertem Umlauf betrieben. Die Begasung (Luft, periodisch) erfolgt über zwei Öffnungen im Fußraum des Reaktors. Drei Strömungsleitbleche teilen die Kultivierkammer in vier Bereiche: aufsteigende Gasblasen führen zu einem Auftrieb der Algensuspension im begasten Bereich; im nicht begasten Bereich sinkt die Algensuspension wieder ab (Umlauf). Im Kopfraum des Reaktormoduls koaleszieren die Gasblasen. Überschüssiges Gas kann nach oben hin entweichen.

Strömungsleitbleche unterteilen den Reaktionsraum in vier Bereiche und ermöglichen einen Umlauf der Algensuspension im Reaktormodul: in den beiden begasten Zonen strömen Gasblasen nach oben, wodurch ein Auftrieb der Algensuspension entsteht. Oberhalb der Strömungsleitbleche koaleszieren die Gasblasen und entweichen über den Kopfraum. In den nicht begasten Zonen strömt die Flüssigkeit nach unten. Dadurch kommt es zur Durchmischung der Algensuspension im Reaktormodul. Zusätzlich zu den Öffnungen für die Begasung befinden sich am Fuß des Reaktormoduls der Zu- und Ablauf für die zuvor erwähnte Kreislaufführung der Algensuspension. Der Leistungseintrag sowie die Durchmischung erfolgen im Pilot-Flachplattenphotobioreaktor somit durch periodische Begasung des Reaktionsansatzes mit Luft sowie durch Beförderung der Algensuspension mittels einer Kreiselpumpe (20 L min^{-1}). Eine Darstellung über die Verschaltung der Reaktormodule sowie eine Übersicht über die Volumenströme der Gas- und Flüssigphasen innerhalb des Pilot-Photobioreaktors sind in Abbildung 4-15 schematisch gegeben.

Abbildung 4-15 fasst den Aufbau und die Betriebsweise des Flachplattenphotobioreaktors im Pilotmaßstab zusammen. Die Pilotanlage gliedert sich in eine Prozesseinheit, eine Steuereinheit und in die Reaktormodule. In der Prozesseinheit erfolgt eine Überwachung und Kontrolle der Reaktionsbedingungen und Prozessgrößen Trübung (OD_{750}), pH, Leitfähigkeit/Salinität (σ), Gelöstsauerstoffkonzentration (pO_2), Nitrat und Temperatur. Hierfür wird die Algensuspension mit Hilfe einer Kreiselpumpe kontinuierlich durch die Prozesseinheit gepumpt. Dabei erfolgt sowohl die Temperierung der Algensuspension (Wärmetauscher) als auch die CO_2 -Zugabe zur Regelung des pH (Begasungseinheit). Nach dem Durchströmen der Prozesseinheit (16 L, Verweilzeit: 0,8 min), wird die Algensuspension über den Vorlauf in die Reaktormodule geleitet. Die beiden Reaktorlinien sind dabei in Reihe geschaltet. Die fünf Reaktormodule einer Linie werden dagegen parallel betrieben. Ebenso verhält es sich mit dem Rücklauf der Flüssigphase (Rückführung in die Prozesseinheit) sowie der Begasung der Reaktormodule mit Luft (*gas-lift*). Zur Zwischenreinigung des Pilotreaktors erfolgt mehrmals täglich eine Druckluftspülung. Hierfür wird ein Teil der Algensuspension im Tank der Prozesseinheit zwischengelagert und Luft in Gegenrichtung in den Rücklauf geleitet.

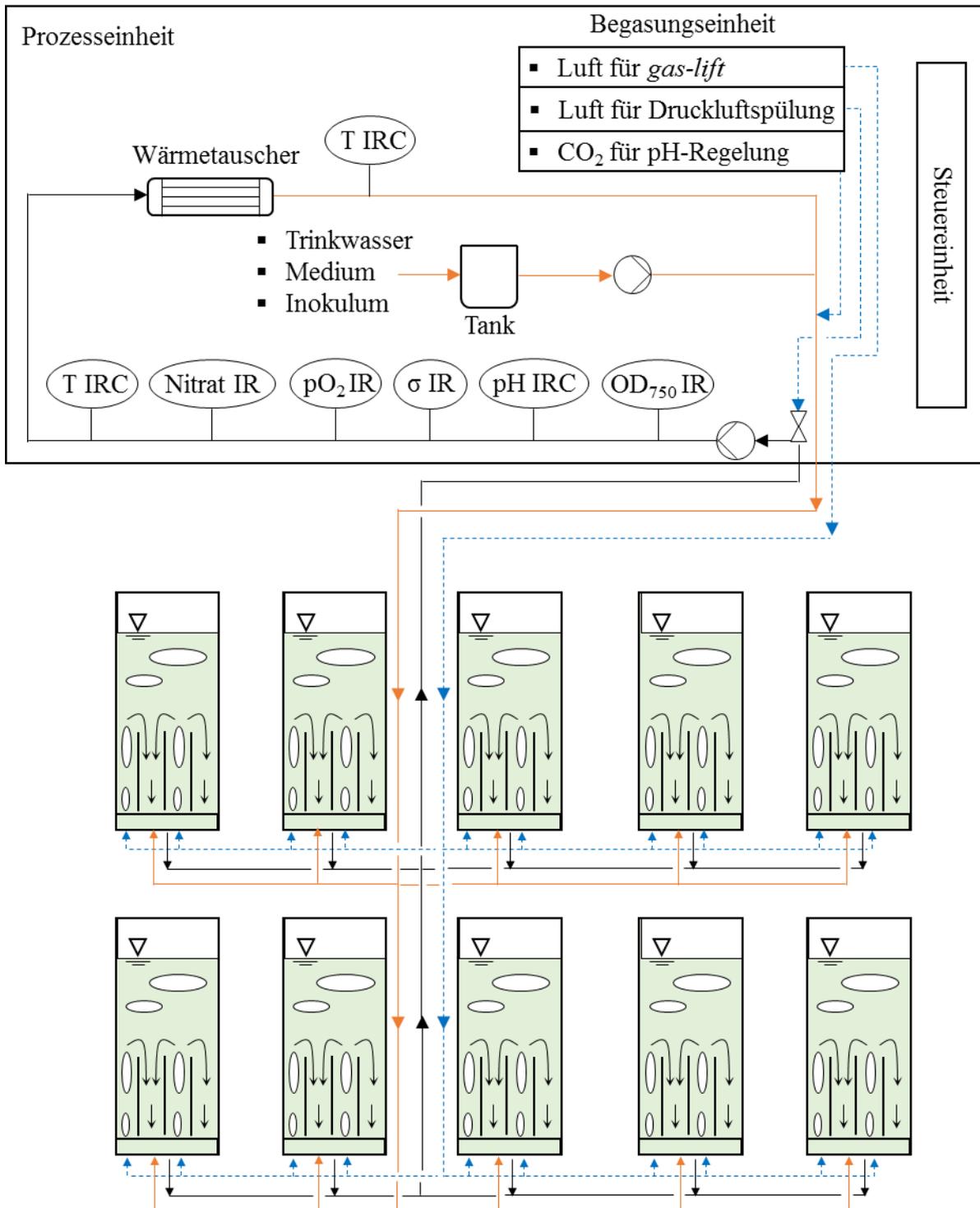


Abbildung 4-15: Schematischer Überblick über die Verschaltung der Reaktormodule sowie über die Volumenströme der Gas- und Flüssigphasen innerhalb des Flachplattenphotobioreaktors im Pilotmaßstab (300 L). Die Pilotanlage gliedert sich in eine Prozesseinheit, eine Steuereinheit und die Reaktormodule. Die beiden Reaktorlinien (jeweils fünf Reaktormodule) sind in Reihe geschaltet. Die Reaktormodule innerhalb einer Linie werden parallel geführt. Vorlauf Flüssigphase: orange (hell); Rücklauf Flüssigphase: schwarz (dunkel); Gasphase: blau (gepunktet).

Versuchsdurchführung

Zum Betrieb der Forschungsanlage wurden die Reaktormodule automatisiert mit Trinkwasser befüllt. Dies erfolgte durch Vorgabe der Füllstandhöhe in den Reaktormodulen (2,2–2,4 m). Während des Füllvorgangs wurden Medienbestandteile (BG-11, Tab. A-5) und das Inokulum (Kapitel 4.3.3) über den Tank der Prozesseinheit in die Reaktormodule gepumpt (20 L min^{-1}). Da ein aseptischer Betrieb der Anlage nicht möglich war, wurden diese Arbeiten unter nicht sterilen Bedingungen durchgeführt. Nach Einstellen des Endvolumens (300 L) wurden die Umwälzung (20 L min^{-1}) und die Begasung mit Luft zur Durchmischung der Algensuspension in den Reaktormodulen gestartet. Die pH-Regelung (speziesspezifisch: pH 7,5–8,0) erfolgte separat durch CO_2 -Zugabe in der Prozesseinheit, welche die Mikroalgensuspension kontinuierlich während der Kreislaufführung passierte (Volumen: 16 L, Verweilzeit: 0,8 min). Auch die Temperierung (Istwerte zwischen 25–30 °C) erfolgte in der Prozesseinheit mit Hilfe eines wasserdurchströmten Wärmetauschers. Ebenso war eine Versorgung mit Antischaum oder Zulaufmedien durch steuerbare Pumpen während des Durchflusses durch die Prozesseinheit möglich. Probenahmen und Verdunstungseffekte während des Prozesses wurden automatisiert mit Trinkwasser ausgeglichen. Für eine zusätzliche Durchmischung des Reaktorinhaltes während des Prozesses erfolgte dreimal täglich eine Druckluftspülung. Hierfür wurde ein Teil der Algensuspension automatisiert in den Tank der Prozesseinheit abgelassen und Zu- und Abläufe der Reaktormodule sowie die Prozesseinheit mit Druckluft entleert. Anschließend wurde die Algensuspension ebenfalls automatisiert zurück in die Reaktormodule gepumpt.

4.4 Analytische Methoden

Für die Untersuchung und anschließende Bewertung der im Flachplattenphotobioreaktor durchgeführten Satzprozesse wurden verschiedene analytische Methoden herangezogen. Neben der optischen Dichte, der Biomassekonzentration sowie der Raum-Zeit-Ausbeute wurden Nährstoffe im Medium während der Prozesse kontrolliert und die Pigmentzusammensetzung in Algenzellen bestimmt. Die hierfür durchgeführten Methoden und Vorgehensweisen werden in den folgenden Kapiteln beschrieben.

4.4.1 Nachweis von Nährstoffen

Der Nachweis von Nährstoffen im Medium erfolgte halbquantitativ mit Hilfe von Teststreifen (QUANTOFIX® Teststäbchen, Macherey-Nagel, Düren). Hierfür wurden die Zellen mittels Zentrifugation vom Medium abgetrennt (12000 rpm, 3 min, RT) und die Phosphat-, Nitrat-/Nitrit-, Sulfat- und Eisenkonzentration im Überstand abgeschätzt. Die genaue Bezeichnung der Teststreifen sind in Tab. A-4 im Anhang gegeben. Wurde bei Prozessen im Zulaufverfahren eine

Nährstofflimitierung im Überstand einer Probe festgestellt, so wurden dem Reaktionsansatz benötigte Nährstoffe manuell hinzugegeben.

4.4.2 Bestimmung der optischen Dichte

Die optische Dichte (OD) von Zellsuspensionen wurde photometrisch mit einem Einstrahlphotometer in Küvetten mit Schichtdicken von 1 cm bestimmt. Bei Überschreiten der Messobergrenze von 0,3 wurden die Proben entsprechend mit BG-11 Medium verdünnt. Die Messung erfolgte bei einer Wellenlänge von 680 nm ($OD_{680\text{nm}}$) und 750 nm ($OD_{750\text{nm}}$) im Dreifachansatz. Eine Wellenlänge von 750 nm liegt außerhalb des Bereichs, in dem photosynthetische Pigmente absorbieren und ist somit für die Verfolgung des Wachstums pigmenttragender Zellen wie Mikroalgen geeignet (Griffiths *et al.* 2011; Gitelson *et al.* 2000). Die Wellenlänge 680 nm entspricht dem Absorptionsbereich photosynthetischer Pigmente wie Chlorophyll a und kann als Indikator für die Chlorophyllpigmentierung von Algenzellen dienen (Griffiths *et al.* 2011). Das Verhältnis $OD_{750\text{ nm}}$ zu $OD_{680\text{ nm}}$ ermöglicht eine Aussage über die Veränderung des Pigmentgehalts während eines Prozesses.

4.4.3 Bestimmung der Biotrockenmassekonzentration

Die direkte Bestimmung der Biotrockenmasse erfolgte gravimetrisch, jeweils im Dreifachansatz. Bei Kultivierungsprozessen im Labormaßstab wurden hierfür 1,5 mL Zellsuspension in ein zuvor trocken ausgewogenes Reaktionsgefäß (1,5 mL) überführt. Nach Zentrifugation der Probe (Tischzentrifuge, 12000 rpm, 3 min, RT) wurde der Überstand vorsichtig dekantiert und das Zellpellet zweimal mit VE-Wasser gewaschen. Der Überstand wurde erneut verworfen und das Zellpellet bei 80 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Nach Auswiegen des Reaktionsgefäßes mit Sediment wurde die Biotrockenmassekonzentration mit folgender Gleichung ermittelt:

$$c_x = \frac{m_{\text{voll}} - m_{\text{leer}}}{V} \quad \text{Gleichung 4-1}$$

Mit	c_x	Biomassekonzentration, $\text{g}_{\text{BTM}} \text{L}^{-1}$
	m_{voll}	Masse des getrockneten Reaktionsgefäßes mit Zellpellet, g
	m_{leer}	Masse des getrockneten leeren Reaktionsgefäßes, g
	V	Volumen der Zellsuspension vor der Zentrifugation, L

Für Prozesse im Pilotmaßstab wurden jeweils 10 mL Zellsuspension in ein Reaktionsgefäß (15 mL) überführt. Nach Zentrifugation der Probe (3220 g, 5 min, RT) wurde der Überstand vorsichtig dekantiert und das Zellpellet zweimal mit VE-Wasser gewaschen. Anschließend wurde das Zellpellet in 5 mL VE-Wasser resuspendiert und die Suspension in eine zuvor trocken ausgewogene Aluschale überführt. Nach Trocknung der Aluschale mit Zellsuspension bei 80 °C wurde der Ansatz

bei Gewichtskonstanz erneut ausgewogen und die Biomassekonzentration nach Gleichung 4-1 bestimmt.

Die Konzentration der Biotrockenmasse wurde in jedem Prozess ab dem zweiten Tag bis zum Erreichen der stationären Phase ein- bis viermal täglich gravimetrisch bestimmt. Zur Ermittlung aller weiteren Konzentrationen (c_x) während eines Prozesses wurde die optische Dichte bei 750 nm (OD_{750nm}) mit der Biomassekonzentration anhand der experimentellen Daten korreliert (f_x):

$$c_x = f_x \cdot OD_{750nm} \quad \text{Gleichung 4-2}$$

Mit	c_x	Biomassekonzentration, $g_{BTM} L^{-1}$
	f_x	Korrelationsfaktor
	OD_{750nm}	optische Dichte der Zellsuspension bei 750 nm, -

Die Zellzusammensetzung hat dabei einen signifikanten Einfluss auf die photometrische Messung der optischen Dichte. Darüber hinaus spielt der Zustand der Zelle bei der Inokulation eine Rolle, weshalb für jeden Prozess ein individueller Korrelationsfaktor ermittelt und angewandt wurde. Die finale Biomassekonzentration am Ende eines Prozesses wurde durch arithmetische Mittelung der während der stationären Phase gemessenen Konzentrationen bestimmt.

4.4.4 Bestimmung der Raum-Zeit-Ausbeute

Eine Zielsetzung dieser Forschungsarbeit war die Etablierung eines schnellen und robusten Biomasseproduktionsprozesses. Aus diesem Grund wurde die Raum-Zeit-Ausbeute als Bewertungskriterium für die Prozessentwicklung herangezogen. Aufgrund der unterschiedlichen Dauer der Satzprozesse wurde die Raum-Zeit-Ausbeute (RZA) stets an Tag vier ermittelt, um eine Vergleichbarkeit der Prozesse zu gewährleisten. Bei kürzerer Prozesszeit wurde die Raum-Zeit-Ausbeute zum Zeitpunkt der letzten Probenahme bestimmt. Hierfür wurde folgende Gleichung verwendet:

$$RZA = \frac{BTM_t - BTM_0}{\Delta t} \quad \text{Gleichung 4-3}$$

Mit	RZA	Raum-Zeit-Ausbeute, $g L^{-1} d^{-1}$
	BTM_t	Biotrockenmassekonzentration zum Zeitpunkt t (in der Regel Tag 4), $g L^{-1}$
	BTM_0	Biotrockenmassekonzentration bei Inokulation, $g L^{-1}$
	Δt	Zeitintervall zwischen Inokulation und Zeitpunkt t (in der Regel 4 Tage), d

4.4.5 Probenaufbereitung zur Quantifizierung intrazellulärer Metabolite

Die Quantifizierung intrazellulärer Metabolite erfolgte mit getrockneter Algenbiomasse. Hierfür wurden 15 bis 50 mL Zellsuspension in ein Reaktionsgefäß (50 mL) überführt und die Zellen durch

Zentrifugation (4500 rpm, 5 min, RT) sedimentiert. Zum Entfernen von Salzen wurden die Zellen zweimal mit VE-Wasser gewaschen und erneut pelletiert. Der Überstand wurde dekantiert und das Zellpellet bei -80 °C für mehrere Stunden gefroren. Die Ansätze wurden anschließend bei -42 °C im Vakuum bei 0,12 mbar gefriergetrocknet und das Trocknungsprodukt mit Hilfe eines Mörsers pulverisiert. Das Pulver wurde für den Nachweis von photosynthetischen Pigmenten verwendet.

4.4.6 Bestimmung der Pigmentzusammensetzung

Die Pigmentzusammensetzung in Algenzellen wurde mit Hilfe einer Lösemittelextraktion ermittelt. 5 mg der zu untersuchenden pulverisierten Algentrockensubstanz (Kapitel 4.4.5) wurden in ein Glasgefäß (10 mL) eingewogen und mit 100 µL VE-Wasser für zehn Minuten befeuchtet. Die Extraktion der photosynthetischen Pigmente erfolgte mit 8 mL 90 % Ethanol, welches mit Salzsäure auf eine Endkonzentration von 0,075 M HCl angesäuert wurde. Das Ansäuern bewirkt eine Entfernung des Magnesiumatoms, welches in den Chlorophyll-Pigmenten vorhanden ist. Zurück bleibt eine Magnesium-freie Form des Chlorophylls (Phäophytin) wodurch eine Bestimmung des gesamten Chlorophyllgehalts und nicht nur der Magnesium-tragenden Variante ermöglicht wird. Der Ansatz wurde anschließend für 3 min auf 80 °C erhitzt (Thermomixer, 300 rpm) und für 24 Stunden im Dunkeln bei 4 °C inkubiert. Nach der Inkubation wurde die Mischung zunächst homogenisiert und die Zellen anschließend sedimentiert (maximal 2000 g, 2 min, RT). 1 mL des Überstands wurde photometrisch bei 470,0 nm, 648,6 nm und 664,2 nm in einer Küvette mit 1 cm Schichtdicke vermessen. Bei Überschreiten der Messobergrenze von 0,3 wurden die Proben entsprechend mit VE-Wasser verdünnt. Die Berechnung der Pigmentkonzentrationen erfolgte mit folgenden Gleichungen nach Lichtenthaler und Buschmann (2001):

$$c_{Chl a} = \frac{(13,36 \cdot A_{664,2} - 5,19 \cdot A_{648,6}) \cdot 8,1}{m_x} \quad \text{Gleichung 4-4}$$

$$c_{Chl b} = \frac{(27,43 \cdot A_{648,6} - 8,12 \cdot A_{664,2}) \cdot 8,1}{m_x} \quad \text{Gleichung 4-5}$$

$$c_{Karotinoid} = \frac{(4,785 \cdot A_{470} + 3,657 \cdot A_{664,2} - 12,76 \cdot A_{648,6}) \cdot 8,1}{m_x} \quad \text{Gleichung 4-6}$$

Mit	m_x	eingewogene Biotrockenmasse, mg
	$c_{Chl a}$	Chlorophyll a Konzentration (Magnesium-freie Form), $\text{mg}_{Chl a} \text{ g}_{BTM}^{-1}$
	$c_{Chl b}$	Chlorophyll b Konzentration (Magnesium-freie Form), $\text{mg}_{Chl b} \text{ g}_{BTM}^{-1}$
	$c_{Karotinoid}$	Karotinoidkonzentration, $\text{mg}_{Karotinoid} \text{ g}_{BTM}^{-1}$
	A	Absorption bei 664,2 nm, 648,6 nm und 470 nm, -

4.5 Methoden zur Modellierung des lichtabhängigen Wachstums

Die Untersuchung der Reaktionskinetik des lichtabhängigen Wachstums zweier *Scenedesmus spec.* in einem Flachplattenphotobioreaktor fand in dieser Arbeit modellgestützt statt. Hierfür war neben der Verfügbarkeit geeigneter Modellgleichungen die Generierung experimenteller Daten erforderlich. Im Folgenden wird die Vorgehensweise der Lichtmessung während der im Rahmen der reaktionstechnischen Charakterisierung durchgeführten Satzprozesse beschrieben. Darüber hinaus werden Methoden zur Bestimmung durchschnittlicher im Reaktor vorliegender Photonenflussdichten dargestellt.

4.5.1 Lichtmessung am Flachplattenphotobioreaktor

Zur Emissionsmessung der Lichtquellen der Flachplattenphotobioreaktoren im Labor- und Pilotmaßstab wurde ein Spektroradiometer (BLUE-Wave UVNb, Stellarnet, Tampa, Florida) verwendet. Hierfür wurde der Lichtsensor des Spektroradiometers jeweils im 180°-Winkel zur Lichtquelle platziert und die Lichtemission in Form von Photonenflussdichte ($\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$) oder Strahlungsstromdichte (W m^{-2}) detektiert.

Im Pilotmaßstab erfolgte die Messung mittig an einem Reaktormodul. Dabei wurde die Photonenflussdichte vor (lichtzugewandte Seite) und hinter (lichtabgewandte Seite) einem Reaktormodul gemessen und daraus ein Mittelwert gebildet. Dieser Mittelwert wurde für die Prozesse im Pilotmaßstab als Eingangspotonenflussdichte, das heißt als Photonenflussdichte, die direkt auf die Mikroalgensuspension auftrifft, angenommen.

Im Labormaßstab erfolgte eine exaktere Bestimmung dieser Photonenflussdichte. Für die Untersuchung der Reaktionskinetik des lichtabhängigen Mikroalgenwachstums wurde sowohl die Eingangspotonenflussdichte I_0 als auch die Photonenflussdichte auf der Reaktorrückseite (lichtabgewandte Seite) während der Prozesse benötigt. Die Eingangspotonenflussdichte wurde hierzu für verschiedene Einstellungen der LED-Bestrahlungseinheit direkt hinter der ersten Glasscheibe der Kultivierungskammer gemessen und einmalig mit Einstellung an der Reaktorbedieneinheit (in %) korreliert. Dadurch konnte für jedes Experiment die Eingangspotonenflussdichte vor Versuchsbeginn abgeschätzt werden. Die Messung der Photonenflussdichte während eines Prozesses erfolgte an sechs verschiedenen Positionen auf der Reaktorrückseite. Hierfür wurde eine bearbeitete Silikonmatte an der Reaktorrückseite angebracht, welche neben einer einheitlichen Lichtmessung eine Abschirmung von Umgebungslicht gewährleisten sollte (Abbildung 4-16).

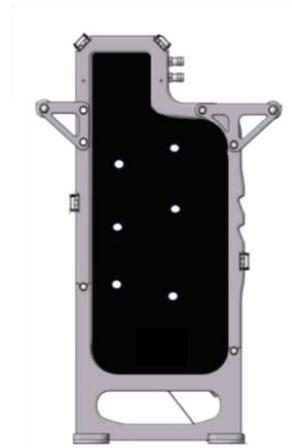


Abbildung 4-16: Messpositionen zur Bestimmung einer mittleren Photonenflussdichte während der Satzprozesse im Flachplattenphotobioreaktor im Labormaßstab.

4.5.2 Lichtmessung zur Charakterisierung des Absorptionsverhaltens von Mikroalgen

Zur Charakterisierung der Lichtabsorption stationärer Mikroalgenkulturen wurde in dieser Arbeit eine Apparatur entwickelt, mit der eine Messung der Lichttransmission in Abhängigkeit der Schichtdicke und Biomassekonzentration möglich war. Der Aufbau der Apparatur ist in Abbildung 4-17 schematisch dargestellt.

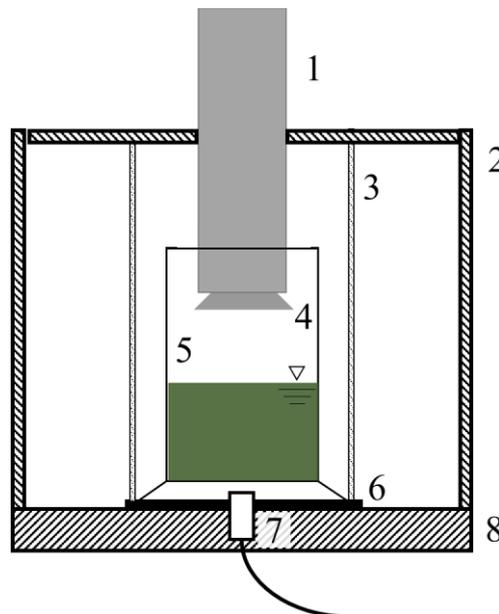


Abbildung 4-17: Schematische Darstellung der Messapparatur zur Bestimmung der Lichtabsorption von Mikroalgen in Abhängigkeit der Schichtdicke und Biomassekonzentration.

- | | |
|--|---------------------------------------|
| 1 Höhenverstellbares lichtundurchlässiges Rohr | 5 Modifizierter Messzylinder |
| 2 Styroporbox | 6 Halterung für Messzylinder |
| 3 Lichtundurchlässiges, schwarzes Rohr | 7 Spektroradiometer |
| 4 Dimmbare LED-Beleuchtungsquelle | 8 Deckel der Styroporbox als Standfuß |

Die Basis der Messapparatur bildet eine Styroporbox (2), deren Deckel als Standfuß fungiert (8). Im oberen Bereich der Styroporbox ist ein lichtundurchlässiges Rohr (1) eingelassen, welches als Halterung für eine dimmbare LED-Beleuchtungsquelle (4) dient. Das Rohr ist dabei höhenverstellbar, so dass der Abstand zwischen der Beleuchtungsquelle und der

Mikroalgensuspension im modifizierten Messzylinder (5) variiert werden kann. Zur Messung der Lichttransmission ist ein Spektroradiometer (BLUE-Wave UVNb, Stellarnet, Tampa, Florida) mittig zur Position des Messzylinders in den Standfuß eingebettet. Um eine Beeinflussung der Messwerte durch Streulicht oder eventuellen Lichteinfall durch die Styroporbox zu vermeiden, ist ein weiteres lichtundurchlässiges Rohr um den Messzylinder herum angebracht (3).

Für die Messungen wurde die im Messzylinder befindliche Mikroalgensuspension mit Hilfe der LED-Quelle beleuchtet und die am Fuß des Messzylinders noch messbare Photonenflussdichte aufgezeichnet. Zur Simulation verschiedener Reaktorschichtdicken (0 cm bis 3,5 cm) wurde das Volumen der Suspension im Messzylinder variiert. Der Abstand zwischen der Suspensionsoberfläche und der Beleuchtungsquelle wurde durch Bewegung der LED-Halterung (1) stets konstant gehalten. Um den Einfluss der Biomassekonzentration auf die Lichtabsorption zu ermitteln, erfolgte die Transmissionsmessung zudem mit Algensuspensionen unterschiedlicher Biomassekonzentrationen zwischen $0 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ und $2,7 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$.

4.5.3 Berechnung mittlerer integraler Photonenflussdichten

Mittlere integrale Photonenflussdichten wurden auf der Grundlage des Gesetzes von Lambert und Beer sowie eines Modells von Schuster (1905) bei konstanten Wachstumsraten μ bestimmt (Kapitel 3.4.2 und 3.4.3). Die Gleichung für das Lambert-Beer'sche Gesetz lautet:

$$I^{**} = \frac{I_0}{\Delta t_{exp} \cdot \varepsilon^* \cdot S \cdot \mu} \left[\frac{\varepsilon^* \cdot S \cdot c_x \cdot Ei(-\varepsilon^* \cdot S \cdot c_x) + e^{-\varepsilon^* \cdot S \cdot c_x} - 1}{c_x} \right]_{c_x \text{ Anfang exp}}^{c_x \text{ Ende exp}} \quad \text{Gleichung 4-7}$$

Mit	I^{**}	Mittlere integrale Photonenflussdichte, $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
	I_0	Eingangsphotonenflussdichte, $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
	Δt_{exp}	Zeitraum des exponentiellen Wachstums, d
	ε^*	Mittlerer Extinktionskoeffizient im Bereich des exponentiellen Wachstums
	S	Reaktorschichtdicke, m
	μ	spezifische Wachstumsrate, h^{-1}
	c_x	Biomassekonzentration, $\text{g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$
	Ei	Integrale exponentialfunktion

Für Schuster wurde folgende Gleichung verwendet:

$$I^{**} = \frac{2 \cdot I_0}{\Delta t_{exp} \cdot \mu} \int_{c_x \text{ Anfang exp}}^{c_x \text{ Ende exp}} \left[\frac{e^{\delta \cdot c_x \cdot S}}{\delta \cdot c_x^2 \cdot S \cdot (e^{\delta \cdot c_x \cdot S} - \alpha + \alpha \cdot e^{\delta \cdot c_x \cdot S} + 1)} \right] dc_x \quad \text{Gleichung 4-8}$$

Mit	I^{**}	Mittlere integrale Photonenflussdichte, $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
	I_0	Eingangspotonenflussdichte, $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
	Δt_{exp}	Zeitraum des exponentiellen Wachstums, d
	μ	spezifische Wachstumsrate, h^{-1}
	c_x	Biomassekonzentration, $\text{kg}_{\text{BTM}} \text{ m}^{-3}$
	S	Reaktorschichtdicke, m
	δ	Konstante zur Beschreibung der Lichtstreuung
	α	Konstante zur Beschreibung der Lichtabsorption

Die Herleitung dieser Modellgleichungen ist im Anhang unter A.5.3 beschrieben.

Für eine Lösung der beiden Ansätze wurde bei jedem Satzprozess, der im Rahmen der Untersuchung des lichtabhängigen Wachstums im Flachplattenphotobioreaktor durchgeführt wurde, die Photonenflussdichte auf der Reaktorrückseite über den gesamten Prozessverlauf bestimmt (Kapitel 4.5.1). So wurde für jede Eingangspotonenflussdichte I_0 ein Verlauf der Lichtabschwächung mit zunehmender Biomassekonzentration im Reaktor erhalten. Zudem wurde die Biomassekonzentration bei jeder Lichtmessung ermittelt. Basierend auf den experimentellen Daten erfolgte anschließend die mathematische Lösung der Gleichung 4-7 und Gleichung 4-8 unter Verwendung von *MatLab 2014b*.

Für das Gesetz von Lambert und Beer war eine analytische Lösung des Integrals möglich. Da sich mit zunehmender Stoffkonzentration (Biomassezuwachs während der exponentiellen Wachstumsphase), der Brechungsindex eines Mediums ändern kann, die Molrefraktion nach der Dispersionstheorie allerdings konzentrationsunabhängig ist, kann es zu einer Änderung des Extinktionskoeffizienten während des exponentiellen Wachstums kommen:

$$R_{mol} = \varepsilon \cdot \frac{n}{(n^2 + 2)^2} \quad \text{Gleichung 4-9}$$

Mit	R_{mol}	Molrefraktion, $\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$
	n	Brechungsindex des Mediums, -

Zur Lösung von Gleichung 4-7 wurde daher ein durchschnittlicher, während der exponentiellen Wachstumsphase vorliegender Extinktionskoeffizient ε^* herangezogen:

$$\varepsilon^* = \frac{1}{\Delta c_{x \text{ exp}}} \int_{c_{x \text{ Anfang exp}}}^{c_{x \text{ Ende exp}}} \varepsilon_{Spline}(c_x) dc_x \quad \text{Gleichung 4-10}$$

Zur Bestimmung des mittleren Extinktionskoeffizienten ε^* im Bereich des exponentiellen Wachstums wurde der Extinktionskoeffizient für jede experimentell gemessene Biomassekonzentration c_x mit Lambert-Beers Absorptionsmodell abgeschätzt und die Wertepaare

(ε, c_x) anschließend über eine sogenannte *Spline-Interpolation* (MatLab 2014b) interpoliert. Die so erhaltene *Spline*-Funktion $\varepsilon_{\text{Spline}(c_x)}$ wurde anschließend über den Zeitraum der exponentiellen Wachstumsphase integriert und so ein durchschnittlicher Wert erhalten.

Die Bestimmung der mittleren integralen Photonenflussdichten auf der Basis von Schusters Gesetz erfolgte ebenfalls über die Methode der *Spline-Interpolation*. Die dadurch ermittelte Zielfunktion (*Spline*-Funktion) wurde durch numerische Interpolation mit *MatLab 2014b* gelöst (command `spline` und `integral`). Die beiden Parameter α und δ wurden ebenfalls mit *MatLab 2014b* über nicht-lineare Regression bestimmt. Hierfür wurden die experimentellen Daten an die mit Schusters Gesetz vorhergesagte Korrelation zwischen Biomassekonzentration und Lichtabschwächung angepasst (*curve fit*).

5 Wachstum von *Scenedesmus obtusiusculus* im Flachplatten-photobioreaktor

Die folgenden Abschnitte beschäftigen sich mit der Untersuchung der lichtabhängigen Wachstumskinetik der neu isolierten und weitestgehend unerforschten Grünalge *Scenedesmus obtusiusculus* in einem Flachplattenphotobioreaktor.

5.1 Reaktionstechnische Charakterisierung von *S. obtusiusculus*

Für die Untersuchung der Reaktionskinetik des lichtabhängigen Wachstums mussten zunächst geeignete Parameter (pH, Temperatur und Licht) identifiziert werden, um einen Prozess im Satzverfahren mit schnellem Mikroalgenwachstum zu ermöglichen. Die in diesem Zusammenhang durchgeführten Parameterstudien werden im Folgenden beschrieben und das pH-, temperatur- und lichtabhängige Wachstum von *Scenedesmus obtusiusculus* näher charakterisiert.

5.1.1 pH-Abhängigkeit des Wachstums von *S. obtusiusculus*

Zur Untersuchung des pH-abhängigen Wachstums von *Scenedesmus obtusiusculus* erfolgten definierte Satzprozesse im pH-, temperatur- und lichtkontrollierten Flachplattenphotobioreaktor mit einem Arbeitsvolumen von 1,8 L. Da es sich um die ersten Satzversuche mit diesem Mikroalgenstamm handelte, wurde eine mittlere, für die meisten Mikroalgen geeignete Temperatur von 25 °C für die Untersuchung des pH-Einflusses auf das Wachstum von *S. obtusiusculus* gewählt. Die Bestrahlung des Reaktors erfolgte bei einer moderaten Eingangsphtonenflussdichte I_0 von 560 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$, welche ebenfalls von vielen Mikroalgen toleriert wird. Als Medium diente definiertes BG-11 Medium. Die pH-Abhängigkeit des Neuisolats wurde im Bereich zwischen pH 6,5 und pH 10 untersucht. Dieses Intervall umfasst den für Mikroalgen charakteristischen pH-Bereich pH 7 bis pH 9 (in 0,5 pH-Schritten) sowie die beiden Werte pH 6,5 und pH 10. Die für *Scenedesmus obtusiusculus* ermittelten Wachstumskurven in Abhängigkeit des pH sind in Abbildung 5-1 dargestellt.

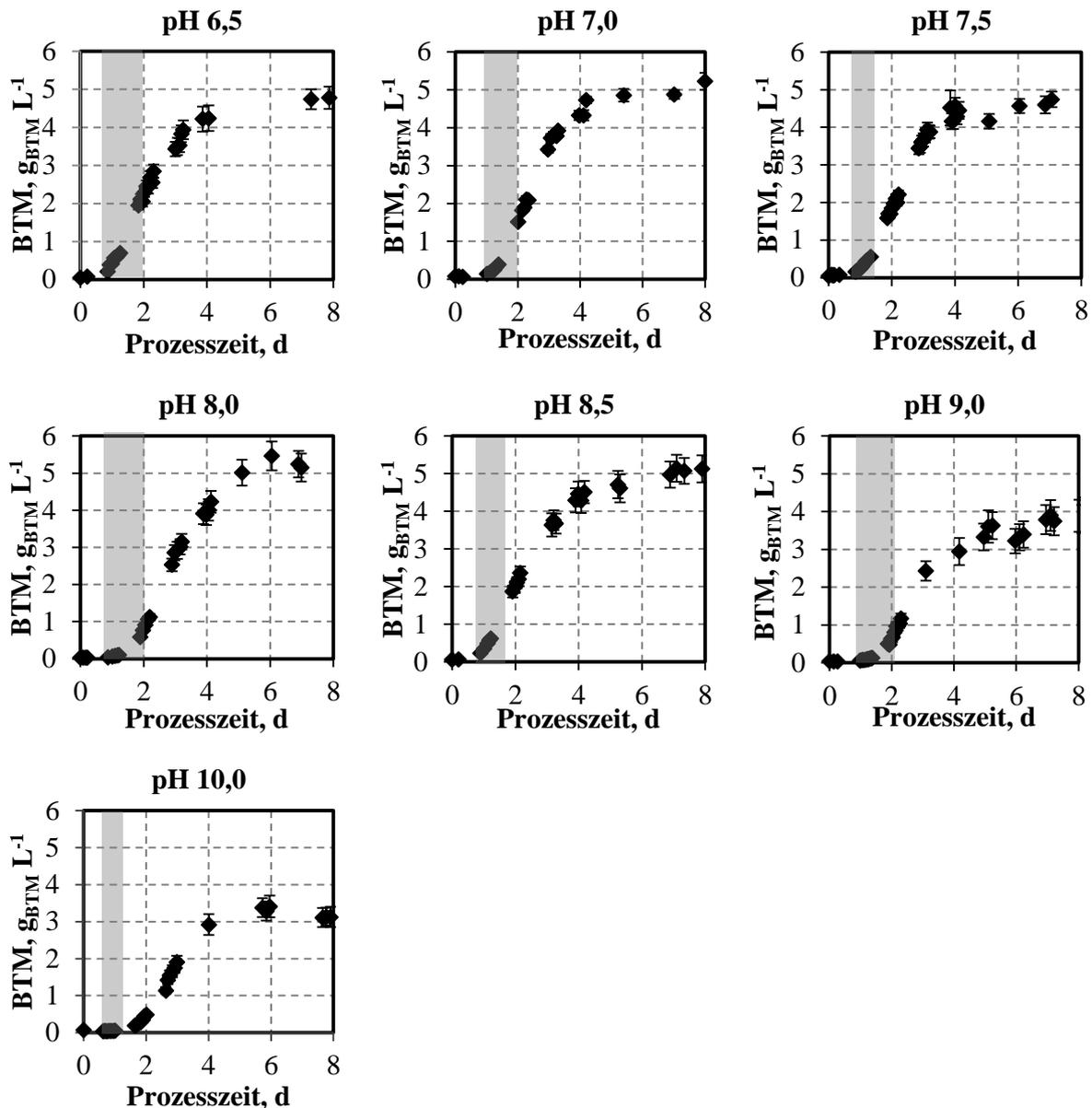


Abbildung 5-1: Einfluss des pH auf das Wachstum von *Scenedesmus obtusiusculus* im 1,8 L-Flachplattenphotobioreaktor. Die Satzprozesse wurden bei 25 °C und einer Eingangsphotonenflussdichte I_0 von 560 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ durchgeführt. Der pH wurde über den CO_2 -Gehalt im kontinuierlichen Gasvolumenstrom (2 NL min^{-1}) automatisiert geregelt. Die Abkürzung BTM bezeichnet die Biotrockenmassekonzentration im Reaktor. Der schattierte Bereich entspricht der Phase des exponentiellen Wachstums.

Unabhängig vom pH war zu Beginn der Satzprozesse eine kurze Verzögerungsphase ersichtlich, welcher eine ebenfalls kurze exponentielle Wachstumsphase folgte. Eine stationäre Phase wurde jeweils nach einer Prozesszeit von etwa sechs bis acht Tagen festgestellt.

Zur Analyse der Prozessverläufe wurde die spezifische Wachstumsrate mittels exponentieller Regression im Bereich des exponentiellen Wachstums (schattierte Fläche) ermittelt. Die Endkonzentration der Biotrockenmasse wurde während der stationären Phase als arithmetisches Mittel bestimmt. Um eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten, erfolgte die

Berechnung der Raum-Zeit-Ausbeute für jeden Prozess an Tag vier. Anhand dieser Kriterien wurde das pH-Optimum für *Scenedesmus obtusiusculus* ermittelt (Abbildung 5-2).

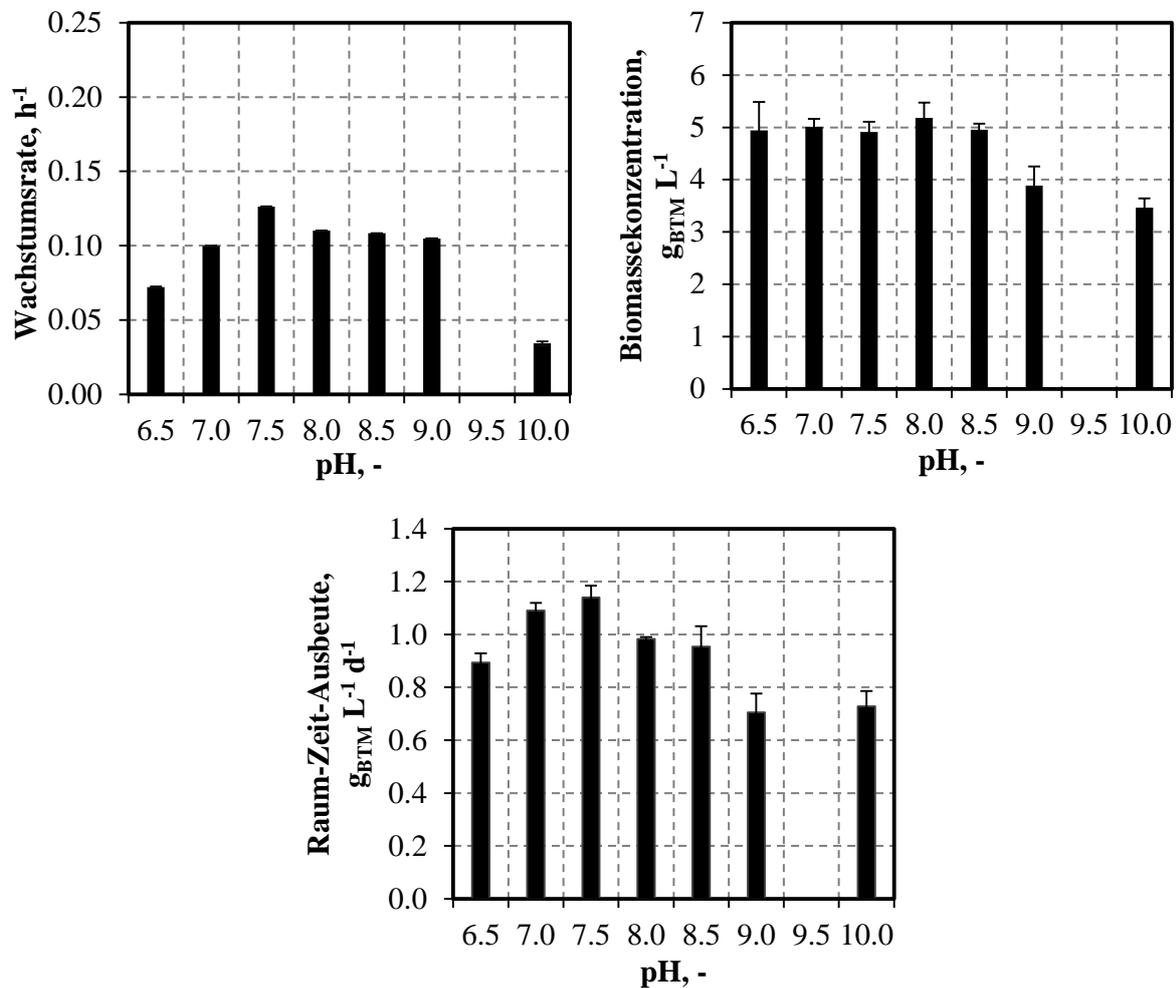


Abbildung 5-2: Einfluss des pH auf die spezifische Wachstumsrate (exponentielle Phase), die finale Biotrockenmassekonzentration sowie auf die Raum-Zeit-Ausbeute an Tag vier von *Scenedesmus obtusiusculus* zur Bestimmung des pH-Optimums. Die Satzprozesse erfolgten im 1,8 L-Flachplattenphotobioreaktor bei 25 °C und einer Eingangsphotonenflussdichte I_0 von 560 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Der pH wurde über den CO_2 -Gehalt im kontinuierlichen Gasvolumenstrom (2 NL min^{-1}) geregelt. pH 9,5 wurde nicht untersucht.

Wie Abbildung 5-1 und Abbildung 5-2 zeigen, wuchs *Scenedesmus obtusiusculus* im gesamten untersuchten pH-Bereich zwischen pH 6,5 und pH 10. Die höchste Wachstumsrate von $0,13 \text{ h}^{-1}$ wurde bei pH 7,5 festgestellt. Bei diesem pH wurde mit $1,14 \pm 0,05 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ darüber hinaus die höchste Raum-Zeit-Ausbeute erreicht. Bezüglich der maximalen Biotrockenmassekonzentration am Ende des Prozesses war kein signifikanter Einfluss zwischen pH 6,5 und pH 8,5 ersichtlich. Bei pH 9,0 und pH 10,0 waren die niedrigsten Biotrockenmassekonzentrationen und Raum-Zeit-Ausbeuten sowie ein verlangsamtes Wachstum für *S. obtusiusculus* zu verzeichnen.

Diskussion

Anhand der drei Kriterien Wachstumsrate, maximale Biotrockenmassekonzentration am Ende des Prozesses sowie der Raum-Zeit-Ausbeute an Tag vier konnten neutrale bis leicht alkalische Bedingungen als optimaler pH-Bereich für *Scenedesmus obtusiusculus* identifiziert werden. Diese Beobachtung entspricht den in der Fachliteratur für andere Mikroalgen veröffentlichten Ergebnissen (Bartley *et al.* 2014; Goldman *et al.* 1982; Talukdar 2012). Ein Bereich zwischen pH 7 und pH 9 ermöglicht Algen, ihren intrazellulären pH aufrechtzuerhalten (Coleman und Colman 1981), was das für *S. obtusiusculus* ermittelte pH-Optimum von pH 7,5 stützt. Im Folgenden wurde daher pH 7,5 als Sollwert vorgegeben und für die Untersuchungen des temperaturabhängigen Wachstums verwendet.

5.1.2 Temperaturabhängigkeit des Wachstums von *S. obtusiusculus*

Analog zur Untersuchung des pH-abhängigen Wachstums von *Scenedesmus obtusiusculus* wurden die Satzprozesse zur Ermittlung der Temperaturabhängigkeit im pH-, Temperatur- und Lichtkontrollierten 1,8 L-Flachplattenphotobioreaktor in BG-11 Medium durchgeführt. Die Bestrahlung der Kultur erfolgte wie bei der Charakterisierung des pH-abhängigen Wachstums bei einer Eingangsphotonenflussdichte I_0 von $560 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Der Einfluss der Temperatur auf das Wachstum von *S. obtusiusculus* wurde zwischen $20 \text{ }^\circ\text{C}$ und $40 \text{ }^\circ\text{C}$ in $5 \text{ }^\circ\text{C}$ -Schritten untersucht.

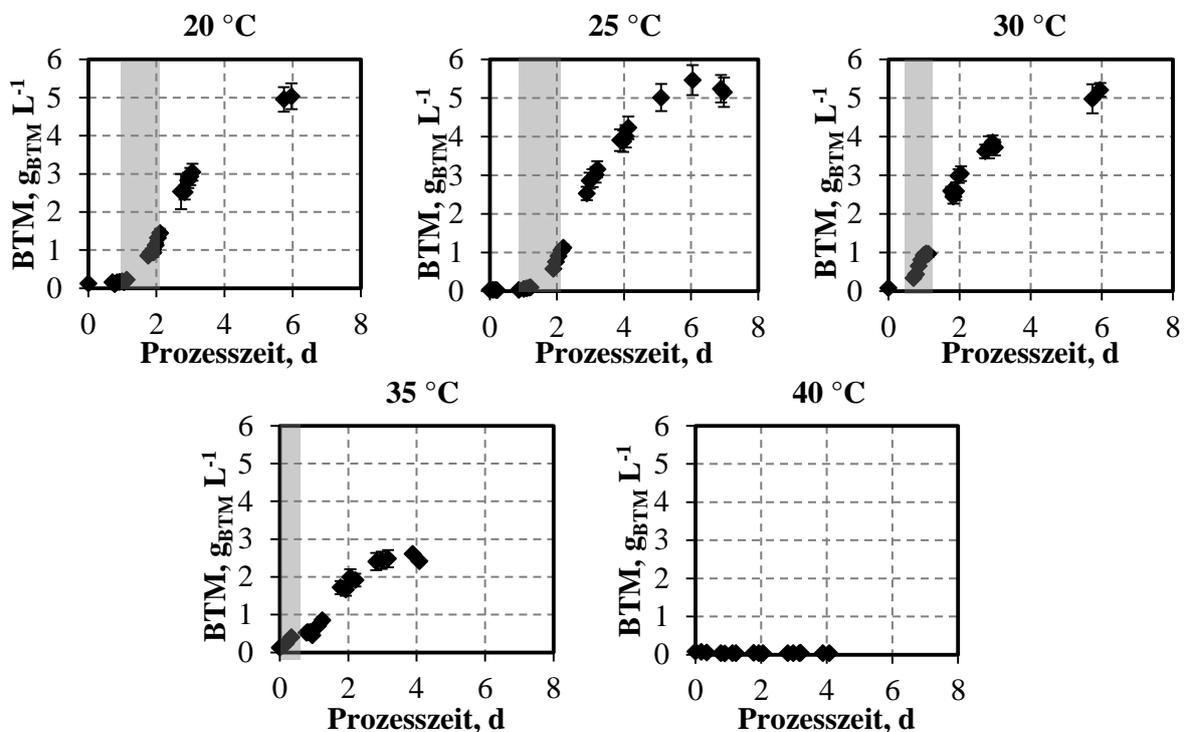


Abbildung 5-3: Einfluss der Temperatur auf das Wachstum von *Scenedesmus obtusiusculus* im 1,8 L-Flachplattenphotobioreaktor. Die Satzprozesse wurden bei pH 7,5 und einer Photonendichte I_0 von $560 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ durchgeführt. Der schattierte Bereich entspricht der Phase des exponentiellen Wachstums. BTM bezeichnet die Biotrockenmassekonzentration.

Abbildung 5-3 zeigt die aufgezeichneten Wachstumskurven für *S. obtusiusculus* in Abhängigkeit der Temperatur. Wie auch bei der Untersuchung des pH-abhängigen Wachstums konnten bei den moderaten Temperaturen 20 °C und 25 °C für Mikroorganismen charakteristische Wachstumskurven, unterteilt in eine Verzögerungsphase, eine exponentielle und eine stationäre Phase, verzeichnet werden. Bei 30 °C und 35 °C wurde ein sofortiges Anwachsen der Mikroalgenzellen ohne Verzögerungsphase beobachtet. Bei 40 °C war kein Wachstum ersichtlich. Ein ähnliches Ergebnis ist in Abbildung 5-4 zu erkennen. Schnellstes Wachstum und damit die höchste Wachstumsrate von $0,17 \text{ h}^{-1}$ wurde bei 30 °C beobachtet. Daraus resultierte mit $6,16 \pm 0,02 \text{ g L}^{-1}$ und $1,08 \pm 0,06 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ die höchste Biomassekonzentration bei Prozessende sowie die höchste Raum-Zeit-Ausbeute an Tag vier. Bei 35 °C verlangsamte sich das Wachstum, wodurch entsprechend weniger Biotrockenmasse produziert und damit eine geringere Raum-Zeit-Ausbeute erzielt wurde. Da *S. obtusiusculus* bei 40 °C nicht wuchs, konnten weder eine Wachstumsrate noch eine Biotrockenmassekonzentration oder Raum-Zeit-Ausbeute für diese Temperatur ermittelt werden.

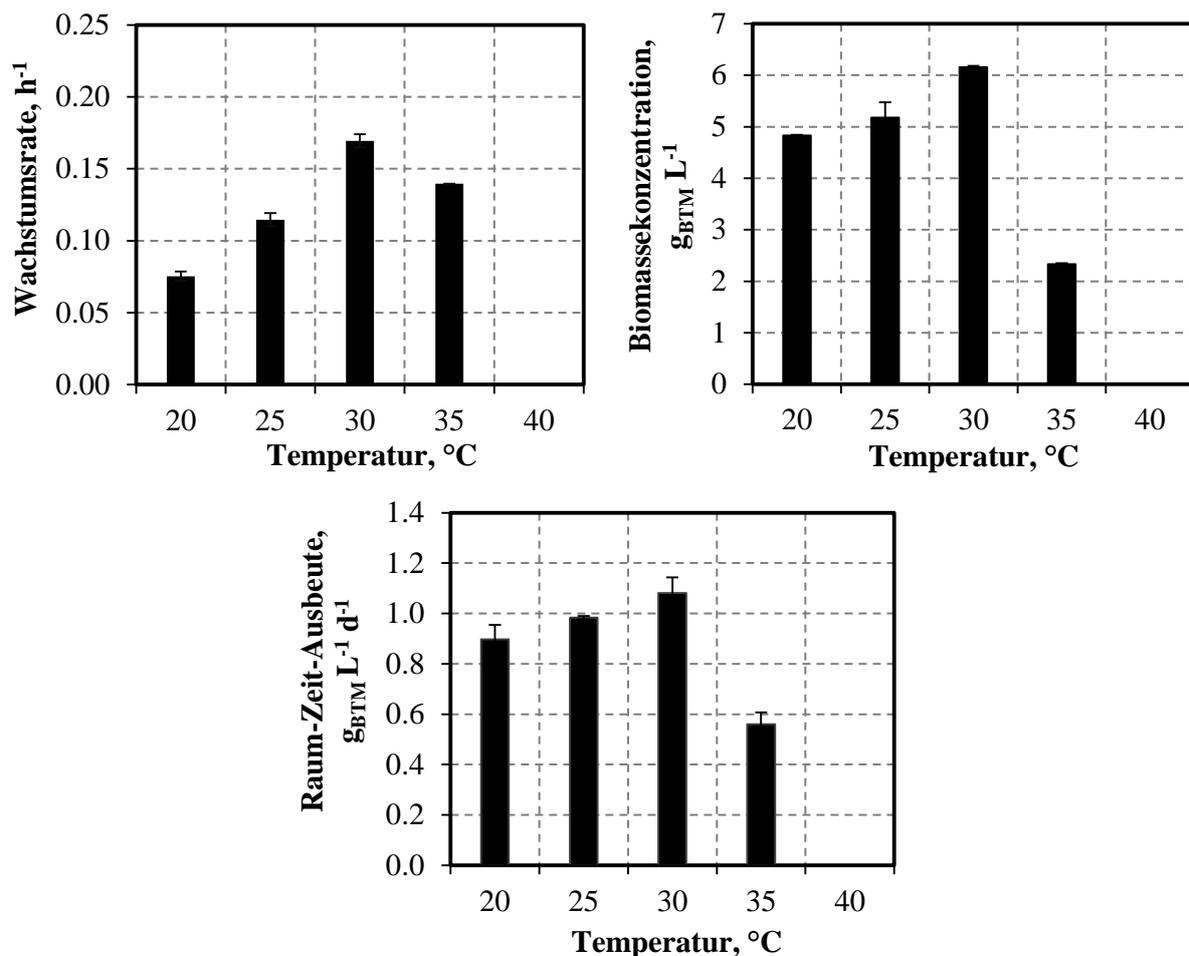


Abbildung 5-4: Einfluss der Temperatur auf die spezifische Wachstumsrate (exponentielle Phase), die finale Biotrockenmassekonzentration sowie auf die Raum-Zeit-Ausbeute an Tag vier von *Scenedesmus obtusiusculus* zur Bestimmung des Temperaturoptimums. Die Satzprozesse erfolgten bei pH 7,5 und einer Eingangspotonenflussdichte I_0 von $560 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ im Flachplattenphotobioreaktor. Bei 40 °C konnte kein Zellwachstum nachgewiesen werden.

Diskussion

Der Temperatureinfluss auf das Wachstum von *S. obtusiusculus* wurde bereits anhand der Wachstumskurven deutlich. Während bei 20 °C und 25 °C eine Verzögerungsphase beobachtet wurde, wuchsen die Zellen bei 30 °C und 35 °C ohne Adaption an die neuen Umgebungsbedingungen an. Da die Vorkulturherstellung sowie die Inokulation (Erntezeitpunkt, Anfangskonzentration) für alle Versuche gleichartig durchgeführt wurden, lässt sich der Unterschied im Anwachsverhalten nicht darauf zurückführen. Darüber hinaus waren alle weiteren Prozessgrößen (pH, Photonenflussdichte, Begasung, Medienzusammensetzung) während der Versuche jeweils identisch. Eine Temperatur von 30 °C und 35 °C scheint den Zellmetabolismus somit positiv zu beeinflussen und das Zellwachstum zu beschleunigen. Werden darüber hinaus die drei Kriterien Wachstumsrate, Biotrockenmassekonzentration am Ende des Prozesses und die Raum-Zeit-Ausbeute an Tag vier betrachtet, so zeichnet sich ein deutliches Maximum bei 30 °C ab. Diese Temperatur liegt in dem für Mikroalgen charakteristischen Temperaturbereich zwischen 22 °C und 35 °C (Renaud *et al.* 2002; Singh und Singh 2015). Höhere Temperaturen können die Beweglichkeit von Zellen (Flagellen) beeinträchtigen und genotypische und phänotypische Veränderungen verursachen. Auch chemische Transformationen und Transportprozesse innerhalb oder durch Membranen werden von der Temperatur beeinflusst (Raven und Geider 1988). Dies können mögliche Gründe für das beobachtete verlangsamte oder fehlende Wachstum bei Temperaturen über 30 °C sein. Insbesondere die katalytische Aktivität von Enzymen wie beispielsweise der Ribulose-1,5-Bisphosphat-Carboxylase/Oxygenase (RuBisCO) können bei suboptimalen Bedingungen eingeschränkt sein. RuBisCO ist ein zentrales Schlüsselenzym der Photosynthese und kann daher negative Auswirkungen auf die Reproduktion von Mikroalgen bei extremen Temperaturen haben (Berry und Bjorkman 1980; Li 1980; Li *et al.* 1984). Auch andere Enzyme sind nur bis zu einer gewissen Temperatur aktiv. Höhere Wärmezustände verursachen Hitzestress und können zu einem Verlust der Enzym- oder Proteinaktivität und schließlich zu einer Inhibition des Mikroalgenwachstums führen (Salvucci und Crafts-Brandner 2004). Für die folgende Untersuchung des lichtabhängigen Wachstums von *S. obtusiusculus* wurde daher eine Prozesstemperatur von 30 °C festgelegt.

5.1.3 Lichtabhängigkeit des Wachstums von *S. obtusiusculus*

Zur Charakterisierung des lichtabhängigen Wachstums von *Scenedesmus obtusiusculus* bei 30 °C und pH 7,5 in BG-11 Medium wurde die Eingangspotonenflussdichte zwischen 102 und 3794 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ variiert (Abbildung 5-5). Die Eingangspotonenflussdichte entspricht der Photonenflussdichte, die hinter der ersten Glasplatte der Kultivierungskammer direkt auf die Mikroalgensuspension auftrifft. Sie wurde nicht vor jedem Prozess gemessen, sondern in einem Vorversuch mit der steuerbaren Lichtemission der LED-Bestrahlungseinheit des Flachplattenphotobioreaktors korreliert (Kapitel 4.5.1). So war eine einfache Angabe und Einstellung der Eingangspotonenflussdichte über die Reaktorsoftware zu Prozessbeginn möglich. Neben der optischen Zelldichte und der Biotrockenmassekonzentration wurde die Lichttransmission auf der Reaktorrückseite (lichtabgewandte Seite) während des gesamten Prozesses bei jeder Probenahme gemessen. Darüber hinaus wurden die Mediennährstoffe Stickstoff, Phosphor, Sulfur und Eisen regelmäßig mittels Quantofix-Teststreifen kontrolliert (Kapitel 4.4.1). Abbildung 5-5 zeigt die ermittelten Wachstumskurven für *S. obtusiusculus* in Abhängigkeit der Eingangspotonenflussdichte.

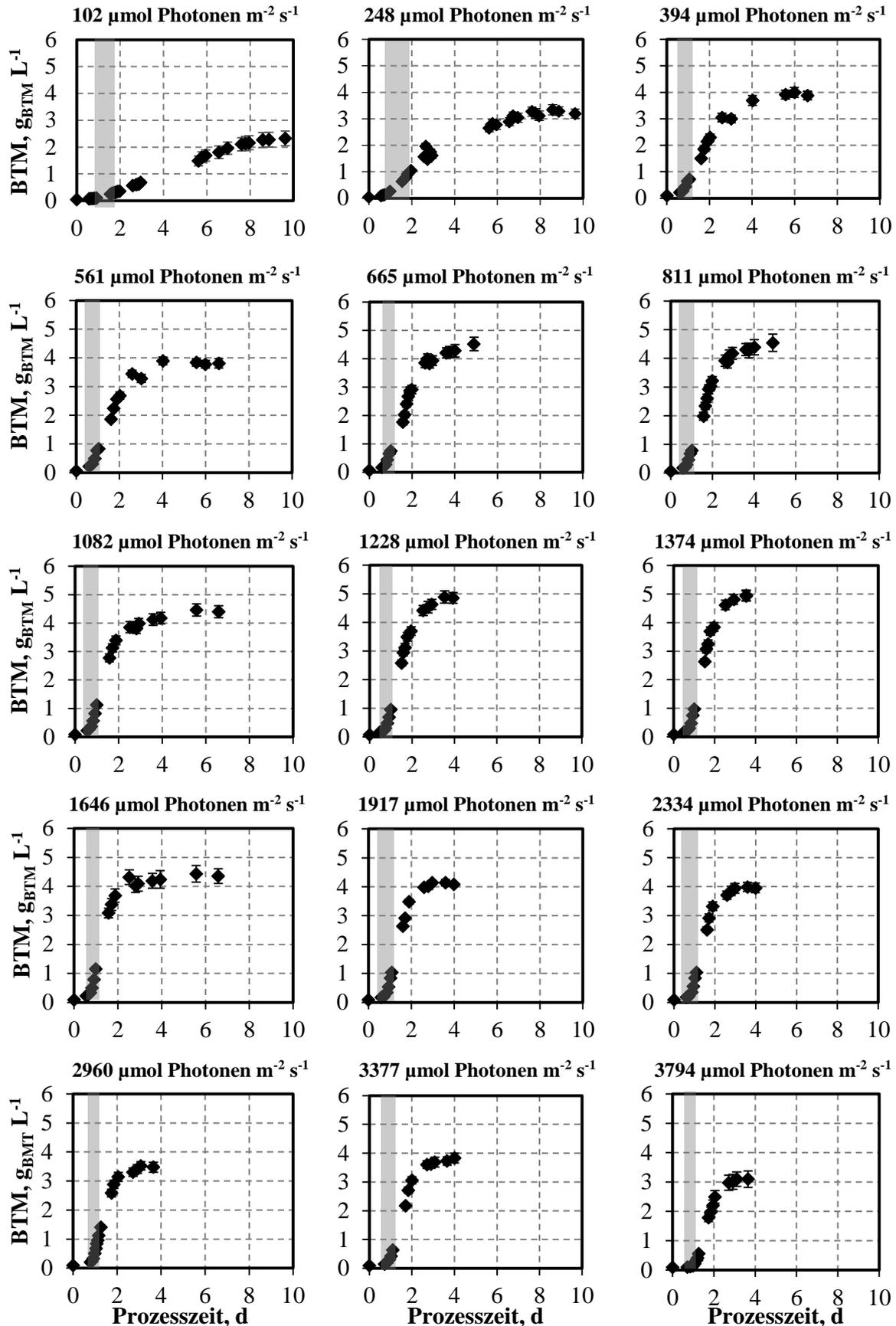


Abbildung 5-5: Wachstumskurven von *Scenedesmus obtusiusculus* im 1,8 L-Flachplattenphotobioreaktor in Abhängigkeit der Eingangsphotonenflussdichte. Die Satzprozesse wurden bei 30 °C und pH 7,5 durchgeführt. Die Abkürzung BTM bezeichnet die Biotrockenmassekonzentration im Reaktor. Der schattierte Bereich entspricht der Phase des exponentiellen Wachstums.

Die Prozesszeit betrug im Durchschnitt vier bis sechs Tage. Bei niedrigen Photonenflussdichten unter $400 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ erstreckte sich der Satzprozess auf sechs bis zehn Tage. Bis zu dieser Photonenflussdichte war eine längere Verzögerungsphase im Vergleich zu den Satzprozessen bei höheren Photonenflussdichten zu beobachten. Durch die Bestrahlung mit Photonenflussdichten über $650 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ wurde eine Beschleunigung des Kultivierungsprozesses im Satzverfahren erzielt. Darüber hinaus war ein Anstieg der finalen Biomassekonzentration mit zunehmender Photonenflussdichte zu verzeichnen. Bei noch höheren Photonenflussdichten über $1900 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ blieb die Prozessdauer mit drei bis vier Tagen ebenso kurz, wobei anhand des Biomassekonzentrationsverlaufs ein deutlicher Rückgang der finalen Biomassekonzentration festgestellt werden konnte. Im Allgemeinen gingen die Zellen unabhängig von der Eingangspotonenflussdichte nach einer kurzen exponentiellen Phase ab einer Biomassekonzentration von etwa $1 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ in ein lineares Wachstumsverhalten über und erreichten schließlich die stationäre Phase.

Zur Ermittlung einer optimalen Eingangspotonenflussdichte wurden wiederum die drei Kriterien Wachstumsrate (schattierter Bereich), Biotrockenmassekonzentration am Ende des Prozesses sowie die Raum-Zeit-Ausbeute an Tag vier herangezogen. Das Ergebnis ist in Abbildung 5-6 (A bis C) dargestellt.

Wie der pH und die Temperatur hatte auch Licht einen Einfluss auf das Wachstum von *S. obtusiusculus*. Bei niedrigen Photonenflussdichten ($100 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$) wurden finale Zelldichten von etwa $2,30 \pm 0,25 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ innerhalb einer Prozesszeit von zehn Tagen erreicht (Abbildung 5-6 B). Mit zunehmender Eingangspotonenflussdichte verkürzte sich die Prozesszeit und die Endkonzentration der Biotrockenmasse stieg bis zu einem Maximum von $4,95 \pm 0,16 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ innerhalb von 3,5 Prozesstagen an ($1374 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Eine weitere Erhöhung der Photonenflussdichte resultierte in niedrigeren Biomassekonzentrationen ($3,10 \pm 0,23 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$; $3794 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Eine ähnliche Abhängigkeit wurde für die Raum-Zeit-Ausbeute beobachtet. Wie bei der Biomasseendkonzentration wurde das Maximum mit $1,23 \pm 0,04 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ bei einer Eingangspotonenflussdichte von $1374 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ erreicht (Abbildung 5-6 C). Für die spezifischen Wachstumsraten ergab sich ein weniger ausgeprägter Einfluss hoher Photonenflussdichten (Abbildung 5-6 A). Bis zu einer Photonenflussdichte von $1374 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ stieg die Wachstumsrate zunehmend auf etwa $0,22 \text{ h}^{-1}$ an. Eine weitere Erhöhung der Eingangspotonenflussdichte hatte erst ab Werten von etwa $3300 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ einen hemmenden Einfluss und es wurde ein geringfügiger Rückgang der Wachstumsrate auf $0,19 \text{ h}^{-1}$ bis $0,20 \text{ h}^{-1}$ nachgewiesen. Die Daten aller fünfzehn Satzprozesse sind in Tab. A-11 (Anhang A.5.1) zusammengefasst.

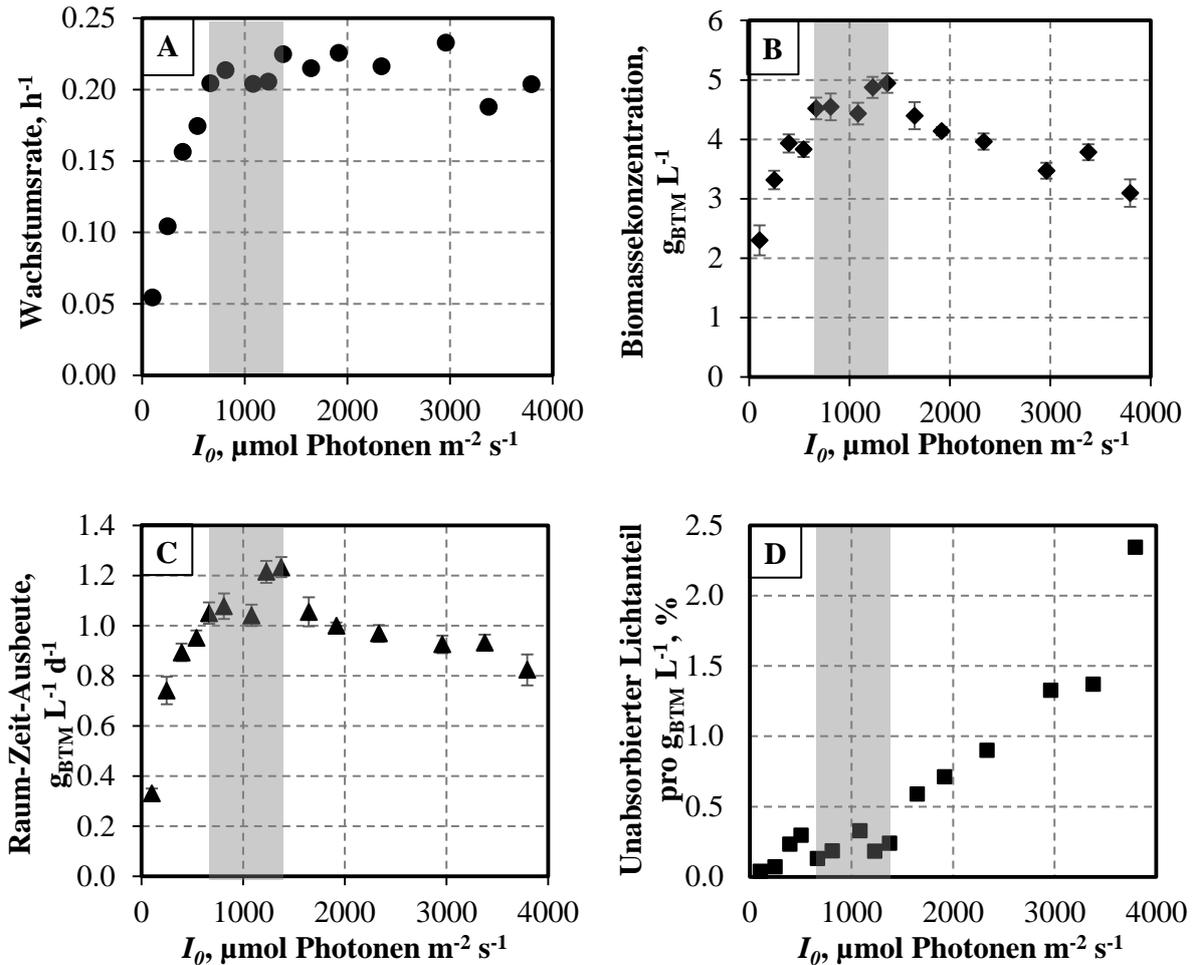


Abbildung 5-6: Einfluss der Eingangsphotonenflussdichte I_0 auf die spezifische Wachstumsrate in der exponentiellen Phase (A), die Endkonzentration der Biomasse (B) sowie der Raum-Zeit-Ausbeute an Tag vier (C) von *Scenedesmus obtusiusculus* im 1,8 L-Flachplattenphotobioreaktor (30°C , $\text{pH } 7,5$). In Abbildung D ist der Anteil der Photonendichte gezeigt, welcher am Ende des Prozesses (stationäre Phase) nicht von der Algensuspension im Reaktor absorbiert wurde. Hierfür wurde die Photonendichte auf der Reaktorrückseite bei Prozessende gemessen und auf die Biomassekonzentration sowie die Eingangsphotonenflussdichte bezogen. Der grau hinterlegte Bereich kennzeichnet die Versuche, bei denen bei Prozessende eine Nährstofflimitierung (N, P) detektiert wurde.

Zusätzlich zur spezifischen Wachstumsrate in der exponentiellen Phase, der finalen Biomassekonzentration und der Raum-Zeit-Ausbeute an Tag vier wurde bei der Untersuchung des lichtabhängigen Wachstums die Lichttransmission am Ende des Prozesses ermittelt. Hierzu wurde die Photonendichte auf der Reaktorrückseite gemessen, sobald die stationäre Phase erreicht war. Dadurch konnte der prozentuale Anteil an nicht absorbierten Photonen pro Gramm Biotrockenmasse am Ende des Prozesses berechnet werden (Abbildung 5-6 D). Während bis zu einer Photonendichte von $1374 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ kaum Lichttransmission nachgewiesen werden konnte, stieg der Anteil an nicht absorbierten Photonen bei höheren Photonendichten zunehmend an.

Des Weiteren konnte bei Photonendichten bis zu $600 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ keine Nährstofflimitierung bei Prozessabbruch festgestellt werden. Auch bei Photonendichten von

mehr als $1400 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ waren ausreichend Nährstoffe im Medium vorhanden. Im Bereich zwischen 600 und $1400 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ war dagegen kein Nachweis der Nährstoffe Phosphor und Stickstoff möglich.

Diskussion

Durch die Variation der Eingangsphotonenflussdichte bei sonst gleichen Prozessbedingungen im Satzverfahren konnte eine für das Neuisolat geeignete Eingangsphotonenflussdichte I_0 von 1200 bis $1400 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ identifiziert werden, welche zum besten Prozessergebnis (Wachstumsrate, Biotrockenmassekonzentration und Raum-Zeit-Ausbeute) im untersuchten Lichtbereich führte.

Da im Photonenflussdichtenbereich zwischen 600 und $1400 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ die Nährstoffe Phosphor und Stickstoff nicht mehr im Medium nachgewiesen werden konnten, lässt sich die Stagnation des Wachstums unter diesen Lichtbedingungen auf eine Nährstofflimitierung zurückführen. Bei allen anderen Photonenflussdichten konnte eine Nährstofflimitierung (N, P, S, Fe) ausgeschlossen werden. Stattdessen wurde durch die Messung der Lichttransmission auf der Rückseite des Flachplattenphotobioreaktors (Abbildung 5-6 D) gezeigt, dass bis zu einer Photonenflussdichte von $1400 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ nahezu das gesamte eingestrahelte Licht und somit alle zur Verfügung gestellten Photonen von der Mikroalgensuspension absorbiert wurden. Das eingestrahelte Licht durchdrang demnach nicht mehr den gesamten Reaktor, so dass bei Photonenflussdichten unterhalb von $1400 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ von lichtlimitierten Bedingungen auszugehen ist. Insbesondere den Zellen im lichtabgewandten Bereich des Reaktors standen dadurch nicht mehr ausreichend Photonen zur Verfügung. Damit einhergehend wurden für den Lichtbereich unterhalb von $1400 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ niedrigere Biomassekonzentrationen und Raum-Zeit-Ausbeuten beobachtet (Abbildung 5-6 A bis C), was der in der Literatur beschriebenen Beeinträchtigung der Photosynthese unter lichtlimitierten Bedingungen entspricht (Soeder 1971; Sorokin und Krauss 1958).

Bei Photonenflussdichten über $1400 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ konnte dagegen noch Licht auf der Reaktorrückseite bei Erreichen der stationären Phase gemessen werden (Abbildung 5-6 D). Da zudem ausreichend Nährstoffe (N, P, S, Fe) im Medium nachgewiesen werden konnten, war es möglich, eine Nährstoff- sowie Lichtlimitierung als Ursache für den beobachteten Rückgang der Biotrockenmassekonzentrationen und Raum-Zeit-Ausbeuten bei Photonenflussdichten oberhalb von $1400 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ auszuschließen. Vielmehr lässt sich der fallende Kurvenverlauf auf Starklicht induzierte Photoakklimations- und photoschädigende Prozesse zurückführen, welche in der Literatur als mögliche Ursachen diskutiert werden (Brody und Vatter 1959; Juneja *et al.* 2013).

Insgesamt wurden das schnellste Wachstum sowie die höchste Biomasseproduktivität bei einer Eingangspotonenflussdichte von $1374 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ für *Scenedesmus obtusiusculus* erzielt. Damit wurde eine Biomassekonzentration von $4,95 \pm 0,16 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ innerhalb einer Prozesszeit von 3,5 Tagen produziert ($28,3 \pm 0,9 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ m}^2 \text{ d}^{-1}$). Diese Konzentration sowie Produktivität ist in etwa 25 % höher als für andere *S. obtusiusculus* in der Literatur beschrieben (Cabello *et al.* 2014; Cabello *et al.* 2015; Toledo-Cervantes *et al.* 2013). Darüber hinaus wurde bei dieser Eingangspotonenflussdichte im Flachplattenphotobioreaktor (1,8 L) eine vierfach höhere spezifische Wachstumsrate von *S. obtusiusculus* erreicht ($\mu=0,22 \text{ h}^{-1}$) als von Cabello *et al.* (2015) publiziert ist.

5.2 Reaktionskinetik des lichtabhängigen Wachstums von *Scenedesmus obtusiusculus*¹

In den folgenden Abschnitten wird auf die Charakterisierung des Lichttransfers im verwendeten Flachplattenphotobioreaktor zur Bestimmung der Reaktionskinetik des lichtabhängigen Wachstums von *Scenedesmus obtusiusculus* eingegangen. Es werden die Ergebnisse aus der Untersuchung des Lichtabsorptionsverhaltens des Neuisolats vorgestellt und kinetische Parameter abgeschätzt. Abschließend werden die Anwendung der neuen Erkenntnisse zur Gestaltung eines Lichtprofils und dessen experimentelle Validierung beschrieben.

5.2.1 Lichttransfer im Flachplattenphotobioreaktor

Der folgende Abschnitt beschreibt den Einfluss der Biomassekonzentration auf das Absorptionsverhalten von *Scenedesmus obtusiusculus* in Abhängigkeit der Reaktorschichtdicke. Darüber hinaus wird auf die Anwendbarkeit verschiedener Modelle zur Beschreibung der Lichtabsorption durch Mikroalgen im verwendeten Flachplattenphotobioreaktor eingegangen.

Untersuchung der Lichtabsorption von *S. obtusiusculus* in einem Vorversuch

Zur Untersuchung des Lichtabsorptionsverhaltens von *Scenedesmus obtusiusculus* in Abhängigkeit der Reaktorschichtdicke sowie der Biomassekonzentration, wurde der in Kapitel 4.5.2 erläuterte Versuchsaufbau herangezogen. Durch Variation des Probevolumens in der Messapparatur konnten verschiedene Schichtdicken in der Kultivierungskammer zwischen 0 cm und 3,5 cm in 0,25 cm Abständen nachgeahmt werden. Für jede Schichtdicke wurde die Photonenflussdichte am Boden der Messapparatur gemessen und so die Lichtabschwächung mit zunehmendem Abstand zur Lichtquelle experimentell bestimmt. Die Messung erfolgte bei den drei Photonenflussdichten 40, 300 und 640 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$, um den Einfluss der Eingangspotonenflussdichte, welche auf die Mikroalgensuspension auftrifft, auf die Lichtabsorption zu untersuchen. Zur Ermittlung des Einflusses der Zelldichte auf die Lichtabsorption im Reaktor wurden darüber hinaus Suspensionen mit unterschiedlichen Biomassekonzentrationen zwischen 0,3 $\text{g}_{\text{BTM}} \text{L}^{-1}$ und 2,7 $\text{g}_{\text{BTM}} \text{L}^{-1}$ eingesetzt und jeweils der Lichttransfer innerhalb eines Flachplattenphotobioreaktors nachempfunden und experimentell ermittelt. Der Verlauf der Lichtabschwächung in Abhängigkeit der Schichtdicke ist für drei verschiedene Biomassekonzentrationen in Abbildung 5-7 A dargestellt. Abbildung 5-7 B zeigt die Lichtabsorption in Abhängigkeit der eingesetzten Photonenflussdichte beispielhaft für eine Biomassekonzentration von 2,7 $\text{g}_{\text{BTM}} \text{L}^{-1}$. Für eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse wurde

¹ Teile der Ergebnisse wurden bereits publiziert in:

Koller AP, Löwe H, Schmid V, Mundt S, Weuster-Botz D (2016): Model-supported phototrophic growth studies with *Scenedesmus obtusiusculus* in a flat-plate photobioreactor. Biotechnol Bioeng online first: DOI: 10.1002/bit.26072

die experimentell gemessene Lichttransmission jeweils auf die Eingangsphotonenflussdichte normiert, mit der die Mikroalgensuspension bestrahlt wurde.

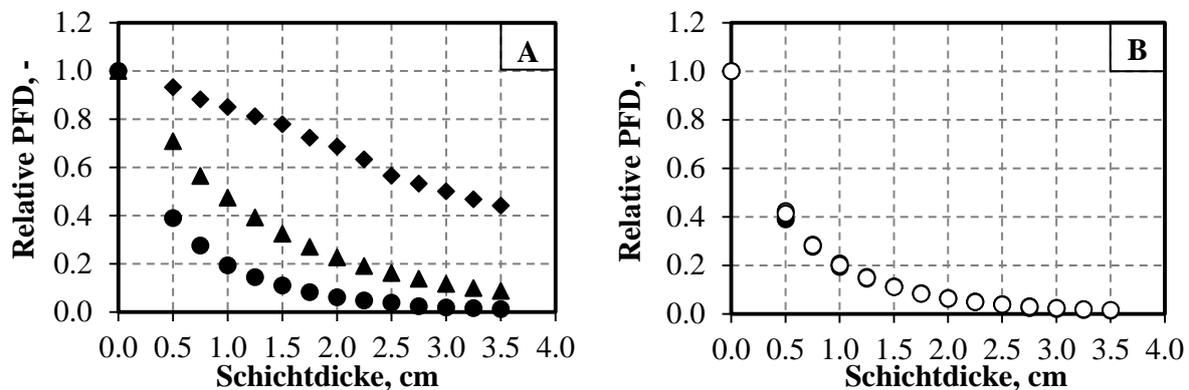


Abbildung 5-7: Experimentell für einen Flachplattenphotobioreaktor nachgebildete Lichtabschwächung in Abhängigkeit der Reaktorschichtdicke einer *Scenedesmus obtusiusculus* Zellsuspension. Die experimentell gemessene Photonendichte (PFD) wurde für eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse jeweils auf die Eingangsphotonenflussdichte normiert.

A: $300 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$; Biomassekonzentrationen: $0,3$ (◆), $1,2$ (▲) und $2,7$ (●) $\text{g}_{\text{BTM}} \text{L}^{-1}$.
B: $2,7 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{L}^{-1}$; Photonendichten: 40 (○), 300 (●) und 640 (●) $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Wie in Abbildung 5-7 ersichtlich ist, nahm die experimentell gemessene Lichttransmission mit zunehmender Schichtdicke unabhängig von der Biomassekonzentration ab. Je höher die Algensuspension konzentriert war, desto stärker wurde das eintretende Licht erwartungsgemäß abgeschwächt (Abbildung 5-7 A). Eine Abhängigkeit von der Eingangsphotonenflussdichte konnte dabei nicht nachgewiesen werden. Die normierten Kurven waren für alle drei eingesetzten Photonendichten nahezu deckungsgleich (Abbildung 5-7 B).

Auf der Grundlage dieser Ergebnisse wurden die in Kapitel 3.4.2 aufgelisteten Modellgleichungen für das Lambert-Beer'sche Gesetz, das modifizierte Lambert-Beer'sche Gesetz sowie für das Absorptionsmodell nach Reynolds und Pacala (Gleichung 3-8 bis 3-10) angewandt, um ein geeignetes Modell zur Beschreibung der Lichtabsorption von *Scenedesmus obtusiusculus* zu identifizieren. Hierfür wurden die Modellgleichungen jeweils für einen Lichtweg von 2 cm gelöst, was der Schichtdicke des in dieser Arbeit eingesetzten Flachplattenphotobioreaktors entspricht. Für die Berechnungen wurden die Versuchsdaten der Lichtabschwächung bei einer Eingangsphotonenflussdichte von $300 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ herangezogen. Die Ergebnisse sind in Abbildung 5-8 dargestellt.

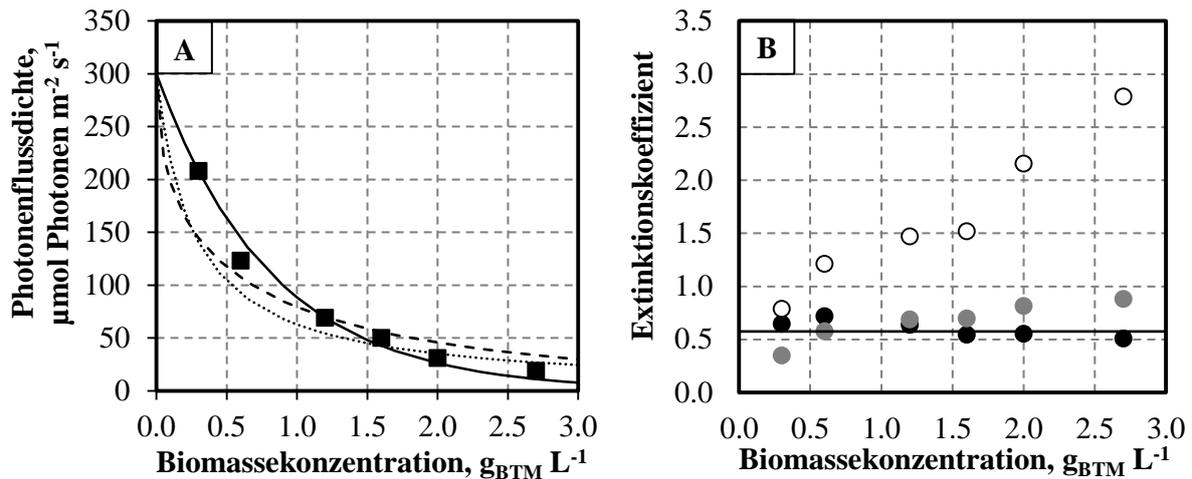


Abbildung 5-8: **A:** Vergleich der experimentell ermittelten Absorptionsdaten für *Scenedesmus obtusiusculus* (\blacksquare) mit den modell-gestützten theoretischen Absorptionskurven nach Lambert-Beer (—), dem modifizierten Lambert-Beer (---) sowie Reynolds und Pacala (·····) für eine Eingangsphotonenflussdichte von $I_0 = 300 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ und einem Lichtweg von $S = 2 \text{ cm}$ (Schichtdicke des Flachplattenphotobioreaktors).
B: Aus den experimentellen Daten ($300 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 2 cm Schichtdicke) berechnete Extinktionskoeffizienten in Abhängigkeit der Biomassekonzentration für das Lambert-Beer'sche Gesetz (\bullet , $\text{L g}_{\text{BTM}}^{-1} \text{cm}^{-1}$), Gesetz nach Reynolds und Pacala (\circ , $\text{L g}_{\text{BTM}}^{-1} \text{cm}^{-1}$) und das modifizierte Lambert-Beer'sche Gesetz (\bullet , $\sqrt{\text{L g}_{\text{BTM}}^{-1} \text{cm}^{-1}}$).

Nur mit dem Lambert-Beer'schen Gesetz war es möglich, die experimentell ermittelten Daten hinreichend genau zu beschreiben (Abbildung 5-8 A). Dieses Resultat wurde durch die Berechnung der Extinktionskoeffizienten in Abhängigkeit der Biomassekonzentration gestützt. Ausschließlich mit dem Absorptionsmodell von Lambert und Beer konnte ein nahezu konstanter Extinktionskoeffizient von etwa $0,5 \text{ m}^2 \text{kg}_{\text{BTM}}^{-1}$ für die verschiedenen Biomassekonzentrationen nachgewiesen werden (Abbildung 5-8 B). Das Lambert-Beer'sche Gesetz schien somit geeignet zu sein, das Absorptionsverhalten von *S. obtusiusculus* wiederzugeben, und sollte für die weitere Charakterisierung des Neuisolats eingesetzt werden.

Untersuchung der Lichtabsorption von *S. obtusiusculus* im Flachplattenphotobioreaktor

Um die Übertragbarkeit der Ergebnisse aus dem Vorversuch in den Flachplattenphotobioreaktor zu überprüfen, wurde die Lichtabsorption während einer Kultivierung im Flachplattenphotobioreaktor bestimmt. Hierfür wurden standardisierte Satzprozesse, wie sie in Kapitel 4.3.2 und 5.1.3 beschrieben sind, durchgeführt. Eine Ermittlung der Lichtabsorption in Abhängigkeit der Schichtdicke war aus technischen Gründen nicht möglich. Daher wurde die Photonflussdichte auf der Reaktorrückseite während des Prozesses aufgezeichnet (Kapitel 4.5.1). Dies entspricht der Untersuchung der Lichtabsorption im Vorversuch in Abhängigkeit der Biomassekonzentration bei einer Schichtdicke von 2 cm . Die Lichtabschwächung als Funktion der Biomassekonzentration im Reaktor ist beispielhaft für den Prozess bei einer Eingangsphotonenflussdichte von $665 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ in Abbildung 5-9 A gezeigt. Abbildung 5-9 B legt die zugehörigen

Extinktionskoeffizienten, welche mit dem modifizierten und dem originalen Lambert-Beer'schen Gesetz sowie mit Reynolds und Pacalas Ansatz berechnet wurden, dar.

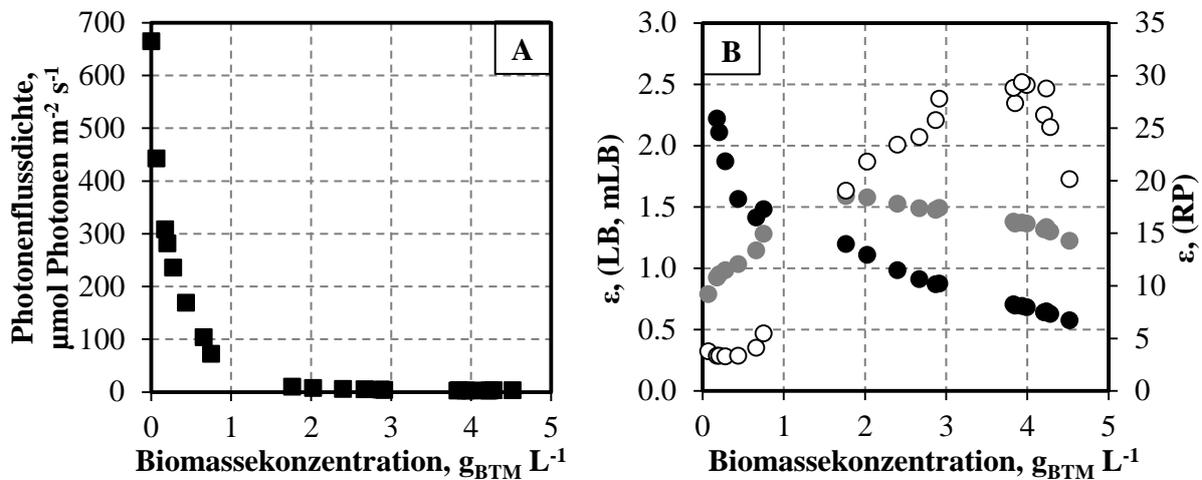


Abbildung 5-9: **A:** Lichtabschwächung, gemessen auf der Rückseite des Flachplattenphotobioreaktors, in Abhängigkeit der Biomassekonzentration während eines Satzprozesses bei einer Eingangsphotonenflussdichte von $665 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (*Scenedesmus obtusiusculus*). **B:** Aus den experimentellen Daten ermittelte Extinktionskoeffizienten ϵ in Abhängigkeit der Biomassekonzentration während des Satzprozesses (Abbildung A) für das Absorptionsgesetz nach Lambert-Beer (LB, ●), nach dem modifizierten Lambert-Beer (mLB, ●) sowie nach Reynolds und Pacala (RP, ○).

Bereits ab einer Biomassekonzentration von etwa $2 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{L}^{-1}$ wurde nahezu das gesamte Licht von der Mikroalgensuspension im Reaktor absorbiert und es konnte kaum eine Photonflussdichte auf der Reaktorrückseite gemessen werden. Entgegen der Erkenntnisse im Vorversuch wurde eine signifikante Änderung des Extinktionskoeffizienten mit zunehmender Biomassekonzentration festgestellt (Abbildung 5-9 B). Eine Gültigkeit der angewandten Absorptionsgesetze für einen Satzprozesses im eingesetzten Flachplattenphotobioreaktor konnte damit nicht bestätigt werden.

Diskussion

Für eine detaillierte und modellgestützte Charakterisierung der lichtabhängigen Reaktionskinetik phototropher Mikroorganismen ist insbesondere die realitätsnahe Beschreibung des Lichttransfers in einem Photobioreaktor entscheidend. Während in einem Vorversuch in einer speziell angefertigten Messapparatur die Gültigkeit des Lambert-Beer'schen Gesetzes zur Beschreibung der Lichtabsorption von *Scenedesmus obtusiusculus* nachgewiesen werden konnte, war eine Beschreibung der Absorption während eines realen Kultivierungsprozesses im Flachplattenphotobioreaktor im Satzverfahren mit diesem Absorptionsmodell nicht möglich. Auch andere Absorptionsgesetze wie das modifizierte Lambert-Beer'sche Gesetz oder das Gesetz nach Reynolds und Pacala konnten die experimentellen Daten nicht wiedergeben.

Im Allgemeinen ist das Lambert-Beer'sche Gesetz nur für verdünnte Lösungen gültig. Der Geltungsbereich des Gesetzes wird unter anderem durch konzentrationsabhängige Aggregation

oder Komplexbildung beeinflusst. Der Extinktionskoeffizient hängt dabei sowohl von der sogenannten Molrefraktion als auch vom Brechungsindex des Mediums ab. Da die Molrefraktion nach der Dispersionstheorie konzentrationsunabhängig ist, sich der Brechungsindex aber in der Regel mit der Stoffkonzentration im Medium ändert, war eine geringfügige Abweichung des Extinktionskoeffizienten zu erwarten. Je nach eingesetztem Medium und eingesetztem Stoff ist diese Modifikation unterschiedlich stark ausgeprägt. Bei den Absorptionsmessungen im Flachplattenphotobioreaktor wurde allerdings eine signifikante Konzentrationsabhängigkeit mit einer Veränderung des Extinktionskoeffizienten von über 70 % festgestellt. Darüber hinaus wurde im vereinfachten Vorversuch eine Konzentrationsunabhängigkeit des Extinktionskoeffizienten im selben Biomassekonzentrationsbereich (bis etwa $3 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$) nachgewiesen. Da sich der Brechungsindex in beiden Versuchen in Abhängigkeit der Zelldichte ähnlich entwickelt haben sollte, können die beobachteten Schwankungen im Extinktionskoeffizienten bei der Absorptionsmessung im Flachplattenphotobioreaktor daher nicht ausschließlich auf eine konzentrationsabhängige Modulation des Brechungsindex zurückgeführt werden. Dies deutet auf weitere Vorgänge hin, die den beobachteten Sachverhalt bedingt haben könnten.

Eine mögliche Ursache für die kontroversen Beobachtungen kann zum einen im Umgebungslicht gefunden werden. Im Vorversuch war die Algensuspension völlig von Umgebungslicht abgeschirmt. Somit hatte nur die Lichtquelle mit der Eingangsphotonenflussdichte einen Einfluss auf die Absorptionsmessungen. Beim Flachplattenphotobioreaktor kann dagegen keine vollständige Abschirmung realisiert werden, so dass Umgebungs- und Streulicht die Messung beeinflusst haben könnten. Eine erste Abhilfe wurde durch Abdeckung der dem Lichtpanel abgewandten Seite des Photobioreaktors mit einer lichtundurchlässigen Silikonmatte geschaffen (Kapitel 4.5.1). Dadurch sollten zudem während der Satzprozesse beobachtete tageszeitabhängige Verläufe der optischen Dichte minimiert werden (Ergebnisse nicht dargestellt).

Ein weiterer Unterschied zwischen der Lichtmessung im Vorversuch und im Reaktor ist das Vorhandensein von Gasblasen im Flachplattenphotobioreaktor, welche in der Messapparatur des Vorversuchs fehlten. Daher wurde untersucht, welchen Einfluss Gasblasen, etwa durch Lichtstreuung oder -absorption, auf die Absorptionsmessung auf der Rückseite des Flachplattenphotobioreaktors und damit auf die Lichtverteilung in der Kultivierungskammer haben. Es waren keine signifikanten Unterschiede zwischen der Messung mit beziehungsweise ohne Begasung festzustellen. Die Abweichungen lagen jeweils unter 10 % (siehe Anhang A.5 Abb. A-5), weshalb der Einfluss von Gasblasen auf die Lichtabsorption vernachlässigt werden kann. Auch eine Beeinflussung aufgrund einer ständigen Bewegung (Durchmischung) der Zellen in der Suspension kann damit relativiert werden. Vielmehr wurde eine Veränderung der Zellzusammensetzung während des Prozesses als Hauptursache für die Veränderlichkeit der Extinktionskoeffizienten angenommen. Im Vorversuch wurde eine stationäre Kultur aus einer

bestimmten Wachstumsphase verwendet, deren Zusammensetzung sich im Messzeitraum nicht veränderte. Die verschiedenen Zelldichten wurden durch Verdünnung der Ausgangskultur erstellt, so dass eine Veränderung der Zellkomposition im Messzeitraum ausgeschlossen werden kann. Während des Prozesses im Photobioreaktor wuchsen und vermehrten sich die Algen dagegen, weshalb eine kontinuierliche Veränderung der Zellzusammensetzung möglich ist. Algenzellen unterliegen einer ständigen Pigmentveränderung zur Anpassung an wechselnde Umgebungsbedingungen (Kapitel 3.2.5). Solche Akklimationsprozesse konnten auch in dieser Arbeit in Form einer deutlichen Verfärbung der Mikroalgen von einer grün nach orange/braun während des Kultivierungsprozesses beobachtet werden. Die Adaption der Mikroalgenkultur wurde daher als Hauptursache für die sich ändernden Extinktionskoeffizienten vermutet. Im Folgenden sollten Absorptionsversuche mit „stationären“ Kulturen aus unterschiedlichen Wachstumsphasen zur Untersuchung dieser Hypothese durchgeführt werden. Die daraus gewonnenen Erkenntnisse werden im nachstehenden Kapitel vorgestellt.

5.2.2 Einfluss der Zellzusammensetzung auf das Lichtabsorptionsverhalten von *Scenedesmus obtusiusculus*

Wie durch die Lichtabsorptionsversuche im Flachplattenphotobioreaktor gezeigt wurde, tritt während eines realen Satzprozesses eine Veränderung der Extinktionskoeffizienten in Abhängigkeit der Biomassekonzentration im Reaktor auf. Dies spricht gegen die Anwendbarkeit des Gesetzes von Lambert und Beer zur Beschreibung der Lichtabschwächung durch *Scenedesmus obtusiusculus* im verwendeten Flachplattenphotobioreaktor und sollte in weiteren Experimenten vertiefend untersucht werden.

Zur Untersuchung des Einflusses der Zellzusammensetzung auf die Absorptionsmessung wurden mehrere Messungen im Flachplattenphotobioreaktor durchgeführt. Zur Charakterisierung des Einflusses der Zellzusammensetzung auf die Lichtabsorption wurde je eine Algensuspension aus einer frühen (Pigmentierung: grün), einer mittleren (Pigmentierung orange-grün) und einer späten Wachstumsphase (Pigmentierung: orange) aus zuvor durchgeführten Satzprozessen für die Absorptionsmessungen eingesetzt (Abbildung 5-10).



Abbildung 5-10: Unterschiedlich pigmentierte Mikroalgenkulturen (*Scenedesmus obtusiusculus*) zur Charakterisierung des Einflusses der Zellzusammensetzung auf die Lichtabsorption im Flachplattenphotobioreaktor.

Für jede Algensuspension wurde eine Verdünnungsreihe zwischen $0 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ und $4 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ mit BG11-Medium erstellt, um einen Prozess mit zunehmender Biomassekonzentration nachzubilden. Jede Verdünnung wurde anschließend jeweils separat in den Flachplattenphotobioreaktor gefüllt und die Photonenflussdichte auf der Reaktorrückseite für eine Eingangsphotonenflussdichte von $235 \text{ } \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ gemessen (Kapitel 4.5.1). Zur Auswertung der Daten wurde anschließend der Extinktionskoeffizient mit der Methode der kleinsten Fehlerquadrate für jede der drei untersuchten Kultur für das Lambert-Beer'sche Gesetz aus den experimentellen Daten bestimmt (Abbildung 5-11).

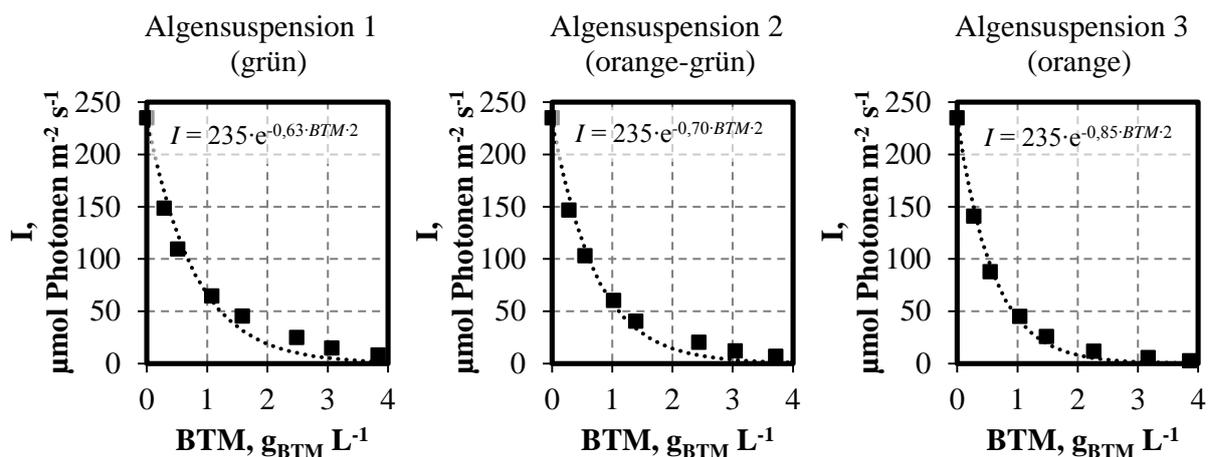


Abbildung 5-11: Auf der Rückseite des Flachplattenphotobioreaktors für eine Eingangsphotonenflussdichte von $I_0 = 235 \text{ } \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ gemessene Photonenflussdichte I für Verdünnungsreihen (BTM = Biomassekonzentration) unterschiedlich pigmentierter Algensuspensionen (1 bis 3) zur Bestimmung des Einflusses der Zellzusammensetzung auf die Lichtabsorption (Extinktionskoeffizienten) im Flachplattenphotobioreaktor. Die Extinktionskoeffizienten (Algensuspension 1: $0,63 \text{ L g}_{\text{BTM}}^{-1} \text{ cm}^{-1}$; Algensuspension 2: $0,70 \text{ L g}_{\text{BTM}}^{-1} \text{ cm}^{-1}$; Algensuspension 3: $0,85 \text{ L g}_{\text{BTM}}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) wurden mit der Methode der kleinsten Fehlerquadrate (\cdots) aus den experimentellen Daten (\blacksquare) für das Gesetz nach Lambert und Beer ermittelt.

Wie in Abbildung 5-11 ersichtlich ist, wurde erwartungsgemäß eine Abnahme der Photonenflussdichte mit steigender Biomassekonzentration im Reaktor verzeichnet. Dabei war es möglich, den Verlauf mit Hilfe des Lambert-Beer'schen Gesetzes bis zu einer Biomassekonzentration von etwa $1 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ zu beschreiben. Für höhere Konzentrationen wurden Abweichungen zwischen den experimentellen Daten und den Regressionsdaten bestimmt. Anders als bei der konzentrationsabhängigen Untersuchung der Lichtabsorption im Photobioreaktor konnte bei der Ermittlung der Abhängigkeit der Absorption von der Zellzusammensetzung eine Erhöhung der abgeschätzten Extinktionskoeffizienten mit zunehmender Orangefärbung der Mikroalgenkultur nachgewiesen werden. Während der Extinktionskoeffizient bei der grünen Algensuspension $0,63 \text{ L g}_{\text{BTM}}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ betrug, wurde er in der orangen Algensuspension auf $0,85 \text{ L g}_{\text{BTM}}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ bestimmt.

Analog zu den beiden Vorversuchen wurde in diesem Experiment ebenso die Abhängigkeit des Extinktionskoeffizienten von der Biomassekonzentration untersucht. Hierfür wurde der

Extinktionskoeffizient für das Lambert-Beer'sche Gesetz zusätzlich zur Abschätzung mit der Methode der kleinsten Fehlerquadrate (Abbildung 5-11) für jede Absorptionsmessung mit unterschiedlichen Biomassekonzentrationen direkt berechnet. Das Ergebnis ist in Abbildung 5-12 gezeigt.

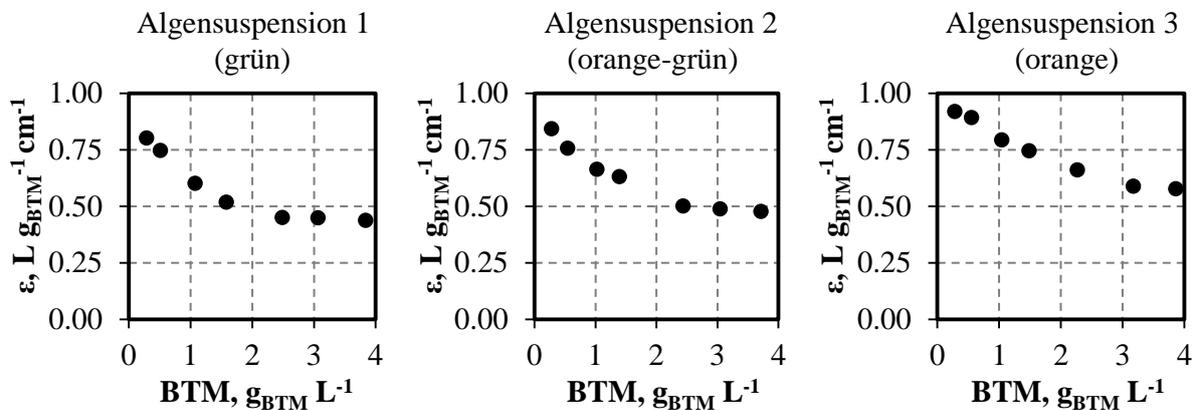


Abbildung 5-12: Extinktionskoeffizienten ϵ in Abhängigkeit der Biomassekonzentration c_x für drei unterschiedlich pigmentierte *Scenedesmus obtusiusculus* Kulturen im Flachplattenphotobioreaktor ($S = 2$ cm; $I_0 = 235 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$) auf der Basis von Lambert und Beers Absorptionsmodell.

Ähnlich wie bei der Absorptionsmessung während eines realen Kultivierungsprozesses im Satzverfahren, konnte ein Absinken des Extinktionskoeffizienten mit zunehmender Zelldichte im Reaktor festgestellt werden. Obwohl die Pigmentzusammensetzung der Algenzellen während der Messung jeweils unverändert war („stationäre“ Kultur), konnte im Flachplattenphotobioreaktor keine Unabhängigkeit des Extinktionskoeffizienten von der Zelldichte für eine einzelne „stationäre“ Kultur nachgewiesen werden. Dies widerspricht den Beobachtungen, welche in Kapitel 5.2.1 für die Untersuchung der Lichtabsorption stationärer Mikroalgenkulturen in einer separaten Messapparatur beschrieben sind. Für verschiedene Biomassekonzentrationen im Reaktor blieb der Extinktionskoeffizient im Vorversuch nahezu konstant. Im Flachplattenphotobioreaktor ergaben sich trotz gleichbleibender Zellzusammensetzung unterschiedliche Extinktionskoeffizienten. Aus diesem Grund muss die Lichtabsorption im Flachplattenphotobioreaktor noch von weiteren Faktoren beeinflusst werden.

Einen genaueren Einblick sollte eine weitere Untersuchung der Anwendbarkeit des Gesetzes von Lambert und Beer geben. Dazu wurde analog zu Ación Fernández *et al.* (1997) Forschungsarbeit die Lichtabschwächung ($\ln(I_0/I)$) für jede der untersuchten Biomassekonzentrationen berechnet. Darüber hinaus wurden die theoretischen Modelldaten (gestrichelte Linie) für das Lambert-Beer'sche Gesetz abgeschätzt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 5-13 beispielhaft für die grüne Kultur (Kultur 1, Abbildung 5-10) dargestellt.

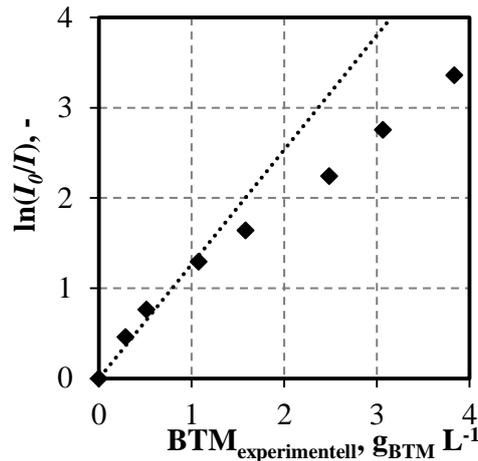


Abbildung 5-13: Experimentell mit Hilfe des Gesetzes nach Lambert und Beer ($\ln(I_0/I)$) für *Scenedesmus obtusiusculus* ermittelte Lichtabschwächung. Das Lambert-Beer'sche Gesetz gibt die experimentellen Daten (\blacklozenge) bis zu einer Biomassekonzentration (BTM) von etwa $1 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ gut wieder. Bei höheren Zelldichten sind die mit dem Gesetz theoretisch abgeschätzten Werte (\cdots) stets höher als die gemessenen Werte.

Nur bis zu einer Biomassekonzentration von etwa $1 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ konnten die experimentellen Daten mit dem Modell ($\ln(I_0/I)$) beschrieben werden. Bei höheren Konzentrationen war eine deutliche Abweichung zwischen den experimentellen und den theoretischen Daten festzustellen.

Diskussion

Durch die Untersuchung des Einflusses der Zellzusammensetzung auf das von Lambert und Beer beschriebene Absorptionsverhalten von *Scenedesmus obtusiusculus* im eingesetzten Flachplattenphotobioreaktor war ein experimenteller Nachweis der Abhängigkeit zwischen der Lichtabsorption im Reaktor und der Zellzusammensetzung möglich. Je nach Pigmentierung der Zellen änderte sich das Absorptionsverhalten und es wurden unterschiedliche Extinktionskoeffizienten ermittelt. Auffällig war dabei der Anstieg des Extinktionskoeffizienten mit zunehmender Karotinoidbildung (Orangefärbung), welcher ebenso in der Literatur beschrieben ist (Acién Fernández *et al.* 1997). Da es während eines Kultivierungsprozesses ebenfalls zu einer Anpassung der Zellzusammensetzung an die Umgebungsbedingungen kommen kann, ist eine Anwendbarkeit des Lambert-Beer'schen Gesetzes zur Beschreibung des Lichttransfers im Flachplattenphotobioreaktor damit nicht mehr uneingeschränkt möglich.

Die Variabilität der Zellkomposition wurde allerdings nicht als einzige Ursache für die eingeschränkte Validität des Lambert-Beer'schen Gesetzes für die in dieser Arbeit etablierten Biomasseproduktionsprozesse mit *S. obtusiusculus* nachgewiesen. Eine konzentrationsabhängige, für jede unterschiedlich pigmentierte Kultur durchgeführte Berechnung der Extinktionskoeffizienten ergab eine Abnahme des Extinktionskoeffizienten mit steigender Zelldichte. Trotz einer gleich bleibenden Pigmentierung der Zellen konnten die experimentellen Daten lediglich bis zu einer Biomassekonzentration von $1 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ mit dem Absorptionsmodell von

Lambert und Beer wiedergegeben werden. Die beschriebenen Effekte der Konzentrationsänderung müssen dabei den nachgewiesenen Effekt der Pigmentveränderung auf die Lichtabsorption im Reaktor überwiegen. Dies lässt sich aus dem in Abbildung 5-9 (Kapitel 5.2.1) dargestellten Ergebnis schließen. Während eines Kultivierungsprozesses im Satzverfahren erhöhte sich die Biomassekonzentration, wobei gleichzeitig eine Veränderung der Pigmentzusammensetzung der Algenzellen festgestellt werden konnte. Über den gesamten Prozessverlauf war damit einhergehend ein Absinken des Extinktionskoeffizient nachweisbar. Dies deutet darauf hin, dass die Lichtabsorption im Flachplattenphotobioreaktor durch eine Konzentrationsänderung (Absinken von ϵ) stärker beeinflusst wird als durch die beobachtete Pigmentumstrukturierung (Anstieg von ϵ). Darüber hinaus kann es weitere Effekte wie Lichtstreuung durch Reaktorkomponenten oder durch die Biomasse an sich geben, die die Lichtabsorption im Flachplattenphotobioreaktor beeinflussen und die beschriebenen Abweichungen zwischen experimentellen und theoretischen Daten verursachen. Das Lambert-Beer'sche Gesetz sollte demnach ausschließlich für eine erste Abschätzung der Lichtabschwächung im Reaktor herangezogen werden.

Die Erkenntnisse dieser Arbeit stützen ähnliche in der Literatur dargestellte Beobachtungen (Acién Fernández *et al.* 1997; Huesemann *et al.* 2013; Molina Grima *et al.* 1994). Sie bestärken die dort aufgeführte Bedeutung, genauere Modelle zur Beschreibung der Lichtabschwächung in einem Photobioreaktor zu entwickeln und anzuwenden (Acién Fernández *et al.* 1997; Cornet *et al.* 1992a; Pruvost und Cornet 2012). Insbesondere die Berücksichtigung von Lichtstreuung durch Reaktorkomponenten oder durch die Mikroalgenzelle an sich sollte bei der Modellierung mit einbezogen werden (Schuster 1905). Im Folgenden wird daher neben dem Gesetz von Lambert und Beer ein weiteres Lichtabschwächungsmodell eingeführt, welches neben der Lichtabsorption auch Effekte der Lichtstreuung mitberücksichtigt.

5.2.3 Bestimmung von mittleren integralen Photonenflussdichten

Für die Abschätzung durchschnittlich im Reaktor vorliegender Photonenflussdichten wurde neben dem Absorptionsmodell von Lambert-Beer (Gleichung 3-18, Kapitel 3.4.2) auch Schusters Zweiflussmodell (Gleichung 3-21, Kapitel 3.4.2) herangezogen. Zur Beschreibung der lichtabhängigen Wachstumskinetik musste darüber hinaus der Zusammenhang zwischen der Photonenflussdichte im Reaktor sowie der spezifischen Wachstumsrate in der exponentiellen Phase ermittelt werden (Lichtantwortkurve). Hierfür wurde die spezifische Wachstumsrate für verschiedene Eingangspotonenflussdichten I_0 im Bereich des exponentiellen Wachstums über mehrere Stunden bestimmt. In diesem Zeitraum änderte sich die Biomassekonzentration, so dass eine Änderung des Lichtabsorptionskoeffizienten in diesem Zeitraum beobachtet werden konnte (vergleiche Kapitel 5.2.2, Ergebnisse nicht gezeigt). Dadurch ließ sich einer spezifischen Wachstumsrate durch bloße Integration der Lichtabschwächung über die Reaktorschichtdicke nicht

eindeutig eine einzelne integrale Photonenflussdichte zuordnen. Aus diesem Grund wurde in Zusammenarbeit mit Frau Pfaffinger vom Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik der Technischen Universität München ein neuer Ansatz entwickelt, der nicht nur die Reaktorschichtdicke (Kapitel 4.5.3), sondern auch die Veränderung der Biomasse während der exponentiellen Wachstumsphase berücksichtigt. Dies wurde durch eine weitere Integration der integralen Photonenflussdichte über den Zeitraum der exponentiellen Wachstumsphase (Δt_{exp}) erreicht:

$$I^{**} = \frac{1}{\Delta t_{exp}} \int_{t_{Anfang\ exp}}^{t_{Ende\ exp}} I^*(t) dt \quad \text{Gleichung 5-1}$$

Mit I^{**} Mittlere integrale Photonenflussdichte, $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$
 Δt_{exp} Zeitraum des exponentiellen Wachstums, d
 $t_{Anfang/Ende\ exp}$ Zeitpunkt, zu dem die exponentielle Wachstumsphase beginnt/endet, d
 $I^*(t)$ integrale Photonenflussdichte, $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$

Gleichung 5-1 wurde verwendet, um eine Lichtantwortkurve (μ/I^{**} -Kurve) für *Scenedesmus obtusiusculus* zu erstellen. Hierfür wurden die in Kapitel 5.1.3 beschriebenen Versuche zur Charakterisierung des Lichteinflusses auf das Wachstum von *S. obtusiusculus* herangezogen. Für jede Eingangspotonenflussdichte wurde die Lichtabschwächung während des exponentiellen Prozessverlaufs aufgezeichnet. Aus den experimentellen Daten wurden mittlere integrale Photonenflussdichten (I^{**}) berechnet (Gleichung 5-1) und die Wachstumsrate als Funktion von I^{**} aufgetragen (siehe Kapitel 4.5.3).

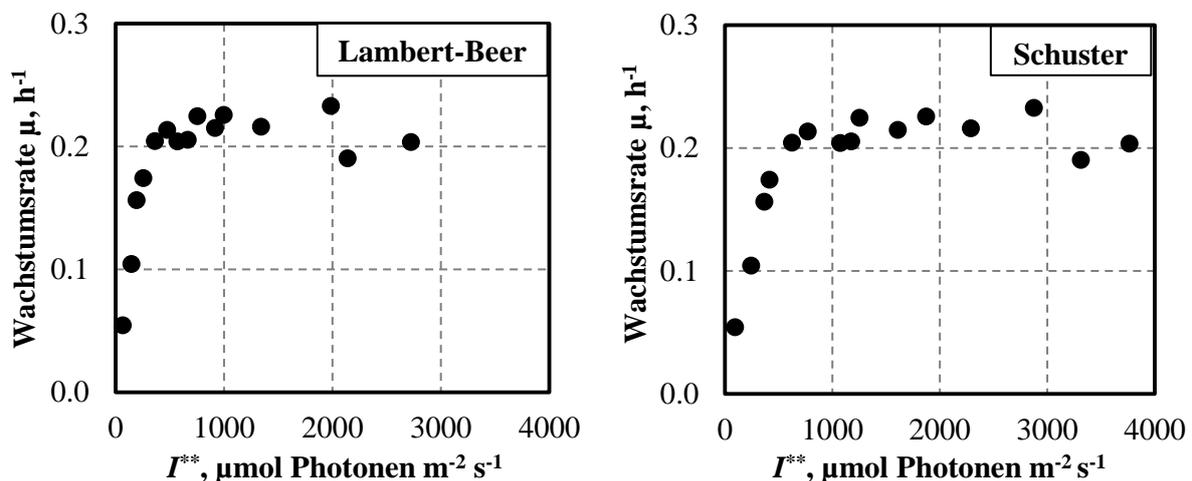


Abbildung 5-14: Lichtantwortkurve (μ/I^{**}) für *Scenedesmus obtusiusculus* im Flachplattenphotobioreaktor. Die Lichtantwortkurve beschreibt den Zusammenhang zwischen Wachstumsrate μ und der mittleren integralen Photonenflussdichte I^{**} , welche durchschnittlich während der exponentiellen Wachstumsphase im Reaktor vorliegt. I^{**} wurde sowohl auf der Basis von Lambert-Beers Absorptionsmodell als auch auf der Basis von Schusters Hypothese berechnet.

Der grundlegende Zusammenhang zwischen der Wachstumsrate und der mittleren integralen Photonenflussdichte entspricht bei beiden Lichtabschwächungsmodellen dem in Kapitel 5.1.3 in Abhängigkeit der Eingangspotonenflussdichte beschriebenen und diskutierten Verlauf der μ/I -

Kurve für *Scenedesmus obtusiusculus* (Abbildung 5-6 A). Einer lichtlimitierten Phase folgte eine Phase der Lichtsättigung bis zu hohe Photonenflussdichten zu einer Inhibition des Wachstums führten. Die höchste Wachstumsrate ($0,22 \text{ h}^{-1}$) wurde bei einer mittleren integralen Photonenflussdichte von $1341 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Lambert und Beer) beziehungsweise $1254 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Schuster) gemessen. Ein signifikanter Unterschied zwischen den auf der Grundlage beider Modelle berechneten mittleren integralen Photonenflussdichten war die Stärke mit der das auf die Reaktoroberfläche auftreffende Licht abschätzend abgeschwächt wurde. Für ein Eingangsbestrahlungsstärke von $3794 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ betrug die abgeschätzte mittlere integrale Photonenflussdichte für Schusters Ansatz noch 99 % der einfallenden Photonenflussdichte. Durch die Abschätzung mit dem Gesetz von Lambert und Beer wurde eine durchschnittliche Photonenflussdichte bestimmt, welche etwa 72 % der Eingangsphotonenflussdichte entsprach. Eine Zusammenfassung aller für beide Modelle berechneter mittlerer integraler Photonenflussdichten ist in Tab. A-11 im Anhang (Kapitel A.5) gegeben.

Diskussion

Durch die Untersuchung des Lichtabsorptionsverhaltens von *Scenedesmus obtusiusculus* im Flachplattenphotobioreaktor wurde gezeigt, dass auf eine Mikroalgenkultur auftreffendes Licht innerhalb eines Photobioreaktors abgeschwächt wird und keine homogene Lichtverteilung im Reaktor vorliegt. Darüber hinaus wurde ein Einfluss der Zelldichte sowie der Zellkomposition auf die Lichtabsorption im Reaktor nachgewiesen. Zur Charakterisierung des lichtabhängigen Wachstums von *Scenedesmus obtusiusculus* wurde in dieser Arbeit daher eine mittlere integrale Photonenflussdichte eingeführt, welche neben der in der Literatur beschriebenen Lichtabschwächung über die Reaktorschichtdicke (Huesemann *et al.* 2013; Pruvost und Cornet 2012) auch eine Lichtabschwächung aufgrund wachsender und sich verändernder Zellen während der exponentiellen Phase berücksichtigt. Mit diesem Ansatz wurden durchschnittlich während der exponentiellen Phase im Reaktor vorliegende Photonenflussdichten für das Gesetz von Lambert und Beer sowie für Schusters Modell abgeschätzt. Im Allgemeinen waren die mittleren integralen Photonenflussdichten für Schusters Modell höher als die Photonenflussdichten, welche mit dem Gesetz von Lambert und Beer berechnet wurden. Dies lässt sich vermutlich auf die bei Schusters Modell zusätzlich zur Lichtabsorption berücksichtigte Lichtstreuung zurückführen. Durch die Verwendung des in dieser Arbeit entwickelten Ansatzes war des Weiteren eine Korrelation zwischen der Wachstumsrate und der dabei vorliegenden durchschnittlichen Photonenflussdichte im Reaktor möglich. Die dadurch ermittelten μ/I^{**} -Kurven (Lichtantwortkurven) für *Scenedesmus obtusiusculus* können im Folgenden für die Abschätzung von kinetischen Parametern eingesetzt werden.

5.2.4 Identifizierung von kinetischen Parametern und Modellvergleich

Zur Identifizierung von kinetischen Parametern wurde sowohl für das Gesetz von Lambert und Beer als auch für das Modell von Schuster die Abhängigkeit der Wachstumsrate von der mittleren integralen Photonenflussdichte im Flachplattenphotobioreaktor für *Scenedesmus obtusiusculus* bestimmt. Die kinetischen Parameter der verschiedenen kinetischen Wachstumsmodelle (Tabelle 3-1, Kapitel 3.3.2) wurden unter der Annahme eines idealen Rührkesselverhaltens durch Minimierung der Fehlerquadratsummen identifiziert.

Die μ/I^{**} -Kurven von *Scenedesmus obtusiusculus* sind zusammen mit den Regressionskurven für die verschiedenen Wachstumsmodelle sowohl für das Lambert-Beer'sche Gesetz als auch für das Gesetz von Schuster in Abbildung 5-15 dargestellt. Die aus den Regressionskurven ermittelten kinetischen Parameter sowie die Standardabweichungen sind in Tabelle 5-1 zusammengefasst.

Tabelle 5-1: Kinetische Parameter von *Scenedesmus obtusiusculus* für verschiedene Wachstumsmodelle. Die Parameter wurden mittels nichtlinearer Regression aus den experimentellen Daten bestimmt. Die Sättigungskonstante K_s und die Inhibierungskonstante K_I sind in $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ angegeben. Standardabweichungen (in %) wurden mit Hilfe der Jackknife-Methode abgeschätzt (Miller 1974; Quenouille 1956; Tukey 1958). AIC_c ist Akaiikes korrigiertes Informationskriterium, welches für den Modellvergleich herangezogen wurde.

Model	$\mu_{\max}, \text{h}^{-1}$	K_s	K_I	β	φ	κ	ν	Fehlerquadratsumme	AIC_c
Gesetz von Lambert und Beer									
Webb (1963)	1,060	39	1538	0.19	-	-	-	0,0016	-120,4
Standardabweichung	436 %	28 %	551 %	32 %	-	-	-		
Steel (1977)	0,257	-	1152	-	-	-	-	0,0162	-94,3
Standardabweichung	1 %	-	3 %	-	-	-	-		
Andrews (1968)	0,326	237	4780	-	-	-	-	0,0024	-121,2
Standardabweichung	3 %	7 %	11 %	-	-	-	-		
Camacho-Rubio (2003)	0,260	-	-	-	299	0,07	0,003	0,0015	-121,2
Standardabweichung	5 %	-	-	-	3 %	29 %	33 %		
Monod	0,239	118	-	-	-	-	-	0,0055	-110,4
Standardabweichung	1 %	7 %	-	-	-	-	-		
Gesetz von Schuster									
Webb (1963)	0,806	122	1736	0.24	-	-	-	0,0016	-120,4
Standardabweichung	477 %	51 %	648 %	033 %	-	-	-		
Steel (1977)	0,249	-	1687	-	-	-	-	0,0115	-99,5
Standardabweichung	1 %	-	3 %	-	-	-	-		
Andrews (1968)	0,350	448	5642	-	-	-	-	0,0020	-121,9
Standardabweichung	3 %	6 %	11 %	-	-	-	-		
Camacho-Rubio (2003)	0,269	-	-	-	524	0,07	0,003	0,0015	-122,0
Standardabweichung	9 %	-	-	-	3 %	57 %	33 %		
Monod	0,239	198	-	-	-	-	-	0,0459	-112,4
Standardabweichung	1 %	7 %	-	-	-	-	-		

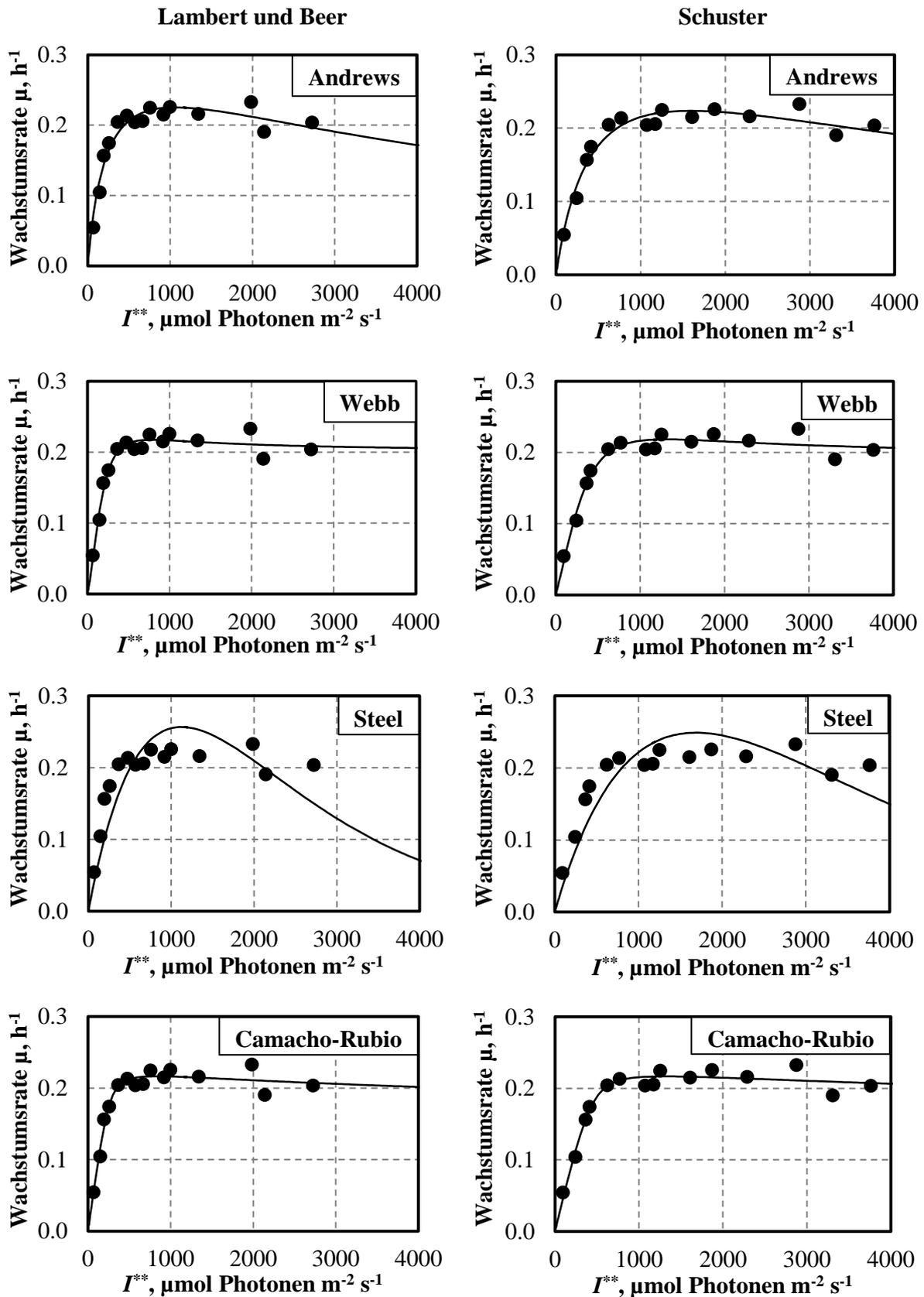


Abbildung 5-15: Einfluss der mittleren integralen Photonenflussdichte I^{**} auf das phototrophe Wachstum von *Scenedesmus obtusiusculus* in einem Flachplattenphotobioreaktor. Die spezifische Wachstumsrate μ wurde mittels exponentieller Regression im Bereich des exponentiellen Wachstums bestimmt (Kapitel 5.1.3). Die Berechnung von I^{**} erfolgte sowohl für das Gesetz von Lambert und Beer als auch für das Gesetz von Schuster. Die Regressionskurven (—) wurden für verschiedene Wachstumsmodelle (Tabelle 3-1) aus den experimentellen Daten (●) ermittelt.

Mit den in Abbildung 5-15 dargestellten Regressionskurven nach Andrews, Webb und Camacho-Rubio konnten die experimentellen Daten augenscheinlich abgebildet werden. Steels Wachstumsmodell war nicht geeignet, um das lichtabhängige Wachstum von *S. obtusiusculus* zu beschreiben. Da Monods Kinetik keine Lichtinhibition berücksichtigt, wurde die einfache Sättigungskinetik für einen Vergleich der kinetischen Modellansätze ausgeschlossen.

Die berechneten kinetischen Parameter lagen alle in einem für Mikroalgen sinnvollen Größenordnungsbereich. Für Webbs Modell wurden signifikant hohe Standardabweichungen bei den Modellparametern von bis zu 650 % ermittelt. Ein Vergleich der verschiedenen Wachstumsmodelle mit dem korrigierten Akaike Informationskriterium (AICc) ergab keine deutlichen Unterschiede zwischen Webbs, Andrews' und Camacho-Rubios Modellen des Wachstums. Lediglich für Steel und Monod konnten im Vergleich höhere Werte festgestellt werden. Die beiden Modelle sind damit weniger für die Beschreibung des lichtabhängigen Wachstums von *Scenedesmus obtusiusculus* im Flachplattenphotobioreaktor geeignet. Da Camacho-Rubios im Vergleich zu Andrews' Kinetik mehr kinetische Parameter enthält, die nur teilweise biologisch erklärbar sind, konnte auch dieses Modell für die kinetische Charakterisierung von *S. obtusiusculus* ausgeschlossen werden. Andrews' Wachstumskinetik wurde daher als sinnvollstes kinetisches Modell herangezogen. Basierend auf der Beschreibung der Lichtabsorption nach Lambert und Beer betrug die maximale Wachstumsrate $\mu_{max} = 0,33 \pm 0,01 \text{ h}^{-1}$. Die Halbsättigungskonstante wurde zu $K_S = 237 \pm 16 \text{ } \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ bestimmt und die Inhibierungskonstante zu $K_I = 4780 \pm 537 \text{ } \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Bei Verwendung des Modellansatzes von Schuster wurde eine maximale Wachstumsrate von $\mu_{max} = 0,35 \pm 0,01 \text{ h}^{-1}$ ermittelt. Die Halbsättigung wurde bei einer Photonenflussdichte von $K_S = 448 \pm 27 \text{ } \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ erreicht. Die Inhibierungskonstante des Wachstums beträgt hier $K_I = 5642 \pm 620 \text{ } \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Diskussion

Durch die Untersuchung des lichtabhängigen Wachstums von *Scenedesmus obtusiusculus* im Flachplattenphotobioreaktor konnte Andrews' Wachstumskinetik unter den in dieser Arbeit betrachteten Modellen als geeigneter kinetischer Ansatz identifiziert werden. Die kinetischen Parameter wurden daher für Andrews' Wachstumskinetik sowohl auf der Basis des Lambert-Beer'schen Absorptionsgesetzes als auch für Schusters Gesetz für *S. obtusiusculus* berechnet. Dabei konnten für beide Modelle ähnliche Standardabweichungen ermittelt werden. Dies deutet darauf hin, dass beide Ansätze für die Beschreibung des lichtabhängigen Wachstums von *Scenedesmus obtusiusculus* im Flachplattenphotobioreaktor eingesetzt werden können.

Neben der akkuraten Beschreibung der experimentellen Daten war es darüber hinaus mit beiden Modellen möglich, Rückschlüsse auf die Empfindlichkeit von *Scenedesmus obtusiusculus*

bezüglich des Substrates Licht zu ziehen. Die Inhibierungskonstante betrug $4780 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Lambert-Beer) beziehungsweise $5642 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Schuster) und war höher als für natürliches Sonnenlicht gemessene Photonenflussdichten in beispielsweise Desert Rock, Nevada, mit etwa $2600 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Earth System Research Laboratory 2016). Diese Erkenntnis deutet darauf hin, dass *S. obtusiusculus* sehr robust gegenüber starker Lichteinstrahlung ist und für Produktionsprozesse in extremen Erdregionen eingesetzt werden könnte. Auch die Sättigungsphotonenflussdichten zwischen 500 und $2000 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Lambert und Beer) beziehungsweise 800 und $3000 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Schuster) decken einen ausgedehnten Lichtbereich in der Natur gängig vorkommender Photonenflussdichten ab und lassen eine Vielzahl an möglichen Kultivierungsregionen zu. Das Neuisolat hat damit ein hohes Potential und stellt einen vielversprechenden Produktionsstamm für eine kommerzielle Anwendung dar.

5.2.5 Gestaltung und Anwendung eines Lichtprofils

Mit den in Kapitel 5.2.2 beschriebenen Untersuchungen zur Lichtabschwächung während eines Kultivierungsprozesses im Satzverfahren konnte nachgewiesen werden, dass die Zelldichte der Mikroalgenkultur die Lichtabschwächung und damit die Lichtverfügbarkeit im Reaktor signifikant beeinflusst. Darüber hinaus wurde im vorherigen Abschnitt gezeigt, dass lichtlimitierte sowie lichtinhibierende Verhältnisse das Mikroalgenwachstum beeinträchtigen und zu einer verminderten Biomasseproduktion führen können. Daraus ergab sich die Frage, ob schnelleres Wachstum von *Scenedesmus obtusiusculus* im Satzverfahren möglich ist, wenn während des gesamten Prozessverlaufs eine optimale mittlere integrale Photonenflussdichte im Reaktor aufrechterhalten werden könnte. Hierfür wurde ein Lichtprofil erstellt, bei dem die Eingangsphtonenflussdichte in Abhängigkeit der Zelldichte im Reaktor sukzessive erhöht wurde, um eine speziesspezifische optimale mittlere integrale Photonenflussdichte während des Prozesses konstant aufrecht erhalten zu können.

Anwendung eines Lichtprofils

Um eine optimale mittlere integrale Photonenflussdichte für *Scenedesmus obtusiusculus* zu bestimmen, wurde zunächst das theoretische Optimum der Wachstumsrate μ_{opt} und daraus die zugehörige optimale mittlere integrale Photonenflussdichte I^{**}_{opt} berechnet. Hierfür wurde das in Kapitel 5.2.4 identifizierte Wachstumsmodell von Andrews (Tabelle 3-1, Kapitel 3.3.2) mit den identifizierten kinetischen Parametern herangezogen und μ_{opt} bestimmt:

$$\frac{d\mu}{dI^{**}} = 0$$

Gleichung 5-2

Die optimale Wachstumsrate wurde sowohl für die Lichtabsorption nach Lambert-Beer als auch für Schuster zu $\mu_{opt} = 0,22 \text{ h}^{-1}$ bestimmt. Die zugehörige optimale mittlere integrale Photonenflussdichte betrug $I_{opt}^{**} = 1072 \text{ } \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ für Lambert und Beer beziehungsweise $I_{opt}^{**} = 1590 \text{ } \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ für Schusters Modellansatz. Um diese mittleren Photonenflussdichten während des Satzprozesses konstant zu halten, wurde die Eingangspotonenflussdichte in Abhängigkeit der Biomassekonzentration im Reaktor schrittweise erhöht, sobald die Phase des exponentiellen Wachstums einsetzte. Die Veränderung der Biomassekonzentration während des Prozesses, welche für die Berechnung und anschließende Anpassung der Eingangspotonenflussdichte in Abhängigkeit der Zelldichte im Reaktor erforderlich war, wurde mit Gleichung 3-3 (Kapitel 3.3.2) ermittelt. Dadurch sollte die jeweilige optimale mittlere integrale Photonenflussdichte im Reaktor konstant gehalten werden können.

Einfluss von Lichtprofilen auf das Wachstum von *S. obtusiusculus*

Zwei Lichtprofile wurde zum einen auf der Grundlage der Lichtabsorption nach Lambert-Beer und zum anderen auf der Grundlage von Schusters Lichtabschwächungsmodell ermittelt. Um den Einfluss der zugrundeliegenden Absorptionsmodelle und damit der verschiedenen Lichtprofile auf das Wachstum von *S. obtusiusculus* zu untersuchen, wurden beide Lichtprofile für die Kultivierung von *S. obtusiusculus* verwendet und die Prozesse miteinander verglichen. Für eine Anwendung der Lichtprofile wurde *Scenedesmus obtusiusculus* im Satzverfahren im 1,8 L-Flachplattenphotobioreaktor kultiviert. BG-11 Medium wurde hierfür vorgelegt und der Prozess bei 30 °C durchgeführt. Die Begasung mit einem CO₂-Luft-Gemisch sorgte für eine gute Durchmischung im Reaktor und regelte den pH automatisiert auf pH 7,5. Die Eingangspotonenflussdichte I_0 wurde zu Beginn des Prozesses bis zum Einsetzen der exponentiellen Wachstumsphase auf $1072 \text{ } \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Lambert und Beer) beziehungsweise $1590 \text{ } \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Schuster) konstant gehalten (Abbildung 5-16). Anschließend erfolgte eine Erhöhung der Eingangspotonenflussdichte mit zunehmender Biomassekonzentration, um die zuvor berechnete optimale mittlere integrale Photonenflussdichte in Abhängigkeit der Zelldichte während des Prozesses aufrechtzuerhalten. Bei Erreichen der gerätespezifischen maximalen Photonenflussdichte ($4200 \text{ } \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) wurde diese beibehalten bis die Zellen in die stationäre Wachstumsphase übergegangen waren. Ein Vergleich der beiden Lichtprofile sowie der damit erzielten Konzentrationsverläufe für *S. obtusiusculus* ist in Abbildung 5-16 dargestellt.

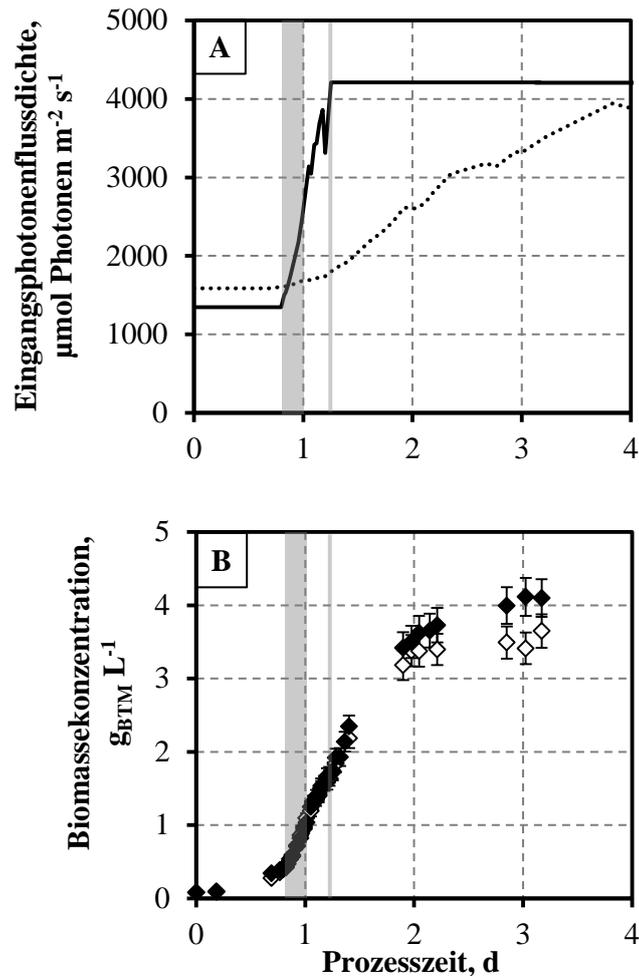


Abbildung 5-16: Wachstum von *Scenedesmus obtusiusculus* im Flachplattenphotobioreaktor unter Anwendung eines Lichtprofils, um 1072 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Lambert-Beer: —, \diamond) beziehungsweise 1590 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Schuster: \cdots , \blacklozenge) als mittlere integrale Photonenflussdichte im Reaktor während des Prozesses konstant zu halten. Der grau hinterlegte Bereich entspricht der exponentiellen Wachstumsphase. Das Erreichen des gerätespezifischen Maximums der Eingangspottonenflussdichte ist mit einer grauen Linie gekennzeichnet.

Wie in Abbildung 5-16 A ersichtlich ist, musste die Eingangspottonenflussdichte beim Lichtprofil, welches auf dem Lichtabsorptionsmodell von Lambert und Beer beruht, deutlich schneller gesteigert werden, als beim Lichtprofil nach Schusters Lichtabschwächungsmodell. Bereits nach 1,3 Tagen war das gerätespezifische Maximum der Photonenflussdichte erreicht, während mit dem Lichtprofil nach Schuster bei Prozessende erst 80 % der maximal möglichen Photonenflussdichte zur Bestrahlung der Algenkultur eingesetzt wurden. Dabei waren beide Wachstumskurven zu Beginn des Prozesses kongruent. Unabhängig vom Lichtprofil wurden ähnliche spezifische Wachstumsraten im Bereich des exponentiellen Wachstums ermittelt. Auch die Dauer der exponentiellen Wachstumsphase war unabhängig vom Lichtprofil ähnlich. Im Anschluss an das exponentielle Wachstum konnte ein lineares Wachstumsverhalten beobachtet werden. Erst nach etwa 1,5 Tagen wurden tendenzielle Unterschiede in der Biomassekonzentration für die beiden Lichtprofile nachgewiesen (Abbildung 5-16 B). Dieser Zeitpunkt deckte sich in etwa mit dem Zeitpunkt zu dem die maximale Photonenflussdichte mit dem Lichtprofil auf der Basis von Lambert

und Beers Absorptionsmodell erreicht wurde. Am Ende des Prozesses war die mit dem Lichtprofil nach Schuster erreichte Biomassekonzentration ($4,11 \pm 0,26 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$) um etwa 13 % höher als die Biomassekonzentration, welche mit dem Lichtprofil auf der Grundlage von Lambert und Beers Modell nachgewiesen werden konnte ($3,65 \pm 0,23 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$).

Diskussion

Der Vergleich zweier Lichtprofile, welche auf dem Lichtabsorptionsmodell von Lambert-Beer und dem Lichtabschwächungsmodell von Schuster beruhen, zeigte, dass eine schrittweise Erhöhung der Eingangsphotonenflussdichte keinen Einfluss auf die Wachstumsrate von *Scenedesmus obtusiusculus* hatte. Obwohl die Eingangsphotonenflussdichte im Prozess mit dem Lichtprofil nach Lambert-Beers Absorptionsmodell deutlich schneller ($\Delta I_0 = 1130 \text{ } \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ innerhalb der exponentiellen Phase) erhöht wurde als im Lichtprofilprozess, welcher auf Schusters Modellansatz beruht ($\Delta I_0 = 105 \text{ } \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ innerhalb der exponentiellen Phase), wurde mit beiden Lichtprofilen eine ähnliche Wachstumsrate für *S. obtusiusculus* nachgewiesen. Dieses Ergebnis konnte erwartet werden, da die in Kapitel 5.1.3 beschriebene μ -I-Kurve (Abbildung 5-6 A) keine signifikante Beeinflussung der spezifischen Wachstumsraten bei hohen Eingangsphotonenflussdichten zeigte.

Die im Vergleich zum Lichtprofil nach Lambert-Beer erhöhte Biomassekonzentration, welche für das Lichtprofil nach Schuster am Prozessende bestimmt wurde, kann auf den langsameren Anstieg der Eingangsphotonenflussdichte zurückgeführt werden. Das Gesetz von Lambert und Beer berücksichtigt keine Lichtstreuung, weshalb die mittlere integrale Photonendichte im Reaktor im Vergleich zur Berechnung mit Schusters Modell niedriger ist (Kapitel 5.2.3). Die Eingangsphotonenflussdichte musste daher schneller erhöht werden, um die optimale mittlere integrale Photonendichte während des Prozesses konstant halten zu können. Dadurch wurden rasch hohe Eingangsphotonenflussdichten erreicht, welche den Mikroalgenmetabolismus, insbesondere den der Zellen auf der Vorderseite des Reaktors, beeinträchtigen konnten. Dies könnte auch die Ursache für die kurze exponentielle Wachstumsphase und des im weiteren Prozessverlauf beobachteten linearen Anstiegs der Biomassekonzentration sein. Das lineare Wachstum, welches im Lichtprofilprozess auf der Grundlage von Schusters Lichtabschwächungsmodell ermittelt wurde, kann dagegen nicht vollständig erklärt werden. Nährstoffe waren in ausreichender Menge im Reaktionsansatz vorhanden. Darüber hinaus lag die Eingangsphotonenflussdichte zu Beginn der linearen Wachstumsphase bei $1690 \text{ } \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, so dass inhibierende oder photoschädigende Effekte auf der Reaktorvorderseite ausgeschlossen werden können. Eventuell könnten Biomassekonzentrationen über $1 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ zu einer gegenseitigen Beschattung der Zellen und damit zu einem linearen Wachstum geführt haben.

Wie in Kapitel 5.1.3 gezeigt wurde, hatte eine Bestrahlung mit Eingangsphotonenflussdichten über $1500 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ kaum einen Einfluss auf die Wachstumsrate von *S. obtusiusculus* (Tab. A-11, Anhang A.5). Für die Raum-Zeit-Ausbeute sowie die finale Biomassekonzentration konnten bei höheren Eingangsphotonenflussdichten dagegen rückläufige Werte festgestellt werden (Abbildung 5-6 B und C). Daher wurde das Zellwachstum wohl durch den schnelleren Anstieg der Eingangsphotonenflussdichte mit dem Lichtprofil nach Lambert und Beer beeinträchtigt. Liegen Starklichtverhältnisse vor, so verwenden Algenzellen die ihnen zur Verfügung stehenden Ressourcen vermutlich nicht mehr für ihr Wachstum, sondern für diverse Akklimationsprozesse zum Schutz vor hohen Photonendichten. Damit passen sie sich an eine schnelle Änderung der Lichtverhältnisse an, wie sie beim Lichtprofil nach Lambert und Beer auftrat. Möglicherweise nutzten sie ihre Energie für die Produktion von Pigmentmolekülen wie Chlorophyll und erreichten daher nur geringere Biomassekonzentrationen als die Eingangsphotonenflussdichte schnell anstieg. Eine andere mögliche Erklärung für die beobachteten Unterschiede der finalen Biomassekonzentrationen wäre, dass Kohlenstoffmoleküle bei einer zügigen Änderung der Lichtverhältnisse schneller aufgenommen werden als bei einer langsamen Anpassung des Lichts. Dadurch könnte sich das finale C/N/P-Verhältnis in der Zelle verändert und die beobachteten Unterschiede in den Biomassekonzentrationen daraus resultiert haben.

Durch die Untersuchung des Einflusses der beiden Lichtprofile auf das Wachstum von *S. obtusiusculus* und den anschließenden Vergleich der Konzentrationsverläufe konnte gezeigt werden, dass das Lichtprofil für *Scenedesmus obtusiusculus* auf Schusters Lichtabschwächungsmodell basieren sollte. Damit wurde der Nachweis erbracht, dass es sinnvoll ist, für Prozesse im eingesetzten Flachplattenphotobioreaktor neben der Lichtabsorption auch Effekte der Lichtstreuung zu berücksichtigen.

Vergleich eines Lichtprofilprozesses mit einem Prozess bei konstanter Photonendichte

Basierend auf den Ergebnissen des Vergleichs der beiden Lichtprofile auf der Grundlage von Lambert-Beers und Schusters Lichtabschwächungsmodell wurden ein weiterer Satzprozess mit Lichtprofil (Schuster) sowie ein Prozess mit konstanter Eingangsphotonenflussdichte durchgeführt. Hierfür wurde zum einen die optimale mittlere integrale Photonendichte ($I_{opt}^{**} = 1590 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$) wie zuvor beschrieben durch Anpassung der Eingangsphotonenflussdichte (Lichtprofil) konstant gehalten. Zum anderen wurde parallel ein Prozess mit konstanter Eingangsphotonenflussdichte ($I_0 = 1590 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$) realisiert. Neben dem Substrat Licht wurden weitere Nährstoffe im Medium während des Prozesses kontrolliert und gegebenenfalls zugeführt, um eine Limitierung ausschließen zu können. Für beide Satzprozesse konnte damit über die gesamte Prozessdauer eine Nährstofflimitierung (N, P, S, Fe)

ausgeschlossen werden. Die Biomassekonzentrationsverläufe sowie die Verläufe der Photonенflussdichten sind für beide Prozesse in Abbildung 5-17 dargestellt.

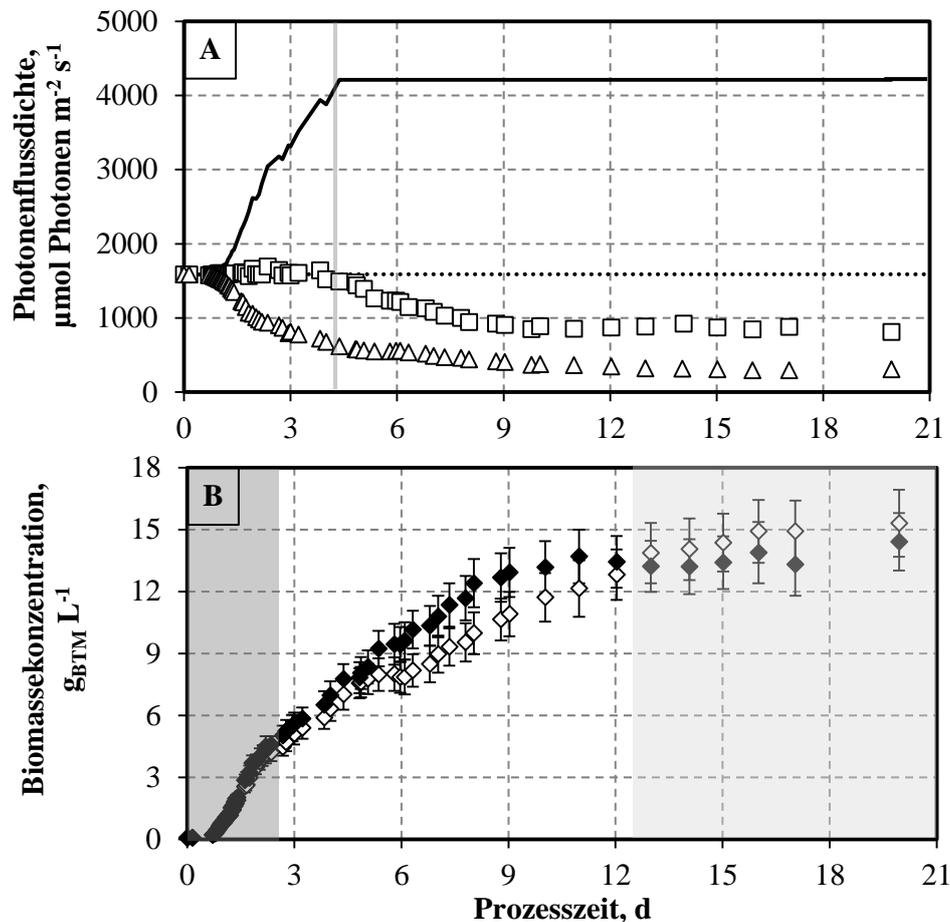


Abbildung 5-17: Wachstum von *Scenedesmus obtusiusculus* im Flachplattenphotobioreaktor für zwei verschiedene Verläufe der Eingangspotonenflussdichte (30°C , pH 7,5).

A: Die Bestrahlung erfolgte zum einen mit konstanter Eingangspotonenflussdichte ($1590 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $\cdots\cdots$) sowie mit einem Lichtprofil (Schuster: —). Die aus den experimentellen Daten berechneten mittleren integralen Photonенflussdichten (\square Lichtprofil; \triangle konstante Photonенflussdichte) zeigten, dass die zuvor theoretisch abgeschätzte mittlere integrale Photonенflussdichte $1590 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ($\cdots\cdots$) durch die Anwendung des Lichtprofils während des Prozesses konstant gehalten werden konnte bis die gerätespezifische maximale Photonенflussdichte erreicht war.

B: Die Konzentrationsverläufe des Lichtprofilprozesses (\blacklozenge) sowie des Prozesses bei konstanter Photonенflussdichte (\diamond) können in drei Phasen unterteilt werden. Es wurde eine Phase des identischen Wachstums (dunkel schattiert), eine Phase des lichtinduzierten unterschiedlichen Wachstums (nicht schattiert) und eine stationäre Wachstumsphase (hell schattiert) identifiziert.

In Abbildung 5-17 A ist für jeden Satzprozess zum einen die Eingangspotonenflussdichte aufgeführt. Zum anderen wurde darüber hinaus zu jedem Probenahmezeitpunkt zusätzlich die zugehörige im Reaktor vorliegende mittlere integrale Photonенflussdichte aus den experimentellen Daten berechnet. Bis zu der markierten Prozesszeit von 4,4 Tagen konnte die für *S. obtusiusculus* ermittelte optimale mittlere integrale Photonенflussdichte (gepunktete Linie; $1590 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$) durch eine Erhöhung der Eingangspotonenflussdichte im Lichtprofilprozess konstant gehalten werden. Erst ab Erreichen der gerätespezifischen maximalen

Eingangspotonenflussdichte ($4200 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$) war es nicht mehr möglich eine mittlere integrale Photonenflussdichte im Reaktor aufrechtzuerhalten. Entsprechend wurde, wie in Abbildung 5-17 A gekennzeichnet, ab diesem Zeitpunkt ein Absinken der aus den experimentellen Daten abgeschätzten mittleren integralen Photonenflussdichten verzeichnet. Für den Prozess mit konstanter Bestrahlungsstärke wurde im Gegensatz dazu bereits zu Prozessbeginn eine deutliche Abnahme der mittleren integralen Photonenflussdichte nachgewiesen.

Bezüglich der Biomasseproduktion konnten zunächst keine Unterschiede im Wachstumsverhalten von *S. obtusiusculus* festgestellt werden. Entsprechend der Modellabschätzung wurde für beide phototrophen Prozesse eine Wachstumsrate von $0,22 \text{ h}^{-1}$ ermittelt. Die Wachstumskurven waren nahezu kongruent. Erst ab einer Prozesszeit von etwa 2,5 Tagen wurde ein Unterschied im Konzentrationsverlauf nachgewiesen. Durch die Anwendung des Lichtprofils wurde nach einer Prozesszeit von fünf Tagen eine bis zu 24 % höhere Biomassekonzentration im Vergleich zur konstanten Bestrahlung bestimmt. Die Biomasseendkonzentration betrug nach 11 Tagen $14,4 \pm 1,4 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$. Ab diesem Zeitpunkt blieb die Biomassekonzentration im Lichtprofilprozess in etwa konstant. Im Prozess mit konstanter Eingangspotonenflussdichte dauerte das Wachstum dagegen bis Tag 16 an. Die Biomassekonzentration wurde am Prozessende auf $15,5 \pm 1,5 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ bestimmt.

Neben der Biomassekonzentration wurde die Pigmentzusammensetzung der Mikroalgenzellen während der Satzprozesse bestimmt. Eine Veränderung der Pigmentzusammensetzung sollte Hinweise auf mögliche Akklimations- oder Photoprotektionsprozesse geben.

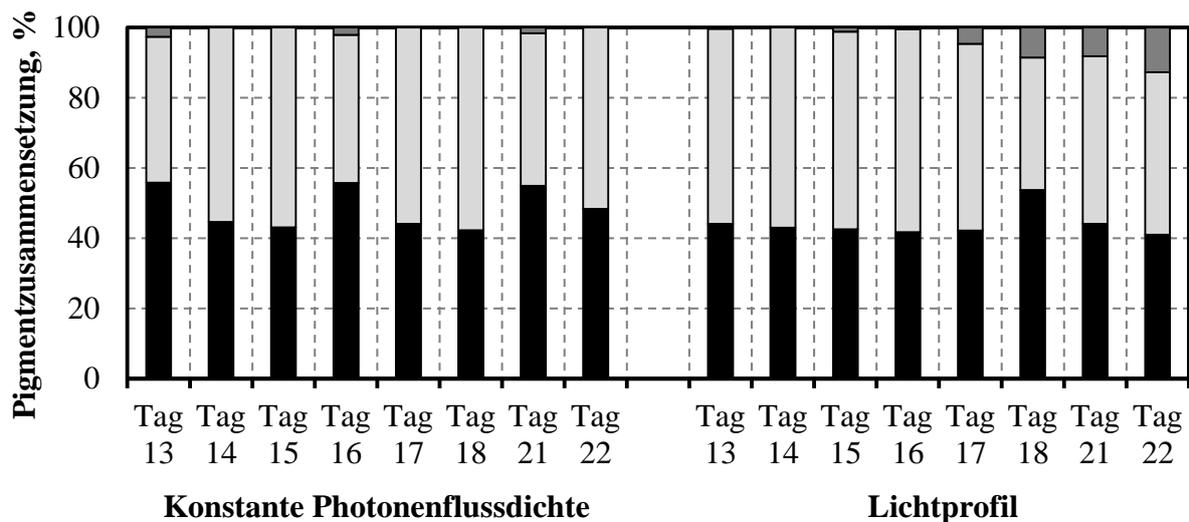


Abbildung 5-18: Veränderung der Pigmentzusammensetzung von *S. obtusiusculus* während eines Satzprozesses im Flachplattenphotobioreaktor mit konstanter Photonenflussdichte beziehungsweise Lichtprofil (Abbildung 5-17): (■) Chlorophyll a; (■) Chlorophyll b; (■) Karotinoide.

Wie in Abbildung 5-18 ersichtlich ist, konnte für den Lichtprofilprozess eine Akkumulation von nahezu 13 % Karotinoiden in den letzten vier Prozessstagen nachgewiesen werden. Für den Prozess bei konstanter Eingangsbestrahlungsstärke wurde dagegen kaum eine Änderung in der Pigmentzusammensetzung festgestellt. Es konnten fast ausschließlich die Pigmente Chlorophyll a und Chlorophyll b als Zellbestandteile gefunden werden.

Diskussion

Durch die Modellgestützte Erarbeitung und Anwendung eines Lichtprofilprozesses war es möglich, den Biomasseproduktionsprozess mit *Scenedesmus obtusiusculus* im Flachplattenphotobioreaktor zu beschleunigen. Darüber hinaus war es möglich, das in dieser Arbeit entwickelte Modell zur Ermittlung einer durchschnittlich während der exponentiellen Phase im Reaktor vorliegenden Photonenflussdichte zu validieren: Zum einen konnte durch die Anwendung des Lichtprofils die mit dem Modellierungsansatz vorhergesagte optimale Wachstumsrate μ_{opt} auch experimentell realisiert werden. Zum anderen war es möglich, die ebenfalls mit dem Modell abgeschätzte mittlere integrale Photonenflussdichte während des Prozesses bis zum Erreichen der gerätespezifischen maximalen Photonenflussdichte aufrechtzuerhalten. Dieser Sachverhalt konnte mit Hilfe der experimentellen Daten nachgewiesen und damit das Modell verifiziert werden.

Im Vergleich zu einem Prozess mit konstanter Photonenflussdichte konnte zu Prozessbeginn (erste Prozessphase) kein Unterschied im Wachstumsverhalten festgestellt werden. Die Biomassekonzentrationen waren vermutlich so gering, dass die Lichtverfügbarkeit im Reaktor nur unerheblich beeinflusst wurde. Weder lichtlimitierte noch lichtinhibierende Effekte schienen bei solchen Konzentrationen aufgetreten zu sein, weshalb das Wachstumsverhalten von *Scenedesmus obtusiusculus* sowohl beim Satzprozess mit Lichtprofil als auch beim Satzprozess mit konstanter Eingangsphotonenflussdichte ähnlich war.

Mit einem Anstieg der Biomassekonzentration nahm der Bedarf an Photonen zu, welche für den Zellmetabolismus benötigt wurden. Durch die Erhöhung der Eingangsphotonenflussdichte während des Lichtprofilprozesses standen den Zellen mehr Photonen zur Verfügung als im Prozess mit konstantem Licht. Dies könnte zu den beobachteten erhöhten Biomassekonzentrationen beim Lichtprofilprozess in der zweiten Prozessphase geführt haben.

In der dritten Phase des Prozesses war die Zelldichte sehr hoch, so dass bei beiden Lichtszenarien keine Photonenflussdichte mehr auf der Reaktorrückseite gemessen werden konnte (100 % Lichtausbeute; nicht-dargestellte Ergebnisse). Da keine Limitierung der Hauptnährstoffe Stickstoff, Phosphor, Sulfur und Eisen festgestellt werden konnte, kann die Stagnation des Wachstums möglicherweise auf eine Lichtlimitierung zurückzuführen sein. Darüber hinaus stellt die mittlere integrale Photonenflussdichte lediglich eine Vereinfachung im Zuge der Modellierung und Vorhersage des Mikroalgenwachstums dar. Tatsächlich trifft auf die Reaktoroberfläche sehr hohes

Licht auf, während auf der Reaktorrückseite nur wenig Licht vorhanden ist (Kapitel 5.2.1). Das Mikroalgenwachstum kann daher insbesondere auf der Reaktoroberfläche beeinträchtigt gewesen sein. Bei der in Kapitel 5.1.3 beschriebenen Charakterisierung des lichtabhängigen Wachstums wurde für *Scenedesmus obtusiusculus* ein optimales Wachstumsverhalten bei einer Eingangsphotonenflussdichte von $1400 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ nachgewiesen. Bei diesen Lichtverhältnissen wurde die maximale Biomassekonzentration, Raum-Zeit-Ausbeute und spezifische Wachstumsrate für das Neuisolat bestimmt. Höhere Photonendichten verminderten das Wachstum. Während des Lichtprofilprozesses, wurde die Eingangsphotonenflussdichte über dieses identifizierte Optimum hinaus erhöht. Es ist daher davon auszugehen, dass das Wachstum von *S. obtusiusculus* auf der Reaktoroberfläche beeinträchtigt war, was die beschriebene Stagnation der Biomassekonzentration verursachte. Wenn Zellen zu lange hohem Licht ausgesetzt sind, so können photoschädigende Effekte irreversibel sein. Der Zellmetabolismus ist daraufhin gestört (Pruvost *et al.* 2002; Vonshak und Guy 1992) und kann zu einem Rückgang der Biomasseproduktivität oder Wachstumsrate führen. Darüber hinaus, können Algenzellen strukturelle Modifikationen vornehmen, um sich an wechselnde Lichtverhältnisse anzupassen. In der Regel werden dabei photosynthetische Komponenten reduziert und Karotinoide akkumuliert. Dadurch soll die Anzahl an Photonen reduziert werden, welche bei hohen Photonendichten auf die Photosysteme auftreffen (Hu 2013). Diese in der Literatur beschriebenen Beobachtungen konnten durch die Analyse der Pigmentzusammensetzung während der Prozesse gefestigt werden. Am Ende des Lichtprofilprozesses konnte ein Anstieg des Karotinoidgehalts in der Zelle nachgewiesen werden. Bei der Bestrahlung mit konstanter Photonendichte wurde dagegen keine Akkumulation festgestellt. Die beobachteten Unterschiede im Wachstumsverhalten können daher auf photoakklimative und photoschädigende Effekte aufgrund hoher Photonendichten auf der Reaktoroberfläche zurückgeführt werden.

Bezüglich der finalen Biomassekonzentration, ist beim Satzprozess mit konstanter Eingangsphotonenflussdichte eine Ernte an Tag 16 sinnvoll, da zu diesem Zeitpunkt keine Zunahme der Zelldichte mehr beobachtet wurde. Daraus ergibt sich eine Raum-Zeit-Ausbeute von $0,96 \pm 0,09 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ und eine Flächen-Zeit-Ausbeute von $19,3 \pm 1,9 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$. Der Lichtenergiebedarf zur Produktion der maximalen Zelldichte betrug 42 MJ innerhalb der 16 Tage. Beim Lichtprofilprozess wurde ab Tag 11 kein Biomassezuwachs mehr verzeichnet. Die Raum- und Flächen-Zeit-Ausbeuten betragen hier $1,3 \pm 0,1 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ beziehungsweise $26,2 \pm 2,5 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$. Zur Beleuchtung der Reaktoroberfläche ($0,09 \text{ m}^2$) wurde dabei eine Energie von insgesamt 65 MJ verbraucht. Für die Herstellung derselben Biomassekonzentration mit konstanter Eingangsphotonenflussdichte (13 Tage mit $1590 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$), wurde dagegen nur etwa die Hälfte an Energie benötigt (34 MJ) verglichen zum Prozess mit Lichtprofil. Aus

energetischer Sicht ist eine Anwendung des Lichtprofils daher nur bedingt sinnvoll. In Bezug auf die Prozessdauer konnte mit dem Lichtprofil allerdings eine Beschleunigung des Satzprozesses erreicht werden.

6 Wachstum von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 im Flachplatten-photobioreaktor

Neben *Scenedesmus obtusiusculus* wurde *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 untersucht. Es handelt sich dabei um eine Süßwasserspezies aus der Sammlung von Algenkulturen der Universität Göttingen (SAG), welche bis dato weitestgehend unerforscht war. Da der Stamm zur vielversprechenden Familie der Lipid- und Metabolit-produzierenden *Scenedesmeceae* gehört, sollte auch für diese Spezies die Reaktionskinetik des lichtabhängigen Wachstums im Flachplattenphotobioreaktor charakterisiert werden.

6.1 Reaktionstechnische Charakterisierung von *S. ovalternus*

In den folgenden Abschnitten werden das pH-, temperatur- und lichtabhängige Wachstum von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 näher charakterisiert und geeignete Parameter für die Durchführung eines schnellen Satzverfahrens eingeführt. Für die Parameterstudien wurde definiertes BG-11 Medium im Reaktor vorgelegt und das Mikroalgenwachstum bis zur Stagnation verfolgt. Eine genaue Beschreibung der Prozessdurchführung ist in den Kapiteln 4.3.1 und 4.3.2 zu finden.

6.1.1 pH-Abhängigkeit des Wachstums von *S. ovalternus*

Für die Durchführung der Satzprozesse zur Untersuchung des pH-abhängigen Wachstums von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 wurde die Temperatur zunächst auf einen von den meisten Mikroalgen tolerierten Wert von 25 °C festgesetzt. Die Eingangsphtononenflussdichte I_0 wurde konstant bei 560 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ gehalten. Der pH wurde zwischen pH 7 und pH 10 variiert, wobei die Regelung über eine automatisierte Anpassung des CO₂-Gehalts im CO₂-Luft-Gemisch (0 bis 10 % CO₂) erfolgte und mit einem Gasvolumenstrom von 2 NL min⁻¹ für eine ausreichende Durchmischung im Reaktor sorgte. Die ermittelten Biomassekonzentrationsverläufe in Abhängigkeit des pH sind in Abbildung 6-1 dargestellt.

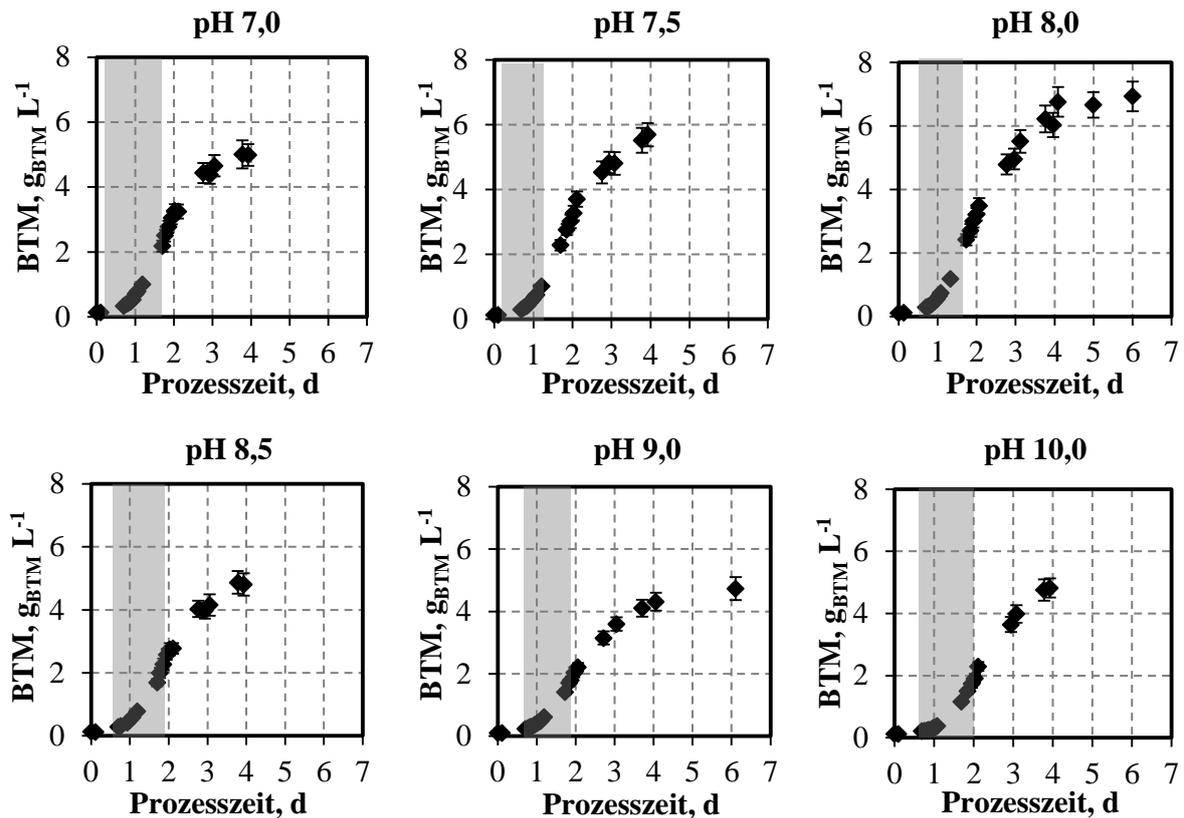


Abbildung 6-1: Einfluss des pH auf das Wachstum von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 im 1,8-L-Flachplattenphotobioreaktor. Die Satzprozesse wurden bei 25 °C und einer Eingangsphotonenflussdichte I_0 von $560 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ durchgeführt. Der pH wurde über den CO_2 -Gehalt im kontinuierlichen Gasvolumenstrom (2 NL min^{-1}) automatisiert geregelt. Die Abkürzung BTM bezeichnet die Biotrockenmassekonzentration im Reaktor. Der schattierte Bereich entspricht der Phase des exponentiellen Wachstums.

Wie erwartet ergaben sich die für phototrophe Mikroorganismen charakteristischen Kurvenverläufe im Satzverfahren mit einer Verzögerungsphase, einer exponentiellen Wachstumsphase und einer stationären Phase. Bei pH 8 konnte darüber hinaus bei Beendigung des Prozesses eine Nährstofflimitierung (N und P) nachgewiesen werden. Der Prozess bei pH 7,5 war am Ende phosphorlimitiert. Eine genauere Interpretation und Bewertung der einzelnen Satzprozesse erlaubten die spezifische Wachstumsrate in der exponentiellen Phase (schattierter Bereich), die Biomassekonzentration am Ende des Prozesses sowie die Raum-Zeit-Ausbeute an Tag vier. Die Abhängigkeit der Prozessgrößen vom pH ist in Abbildung 6-2 gezeigt.

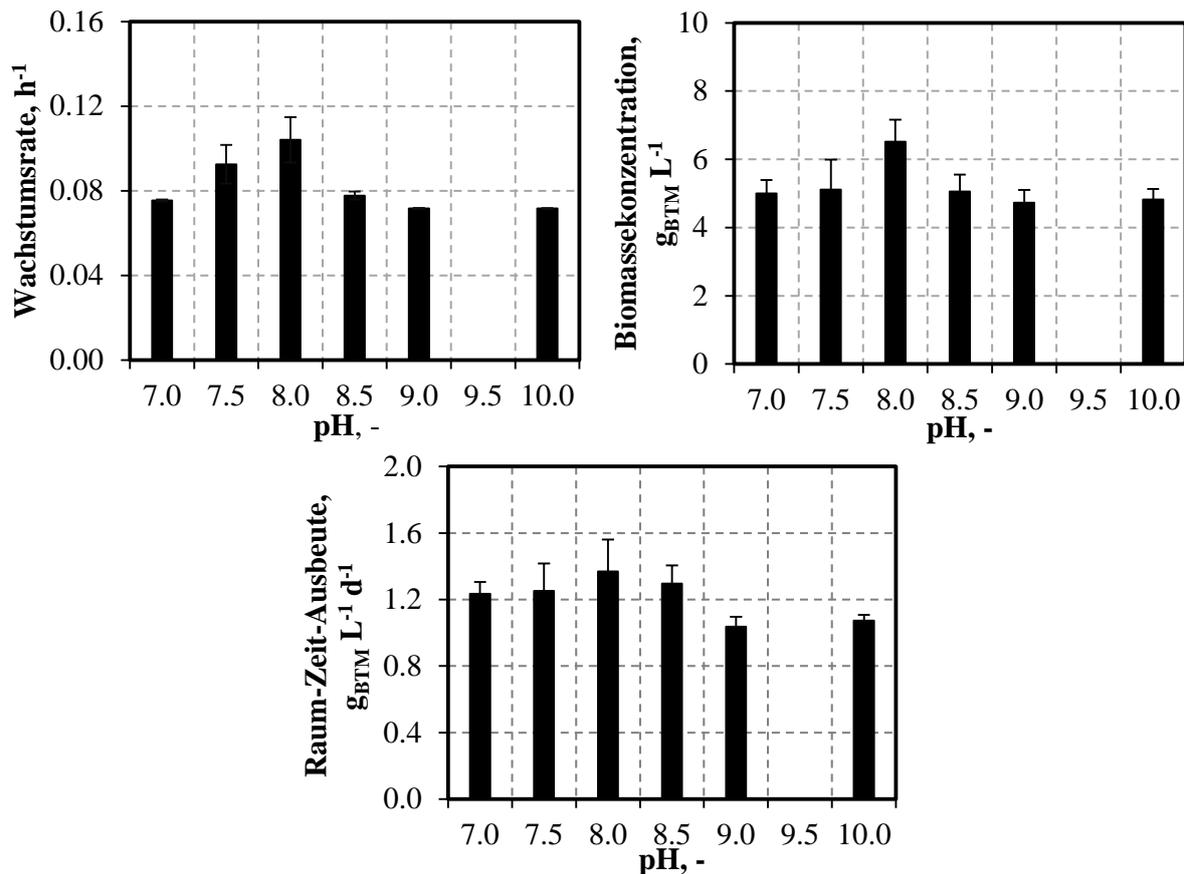


Abbildung 6-2: Einfluss des pH auf die spezifische Wachstumsrate (exponentielle Phase), die finale Biotrockenmassekonzentration sowie auf die Raum-Zeit-Ausbeute an Tag vier von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 zur Bestimmung des pH-Optimums. Die Satzprozesse erfolgten im 1,8 L-Flachplattenphotobioreaktor bei 25 °C und einer Eingangspotonenflussdichte I_0 von 560 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Der pH wurde über den CO_2 -Gehalt im kontinuierlichen Gasvolumenstrom (2 NL min^{-1}) geregelt. pH 9,5 wurde nicht untersucht.

Wie aus Abbildung 6-2 ersichtlich ist, hatte der pH einen großen Einfluss auf die Wachstumsrate von *S. ovalternus* SAG 52.80. Diese stieg mit zunehmendem pH bis zu einem Maximum bei pH 8 an ($0,10 \pm 0,01 \text{ h}^{-1}$). Ein deutliches Maximum zeichnete sich bei diesem pH auch bei der finalen Biomassekonzentration ab. Hier wurde mit $6,52 \pm 0,65 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ innerhalb von vier Tagen die höchste finale Biomassekonzentration bei einer spezifischen Wachstumsrate von $0,10 \pm 0,01 \text{ h}^{-1}$ ermittelt. Im weiteren untersuchten pH-Bereich waren keine signifikanten Unterschiede in der Biotrockenmasse festzustellen. Am Ende des Prozesses lagen ähnliche Konzentrationen zwischen $4,82 - 5,11 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ vor. Die Raum-Zeit-Ausbeute blieb mit etwa $1,3 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ebenfalls weitestgehend unbeeinflusst und nahm lediglich bei pH 9 und pH 10 um ca. 25 % ab.

Diskussion

Durch die Charakterisierung des pH-abhängigen Wachstums von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 im standardisierten Satzprozess im 1,8 L-Flachplattenphotobioreaktor war es möglich, pH 8 als wachstumsfördernden pH für die untersuchte Mikroalgenpezies zu identifizieren. Dieser pH lag in dem für viele Mikroalgen erwarteten Bereich zwischen pH 7 und pH 9 (Coutteau 1996).

Ein signifikanter Einfluss war dabei in den ermittelten Wachstumsraten zu sehen. Da metabolische Prozesse und Enzymaktivitäten innerhalb einer Zelle maßgeblich vom pH abhängen (Ying *et al.* 2014), war diese Beobachtung wie erwartet. Grund für die Stagnation des Zellwachstums bei pH 7,5 und pH 8 war unter anderem die festgestellte Nährstofflimitierung. Im weiteren untersuchten pH-Bereich konnten die Mediennährstoffe N, P, S und Fe auch am Prozessende noch im Medium nachgewiesen werden. Unterschiede im Wachstumsverhalten sowie das Erreichen der stationären Phase in diesem pH-Bereich lassen sich demnach auf den pH oder auf eine andere Limitierung wie Lichtmangel zurückführen. Dies sollte in der nachfolgenden Untersuchung des temperatur- und lichtabhängigen Wachstums erörtert werden.

6.1.2 Temperaturabhängigkeit des Wachstums von *S. ovalternus*

Bei der Untersuchung des pH-abhängigen Wachstums wurde pH 8 als optimale Bedingung im betrachteten pH-Bereich nachgewiesen. Die folgende Charakterisierung des Einflusses der Temperatur auf das Wachstum von *S. ovalternus* SAG 52.80 erfolgte daher bei pH 8 und einer Eingangsphotonenflussdichte I_0 von $560 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ im standardisierten Satzprozess im Labormaßstab (Kapitel 4.3.2). Die Temperatur wurde zwischen $20 \text{ }^\circ\text{C}$ und $40 \text{ }^\circ\text{C}$ in $5 \text{ }^\circ\text{C}$ -Schritten variiert und der Biomassekonzentrationsverlauf bis zur Stagnation verfolgt. Die ermittelten Wachstumskurven sind in Abbildung 6-3 dargestellt. Der Bereich des exponentiellen Wachstums ist grau hinterlegt.

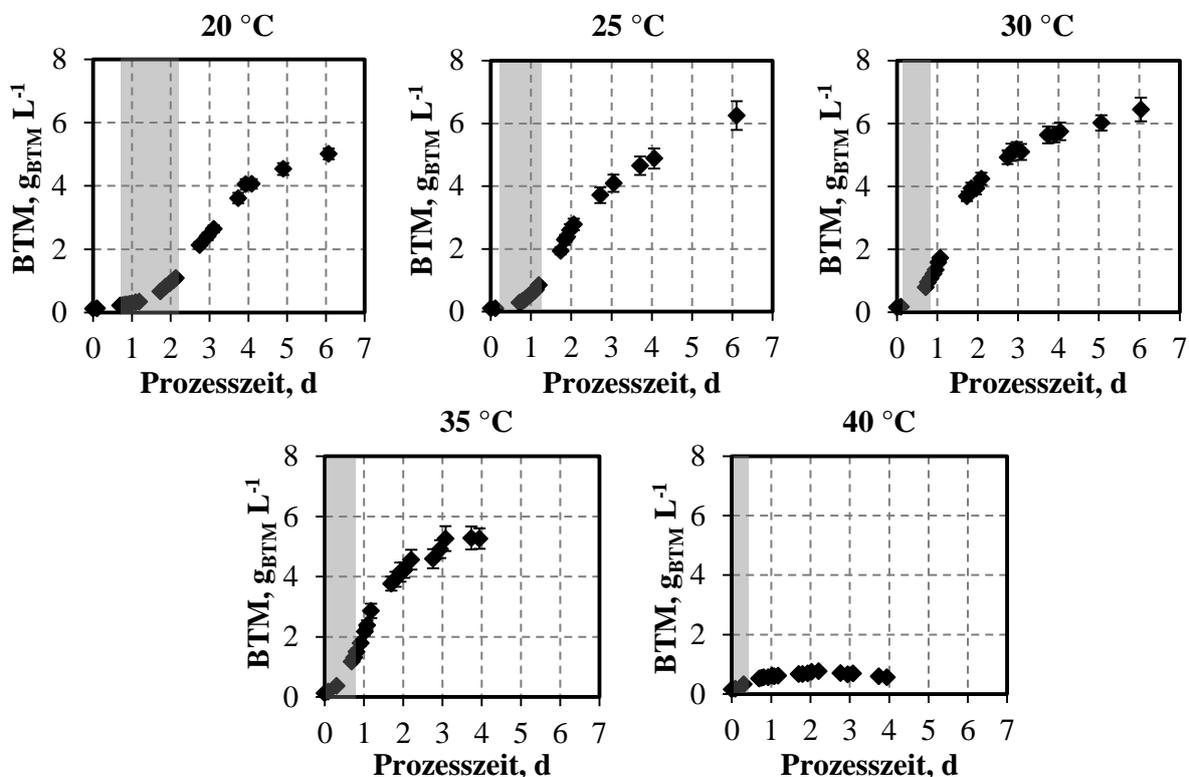


Abbildung 6-3: Einfluss des Temperatur auf das Wachstum von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 im 1,8 L-Flachplattenphotobioreaktor. Die Satzprozesse wurden bei pH 8 und einer Photonendichte I_0 von $560 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ durchgeführt. Der schattierte Bereich entspricht der Phase des exponentiellen Wachstums. BTM bezeichnet die Biotrockenmassekonzentration.

Während bei 20 °C und 25 °C eine deutliche Adaptionsphase ausgeprägt war, begann das Zellwachstum bei 30 °C und 35 °C nahezu ohne Verzögerung (Abbildung 6-3). Bei 40 °C wurde kaum Zellwachstum verzeichnet. Eine genauere Charakterisierung der Temperaturabhängigkeit des Wachstums von *S. ovalternus* SAG 52.80 erlaubt Abbildung 6-4.

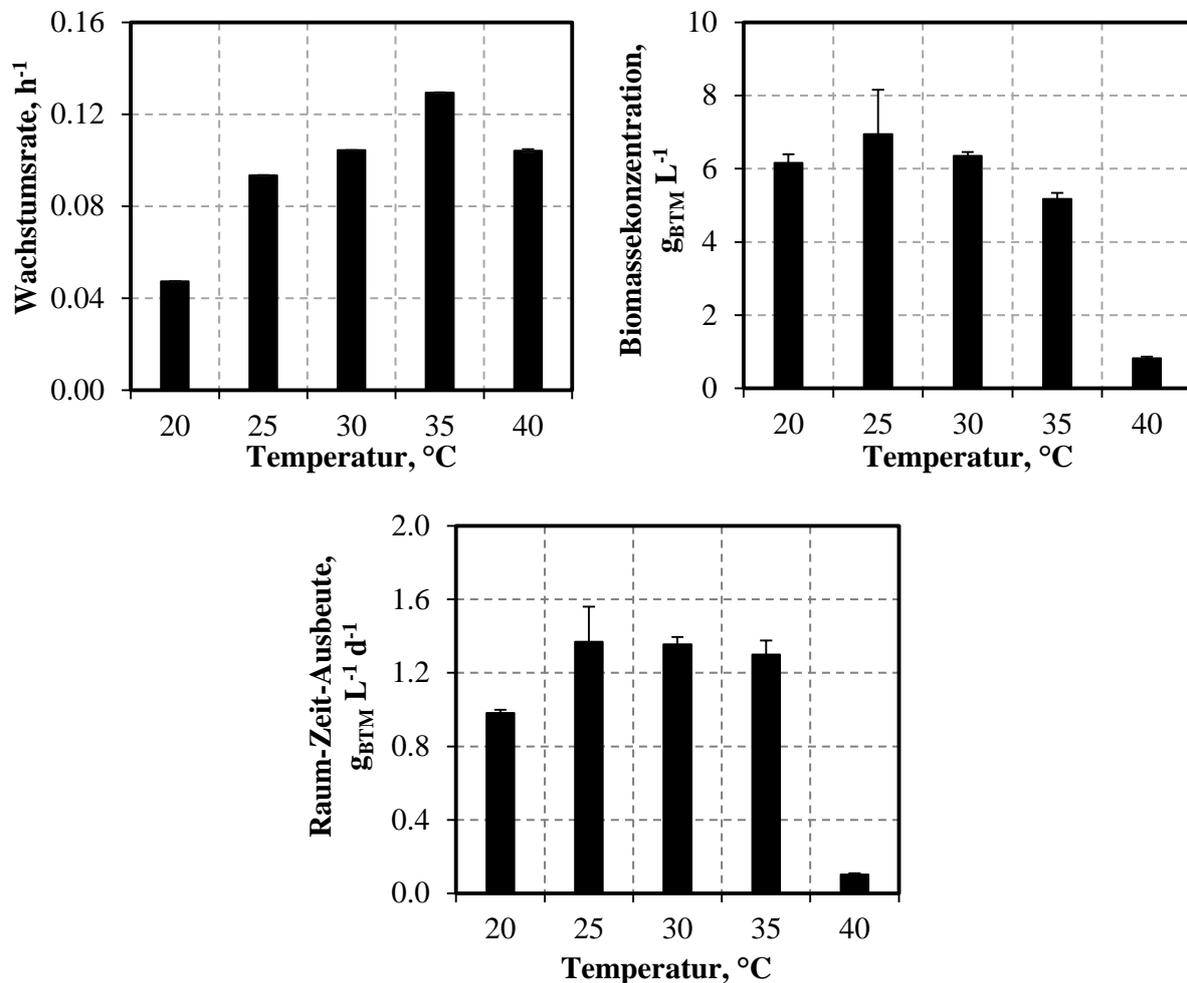


Abbildung 6-4: Einfluss der Temperatur auf die spezifische Wachstumsrate (exponentielle Phase), die finale Biotrockenmassekonzentration sowie auf die Raum-Zeit-Ausbeute an Tag vier von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 zur Bestimmung des Temperaturoptimums. Die Satzprozesse erfolgten bei pH 8 und einer Eingangspotonenflussdichte I_0 von 560 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ im Flachplattenphotobioreaktor. Bei 40 °C konnte kein Zellwachstum nachgewiesen werden.

Wie aus Abbildung 6-4 ersichtlich ist, hatte die Temperatur einen deutlichen Einfluss auf die Wachstumsrate von *S. ovalternus* SAG 52.80. Durch eine schrittweise Erhöhung der Temperatur von 20 °C auf 35 °C konnte die Wachstumsrate um den Faktor 2,7 auf 0,13 h⁻¹ gesteigert werden. Auch bei 40 °C konnte noch Zellwachstum verzeichnet werden, wobei die Biomassekonzentration sowie die Raum-Zeit-Ausbeute am Ende des Prozesses signifikant unterhalb der Biomasseproduktion lagen, welche bei niedrigeren Temperaturen bestimmt wurden. Bezüglich der Biotrockenmasse wurde bereits ab 35 °C ein Rückgang der Endkonzentration nachgewiesen.

Hinsichtlich der Raum-Zeit-Ausbeuten lagen mit 1,30 bis 1,37 $\text{g}_{\text{BTM}} \text{L}^{-1} \text{d}^{-1}$ dagegen vergleichbare Werte im Temperaturbereich zwischen 25 °C und 35 °C vor.

Diskussion

Durch die Charakterisierung des temperaturabhängigen Wachstums von *S. ovalternus* SAG 52.80 war es möglich die beiden Temperaturen 20 °C und 40 °C für die Kultivierung von *S. ovalternus* SAG 52.80 auszuschließen. Bei 20 °C wuchsen die Zellen nur sehr langsam, wohingegen bei 40 °C kaum Biomassebildung stattfand. Mögliche Ursachen hierfür sind bereits in Kapitel 5.1.2 für *Scenedesmus obtusiusculus* beschrieben. Ab einer Temperatur von 35 °C konnte ein Rückgang der Biomassekonzentration für *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 bei Prozessende nachgewiesen werden, weshalb diese Temperatur ebenfalls nicht für die Satzkultivierung von *S. ovalternus* SAG 52.80 geeignet zu sein schien. Im Hinblick auf die Wachstumsrate konnte der Zusammenhang zwischen der Temperatur und der spezifischen Wachstumsrate mit einer Glockenkurve beschrieben werden. Dieses Ergebnis deckte sich mit in der Literatur dargelegten Erkenntnissen (Ras *et al.* 2013). Da bei 25 °C und 30 °C jeweils vergleichbare Biomassekonzentrationen und Raum-Zeit-Ausbeuten vorlagen und die Wachstumsrate bis zu einer Temperatur von 35 °C stetig zunahm, wurde eine Temperatur von 30 °C für die weitere Charakterisierung des Biomasseproduktionsprozesses mit *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 gewählt. 30 °C liegt darüber hinaus im für Mikroalgen erwarteten Temperaturbereich zwischen 22 °C und 35 °C (Singh und Singh 2015).

6.1.3 Lichtabhängigkeit des Wachstums von *S. ovalternus*

Zur Charakterisierung des lichtabhängigen Wachstums von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 wurde der standardisierte Satzprozess im Flachplattenphotobioreaktor herangezogen, welcher grundlegend in Kapitel 4.3.2 beschrieben ist. Der Prozess fand bei den zuvor festgelegten Prozessbedingungen pH 8 und 30 °C statt. Zur Charakterisierung der Lichtabhängigkeit von *S. ovalternus* SAG 52.80 wurde die Eingangspotonenflussdichte I_0 im Bereich zwischen 102 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ und 3794 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ variiert. Wie bereits zuvor, wurde BG-11 Medium vorgelegt und der Biomassekonzentrationsverlauf während der Satzprozesse bis zum Eintritt in die stationäre Phase bestimmt.

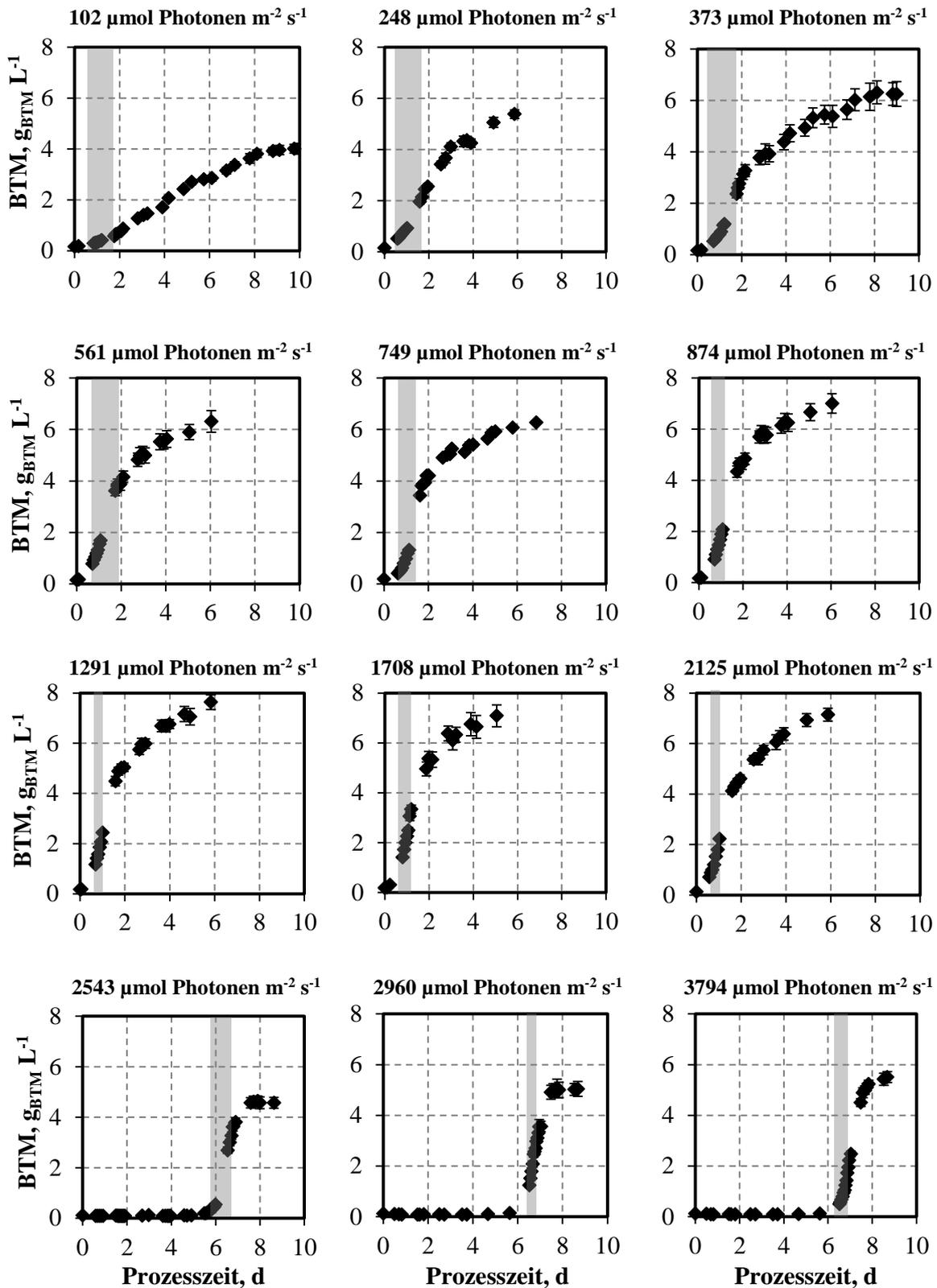


Abbildung 6-5: Einfluss der Eingangsphotonenflussdichte I_0 auf das Wachstum von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 im 1,8 L-Flachplattenphotobioreaktor. Die Satzprozesse wurden bei 30 °C und pH 8 durchgeführt. Die Abkürzung BTM entspricht der Biotrockenmassekonzentration im Reaktor. Der schattierte Bereich definiert die Phase des exponentiellen Wachstums.

Wie Abbildung 6-5 verdeutlicht, wurde das Wachstumsverhalten von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 maßgeblich von der auf die Mikroalgenkultur auf der lichtzugewandten Seite des

Flachplattenphotobioreaktors auftreffenden Photonenflussdichte beeinflusst. Niedrige Eingangsphotonenflussdichten unter $400 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ führten zu einer Verlängerung der Prozessdauer bis zum Einsetzen der stationären Phase. Die Algenzellen erreichten die stationäre Phase nach acht bis zehn Tagen und wuchsen bei solchen Photonenflussdichten kaum exponentiell. Stattdessen war eine nahezu lineare Zunahme der Biomassekonzentration mit der Prozesszeit zu beobachten. Damit einhergehend wurde bei Prozessen mit niedrigen Photonenflussdichten bereits nach zwei Tagen fast kein Licht mehr auf der Reaktorrückseite gemessen, wie Abbildung 6-6 beispielhaft für eine Eingangsphotonenflussdichte von $373 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ zeigt.

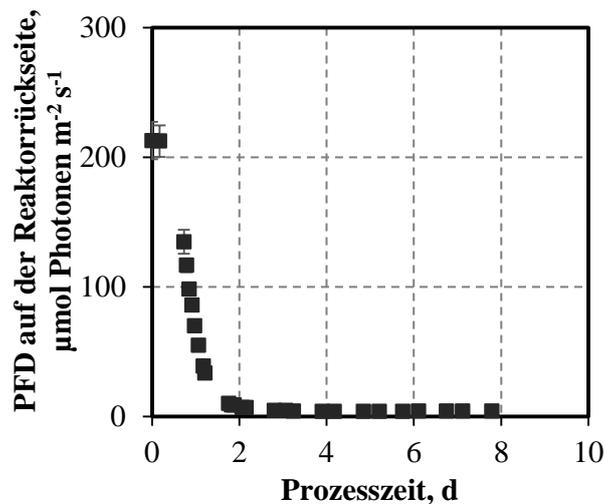


Abbildung 6-6: Während des Satzprozesses mit *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 (pH 8, 30°C , $373 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$) auf der Reaktorrückseite (lichtabgewandte Seite) gemessene Photonenflussdichte (PFD).

Mit weiter ansteigender Eingangsphotonenflussdichte ($> 400 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$) verkürzte sich die Verzögerungsphase stetig (Abbildung 6-5) und es konnte ein für Mikroorganismen charakteristischer Konzentrationsverlauf mit einer Prozesszeit von etwa vier bis sechs Tagen erreicht werden. Eine fortführende Erhöhung der Photonenflussdichte bewirkte eine signifikante Ausdehnung der Adaptionphase auf bis zu sechs Tage. Innerhalb dieses Zeitraums konnte kein Mikroalgenwachstum nachgewiesen werden. Im Anschluss an die verlängerte Verzögerungsphase war ein beschleunigter aber kurzer Anstieg der Biotrockenmassekonzentration innerhalb von ein bis zwei weiteren Prozesstagen zu verzeichnen.

Neben den Biomassekonzentrationsverläufen wurden für *S. ovalternus* SAG 52.80 die spezifischen Wachstumsraten sowie die Biomassekonzentrationen bei Prozessende und die Raum-Zeit-Ausbeuten an Tag vier zur Charakterisierung der Lichtabhängigkeit des Mikroalgenstamms bestimmt. Der Einfluss der Eingangsphotonenflussdichte auf die Prozessgrößen ist in Abbildung 6-7 dargestellt.

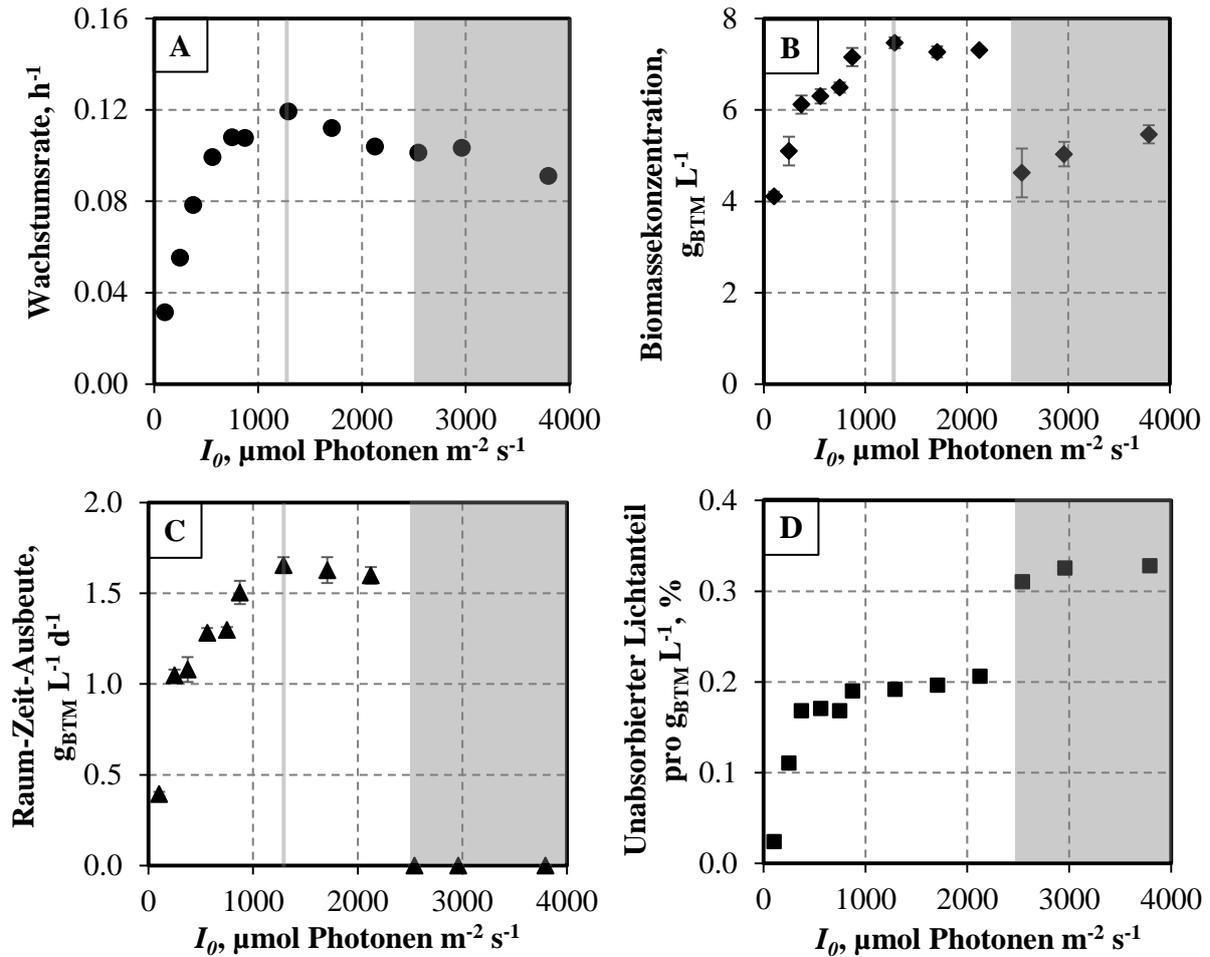


Abbildung 6-7: Einfluss der Eingangsphotonenflussdichte (I_0) auf die spezifische Wachstumsrate (A), die Konzentration der Biomasse am Ende des Prozesses (B) sowie der Raum-Zeit-Ausbeute an Tag vier (C) von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 im 1,8 L-Flachplattenphotobioreaktor. In Abbildung D ist der Anteil der Photonendichte gezeigt, welcher am Ende des Prozesses (stationäre Phase) nicht von der Algensuspension im Reaktor absorbiert wurde. Der senkrechte Strich kennzeichnet die experimentell bestimmte optimale Eingangsphotonenflussdichte. Der grau hinterlegte Bereich kennzeichnet die Versuche, bei denen eine mehrtägige Verzögerungsphase beobachtet wurde.

Für *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 konnte zunächst ein Anstieg der Wachstumsrate, der Biomassekonzentration und der Raum-Zeit-Ausbeute mit steigender Photonendichte festgestellt werden. Ein Maximum war, wie in Abbildung 6-7 gekennzeichnet ist, jeweils bei einer Eingangsphotonenflussdichte I_0 von $1290 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ zu verzeichnen. Bei dieser Photonendichte betrug die spezifische Wachstumsrate $0,12 \text{ h}^{-1}$ und es wurde eine Biomassekonzentration von $7,50 \pm 0,12 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{L}^{-1}$ innerhalb von sechs Tagen erreicht ($\text{RZA} = 1,66 \pm 0,04 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{L}^{-1} \text{d}^{-1}$). Dies entspricht einer Flächen-Zeit-Ausbeute von insgesamt $25,0 \pm 0,5 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{m}^2 \text{d}^{-1}$. Höhere Photonendichten führten zu einem Rückgang der Wachstumsrate und ab einer Photonendichte von $2500 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ wurde aufgrund der lang andauernden Verzögerungsphase (Abbildung 6-5) eine Raum-Zeit-Ausbeute von $0 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{L}^{-1} \text{d}^{-1}$ berechnet. In diesem Zusammenhang wurde darüber hinaus ein signifikanter

Rückgang der Biomassekonzentration um etwa 40 % im Vergleich zur maximal bestimmten Biomassekonzentration im Bereich zwischen 1290 und 2200 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ nachgewiesen. Im Starklichtbereich ($> 2500 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$) wurde zudem ein im Gegensatz zum mittleren Photonenflussdichtenbereich höherer Anteil an nicht absorbierten Photonen pro Gramm Biotrockenmassekonzentration detektiert (Abbildung 6-7 D).

Diskussion

Durch die Untersuchung der Lichtabhängigkeit von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 konnte eine ausgeprägte Abhängigkeit des Zellwachstums von der Eingangspotonenflussdichte festgestellt werden. Niedrige Photonenflussdichten ($< 400 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$) führten zu einer verlängerten Prozesszeit, wobei eine überwiegend lineare Zunahme der Biomassekonzentration während der Satzprozesse bei solchen Photonenflussdichten detektiert wurde. Für gewöhnlich wird der Übergang in eine lineare Wachstumsphase bei Mikroalgen mit lichtlimitierten Wachstumsbedingungen im Photobioreaktor in Zusammenhang gebracht (Tamiya 1957). Ist die Zellkonzentration gering genug, so stehen auch bei niedrigen Bestrahlungsstärken ausreichend Photonen zur Verfügung und die Zellen vermehren sich exponentiell. Wird dagegen eine bestimmte Biomassekonzentration überschritten, so werden alle verfügbaren Photonen von den Mikroalgenzellen absorbiert und der Biomassezuwachs verläuft linear bis eine andere Komponente (Substrat oder Inhibitor) zum limitierenden Faktor wird (Richmond und Hu 2004). Anhand der Lichttransmissionsmessung auf der Rückseite des Flachplattenphotobioreaktors konnte nachgewiesen werden, dass bereits nach zwei Tagen nahezu der gesamte Photonenfluss von den Algenzellen im Reaktor absorbiert worden ist. Dies lässt den Rückschluss zu, dass bei niedrigen Eingangspotonenflussdichten von lichtlimitierten Bedingungen im Reaktor als Ursache für das beobachtete Wachstumsverhalten auszugehen ist.

Hinsichtlich der Biomassekonzentration am Ende des Prozesses sowie der Raum-Zeit-Ausbeute an Tag vier konnten für *S. ovalternus* SAG 52.80 optimale Lichtbedingungen im Photonenflussdichtenbereich zwischen 1290 und 2200 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ mit einem ausgeprägten Maximum der spezifischen Wachstumsrate bei 1290 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ identifiziert werden. Höhere Photonenflussdichten ($> 2500 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$) führten zu einem Rückgang der untersuchten Prozessgrößen und damit zu einem vergleichbar schlechteren Produktionsprozess.

Durch die Bestrahlung der Mikroalgenkultur mit Photonenflussdichten über 2500 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ wurde eine langanhaltende (sechs Tage) Adaptionphase induziert, was die in der Literatur beschriebenen Beobachtungen belegt (Brody und Vatter 1959; Juneja *et al.* 2013; Richmond und Hu 2004). Starklichtverhältnisse stellen eine Stresssituation für Mikroalgen dar, wodurch eine Vielzahl an Photoakklimationsprozessen in der Zelle aktiviert werden (Tredici

2004). Extreme Lichtverhältnisse im Reaktor, sei es Starklicht- oder Schwachlichtverhältnisse, können zu einer Veränderung der Zellzusammensetzung und damit zu einem veränderten Stoffwechsel führen. Um ihre photosynthetische Aktivität aufrechtzuerhalten, werden ultrastrukturelle, biophysikalische oder physiologische Umwandlungen in einer phototrophen Zelle vorgenommen (Tredici 2004). Dies könnte die Ursache für die beobachtete langanhaltende Verzögerungsphase bei *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 sein.

Höhere Eingangspotonenflussdichten hatten nicht nur einen Einfluss auf die Verzögerungsphase. Nach der Adaption an die suboptimalen Lichtbedingungen im Reaktor gingen die Zellen nach einer kurzen Phase des Wachstums unmittelbar in den stationären Zustand über. Da eine ausreichende Verfügbarkeit von Licht im Reaktor nachgewiesen werden konnte (Abbildung 6-7 D) und darüber hinaus keine Nährstofflimitierung (N, P, S, Fe) im Medium vorlag (Ergebnisse nicht dargestellt), kann eine Limitierung durch die während des Satzprozesses überwachten Substrate (Licht, Mediennährstoffe) ausgeschlossen werden. Vielmehr könnte eine Erhöhung des Anteils an Schutzpigmenten bei gleichzeitiger Verringerung von Chlorophyll-Pigmenten während der langanhaltenden Verzögerungsphase angenommen werden. Es ist möglich, dass sich die Zellen auf diese Art und Weise zunächst vor der hohen Anzahl an Photonen geschützt haben, bevor ihre Reproduktion einsetzte. Durch den schnellen Anstieg an Biomasse könnte anschließend die Anzahl an *speziellen Paaren* Chlorophyll a aufgrund der vorangegangenen Stoffwechsellumstellung zu gering gewesen sein, so dass der vorhandene Photonenfluss letztendlich nicht vollständig absorbiert werden konnte. Eine erneute Adaption der metabolischen Prozesse zur Anpassung an die veränderten Bedingungen könnte die beobachtete Stagnation hervorgerufen haben.

Eine weitere mögliche Erklärung für die Stagnation nach kurzem, aber schnellem Wachstum, könnten allerdings auch Photosystem-schädigende Prozesse sein, welche in der Literatur für phototrophe Mikroorganismen beschrieben sind. Hohe Photonenflussdichten können zu einer partiellen Deaktivierung von Schlüsselkomponenten des Photosyntheseapparates führen (Nedbal *et al.* 1996). Die Unterdrückung ist dabei ein zunächst reversibler Schritt (Myers und Burr 1940). Sobald eine kritische Photonenflussdichte überschritten wird, kann das Photosystem II der photosynthetischen Einheit geschädigt werden (Camacho Rubio *et al.* 2003; Han 2000). Als Folge können weitere Systeme wie das sauerstofffreisetzende System, Elektronentransporter oder die an der Photosynthese beteiligten D1/D2 Proteine beeinträchtigt werden (Camacho Rubio *et al.* 2003). Sind Mikroalgenzellen weiterhin hohen Photonenflussdichten ausgesetzt, so kann es sein, dass photoprotektive Prozesse und Reparaturmechanismen nicht weiter fortgeführt werden, wodurch das Photosystem II dauerhaft inaktiviert werden kann (Myers und Burr 1940; Prasil *et al.* 1992). Dies hat einen gestörten Zellmetabolismus und damit ein gestörtes Zellwachstum zur Folge und kann eine wie in dieser Arbeit beobachtete Beeinträchtigung des Biomasseproduktionsprozesses nach sich ziehen.

Um Photosystem-schädigenden Prozessen vorzubeugen, sollte für *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 eine Eingangsphotonenflussdichte von 2000 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ nicht überschritten werden. Der produktivste Satzprozess zur Herstellung von Algenbiomasse konnte unter den untersuchten Bedingungen bei einer Eingangsphotonenflussdichte von 1290 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ realisiert werden.

6.1.4 Vergleich mit *Scenedesmus obtusiusculus*

Verglichen mit dem zuvor charakterisierten Neuisolat *Scenedesmus obtusiusculus* (Kapitel 1) war die Biomasseendkonzentration beim Satzprozess mit *S. ovalternus* SAG 52.80 bei Erreichen der stationären Phase um 50 % höher. Aufgrund des um den Faktor 1,8 schnelleren Wachstums von *S. obtusiusculus* betrug die Prozesszeit für das Neuisolat allerdings nur 3,5 Tage anstelle der mit *S. ovalternus* SAG 52.80 in Anspruch genommenen sechs Tage. Über den gesamten Satzprozess betrachtet wurde mit *S. obtusiusculus* somit eine um 13 % erhöhte Raum- sowie Flächen-Zeit-Ausbeute im Vergleich zu *S. ovalternus* SAG 52.80 erzielt. Das Neuisolat stellt damit den besseren Produktionsstamm der beiden untersuchten *Scenedesmus spec.* dar.

Beide Stämme zeigten eine vergleichbare Abhängigkeit bezüglich des pH,- temperatur- und lichtabhängigen Wachstums (Tabelle 6-1).

Tabelle 6-1: Zusammenfassung der Ergebnisse der Reaktionstechnischen Charakterisierung von *Scenedesmus obtusiusculus* und *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 im Flachplattenphotobioreaktor (1,8 L) im Vergleich zu Literaturdaten: a) Breuer *et al.* (2013) b) Sánchez *et al.* (2008)

	<i>Scenedesmus obtusiusculus</i>	<i>Scenedesmus ovalternus</i>	<i>Scenedesmus obliquus</i> ^{a)}	<i>Scenedesmus almeriensis</i> ^{b)}
pH	7,5	8,0	7,0	8,0
Temperatur	30 °C	30 °C	2,5 °C	33 °C
Eingangsphotonenflussdichte, $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$	1400	1300	800 – 1500	1700
Spezifische Wachstumsrate	0,22 h ⁻¹	0,12 h ⁻¹	-	< 0,1 h ⁻¹
Finale Biomassekonzentration	5,0 g _{BTM} L ⁻¹	7,5 g _{BTM} L ⁻¹	8,0 g _{BTM} L ⁻¹	3,4 g _{BTM} L ⁻¹
Raum-Zeit-Ausbeute	1,43 g _{BTM} L ⁻¹ d ⁻¹	1,25 g _{BTM} L ⁻¹ d ⁻¹	-	0,87 g _{BTM} L ⁻¹ d ⁻¹

Unter Verwendung des gleichen, wie in dieser Arbeit eingesetzten Reaktorsystems (Kapitel 4.3.2) erzielte die Forschungsgruppe von Breuer *et al.* (2013) das beste Wachstum für die Grünalge *Scenedesmus obliquus* bei 27,5 °C, pH 7 und einer Eingangsphotonenflussdichte zwischen 800 und 1500 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Dieses Ergebnis ist den für *Scenedesmus obtusiusculus* und *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 ermittelten Prozessbedingungen sehr ähnlich. Ein vergleichbares Resultat mit 33 °C, pH 8 und einer Eingangsphotonenflussdichte von 1700 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ermittelten Sánchez *et al.* (2008) für *Scenedesmus almeriensis* in einem 2 L-Blasensäulenphotobioreaktor.

Im Hinblick auf die Biomasseproduktivität ist die in dieser Arbeit für *S. ovalternus* SAG 52.80 erreichte finale Biomassekonzentration von $7,5 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ der von Breuer *et al.* (2013) publizierten Biomassekonzentration von $7\text{--}8 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ sehr ähnlich. Mit *S. almeriensis* wurden dagegen nur 3 g L^{-1} in 2 L- Blasensäulenreaktoren erzielt (Sánchez *et al.* 2008).

Die nachgewiesenen Wachstumsraten und Biomasseproduktivitäten für die beiden in dieser Arbeit untersuchten *Scenedesmus* Spezies sind höher als für andere *Scenedesmus* (Nalewajko *et al.* 1997), *Nannochloropsis* (Spolaore *et al.* 2006), *Dunaliella* oder *Chlorella spec.* (Chiu *et al.* 2008; Kim *et al.* 2007) berichtet wurde. Diese zeigten Wachstumsraten zwischen $0,014 \text{ h}^{-1}$ und $0,036 \text{ h}^{-1}$ in Satzprozessen in verschiedenen Kultivierungssystemen im Labormaßstab.

6.2 Reaktionskinetik des lichtabhängigen Wachstums von *Scenedesmus ovalternus*

Die folgenden Abschnitte beschäftigen sich mit der Untersuchung des Lichttransfers im verwendeten Flachplattenphotobioreaktor zur Charakterisierung der Reaktionskinetik des lichtabhängigen Wachstums von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80. Es werden kinetische Parameter für die weitestgehend unerforschte Grünalge abgeschätzt und die neuen Erkenntnisse zur Gestaltung und experimentellen Validierung eines Lichtprofils verwendet.

6.2.1 Bestimmung von mittleren integralen Photonendichten

Zur Berechnung mittlerer integraler Photonendichten für *S. ovalternus* SAG 52.80 im Flachplattenphotobioreaktor wurden die in Kapitel 6.1.3 beschriebenen standardisierten Satzprozesse zur Charakterisierung des lichtabhängigen Wachstums in Abhängigkeit der Eingangspotonenflussdichte herangezogen (Abbildung 6-7). Für jeden Prozess wurde die Lichtabschwächung mit zunehmender Biomassekonzentration über die gesamte Prozessdauer aufgezeichnet, wie in Abbildung 6-8 beispielhaft für die Kultivierung bei einer Eingangspotonenflussdichte von $750 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ gezeigt ist.

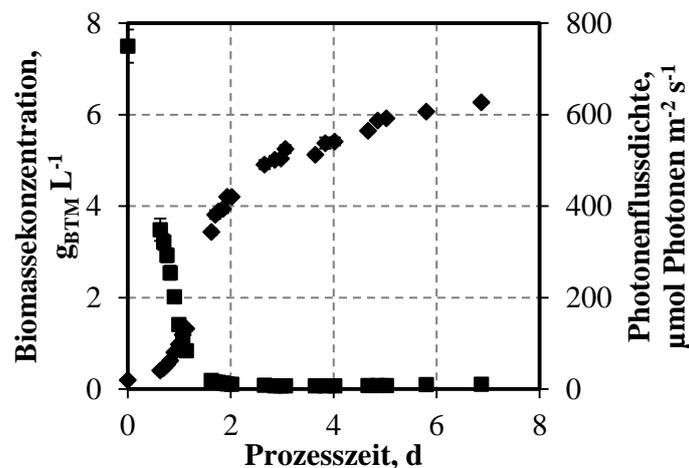


Abbildung 6-8: Biomassezuwachs (\blacklozenge) und damit einhergehende Lichtabschwächung (\blacksquare), beispielhaft für einen standardisierten Satzprozess im Flachplattenphotobioreaktor bei $30 \text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH } 8$ und $I_0 = 750 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Aus den experimentellen Daten wurden anschließend, wie in Kapitel 4.5.3 beschrieben, die beiden Parameter α (Lichtabsorption) und δ (Lichtstreuung) mittels nicht-linearer Regression ermittelt und die in dieser Arbeit entwickelte Gleichung 4-8 zur Berechnung mittlerer integraler Photonendichten gelöst. Da durch die in Kapitel 5.2.5 beschriebenen Ergebnisse nachgewiesen werden konnte, dass Schusters Modell eine präzisere Beschreibung der Lichtabschwächung im Flachplattenphotobioreaktor im Vergleich zu Lambert und Beers Modell erlaubt, wurde für *S. ovalternus* SAG 52.80 nur Schusters Modellgleichung zur Berechnung der mittleren integralen

Photonenflussdichten eingesetzt (Tab. A-12 im Anhang). Die daraus resultierende Lichtantwortkurve (μ/I^{**} -Kurve) ist in Abbildung 6-9 dargestellt.

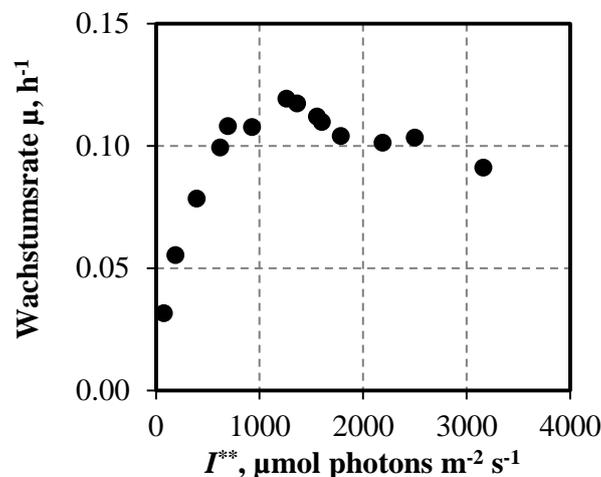


Abbildung 6-9: Lichtantwortkurve (μ/I^{**}), auf der Basis von Schusters Lichtabschwächungsmodell für *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 im Flachplattenphotobioreaktor berechnet. Die Lichtantwortkurve beschreibt den Zusammenhang zwischen der Wachstumsrate μ und der mittleren integralen Photonendichte I^{**} , welche durchschnittlich während der exponentiellen Wachstumsphase im Reaktor vorliegt.

Die für *S. ovalternus* SAG 52.80 bestimmte Lichtantwortkurve folgte einem für phototrophe Mikroorganismen charakteristischen Kurvenverlauf. In der lichtlimitierten Phase (etwa 0 – 700 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$) stieg die spezifische Wachstumsrate bis zum Lichtsättigungspunkt bei etwa 1260 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ an. Bei dieser mittleren integralen Photonendichte wurde experimentell das schnellste Wachstum ($0,12 \text{ h}^{-1}$) nachgewiesen. Anschließend folgte eine lichtschiädigende Phase, bei der mit zunehmender mittleren integralen Photonendichte eine Abnahme der Wachstumsrate auf unter $0,10 \text{ h}^{-1}$ festgestellt werden konnte. Die Lichtantwortkurve wurde für die Identifizierung von kinetischen Parametern verwendet, welche im nachfolgenden Kapitel beschrieben ist.

6.2.2 Identifizierung von kinetischen Parametern und Modellvergleich

Die Identifizierung von kinetischen Parametern für *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 im Flachplattenphotobioreaktor erfolgte mit der im vorherigen Abschnitt beschriebenen Lichtantwortkurve. Die experimentellen Daten wurden mit diversen kinetischen Modellansätzen (Tabelle 3-1) analysiert und die kinetischen Parameter jeweils über nicht-lineare Regression identifiziert. Tabelle 6-2 gibt die kinetischen Parameter für die verschiedenen Wachstumsmodelle wieder. In Abbildung 6-10 sind neben den experimentellen Daten die identifizierten Wachstumsmodelle gezeigt.

Tabelle 6-2: Kinetische Parameter von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 für verschiedene Wachstumsmodelle. Die Parameter wurden mittels nichtlinearer Regression aus den experimentellen Daten bestimmt. Die Sättigungskonstante K_s und die Inhibierungskonstante K_I sind in $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ angegeben. Standardabweichungen (in %) wurden mit Hilfe der Jackknife-Methode abgeschätzt (Miller 1974; Quenouille 1956; Tukey 1958). AIC_c ist Akaikes korrigiertes Informationskriterium, welches für den modellvergleich herangezogen wurde.

Model	$\mu_{\max}, \text{h}^{-1}$	$K_s,$	$K_I,$	β	φ	K	Γ	Fehlerquadratsumme	AIC_c
Webb (1963)	0,214	545	2745	0	-	-	-	0,0002	-125,0
Standardabweichung	4%	7%	7%	0%	-	-	-		
Steel (1977)	0,120	-	1345	-	-	-	-	0,0013	-111,5
Standardabweichung	1%	-	2%	-	-	-	-		
Andrews (1968)	0,214	545	2744	-	-	-	-	0,0002	-130,6
Standardabweichung	4%	7%	7%	-	-	-	-		
Camacho Rubio (2003)	1,737	-	-	-	1276	0,14	0,26	0,0001	-130,7
Standardabweichung	12%	-	-	-	2%	15%	15%		
Monod	0,118	162	-	-	-	-	-	0,0014	-110,6
Standardabweichung	1%	6%							

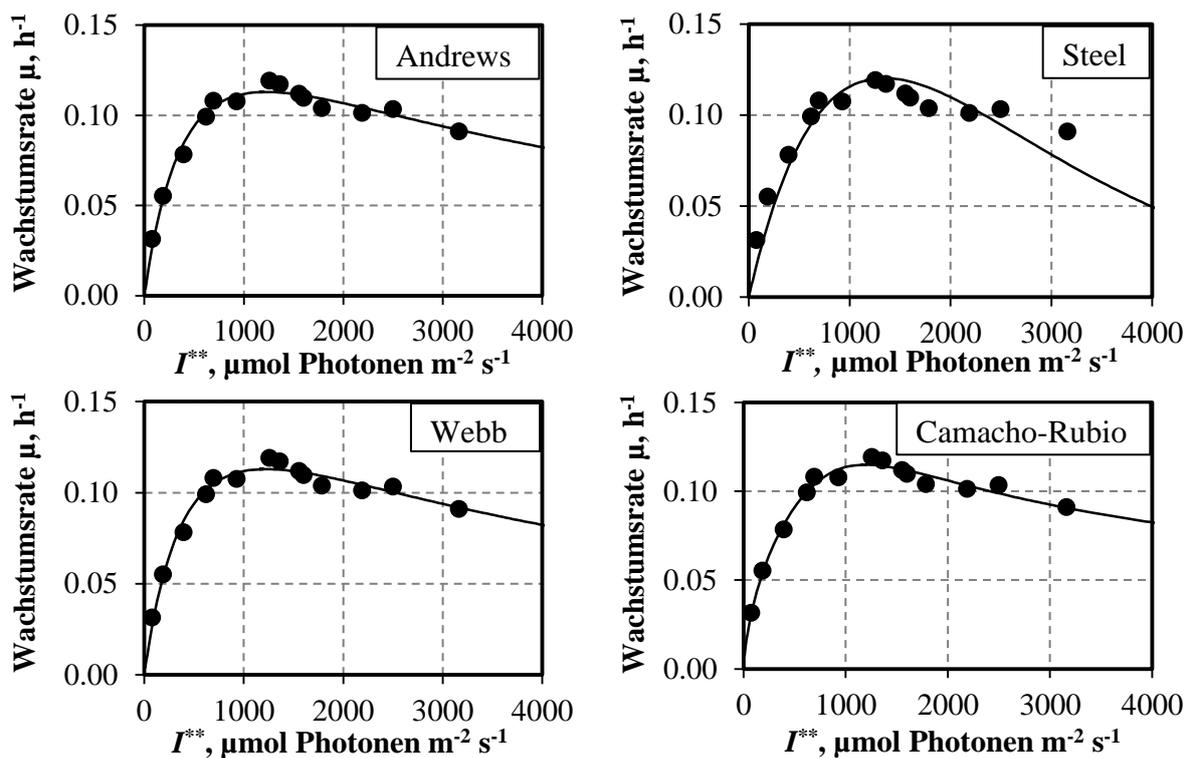


Abbildung 6-10: Einfluss der mittleren integralen Photonenflussdichte I^{**} auf das phototrophe Wachstum von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 in einem Flachplattenphotobioreaktor. Die spezifische Wachstumsrate μ wurde mittels exponentieller Regression im Bereich des exponentiellen Wachstums bestimmt (vergleiche Kapitel 6.1.3). Die Regressionskurven (—) wurden für verschiedene Wachstumsmodelle (Tabelle 3-1) aus den experimentellen Daten (●) ermittelt.

Wie in Abbildung 6-10 ersichtlich ist, war mit dem Modell von Steel nur bis zu einer mittleren integralen Photonenflussdichte von etwa $1200 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ eine Beschreibung der experimentellen Daten möglich. Die Datenpunkte höherer Photonenflussdichten konnten mit dem Modell nicht abgebildet werden. Bezüglich Akaikes korrigiertem Informationskriterium (AIC_c ,

Tabelle 6-2) schienen Andrews' und Camacho Rubios Modell die Korrelation zwischen der Wachstumsrate und der mittleren integralen Photonenflussdichte am besten unter den verwendeten kinetischen Ansätzen wiederzugeben. Da die Standardabweichungen bei Camacho Rubios Modell mit teilweise über 10 % höher waren als die bei Andrews' Modell und das Modell darüber hinaus mehr kinetische Parameter enthält, die teilweise nur unzureichend biologisch erklärbar sind, wurde erneut Andrews' Kinetik zur Beschreibung des lichtabhängigen Wachstums von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 herangezogen. Für *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 ergaben sich die kinetischen Parameter zu $K_S = 545 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, $K_I = 2744 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ und $\mu_{max} = 0,21 \text{ h}^{-1}$.

6.2.3 Anwendung eines Lichtprofils

Mit Hilfe des zuvor identifizierten kinetischen Modells (Kapitel 6.2.2) wurde eine optimale mittlere integrale Photonenflussdichte durch Lösen der Gleichung 5-2 für Andrews' Wachstumskinetik ermittelt. Diese wurde zu $I_{opt}^{**} = 1220 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ bestimmt. Entsprechend wurde eine optimale Wachstumsrate $\mu_{opt} = 0,11 \text{ h}^{-1}$ für *S. ovalternus* SAG 52.80 berechnet.

Für die experimentelle Durchführung im Flachplattenphotobioreaktor wurden 30 °C und pH 8 gewählt. Die Hauptnährstoffe Stickstoff, Phosphor, Sulfur und Eisen wurden, wie in Kapitel 4.4.1 beschrieben, während des gesamten Prozesses kontrolliert und gegebenenfalls manuell hinzugegeben. Dadurch sollte eine Nährstofflimitierung ausgeschlossen und Charakteristiken im Wachstum auf den Einfluss von Licht zurückgeführt werden können. Um die optimale integrale Photonenflussdichte konstant zu halten, wurde die Eingangspotonenflussdichte mit zunehmender Biomassekonzentration im Reaktor erhöht. Die Abschätzung der Biomassekonzentration während des Prozesses erfolgte automatisiert im 20-Sekunden-Takt mit Hilfe von Gleichung 3-3 anhand der zuvor ermittelten optimalen Wachstumsrate μ_{opt} (0,11 h⁻¹). Entsprechend der abgeschätzten Biomassekonzentration im Reaktor wurde die benötigte Eingangspotonenflussdichte I_0 mit Schusters Lichtabschwächungsmodell für $I(s) = I_{opt}^{**}$ (Gleichung 3-21) ebenfalls alle 20 Sekunden automatisiert angepasst. Zur Kontrolle des Lichtprofils wurde die aktuelle Eingangspotonenflussdichte bei jeder Probenahme bezüglich der tatsächlich im Reaktor vorliegenden Biomassekonzentration überprüft und gegebenenfalls manuell korrigiert. Darüber hinaus wurde parallel ein Versuch mit konstanter Eingangspotonenflussdichte (1220 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) durchgeführt und die Prozessverläufe miteinander verglichen. Die Charakteristika sind in Abbildung 6-11 dargestellt.

Bis zum Erreichen der gerätespezifischen maximalen Photonenflussdichte nach 2 Prozesstagen war es möglich, die theoretisch abgeschätzte mittlere integrale Photonenflussdichte mit Hilfe des Lichtprofils im Reaktor konstant zu halten (Abbildung 6-11 A). Die aus den experimentellen Daten

berechneten mittleren integralen Photonflussdichten stimmten bis zu diesem Zeitpunkt mit der zuvor abgeschätzten Photonflussdichte überein. Obwohl während des Prozesses mit konstanter Bestrahlung ein signifikanter Abfall der im Mittel während der exponentiellen Phase im Reaktor vorliegenden Photonflussdichte von 1220 auf $350 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ innerhalb der ersten beiden Prozesstage nachgewiesen wurde (Abbildung 6-11 A), konnte in diesem Prozesszeitraum kein Unterschied zwischen dem Biomassekonzentrationsverlauf im Lichtprofilprozess und dem Prozess bei konstanter Eingangsphotonflussdichte festgestellt werden (Abbildung 6-11 B). Erst nach zwei weiteren Prozesstagen war es möglich, einen Einfluss von Licht auf das Wachstum von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 zu erkennen. Im Gegensatz zu *Scenedesmus obtusiusculus* war die Biomassekonzentration zu diesem Zeitpunkt im Lichtprofilprozess geringer als im Prozess mit konstanter Bestrahlung. Am Ende der beiden Satzprozesse (zwölf Tage) konnten für den Prozess mit Lichtprofil nur etwa 75% ($10,91 \pm 0,42 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$) der Biomassekonzentration, welche im Prozess mit konstanter Bestrahlung ($14,48 \pm 0,85 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$) ermittelt wurde, gemessen werden.

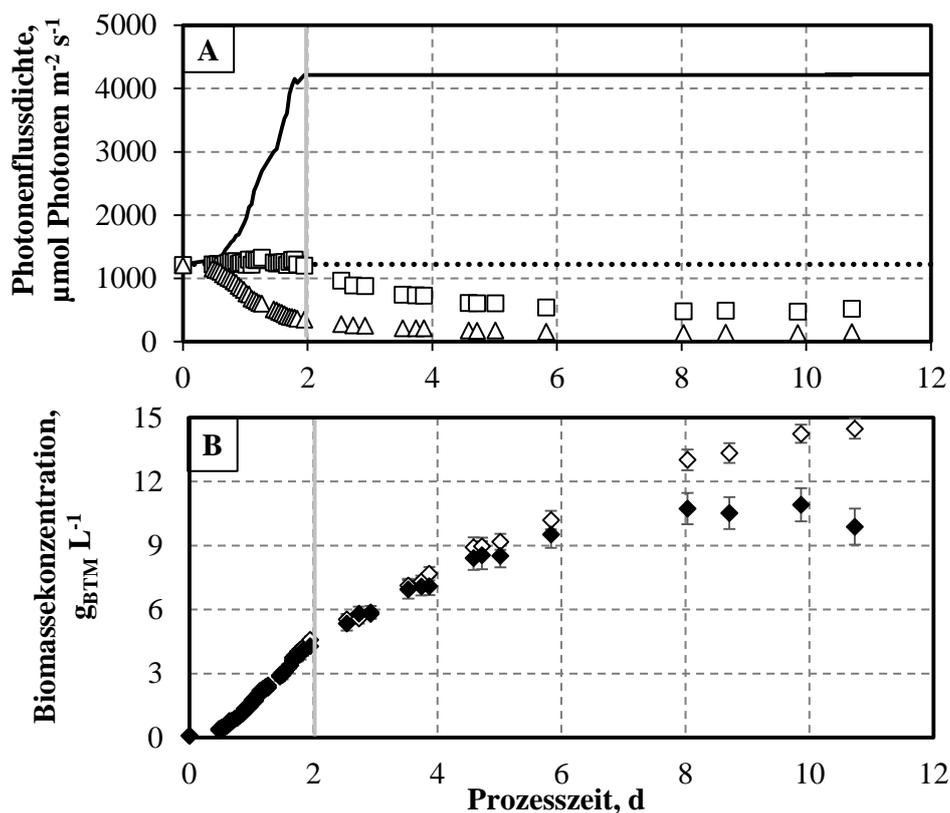


Abbildung 6-11: Wachstum von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 im Flachplattenphotobioreaktor für zwei verschiedene Verläufe der Eingangsphotonflussdichte (30°C, pH 8).

A: Die Bestrahlung erfolgte zum einen mit konstanter Eingangsphotonflussdichte ($1220 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$, \cdots) sowie mit einem Lichtprofil (Schuster: —). Die aus den experimentellen Daten berechneten mittleren integralen Photonflussdichten (\square Lichtprofil; \triangle konstante Eingangsphotonflussdichte) zeigten, dass die zuvor abgeschätzte mittlere integrale Photonflussdichte $1220 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (\cdots) durch die Anwendung des Lichtprofils während des Prozesses konstant gehalten werden konnte bis die gerätespezifische maximale Photonflussdichte erreicht war (—).

B: Biomassekonzentrationsverlauf des Lichtprofilprozesses (\blacklozenge) sowie des Prozesses bei konstanter Eingangsphotonflussdichte (\diamond).

Da die Zellzusammensetzung während eines phototrophen Kultivierungsprozesses einen Hinweis auf mögliche lichtinduzierte Effekte geben kann, wurde neben der Biomassekonzentration die Pigmentzusammensetzung der entnommenen Proben analysiert. Die genaue Vorgehensweise ist in Kapitel 4.4.6 beschrieben.

Wie in Abbildung 6-12 ersichtlich ist, konnte nach Beendigung des Lichtprofilprozesses in der geernteten Biomasse eine Akkumulation von über 15 % Karotinoiden nachgewiesen werden. Die Biomasse, welche mit dem Prozess bei konstanter Photonenflussdichte gewonnen wurde, enthielt dagegen keine Karotinoide.

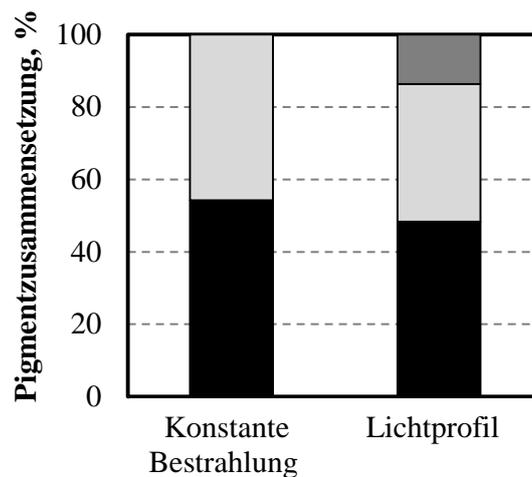


Abbildung 6-12: Pigmentzusammensetzung von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 am Prozessende für einen Satzprozesses im Flachplattenphotobioreaktor mit konstanter Photonenflussdichte beziehungsweise Lichtprofil (Abbildung 6-11): (■) Chlorophyll a; (▒) Chlorophyll b; (■) Karotinoide.

6.2.4 Diskussion und Vergleich mit *Scenedesmus obtusiusculus*

Durch die Untersuchung der Reaktionskinetik des lichtabhängigen Wachstums von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 im Flachplattenphotobioreaktor war es möglich neben einer optimalen mittleren integralen Photonenflussdichte sowie einer optimalen Wachstumsrate die kinetischen Parameter für diese Mikroalgenspezies zu identifizieren. Mit einer Inhibierungskonstante von $K_I = 2744 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ wurde das Wachstum von *S. ovalternus* SAG 52.80 bei deutlich niedrigeren mittleren integralen Photonenflussdichten beeinträchtigt als das Wachstum von *S. obtusiusculus* ($K_I = 5640 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Somit zeigt *S. ovalternus* SAG 52.80 eine höhere Lichtempfindlichkeit im Vergleich zum Neuisolat.

Mit Hilfe der kinetischen Parameter konnte ein Lichtprofil für *S. ovalternus* SAG 52.80 entwickelt werden, wodurch die optimale Photonenflussdichte während eines Satzprozesses im Flachplattenphotobioreaktor konstant gehalten werden konnte. Dies zeigten die zu jedem Zeitpunkt der Probennahme aus den experimentellen Daten abgeschätzten mittleren integralen Photonenflussdichten, welche dem zuvor abgeschätzten I_{opt}^{**} entsprachen. Die aus den experimentellen Daten berechneten mittleren integralen Photonenflussdichten stimmten mit dem

theoretisch berechneten Optimum ($1220 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$) bis zum Erreichen der gerätespezifischen maximalen Photonenflussdichte überein. Somit ist davon auszugehen, dass das zugrunde liegenden Lichtabschwächungsmodell nach Schuster und der kinetische Modellansatz von Andrews für die Beschreibung der lichtabhängigen Reaktionskinetik von *S. ovalternus* SAG 52.80 geeignet sind.

Ähnlich wie bei *S. obtusiusculus* zeigte ein Vergleich zweier Satzprozesse mit Lichtprofil beziehungsweise konstanter Eingangsphotonenflussdichte, dass die Biomassekonzentration am Ende des Prozesses durch Anwendung des Lichtprofils nicht gesteigert werden konnte. Während bei *S. obtusiusculus* eine Beschleunigung des Biomasseproduktionsprozess mit dem Lichtprofil möglich war, wurde für *S. ovalternus* SAG 52.80 im Lichtprofilprozess nach Erreichen des gerätespezifischen Maximums der Photonenflussdichte stets eine geringere Biomassekonzentration nachgewiesen als im Prozess mit konstanter Eingangsphotonenflussdichte. Dies könnte auf eine für *S. ovalternus* SAG 52.80 beobachtete, im Vergleich zu *S. obtusiusculus* deutlicher ausgeprägte Abhängigkeit des Wachstums von der Eingangsphotonenflussdichte zurückzuführen sein. Das Wachstum von *S. obtusiusculus* war erst ab extremen Eingangsphotonenflussdichten über $3000 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ beeinträchtigt (Kapitel 5.1.3 und 5.2.3). Für *S. ovalternus* SAG 52.80 konnte dagegen schon ab Photonenflussdichten von etwa $1400 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ein Rückgang der Wachstumsraten nachgewiesen werden. Entsprechend wurde für *S. ovalternus* eine niedrigere optimale mittlere integrale Photonenflussdichte berechnet ($1220 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$) als für *S. obtusiusculus* ($1590 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Mögliche Akklimationsprozesse könnten von *S. ovalternus* Zellen daher früher aktiviert worden sein als von *S. obtusiusculus*. Darüber hinaus wurde die gerätespezifische maximale Photonenflussdichte im Prozess mit *S. ovalternus* SAG 52.80 aufgrund höherer Biomassekonzentrationen im Reaktor bereits nach zwei Prozesstagen erreicht, während das Lichtprofil im Prozess mit *S. obtusiusculus* vier Tage dauerte. *S. ovalternus* SAG 52.80 war folglich einer schnelleren Änderung der Lichtverhältnisse im Reaktor ausgesetzt als *S. obtusiusculus*. Zum Schutz vor rasch ansteigenden hohen Eingangsphotonenflussdichten musste der Zellmetabolismus daher entsprechend schneller angepasst werden. Dies könnte zu einer früheren Unterdrückung von biochemischen Stoffwechselwegen zur Aufrechterhaltung des Zellwachstums geführt haben, um die Energie für die Herstellung von schützenden Pigmentmolekülen zu nutzen. Diese Hypothese wird durch das Ergebnis der Pigmentanalyse gestützt. Am Ende des Prozesses konnte ein Karotinoidanteil von über 15 % der Hauptpigmente (Chlorophyll a und b sowie Karotinoide) nachgewiesen werden.

7 Maßstabsvergrößerung in den Pilotmaßstab

Nachdem sowohl *Scenedesmus obtusiusculus* als auch *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 im Labormaßstab reaktionstechnisch analysiert wurden, sollten ausgewählte Satzprozesse in den halbtechnischen Maßstab übertragen werden. In den folgenden Abschnitten werden die Kriterien der Prozessskalierung beschrieben und die Maßstabsübertragung für beide *Scenedesmus* spec. näher charakterisiert.

Die Maßstabsvergrößerung erfolgte ausgehend von den verwendeten Flachplattenphotobioreaktoren im Labormaßstab ($V = 1,8 \text{ L}$) mit einer photosynthetisch aktiven Fläche von $0,09 \text{ m}^2$ in den Flachplattenphotobioreaktor im 300 L-Maßstab mit einer photosynthetisch aktiven Fläche von 14 m^2 . Folgende Ähnlichkeiten zeichneten die beiden eingesetzten Flachplattenphotobioreaktoren aus:

- Die Reaktionsräume beider Bioreaktoren wurden von je zwei Glasplatten im Abstand von 2 cm beziehungsweise 2,2 cm im Pilotmaßstab begrenzt.
- Geometrische Ähnlichkeit war gegeben:

$$\frac{D_{P,Modul}}{D_L} = \left(\frac{V_{P,Modul}}{V_L} \right)^{1/3} \approx 2,3$$

Mit	$D_{P, Modul}$	Breite eines Reaktormoduls im Pilotmaßstab (57 cm)
	D_L	Breite der Kultivierungskammer im Labormaßstab (25,5 cm)
	$V_{P, Modul}$	Maximalvolumen eines Reaktormoduls im Pilotmaßstab (30 L)
	V_L	Maximalvolumen des Laborreaktors (2 L)

- Das Oberflächen-Volumen-Verhältnis war identisch:

$$\frac{S_P}{V_P} = \frac{S_L}{V_L} \approx 0.05$$

Mit	S_P	Photosynthetisch aktive Oberfläche der Pilot-Anlage (14 m^2)
	S_L	Photosynthetisch aktive Oberfläche des Laborreaktors ($0,09 \text{ m}^2$)
	V_P	Maximalvolumen der gesamten Pilot-Anlage (300 L)

- Die Durchmischung der Reaktionsräume in den Reaktoren erfolgte durch Begasung über den Boden der Kultivierungskammer (Blasensäule mit Umlauf, *Gas-lift*-Reaktor).
- Strömungsleitbleche sorgten für den blasenfreien Umlauf.
- Die Prozessführung erfolgte jeweils im Satzverfahren.
- Bei beiden Reaktoren war eine Regelung der Temperatur und des pH durch CO_2 -Einspeisung möglich.
- Ein LED-Beleuchtungssystem diente jeweils als künstliche Lichtquelle.

Eine genaue Beschreibung der Reaktoren ist in den Kapiteln 4.3.2 und 4.3.4 gegeben.

7.1 *Scenedesmus obtusiusculus*

Für die Maßstabsvergrößerung des Neuisolats im Flachplattenphotobioreaktor wurde ein im Labormaßstab ausgearbeitetes Satzverfahren für *Scenedesmus obtusiusculus* mit folgenden Reaktionsbedingungen ausgewählt: 30 °C, pH 7,5 und eine Eingangsphotonenflussdichte I_0 von 1400 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (siehe Kapitel 5.1). Die Vorkulturherstellung erfolgte in 200 mL-Blasensäulenreaktoren sowie in einem 1,8 L-Flachplattenphotobioreaktor (Kapitel 4.3.1 und 4.3.2). Da in Vorversuchen festgestellt wurde, dass eine Menge von etwa 4 L nicht ausreichend ist, um ein Volumen von 300 L (Pilotanlage) zu inokulieren, wurde die Vorkulturherstellung angepasst. Es wurde daher ein weiterer Vorkulturschritt in einem am Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik entwickelten offenen Bioreaktorsystem (80 L) eingefügt (Kapitel 4.3.3). Die Ernte des Hauptinokulums erfolgte in der exponentiellen Wachstumsphase. Der Reaktorinhalt wurde anschließend direkt für die Inokulation des Flachplattenphotobioreaktors im Pilotmaßstab (300 L) eingesetzt.

7.1.1 Untersuchungen zur Skalierbarkeit eines Laborprozesses (0,09 m²) in den Pilotmaßstab (14 m²)

Die Untersuchung der Skalierbarkeit eines Laborprozesses in den Pilotmaßstab erfolgte anhand eines Vergleichs zweier Prozesse, welche unter ähnlichen Bedingungen sowohl im 1,8 L-Maßstab als auch im 300 L-Maßstab durchgeführt wurden. Die im Labor- (siehe Abbildung 5-5) und im Pilot-Flachplattenphotobioreaktor gemessenen Wachstumskurven sind in Abbildung 7-1 vergleichend dargestellt.

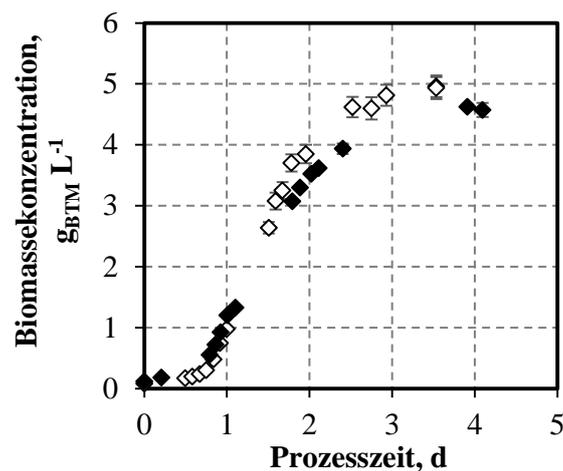


Abbildung 7-1: Vergleich des Biomassekonzentrationsverlaufs von *Scenedesmus obtusiusculus* im Pilot-Flachplattenphotobioreaktor (◆) mit dem Biomassezuwachs im Flachplattenphotobioreaktor im Labormaßstab (◇) bis zum Einsetzen einer Nährstofflimitierung. Beide Prozesse wurden mit einer Bestrahlungsstärke von 1400 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ bei 30 °C und pH 7,5 durchgeführt.

Das Mikroalgenwachstum war in beiden Maßstäben sehr ähnlich. Die Biomassekonzentrationen waren zu Prozessbeginn nahezu deckungsgleich. Erst gegen Ende des Prozesses konnten

Abweichungen im Biomassekonzentrationsverlauf festgestellt werden. Gleichzeitig wurde im Kopfraum einiger Reaktormodule des Flachplattenphotobioreaktors im Pilotmaßstab eine Schaumbildung und dadurch bedingt eine Ablagerung von Algenzellen an den Glasscheiben oberhalb der Flüssigphase beobachtet (siehe Abbildung 7-2).

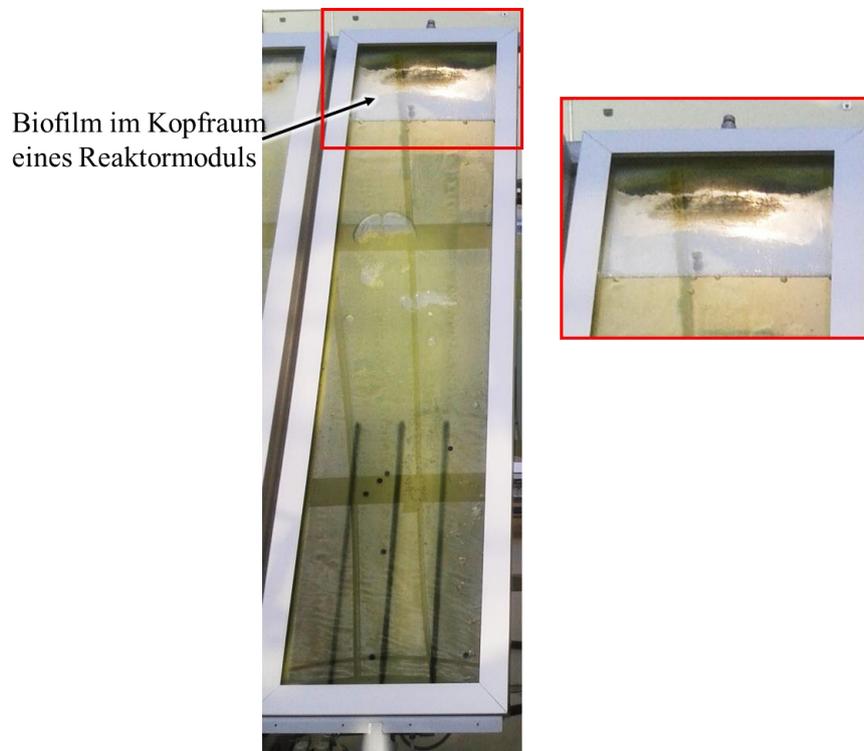


Abbildung 7-2: Biofilmbildung im Kopfraum eines Reaktormoduls des Pilot-Flachplattenphotobioreaktors. Während des Satzprozesses im Flachplattenphotobioreaktor im Pilotmaßstab (300 L) bei 30 °C, pH 7,5 und einer Eingangsphotonenflussdichte I_0 von $1400 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ wurde zunächst eine Schaumbildung beobachtet, woraus sich ein Biofilm im Kopfraum der Reaktormodule entwickelte.

Abbildung 7-3 zeigt vergleichend die jeweiligen spezifischen Wachstumsraten in der exponentiellen Phase, die finalen Biomassekonzentrationen und Raum-Zeit-Ausbeuten an Tag vier. Die spezifische Wachstumsrate in der exponentiellen Phase im Pilotprozess betrug mit $0,17 \text{ h}^{-1}$ etwa 80 % der Wachstumsrate, welche für den Laborprozess im Bereich des exponentiellen Wachstums ermittelt werden konnte ($0,22 \text{ h}^{-1}$, siehe Kapitel 5.1). Die Raum-Zeit-Ausbeute im Laborprozess war mit $1,37 \pm 0,05 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ um 20 % höher als die Raum-Zeit-Ausbeute im Pilotmaßstab ($1,12 \pm 0,03 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$). Vergleichbare Daten ergaben sich bei den nachgewiesenen Zelldichten, welche maximal $4,95 \pm 0,16 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ im Labormaßstab beziehungsweise $4,61 \pm 0,07 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ im Pilotmaßstab betragen. Auch die flächenbezogene Produktivität war mit $28 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (Labormaßstab) und $25 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (Pilotmaßstab) für beide Maßstäbe ähnlich (Abweichung < 10 %).

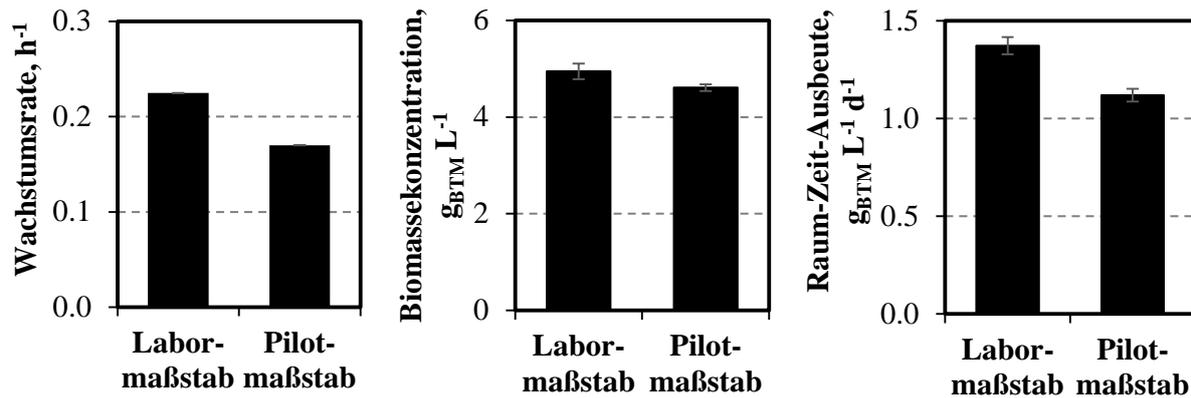


Abbildung 7-3: Vergleich der Wachstumsraten in der exponentiellen Phase, der finalen Biomassekonzentrationen sowie der Raum-Zeit-Ausbeuten an Tag vier von *Scenedesmus obtusiusculus*, kultiviert im Pilotmaßstab beziehungsweise im Labormaßstab bei 30 °C und pH 7,5 mit einer Bestrahlungsstärke von 1400 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Abbildung 7-1).

Diskussion

Der bei der Maßstabsvergrößerung mit *Scenedesmus obtusiusculus* beobachtete Unterschied im Biomassekonzentrationsverlauf kann verschiedene Ursachen haben, die im Folgenden diskutiert werden.

Die Flachplattenphotobioreaktoren im Labor- (1,8 L) beziehungsweise Pilotmaßstab (300 L) weisen neben den zuvor erwähnten Gemeinsamkeiten auch bau- und prozessführungstechnische Abweichungen auf. Eine detaillierte Beschreibung des jeweiligen Aufbaus und der jeweiligen Betriebsweise ist in den Kapiteln 4.3.2 und 4.3.4 zu finden. Jedes Modul des Flachplattenphotobioreaktors im Pilotmaßstab wurde zwar ebenso wie das einzelne Modul im Labormaßstab als Blasensäulenreaktor mit integriertem Umlauf betrieben, der Gaseintrag erfolgte allerdings nicht kontinuierlich wie im Labormaßstab, sondern periodisch. Darüber hinaus bestand der Flachplattenphotobioreaktor im Pilotmaßstab nicht aus einem einzigen Kultivierungsgefäß wie der Laborreaktor, sondern aus insgesamt zehn Reaktormodulen, welche in zwei Linien in Reihe mit jeweils fünf parallel geführten Modulen betrieben wurden. Daher war ein zusätzlicher Leistungseintrag durch Kreiselpumpen zur Kreislaufführung der Algensuspension durch die Reaktormodule sowie die Prozesseinheit notwendig.

Des Weiteren wurde der CO_2 -Gehalt im kontinuierlichen CO_2 -Luft-Zustrom im Flachplattenphotobioreaktor im Labormaßstab alle 20 Sekunden zur Regelung des pH angepasst. Im halbtechnischen Maßstab wurde der pH dagegen nicht direkt in den Reaktormodulen kontrolliert und geregelt (der Gaseintrag im Blasensäulenverfahren erfolgte mit Luft), sondern ausschließlich in der separaten Prozesseinheit (Kapitel 4.3.4). Diese wurde, wie der gesamte Pilot-Flachplattenphotobioreaktor, mit einem Volumenstrom von 20 L min^{-1} (Kreislaufführung) durchströmt. Unter der Annahme eines idealen Strömungsrohrs mit Pfropfenströmung würde die mittlere hydraulische Verweilzeit einer Algenzelle im Pilot-Flachplattenphotobioreaktor dabei theoretisch 15 Minuten für das Maximalvolumen von 300 L betragen. In diesem Zeitraum erfolgte

in den Reaktormodulen also keine Regelung des pH (CO₂-Eintrag). Den Algenzellen stand damit nur in der Prozesseinheit ausreichend CO₂ zur Verfügung. Bei der weiteren Durchströmung der Reaktormodule wurde CO₂ nach und nach verbraucht, was eine Ausbildung eines pH-, und CO₂-Gradienten und damit verschiedene Wachstumszonen in der gesamten Reaktoranlage zur Folge gehabt haben könnte.

Analog dazu wurde die Temperatur während der Prozesse im Flachplattenphotobioreaktor im Pilotmaßstab ebenfalls nur in der Prozesseinheit über einen Wärmetauscher geregelt. Im Labormaßstab erfolgte eine Temperaturregelung dagegen kontinuierlich durch Wärmeaustausch über eine Kühlkammer auf der Reaktorrückseite. Da zusätzlich zur Sollwertvorgabe von 30 °C an der Steuereinheit des Pilot-Flachplattenphotobioreaktors eine Hallentemperatur von 25 – 28 °C vorlag, ist eine Ausbildung von verschiedenen Temperaturzonen innerhalb der Pilot-Anlage allerdings unwahrscheinlich. Zudem wurde jedes Reaktormodul mit Luft begast, welche ebenfalls Raumtemperatur betrug. Zusätzlich wurde Wärme über Lichteinstrahlung durch die LED-Segmente auf der Rückseite jedes Reaktormoduls eingetragen.

Neben den abweichenden Betriebsweisen und Aufbauten der Flachplattenphotobioreaktoren im Pilot- beziehungsweise Labormaßstab könnten weitere Unterschiede im Kultivierungsprozess Ursache für die beobachteten Abweichungen der Biomassekonzentrationsverläufe im Labor- beziehungsweise Pilotmaßstab sein. Die Vorkulturherstellung für den Pilotprozess erfolgte in einem offenen Photobioreaktorsystem, während das Inokulum für den Laborprozess aseptisch hergestellt wurde. Mit Hilfe von Mikroskop-Aufnahmen konnte im Prozess im Pilotmaßstab eine unbekannte mikrobielle Kontamination festgestellt werden (Abb. A-6 im Anhang A.6). Die Kontaminanten lagen dabei nur vereinzelt vor, so dass *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 als der dominierende Organismus in der Kultur angesehen werden konnte. Eine Beeinflussung des Mikroalgenwachstums durch die bakterielle Kontamination konnte dennoch nicht ausgeschlossen werden.

Ein weiterer Unterschied zwischen dem Prozess im Labor- und Pilotmaßstab lag darin, dass Probenahmen im Labor stets mit BG-11 Medium ausgeglichen wurden. Da Flüssigkeitsverluste im Pilotmaßstab automatisiert mit Trinkwasser aufgefüllt wurden, könnten abweichende Nährstoffkonzentrationen im Medium vorgelegen haben.

Des Weiteren wurden für die beiden Maßstäbe unterschiedliche LED-Beleuchtungssysteme verwendet. Die LED-Bestrahlungseinheit des Laborreaktors bestand aus nur einer Leuchtdiodenart (warm-weiß) und versorgte die gesamte Reaktorfläche (0,09 m²) homogen mit Licht (Kapitel 4.3.2, Abbildung 4-5). Für den Flachplattenphotobioreaktor im Pilotmaßstab wurde dagegen ein neuartiges LED-Beleuchtungssystem aus insgesamt acht verschiedenartigen Leuchtdioden (blau, grün, rot, weiß) eingesetzt, welches das Tageslichtspektrum möglichst realitätsnah abbilden sollte und mittig hinter einem Reaktormodul angebracht war. Die spektrale Energieverteilung des

Beleuchtungssystem im Pilotmaßstab unterschied sich daher vom Lichtspektrum der im Labormaßstab vorhandenen Bestrahlungseinheit und könnte das Wachstum von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 beeinflusst haben.

Drüber hinaus könnten Unterschiede im Biomassekonzentrationsverlauf auf die beobachtete Biofilmbildung zurückzuführen sein. Durch die Ablagerung der Zellen im Kopfraum der Reaktormodule konnte die dort immobilisierte Biomasse bei der Messung der Zelldichte in der Suspension nicht erfasst werden. Bei den Satzprozessen im Labormaßstab wurde dagegen keine Biofilmbildung beobachtet.

7.1.2 Zulaufverfahren im Pilotmaßstab (14 m²)

Das Zulaufverfahren im Pilotmaßstab (300 L) wurde bei den in dieser Arbeit für *S. obtusiusculus* experimentell identifizierten optimalen Bedingungen durchgeführt (Kapitel 5.1: 30 °C, pH 7,5 und 1400 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Die Kultivierung erfolgte wiederum in einem vierstufigen Prozess, wobei die einzelnen Prozessstufen in den Kapiteln 4.3.1 bis 4.3.4 ausführlich beschrieben sind. Nach Einsetzen einer Nährstofflimitierung im Satzverfahren (siehe Abbildung 7-1) wurden bei Bedarf, wie in Kapitel 4.4.1 beschrieben, manuell Nährstoffe für 300 L Medium (BG-11 Medium) hinzugefügt und der Prozess bis zur Stagnation der Biomassekonzentration fortgeführt. Die während des Prozesses aufgezeichnete Wachstumskurve ist in Abbildung 7-4 dargestellt. Der Bereich ohne zusätzliche Nährstoffzugabe ist grau hinterlegt.

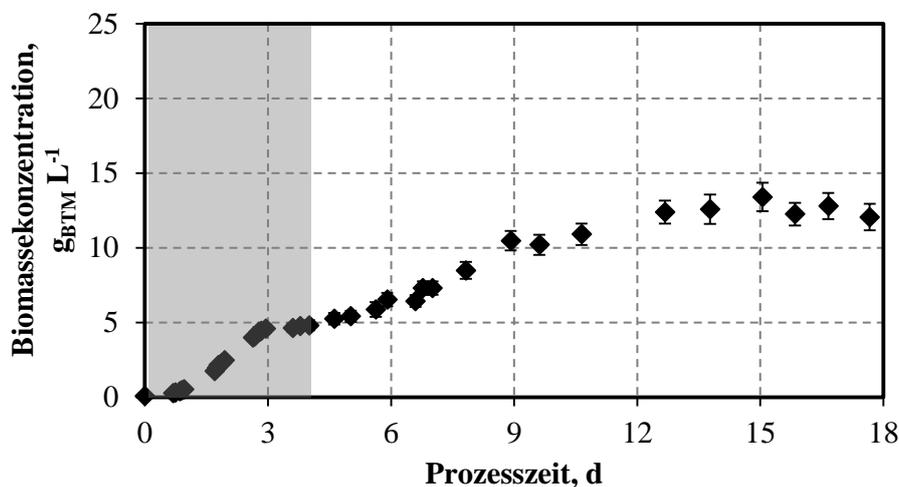


Abbildung 7-4: Wachstum von *Scenedesmus obtusiusculus* im Flachplattenphotobioreaktor im Pilotmaßstab bei einer Eingangspotonenflussdichte I_0 von 1400 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$, pH 7,5 und 30 °C. Bis zu Tag vier (schattierter Bereich) erfolgte keine Nährstoffzugabe. Anschließend wurden bei Bedarf Nährstoffe (BG-11 Medium) für 300 L Medium manuell zugegeben.

Die höchste Biomassekonzentration mit $13,4 \pm 0,9 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ wurde nach fünfzehn Tagen erreicht.

Eine Analyse der Pigmentzusammensetzung der Biotrockenmasse von *S. obtusiusculus* ergab keine Auffälligkeiten, wie in Abbildung 7-5 ersichtlich ist.

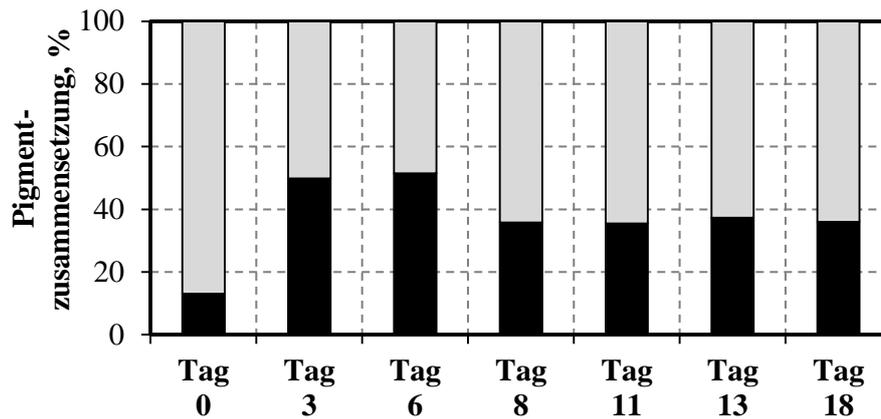


Abbildung 7-5: Veränderung der Pigmentzusammensetzung von *S. obtusiusculus* während eines Prozesses im Photobioreaktor im Pilotmaßstab bei $1400 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$, pH 7,5 und $30 \text{ }^\circ\text{C}$ (Abbildung 7-4): (■) Chlorophyll a; (■) Chlorophyll b; (■) Karotinoide.

Aufgrund einer unterschiedlichen Photonenflussdichte, mit der die Vorkultur und Hauptkultur beleuchtet wurde, sowie wegen diversen Adaptionsvorgängen, die zu einer Änderung des Stoffwechsels der Mikroalgenzellen führen können, stieg der Chlorophyll a-Anteil nach Inokulation vermutlich von 13 % auf 50 % an. Die Überführung der Algenzellen aus dem offenen Photobioreaktor in den geschlossenen Pilot-Flachplattenphotobioreaktor, in dem frisches BG-11 Medium vorlag, bewirkte möglicherweise eine Adaption der Zellzusammensetzung (Tredici 2004). Im weiteren Prozessverlauf stabilisierte sich der Anteil vermutlich im Zuge weiterer Akklimationsprozesse bei etwa 36 % Chlorophyll a. Karotinoide konnten zu keinem Prozesszeitpunkt nachgewiesen werden.

Diskussion

Die im Pilotmaßstab erreichte Biomassekonzentration entspricht unter Berücksichtigung der Standardabweichung in etwa der Biomassekonzentration eines vergleichbaren Prozess im Labormaßstab ($15,5 \pm 1,5 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$, Kapitel 5.2.5). Insgesamt wurden im Flachplattenphotobioreaktor im Pilotmaßstab damit 4 kg Biotrockenmasse innerhalb von 15 Tagen produziert. Das entspricht einer Produktivität von $270 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ d}^{-1}$. Bezogen auf die photosynthetisch aktive Fläche des Reaktors wurden $19 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ beziehungsweise $0,9 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ erreicht. Die beobachtete Stagnation des Wachstums nach fünfzehn Tagen kann vermutlich auf eine Lichtlimitierung zurückgeführt werden. Im vergleichbaren Laborprozess, bei dem die Reaktorschichtdicke ebenfalls 2 cm betrug, wurde eine Stagnation der Biomassekonzentration bei einer ähnlichen Zelldichte zu einem ähnlichen Prozesszeitpunkt beobachtet und es konnte kein Licht mehr auf der Reaktorrückseite gemessen werden (Kapitel 5.2.5).

7.2 *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80

Aus technischen Gründen war es im Pilotmaßstab nicht möglich eine Photonenflussdichte von mehr als $750 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ zu realisieren. Die Übertragbarkeit des Laborprozesses in den Pilotmaßstab wurde daher nicht mit den in dieser Arbeit für *S. ovalternus* SAG 52.80 experimentell identifizierten optimalen Reaktionsbedingungen ($30 \text{ }^\circ\text{C}$, pH 8, $1290 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$) durchgeführt, sondern bei einer niedrigeren Photonenflussdichte von $750 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $30 \text{ }^\circ\text{C}$ und pH 8. Die Vorkulturherstellung für die Kultivierung im Pilotmaßstab erfolgte wie zuvor beschrieben (Kapitel 7.1).

7.2.1 Untersuchung der Skalierbarkeit eines Laborprozesses ($0,09 \text{ m}^2$) in den Pilotmaßstab (14 m^2)

Die im Labor- (siehe Abbildung 6-5) und im Pilot-Flachplattenphotobioreaktor gemessenen Wachstumskurven sind in Abbildung 7-6 vergleichend dargestellt.

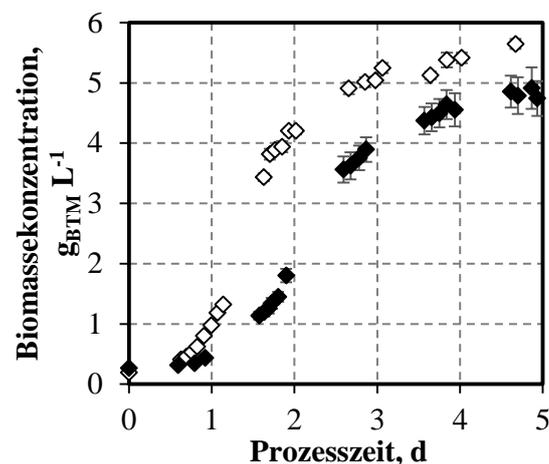


Abbildung 7-6: Vergleich des Biomassekonzentrationsverlaufs von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 im Pilotphotobioreaktor (◆) mit dem Biomassezuwachs im Flachplattenphotobioreaktor im Labormaßstab (◇) im Satzverfahren bis zum Einsetzen einer Nährstofflimitierung. Beide Prozesse wurden mit einer Bestrahlungsstärke von $750 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ bei $30 \text{ }^\circ\text{C}$ und pH 8 durchgeführt.

Hier wird ersichtlich, dass unterschiedliche Wachstumskurven beobachtet wurden. Das exponentielle Wachstum setzte im Pilotprozess deutlich später ein als im Laborprozess. Auch die Wachstumsraten in der exponentiellen Phase, die maximalen Biomassekonzentrationen sowie Raum-Zeit-Ausbeuten unterschieden sich, wie Abbildung 7-7 verdeutlicht.

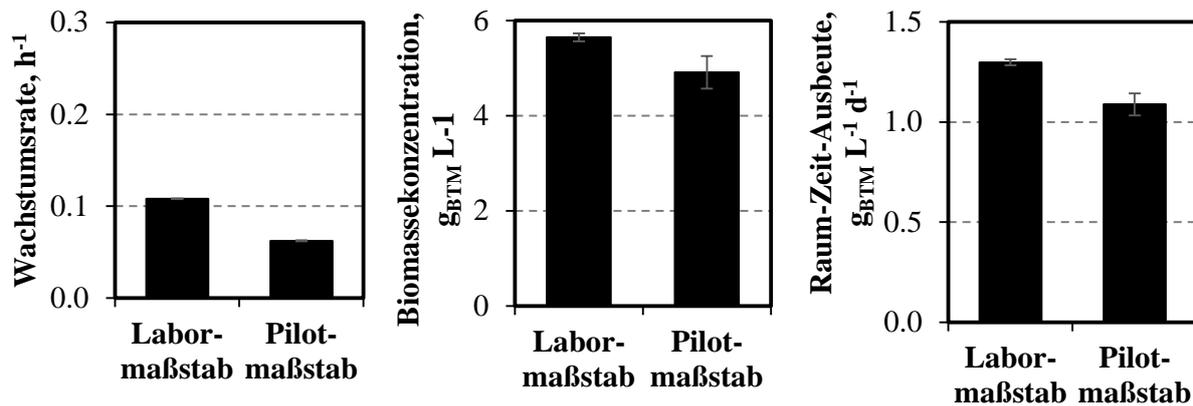


Abbildung 7-7: Vergleich der Wachstumsraten in der exponentiellen Phase, der finalen Biomassekonzentrationen nach viereinhalb Tagen sowie der Raum-Zeit-Ausbeuten an Tag vier von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80, kultiviert im Flachplattenphotobioreaktor im Pilotmaßstab beziehungsweise im Labormaßstab bei 30 °C und pH 8 mit einer Bestrahlungsstärke von 750 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Abbildung 7-6).

Scenedesmus ovalternus SAG 52.80 wuchs in der Pilotanlage ($0,06 \text{ h}^{-1}$) in der exponentiellen Phase nur etwa halb so schnell im Vergleich zum Laborreaktor ($0,11 \text{ h}^{-1}$). Nach viereinhalb Tagen wurde eine Biomassekonzentration von $4,86 \pm 0,26 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ im Pilotmaßstab erreicht. Im Laborreaktor betrug die Konzentration zum gleichen Zeitpunkt $5,65 \pm 0,08 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$. Entsprechend war die Raum-Zeit-Ausbeute beim Pilotversuch um 11 % geringer als die Raum-Zeit-Ausbeute nach vier Tagen, welche im Laborreaktor beobachtet werden konnte ($1,10 \pm 0,01 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$). Die flächenbezogene Produktivität war dagegen mit $24,2 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (Labormaßstab) und $22,6 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (Pilotmaßstab) sehr ähnlich (Abweichung < 10 %).

Zu Beginn des Satzprozesses im Flachplattenphotobioreaktor im Pilotmaßstab (300 L) konnte im Kopfraum aller Reaktormodule eine Schaumbildung an der Flüssigkeitsoberfläche beobachtet werden. Damit einhergehend lagerten sich zunehmende Zellen an den Glaswänden oberhalb der Algensuspension ab. Durch Zugabe von Antischaum konnte eine weitere Schaumbildung unterbunden werden. Im weiteren Prozessverlauf breitete sich der Biofilm dennoch in mehreren Reaktormodulen auch im Bereich der Flüssigphase an den Innenflächen beider Glasscheiben aus. In vier der insgesamt zehn Reaktormodule wurde eine sehr starke Biofilmbildung beobachtet, wie Abbildung 7-8 verdeutlicht.

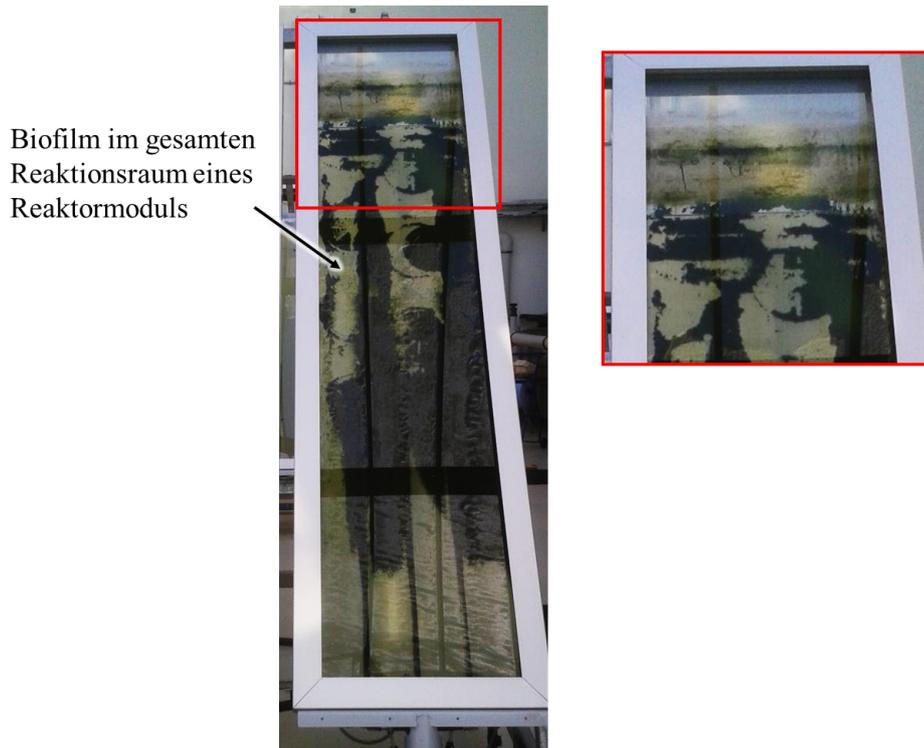


Abbildung 7-8: Zellablagerung an beiden Glasscheiben im gesamten Reaktionsraum eines Reaktormoduls des Pilot-Flachplattenphotobioreaktors im Pilotmaßstab (300 L) nach dem ersten Spülvorgang mit Wasser nach Abbruch des Satzprozesses bei 30 °C, pH 8 und einer Eingangspotonenflussdichte I_0 von 750 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Diskussion

Der Vergleich eines Prozesses im 1,8 L-Maßstab mit dem Prozess im 300 L-Maßstab unter ähnlichen Bedingungen zeigte, dass eine Prozessübertragung in den Pilotmaßstab nur begrenzt möglich war. Es konnte zwar für beide Maßstäbe eine ähnliche flächenbezogene Biomasseproduktivität ermittelt werden, das Mikroalgenwachstum war im Pilotmaßstab allerdings deutlich beeinträchtigt im Vergleich zum Labormaßstab. Neben den in Kapitel 7.1.1 beschriebenen Ursachen könnten Unterschiede im Biomassekonzentrationsverlauf durch den verschiedenartigen Probenahmeausgleich (BG-11 im Labormaßstab, Trinkwasser im Pilotmaßstab) und somit durch ein unterschiedliches Nährstoffangebot verursacht worden sein. Darüber hinaus konnte eine Beeinflussung durch Kontaminanten nicht ausgeschlossen werden (siehe Abb. A-6, Anhang A.6). Die Hauptursache für die im Pilot- beziehungsweise Labormaßstab beobachteten Unterschiede im Biomassezuwachs liegt allerdings höchstwahrscheinlich in der stark ausgeprägten Biofilmbildung. Trotz der im Reaktionsraum vorhandenen Ikosaeder, die eine Reinigung der Glasflächen während der Prozesse ermöglichen sollten, konnte eine Biofilmbildung beobachtet werden. Dadurch lag vermutlich sehr viel Biomasse immobilisiert auf den Innenseiten der Reaktorscheiben vor. Diese Biomasse wurde bei der Messung der Zelldichte in Suspension nicht erfasst, wodurch die unterschiedlichen Biomassekonzentrationen im Labor- und Pilotmaßstab erklärbar sein könnten.

7.2.2 Zulaufverfahren im Pilotmaßstab (14 m²)

Nach Eintreten in die stationäre Wachstumsphase (siehe Abbildung 7-6) wurden Nährstoffe bei Bedarf, wie in Kapitel 4.4.1 beschrieben, manuell hinzugegeben, um im weiteren Prozess eine Nährstofflimitierung ausschließen zu können. Der durch diese Prozessführung erreichte Biomassekonzentrationsverlauf ist in Abbildung 7-9 dargestellt. Der grau schattierte Bereich entspricht dem Wachstumsbereich, in dem keine Nährstoffzugabe erfolgte. Eine Zugabe aller Medienbestandteile des BG-11 Mediums für 300 L Medium (siehe Tab. A-5 im Anhang) ist durch eine durchgezogene schwarze Linie gekennzeichnet. Die gestrichelte schwarze Linie zeigt den Zeitpunkt der Zufuhr der beiden Medienbestandteile Phosphat und Nitrat für 300 L Medium (siehe NaNO₃ und K₂HPO₄ in Tab. A-5 im Anhang) an.

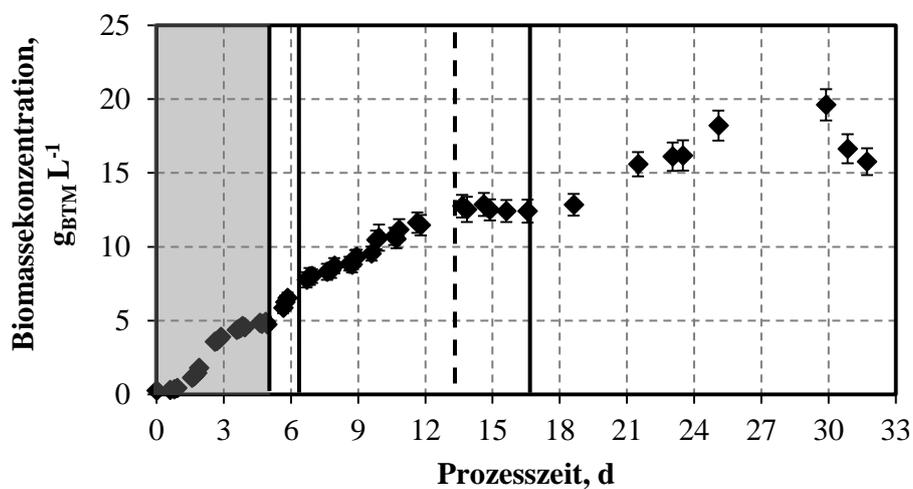


Abbildung 7-9: Wachstum von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 im Flachplattenphotobioreaktor im Pilotmaßstab bei 750 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$, pH 8 und 30 °C. Bis zu Tag fünf (schattierter Bereich) erfolgte keine Nährstoffzugabe. Anschließend wurden bei Bedarf alle Nährstoffe des BG-11 Mediums (—) beziehungsweise ausschließlich die Medienbestandteile Nitrat und Phosphat (- - -) für 300 L Medium manuell zugegeben.

Durch die Bereitstellung ausreichender Mengen an Nährstoffen (durchgezogene Linie), konnte das Wachstum von *S. ovalternus* SAG 52.80 nach Erreichen der nährstofflimitierten Phase (Tag 5,5) fortgeführt werden. Eine alleinige Zugabe von Nitrat und Phosphat an Tag 13 führte zu keinem weiteren Anstieg der Biomassekonzentration im Reaktor. Erst nachdem weitere BG-11-Bestandteile zugegeben worden waren, konnte erneutes Mikroalgenwachstum nachgewiesen werden. Nach einer Prozesszeit von 30 Tagen wurde mit $19,6 \pm 1,1 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ die höchste Biomassekonzentration im Flachplattenphotobioreaktor im Pilotmaßstab bestimmt. Am darauffolgenden Tag konnte ein signifikanter Rückgang der Biomassekonzentration festgestellt werden. Aufgrund einer Unterbrechung der CO₂-Versorgung (Tag 31) konnte der Mikroalgenkultur nicht mehr ausreichend Substrat zur Verfügung gestellt werden. Dadurch fehlte den Algenzellen zum einen essentielles Kohlenstoffdioxid und zum anderen war es nicht mehr möglich, den pH auf den gewünschten Sollwert pH 8 zu regeln. Aufgrund des Substratmangels sowie des Anstiegs des

pH auf über 10 (gemessen in der Prozesseinheit), wurde ein Absterben der Mikroalgenzellen verzeichnet.

Neben der Biomassekonzentration wurde die Pigmentzusammensetzung während des Prozesses analysiert. Das Ergebnis ist in Abbildung 7-10 zusammengefasst.

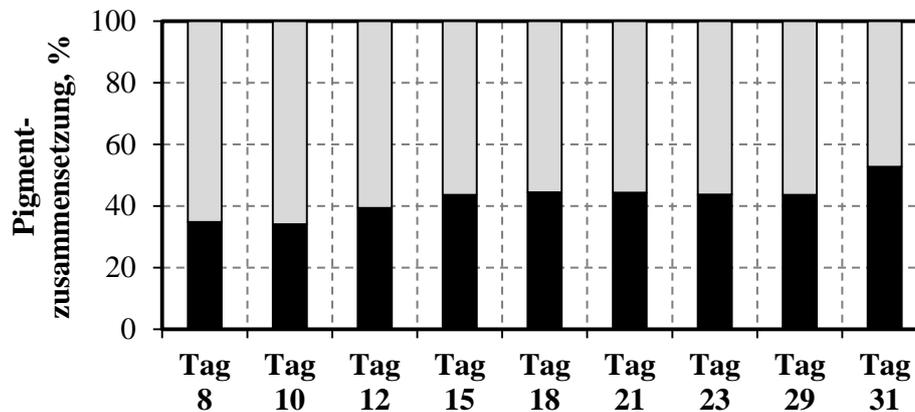


Abbildung 7-10: Veränderung der Pigmentzusammensetzung von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 während eines Prozesses im Flachplattenphotobioreaktor im Pilotmaßstab bei einer Eingangsphtonenflussdichte I_0 von $750 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$, pH 8 und 30°C (Abbildung 7-9): (■) Chlorophyll a; (■) Chlorophyll b; (■) Karotinoide.

Über die gesamte Prozessdauer konnte ein Anstieg des Chlorophyll a-Gehalts von 35 % am Tag acht auf etwa 44 % am Prozessende festgestellt werden. Da Chlorophyll a zu den lichtabsorbierenden Pigmenten der Photosynthese zählt, deutet die Änderung der Pigmentzusammensetzung auf eine Veränderung der Lichtverhältnisse im Reaktor hin. Mit zunehmender Prozesszeit stieg die Biomassekonzentration im Reaktor an, wodurch sich die Lichtverfügbarkeit im Reaktor verringerte. In der Literatur wird eine Erhöhung der Konzentration an Chlorophyll a oder anderen Lichtsammelpigmenten bei niedrigen Photonenflussdichten beschrieben, was zu einer gesteigerten Aufnahme von Photonen führen soll (Richmond und Hu 2004). Um genügend Photonen absorbieren zu können kam es vermutlich zu der beobachteten Anpassung der Pigmentzusammensetzung während des Prozesses. Der weitere Anstieg auf über 50 % Chlorophyll a an Tag 31 lässt sich vermutlich auf den plötzlichen Biomasserückgang zurückführen (Abbildung 7-9), welcher auf eine Stresssituation hindeutet und somit zu einer Änderung des Stoffwechsels der Mikroalgenzellen geführt haben könnte. Eine Bildung von schützenden Karotinoiden konnte zu keiner Zeit nachgewiesen werden.

Diskussion

Aufgrund einer technischen Unterbrechung in der CO_2 -Versorgung wurde ein Rückgang in der Biomassekonzentration beobachtet und der Zulaufprozess im Flachplattenphotobioreaktor im Pilotmaßstab abgebrochen. Neben dem technisch bedingten Wachstumsstopp am Prozessende

sowie der Stagnation des Biomassewachstums aufgrund der Nährstofflimitierung nach 5,5 Tagen wurde eine weitere Stagnation nach etwa 13 Tagen festgestellt. Zu diesem Zeitpunkt wurden anstelle aller Medienbestandteile nur Nitrat und Phosphat für 300 L zugegeben. Durch alleinige Zugabe der beiden Bestandteile konnte kein weiteres Mikroalgenwachstum induziert werden. Erst nach erneuter Zugabe aller BG-11 Medienbestandteile für 300 L Medium konnte die Biomassekonzentration weiter gesteigert werden. Damit wurde die zu überprüfende Hypothese widerlegt, dass eine Nährstofflimitierung auf den beiden Hauptbestandteilen Nitrat und Phosphat beruht. Vielmehr ist davon auszugehen, dass auch andere Substrate, möglicherweise Eisen, einen limitierenden Einfluss auf das Mikroalgenwachstum haben.

Insgesamt konnte im Zulaufprozess mit *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 im Flachplattenphotobioreaktor im Pilotmaßstab eine Biomassekonzentration von $19,6 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ innerhalb von 30 Tagen erreicht werden. Damit war eine Biomasseproduktion von insgesamt 5,9 kg beziehungsweise von $197 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ d}^{-1}$ möglich. Bezogen auf die photosynthetisch aktive Fläche des Reaktors ergaben sich damit etwa $14 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ beziehungsweise $0,7 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ für die volumenbezogene Produktivität. Verglichen mit den Literaturdaten, welche für andere Algenstämme beschrieben sind (Tabelle 7-1), wurde damit eine moderate Biomassekonzentration mit *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 produziert.

Tabelle 7-1: Vergleich der im Flachplattenphotobioreaktor im Pilotmaßstab erzielten Flächen-Zeit-Ausbeuten mit Literaturdaten.

	Mikroalgenstamm	Flächen-Zeit-Ausbeute	Reaktorfläche/-volumen
Künstliche Beleuchtung			
Eigene Ergebnisse	<i>Scenedesmus obtusiusculus</i>	$19 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$	300 L (14 m^2)
Eigene Ergebnisse	<i>Scenedesmus ovalternus</i>	$14 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$	300 L (14 m^2)
Chini Zittelli <i>et al.</i> (2000)	<i>Nannochloropsis spec.</i>	$6 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$	123 L (20 m^2)
Natürliche Beleuchtung			
Cheng-Wu <i>et al.</i> (2001)	<i>Nannochloropsis spec.</i>	$12 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$	500 – 1000 L
Tredici <i>et al.</i> (1991)	<i>Spirulina platensis</i>	$15 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$	4 m^2
Grobbelaar (2012)	<i>Spirulina spec.</i>	$9 - 17 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$	263 m^2
Hu <i>et al.</i> (1996)	<i>Spirulina platensis</i>	$50 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$	6 – 50 L

Chini Zittelli *et al.* (2000) setzten ebenfalls eine künstliche Beleuchtung ein und ermittelten eine Biomasseproduktivität von $6 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ($1 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) für eine *Nannochloropsis spec.* in einem Flachplattenphotobioreaktor, bestehend aus sechs wabenförmig angeordneten Reaktormodulen mit einem Gesamtvolumen von 120 L und einer photosynthetisch aktiven Fläche

von 20 m². Für andere *Nannochloropsis* spec. wurden durchschnittlich in einem ganzjährigen kontinuierlichen Verfahren mit natürlicher Beleuchtung 12 g_{BTM} m⁻² d⁻¹ in einem 500 bis 1000 L Flachplattenphotobioreaktor mit einer Schichtdicke von bis zu 10 cm publiziert (Cheng-Wu *et al.* 2001; Richmond und Cheng-Wu 2001). Mit anderen Grünalgen konnten dagegen nur bis zu 15 g_{BTM} m⁻² d⁻¹ erreicht werden (Tredici *et al.* 1991). Des Weiteren nennt Grobbelaar (2012) eine Produktivität von 9 g_{BTM} m⁻² d⁻¹ beziehungsweise 17 g_{BTM} m⁻² d⁻¹ für die Kultivierung von *Spirulina* spec. in Deutschland und Südafrika. Er berechnete darüber hinaus einen möglichen Schwellenwert von 200 g_{BTM} m⁻² d⁻¹ für die theoretisch maximal erreichbare Produktivität, wenn eine photosynthetische Effizienz von 8 % vorläge. Eine der höchsten Biomassekonzentration, welche durch die Kultivierung in einem Flachplattenphotobioreaktor erreicht wurde, wurde von (Hu *et al.* 1996) mit bis zu 50 g_{BTM} m⁻² d⁻¹ für *Spirulina platensis* in geeigneten Flachplattenphotobioreaktoren publiziert. Eine höhere Produktivität wurde überwiegend in Prozessen im Laborreaktor erreicht (Tredici und Zittelli 1998).

7.3 Vergleich der Skalierbarkeit mit *S. obtusiusculus* und *S. ovalternus*

Anhand der Maßstabsvergrößerung mit den beiden Grünalgen *Scenedesmus obtusiusculus* und *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 konnte gezeigt werden, dass eine Skalierung des Laborprozesses unter Verwendung der im Labor identifizierten Prozessbedingungen in den Pilotmaßstab nur bedingt möglich war. Trotz zahlreicher Analogien zwischen den beiden Flachplattenphotobioreaktor im Labor- und Pilotmaßstab könnten Unterschiede in der Prozessführung (ein Modul im Labormaßstab und zehn parallel und in Reihe geschaltete Module im Pilotmaßstab, pH-Regelung etc.) hierfür verantwortlich sein (siehe Kapitel 7.1.1).

Im Prozess mit *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 konnte eine größere Abweichung zwischen Labor- und Pilotprozess bei der Prozessübertragung festgestellt werden als für *Scenedesmus obtusiusculus*. Untersuchungen zur Reaktionskinetik des lichtabhängigen Wachstums beider *Scenedesmus* spec. zeigten eine höhere Lichtempfindlichkeit für *S. ovalternus* SAG 52.80 im Vergleich zu *S. obtusiusculus* (Kapitel 5.2 und 6.2). Da die Reaktormodule des Flachplattenphotobioreaktors im Pilotmaßstab nicht wie im Labormaßstab durch eine Folie von Umgebungslicht abgeschirmt waren, könnten Tageszyklus-bedingte Schwankungen der Photonenflussdichte (auch Tag-Nacht-Zyklen) trotz der zusätzlichen künstlichen Beleuchtung das Wachstum von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 im Pilotmaßstab stärker beeinflusst haben als das Wachstum von *Scenedesmus obtusiusculus*.

Darüber hinaus befanden sich die Algenzellen beim Durchströmen der Prozesseinheit des Pilotreaktorsystems für etwa eine Minute in Dunkelheit (siehe Kapitel 4.3.4). Da ultrastrukturelle, biophysikalische oder physiologische Änderungsprozesse als Antwort auf veränderte Lichtbedingungen auch innerhalb von Sekunden erfolgen können (Torzillo und Vonshak 2013) und

S. ovalternus SAG 52.80 lichtempfindlicher ist als *S. obtusiusculus*, könnte die Dunkelzone in der Prozesseinheit den Metabolismus von *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 stärker beeinflusst haben als die Stoffwechselfvorgänge in *Scenedesmus obtusiusculus*.

Die größte Beeinflussung rührte aber höchstwahrscheinlich von der im Satzprozesses mit *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 beobachteten starken Biofilmbildung auf der Innenseite der Reaktorscheiben her, welche im Laborprozess beziehungsweise im Prozess mit *Scenedesmus obtusiusculus* weniger stark ausgeprägt war. Der beobachtete Biofilm, der sich teilweise großflächig über die Reaktormodule ausbreitete, könnte zu einer Ausbildung von Lichtzonen mit unterschiedlichen Photonenflussdichten in den Reaktormodulen und dadurch zu den Unterschieden im Biomassekonzentrationsverlauf bei der Prozessübertragung geführt haben.

8 Zusammenfassung

Scenedesmeceae werden in der Literatur als schnell wachsende Mikroalgenstämme mit einem breiten Produktspektrum beschrieben (Sánchez *et al.* 2008; Orosa *et al.* 2000). Sie stellen daher einen interessanten Produktionsorganismus für Anwendungen in der chemischen, der kosmetischen oder der Nahrungsmittelindustrie sowie in der Biokraftstoffentwicklung dar (Qin *et al.* 2008). Da die Produkte meistens zellintern vorliegen, ist die Biomassegewinnung ein wesentlicher Aspekt der Nutzbarmachung von Mikroalgen.

Scenedesmus obtusiusculus und *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 weisen ein interessantes intrazelluläres Produktspektrum auf (Schulze *et al.* 2016), sind bisher allerdings weitestgehend unerforscht. Dies machte die beiden Mikroalgenstämme für eine nähere Untersuchung des Biomasseherstellungsprozess im Labor- (2 L) und Pilotmaßstab (300 L) attraktiv. Da das essentielle Substrat Licht den größten Einfluss auf das Wachstum von Mikroalgen hat, stand die Untersuchung der Reaktionskinetik des lichtabhängigen Wachstums im Fokus dieser Arbeit (Aiba 1982; Pruvost *et al.* 2002; Yun und Park 2003). Hierfür wurden Flachplattenphotobioreaktoren im Labor- und Pilotmaßstab gewählt, welche häufig für Produktionsprozesse mit Mikroalgen verwendet werden. Ziel dieser Arbeit war es zunächst, geeignete Reaktionsbedingungen (pH, Temperatur, Licht) für eine schnelle Biomasseherstellung im Labormaßstab zu identifizieren. Für die anschließende Charakterisierung der Reaktionskinetik des lichtabhängigen Wachstums sollten geeignete Modelle für die mathematische Beschreibung der Lichtabschwächung im Reaktor identifiziert werden. Ausgehend davon galt es, einen geeigneten kinetischen Modellansatz zu finden, um das Wachstum der gewählten *Scenedesmus* spec. speziesspezifisch zu beschreiben und kinetische Modellparameter zu identifizieren. Abschließend sollte, ausgehend von den während der reaktionstechnischen Charakterisierung der ausgewählten *Scenedesmus* spec. identifizierten Reaktionsbedingungen für die Biomasseproduktion im Labormaßstab, die Skalierbarkeit in den Pilotmaßstab untersucht werden.

Im Rahmen der reaktionstechnischen Charakterisierung der gewählten *Scenedesmus* spec. im Labormaßstab wurde für beide Mikroalgenpezies ein neutraler bis leicht alkalischer pH-Bereich mit einem Optimum bei pH 7,5 für das Neuisolat *Scenedesmus obtusiusculus* beziehungsweise pH 8 für *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 bestimmt.

In der anschließenden Untersuchung des Temperatureinflusses auf das Wachstum der beiden Mikroalgenpezies konnte gezeigt werden, dass eine Temperatur von 30 °C für beide *Scenedesmus* spec. am besten unter den untersuchten Temperaturen für einen Kultivierungsprozess im Satzverfahren im Flachplattenphotobioreaktor geeignet ist.

Durch Variation der Eingangspotonenflussdichte war es möglich, eine spezifische Wachstumsrate in der exponentiellen Phase von 0,22 h⁻¹ sowie eine finale Biomassekonzentration von

$4,95 \pm 0,16 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ innerhalb einer Prozesszeit von 3,5 Tagen mit *Scenedesmus obtusiusculus* zu erzielen. Der Lichtsättigungsbereich konnte dabei experimentell auf einen Eingangsphotonenflussdichtenbereich zwischen 1200 bis 1400 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ festgelegt werden. Ein photoschädigender Einfluss wurde erst bei Eingangsphotonenflussdichten über 3000 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ für *Scenedesmus obtusiusculus* festgestellt. Eine deutlich stärkere Lichtabhängigkeit wurde für den Mikroalgenstamm *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 gezeigt, bei dem eine Inhibition des Wachstums schon ab Eingangsphotonenflussdichten von 2500 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ beobachtet wurde. Höhere Eingangsphotonenflussdichten hatten einen signifikanten Rückgang der spezifischen Wachstumsraten in der exponentiellen Phase, den finalen Biomassekonzentrationen sowie den Raum-Zeit-Ausbeuten zur Folge. Schnellstes Wachstum konnte mit einer Eingangsphotonenflussdichte von 1290 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ erzielt werden. Hierbei wurde eine spezifische Wachstumsrate in der exponentiellen Phase von $0,12 \text{ h}^{-1}$ und eine Raum-Zeit-Ausbeute von $1,66 \pm 0,04 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ erreicht. Insgesamt konnte unter diesen Bedingungen eine maximale Biomassekonzentration von $7,5 \pm 0,12 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ innerhalb einer Prozesszeit von sechs Tagen erzielt werden. Bezüglich der beiden untersuchten *Scenedesmus spec.* wurde *S. obtusiusculus* mit einer um 13 % erhöhten Raum- sowie Flächen-Zeit-Ausbeute als der bessere Produktionsstamm identifiziert.

Im Rahmen der Untersuchung der Reaktionskinetik des lichtabhängigen Wachstums wurde anhand des Mikroalgenstamms *Scenedesmus obtusiusculus* zunächst nachgewiesen, dass das Absorptionsgesetz von Lambert und Beer nur zur Beschreibung der Lichtabsorption stationärer Algensuspensionen (unveränderliche Zelldichte und -zusammensetzung) geeignet ist. Unabhängig von der Biomassekonzentration wurde hier ein konstanter Extinktionskoeffizient bestimmt. Im Flachplattenphotobioreaktor änderte sich der Extinktionskoeffizient dagegen mit steigender Zelldichte im Reaktor um über 70 %, so dass die Lichtabsorption nicht mit dem Absorptionsmodell von Lambert und Beer abgeschätzt werden konnte. Darüber hinaus stieg der Extinktionskoeffizient mit zunehmender Pigmentierung der Zellen (Farbänderung von grün nach orange) um 35 % an. Damit konnte gezeigt werden, dass die Lichtabsorption im Reaktor sowohl von der Zelldichte als auch von der Zellzusammensetzung abhängig ist. Aus diesem Grund wurde neben Lambert-Beers Lichtabsorptionsmodell Schusters Lichtabschwächungsmodell als ein weiterer Modellansatz für die Charakterisierung der Reaktionskinetik des lichtabhängigen Wachstums herangezogen, welches neben der Lichtabsorption auch die Lichtstreuung durch Reaktorkomponenten oder die Mikroalgenzelle an sich berücksichtigt.

Ausgehend von Lambert und Beers Lichtabsorptionsmodell sowie Schusters Modellansatz zur Beschreibung der Lichtabschwächung im Reaktor wurden mittlere integrale Photonflussdichten für *Scenedesmus obtusiusculus* und *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 (nur für Schusters Modell),

erfolgreich abgeschätzt. Um die Genauigkeit dieser modell-gestützten Abschätzung zu erhöhen, wurde ein neuer Modellansatz verwendet, welcher neben der Reaktorschichtdicke auch eine Änderung der Biomassekonzentration während der exponentiellen Wachstumsphase mit einbezieht. Die Auftragung der für verschiedene Eingangspotonenflussdichten ermittelten spezifischen Wachstumsraten μ in der exponentiellen Phase als Funktion dieser mittleren integralen Photonenflussdichten (Lichtantwortkurve) ermöglichte die Untersuchung verschiedener kinetischer Wachstumsmodelle zur Beschreibung der lichtabhängigen Wachstumskinetik. Für beide *Scenedesmus spec.* konnte Andrews' kinetischer Modellansatz die experimentellen Daten unter den untersuchten Modellen am besten wiedergeben (siehe Abbildung 8-1). Dieses Ergebnis wurde durch einen Modellvergleich mittels Akaikes korrigiertem Informationskriterium gestützt. Basierend auf Schusters Lichtabschwächungsmodell, war es möglich die kinetischen Parameter für die gewählten *Scenedesmus spec.* zu identifizieren: $\mu_{max} = 0,35 \pm 0,01 \text{ h}^{-1}$, $K_S = 448 \pm 27 \text{ } \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ und $K_I = 5642 \pm 620 \text{ } \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ für *Scenedesmus obtusiusculus* sowie $\mu_{max} = 0,21 \text{ h}^{-1}$, $K_S = 545 \text{ } \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ und $K_I = 2744 \text{ } \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ für *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80.

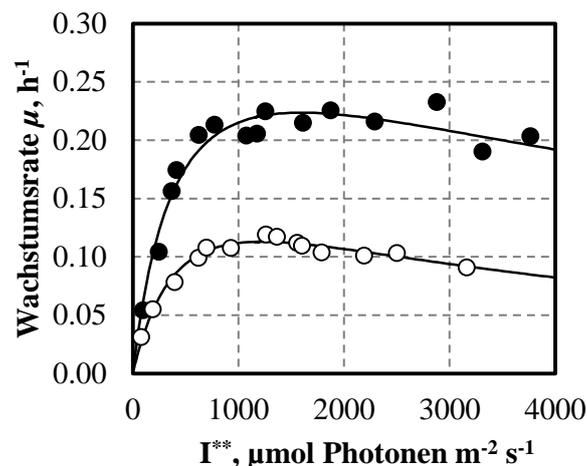


Abbildung 8-1: Zusammenhang zwischen der spezifischen Wachstumsrate μ in der exponentiellen Phase und der mittleren integralen Photonenflussdichte I^{**} , welche auf der Basis von Schusters Modellansatz zur Beschreibung der Lichtabschwächung im Reaktor für *Scenedesmus obtusiusculus* (●) und *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 (○) abgeschätzt wurde. Andrews kinetisches Wachstumsmodell (—) beschrieb die experimentellen Daten (●,○) unter den untersuchten kinetischen Modellansätzen am besten. Darauf basierend wurden die kinetischen Parameter für beide *Scenedesmus* Spezies identifiziert:

Scenedesmus obtusiusculus:

$$\mu_{max} = 0,35 \pm 0,01 \text{ h}^{-1}$$

$$K_S = 448 \pm 27 \text{ } \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$$

$$K_I = 5642 \pm 620 \text{ } \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$$

***Scenedesmus ovalternus* SAG 51.80:**

$$\mu_{max} = 0,21 \text{ h}^{-1},$$

$$K_S = 545 \text{ } \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$$

$$K_I = 2744 \text{ } \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$$

Mit Hilfe der kinetischen Parameter konnten eine optimale mittlere integrale Photonenflussdichte sowie eine optimale Wachstumsrate für die gewählten *Scenedesmus spec.* ermitteln werden, welche $I^{**}_{opt} = 1590 \text{ } \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ und $\mu_{opt} = 0,22 \text{ h}^{-1}$ für *Scenedesmus obtusiusculus* und $I^{**}_{opt} = 1220 \text{ } \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ und $\mu_{opt} = 0,11 \text{ h}^{-1}$ für *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80

betrogen. Durch eine schrittweise Erhöhung der Eingangspotonenflussdichte in Abhängigkeit der während des Prozessverlaufs zunehmenden Biomassekonzentration im Reaktor in Form eines Lichtprofils konnte diese abgeschätzte optimale mittlere integrale Photonflussdichte während des Prozesses jeweils konstant gehalten werden. Dadurch war es möglich, das in dieser Arbeit verwendete Modell experimentell zu verifizieren.

Der Vergleich eines Lichtprofils, welches auf Lambert und Beers Absorptionsgesetz beruht, mit einem Lichtprofil basierend auf Schusters Lichtabschwächungsmodell zeigte darüber hinaus, dass durch die Verwendung von Schusters Lichtabschwächungsmodell für die Ermittlung des Lichtprofils eine im Vergleich zum Lichtprofilprozess auf der Grundlage von Lambert-Beers Absorptionsmodell um 13 % erhöhte finale Biomassekonzentration erzielt werden konnte. Eine Abschätzung der optimalen mittleren integralen Photonflussdichte sollte daher mit Schusters Modellansatz erfolgen.

Verglichen mit einem Prozess mit konstanter Eingangspotonenflussdichte konnte die finale Biomassekonzentration durch die Anwendung des Lichtprofils allerdings für keinen der untersuchten *Scenedesmus*-Stämme gesteigert werden. Da die Eingangspotonenflussdichte bei der Anwendung des Lichtprofils auf Werte oberhalb des inhibierenden Schwellenwerts erhöht wurde (3000 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ für *S. obtusiusculus* beziehungsweise 2500 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ für *S. ovalternus* SAG 52.80) und bei Prozessende eine Akkumulation von bis zu 15 % schützende Karotinoide in der geernteten Biomasse festgestellt werden konnte, wurden photoschädigende oder photoakklimatorische Prozesse der Zellen auf der Reaktorvorderseite als Ursache hierfür vermutet. Nichtsdestotrotz war es mit dem Lichtprofil möglich, den Biomasseherstellungsprozess ($\sim 14 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$) mit *S. obtusiusculus* im Vergleich zu einem Prozess mit konstanter Photonflussdichte um zwei Tage zu beschleunigen. Eine energetische Untersuchung der Prozesse ergab dabei einen doppelt so hohen Energiebedarf (65 MJ) für den Lichtprofilprozess im Vergleich zum Prozess mit konstanter Eingangspotonenflussdichte (34 MJ).

Abschließend wurde für die Entwicklung eines Biomasseproduktionsprozesses im halb-technischen Maßstab die Übertragung ausgewählter Laborprozesses in den Pilotmaßstab für *Scenedesmus obtusiusculus* (30 °C, pH 7,5, 1400 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$) und *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 (30 °C, pH 8, 750 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$) untersucht. Bei beiden Spezies wichen die Biomassekonzentrationsverläufe im Pilotmaßstab jeweils von denen im Labormaßstab ab und es wurden stets niedrigere spezifische Wachstumsraten in der exponentiellen Phase und niedrigere finale Biomassekonzentrationen im Pilotprozess bestimmt. Bei *Scenedesmus obtusiusculus* betrug die spezifische Wachstumsrate in der exponentiellen Phase mit $0,17 \text{ h}^{-1}$ nur 80 % der spezifischen Wachstumsrate, welche im Labormaßstab in der exponentiellen Phase ermittelt werden konnte ($0,22 \text{ h}^{-1}$). Bei *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 konnte diesbezüglich eine Abweichung von fast

50 % zwischen dem Pilotmaßstab ($0,06 \text{ h}^{-1}$) und dem Labormaßstab ($0,11 \text{ h}^{-1}$) festgestellt werden. Im Hinblick auf die finale Biomassekonzentration wurden mit *Scenedesmus obtusiusculus* vergleichbare Zelldichten mit $4,95 \pm 0,16 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ im Labormaßstab und $4,61 \pm 0,07 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ im Pilotmaßstab erreicht. Im Pilotprozess mit *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 wurde dagegen mit $4,86 \pm 0,26 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$ eine um 16 % niedrigere Biomassekonzentration im Vergleich zum Laborprozess ($5,65 \pm 0,08 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1}$) beobachtet. Als mögliche Ursachen hierfür wurden Unterschiede in der Prozessführung im Labor- und Pilotmaßstab insbesondere beim Leistungseintrag und der pH-Regelung sowie bei der Beleuchtung vermutet. Als Hauptursache wurde eine Entstehung von Biofilm während der Prozesse im Pilotmaßstab angenommen, welche im Labormaßstab nicht beobachtet wurde. Die Biofilmbildung war darüber hinaus im Prozess im Pilotmaßstab mit *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 stärker ausgeprägt als im Prozess mit *Scenedesmus obtusiusculus*, weshalb die Abweichungen im Biomassekonzentrationsverlauf mit *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 vermutlich größer waren.

Die abschließende Durchführung eines Zulaufverfahrens im Pilotmaßstab ermöglichte es, ähnliche Biomasseproduktivitäten im Vergleich zu anderen in der Literatur beschriebenen *Scenedesmus*-, *Nannochloropsis*- oder *Spirulina*-Spezies zu erzielen. Mit *Scenedesmus obtusiusculus* wurden 4 kg Biotrockenmasse innerhalb von 15 Tagen produziert ($19 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$; $0,9 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$). Mit *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 war es möglich, 5,9 kg Biotrockenmasse in 30 Tagen herzustellen ($14 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$; $0,7 \text{ g}_{\text{BTM}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$). Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass die gewählten *Scenedesmus* Spezies für eine Biomasseherstellung im halbtechnischen Maßstab geeignet sind.

9 Ausblick

Die Reaktionstechnischen Untersuchungen mit *Scenedesmus obtusiusculus* und *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 hatten gezeigt, dass die gewählten Mikroalgenstämme ein schnelles Wachstum aufweisen und für die Biomasseherstellung im halbtechnischen Maßstab eingesetzt werden können. Eine weitergehende Spezifizierung möglicher Produkte wäre von Interesse, um die Möglichkeiten der kommerziellen Nutzung zu konkretisieren.

Da geschlossene Photobioreaktoren mit künstlicher LED-Beleuchtung sowohl große Investitions- als auch Betriebskosten aufgrund der künstlichen Beleuchtung verursachen, müssen die Produkte eine genügende Wertschöpfung erlauben. Hierfür wäre neben einer detaillierten Analyse des Produktportfolios eine modellgestützte Ermittlung der Produktionskosten hilfreich.

Im Hinblick auf das im Vergleich zur Bestrahlungseinheit im Labormaßstab weiterentwickelte LED-System, welches im Pilot-Maßstab zur Verfügung steht, könnte eine Charakterisierung der Lichtabhängigkeit das Verständnis des Prozessverhaltens und damit das Verfahren im halbtechnischen Maßstab verbessern. Hierbei könnten verschiedene Lichtszenarien wie Tag-Nacht-Zyklen oder Tageslichtverläufe simuliert werden. Ausgehend von diesen Ergebnissen wäre es möglich, einen geeigneten Standort zur Nutzung von natürlicher Tageslichteinstrahlung zu identifizieren und die Auswirkungen auf die Betriebskosten zu untersuchen.

Eine weitere Alternative stellt die Biomasseherstellung in zur Atmosphäre hin offenen Photobioreaktoren ohne künstliche Beleuchtung dar. Ein wesentliches Problem hierbei sind Umwelteinflüsse wie schnelle klimatische Veränderungen (Wetterumschwung) oder Kontaminationen, die den Produktionsprozess erschweren und deshalb detailliert charakterisiert werden müssen. Ein Vorteil gegenüber geschlossenen Photobioreaktoren liegt in den niedrigeren Investitionskosten. Durch eine Klärung der Standortfrage kann darüber hinaus natürliches Tageslicht genutzt werden, wodurch eine zusätzliche Reduzierung der Produktionskosten der Biomasseherstellung möglich wäre.

Literaturverzeichnis

- Acién Fernández FG, Garcia Camacho F, Sánchez Pérez JA, Fernández Sevilla JM, Molina Grima E (1997): A model for light distribution and average solar irradiance inside outdoor tubular photobioreactors for the microalgal mass culture. *Biotechnol Bioeng* 55: 701-714.
- Aiba S (1982): Growth kinetics of photosynthetic microorganisms. Fiechter, Aiba et al. (Hg.), *Microbial Reactions*. Springer, Berlin, Heidelberg 23: 85–156.
- Alkhamis Y, Qin JG (2013): Cultivation of *Isochrysis galbana* in phototrophic, heterotrophic, and mixotrophic conditions. *BioMed Res Int* 2013: 983465.
- Allard B, Templier J (2000): Comparison of neutral lipid profile of various trilaminar outer cell wall (TLS)-containing microalgae with emphasis on algaenan occurrence. *Phytochem* 54: 369–380.
- Altenbach-Rehm J, Nell C, Arnold M, Weuster-Botz D (1999): Parallel Bubble Columns with Fed-Batch Technique for Microbial Process Development on a Small Scale. *Chem Eng Technol* 22: 1051–1058.
- Andersen RA (2005): *Algal culturing techniques*. Elsevier Acad. Press, Amsterdam: 389-399.
- Andrews JF (1968): A mathematical model for the continuous culture of microorganisms utilizing inhibitory substrates. *Biotechnol Bioeng* 10: 707–723.
- Apel AC, Weuster-Botz D (2015): Engineering solutions for open microalgae mass cultivation and realistic indoor simulation of outdoor environments. *Bioprocess and biosystems engineering* 38: 995–1008.
- AquaFuels (2009): Report on Biology and Biotechnology of algae with indication of criteria for strain selection. AquaFuels Report D 1.4: 1–133.
- Bartley ML, Boeing WJ, Dungan BN, Holguin FO, Schaub T (2014): pH effects on growth and lipid accumulation of the biofuel microalgae *Nannochloropsis salina* and invading organisms. *J Appl Phycol* 26: 1431–1437.
- Bechet Q, Munoz R, Shilton A, Guieysse B (2013): Outdoor cultivation of temperature-tolerant *Chlorella sorokiniana* in a column photobioreactor under low power-input. *Biotechnol Bioeng* 110: 118–126.
- Becker EW (1994): *Microalgae: Biotechnology and microbiology*. Cambridge Univ. Press, Cambridge: 51-56.

- Behrenfeld MJ, Prasil O, Kolber ZS, Babin M, Falkowski PG (1998): Compensatory changes in Photosystem II electron turnover rates protect photosynthesis from photoinhibition. *Photosynth Res* 58: 259–268.
- Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L, Gatto GJ (2007): *Biochemie*. Springer Spektrum, Berlin: 569-619.
- Bergmann P, Ripplinger P, Beyer L, Trösch W (2013): Disposable Flat Panel Airlift Photobioreactors. *Chemie Ingenieur Technik* 85: 202–205.
- Berner T (1993): *Ultrastructure of microalgae*. CRC Press, Boca Raton: 71-99.
- Berry J, Bjorkman O (1980): Photosynthetic Response and Adaptation to Temperature in Higher Plants. *Annu Rev Plant Physiol* 31: 491–543.
- Bhattacharya D (1997): *Origins of Algae and their Plastids*. Springer Vienna, Vienna: 53-87.
- Borowitzka M (2007): Algal culture and biotechnology. *BIO301 Topic 8*: 1–44.
- Brennan L, Owende P (2010): Biofuels from microalgae - A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renew Sust Energ Rev* 14: 557–577.
- Breuer G, Lamers PP, Martens DE, Draaisma RB, Wijffels RH (2013): Effect of light intensity, pH, and temperature on triacylglycerol (TAG) accumulation induced by nitrogen starvation in *Scenedesmus obliquus*. *Bioresource Technol* 143: 1–9.
- Brody m, Vatter AE (1959): Observations on Cellular Structures of *Porphyridium cruentum*. *J Biophys Biochem Cytol* 5: 289–294.
- Brown JS (1987): Functional Organization of Chlorophyll a and Carotenoids in the Alga, *Nannochloropsis salina*. *Plant Physiol* 83: 434–437.
- Buchheim MA, Michalopoulos EA, Buchheim JA (2001): Phylogeny of the chlorophyceae with special reference to the Sphaeropleales: A study of 18S and 26S rDNA sata. *J Phycol* 37: 819–835.
- Burlew JS (1953): *Algal culture from laboratory to pilot plant*. Carnegie Inst. of Washington, Washington DC: 3-23.
- Cabello J, Morales M, Revah S (2014): Dynamic photosynthetic response of the microalga *Scenedesmus obtusiusculus* to light intensity perturbations. *Chem Eng J* 252: 104–111.
- Cabello J, Toledo-Cervantes A, Sanchez L, Revah S, Morales M (2015): Effect of the temperature, pH and irradiance on the photosynthetic activity by *Scenedesmus obtusiusculus* under nitrogen replete and deplete conditions. *Bioresource Technol* 181: 128–135.

- Camacho Rubio F, Ación Fernández FG, Sánchez Pérez JA, García Camacho F, Molina Grima E (1999): Prediction of dissolved oxygen and carbon dioxide concentration profiles in tubular photobioreactors for microalgal culture. *Biotechnol Bioeng* 62: 71–86.
- Camacho Rubio F, García Camacho F, Fernández Sevilla JM, Christi Y, Molina Grima E (2003): A mechanistic model of photosynthesis in microalgae including photoacclimation dynamics. *J Theor Biol* 304: 1–15.
- Cepák V, Pribyl P (2006): The effect of colour light on production of zooids in 10 strains of the green chlorococcal alga *Scenedesmus obliquus*. *Czech Phycol* 6: 127–133.
- Cheng-Wu Z, Zmora O, Kopel R, Richmond A (2001): An industrial-size flat plate glass reactor for mass production of *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae). *Aquacult* 195: 35–49.
- Chini Zittelli G, Pastorelli R, Tredici MR (2000): A Modular Flat Panel Photobioreactor (MFPP) for indoor mass cultivation of *Nannochloropsis* sp. under artificial illumination. *J Appl Phycol* 12: 521–526.
- Chini Zittelli G, Rodolfi L, Tredici MR (2004): Industrial Production of Microalgal Cell-Mass and Secondary Products - Species of High Potential: Mass Cultivation of *Nannochloropsis* in Closed Systems. Richmond A, Hu Q (Hg.), *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell Publishing, Oxford Chapter 16: 298–303.
- Chiu S-Y, Kao C-Y, Chen C-H, Kuan T-C, Ong S-C, Lin C-S (2008): Reduction of CO₂ by a high-density culture of *Chlorella* sp. in a semicontinuous photobioreactor. *Bioresource Technol* 99: 3389–3396.
- Chmiel H (2011): *Bioprozesstechnik*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg: 99-221.
- Choi S-L, Suh IS, Lee C-G (2003): Lumostatic operation of bubble column photobioreactors for *Haematococcus pluvialis* cultures using a specific light uptake rate as a control parameter. *Enzyme Microb Technol* 33: 403–409.
- Coleman JR, Colman B (1981): Inorganic Carbon Accumulation and Photosynthesis in a Blue-green Alga as a Function of External pH. *Plant Physiol* 67: 917–921.
- Cornet JF, Dussap CG, Cluzel P, Dubertret G (1992a): A structured model for simulation of cultures of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in photobioreactors: II. Identification of kinetic parameters under light and mineral limitations. *Biotechnol Bioeng* 40: 826–834.
- Cornet JF, Dussap CG, Dubertret G (1992b): A structured model for simulation of cultures of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in photobioreactors: I. Coupling between light transfer and growth kinetics. *Biotechnol Bioeng* 40: 817–825.

- Cornet JF, Dussap CG, Gros JB (1994): Conversion of radiant light energy in photobioreactors. *AIChE J* 40: 1055–1066.
- Coutteau P (1996): Micro-Algae. Lavens P (Hg.), Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO fisheries technical paper, Rome 361: 7–48.
- Dean AP, Sigee DC, Estrada B, Pittman JK (2010): Using FTIR spectroscopy for rapid determination of lipid accumulation in response to nitrogen limitation in freshwater microalgae. *Bioresource Technol* 101: 4499–4507.
- Doucha J, Lívanský K (2006): Productivity, CO₂/O₂ exchange and hydraulics in outdoor open high density microalgal (*Chlorella* sp.) photobioreactors operated in a Middle and Southern European climate. *J Appl Phycol* 18: 811–826.
- Dubinsky Z, Stambler N (2009): Photoacclimation processes in phytoplankton: Mechanisms, consequences, and applications. *Aquat Microb Ecol* 56: 163–176.
- Earth System Research Laboratory (2016): SURFRAD Radiation Plot. http://www.esrl.noaa.gov/gmd/grad/surfrad/surf_check.php?site=dra&date=2016-06-20&p7=par (Desert Rock, Nevada, United States).
- Eriksen NT (2008): The technology of microalgal culturing. *Biotechnol Lett* 30: 1525–1536.
- Evers EG (1991): A model for light-limited continuous cultures: growth, shading, and maintenance. *Biotechnol Bioeng* 38: 254–259.
- Falkowski PG (1998): Biogeochemical Controls and Feedbacks on Ocean Primary Production. *Science* 281: 200–206.
- Falkowski PG, Owens TG (1980): Light-shade adaption in marine phytoplankton. *Plant Physiol* 66: 592–595.
- Fathurrahman L, Hajar AHS, Sakinah DWN, Nurhazwani Z, Ahmad J (2013): Flashing light as growth stimulant in cultivation of green microalgae, *Chlorella* sp. utilizing airlift photobioreactor. *Pak J Biol Sci* 16: 1517–1523.
- Forján Lozano E, Garbayo Nores I, Casal Bejarano C, Vílchez Lobato C (2007): Enhancement of carotenoid production in *Nannochloropsis* by phosphate and sulphur limitation. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology. Microbiology Book Series I*: 356–364.
- Franco-Lara E, Havel J, Peterat F, Weuster-Botz D (2006): Model-supported optimization of phototrophic growth in a stirred-tank photobioreactor. *Biotechnol Bioeng* 95: 1177–1187.
- Fuchs G, Schlegel HG, Eitinger T (2007): *Allgemeine Mikrobiologie*. Thieme, Stuttgart: 405–435.

- Gitelson AA, Grits YA, Etzion D, Ning Z, Richmond A (2000): Optical properties of *Nannochloropsis* sp and their application to remote estimation of cell mass. *Biotechnol Bioeng* 69: 516–525.
- Goldman JC, Azov Y, Riley CB, Dennett MR (1982): The effect of pH in intensive microalgal cultures. I. Biomass regulation. *J Exp Mar Biol Ecol* 57: 1–13.
- Greenwell HC, Laurens LML, Shields RJ, Lovitt RW, Flynn KJ (2010): Placing microalgae on the biofuels priority list: a review of the technological challenges. *J R Soc* 7: 703–726.
- Griffiths MJ, Garcin C, van Hille RP, Harrison STL (2011): Interference by pigment in the estimation of microalgal biomass concentration by optical density. *J Microbiol Methods* 85: 119–123.
- Grobbelaar JU (2000): Physiological and technological considerations for optimising mass algal cultures. *J Appl Phycol* 12: 201–206.
- Grobbelaar JU (2010): Microalgal biomass production: challenges and realities. *Photosynth Res* 106: 135–144.
- Grobbelaar JU (2012): Microalgae mass culture: The constraints of scaling-up. *J Appl Phycol* 24: 315–318.
- Gupta AB, Shrivastava GC (1965): On antibiotic properties of some fresh water algae. *Hydrobiologia* 25: 285–288.
- Han B-P (2000): Effect of photoinhibition on algal photosynthesis: A dynamic model. *J Plankton Res* 22: 865–885.
- Hanagata N, Dubinsky Z (1999): Secondary carotenoid accumulation in *Scenedesmus komarekii* (Chlorophyceae, Chlorophyta). *J Phycol* 35: 960–966.
- Hannon M, Gimpel J, Tran M, Rasal B, Mayfield S (2010): Biofuels from algae: challenges and potential. *Biofuels* 1: 763–784.
- Havel J, Franco-Lara E, Weuster-Botz D (2008): A parallel bubble column system for the cultivation of phototrophic microorganisms. *Biotechnol Lett* 30: 1197–1200.
- Ho S-H, Chen W-M, Chang J-S (2010): *Scenedesmus obliquus* CNW-N as a potential candidate for CO₂ mitigation and biodiesel production. *Bioresource Technol* 101: 8725–8730.
- Hoopen HT, Roels JA, van Gemert JM, Nobel PJ, Fuchs A (1981): An unstructured model of algal growth in continuous cultures. Moo-Young (Hg.), *Advances in Biotechnology*. Pergamon Press, Canada Volume I: 315–321.

- Hu Q (2013): Environmental Effects on Cell Composition. Richmond A, Hu Q (Hg.), Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. Blackwell Publishing, Oxford Chapter 7: 114–122.
- Hu Q, Guterman H, Richmond A (1996): A Flat Inclined Modular Photobioreactor for Outdoor Mass Cultivation of Photoautotrophs. *Biotechnol Bioeng* 51: 51–60.
- Huang Y-m, Rorrer GL (2002): Dynamics of oxygen evolution and biomass production during cultivation of *Agardhiella subulata* microplantlets in a bubble-column photobioreactor under medium perfusion. *Biotechnol Prog* 18: 62–71.
- Huesemann MH, van Wageningen J, Miller T, Chavis A, Hobbs S, Crowe B (2013): A screening model to predict microalgae biomass growth in photobioreactors and raceway ponds. *Biotechnol Bioeng* 110: 1583–1594.
- Infors HT (2016): Labfors 5 LUX Produktbeschreibung. <http://www.infors-ht.com/index.php/de/produkte/bioreaktoren/tischbioreaktoren/labfors-5-lux>.
- Jacobi A, Posten C (2012): Energy Considerations of Photobioreactors. Borowitzka MA, Moheimani NR (Hg.), *Algae for Biofuels and Energy*, Springer, Dordrecht Chapter 13: 223–231.
- Janssen M, Tramper J, Mur LR, Wijffels RH (2003): Enclosed outdoor photobioreactors: light regime, photosynthetic efficiency, scale-up, and future prospects. *Biotechnol Bioeng* 81: 193–210.
- Jena J, Nayak M, Panda HS, Pradhan N, Sarika C, Panda PK, Rao, Bhamidipati V. S. K., Prasad RBN, Sukla LB (2012): Microalgae of Odisha Coast as a Potential Source for Biodiesel Production. *World Environment* 2: 11–16.
- Juneja A, Ceballos R, Murthy G (2013): Effects of Environmental Factors and Nutrient Availability on the Biochemical Composition of Algae for Biofuels Production: A Review. *Energies* 6: 4607–4638.
- Kaltschmitt M, Hartmann H, Hofbauer H (2016): *Energie aus Biomasse*. Springer, Berlin, Heidelberg: 256.
- Karube I, Takeuchi T, Barnes DJ (1992): Biotechnological reduction of CO₂ emissions. Fiechter A (Hg.), *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Springer, Berlin, Heidelberg 46: 63–79.

- Kim MK, Park JW, Park CS, Kim SJ, Jeune KH, Chang MU, Acreman J (2007): Enhanced production of *Scenedesmus* spp. (green microalgae) using a new medium containing fermented swine wastewater. *Bioresource Technol* 98: 2220–2228.
- Kim S-K (2015): *Handbook of marine microalgae: Biotechnology and advances*. Academic Press, Amsterdam: 1-9.
- Kok B (1953): Experiments on photosynthesis by *Chlorella* in flashing light. Burlew JS (Hg.), *Algal Culture from Laboratory to Pilot Plant*. Carnegie Inst. of Washington, Washington DC Chapter 6: 63–75.
- Koller AP, Löwe H, Schmid V, Mundt S, Weuster-Botz D (2016): Model-supported phototrophic growth studies with *Scenedesmus obtusiusculus* in a flat-plate photobioreactor. *Biotechnol Bioeng* online first: DOI: 10.1002/bit.26072.
- Krienitz L, Wirth M (2006): The high content of polyunsaturated fatty acids in *Nannochloropsis limnetica* (Eustigmatophyceae) and its implication for food web interactions, freshwater aquaculture and biotechnology. *Limnologica* 36: 204–210.
- Kuhl A, Lorenzen H (1964): Handling and Culturing of *Chlorella*. Prescott DM (Hg.), *Methods in Cell Physiology*. Academic Press, New York, London Chapter 10: 159–183.
- Kurano N, Miyachi S (2005): Selection of microalgal growth model for describing specific growth rate-light response using extended information criterion. *J Biosci Bioeng* 100: 403–408.
- Lebeau T, Robert J-M (2003): Diatom cultivation and biotechnologically relevant products. Part I: cultivation at various scales. *Appl Microbiol Biotechnol* 60: 612–623.
- Lee HY, Erickson LE, Yang SS (1987): Kinetics and bioenergetics of light-limited photoautotrophic growth of *Spirulina platensis*. *Biotechnol Bioeng* 29: 832–843.
- Lee RE (2008): *Phycology*. Cambridge University Press, Cambridge: 1-357.
- Lee YK (2016): *Microalgae Cultivation Fundamentals*. Bux F, Christi Y (Hg.), *Algae Biotechnology: Products and Processes*. Springer-Verlag, Schweiz: 1–19.
- Lee Y-K (2001): Microalgal mass culture systems and methods: Their limitation and potential. *J Appl Phycol* 13: 307–315.
- Li J, Stamato M, Velliou E, Jeffryes C, Agathos SN (2015): Design and characterization of a scalable airlift flat panel photobioreactor for microalgae cultivation. *J Appl Phycol* 27: 75–86.
- Li W, Smith JC, Platt T (1984): Temperature response of photosynthetic capacity and carboxylase activity in arctic marine phytoplankton. *Mar Ecol* 17: 237–243.

- Li WKW (1980): Temperature adaption in phytoplankton: celular nd photosynthetic characteristics. Falkowski PG (Hg.), Primary Productivity in the Sea. Plenum Press, New York: 259–279.
- Li Y, Horsman M, Wu N, Lan CQ, Dubois-Calero N (2008): Biofuels from microalgae. Biotechnol Prog 24: 815–820.
- Lichtenthaler HK, Buschmann C (2001): Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. Current Protocols in Food Analytical Chemistry UNIT F4.3: Supplement 1.
- LI-COR (2009): Comparison of Quantum Sensors with Different Spectral Sensitivities. Technical Note 126.
- Lintig J von, Welsch R, Bonk M, Giuliano, Giovanni, Batschauer, Alfred, Kleinig H (1997): Light-dependent regulation of carotenoid biosynthesis occurs at the level of phytoene synthase expression and is mediated by phytochrome in *Sinapis alba* and *Arabidopsis thaliana* seedlings. Plant J 12: 625–634.
- Long SP, Humphries S, Falkowski PG (1994): Photoinhibition of Photosynthesis in Nature. Annu Rev Plant Physiol 45: 633–662.
- Martínez ME, Camacho F, Jiménez JM, Espínola J. B. (1997): Influence of light intensity on the kinetic and yield parameters of *Chlorella pyrenoidosa* mixotrophic growth. Process Biochem 32: 93–98.
- Masojidek J, Torzillo G, Koblizek M (2013): Photosynthesis in Microalgae1. Richmond A, Hu Q (Hg.), Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. Blackwell Publishing, Oxford Chapter 2: 21–36.
- Masojidek J, Torzillo G, Koblizek M, Kopecky J, Bernardini P, Sacchi A, Komenda J (1999): Photoadaptation of two members of the Chlorophyta (*Scenedesmus* and *Chlorella*) in laboratory and outdoor cultures: changes in chlorophyll fluorescence quenching and the xanthophyll cycle. Planta 209: 126–135.
- Matsunaga T, Matsumoto M, Maeda Y, Sugiyama H, Sato R, Tanaka T (2009): Characterization of marine microalga, *Scenedesmus* sp. strain JPCC GA0024 toward biofuel production. Biotechnol Lett 31: 1367–1372.
- Miller RG (1974): The jackknife - a review. Biometrika 61: 1–15.
- Molina E, Fernández J, Ación FG, Christi Y (2001): Tubular photobioreactor design for algal cultures. J Biotechnol 92: 113–131.

- Molina Grima E, Garcíá Camacho F, Sánchez Pérez JA, Fernández Sevilla JM, Acién Fernández FG, Contreras Gómez A (1994): A Mathematical Model of Microalgal Growth in Light-Limited Chemostat Culture. *J Chem Tech Biotechnol* 61: 167–173.
- Monod J (1949): The Growth of Bacterial Cultures. *Annu Rev Microbiol* 3: 371–394.
- Morais MG de, Vieira Costa JA (2007): Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina* sp. and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor. *J Biotechnol* 129: 439–445.
- Motulsky H, Christopoulos A (2004): Fitting models to biological data using linear and nonlinear regression. Oxford Univ. Press, Oxford: 351.
- Myers J, Burr GO (1940): Studies on photosynthesis: some effects of light of high intensity on *Chlorella*. *J Gen Physiol* 24: 45–67.
- Nabors MW, Scheibe R (2007): Botanik. Pearson Studium in Pearson Education, München: 207-231.
- Nalewajko C, Colman B, Olaveson M (1997): Effects of pH on growth, photosynthesis, respiration, and copper tolerance of three *Scenedesmus* strains. *Environ Exp Bot* 37: 153–160.
- Nature Education (2010): Plant Cells, Chloroplasts, and Cell Walls. Essentials of Cell Biology <http://www.nature.com/scitable/topicpage/plant-cells-chloroplasts-and-cell-walls-14053956>.
- Nedbal L, Tichý V, Xiong F, Grobbelaar JU (1996): Microscopic green algae and cyanobacteria in high-frequency intermittent light. *J Appl Phycol* 8: 325–333.
- Neßlauer M (2015): Experimentelle Untersuchung von offenen Photobioreaktoren des Typs *Flaches Schräggerinne*. Masterarbeit an der Technische Universität München, Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik.
- Nobel PS (1991): Physicochemical and environmental plant physiology. Elsevier Academic Press, Amsterdam, Boston: 171-291.
- Ördög V, Stirk WA, Lenobel R, Bancířová M, Strnad M, van Staden J, Szigeti J, Németh L (2004): Screening microalgae for some potentially useful agricultural and pharmaceutical secondary metabolites. *J Appl Phycol* 16: 309–314.
- Orosa M, Torres E, Fidalgo P, Abalde J (2000): Production and analysis of secondary carotenoids in green algae. *J Appl Phycol* 12: 533–536.
- Oswald WJ (1988): Large-scale algal culture systems (engineering aspects). Borowitzka MA, Borowitzka LJ (Hg.), *Micro-Algal Biotechnology*. Cambridge University Press, New York: 357–394.

- Park K-H, Lee C-G (2000): Optimization of algal photobioreactors using flashing lights. *Biotechnol Bioprocess Eng* 5: 186–190.
- Perez-Garcia O, Escalante FME, de-Bashan LE, Bashan Y (2011): Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potential products. *Water Res* 45: 11–36.
- Pires J, Alvim-Ferraz M, Martins FG, Simões M (2012): Carbon dioxide capture from flue gases using microalgae: Engineering aspects and biorefinery concept. *Renew Sust Energ Rev* 16: 3043–3053.
- Post AF, Dubinsky Z, Wyman K, Falkowski PG (1985): Physiological responses of a marine planktonic diatom to transitions in growth irradiance. *Mar Ecol* 25: 141–149.
- Posten C, Walter C (2012a): *Microalgal Biotechnology: Integration and Economy*. De Gruyter, Berlin/Boston: 1-51.
- Posten C, Walter C (2012b): *Microalgal Biotechnology: Potential and Production*. De Gruyter, Berlin/Boston: 1-221.
- Prabakaran P, Ravindran DA (2012): Influence of different Carbon and Nitrogen sources on growth and CO₂ fixation of microalgae. *Adv Appl Sci Res* 3: 1714–1717.
- Prasil O, Adir N, Ohad I (1992): Dynamics of photosystem II: mechanism of photoinhibition and recovery processes. Barber J (Hg.). *The Photosystems: Structure, Function and Molecular Biology*. Elsevier Science Publishers Chapter 8: 295–348.
- Protist Information Server (2016): <http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/Chlorophyta/Scenedesmus/ovalternus/index.html>.
- Pruvost J, Cornet JF (2012): Knowledge models for the engineering and optimization of photobioreactors. Walter C, Posten C (Hg.), *Microalgal Biotechnology: Potential and Production*. De Gruyter, Berlin Chapter 10: 181–224.
- Pruvost J, Legrand J, Legentilhomme P, Muller-Feuga A (2002): Simulation of microalgae growth in limiting light conditions: Flow effect. *AIChE J* 48: 1109–1120.
- Qin S, Liu G-X, Hu Z-Y (2008): The accumulation and metabolism of astaxanthin in *Scenedesmus obliquus* (Chlorophyceae). *Process Biochem* 43: 795–802.
- Quenouille MH (1956): Notes on Bias in Estimation. *Biometrika* 43: 353–360.
- Quinn J, Winter L de, Bradley T (2011): Microalgae bulk growth model with application to industrial scale systems. *Bioresour Technol* 102: 5083–5092.

- Rabe AE, Benoit RJ (1962): Mean light intensity - a useful concept in correlating growth rates of dense cultures of microalgae. *Biotechnol Bioeng* 4: 377–390.
- Rahmstorf S, Schellnhuber HJ (2007): *Der Klimawandel: Diagnose, Prognose, Therapie*. Beck, München: 29-42.
- Ras M, Steyer J-P, Bernard O (2013): Temperature effect on microalgae: A crucial factor for outdoor production. *Rev Environ Sci Biotechnol* 12: 153–164.
- Raven JA (1993): Limits on growth rates. *Nature* 361: 209–210.
- Raven JA, Geider RJ (1988): Temperature and algal growth. *New Phytol* 110: 441–461.
- Reddy S, Madhusudana RM (2004): *University botany-3 (angiosperms, plant embryology and plant physiology)*. New Age International, New Dehli: 299-301.
- Renaud SM, Thinh L-V, Lambrinidis G, Parry DL (2002): Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures. *Aquaculture* 211: 195–214.
- Reynolds HL, Pacala SW (1993): An analytical treatment of root-to-shoot ratio and plant competition for soil nutrient and light. *Am Nat* 141: 51–70.
- Richmond A, Cheng-Wu Z (2001): Optimization of a flat plate glass reactor for mass production of *Nannochloropsis* sp. outdoors. *J Biotechnol* 85: 259–269.
- Richmond A, Hu Q (2004): *Handbook of microalgal culture: Applied phycology and biotechnology*. Wiley-Blackwell, Chichester: 719.
- Rodolfi L, Chini Zittelli G, Bassi N, Padovani G, Biondi N, Bonini G, Tredici MR (2009): Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnol Bioeng* 102: 100–112.
- Rorrer GL, Mullikin RK (1999): Modeling and simulation of a tubular recycle photobioreactor for macroalgal cell suspension cultures. *Chem Eng Sci* 54: 3153–3162.
- SAG (2016): Sammlung von Algenkulturen. <http://www.uni-goettingen.de/de/184982.html>.
- Salvucci ME, Crafts-Brandner SJ (2004): Inhibition of photosynthesis by heat stress: the activation state of Rubisco as a limiting factor in photosynthesis. *Physiol Plant* 120: 179–186.
- Sánchez JF, Fernández JM, Ación FG, Rueda A, Pérez-Parra J, Molina E (2008): Influence of culture conditions on the productivity and lutein content of the new strain *Scenedesmus almeriensis*. *Process Biochem* 43: 398–405.

- Schiemer F (1983): Limnology of Parakrama Samudra - Sri Lanka. Springer-Verlag, Dordrecht: 222-223.
- Schügerl K (1985): Bioreaktionstechnik Band 1 - Grundlagen, Formalkinetik, Reaktortypen und Prozeßführung. Otto Salle Verlag, München 1. Auflage.
- Schulze C, Wetzel M, Reinhardt J, Schmidt M, Felten L, Mundt S (2016): Screening of microalgae for primary metabolites including β -glucans and the influence of nitrate starvation and irradiance on β -glucan production. J Appl Phycol online first.
- Schuster A (1905): Radiation Through a Foggy Atmosphere. Ap J 21: 1.
- Sforza E, Simionato D, Giacometti GM, Bertuccio A, Morosinotto T (2012): Adjusted light and dark cycles can optimize photosynthetic efficiency in algae growing in photobioreactors. PloS one 7: e38975.
- Sharma OP (1986): Textbook of algae. Tata McGraw-Hill, New Delhi: 121-270.
- Shelf G (1980): Algae biomass: Production and use. Elsevier, Amsterdam: 343-359.
- Singh SP, Singh P (2015): Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review. Renew Sust Energ Rev 50: 431-444.
- Soeder CJ (1971): Mikroalgenkultur im technischen Maßstab. Biologie in unserer Zeit 1: 133-142.
- Sorokin C, Krauss RW (1958): The effects of light intensity on the growth rates of green algae. Plant Physiol 33: 109-113.
- Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, Isambert A (2006): Optimization of *Nannochloropsis oculata* growth using the response surface method. J Chem Technol Biotechnol 81: 1049-1056.
- Steele JH (1965): Notes on Some Theoretical Problems in Production Ecology. Goldman CR (Hg.). Primary Production in Aquatic Environment. University of California Press, Berkley and Los Angeles Chapter VI: 383-398.
- Sukenik A, Bennett J, Falkowski P (1987): Light-saturated photosynthesis — Limitation by electron transport or carbon fixation? BBA - Bioenergetics 891: 205-215.
- Talukdar J (2012): Influences of Dissolved Inorganic Carbon and Nitrogen sources on Growth, Total Lipid Content and Calorific Value of Freshwater Oleaginous Microalga *Ankistrodesmus falcatus* (Corda) Ralfs. Environ Res Eng Manag 61.
- Tamiya H (1957): Mass Culture of Algae. Annu Rev Plant Physiol 8: 309-334.

- Tazdait D, Abdi N, Grib H, Lounici H, Pauss A, Mameri N (2013): Comparison of different models of substrate inhibition in aerobic batch biodegradation of malathion. *Turkish J Eng Env Sci* 37: 221–230.
- Toledo-Cervantes A, Morales M, Novelo E, Revah S (2013): Carbon dioxide fixation and lipid storage by *Scenedesmus obtusiusculus*. *Bioresource Technol* 130: 652–658.
- Torzillo G, Vonshak A (2013): Environmental Stress Physiology with Reference to Mass Cultures. Borowitzka MA und Moheimani NR (Hg.), *Algae for Biofuels and Energy*, Springer, Dordrecht Chapter 6: 90–113.
- Tredici, Zittelli (1998): Efficiency of sunlight utilization: tubular versus flat photobioreactors. *Biotechnol Bioeng* 57: 187–197.
- Tredici MR (2004): Massproduction of microalgae: Photobioreactors. Richmond A, Hu Q (Hg.), *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell Publishing, Oxford Chapter 9: 178–215.
- Tredici MR, Carozzi P, Chini Zittelli G, Materassi R (1991): A vertical alveolar panel (VAP) for outdoor mass cultivation of microalgae and cyanobacteria. *Bioresource Technol* 38: 153–159.
- Tredici MR, Chini Zittelli G, Rodolfi L (2010): Photobioreactors. Flickinger M (Hg.), *Encyclopedia of industrial biotechnology: bioprocess, bioseparation, and cell technology*. Wiley, Hoboken: 1–15.
- Tukey JW (1958): Bias and confidence in not-quite large samples. *Ann Math Statist* 29: 614–623.
- Vonshak A, Guy R (1992): Photoadaptation, photoinhibition and productivity in the blue-green alga, *Spirulina platensis* grown outdoors. *Plant Cell Environ* 15: 613–616.
- Waterbury JB, Stanier RY (1981): Isolation and Growth of Cyanobacteria from Marine and Hypersaline Environments. Starr, MP et al. (Hg.). *The Prokaryotes: A handbook on habitats, isolation, and identification of bacteria*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg Chapter 9: 221–223.
- Webb JL (1963): Enzyme and metabolic inhibitors. Academic Press, New York: 55-79 und 488-512.
- Weuster-Botz D (2006): Mikro-Bioverfahrenstechnik. *Chemie Ingenieur Technik* 78: 256–260.
- Weuster-Botz D, Altenbach-Rehm J (2000): Device for the series cultivation of micro-organisms or cells in gasified liquid columns. United States Patent US 6063618, WO 1997006239A1: 1–8.

- Xin L, Hong-Ying H, Jia Y (2010): Lipid accumulation and nutrient removal properties of a newly isolated freshwater microalga, *Scenedesmus* sp. LX1, growing in secondary effluent. *N Biotechnol* 27: 59–63.
- Yamamoto Y (2016): Quality Control of Photosystem II: The Mechanisms for Avoidance and Tolerance of Light and Heat Stresses are Closely Linked to Membrane Fluidity of the Thylakoids. *Front Plant Sci* 7: 1136.
- Yang Y, Gao K (2003): Effects of CO₂ concentrations on the freshwater microalgae, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus* (Chlorophyta). *J Appl Phycol* 15: 379–389.
- Ying K, Gilmour JD, Zimmerman WB (2014): Effects of CO₂ and pH on Growth of the Microalga *Dunaliella salina*. *J Microb Biochem Technol* 06: 167–173.
- Yoo C, Jun S-Y, Lee J-Y, Ahn C-Y, Oh H-M (2010): Selection of microalgae for lipid production under high levels carbon dioxide. *Bioresource Technol* 101: 571–574.
- Yun Y-S, Park JM (2003): Kinetic modeling of the light-dependent photosynthetic activity of the green microalga *Chlorella vulgaris*. *Biotechnol Bioeng* 83: 303–311.
- Zhang D, Dechatiwongse P, Del Rio-Chanona EA, Maitland GC, Hellgardt K, Vassiliadis VS (2015): Dynamic modelling of high biomass density cultivation and biohydrogen production in different scales of flat plate photobioreactors. *Biotechnol Bioeng* 112: 2429–2438.

Symbol- und Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
AIC	Akaike's Informationskriterium
AIC _c	Akaike's korrigiertes Informationskriterium
ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
BG-11 Medium	Medium für blaugüne Algen
BTM	Biotrockenmassekonzentration, g _{BTM} (L ⁻¹)
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CO ₃ ²⁻	Carbonat
FZA	Flächen-Zeit-Ausbeute, g _{BTM} m ⁻² d ⁻¹
H ⁺	Proton
H ₂ O	Wasser
HCO ₃ ⁻	Hydrogencarbonat
LED	Leuchtdiode
NADP	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
O ₂	Sauerstoff
OD	optische Dichte
PFD	Photonenflussdichte, μmol Photonen m ⁻² s ⁻¹
pH	Negativ dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenaktivität
P _i	Phosphat
RT	Raumtemperatur, °C
RZA	Raum-Zeit-Ausbeute, g _{BTM} L ⁻¹ d ⁻¹
<i>S. obtusiusculus</i>	<i>Scenedesmus obtusiusculus</i>
<i>S. ovalternus</i>	<i>Scenedesmus ovalternus</i>
SAG	Sammlung von Algenkulturen Göttingen
spec.	species (engl. für Spezies)
TUM	Technische Universität München
VE-H ₂ O	vollentsalztes Wasser
w	Massenanteil, % (w/w)

Symbol	Bedeutung
A	Absorption, -
c	Lichtgeschwindigkeit; $2,997 \cdot 10^8 \text{ m s}^{-1}$
$c_{Chl a}$	Chlorophyll a-Anteil bezogen auf die Biotrockenmasse, $\text{mg}_{Chl a} \text{ g}_{BTM}^{-1}$
$c_{Chl b}$	Chlorophyll b-Anteil bezogen auf die Biotrockenmasse, $\text{mg}_{Chl b} \text{ g}_{BTM}^{-1}$
$c_{Karotinoid}$	Karotinoidanteil bezogen auf die Biotrockenmasse, $\text{mg}_{Karotinoid} \text{ g}_{BTM}^{-1}$
c_s	Substratkonzentration
c_x	Biomassekonzentration, $\text{g}_{BTM} \text{ L}^{-1}$
$c_x \text{ Anfang/Ende exp}$	Biomassekonzentration zu Beginn/Ende des exponentiellen Wachstums, $\text{g}_{BTM} \text{ L}^{-1}$
c_{x0}	Anfangsbiomassekonzentration, g L^{-1}
D_L	Breite der Kultivierkammer des Labor-Flachplattenphotobioreaktors, 25,5 m
$D_{P, Modul}$	Breite eines Reaktormoduls des Pilot-Flachplattenphotobioreaktors, 57 cm
E	Energiegehalt eines Photons, J
E_a	Lichtabsorptionskoeffizient
E_i	Integralexponentialfunktion
E_s	Streuungsmassenkoeffizient
h	Plank'sches Wirkungsquantum; $6,63 \cdot 10^{-34} \text{ Js}$
I	Photonenflussdichte, $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
I^*	Integrale Photonenflussdichte, $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
I^{**}	Mittlere integrale Photonenflussdichte, $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
I_0	Eingangsphtonenflussdichte, $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
I_I	Inhibierende Photonenflussdichte, $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
I_k	Halbgesättigte Photonenflussdichte, $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
I_{opt}	Optimale Photonenflussdichte, $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
K	Anzahl an Parameter +1 (AIC_c)
k	Variable
K_I	Inhibitionskonstante
K_s	Halbsättigungskonstante
m_x	Biotrockenmasse, mg
N	Anzahl an Datenpunkten (AIC_c)

Symbol	Bedeutung
P	Photosyntheserate
$P_{(max)}$	Photosyntheserate (bei gesättigten Lichtverhältnissen)
R_d	Dunkelrespiration
r_x	Wachstumsrate, $\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$
S, s	Reaktorschichtdicke, m
S_L	Photosynthetisch aktive Oberfläche des Labor-Flachplattenphotobioreaktors, $0,09 \text{ m}^2$
S_P	Photosynthetisch aktive Oberfläche des Pilot-Flachplattenphotobioreaktors, 14 m^2
SS	Summe der Fehlerquadrate zwischen experimentellen und vorhergesagten Daten
t	Zeit, h
$t_{\text{Anfang/Ende exp}}$	Zeitpunkt, zu dem die exponentielle Wachstumsphase beginnt/endet, d
V	Volumen, L
V_L	Maximalvolumen des Labor-Flachplattenphotobioreaktors, 2 L
V_P	Maximalvolumen des Pilot-Flachplattenphotobioreaktors, 300 L
$V_{P, Modul}$	Maximalvolumen eines Reaktormoduls im Pilotmaßstab, 30 L
α	Konstante von Schuster zur Beschreibung der Lichtabsorption
α_I	Steigung der P/I -Kurve (Lichtantwortkurve)
β	Empirische Konstante von Webb (1963)
γ	Euler-Mascheroni-Konstante
δ	Konstante von Schuster zur Beschreibung der Lichtstreuung
Δt_{exp}	Zeitraum des exponentiellen Wachstums, d
ε	Extinktionskoeffizient
$\varepsilon_{\text{Spline}(C_x)}$	Splinefunktion zur Bestimmung des Extinktionskoeffizienten ε
κ, ρ, ω	Empirische Konstanten von Camacho-Rubio (2003)
λ	Wellenlänge, nm
μ	spezifische Wachstumsrate, d^{-1}
μ_{max}	Maximale spezifische Wachstumsrate, h^{-1}
μ_{opt}	Modell-gestützte optimale Wachstumsrate, h^{-1}
ν	Frequenz; Anzahl an Schwingungen pro Sekunde, Hz
x	Beliebige Variable

A. Anhang

A.1 Verwendete Chemikalien und allgemeine Materialien und Geräte

Tab. A-1: Liste der in dieser Arbeit verwendeten Chemikalien.

Chemikalie	Hersteller	Artikelnummer
Ammoniumeisen(III)-citrat, ~18 % Fe	Merck	103762
Ammoniumheptamolybdat-Tetrahydrat	Merck	101182
Antifoam 204	Carl Roth	A6425
Borsäure, $\geq 99,8$ %	Sigma-Aldrich	31146
Calciumchlorid-Dihydrat, $\geq 99,0$ %	Carl Roth	5239.1
Citronensäure Monohydrat, $\geq 99,5$ %	Carl Roth	3958.2
di-Kaliumhydrogenphosphat, $\geq 98,0$ %	AppliChem	141512.1210
Ethanol, 99,8 %	Carl Roth	9065.1
Ethylendiamintetraessigsäure Dinatriumsalz Dihydrat	Carl Roth	X986
n-Hexan, Rotisolv HPLC	Carl Roth	7339.2
Kaliumchlorid, $\geq 99,5$ %	AppliChem	A2939
Kupfer(II)-sulfat-Pentahydrat, $\geq 99,0$ %	Merck	102790
Magnesiumsulfat-Heptahydrat, ≥ 48 %	Carl Roth	8283.1
Mangansulfat-Monohydrat, $\geq 99,0$ %	Carl Roth	4487.1
Natriumcarbonat, 99,9 %	Merck	106392
Natriumhydroxid	Carl Roth	P031.3
Natriumnitrat, ≥ 99 %	Carl Roth	A136.1
Salzsäure, rauchend 37 %	Carl Roth	4625.1
Wasserstoffperoxid, 35 %	Höfer Chemie	SW1290
Zinksulfat-Heptahydrat, $\geq 99,5$ %	Carl Roth	K301.1

Tab. A-2: Liste der in dieser Arbeit verwendeten Gerätschaften.

Gerätschaft	Bezeichnung	Hersteller
Analysewaage	Extend ED124S	Sartorius, Göttingen
Analysewaage	MS104S/01	Mettler-Toledo, Gießen
Autoklav	Varioklav 500 E	H+P Labortechnik, Oberschleißheim
Einstrahlphotometer	Genesys 10S UV-VIS	Thermo Scientific, USA
Erntezentrifuge	Evodos 10	Evodos, Niederlande

Tab. A-2: Fortsetzung

Gerätschaft	Bezeichnung	Hersteller
Heizblock	HB-120	Uniequip, Planegg
Lyophilie	Alpha 1-2 LD plus	Christ Gefriertrocknungsanlagen
Magnetrührplatte	NeoLab D6010	NeoLab, Heidelberg
Mikroskop	Eclipse E200	Nikon, Düsseldorf
Mikroskop-Objektiv	100x PlanApoλMRD31905	Nikon, Düsseldorf
Mikrotiterplattenphotometer	Multiscan FC	Thermo Scientific
Mikrotiterplattenphotometer	Infinite 200 PRO	Tecan, Schweiz
pH-Meter	HandyLab 100	Schott (SI Analytics), Weilheim
Plattformwaage	DE 60K1DL	Kern & Sohn GmbH
Schlauchpumpe	P_classic 27-GM/FUC	Ponndorf Gerätetechnik, Kassel
Spektroradiometer	BLUE Wave UVNb-50	StellarNet, Florida, USA
Standzentrifuge	ROTIXA 50 RS	Hettich Zentrifugen, Tuttlingen
Thermomixer	Thermomixer basic	CellMedia, Elsteraue
Tischzentrifuge	Espresso	Thermo Scientific, USA
Tischzentrifuge	Mikro 220	Hettich Zentrifugen, Tuttlingen
Tischzentrifuge	mySPIN 12	Thermo Scientific, USA
Tischzentrifuge	5810 R	Eppendorf, Hamburg
Transferpipetten	20 µL bis 10mL	Brand, Wertheim
Trockenschrank	UF450	Memmert, Schwabach
Trockenschrank	UN260	Memmert, Schwabach
Ultraschallsonde	Sonopuls HD 2070	Bandelin, Berlin
Vortexmischer	Vortex-Genie 2, G560 E	Scientific Industries Inc., USA

Tab. A-3: Liste der in dieser Arbeit verwendeten allgemeinen Materialien.

Material	Hersteller	Artikelnummer
Allzweck-Aluschalen, 20 mL	Carl Roth	PP65.1
Aluminiumschalen mit Deckel, 250 mL	Carl Roth	0522.1
Aluminiumschalen mit Deckel, 500 mL	Carl Roth	0906.1
Bördelkappe mit Bohrung, ND20, Butyl/PTFE	Carl Roth	LC70.1
Einmalspritzen LL, steril	NeoLab	E-1958
Feingewindeflasche ND18	NeoLab	7-0840

Tab. A-3: Fortsetzung

Material	Hersteller	Artikelnummer
Pierce BCA Protein Assay Kit	Thermo Scientific	23225
Probeschalen, 28 mL	Carl Roth	5494.1
Rollrandfläschchen aus Glas, 10 mL	Carl Roth	LC62.1
Schraubkappe ND18	NeoLab	7-0849
Spritzenvorsatzfilter, Corning® syringe filters	Sigma-Aldrich	CLS431219-50EA
Whatman-Filter, Ø 25 mm	VWR	513-522

Tab. A-4: Teststreifen zum halbquantitativen Nährstoffnachweis.

Nährstoff	Bezeichnung	Hersteller
Eisen	Quantofix Gesamteisen 1000 (91330)	Marcherey-Nagel GmbH & Co. KG
Nitrat	Quantofix Nitrat Nitrit (91313)	Marcherey-Nagel GmbH & Co. KG
Phosphat	Quantofix Phosphat (91320)	Marcherey-Nagel GmbH & Co. KG
Sulfat	Quantofix Sulfat (91329)	Marcherey-Nagel GmbH & Co. KG

A.2 Medien und Lösungen

Tab. A-5: Zusammensetzung des BG-11 Mediums. Die Stammlösungen der einzelnen Komponenten wurden sterilfiltriert (0,22 µm) und anschließend unter sterilen Bedingungen autoklaviertem VE-Wasser (121 °C, 20 min) zugegeben.

Komponente	Endkonzentration im Medium, g L ⁻¹	Konzentration der Stammlösung, g L ⁻¹	Für 1 L BG-11
NaNO ₃	1,500	3,75	4 mL
K ₂ HPO ₄	0,040	0,40	1 mL
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,075	0,75	1 mL
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,036	0,36	1 mL
Zitronensäure	0,006	0,06	1 mL
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	0,00111	0,011	1 mL
Ammoniumeisen(III)-citrat	0,006	0,06	1 mL
Na ₂ CO ₃	0,020	0,20	1 mL
Spurenelementlösung			1 mL

Tab. A-6: Zusammensetzung der Spurenelementlösung für das BG-11 Medium. Zur Herstellung einer konzentrierten Spurenelementlösung wurden die Stammlösungen der einzelnen Komponenten sterilfiltriert (0,22 µm) und anschließend unter sterilen Bedingungen autoklaviertem VE-Wasser (121 °C, 20 min) zugegeben.

Komponente	Endkonzentration, g L ⁻¹	Konzentration der Stammlösung, g L ⁻¹	Für 1 L Spurenelementlösung
H ₃ BO ₃	0,0610	0,305	4 mL
MnSO ₄ ·4H ₂ O	0,2230	1,115	4 mL
Bzw. MnSO ₄ ·H ₂ O	0,16900	0,845	4 mL
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,2870	1,435	4 mL
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,0025	0,050	2 mL
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	0,0125	0,125	2 mL

A.3 Kultivierungssysteme

A.3.1 Blasensäulenreaktor

Zur Vorkulturherstellung für die reaktionstechnische Charakterisierung von Mikroalgen im Labormaßstab wurden Blasensäulenreaktoren eingesetzt. Der genaue Aufbau ist im Folgenden beschrieben.

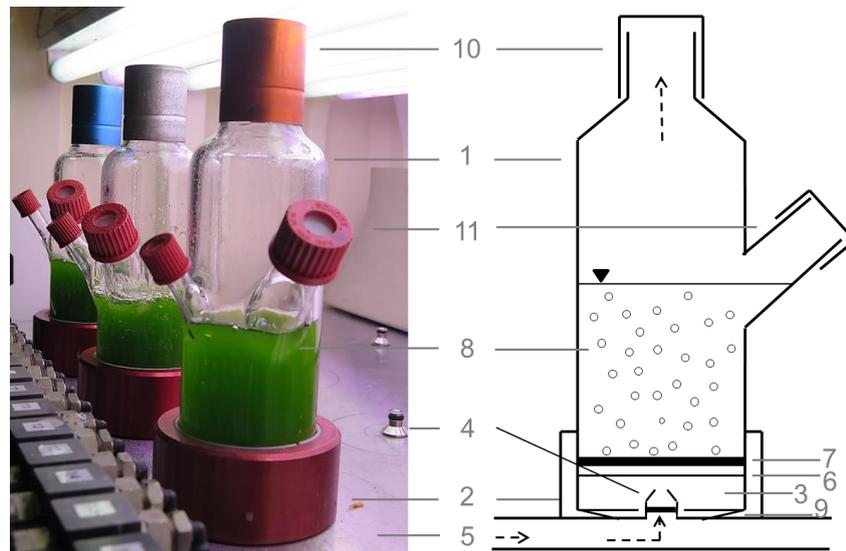


Abb. A-1: Schematische und fotografische Darstellung einer einzelnen Blasensäule nach (Havel et al. 2008; Weuster-Botz 2002).

- | | |
|------------------------------|--|
| 1: Glasgefäß | 7: lasergebohrte Gasverteilerplatte (Poren: Ø 60 µm) |
| 2: Standfuß | 8: Flüssigphase |
| 3: Bodenplatte mit Öffnung | 9: Klemmfedern |
| 4: Napfartiger Aufnahmeplatz | 10: Aluminiumkappe |
| 5: Gasverteiler | 11: Probenahmestutzen (mit oder ohne Septum) |
| 6: Membran | |

Der Blasensäulenreaktor besteht aus einem zylindrischen Glasgefäß (1), welches über einen Standfuß (2) stabilisiert wird. Eine Öffnung in der Bodenplatte (3) am unteren Ende der Blasensäule lässt die Fixierung des Gefäßes an napfartigen Aufnahmeplätzen (4) eines Gasverteilers (5) zu. Über diese Anschlussstelle wird das Gas durch eine Membran (6) sowie eine lasergebohrte Gasverteilerplatte (7) über die gesamte Querschnittsfläche in die darüberstehende Flüssigphase (8) eingetragen. Der Gasvolumenstrom kann dabei für jede Reaktorposition individuell geregelt werden. Lasergebohrte Gasverteilerplatte, Membran und Bodenplatte werden mit Hilfe einer Klemmfeder (9) im Standfuß zusammengehalten. Die Öffnung am oberen Ende der Kulturflasche kann für die Aufnahme von Standardvorrichtungen wie Sterilstopfen oder Aluminiumkappen (10) verwendet werden. Letztere ermöglichen ein Entweichen von Gas, ohne eine Kontamination des Reaktorinhaltes zu verursachen. Zudem ist auf diese Weise eine Sterilisation der gesamten Blasensäule bei 121 °C im Autoklaven möglich. Auch eine sterile Probenentnahme wird durch

seitliche Gewindestutzen mit Septum gewährleistet (11). Das Fassungsvermögen einer einzelnen Blasensäule beträgt 400 mL, das Arbeitsvolumen 200 mL.

Tab. A-7: Bauteile und Gerätschaften des Blasensäulenreaktorsystems.

Bauteil/Gerät	Bezeichnung	Hersteller
Blasensäulenreaktor	Patent: 6.063.618	Weuster-Botz und Altenbach-Rehm
Dreiwegehahn	Mini-Dreiwegehahn (2-4190)	NeoLab, Heidelberg
Durchlaufkühler	DLK 60	Fryka Kältetechnik, Esslingen
Gasmischstation	WMR 4000 (Westphal)	Brooks Instrument, Dresden
Leuchtstoffröhre	Fluora 77	Osram, München
Leuchtstoffröhre	SunGlo	Hagen, Holm
Massendurchflussregler	5850E	Brooks Instrument, Dresden
Inkubator (modifiziert)	Profors	Infors HT, Schweiz
Sterilfilter	Polyethersulfon (13420-88-K)	Sartorius, Göttingen

A.3.2 Flachplattenphotobioreaktor im Labormaßstab (Labfors 5 LUX)

Zur reaktionstechnischen Charakterisierung von Mikroalgen wurde ein Flachplattenphotobioreaktor Labfors 5 LUX (Infors HT, Bottmingen, Schweiz) im Labormaßstab eingesetzt. Der genaue Aufbau ist im Folgenden beschrieben.

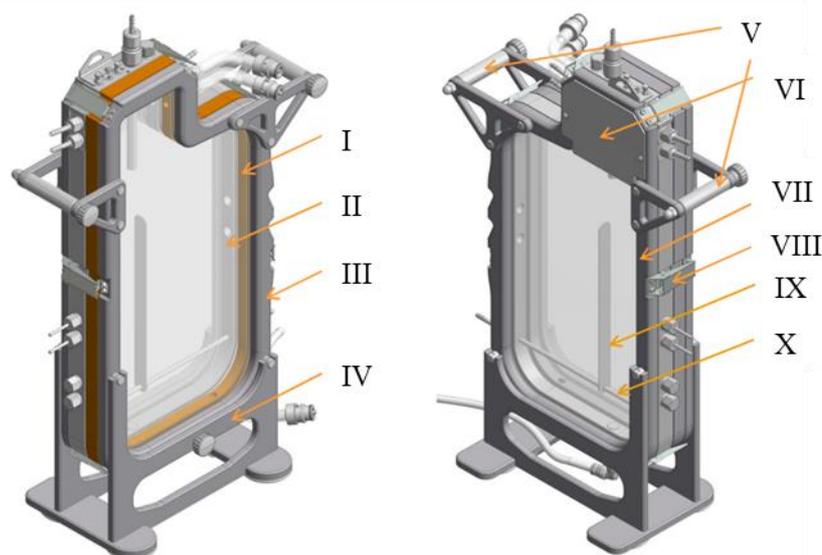


Abb. A-2: Schematische Darstellung des Aufbaus des Flachplattenphotobioreaktors Labfors 5 Lux (Infors HT 2016).

- | | |
|---------------------------------|----------------------------------|
| I: Temperierkammer | VI: Lichtabschirmblech |
| II: Kultivierungskammer | VII: Außenrahmen der Frontplatte |
| III: Außenrahmen der Rückplatte | VIII: Klammer (sieben Stück) |
| IV: Reaktorfuß | IX: Strömungsbrecher; |
| V: Tragegriffe | X: Begasungsrohr |

Der Flachplattenphotobioreaktor ist in eine Temperier- (I) und in eine Kultivierungskammer (II) unterteilt. Die beiden Kammern werden über einen Außenrahmen (III+VII) fixiert, welcher mit insgesamt sieben Klammern (VIII) zusammengehalten wird. Gleichzeitig erfolgt über den Rahmen eine Befestigung am Reaktorfuß (IV). Für einen besseren Tragekomfort sind seitlich zwei Tragegriffe (V) angebracht. Ein Lichtabschirmblech auf der dem Licht zugewandten Seite des Reaktors (LED-Bestrahlungseinheit) soll ein Wachstum von Mikroorganismen im Kopfraum des Reaktors verhindern. Durch Begasung über ein Begasungsrohr (X) sowie durch einen Strömungsbrecher (IX) wird eine Durchmischung der Kultur im Reaktor gewährleistet. Eine detaillierte Explosivdarstellung des Reaktors ist in Abb. A-3 gezeigt.

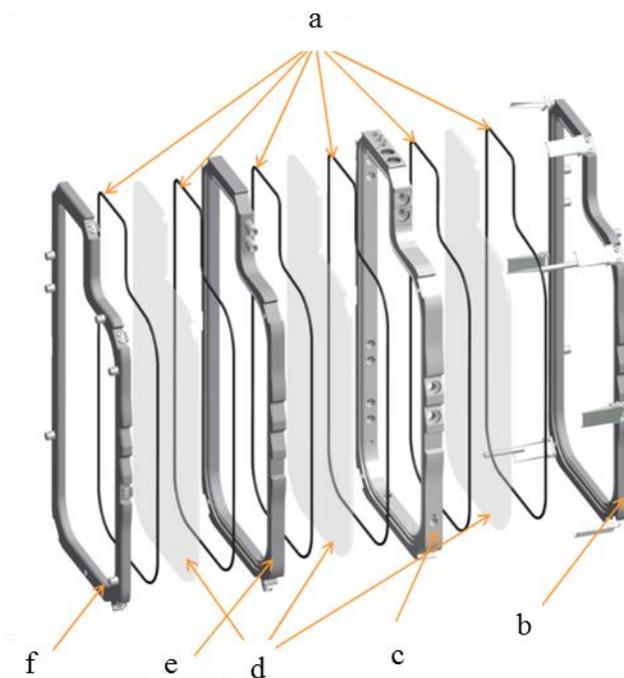


Abb. A-3: Explosivdarstellung des Reaktorgefäßes des Flachplattenphotobioreaktors Labfors 5 LUX (Infors HT 2016).

- | | |
|------------------------------------|--|
| a: O-Ringe | d: Trennscheiben aus Borsilikatglas (5,5 mm) |
| b: Außenrahmen der Rückplatte | e: Gehäuse der Temperierkammer |
| c: Gehäuse der Kultivierungskammer | f: Außenrahmen der Rückplatte |

Die Unterteilung des Reaktors in eine Temperier- und eine Kultivierungskammer erfolgt über insgesamt drei Trennscheiben aus Borsilikatglas der Dicke 5,5 mm (d). Die Kammergröße wird dabei über das eloxierte Aluminiumgehäuse der Temperierkammer (e) sowie über das Edelstahlgehäuse der Kultivierungskammer (c) bestimmt. Der Aufbau wird über eine Front- (b) und über eine Rückplatte (f) aus eloxiertem Aluminium zusammengehalten. Zur Abdichtung der mit Flüssigkeit gefüllten Kammern sind O-Ringe (a) zwischen den Bauteilen eingefügt. Alle eingesetzten Materialien erlauben eine Sterilisation im Autoklaven bei 121 °C.

Tab. A-8: Bauteile, Gerätschaften und Software des Flachplattenphotobioreaktorsystems im Labormaßstab.

Bauteil/Gerät	Bezeichnung	Hersteller
Flachplattenphotobioreaktor (1,8 L)	Labfors 5 LUX	Infors HT, Schweiz
Gelöstsauerstoffsonde	Visi Ferm DO120 (Arc)	Hamilton, Schweiz
Kühlgerät Reaktor	DK1800	Wutke, Schutterwald
Kühlgerät LED	DK2700	Wutke, Schutterwald
pH-Elektrode	Easy Ferm Plus Arc 120	Hamilton, Schweiz
Schlauchpumpe	BVP 501U	Watson Marlow, Großbritannien
Software	IRIS V.6.0	Infors HT, Schweiz

A.3.3 Flaches Schräggerinne FSG 1 (offener Photobioreaktor)

Tab. A-9: Bauteile, Gerätschaften und Software des offenen Photobioreaktors *flaches Schräggerinne*.

Bauteil/Gerät	Bezeichnung	Hersteller
Frequenzumrichter	Movitrac MCLTE B008-5A3-1-40	SEW Eurodrive, Bruchsal
LED-Beleuchtung	-	Futureled, Berlin
Magnetkreislumppe	MKPG 3	Ventaix GmbH, Monschau
pH-Regler	MC122	Milwaukee Instruments, Ungarn
Photobioreaktor (offen)	Flaches Schräggerinne FSG 1	Neßlauer (2015)
Software	Waspote	Libelium, Spanien

A.3.4 Flachplattenphotobioreaktor im Pilotmaßstab (300L)

Zur Prozessübertragung der im Labor verbesserten Prozesse in den Pilotmaßstab wurde ein speziell für Arbeiten im Algentechnikum ausgelegter Flachplattenphotobioreaktor im 300 L-Maßstab eingesetzt. Eine Auflistung der eingesetzten Bauteile und Anlagenkomponenten ist in Tab. A-10 gegeben.

Tab. A-10: Bauteile, Gerätschaften und Software des Flachplattenphotobioreaktorsystems im Pilotmaßstab.

Bauteil/Gerät	Bezeichnung	Hersteller
Biomassensensor	OUSBT66	Endress+Hauser, Weil am Rhein
Gelöstsauerstoffsonde	Oxymax COS61D	Endress+Hauser, Weil am Rhein
Kompaktthermometer	TMR31	Endress+Hauser, Weil am Rhein
LED-Anlage	-	FUTURELED, Berlin
Leitfähigkeitssensor	Indumax CLS54D	Endress+Hauser, Weil am Rhein
Mikroalgenforschungsanlage	-	SSC GmbH, Hamburg
Nitratsensor	Viomax CAS51D	Endress+Hauser, Weil am Rhein
pH-Sensor	CPS171D	Memosens, Gerlingen und Berlin
Pumpe Füllstandregelung	Helix-V205-1/16/E/K/400-50	Wilo SE, Dortmund
Pumpe Medienzulauf	MAGDOS LD 1	Lutz-Jesco, Wedemark
Pumpe Umwälzung	Helix-V404-1/16/E/400-50	Wilo SE, Dortmund
Schaltschrank	TS 8	Rittal, Herborn
Wärmetauscher	LEK-09.1300-0.88	Gerberich, Mannheim
Wärmetauscherventil	ER 35.93B.GP6	Valpes Valve control system,

Zur Reinigung der Forschungsanlage wird die gesamte Anlage zunächst mehrfach mit Trinkwasser gespült. Anschließend wird eine maximal einprozentige Wasserstoffperoxidlösung drei bis fünf Tage im Kreislauf geführt. Darüber hinaus werden Natronlauge sowie Zitronensäure eingesetzt, um restlichen Biofilm und Kalkablagerungen zu entfernen. Bei der Verwendung von Säure/Base und Wasserstoffperoxid muss die Messstrecke ausgenommen und die jeweilige Lösung in einem Bypass durch die Prozesseinheit geführt werden. Im Anschluss an den Reinigungsprozess sollte die Anlage erneut mehrfach mit Trinkwasser gespült werden.

A.4 Algentechnikum



Abb. A-4: Algentechnikum auf dem Ludwig Bolkow Campus in Ottobrunn bei München (Foto: Andreas Heddergott/TUM).

- A Hinterer Gebäudeteil: Labore (Erdgeschoss); Technische Räumlichkeiten (Untergeschoss); Klimatechnik (Obergeschoss).
- B Vorderer Gebäudeteil: drei unabhängige Klimasimulationshallen (1, 2, 3).

Die Massenproduktion von Mikroalgen als alternativer Rohstoff zur nachhaltigen Energiegewinnung erfordert neben robust und schnell wachsenden Produktionsstämmen auch adäquate Reaktorsysteme für geeignete Klimazonen auf der Erde. Für eine erfolgreiche Umsetzung solcher Projekte wurde von der Technischen Universität München in Zusammenarbeit mit der Airbus Group auf dem Ludwig Bolkow Campus in Ottobrunn bei München ein neues Algentechnikum speziell für die Untersuchung phototropher Mikroorganismen errichtet. Das Algentechnikum ist in zwei Bereiche gegliedert. Im vorderen Gebäudeteil (B) befinden sich drei unabhängige Klimasimulationshallen (1–3), die eine simultane und unabhängige Durchführung von industrierelevanten Arbeiten an neuartigen Bioprozessen vom Labor- bis in den Pilotmaßstab erlauben. Durch die Glasfassade kann auch natürliches Sonnenlicht genutzt werden. Der hintere Teil des Gebäudes (A) bietet Platz für eine entsprechend ausgelegte Klimaanlage (Obergeschoss) sowie für Labore (Erdgeschoss) und technische Räumlichkeiten (Keller) für die Prozessanalyse und den allgemeinen Betrieb des Algentechnikum.

Im Algentechnikum können charakteristische Klimaszenarien verschiedenster Regionen physikalisch simuliert werden, in denen eine kommerzielle Mikroalgenproduktion denkbar wäre. Dies wird durch eine entsprechende Klimatechnik ermöglicht, welche bezüglich Temperatur und Luftfeuchtigkeit gesteuert werden kann. Ein neuartiges LED-Beleuchtungssystem ergänzt mit einer realitätsnahen Nachahmung des Tageslichtspektrums die natürliche Sonneneinstrahlung im Wellenlängenbereich zwischen 400 und 750 nm. Das Beleuchtungssystem wurde speziell für den Betrieb im Algentechnikum entwickelt (FUTURELED, Berlin). Die Spektrale Verteilung sowie das LED-Muster für künstliches Sonnenlicht sind im Kapitel 4.3.4 in Abbildung 4-9 dargestellt. Ein Salzsilo mit Soleerzeuger neben dem Technikum ermöglicht unter anderem die kontinuierliche

Kultivierung hochsaliner Mikroalgen. Neben geschlossenen Photobioreaktoren werden auch offene Photobioreaktorsysteme für die Forschungsarbeiten eingesetzt.

A.5 Reaktionskinetik des lichtabhängigen Wachstums

A.5.1 Mittlere integrale Photonenflussdichten für *S. obtusiusculus*

Tab. A-11: Zusammenfassung der mittleren integralen Photonenflussdichten I^{**} in $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ sowie der Hauptergebnisse der 15 Prozesse zur Charakterisierung des lichtabhängigen Wachstums von *Scenedesmus obtusiusculus* in Abhängigkeit der Eingangsphtonenflussdichte I_0 (in $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Eingangsphtonenflussdichte I_0	I^{**} (Lambert-Beer)	I^{**} (Schuster)	Wachstumsrate, h^{-1}	Biomassekonzentration, $\text{g}_{\text{BTM}} \text{L}^{-1}$	Raum-Zeit-Ausbeute $\text{g}_{\text{BTM}} \text{L}^{-1} \text{d}^{-1}$	E_a , $\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$	E_s , $\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$
102	65	94	0,054	$2,30 \pm 0,21$	$0,33 \pm 0,02$	7.811	891
248	146	244	0,104	$3,31 \pm 0,16$	$0,74 \pm 0,06$	6.438	1005
394	192	365	0,157	$3,93 \pm 0,16$	$0,89 \pm 0,04$	9.458	687
540	256	413	0,174	$3,83 \pm 0,13$	$0,95 \pm 0,03$	24.968	482
665	363	622	0,205	$4,52 \pm 0,18$	$1,05 \pm 0,04$	8.996	577
811	475	770	0,214	$4,54 \pm 0,23$	$1,08 \pm 0,05$	6.069	607
1082	570	1072	0,204	$4,42 \pm 0,18$	$1,04 \pm 0,04$	2.407	620
1228	664	1174	0,206	$4,87 \pm 0,18$	$1,22 \pm 0,04$	4.284	593
1374	755	1254	0,225	$4,95 \pm 0,16$	$1,23 \pm 0,04$	8.902	472
1646	918	1609	0,215	$4,40 \pm 0,23$	$1,06 \pm 0,06$	1.553	452
1917	998	1872	0,226	$4,14 \pm 0,07$	$1,00 \pm 0,01$	1.284	425
2334	1341	2289	0,216	$3,96 \pm 0,14$	$0,97 \pm 0,03$	1.706	372
2960	1984	2876	0,233	$3,47 \pm 0,13$	$0,93 \pm 0,04$	2.535	403
3377	2140	3311	0,188	$3,78 \pm 0,13$	$0,93 \pm 0,03$	1.706	372
3794	2723	3764	0,204	$3,10 \pm 0,23$	$0,82 \pm 0,06$	0.770	386

A.5.2 Lichtabschwächung im Flachplattenphotobioreaktor

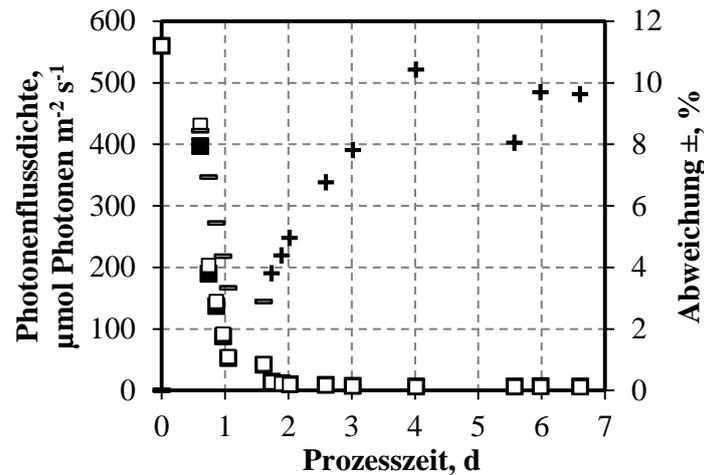


Abb. A-5: Einfluss von Gasblasen auf die Absorptionsmessung auf der Reaktorrückseite zur Charakterisierung der Lichtabsorption von *Scenedesmus obtusiusculus* im Flachplattenphotobioreaktor ($I_0 = 560 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$). + bedeutet, dass die Messung mit Gasblasen (■) höher war als die Messung ohne Gasblasen (□). – entspricht einer negativen Abweichung.

A.5.3 Mathematische Herleitung der mittlere integralen Photonflussdichte

Zur Berechnung der mittleren integralen Photonflussdichten wurde in dieser Arbeit ein neuer Ansatz entwickelt:

$$I^{**} = \frac{1}{\Delta t_{exp}} \int_{t_{Anfang exp}}^{t_{Ende exp}} I^*(t) dt \quad \text{Gleichung A-1}$$

Mit Lambert-Beers und Schusters Lichttransfermodell sowie der Substitution

$$\frac{dc_x}{dt} = \mu \cdot c_x \leftrightarrow dt = \frac{dc_x}{\mu \cdot c_x} \quad \text{Gleichung A-2}$$

ergab sich für das Gesetz von Lambert und Beer (Gleichung 3-18, Kapitel 3.4.2) folgende analytische Lösung:

$$I^{**} = \frac{I_0}{\Delta t_{exp} \cdot \varepsilon \cdot S \cdot \mu} \left[\frac{\varepsilon \cdot S \cdot c_x \cdot Ei(-\varepsilon \cdot S \cdot c_x) + e^{-\varepsilon \cdot S \cdot c_x} - 1}{c_x} \right]_{c_x \text{ Anfang exp}}^{c_x \text{ Ende exp}} \quad \text{Gleichung A-3}$$

Ei ist dabei die Integralexponentialfunktion:

$$Ei(x) = \gamma + \ln|x| + \sum_{k=1}^{\infty} \frac{x^k}{k! \cdot k} \quad \text{Gleichung A-4}$$

γ beschreibt die Euler-Mascheroni-Konstante:

$$\gamma = \int_1^{\infty} \left(\frac{1}{|x|} - \frac{1}{x} \right) dx = 0,57721 \dots \quad \text{Gleichung A-5}$$

Für die mittlere integrale Photonenflussdichte nach Schusters Modell (Gleichung 3-21, Kapitel 3.4.2) ergab sich folgende Gleichung:

$$I^{**} = \frac{2 \cdot I_0}{\Delta t_{exp} \cdot \mu} \int_{c_x \text{ Anfang exp}}^{c_x \text{ Ende exp}} \left[\frac{e^{\delta \cdot c_x \cdot S}}{\delta \cdot c_x^2 \cdot S \cdot (e^{\delta \cdot c_x \cdot S} - \alpha + \alpha \cdot e^{\delta \cdot c_x \cdot S} + 1)} \right] dc_x \quad \text{Gleichung A-6}$$

A.5.4 Mittlere integrale Photonenflussdichten für *S. ovalternus* SAG 52.80

Tab. A-12: Mittlere integrale Photonenflussdichten für *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 im Flachplattenphotobioreaktor, berechnet mit Schusters Lichtabschwächungsmodell.

Eingangsphtonenflussdichte I_0 , $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	Mittlere integrale Photonenflussdichte I^{**} , $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	Spezifische Wachstumsrate μ , h^{-1}	E_a , $\text{m}^2 \text{ kg}^{-1}$	E_s , $\text{m}^2 \text{ kg}^{-1}$
102	76	0,032	35,0352	422
248	187	0,055	12,1649	432
373	394	0,078	0,0001	360
561	620	0,099	0,6820	448
749	694	0,108	6,8456	303
874	928	0,107	1,5353	385
1291	1258	0,119	2,8449	321
1500	1362	0,117	16,0560	215
1708	1554	0,112	1,8463	303
1917	1600	0,110	2,1574	260
2125	1785	0,104	6,8572	231
2543	2188	0,101	27,7404	262
2960	2498	0,103	3,4828	307
3794	3161	0,091	4,0383	465

A.6 Maßstabsvergrößerung in den Pilotmaßstab (14 m², 300 L)

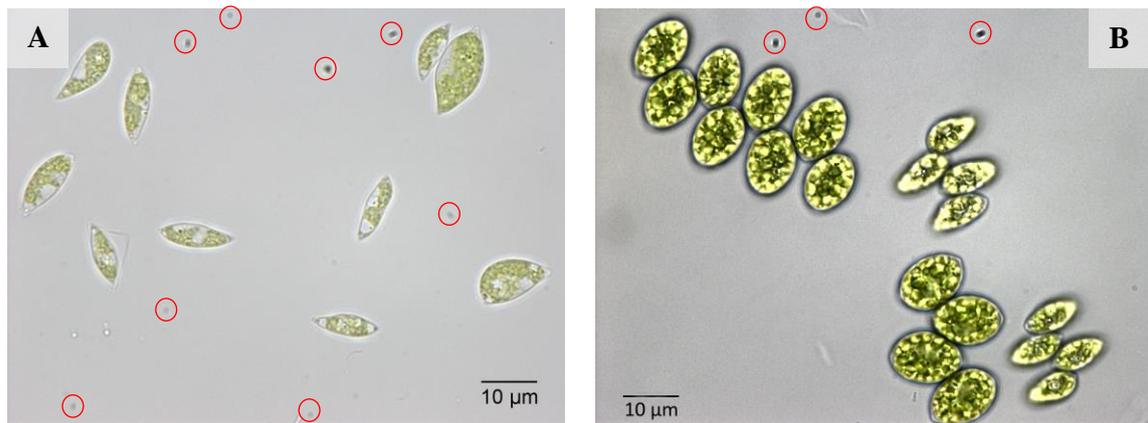


Abb. A-6: Mikroskop-Aufnahme von *Scenedesmus obtusiusculus* (A) und *Scenedesmus ovalternus* SAG 52.80 (B) während eines Prozess im Flachplattenphotobioreaktor im Pilotmaßstab (Hellfeld, 100x Vergrößerung). Kontaminanten sind mit Kreisen gekennzeichnet.