

Untersuchung für die Eignung von *Arthrospira platensis* zur  
heterotrophen Kultivierung und dem Einsatz von Abfallströ-  
men zur Substratsubstitution

Bachelorarbeit

im Bereich  
Biotechnologie  
der Fakultät Life Sciences,  
HAW Hamburg

Denius Kusminskas

Martikelnr.: XXXXXXXXXX

28. Oktober 2019

**Erstgutachter:** Prof. Dr. J. Andrä  
**Zweitgutachter:** Dr.-Ing. N. Wieczorek

# INHALT

Zusammenfassung .....	VIII
Abstract .....	VIII
1 Einleitung.....	1
2 Zielsetzung.....	3
3 Grundlagen.....	4
3.1 Wachstumskinetik .....	4
3.2 Kultivierungstechnik .....	5
3.3 Cyanobakterien .....	6
3.3.1 <i>Arthrospira (Spirulina) platensis</i> .....	7
4 Material & Methoden .....	9
4.1 Aufbau und Durchführung.....	9
4.2 Nährmedium .....	10
4.3 Quantifizierung Zelldichte.....	12
4.3.1 Gravimetrische Messung.....	12
4.3.2 Messung der optischen Dichte .....	12
4.4 Berechnung Wachstumsrate .....	13
4.5 Kohlestoffbestimmung in Abfallgewässern .....	13
4.6 Quantifizierung des pH-Wertes .....	13
4.7 Quantifizierung der Strahlungsintensität.....	13
4.8 Quantifizierung der Temperatur.....	14
5 Ergebnisse .....	15
5.1 Photoautotrophe Wachstumsbedingungen.....	15
5.2 Mixotrophe Wachstumsbedingungen.....	17
5.3 Heterotrophe Wachstumsbedingunge.....	19
5.4 Kultivierung mit Monosacchariden.....	21
5.5 Kultivierung mit Abfällen.....	26
6 Diskussion.....	29
6.1 Fehlerbetrachtung.....	29
6.2 Vegetative Zellteilung von <i>A.platensis</i> , photoautotrophen Bedingungen .....	31
6.3 Einfluss von Monosacchariden (C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> ) und Abwässer .....	32
6.4 Plattierung .....	34
6.5 Überprüfung der Hypothesen.....	35
7 Fazit & Ausblick .....	37

8	Literaturverzeichnis.....	38
9	Anhang.....	41
9.1	Tabellen .....	41
9.2	Abbildungen.....	60
	Versicherung an Eides statt .....	61

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1 BTM-Reihe A bis D der photoautotrophen Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 216 Stunden. Gezeigt wird die BTM als $\ln(x)$ . ....	16
Abbildung 2 Daten-Reihen A bis D von $\Delta OD$ der photoautotrophen Kultivierungsdauer über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden .....	16
Abbildung 3 Daten-Reihen A bis D von pH der photoautotrophen Kultivierungsdauer über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden .....	16
Abbildung 4 BTM-Reihe A bis D der mixotrophen Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 216 Stunden. Gezeigt wird die BTM als $\ln(x)$ , welche in Wachstumsphasen eingeteilt sind .....	18
Abbildung 5 Daten-Reihe A bis D von $\Delta OD$ der photoautotrophen Kultivierungsdauer über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden .....	18
Abbildung 6 Daten-Reihe A bis D von pH der photoautotrophen Kultivierungsdauer über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden .....	18
Abbildung 7 Alle OD Daten der Kultivierungsreihen $0,1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; $0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ .....	19
Abbildung 8 Alle pH-Wert Daten der Kultivierungsreihen $0,1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; $0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ....	19
Abbildung 9 BTM-Reihe A bis D von der Kultivierung in Dunkelheit über die Kultivierungsdauer von 240 Stunden. Gezeigt wird die BTM als $\ln(x)$ bei einer Startkonzentration Glucose von $0,1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ .....	20
Abbildung 10 BTM-Reihe A bis D der Kultivierung in Dunkelheit über die Kultivierungsdauer von 240 Stunden. Gezeigt wird die BTM als $\ln(x)$ bei einer Startkonzentration Glucose von $0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ .....	20
Abbildung 11 BTM-Reihe A bis C von der Kultivierung in Dunkelheit über die Kultivierungsdauer von 240 Stunden. Gezeigt wird die BTM als $\ln(x)$ bei einer Startkonzentration Glucose von $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ .....	20
Abbildung 12 BTM-Reihe A bis D der mixotrophen Kultivierung bis 312 Std. Kultivierungsdauer. Gezeigt wird die BTM als $\ln(x)$ bei einer Startkonzentration Glucose von $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ .....	22
Abbildung 13 Daten-Reihe A bis D von $\Delta OD$ der mixotrophen Glucose $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden .....	22
Abbildung 14 Daten-Reihe A bis D von pH der mixotrophen Glucose $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden .....	22
Abbildung 15 BTM-Reihe A bis D der mixotrophen Kultivierung bis 312 Std. Kultivierungsdauer. Gezeigt wird die BTM als $\ln(x)$ bei einer Startkonzentration Fructose von $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ .....	23
Abbildung 16 Daten-Reihe A bis D von $\Delta OD$ der mixotrophen Fructose $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden .....	23
Abbildung 17 Daten-Reihe A bis D von pH der mixotrophen Fructose $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden .....	23

Abbildung 18 BTM-Reihe A bis D der mixotrophen Kultivierung bis 312 Std. Kultivierungsdauer. Gezeigt wird die BTM als $\ln(x)$ bei einer Startkonzentration Mannose von $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ .....	24
Abbildung 19 Daten-Reihe A bis D von $\Delta\text{OD}$ der mixotrophen Mannose $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden.....	24
Abbildung 20 Daten-Reihe A bis D von pH der mixotrophen Mannose $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden .....	24
Abbildung 21 BTM-Reihe A bis D der mixotrophen Kultivierung bis 312 Std. Kultivierungsdauer. Gezeigt wird die BTM als $\ln(x)$ bei einer Startkonzentration Galactose von $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ .....	25
Abbildung 22 Daten-Reihe A bis D von $\Delta\text{OD}$ der mixotrophen Galactose $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden.....	25
Abbildung 23 Daten-Reihe A bis D von pH der mixotrophen Galactose $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden .....	25
Abbildung 24 BTM-Reihe A bis D der mixotrophen „Produkt“ $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Kultivierung bis 312 Std. Kultivierungsdauer. Gezeigt wird die BTM als $\ln(x)$ .....	27
Abbildung 25 Daten-Reihe A bis D von $\Delta\text{OD}$ der mixotrophen „Produkt“ $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden.....	27
Abbildung 26 Daten-Reihe A bis D von pH der mixotrophen „Produkt“ $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden .....	27
Abbildung 27 BTM-Reihe A bis D der mixotrophen „Abwasser“ $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Kultivierung bis 312 Std. Kultivierungsdauer. Gezeigt wird die BTM als $\ln(x)$ .....	28
Abbildung 28 Daten-Reihe A bis D von $\Delta\text{OD}$ der mixotrophen „Abwasser“ $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden.....	28
Abbildung 29 Daten-Reihe A bis D von pH der mixotrophen „Abwasser“ $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden.....	28
Abbildung 30 Versuchsaufbau der Kultivierungen in der Sicherheitswerkbank .....	60

## TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1 Spirul Medium. Besteht aus drei Lösungen. Lösung 1 und 2 werden in 500 mL ddAqua gelöst und die Komponenten der Mikronährlösung in einem 1 L. Die Medien sind getrennt voneinander zu sterilisieren und werden danach vermischt. In dieser Durchführung wird keine Sterilisation durchgeführt. Dennoch werden die Lösungen getrennt voneinander angesetzt. ....	11
Tabelle 2 Daten der Abwasser- und Produktanalyse. Gehalt an anorganischen (TIC), organischem (TOC) und absoluten (TC) Kohlenstoff in Abwasser und Produkt. n.n. = nicht nachweisbar .....	13
Tabelle 3 Darstellung von spezifischen Wachstumskenndaten der photoautotrophen Kultivierung der Kultivierungsansätze A bis D ( $\mu$ gibt für eine bestimmte Zeit in h die Wachstumsrate in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ wieder und c gibt für eine bestimmte Zeit in h die Konzentration in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ wieder) .....	16
Tabelle 4 Darstellung von spezifischen Wachstumskenndaten der mixotrophen Kultivierung der Kultivierungsansätze A bis D ( $\mu$ gibt für eine bestimmte Zeit in h die Wachstumsrate in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ wieder und c gibt für eine bestimmte Zeit in h die Konzentration in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ wieder) .....	18
Tabelle 5 Darstellung von spezifischen Wachstumskenndaten der mixotrophen Glucose 1 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ Kultivierung der Kultivierungsansätze A bis D ( $\mu$ gibt für eine bestimmte Zeit in h die Wachstumsrate in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ wieder und c gibt für eine bestimmte Zeit in h die Konzentration in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ wieder) .....	22
Tabelle 6 Darstellung von spezifischen Wachstumskenndaten der mixotrophen Fructose 1 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ Kultivierung der Kultivierungsansätze A bis D ( $\mu$ gibt für eine bestimmte Zeit in h die Wachstumsrate in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ wieder und c gibt für eine bestimmte Zeit in h die Konzentration in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ wieder) .....	23
Tabelle 7 Darstellung von spezifischen Wachstumskenndaten der mixotrophen Mannose 1 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ Kultivierung der Kultivierungsansätze A bis D ( $\mu$ gibt für eine bestimmte Zeit in h die Wachstumsrate in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ wieder und c gibt für eine bestimmte Zeit in h die Konzentration in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ wieder) .....	24
Tabelle 8 Darstellung von spezifischen Wachstumskenndaten der mixotrophen Galactose 1 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ Kultivierung der Kultivierungsansätze A bis D ( $\mu$ gibt für eine bestimmte Zeit in h die Wachstumsrate in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ wieder und c gibt für eine bestimmte Zeit in h die Konzentration in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ wieder) .....	25
Tabelle 9 Darstellung von spezifischen Wachstumskenndaten der mixotrophen „Produkt“ 1 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ Kultivierung der Kultivierungsansätze A bis D ( $\mu$ gibt für eine bestimmte Zeit in h die Wachstumsrate in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ wieder und c gibt für eine bestimmte Zeit in h die Konzentration in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ wieder) .....	27
Tabelle 10 Darstellung von spezifischen Wachstumskenndaten der mixotrophen „Abwasser“ 1 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ Kultivierung der Kultivierungsansätze A bis D ( $\mu$ gibt für eine bestimmte Zeit in h	

die Wachstumsrate in  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  wieder und  $c$  gibt für eine bestimmte Zeit in  $h$  die Konzentration in  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  wieder) .....28

## ZUSAMMENFASSUNG

Die Produktion von Mikroalgen und deren Wertschöpfung in einem zyklisch geführten Prozess ist ein effizientes Verfahren, um den Rohstoffverlust bei der Herstellung zu minimieren und ein facettenreiches Angebot an kommerziellen Produkten aus der Biomasse zu generieren. Um das wirtschaftliche Interesse für das Bioraffinerie Konzept zu steigern, muss eine Kostenreduktion erfolgen. Die Verwertung von Abfallressourcen ist eine Möglichkeit, um Biomasse herzustellen, welche als Nährstoffgrundlage und Rohstoff dienen kann.

In diesem Experiment wurde *A.platensis* kultiviert, um anhand von spezifischen Wachstumsdaten die vegetative Zellteilung unter photoautotrophen, mixotrophen und unter Abwesenheit von Licht zu untersuchen. Gemäß der Annahme, dass mit dem Einsatz von Saccharid die Kultur schneller wächst und eine Unabhängigkeit zum Wachstumsfaktor Licht besteht, sollte das Wachstum zusätzlich unter direkter Zuführung von Abfallgewässern getestet werden.

In dieser Arbeit zeigt der Vergleich der Wachstumsdaten deutlich, dass die Verwendung von Saccharid zu kleineren Wachstumsraten von dieser *A.platensis* Kultur führt. Ebenso bildet sich ab, dass Licht trotz der Zugabe von Saccharid ein limitierender Einflussfaktor für das Wachstumsverhalten ist. Der Einsatz von Abfallgewässern als organisches Substrat zeigt ähnliche Ergebnisse wie die gegenübergestellten Kultivierungen mit Saccharid.

Da durch den Einsatz von Abfällen kein steriles Umfeld zur Kultivierung von Reinkulturen gewährleistet werden kann, bleibt genauer zu untersuchen, welchen Einfluss eine umliegende mikrobielle Population auf das Wachstumsverhalten von *A.platensis* hat.

## ABSTRACT

The production of microalgae and their added value in a cyclically controlled process is an efficient method to minimize the loss of raw materials during production and to generate a diverse range of commercial products from biomass. In order to increase the economic interest in the biorefinery concept, costs must be reduced. The utilisation of waste resources is one way to produce biomass which can serve as a nutrient basis and raw material.

In this experiment *A.platensis* was cultivated to study vegetative cell division under photoautotrophic, mixotrophic and the absence of light. In accordance with the assumption that the culture grows faster with the use of saccharide and that there is independence from the growth factor light, the growth was additionally tested under direct feed with waste water.

In this paper, the comparison of the growth data clearly shows that the use of saccharide leads to lower growth rates of this *A.platensis* culture. It is also shown that light is a limiting factor for the growth behaviour despite the addition of saccharide. The use of waste water as an organic substrate shows similar results as the compared cultivations with saccharide.

Since the use of wastes cannot guarantee a sterile environment for the cultivation of pure cultures, the influence of a surrounding microbial population on the growth behaviour of *A.platensis* has to be investigated further.

# 1 EINLEITUNG

Das Bioraffineriekonzept beschreibt eine umfassende Wertschöpfungskette von kommerziellen Produkten, die ihren Ursprung mitunter in der Biomasse von Mikroalgen haben. Die Definition von Biomasse wird nach Biomasseverordnung §2 (1) gegeben und wird umfassend mit der Phyto- und Zoomasse umschrieben. Die Vielfalt an Produkten und deren Gewinnung aus Mikroalgenbiomasse bietet ein kostengünstiges und umweltschonendes Herstellungsverfahren. Eine Definition kann nach unterschiedlichen Kriterien erfolgen, wie beispielsweise nach dem Rohstoff, der Verarbeitungsprozesse, oder der Endprodukte [Arnold et al., 2011].

Die mögliche Produktpalette deckt, nach Heining (2016), ein facettenreiches Spektrum an *low*-, *mid*- und *high-value* Produkten ab. Aktuell werden phototrophe Mikroorganismen wie die Grünalge *Chlorella*, oder das Cyanobakterium *Arthrospira platensis* unter dem Begriff *neutraceuticals* gehandelt und finden einen positiven Absatz in Ländern wie Japan und Mexiko [Heining, 2016]. Zu ausgewählten Produkten zählen Pigmente, oder Fettsäuren für die Biodieselherstellung. *High-value* Produkte können mehrfach ungesättigte Fettsäuren sein, sowie weitere intra- und extrazellulär Polysaccharide, die ein pharmazeutisches Anwendungspotential besitzen. [Borowitzka, 2013; Leu & Boussiba, 2014; Santillan, 1982]. Darüber hinaus treten phototrophe Mikroorganismen immer mehr in den Fokus der pharmazeutischen Anwendung. Die Herstellung von rekombinanten Proteinen mit Bakterien zeigen unerwünschte Glycolysierungen, die zu Nebenwirkungen des Medikaments führen können. Die Herstellung mit Mikroalgen besitzt den Vorteil, dass das pflanzliche Glycolysierungsmuster homogener und dadurch effektiver zu entfernen ist [Yan, 2016].

Hergestellte Abfallstoffe, wie Kohlenstoffdioxid und Zellrückstände, werden innerhalb einer zyklischen Prozessführung verwertet und gewonnene Rohstoffe dem Prozess wieder zugeführt. Das Recycling von Rohstoffen trägt dazu bei Ressourcenverluste zu minimieren, sodass Kosten für den Rohstoffeinsatz gesenkt werden können [Zhu, 2015]. Die Kultivierung von phototrophen Organismen im Rahmen dieses Konzepts birgt Vorteile wie die vollständige Verwertbarkeit der Ressourcen, als auch die Möglichkeit zusätzliche Stoffströme aus anderen Prozessen der Kultivierung zu zuführen und zu verwerten, wie die Kohlenstoffdioxid-Begasung, welche beispielsweise zuvor aus einem Verbrennungsprozess abgeleitet wurde [Wieczorek, 2019].

Die Kombination von technischen Systemen mit biologischen Einheiten, welche zur Umwandlung chemischer Verbindungen eingesetzt werden, ist ein vielversprechendes Konzept, um *low*-, *middle*- und *high-value* Produkte kostengünstig zu produzieren [Festel, 2004]. Die Bioraffinerie, nach Definition des Endberichtes von BioCouples, gibt ein Konzept wieder, dass die stoffliche sowie chemische Umwandlung in wertschöpfende Stoffe beschreibt. Nach Art und Beschaffenheit der Biomassen, als hauptsächlicher Inputträger der Raffination, werden biologische Wertstoffe gewonnen [Arnold et al., 2011].

Um das wirtschaftliche Interesse dieses Konzeptes zu steigern und somit die Etablierung zu fördern, ist eine Kostenreduktion in der Produktion vorgesehen, sodass kostenintensive Rohstoffe, welche als Eingangsmaterial dienen, durch recycelte Abfälle ergänzt oder ersetzt werden sollen. Hier bietet sich eine erneute Rückführung von Stoffströmen an und verweist auf ein grundlegendes Kriterium um Kosten einzusparen und zwar durch die Minimierung von Ressourcenverlusten. Der Ansatz einer ökologischen Abwasserreinigung von Gutzeit (2006) mittels einer Algen-Bakterien-Biomasse, die mit der Flockenbildung immobilisiert und stabilisiert wurde, zeigt ein kostengünstiges Konzept, um beispielsweise in ökonomisch schwachen Regionen eine effiziente Methode zur Wasserreinigung bereitstellen zu können [Gutzeit, 2006].

Da bereits Naturvölker Südostasiens, Nordamerikas und Zentralamerikas diese Art von Biomasse als Nahrungsquelle erzeugten [Ortega, 1972], ist gesichert, dass diese Art mit einer theoretischen Wiederverwertung von ungefährlichen, organischen Abfallsubstraten als Nahrungsquelle erfolgen kann. In diesem Experiment wird das Cyanobakterium *Arthrospira* (früher *Spirulina*) *platensis* genutzt, um eine Assimilation von organischen Kohlenstoffquellen zu untersuchen, um dadurch eine Potentialeinschätzung zu erhalten, in wie weit der Organismus für das Recycling von Nährstoffen aus Abfallgewässern geeignet ist.

## 2 ZIELSETZUNG

Das Ziel der Bachelorthesis ist ein Erkenntnisgewinn zu dem Wachstumsverhalten von *Arthrospira (Spirulina) platensis* unter der Verwendung von organischen Substraten. Hintergrund der Untersuchungen ist es, ein mögliches Recyclingkonzept zu realisieren, um Nährstoffe aus den anfallenden Abfallströmen aus Industrie und Wirtschaft in den Stoffkreislauf zurückzuführen. Die Wahl der organischen Verbindungen, welche als Kohlenstoffquelle dienen, beschränken sich hier aufgrund des zeitlichen Rahmens dieser Arbeit auf vier Monosaccharide spezifischer Hexosen. Die Auswahl der zu testenden Verbindungen wurde auf der Grundlage einer möglichen metabolischen Verwendbarkeit getroffen, um den Erfolg der Herstellung von Biomasse zu gewährleisten. Die Substrate Glucose und Fructose führen zu einem Wachstum [Mühling, 2005], während Mannose und Galactose wegen der natürlichen Verfügbarkeit sowie der vermehrten Präsenz in Nahrungsmitteln ausgewählt wurden. Um die Thesis möglichst aussagekräftig darstellen zu können, werden eine Vielzahl spezifischer Wachstumsdaten der Kulturen, wie Biotrockenmasse und optische Dichte, jeweils unter photoautotrophen, heterotrophen und mixotrophen Wachstumsbedingungen protokolliert. Ebenso werden Daten zu Umwelteigenschaften aufgezeichnet, wie Temperatur, Licht und pH-Wert des Mediums.

Führend zur Thesis werden die folgenden Hypothesen anhand von Literatur formuliert, sodass eine Eingrenzung des Untersuchungsbereichs erfolgt. Basierend auf diesen wird die Fragestellung hinblickend des Konzepts der Bioraffinere diskutiert und näher erläutert.

1. Bei der Kultivierung der vorliegenden Kultur von *A.platensis* äußert sich die Zugabe von organischen Verbindungen in einer höheren spezifischen Wachstumsrate im Vergleich zu der einer photoautotrophen Kultivierung.
2. Die vorliegende Kultur *A.platensis* wächst mit einem heterotrophen Metabolismus mit Saccharid, hier Glucose, bei Abwesenheit von Strahlung.
3. Bei der Kultivierung der vorliegenden Kultur von *A.platensis* äußert sich die Zugabe von unbehandeltem Abwasser im Vergleich zu anderen Sacchariden in einer gleichen spezifischen Wachstumsrate.

### 3 GRUNDLAGEN

Um ein wesentliches Verständnis der Zusammenhänge dieses Experimentes zu erlangen, werden technische und wissenschaftliche Grundlagen erläutert. Hierfür werden nachfolgend die Kultivierungstechnik von phototrophen Organismen erläutert und die molekularbiologischen bzw. genetischen Eigenschaften des Zielorganismus dargelegt.

#### 3.1 WACHSTUMSKINETIK

Die mathematische Beschreibung des Wachstumsmodells basiert auf der vegetativen Zellteilung von einzelligen Organismen, was durch die Zweiteilung einer jeden Zelle zu einem exponentiellen Wachstum (der exponentiellen Phase) der Kultur führt. In dieser Phase stellt sich eine Wachstumsgeschwindigkeit (auch Wachstumsrate) ein, welche je nach vorherrschenden Wachstumsbedingungen spezifisch für die jeweilige Art ist. Unter natürlichen Lebensbedingungen wird aufgrund der hohen Komplexität der Einflussfaktoren, sowie deren Anzahl, eine Reduzierung der Faktoren vorausgesetzt, um ein Modell der Wachstumskinetik erstellen zu können. Bei der Betrachtung wird auf ein polyseptisches Populationssystem verzichtet, sodass minore Populationen zu vernachlässigen sind [Chmiel, 2018].

Die Modellbeschreibung betrachtet eine monoseptische Kultur, welche unter konstanten Wachstumsbedingungen, wie pH-Wert des umliegenden Mediums, Temperatur, Substratkonzentration und einer homogenen Verteilung der Stoffe, zu einer vegetativen Zellteilung führt. Essentiell für die Modellbildung sind folgend nach Chmiel (2006) genannte Kriterien:

- „alle Zellen haben eine einzige „Eigenschaft“: sie haben reaktionsfähige Masse
- alle Zellen sind unsterblich und immer absolut teilungsfähig
- alle Zellen können zu jeder Zeit mit maximaler Kapazität zu wachsen beginnen
- alle Zellen sind völlig identisch und von konstanter Zusammensetzung
- die betrachtete Population ist sehr groß ideal asynchron
- keine Zelle verbraucht Rohstoffe für den Erhaltungsstoffwechsel
- keine Zelle wird durch irgendwelche Stoffe inhibiert“

In der ersten Phase des Modells (Anlaufphase), gleicht der Organismus seinen Metabolismus den Bedingungen des Mediums und den Umweltbedingungen an. Sobald der vegetative Organismus sein Potential zur Substratassimilierung aufgebaut hat, tritt die Population in einen Übergangszustand ein, in der die Reaktionsgeschwindigkeit zunimmt (Übergangsphase I). Die benötigte Zeit in der das Substrat durch die Zellmembran tritt, um zum Reaktionsort zu gelangen, wird nicht berücksichtigt. Durch eine Annahme einer konstanten Reaktionsgeschwindigkeit zwischen anabolischem und katabolischen Metabolismus wird die exponentielle Wachstumsrate erreicht. Die autokatalytische Reaktion wird durch ihre spezifische Substratabhängigkeit limitiert, sodass mit exponentiell steigender Zellkonzentration, eine exponentielle Abnahme des Substrates vorliegt. Mit der steigenden Abnahme der Substratkonzentration, fällt die Wachstumsrate der Kultur, womit das Wachstum in die Übergangsphase II eintritt. Die momentane Änderung der Biomasse bei hohen Zellkonzentrationen

führt oft zu kurzen Übergangsphasen. Ausnahmen bilden Reaktionen mit geringen Substratspezifität, sind aber nicht die Regel. Ohne die erneute Zugabe des limitierten Faktors tritt das Wachstum in die stationäre Phase des Wachstums ein. Mit der vermehrten Ausschüttung von Sekundärmetaboliten, oder anderweitigen wachstumsentkoppelten Metaboliten wird die Qualität der Wachstumsbedingungen verändert und kann, neben einer Inhibition, zur Elimination der vegetativen Zellteilung führen. Dadurch tritt die Kultur in die Absterbephase ein, in der die Zelllysis zunimmt [Chmiel, 2006].

Die mathematische Beschreibung der spezifischen (maximalen) Wachstumsrate nach Chmiel (2006) sieht wie folgt aus:

$$\mu_{max} = \frac{\ln(x) - \ln(x_0)}{t - t_0} \quad (1)$$

$\mu_{max}$  = spezifische Wachstumsrate in  $g \cdot L^{-1} \cdot h^{-1}$

$x$  = momentane Zelltrockenmasse (Biotrockenmasse)

$x_0$  = Zelltrockenmasse zum Start des Wachstum

$t$  = Zeit der momentanen Zelltrockenmasse

$t_0$  = Zelltrockenmasse zum Startzeitpunkt

In Hinblick auf eine mögliche Produkterzeugung ist in Cyanobakterien die Herstellung von Sekundärmetaboliten generell in der exponentiellen und der stationären Phase zu beobachten [Rippka, et al., 1981] und hängt im Wesentlichen von der Lichtintensität sowie -qualität, der Temperatur, pH-Wert, die Verfügbarkeit von Nährstoffen wie Phosphor und Stickstoff und bei einigen Arten von der Anwesenheit von Vitamin B<sub>12</sub> ab [Rippka, et al., 1981].

### 3.2 KULTIVIERUNGSTECHNIK

Im Wesentlichen ist die Kultivierung von phototrophen Mikroorganismen von Licht, pH-Wert, Temperatur, sowie die Zusammensetzung des Mediums abhängig [Posten, 2009].

Die Herausforderung an die Anforderungen von Photobioreaktoren liegt in einem homogenen Eintrag von Strahlungsenergie, um der phototrophe Kultur über die Kultivierungsdauer optimale Wachstumsbedingungen bieten zu können. Zugabe- und Regelungstechnik von pH-Wert und Nährstoffkonzentration sind eine wohl bekannte Thematik der Biotechnologie und findet an dieser Stelle kein Erklärungswert [Heining, 2016].

Licht, als einer der wachstumslimitierenden Faktoren von phototrophen Organismen, erfährt mit der fortlaufend steigenden Zellzahlkonzentration einen zunehmenden Ausschluss, sodass lediglich Zellen an der Oberfläche der Reaktorwände genügend mit Strahlungsenergie versorgt werden können. Demnach muss im kontinuierlichen Kultivierungsverfahren eine

konstante Zelldichte gehalten werden, sodass die Trübung der Suspension und der Strahlungseintrag ein optimales Verhältnis zur erzielenden Wachstumsrate die Kultur haben. Die Abnahme der Strahlungsintensität kann generell nach Lambert Beer'schen Gesetz kalkuliert werden. Weil die Abnahme der Strahlungsintensität nicht nur von der Absorption abhängig ist, sondern auch von der Streuung an der Zelloberfläche werden auch empirische Modelle verwendet, um die Lichtverteilung in einer Mikroalgensuspension genauer abbilden zu können [Acién Fernández, et al., 1997; Béchet, et al., 2013; Cornet, et al., 1995].

Neben der Unterversorgung der Kultur mit Strahlungsenergie ist eine Überversorgung möglich, die sich mit der Photoinhibition des Photosynthesesystems äußert. Zu hohe Strahlungsintensitäten führen zu irreversiblen Schädigungen des Photosynthesesystems, welches sich mit dem Lichtsättigungspunkt einstellt. Die vermehrte Absorption von Strahlungsenergie und die relativ langsamere oxygene Photosynthesereaktion führt zu einem Stau von überschüssiger Energie. Mit steigender Intensität der Strahlung nimmt die Schädigungsrate zu und übersteigt die Reproduktionsrate des Synthesesystems, sodass der vegetative Metabolismus mit dem Photoinhibitions punkt abnimmt. Dabei fällt die Photosyntheserate, sowie auch die Effizienz der Photosynthese. Cyanobakterien haben im Laufe der Evolution Schutzmaßnahmen entwickelt, die für ein Szenario der Photoinhibition Anwendung finden. (siehe 3.3) [Takahashi & Murata, 2008].

### 3.3 CYANOBAKTERIEN

Das natürliche Habitat von Cyanobakterien zeichnet sich durch eine starke Diversität aus, sodass ökologische Nischen wie marinen Gewässern und beispielsweise Böden, Pflanzenoberflächen, Felswände oder Mauerwerke, auch Habitate mit extremen Lebensbedingungen besiedeln werden. Nicht selten liegen sie hier in einem symbiotischen Verhältnis mit anderen mikrobiellen Populationen vor, was auf eine hohe Anpassungsfähigkeit schließen lässt [Falch, 1996; Gromov, 1993].

Mit der prokaryotischen Zellstruktur zeigen die einzelligen-, oder filamentöse Cyanobakterien eine Zugehörigkeit zu den Bakterien und stellen die einzige bekannte *Ordnung* dar, welche in der Klasse der Bacteria die Fähigkeit zur oxygenen Photosynthese besitzen. Dieser Organismus besitzt keine Zellwand, sondern nur eine Zellmembran. Im Fall von filamentösen Arten bindet und stabilisiert das Trichom. Dieser wird Saculus genannt [Tomaselli, 1997].

In botanisch-phykologischen Literaturwerken werden diese Organismen noch als Algen eingeordnet. Für die Begründung wird hier das Vorliegen der oxygenen Photosynthese-Apparatur dargelegt, welches aus zwei Photosystemen (PS) besteht [Nultsch, 1985]

Als Hauptpigment wird Chlorophyll a in den beiden PSI und PSII verwendet. Weiterhin sind Carotinoide als Schutzpigment in der Membran der freiliegenden Thylakoide eingelagert. Sie schützen den Organismus bei zu großen Strahlungsintensitäten und überführen die über-

schüssige Energie in Wärmeenergie. Ein anderer Schutzmechanismus vor zu hohen Strahlungsintensitäten stellt der Abbau von photoaktiven Zentren dar. Die Minderung von PS lässt im Verhältnis die Konzentration der Carotinoide steigen, sodass bei absoluter Auslastung des geminderten PS mehr Schutzpigmente vorhanden sind, die überschüssige Energie kompensieren. Steigt die Strahlungsintensität weiter bildet sich bei beweglichen Arten eine phototaktische Reaktion aus und bewirkt eine negative Bewegung, um der Strahlungsquelle auszuweichen. Die Bewegung wird zumeist aktiv ausgeführt, während andere Arten, denen das Fortbewegungsorgan fehlt, mittels einer Gasvakuole eine Schwimm- und Sinkbewegung ausführen. Diese Eigenschaften sind artspezifisch, sowohl auch die der Neurotoxizität [Nultsch, 1979].

Darüber hinaus besitzen viele filamentöse Arten differenzierte Zellen, Heterocysten, die mit einem spezialisierten Metabolismus, mittels Nitrogenasen, eine Stickstofffixierung des Luftstickstoffes durchführen. Aufgrund der Sensitivität dieser Reaktion gegenüber Sauerstoff besitzen diese Zellen eine zusätzliche Zellmembranschicht aus Glycolipid- und Polysacchariden, die sich der gelösten Sauerstoffkonzentration des Mediums anpasst. Die Addition der N-Fixierung zu der bereits bestehenden CO<sub>2</sub>-Fixierung führt zur einer effektiven Art der Primärproduktion [Castenholz & Waterbury, 1989].

### 3.3.1 *Arthrospira (Spirulina) platensis*

*Arthrospira platensis* ist ein ökonomisch etablierter Produzent von Nahrungsergänzungsmitteln und proteinhaltigen Tierzusatzmehlen. Neben einer Vielzahl an ökologischen Nischen wurde *A. platensis* in wertschöpfenden Maße in den Gewässern Afrikas, Asiens und zentral Amerikas isoliert. So bildet die fadenförmigen Spezies dichte planktonische Kulturen in Süßwassergewässer oder erscheinen als Wasserblüte in eutrophierten Seen [Vonshak, 1997]. Die Taxonomie von *A. platensis* NIES-39 (Taxonomienummer 696747), nach KEGG-Datenbank wird der Klasse der Bakterien zugeordnet [KEGG, 2013].

Dieser Organismus ist ein filamentöses, multizelluläres, nicht Heterocysten bildendes Cyanobakterium. Die spiralförmige Anordnung der Zellen formt eine rechtsdrehende Helix, dessen finale Morphologie von den Bedingungen seiner Umgebung abhängig ist. Diese Form erstreckt sich über den kompletten Verlauf der Zellanordnung und wird in seiner Gesamtheit als Trichom bezeichnet. Der Durchmesser dieser zylindrisch angeordneten Zellen liegt bei 6-12 µm, während ein Trichom eine Länge von 50-500 µm besitzen kann. Die Zellstruktur von *A. platensis* ähnelt dem typischen Aufbau eines Prokaryoten. Neben der nicht klar definierten Region des Zellkerns liegen Plastide im Cytoplasma vor, auf denen die extrachromosomale Erbinformation konserviert ist.

Der gramnegative Organismus besitzt eine mehrschichtige Peptidoglycan Außenhülle, die eine Schichtdicke von 40-60 nm aufweist. Diese wird von einer filamentösen Hülle mit einer Dicke 0,5 µm umgeben, die sekretorisch über die Peptidoglycanschicht nach außen transportiert wird. Funktional soll die sekretorische Hülle an der Zellbewegung beteiligt sein [Vonshak, 1997].

Die Recherche zu *A. platensis* ergab widersprüchliche Ergebnisse und zeigte in Kultivierungsexperimenten spezifische Wachstumsraten, sodass eine metabolische Verfügbarkeit von organischen Verbindungen nicht ausgeschlossen werden kann. Die Diversität der Unterarten innerhalb einer Art zeigt eine hohe Anpassungsfähigkeit, sodass, verschiedene Unterarten zur Ausbildung verschiedener metabolischer Netzwerke neigen, obwohl ein annähernd gleiches Genom besteht.

Die Verfügbarkeit an experimentellen Daten, welche zur Aufklärung des metabolischen Netzwerks beitragen, ist gering, sodass eine theoretische Rekonstruktion einzelner enzymatischer Reaktionen notwendig ist, um eine optimale Flussverteilung im Metabolismus bei Abwesenheit von Licht zu gewährleisten. Die maximale Verfügbarkeit von energetisch reichhaltigen Verbindungen, wird mit dem Abbau von Glykogen sichergestellt. Die zeitliche Abbaurate bei nicht diazotrophen Cyanobakterien beschränkt sich jedoch ausschließlich auf den Erhalt des Metabolismus, sodass nur geringfügig Energie und Material zum Aufbau von Biomasse bereitgestellt werden kann. Im Vordergrund steht der Erhalt des ATP-Verbrauches [Knoop, 2014].

## 4 MATERIAL & METHODEN

Um das Wachstumspotential bewerten zu können, werden Kultivierungsexperimente durchgeführt, deren wachstumsspezifische Kenndaten Informationen über eine mögliche Verwendung darlegen sollen. Hierzu werden Kenndaten einer photoautotrophen, mixotrophen und einer Kultivierung unter Abwesenheit von Licht aufgenommen, um hinblickend auf eine Kultivierung mit dem Einsatz von echten Abfällen im Vergleich der bereits aufgenommenen Kenndaten eine nähergehende Analyse zu tätigen.

Hierfür werden Nährmedien mit unterschiedlichen Verfügbarkeiten von Kohlenstoffquellen eingesetzt, deren natürlicher Ursprung ein anorganischer und organischer Ursprung ist. Die Methoden umfassen die Messung von Wachstumskennndaten, sowie Umgebungsparameter. Diese spiegeln sich in der Zellkonzentration der BTM und der  $\Delta OD$ , den pH-Wert des Nährmediums, sowie auch der Temperatur und der Strahlungsintensität wieder.

Im ersten Abschnitt dieses Kapitels wird der Versuchsaufbau geschildert. Das Nährmedium besitzt eine zentrale Rolle in diesem Experiment und wird separat im zweiten Abschnitt behandelt, sodass im dritten Abschnitt die Analytik beschrieben wird.

### 4.1 AUFBAU UND DURCHFÜHRUNG

Der verwendete Mikroorganismus *A. platensis* entstammt einem Openpondsystem der Firma *Sea & Sun Technology GmbH* und besitzt keine genau Klassifikation. Das eingesetzte Medium entspricht der Rezeptur des „Spirul“-Mediums der SAG Göttingen (siehe Tabelle 1) und wird für das Experiment als grundlegende Rezeptur beibehalten.

Für die Kultivierung ist für jeden Behälter ein Arbeitsvolumen von 100 ml vorgesehen. Der Eintrag und Austrag von reaktionsfähigen Gasen in die Kulturbrühe, wie Sauerstoff und Kohlenstoffdioxid ist in dieser Versuchsdurchführung nebensächlich, sodass auf die Optimierung des Löslichkeitsverhalten von Gasen verzichtet wird. Entsprechend kann auf den Einsatz von Schüttelkolben und einem passendem Schüttler verzichtet werden, sodass transparente, farblose 100 ml Schottflaschen und Rührplatten für die Kultivierung einzusetzen sind. Der Verschluss der Kulturbehälter erfolgt mittels Stopfen, welche aus Baumwollwatte, Cellulose hergestellt werden. Die Kulturbrühe wird über die komplette Kultivierungsdauer mithilfe von Rührfischen gemischt, um eine homogene Suspension zu gewährleisten.

Die Durchführung der Kultivierung wird innerhalb der Sicherheitswerkbank (SWB) (Gelaire Flow Lab. Type TC 48) durchgeführt. Mit dem Aufbau der Lichtenanlage wird die Funktionalität des Arbeitsraumes der SWB durch die Unterbrechung der laminaren Schutzströmung gestört, sodass es zu der Ausbildung von turbulenten Strömungen kommt und eine Gefährdung des Produktschutzes toleriert werden muss. Die SWB stellt neben seinen Eigenschaften des Produktschutzes und der Möglichkeit des sterilen Arbeitens, die weitere Möglichkeit eine isolierte Umgebung zu schaffen, damit Licht und Temperatur in einem geregelten Maße eingesetzt werden können.

Die zugeführte Strahlungsenergie ist in seiner Qualität, sowie Quantität einer der wichtigste Wachstumsfaktor. Der eingesetzte Strahler der Firma *Bio Green GmbH & Co. KG*, mit einer Glühbringe der Firma *Philips* (Belgium B4 Maser SON-T PIA Plus 70W) wird in geeigneter Höhe über den Kulturbehältern positioniert (Absprache mit Betreuer). Durch ungenauer Versuchsaufbau entsteht eine Verteilung der Strahlungsintensitäten (siehe Anhang Tabelle 11). Die verwendete Kultur wird zur Aufzucht, als auch in der experimentellen Durchführung einer kontinuierlichen Bestrahlung ausgesetzt, um eine dauerhafte Produktion an Biomasse zu erzielen.

Die Temperatur, welche in einem Bereich von 25°C bis 35°C liegen muss, um die Vegetation von *A.platensis* zu fördern [Bär, 2018], wird durch das Anstauen der Umgebungstemperatur in der Sicherheitswerkbank realisiert und beträgt eine durchschnittliche Temperatur von 30°C bis 33°C (siehe Anhang Tabelle 12 bis Tabelle 14). Eine separate Regelung durch eine technische Einrichtung findet nicht statt. Die Aufzeichnung der Temperatur erfolgt diskontinuierlich, einmal am Tag zu Beginn der Messungen, an vier Messpunkten des Kultivierungsbereiches. Ein möglicher Temperaturgradient, über dem Kultivierungsbereich, soll dadurch zu registrieren sein. Die Wattestopfen die bereits als Verschluss der Messbehälter dienen werden für die Befestigung des Temperatursensors verwendet, sodass der Sensor mittig der Messflüssigkeit positioniert ist. Als Messflüssigkeit wird das einzusetzende Medium (Spirul-Medium) verwendet

Die Kultivierungsansätze werden nach einem Schema vorbereitet und angeimpft, um zwischen den Kultivierungsreihen gleiche Bedingungen zu schaffen. Hierfür lässt sich das Schema wie folgt beschreiben:

Um ein entsprechendes Volumen bereitzustellen wird eine 2000 mL Schottflasche verwendet und mit 1700 mL frischem Medium gefüllt. Das Impfmateriale wird aus der Erhaltungskultur durch Zentrifugation bei 7000 rpm bei 2 Minuten gewonnen. Das Konzentrat wird als Impfmateriale eingesetzt. Der Überstand wird dekantiert. Mit der Wiederholung der Zentrifugation und Dekantierung wird eine größere Masse an Impfmateriale gewonnen. Wird der gewünschte Wert der  $\Delta OD$  erreicht ist die Suspension bereit, um auf die einzelnen KAS verteilt zu werden. Mit Hilfe eines 100 ml Messzylinders wird das geforderte Volumen abgefüllt und auf die Kulturbehälter der Versuchsreihen verteilt.

## 4.2 NÄHRMEDIUM

Die Substitution der anorganischen Kohlenstoffquelle durch organischen Verbindungen, hier Monosaccharide, führt zu einer Veränderung der Eigenschaften des Mediums, sodass eine vegetative Zellteilung nicht garantiert werden kann. Die sukzessive Überführung von *A.platensis* mittels eines steigenden Konzentrationsgradienten an organischen Substrat, um eine Adaption an diese Bedingungen zu ermöglichen wird ebenfalls ausgeschlossen, weil der Zeitrahmen dieser Arbeit nicht ausreichend ist. Um dennoch ein optimales Wachstum gewährleisten zu können werden die organischen Substrate als Addition dem Spirul-Medium zugeführt. Die erste- als auch zweite Versuchsreihe beinhaltet die Addition verschiedener

Monosacharide als organischen Kohlenstoffquelle. Die erste Versuchsreihe beinhaltet Glucose in drei Konzentrationsstufen:  $0,1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ . In der zweiten Versuchsreihe werden Glucose, Fructose, Mannose und Galactose eingesetzt mit einer Konzentration von  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ . In der dritten Versuchsreihe wird eine repräsentative Abfallprobe als organisches Substrat eingesetzt. Das Abfallgewässer entstammt der Zuckerherstellung der Firma *Hanseatische Zuckerraffinerie GmbH & Co. KG* und repräsentiert eine Probe des Waschwassers, welches bei der Säuberung der Tanklastfahrzeuge anfällt. Als Referenz zum Abfall wird eine Probe des vermarkteten Produktes (*Hellmi Heller Speisesirup Brotaufstrich fein karamellig*) genommen, bei dem der Abfall anfallen soll.

Tabelle 1 Spirul Medium. Besteht aus drei Lösungen. Lösung 1 und 2 werden in 500 mL ddAqua gelöst und die Komponenten der Mikronährlösung in einem 1 L. Die Medien sind getrennt voneinander zu sterilisieren und werden danach vermischt. In dieser Durchführung wird keine Sterilisation durchgeführt. Dennoch werden die Lösungen getrennt voneinander angesetzt.

Medium	Lösung	Komponente	Einwaage in g	Stammlösung in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Volumen in mL
Spirul- Medium	1	NaHCO <sub>3</sub>	13,61	-	-
		Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	4,03	-	-
		K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5	-	-
	2	NaNO <sub>3</sub>	2,5	-	-
		K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1	-	-
		NaCl	1	-	-
		MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,2	-	-
		CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,04	-	-
		FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,01	-	-
		EDTA	0,08	-	-
	Mikronähr- lösung	Mikronährlö- sung	-	-	5
	Mikronähr- lösung	ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,1	1	-
		MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0,1	1	-
		H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,2	2	-
		Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0,02	0,2	-
		Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,02	0,2	-
		CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0,0005	0,005	-
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O		0,7	-	-	
EDTA	0,8	-	-		

### 4.3 QUANTIFIZIERUNG ZELLDICHTE

Die Zelldichte bzw. Trübung wird gravimetrisch und simultan mittels Messung der optische Dichte bei 560 nm ermittelt.

#### 4.3.1 Gravimetrische Messung

Für die Bestimmung der BTM, werden Rundfilter (VWR; Cat. No.: VWRI516-0869) verwendet, welche zuvor im Trockenschrank bei 105°C für 24 Std. getrocknet werden. Nach der Trocknung und einer Abkühlphase von 30 min. im Exikator werden die Filter ausgewogen ( $m_{Filter,unb}$ ). Nach der Beladung des Filters und einer folgenden Trocknungsphase von weiteren 24Std. bei 105°C werden die Rundfilter zurückgewogen ( $m_{Filter,b}$ ).

Die Differenz der  $m_{Filter,unb}$  und  $m_{Filter,b}$  ergibt die BTM. Wird der Wert der BTM durch das aufgetragene Volumen geteilt, erhält man die Zellmassekonzentration [Marquez, 1993].

$$c_{Zellmasse} = \frac{m_{Filter,b} - m_{Filter,unb}}{V_{Zellen}} = \frac{BTM}{V_{Zellen}} \quad (2)$$

$c_{Zellmasse}$	= Zellmassenkonzentration in $g \cdot L^{-1}$
$m_{Filter,b}$	= Masse des beladenen Filters in g
$m_{Filter,unb}$	= Masse des unbeladenen Filter in g
$V_{Zellen}$	= Volumen der Probe in L

#### 4.3.2 Messung der optischen Dichte

Die Methode der optischen Dichte wird bei einer Wellenlänge von 560 nm durchgeführt. Der Messwert der optischen Dichte einer mikrobiellen Suspension ist abhängig von Beugung, Streuung, Absorption und Reflexion der einzusetzenden Strahlung und zumeist auch von der verwendeten Wellenlänge. Von den genannten physikalischen Phänomenen ist der Streuungsanteil, welche von ungelösten Partikeln im Medium verursacht wird, der Hauptfaktor, der zur Abschwächung der eingehenden Strahlung führt, was als Extinktion zu bezeichnen ist [Madigan & Martinkom, 2009]. Daher wird für die Quantifizierung dieser Messung eine Wellenlänge von 560 nm gewählt, damit die eingetragenen Strahlung nur im geringen Maße von den Pigmenten der Mikroalgen und anderen photophilen Verbindungen absorbiert wird [Schmidt-Hager, 2013; Marquez et al., 1993]. Ebenfalls ist zu beachten, dass der Wert der Messung in einem Intervall von 0,2-0,5 liegen muss, um das lineare Verhalten dieser Methode zu berücksichtigen, sodass reproduzierbare Messergebnisse erzielt werden können [Griffith et al., 2011; Soracco et al., 1983].

#### 4.4 BERECHNUNG WACHSTUMSRATE

Für die Berechnung werden die Zellmassenkonzentrationen verwendet. Dabei werden die Datenreihen mit dem Monod-Modell ausgewertet (siehe 3.1)

#### 4.5 KOHLESTOFFBESTIMMUNG IN ABFALLGEWÄSSERN

Die Bestimmung des Kohlenstoffgehalts wird genutzt, um eine quantitative Aussage über den möglichen Substratgehalt formulieren zu können. Hierzu wird zwischen anorganischen, organischen und dem absoluten Kohlenstoffgehalt unterschieden. Die Analyse erfolgt im hauseigenem Labor des Institutes und ebenfalls nach hauseigner Methode bestimmt.

Die Ergebnisse der Untersuchungen liegen als Massenkonzentration des enthaltenen Kohlenstoffs vor (siehe Tabelle 2). Im Folgenden wird die theoretische Teilchenanzahl von Kohlenstoff in einem Liter auf den theoretischen Gehalt von  $C_6H_{12}O_6$  in einem Liter Volumen bezogen. Mit der Konzentration kann ein entsprechendes Volumen pipettiert werden, um äquivalente Konzentrationen der organischen Substrate zu erhalten.

Tabelle 2 Daten der Abwasser- und Produktanalyse. Gehalt an anorganischen (TIC), organischem (TOC) und absoluten (TC) Kohlenstoff in Abwasser und Produkt. n.n. = nicht nachweisbar

Analyse	Ergebnis
TIC <sub>Abwasser</sub>	n.n.
TOC <sub>Abwasser</sub>	14,32 g·L <sup>-1</sup>
TC <sub>Abwasser</sub>	14,32 g·L <sup>-1</sup>
TIC <sub>Produkt</sub>	n.n.
TOC <sub>Produkt</sub>	59,82g·L <sup>-1</sup>
TC <sub>Produkt</sub>	59,82g·L <sup>-1</sup>

#### 4.6 QUANTIFIZIERUNG DES PH-WERTES

Auf der Grundlage der Verwendung wässriger, hydrophiler Flüssigkeiten wird der pH-Wert mittels einer pH-Elektrode bestimmt. Diese wird vor jedem täglichen Messdurchgang mit entsprechenden Puffern in einem pH-Bereich von 7 bis 10 kalibriert. Die Messung erfolgt separat in Probenbehältern, welche zum Aufbewahren der täglichen Proben genutzt werden.

#### 4.7 QUANTIFIZIERUNG DER STRAHLUNGSINTENSITÄT

Um Strahlungsintensität an den einzelnen Plätzen der KAS zu überprüfen wird ein Sensor verwendet, welcher im PAR Bereich (LI-250A Light Meter) misst. Für die Messung wird der Raum komplett verdunkelt, sodass keine weitere Lichtquelle die Messung beeinflussen könnte. Danach wird der Sensor jeweils planar auf dem jeweiligen Platz positioniert. Der

Sensor LI-250A Light Meter gibt den gemessenen Wert in der Einheit  $\mu\text{mol}$  zurück (siehe Anhang Tabelle 11)

#### 4.8 QUANTIFIZIERUNG DER TEMPERATUR

Die Messung der Temperatur wird mit Messfühlern Temperatursensoren (VWR Thermometer Traceable) in vier Referenzbehälter getätigt, welche über das Kultivierungsfeld verteilt sind, um einen möglichen Temperaturgradienten zu registrieren. Diese sind mit Spirul-Medium gefüllt.

## 5 ERGEBNISSE

Die Darstellung der Ergebnisse bezieht die aufgenommenen Messdaten der Wachstumsparameter ein.

### 5.1 PHOTOAUTOTROPHE WACHSTUMSBEDINGUNGEN

In den ersten 24Std. zeigte sich anhand der BTM Daten kein Wachstum. Die Startmassenkonzentration ist bei 2,0 bis 2,5 g·L<sup>-1</sup>. In der Dauer von 24 bis 72 Std. steigt die Wachstumsrate von jedem Kultivierungsansatz um einen spezifischen Betrag. Hierbei werden Konzentrationen von ca. 5 g·L<sup>-1</sup> erreicht. Mit der 72 Std. stellt sich in jedem Kultivierungsansatz eine spezifische Wachstumsrate ein und steigt auf ihre maximale Zellmassenkonzentration, welche mit der 144 Std. endgültig erreicht ist. Hier zeigen sich trotz unterschiedliche Wachstumsraten gleiche Zellmassenkonzentrationen der Kultivierungsansätze (siehe Tabelle 3). Die Endphase der Kultivierung wird nach 192 Std. erreicht und endet mit der Abnahme der Zellmassenkonzentration (siehe Abbildung 1).

Die Daten der optischen Dichten zeigten bis 144 Std. eine konstant lineare Zunahme. Nach 144 Std. verlaufen die Graphen unregelmäßig. Die Kultivierungsansätze A und D, welche ähnliche Zellmassenkonzentrationen aufwiesen, verlaufen nach 144 Std. in einem gegenteiligen Verlauf bis bei 240 Std. wieder ein einheitliches Wertepaar vorliegt. Danach verläuft Kultivierungsansatz A mit einer größeren Anstiegsrate, als der Kultivierungsansatz D. der Kultivierungsansatz B und C besitzen über die komplette Kultivierungsdauer einen gleichwertigen Verlauf, wobei Kultivierungsansatz B einen stetig höheren  $\Delta OD$  Wert aufweist (siehe Abbildung 2).

Die Daten der pH-Wert Messung zeigen innerhalb der ersten 144 Std. Kultivierungsdauer zwei Anstiegsphasen. Dabei verläuft die erste Anstiegsphase, welche bei 0 bis 72 Std. liegt, mit einer kleineren Geschwindigkeit, als die Anstiegsphase zwischen 72 bis 144 Std. Kultivierungsdauer. Ein maximaler Wert wird mit 144 Std. erreicht. Während dieser Kultivierungsdauer verläuft der Anstieg des pH-Wertes in jedem Kultivierungsansatz ähnlich, wobei jeder Kultivierungsansatz einen konstanten Verlauf aufweist. Mit der pH-Wert Regelung bei 216 Std. zeigt sich nach diesem Zeitraum Zunahme des pH-Wertes bei Kultivierungsansatz A, B und C. Kultivierungsansatz D zeigt einen stagnierenden Endverlauf (siehe Abbildung 3).

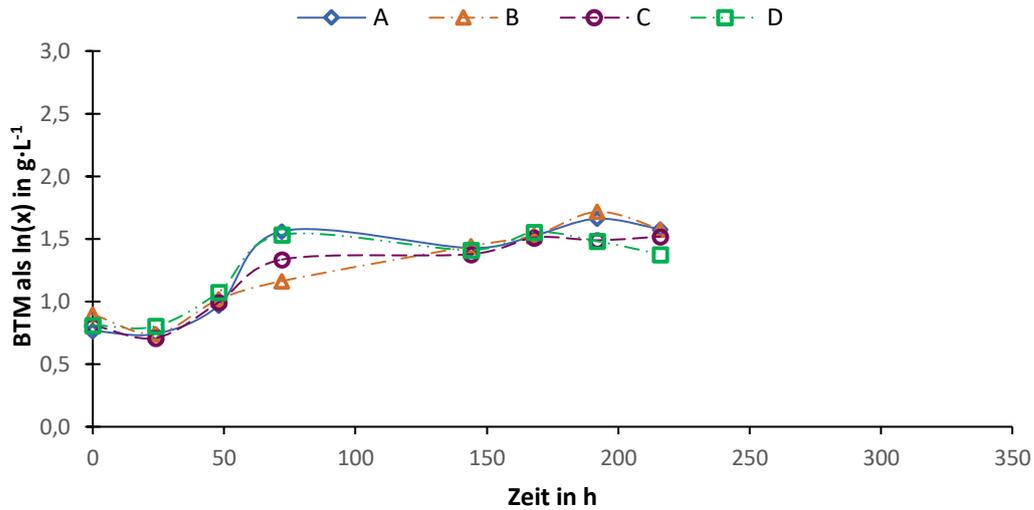


Abbildung 1 BTM-Reihe A bis D der photoautotrophen Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 216 Stunden. Gezeigt wird die BTM als  $\ln(x)$ .

Tabelle 3 Darstellung von spezifischen Wachstumsdaten der photoautotrophen Kultivierung der Kultivierungsansätze A bis D ( $\mu$  gibt für eine bestimmte Zeit in h die Wachstumsrate in  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  wieder und  $c$  gibt für eine bestimmte Zeit in h die Konzentration in  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  wieder)

	Kultivierungsansätze			
	A	B	C	D
$\mu_{\text{max, photo, 48 - 72 h}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	0,0247	0,0061	0,0142	0,019
$c_{\text{max, photo, in}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	5,2667	5,5667	4,5667	4,7333

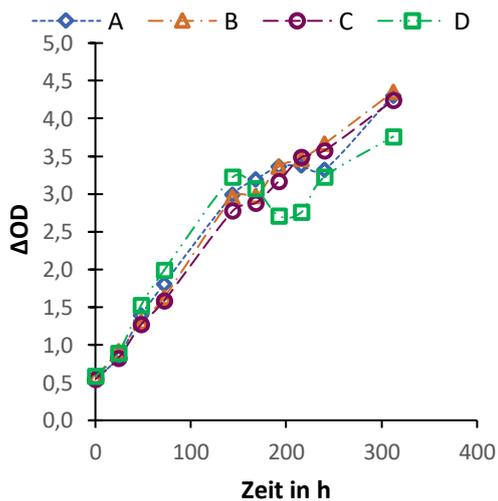


Abbildung 2 Daten-Reihen A bis D von  $\Delta\text{OD}$  der photoautotrophen Kultivierungsdauer über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden

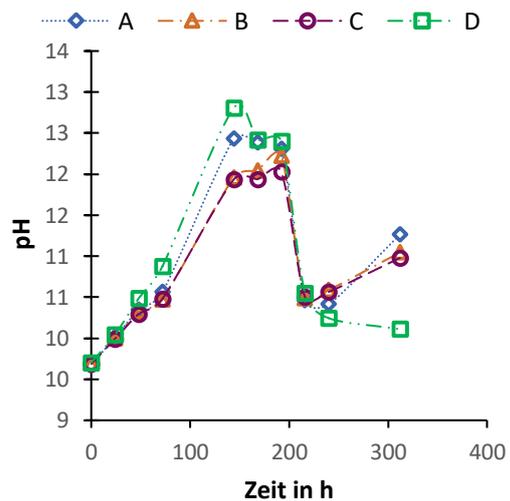


Abbildung 3 Daten-Reihen A bis D von pH der photoautotrophen Kultivierungsdauer über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden

## 5.2 MIXOTROPHE WACHSTUMSBEDINGUNGEN

Zu Beginn der ersten 24 Std. ist ein Abstieg der BTM Datenreihe zu verzeichnen. Nach 24 Std. steigt die BTM mit verschiedenen Wachstumsraten. Die Übergangsphase I ist in den Kultivierungsansätzen A und B kurz, wegen der Zunahme der Wachstumsrate. Die Kultivierungsansätze C und D besitzen eine kleinere Wachstumsrate und zeigen aufgrund der kleineren Zunahmerate der Wachstumsgeschwindigkeit eine stärkere ausgeprägte Übergangsphase I. Deshalb wird die bei der Auswertung der Wachstumsparameter bei Kultivierungsansatz A und B eine Zeit von 24 bis 48 Std. gewählt und bei Kultivierungsansatz C und D eine Zeit von 48 bis 72 Std. ausgewählt. Nach 72 Std. bis zum Ende der Kultivierungsdauer zeigt die BTM einen kleinen Anstieg. Dabei besitzen Kultivierungsansatz A und C die gleiche Zellmassenkonzentration und Kultivierungsansatz B und D die gleiche maximale Zellmassenkonzentration (siehe Tabelle 4) (siehe Abbildung 4)

Die Daten der optischen Dichte zeigen den ersten 24 Std. eine starke Zunahme von  $\Delta OD$ . Innerhalb von 24 bis 72 Std. stagniert der Wert. Nach 72 Std. steigen die Datenreihen der Kultivierungsansätze mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten, die für jeden Kultivierungsansatz spezifisch ist. Während des Anstieges ist eine stagnierende Phase zu erkennen, innerhalb von 144 bis 168 Std. bei Kultivierungsansatz B und D und in der Zeit von 144 bis 192 Std. bei Kultivierungsansatz A und C (siehe Abbildung 5).

Der Verlauf der pH-Wert Messung über die Kultivierungsdauer ergab einen ähnlichen Verlauf, wie es in der Messung der optischen Dichten zu beobachten ist. Jedoch ist zu Beginn ein Abstieg in den ersten 24 Std. des pH-Wertes zu verzeichnen. Danach folge die pH-Kurven dem gleichen Anstiegsverlauf von  $\Delta OD$ . Die Reihenfolge der Wertenniveaus der Kultivierungsansätze zwischen pH und  $\Delta OD$  gleichen sich (siehe Abbildung 6).

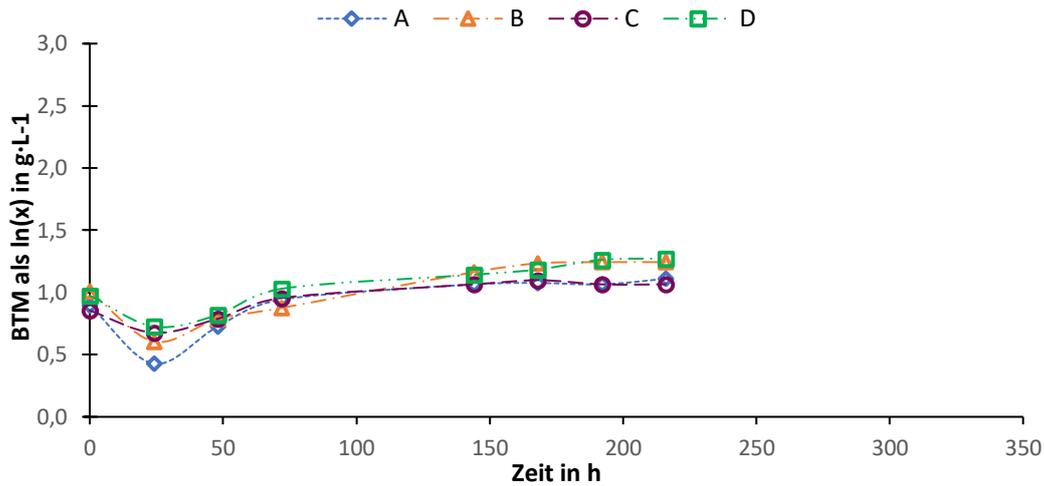


Abbildung 4 BTM-Reihe A bis D der mixotrophen Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 216 Stunden. Gezeigt wird die BTM als  $\ln(x)$ , welche in Wachstumsphasen eingeteilt sind

Tabelle 4 Darstellung von spezifischen Wachstumsdaten der mixotrophen Kultivierung der Kultivierungsansätze A bis D ( $\mu$  gibt für eine bestimmte Zeit in h die Wachstumsrate in  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  wieder und  $c$  gibt für eine bestimmte Zeit in h die Konzentration in  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  wieder)

	A	B	C	D
$\mu_{\max, \text{mixo } 24-48 \text{ h}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	0,0124	0,0076	0,0047	0,0038
$\mu_{\max, \text{mixo } 48-72 \text{ h}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	0,009	0,0036	0,007	0,0088
$\mu_{\max, \text{mixo } 72-216 \text{ h}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	0,0012	0,0026	0,0008	0,0017
$c_{\max, \text{mixo } 24-48 \text{ h}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	3,0333	3,4667	3	3,5667

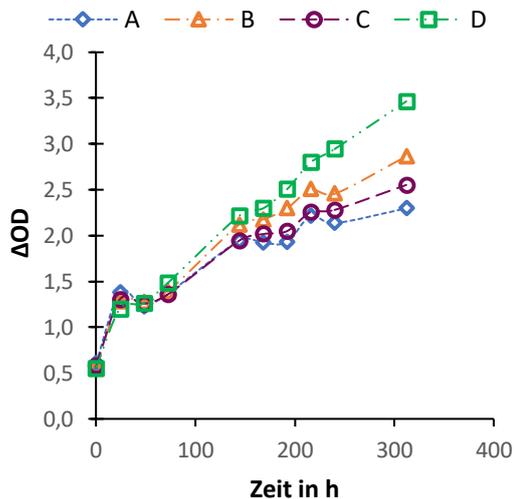


Abbildung 5 Daten-Reihe A bis D von  $\Delta\text{OD}$  der photoautotrophen Kultivierungsdauer über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden

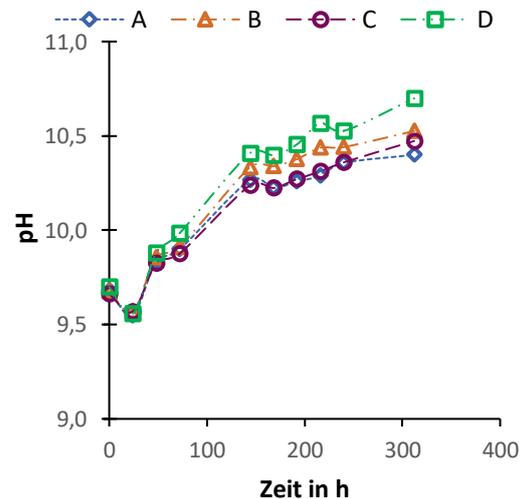


Abbildung 6 Daten-Reihe A bis D von pH der photoautotrophen Kultivierungsdauer über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden

### 5.3 HETEROTROPHE WACHSTUMSBEDINGUNGE

Die Daten der BTM von *A.platensis* unter Abwesenheit von Strahlungsenergie zeigen einen schwankende Wachstumskurve. Diese Schwankung bezieht sich auf den Zeitraum zwischen 96 bis 120 Std. und begleitet die komplette Versuchsreihe, aller drei eingesetzten Konzentrationsstufen. Eine lineare Regression über den Verlauf der Wertepaare zeigt eine abfallende Tendenz für die Kultivierungsreihe mit  $0,1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  Glucose, wobei Kultivierungsansatz C einen stagnierenden Verlauf anzeigt. Der Wachstumsverlauf der Kultivierungsreihe mit  $0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  Glucose zeigt eine steigende Tendenz der Zellkonzentration, wohingegen der Kultivierungsansatz D ein negatives Wachstum wiedergibt. Die Wachstumsrate der Kultivierungsansätze A, B und C sind positiv. Die dritte Konzentrationsstufe zeigt nur einen steigenden Wachstumsverlauf von Kultivierungsansatz B der Kultivierungsreihe mit  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  Glucose, während die anderen Kultivierungsverläufe ebenfalls ein negatives Wachstum besitzen. Der Kultivierungsansatz D besaß nach augenscheinlicher Bewertung nach 24 Std. kein Potential einer vegetativen Zellteilung von *A.platensis*, sodass hierfür keine weiterführenden Daten erhoben wurden (siehe Abbildung 9 bis Abbildung 11).

Die Daten der  $\Delta\text{OD}$  ergaben einen stetigen Zuwachs der Zellmassenkonzentrationen. Mit dem Einsatz einer höheren Konzentrationsstufe des organischen Substrates zeigt sich eine Steigerung der maximal erreichbaren, optischen Dichte, welche nach 48 Std. einen maximalen Wert annahm (siehe Abbildung 7).

Die Daten der pH-Wert Messung zeigen, dass innerhalb der ersten 120 Std. Kultivierungszeit ein linearer Anstieg des pH-Wertes vorliegt. Darauf folgend verändert sich die Geschwindigkeit, mit der der pH-Wert zunimmt (siehe Abbildung 8).

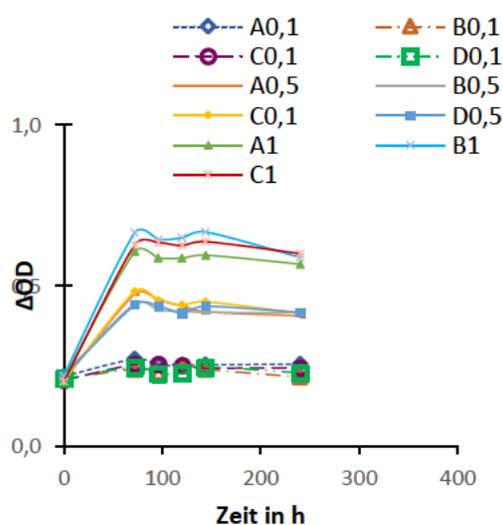


Abbildung 7 Alle OD Daten der Kultivierungsreihen  $0,1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$

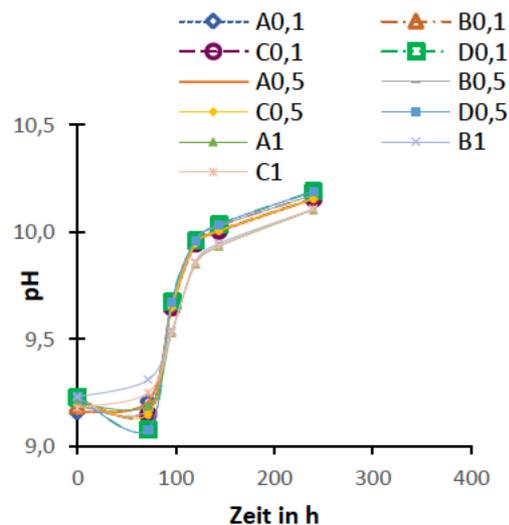


Abbildung 8 Alle pH-Wert Daten der Kultivierungsreihen  $0,1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$

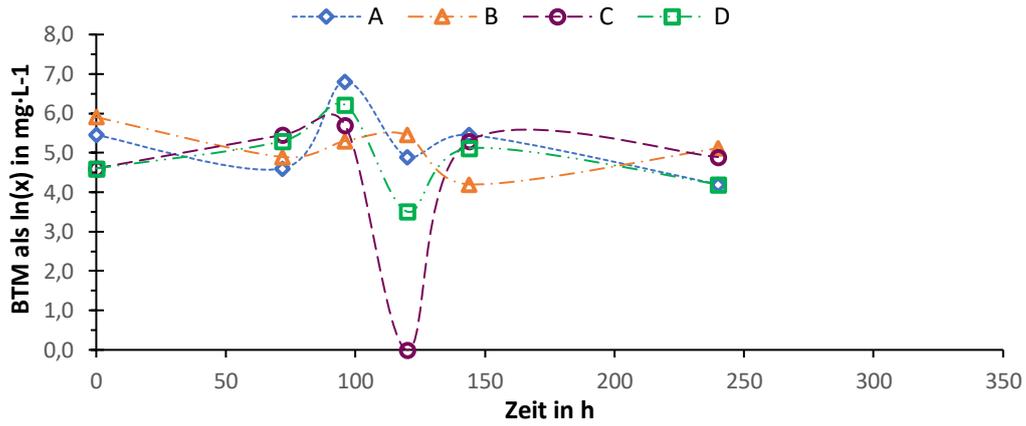


Abbildung 9 BTM-Reihe A bis D von der Kultivierung in Dunkelheit über die Kultivierungsdauer von 240 Stunden. Gezeigt wird die BTM als  $\ln(x)$  bei einer Startkonzentration Glucose von  $0,1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$

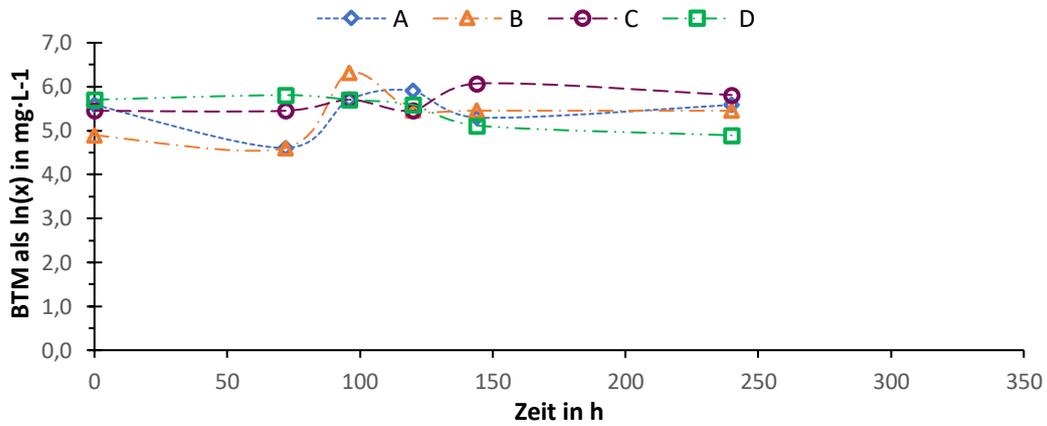


Abbildung 10 BTM-Reihe A bis D der Kultivierung in Dunkelheit über die Kultivierungsdauer von 240 Stunden. Gezeigt wird die BTM als  $\ln(x)$  bei einer Startkonzentration Glucose von  $0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$

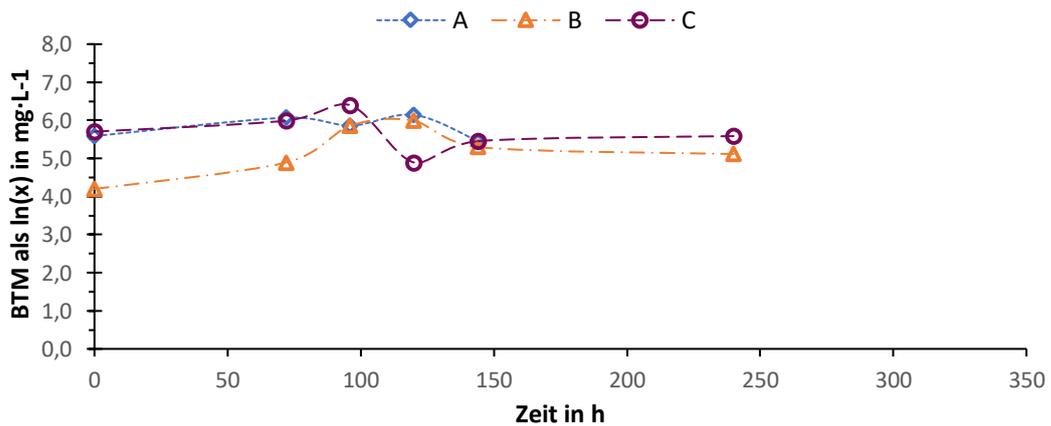


Abbildung 11 BTM-Reihe A bis C von der Kultivierung in Dunkelheit über die Kultivierungsdauer von 240 Stunden. Gezeigt wird die BTM als  $\ln(x)$  bei einer Startkonzentration Glucose von  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$

#### 5.4 KULTIVIERUNG MIT MONOSACCHARIDEN

Die Datenreihe der BTM von Glucose zeigen zu Beginn der Durchführung ungewöhnlich große Messwerte (siehe 6.1). Der Kurvenverlauf der Daten zeigt einen stetigen Abstieg bis zum Ende der Kultivierungsdauer. In erkenntlichen Phasen des Wachstums zeigten sich teils positive Wachstumsraten. Jedoch sind die Werte dieser Daten sehr gering und werden von den negativen Wachstumsraten weitläufig überlagert, sodass kein Wachstum über die Kultivierungsdauer anhand der BTM erkenntlich ist. Wegen dem ungewöhnlichen Beginn der Wachstumskurve sind keine der Wachstumsphasen zu erkennen.

Die Datenreihen der BTM von Fructose, Mannose und Galactose zeigen das gleiche Verhalten, wie es in der BTM Datenreihe der Glucose ersichtlich ist. Die Wachstumsparameter zeigen einen stetig fallenden Verlauf der Kenndaten, sodass kein Wachstum ersichtlich ist. Jedoch zeigen sich deutliche Unterschiede in der erreichten Endzellmassenkonzentration. Die Datenreihen der Glucose und Fructose weisen deutlich niedrigere Werte auf, als die der Mannose und Galactose Datenreihen (siehe Abbildung 12, 15, 18 und 21).

Die Datenreihen der  $\Delta OD$  aller Kultivierungsansätze steigen mit einem ähnlichen Wachstumsverhalten innerhalb der ersten 72 Std. der Kultivierungsdauer. Innerhalb von 72 bis 144 Std. zeigen die Kultivierungsreihen der Glucose und Fructose, dass hier nochmals ein Spezifischer Anstieg vorhanden ist. Nach 144 Std. steigt die  $\Delta OD$  mit vorheriger Zunahme rate an. Dabei fiel auf, dass das Wachstum mit Glucose Verläufe mit stagnierenden Wachstumsraten besitzt, während das Wachstum mit Fructose eine größere Kultivierungsdauer aufweist, in der die Zunahme besteht. Die Wachstumsverläufe der Mannose und Galactose besitzen ein ähnliches Verhalten. Hier zeigen sich stagnierende Wachstumskurven, die nach 72 Std. nur schwach zunehmen oder nicht mehr anwachsen. Ebenso sind Wachstumskurven erkennbar, welche ab 72 Std. mit gleichbleibender Wachstumsrate weiter anwachsen (siehe Abbildung 13, 16, 19 und 22)

Bei der Betrachtung der Daten der pH-Wert Messung fällt auf, dass eine Abhängigkeit der  $\Delta OD$  besteht. Denn die Datenreihe können nach der Größe zugeordnet werden, sodass der Kultivierungsansatz mit der größten  $\Delta OD$  auch den größten pH-Wert der Kultivierungsreihe wiedergibt. Der Anstiegsverlauf zeigt eine stetige Zunahme des basischen Charakters des Medium, und ähnelt einem linearen Verlauf. Dieses Verhalten ist in jedem Kultivierungsansatz zu erkennen (siehe Abbildung 14, 17, 20 und 23).

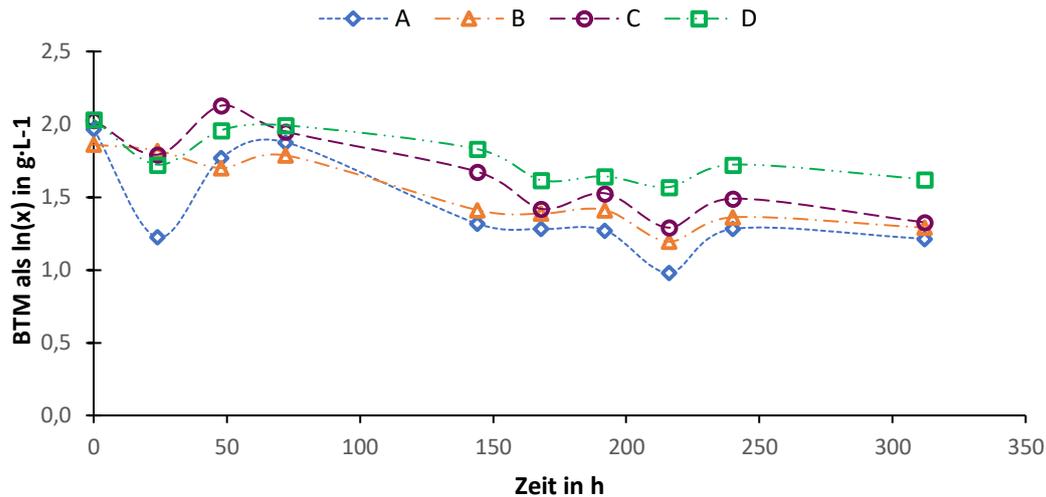


Abbildung 12 BTM-Reihe A bis D der mixotrophen Kultivierung bis 312 Std. Kultivierungsdauer. Gezeigt wird die BTM als  $\ln(x)$  bei einer Startkonzentration Glucose von  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$

Tabelle 5 Darstellung von spezifischen Wachstumsdaten der mixotrophen Glucose  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  Kultivierung der Kultivierungsansätze A bis D ( $\mu$  gibt für eine bestimmte Zeit in h die Wachstumsrate in  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  wieder und c gibt für eine bestimmte Zeit in h die Konzentration in  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  wieder)

	-	A	B	C	D
$\mu_{\text{max, mono 0-72 h}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$		0,0011	-0,0014	0,0004	0,0005
$\mu_{\text{max, mixo 72-144 h}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$		-0,0078	-0,0052	-0,0038	-0,0023
$\mu_{\text{max, mixo 144-240 h}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$		-0,0016	-0,0012	-0,0021	-0,0011
$\mu_{\text{max, mixo 240-312 h}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$		-0,0009	-0,001	-0,0023	-0,0014
$c_{\text{start, mono}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$		7,15	6,425	7,6	7,625
$c_{\text{ende, mono}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$		3,367	3,633	3,767	5,067

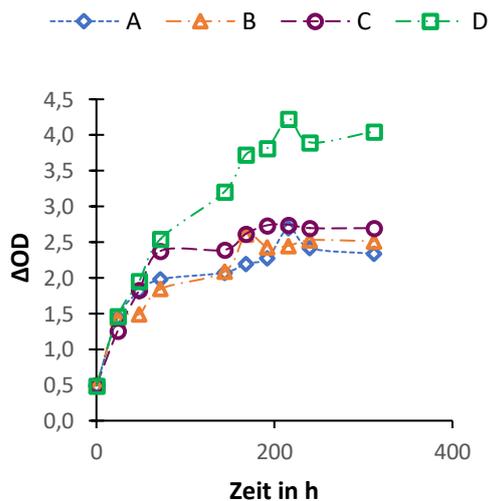


Abbildung 13 Daten-Reihe A bis D von  $\Delta\text{OD}$  der mixotrophen Glucose  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden

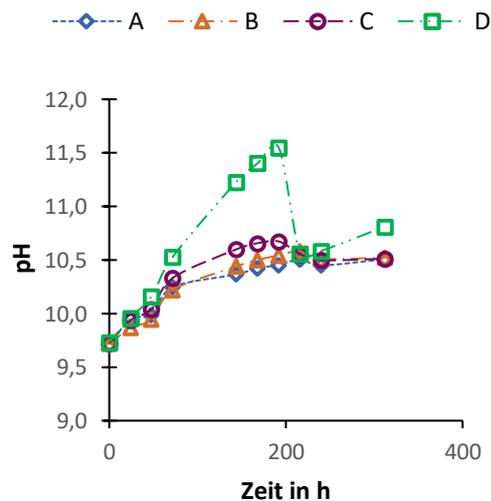


Abbildung 14 Daten-Reihe A bis D von pH der mixotrophen Glucose  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden

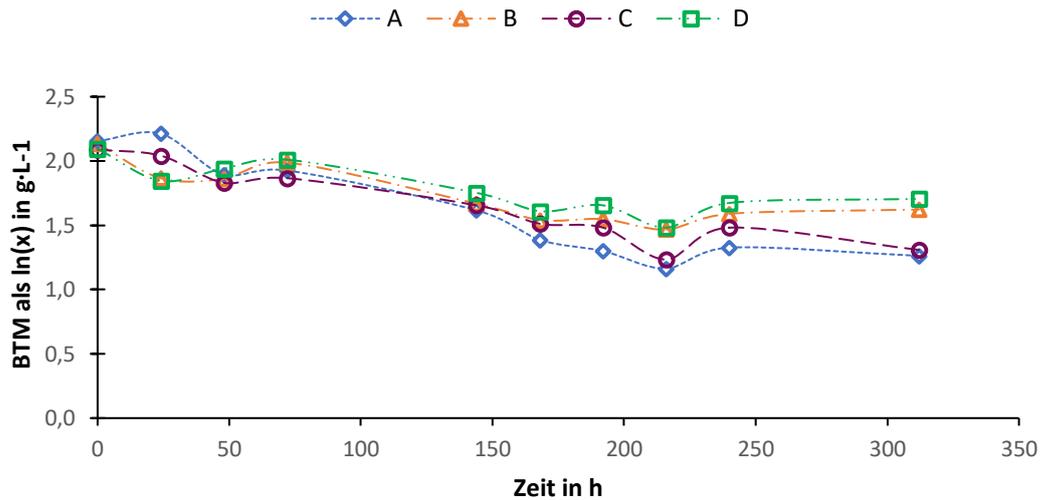


Abbildung 15 BTM-Reihe A bis D der mixotropen Kultivierung bis 312 Std. Kultivierungsdauer. Gezeigt wird die BTM als  $\ln(x)$  bei einer Startkonzentration Fructose von  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$

Tabelle 6 Darstellung von spezifischen Wachstumsdaten der mixotropen Fructose  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  Kultivierung der Kultivierungsansätze A bis D ( $\mu$  gibt für eine bestimmte Zeit in h die Wachstumsrate in  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  wieder und c gibt für eine bestimmte Zeit in h die Konzentration in  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  wieder)

	-	A	B	C	D
$\mu_{\text{max, mono 0-72 h}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$		-0,0042	-0,0019	-0,0037	-0,0007
$\mu_{\text{max, mixo 72-144 h}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$		-0,0043	-0,0044	-0,0029	-0,0036
$\mu_{\text{max, mixo 144-240 h}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$		-0,0033	-0,001	-0,0026	-0,0012
$\mu_{\text{max, mixo 240-312 h}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$		-0,0009	0,0005	-0,0024	0,0004
$c_{\text{start, mono}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$		8,625	8,45	8,075	8,125
$c_{\text{ende, mono}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$		3,533	5,067	3,7	5,5

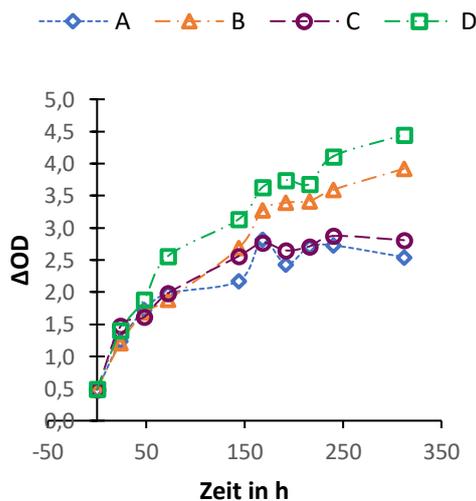


Abbildung 16 Daten-Reihe A bis D von  $\Delta\text{OD}$  der mixotropen Fructose  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden

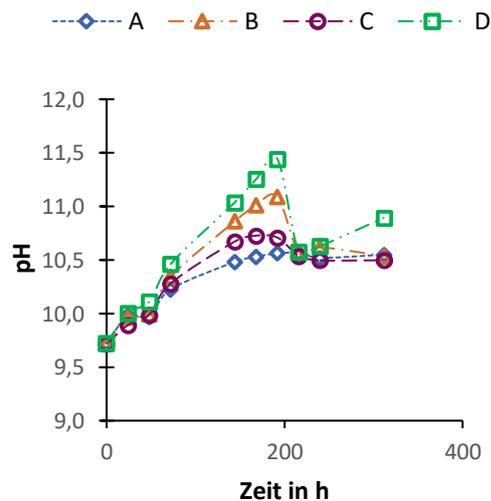


Abbildung 17 Daten-Reihe A bis D von pH der mixotropen Fructose  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden

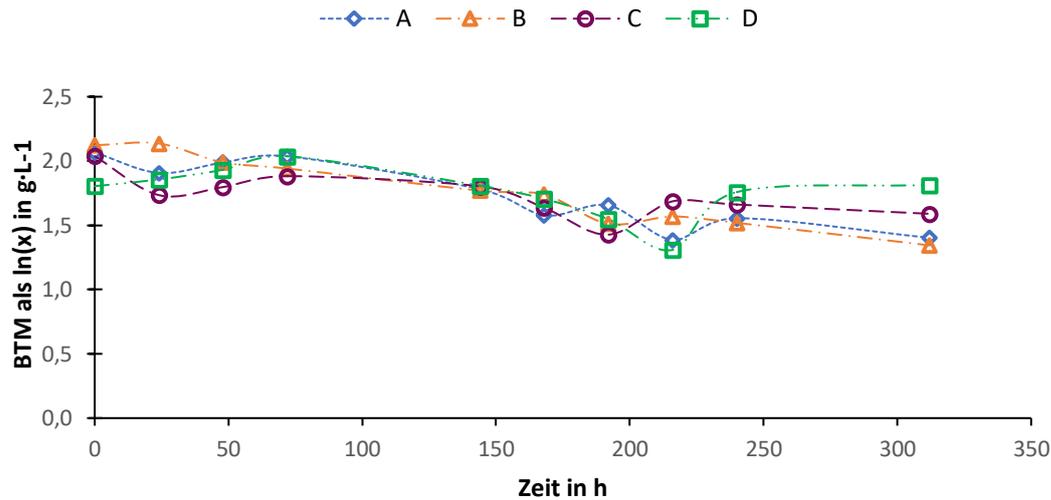


Abbildung 18 BTM-Reihe A bis D der mixotropen Kultivierung bis 312 Std. Kultivierungsdauer. Gezeigt wird die BTM als  $\ln(x)$  bei einer Startkonzentration Mannose von  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$

Tabelle 7 Darstellung von spezifischen Wachstumskenndaten der mixotropen Mannose  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  Kultivierung der Kultivierungsansätze A bis D ( $\mu$  gibt für eine bestimmte Zeit in h die Wachstumsrate in  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  wieder und c gibt für eine bestimmte Zeit in h die Konzentration in  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  wieder)

	A	B	C	D
$\mu_{\text{max, mono 0-72 h}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	$-5\cdot 10^4$	-0,0029	-0,0017	0,0032
$\mu_{\text{max, mixo 72-144 h}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	-0,0036	-0,0024	-0,0011	-0,0032
$\mu_{\text{max, mixo 144-240 h}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	-0,0027	-0,0028	-0,001	-0,0021
$\mu_{\text{max, mixo 240-312 h}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	-0,0021	-0,0024	-0,001	-0,0008
$c_{\text{start, mono}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	7,9	8,35	7,675	6,075
$c_{\text{ende, mono}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	4,067	3,833	4,9	6,133

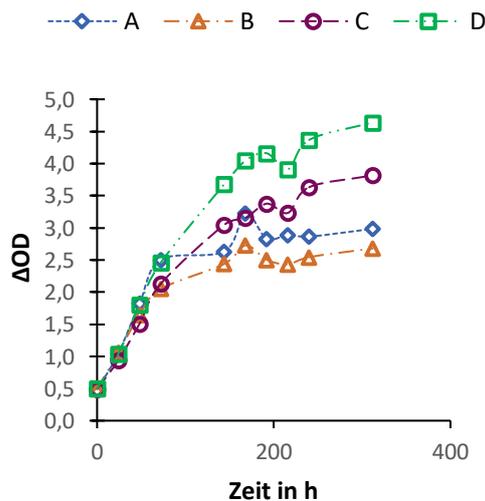


Abbildung 19 Daten-Reihe A bis D von  $\Delta\text{OD}$  der mixotropen Mannose  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden

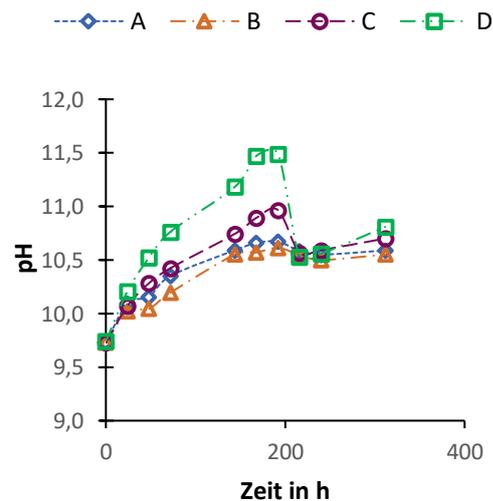


Abbildung 20 Daten-Reihe A bis D von pH der mixotropen Mannose  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden

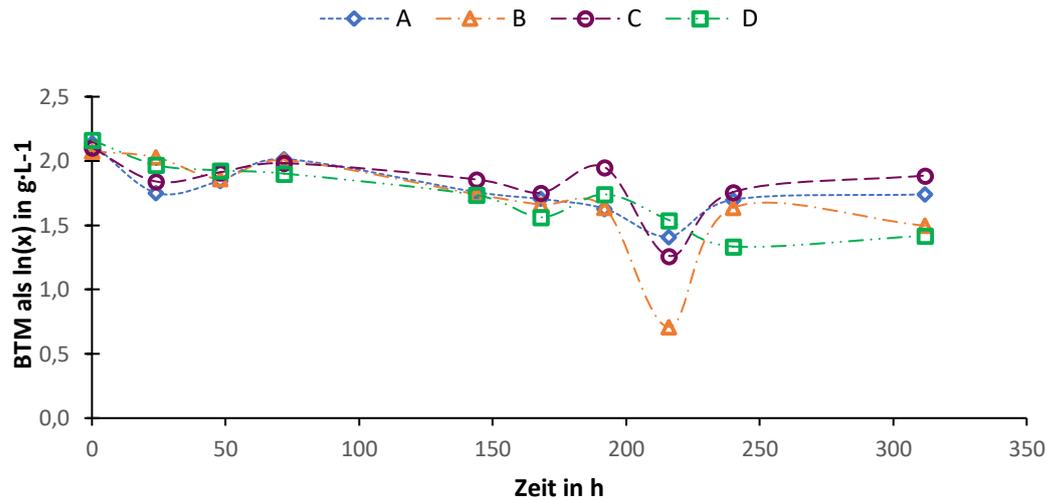


Abbildung 21 BTM-Reihe A bis D der mixotropen Kultivierung bis 312 Std. Kultivierungsdauer. Gezeigt wird die BTM als  $\ln(x)$  bei einer Startkonzentration Galactose von  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$

Tabelle 8 Darstellung von spezifischen Wachstumsdaten der mixotropen Galactose  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  Kultivierung der Kultivierungsansätze A bis D ( $\mu$  gibt für eine bestimmte Zeit in h die Wachstumsrate in  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  wieder und c gibt für eine bestimmte Zeit in h die Konzentration in  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  wieder)

	-	A	B	C	D
$\mu_{\text{max, mono 0-72 h}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$		-0,0011	-0,0016	-0,0012	-0,0034
$\mu_{\text{max, mixo 72-144 h}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$		-0,0036	-0,0037	-0,0018	-0,0023
$\mu_{\text{max, mixo 144-240 h}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$		-0,0017	-0,0048	-0,0029	-0,0034
$\mu_{\text{max, mixo 240-312 h}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$		0,0006	-0,0019	0,0018	0,0012
$c_{\text{start, mono}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$		8,475	7,975	8,2	8,7
$c_{\text{ende, mono}}$ in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$		5,7	4,467	6,6	4,133

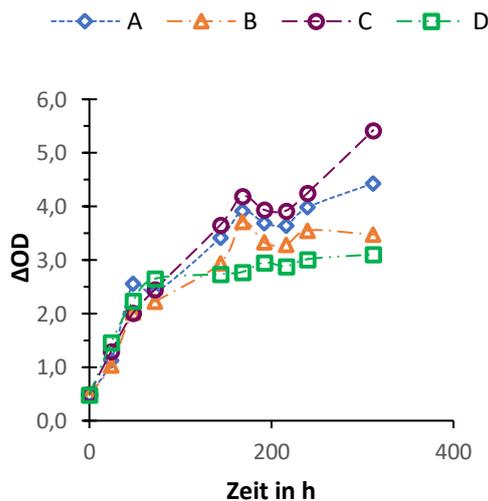


Abbildung 22 Daten-Reihe A bis D von  $\Delta\text{OD}$  der mixotropen Galactose  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden

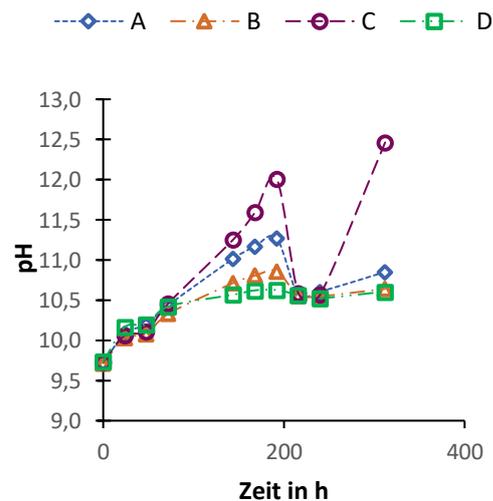


Abbildung 23 Daten-Reihe A bis D von pH der mixotropen Galactose  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden

## 5.5 KULTIVIERUNG MIT ABFÄLLEN

Zu Beginn in den ersten 24 Std. gibt es bei den Kultivierungsansätzen der Produkt- und Abwasserzugabe eine Abnahme der Zellmassenkonzentration. Danach zeigte sich eine spezifische Phase mit verschiedenen Dauern innerhalb der Kultivierungsreihen der Produkt- und Abwasserzugabe. Hierbei reicht die Dauer bei der Produktzugabe von 24 bis 48 Stunden, während bei der Abwasserzugabe ein Intervall von 24 bis 72 Std. zu verzeichnen ist. Danach treten die Kulturen in eine weitere Wachstumsphase mit ähnlichen Wachstumsraten innerhalb der Kultivierungsansätze, sodass ab 144 Std. gleiche Zellmassenkonzentrationen vorliegen. Danach wird eine Phase erreicht, in der kein deutliches Wachstum vorliegt. Eine merkliche Abnahme ist während der Kultivierungsdauer nicht zu registrieren, sodass die Absterbephase nicht zusehen ist (siehe Abbildung 24 und Abbildung 27).

Die Messung von  $\Delta OD$  der Produktzugabe zeigt innerhalb von 24 bis 144 Std. eine stetig konstante und lineare Zunahme. Die Kultivierungsreihe der Abwasserzugabe zeigt diese Art der Zunahme innerhalb von 24 bis 72 Std. und erfährt danach eine Ausbildung von spezifischen Zunahmeraten. Nach 144 Std. Kultivierungsdauer steigt  $\Delta OD$  in der Kultivierungsreihe der Abwasserzugabe mit gleicher Zunahmerate weiter bis zum Ende der Kultivierungsdauer. In der Kultivierungsreihe der Produktzugabe stellt sich erst mit 144 Std. Kultivierungsdauer eine spezifische Zunahmerate ein, jedoch zeigen sich ähnliche Wachstumsraten im Vergleich zu der Kultivierungsreihe der Abwasserzugabe (siehe Abbildung 25 und Abbildung 28).

Die pH-Wert Messung zeigt ein ähnliches Verhalten, wie sie bereits in der Messung der heterotrophen und der mixotrophen Kultivierung zu sehen ist. Bei den meisten Kultivierungsansätze stellt sich ab 144 Std. ein pH-Wert von  $\approx 10,5$  ein (siehe Abbildung 26 und Abbildung 29).

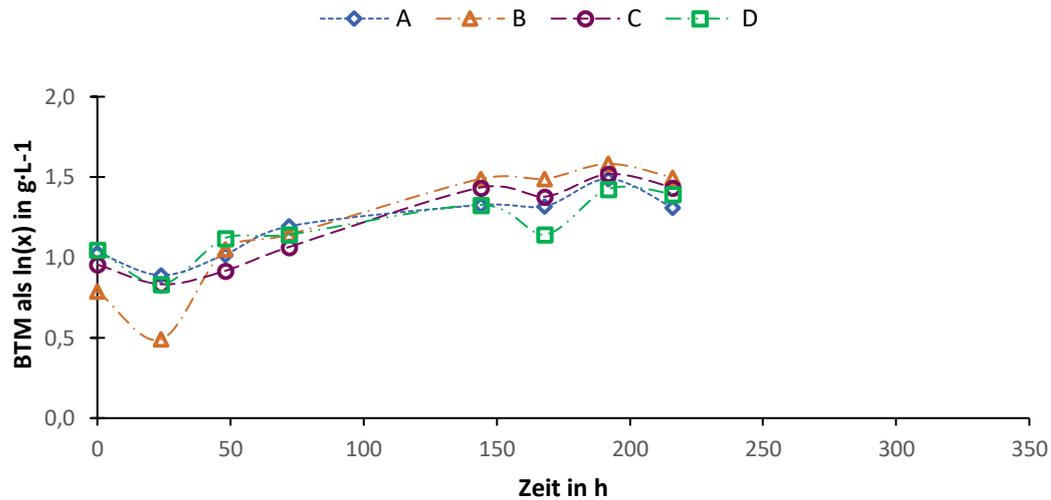


Abbildung 24 BTM-Reihe A bis D der mixotrophen „Produkt“ 1 g·L<sup>-1</sup> Kultivierung bis 312 Std. Kultivierungsdauer. Gezeigt wird die BTM als ln(x)

Tabelle 9 Darstellung von spezifischen Wachstumsdaten der mixotrophen „Produkt“ 1 g·L<sup>-1</sup> Kultivierung der Kultivierungsansätze A bis D ( $\mu$  gibt für eine bestimmte Zeit in h die Wachstumsrate in g·L<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup> wieder und c gibt für eine bestimmte Zeit in h die Konzentration in g·L<sup>-1</sup> wieder)

	-	A	B	C	D
$\mu_{\max, 24-48 \text{ h}}$ in g·L <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup>		0,0053	0,0234	0,0035	0,0120
$\mu_{\max, 48-144 \text{ h}}$ in g·L <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup>		0,0032	0,0045	0,0054	0,0021
$c_{\max}$ in g·L <sup>-1</sup>		4,43	4,87	4,57	4,17

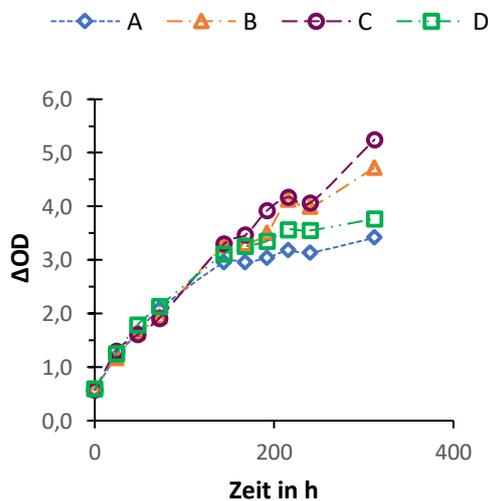


Abbildung 25 Daten-Reihe A bis D von  $\Delta$ OD der mixotrophen „Produkt“ 1 g·L<sup>-1</sup> Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden

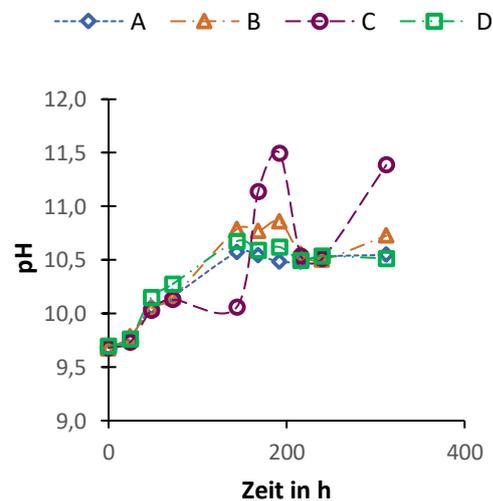


Abbildung 26 Daten-Reihe A bis D von pH der mixotrophen „Produkt“ 1 g·L<sup>-1</sup> Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden

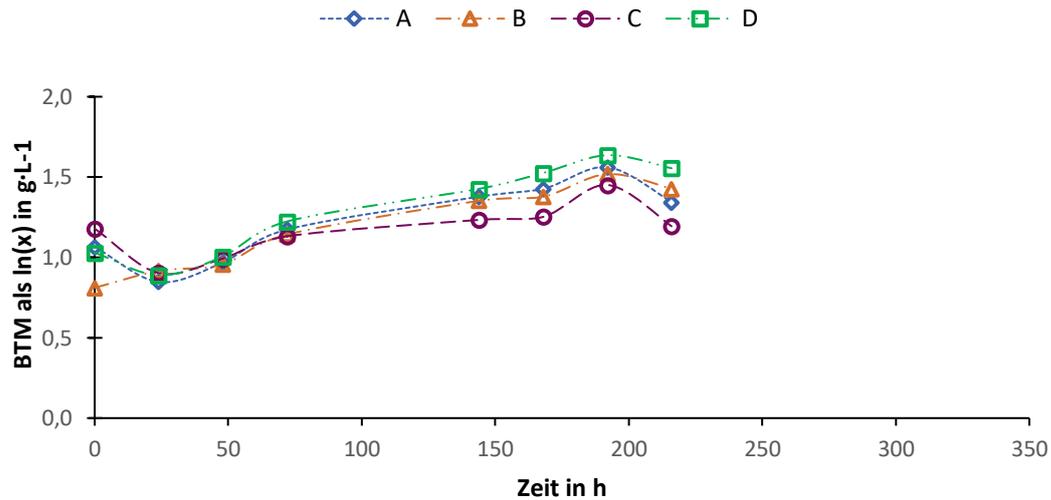


Abbildung 27 BTM-Reihe A bis D der mixotrophen „Abwasser“ 1 g·L<sup>-1</sup> Kultivierung bis 312 Std. Kultivierungsdauer. Gezeigt wird die BTM als ln(x)

Tabelle 10 Darstellung von spezifischen Wachstumsdaten der mixotrophen „Abwasser“ 1 g·L<sup>-1</sup> Kultivierung der Kultivierungsansätze A bis D ( $\mu$  gibt für eine bestimmte Zeit in h die Wachstumsrate in g·L<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup> wieder und c gibt für eine bestimmte Zeit in h die Konzentration in g·L<sup>-1</sup> wieder)

	A	B	C	D
$\mu_{\max, 24-72 \text{ h}}$ in g·L <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup>	0,0068	0,0047	0,0048	0,0070
$\mu_{\max, 72-144 \text{ h}}$ in g·L <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup>	0,0043	0,0041	0,0025	0,0044
$c_{\max}$ in g·L <sup>-1</sup>	4,77	4,57	4,27	5,13

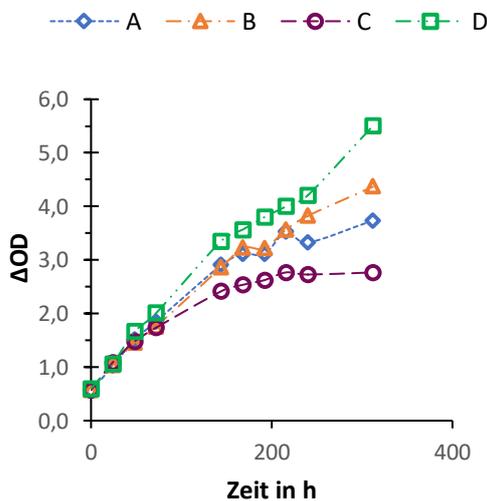


Abbildung 28 Daten-Reihe A bis D von  $\Delta\text{OD}$  der mixotrophen „Abwasser“ 1 g·L<sup>-1</sup> Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden

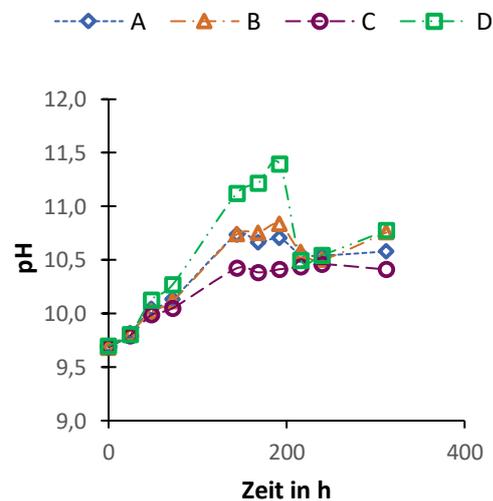


Abbildung 29 Daten-Reihe A bis D von pH der mixotrophen „Abwasser“ 1 g·L<sup>-1</sup> Kultivierung über die Kultivierungsdauer von 312 Stunden

## 6 DISKUSSION

Im Vorfeld der Ergebnisdiskussion wird eine Fehlerbetrachtung durchgeführt, weil während der Untersuchungen Messdatenreihen erhoben wurden, die ohne Erläuterung zu einer möglichen Fehlinterpretation führen.

Für die Besprechung der Ergebnisse werden die Messdaten einzelner Messreihen miteinander verglichen, um anhand der spezifischen Wachstumsraten eine Metabolisierung von Saccharid zu identifizieren. Weiterhin werden die Hypothesen in Anbetracht der Ergebnisse abgeglichen, um eine Überprüfung der Hypothesen durchzuführen.

### 6.1 FEHLERBETRACHTUNG

Die heterotrophe Versuchsreihe zeigte relativ kleine Messdaten der Zellmassenkonzentrationen, im Vergleich zu anderen Datenreihen. Wegen fehlenden Literaturdaten kann ein nähergehender Vergleich nicht durchgeführt werden. Jedoch zeigt die Approximation der zueinander repräsentativen Daten der BTM und  $\Delta OD$  kein vergleichbares Verhältnis zu den gemessenen Daten der Referenzkultur „Photoautotroph“. Auch wenn kein Wachstumspotential vorhanden sein sollte, ist eine höhere BTM erwartet worden, sodass hier ein systematischer Fehler der Methode für die BTM Messung vermutet wird.

Die angewandte Methode zur Bestimmung der BTM sieht die Verwendung von demineralisiertem Wasser vor, um den beladenen Rundfilter nach Auftrag der Probe von Medienrückständen durch Waschen zu säubern. Wegen der prokaryotischen Struktur des Organismus wird vermutet, dass durch Waschen mit demineralisiertem Wasser ein Zellaufschluss mittels osmotischen Effekt eingeleitet wurde, sodass neben Wasser auch Zellorganell und somit Zellmasse durch Absaugen und weiteres Waschen verloren ging. Auf dem Rundfilter verblieben lediglich Zellfragmente, wie Zellmembran, oder restliche Zellbestandteile, die sich im Filtermaterial verfangen haben. Nach der Durchführung der ersten Versuchsreihe wurde der Startwert von  $\Delta OD$  von 0,2 auf 0,5 erhöht, um eine mögliche Fehlerrate durch die Wägung am Arbeitsplatz zu kompensieren. Jedoch führte die Erhöhung der Startzellmassenkonzentration zu einer Zunahme der Selbstverschattung der Kultur. In Anbetracht dieses Sachverhalts, dass die lokale Lichtintensität mit steigender Zellmassenkonzentration zunehmend limitiert wird, war eine relativ kurze exponentielle Wachstumsphase zu erwarten.

Die mixotrophe Versuchsreihe, in der die Variation der Monosaccharide durchgeführt wurde, zeigte hinblickend auf die Approximation der Startzellmassenkonzentration mit der Referenzkultur eine zu große Startzellmassenkonzentration, sodass über die Kultivierungsdauer hinweg ein stetiges Absinken der BTM zu beobachten war. So zeigt der Vergleich der Datensätze vom BTM und  $\Delta OD$  eine Abweichung der Proportionalität. Die Prüfung der Methoden ergab, dass mit dem Messverfahren eine fälschliche Konzentrierung ausgeschlossen werden konnte, weil lediglich eine Reduktion der enthaltenen Zellen möglich war. Daher wurde ein möglicher Fehler in der Vorbereitung der Kultivierung gesucht. Die Prüfung

ergab, dass die Überführung des Impfgutes eine Konzentrierung mittels Zentrifugation und Dekantierung beinhalten hatte. Jedoch sollte der Einsatz einer zu dichten Zellmasse der Starbedingung von  $\Delta OD \approx 0,5$  ausgeschlossen sein, welche zu Beginn der Versuchsreihe geprüft und aufgezeichnet wurde.

Die Aufreinigung und Überführung einer geeigneten Menge an Inokulum war zeitaufwendig, wegen der technischen Einrichtung, sodass der Beginn dieser Kultivierung am Folgetag war. Für die Lagerung der Arbeitskulturen sollte die Sicherheitswerkbank verwendet werden, um gleichbleibende Bedingungen bis zum Beginn des Experimentes zu gewährleisten. Jedoch wurde die Arbeitskulturen mit der Beendigung der Aufreinigung und Überführung nicht in der Sicherheitswerkbank gelagert, sodass über den restlichen Tag, einer Nachtphase und der morgendlichen Phase die Arbeitskulturen unter anderen Strahlungs- und Temperaturbedingungen gelagert wurde. Die erneute Überprüfung von  $\Delta OD$  zeigte ein Wachstum der Kultur, sodass die Starbedingung von  $\Delta OD \approx 0,5$  erreicht wurde.

Unter der Betrachtung der Kriterien, dass die Erhaltungskulturen von *A. platensis* stetig unter gleichen Wachstumsbedingungen gehalten wurde, sowie eine dauerhafte Zuführung von Strahlung erfolgte, wird vermutet, dass der Organismus mit dem Tagesverlauf und der Zuführung eines anderen Lichtspektrums einen Metabolismus genutzt hat, der zur Zunahme der Zellzahl führte, jedoch auch zu der vermehrten Akkumulation von Speicherstoffen, die für die Nachtphase als Energie- und Stoffreserven dienen. Die starke Akkumulation von Materie im intrazellulären Raum würde mit der Zunahme der Masse einhergehen, sodass bei vergleichenden Daten anderer Kultivierungsreihen eine geringe Zellmasse für einen  $\Delta OD = 0,5$  repräsentativ wäre.

Ein weiterer Einflussfaktor könnte die Strahlungsintensität gewesen sein, die in allen Kultivierungsreihen zu hoch war, als in der Literatur angegeben ist [Chojnacka & Noworyta, 2003]. Mit der Strahlungsdichte von  $30 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$  zeigt sich eine maximale spezifische Wachstumsrate bei *A. platensis* NIES-39 sowohl in der autotrophen als auch in der mixotrophen Kultivierung [Chojnacka & Noworyta, 2003]. Hier werden Strahlungsintensitäten verwendet, welche zwischen  $100$  und  $290 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$  liegen. Nach Literaturangaben fallen diese Werte außerhalb des bisher als optimal geltenden Wachstumsbereichs, jedoch sollte eine Photoinhibition des Photosyntheseapparates eintreten. Zum Schutz vor exzessiver Sonnenstrahlung kann eine Ausschüttung von Exopolysacchariden eingeleitet werden, um mit weiteren Schutzpigmenten, wie Scytomenin und mykosporinähnliche Aminosäuren, welche mit sekretiert werden, eine zusätzliche Schutzmaßnahme stellen zu können [Ehling-Schultz, 1997; Garcia-Picel & Castenholz, 1991; Scherer, 1988].

Eine vermehrte Ausschüttung von Exopolysacchariden konnte nicht quantitativ nachgewiesen werden, allerdings bildeten sich Phänomene, wie die Aggregation des zu homogenisierenden Sediments, sowie die Blasen und Schaumbildung an der Oberfläche der Kultursuspension, die auf die Anwesenheit einer höheren Konzentration an Exopolysacchariden deuten lassen.

Trotz der vermuteten Photoinhibition, wächst *A.platensis*, merklich anhand der BTM, was mit der vorherigen Aussagen zu erklären ist. Dennoch kann die deutlich höhere Strahlungsintensität zu stärkeren Schäden der Zelle führen, sodass eine Lysierung von Zellen in früheren Stadien des Wachstums eintreten kann, was anhand der grünen Färbung des Überstandes ersichtlich wird.

Weiterhin stellt die Ausschüttung von Exopolysacchariden eine potentielle Substratquelle für die bakterielle Fremdkultur dar. Ein Indiz dafür zeigt sich mit dem Anstieg der  $\Delta OD$  innerhalb der ersten 24 Std. der Kultivierungsdauer, obwohl nach den repräsentativen Daten der BTM stets ein Absinken zu beobachten ist. Im Fall der photoautotrophen Kultivierung liegt eine Initiationsphase mit stagnierenden Zellmassenkonzentrationen vor.

## 6.2 VEGETATIVE ZELLTEILUNG VON *A.PLATENSIS*, PHOTOAUTOTROPHEN BEDINGUNGEN

Als Referenzkultur diene die photoautotrophe Kultivierung zur Bestimmung von Vergleichsdaten. Allerdings zeigte die BTM Datenreihe keinen gleichen Wachstumsverlauf der Kultivierungsansätze, sodass eine Mittelwertbildung nicht durchgeführt wurde, um wie vorgesehen eine Kompensation möglicher systematischer Fehler zu erzielen. Die Annahme, dass die Reaktionsgeschwindigkeit von *A.platensis* in der Gegenwart der bakteriellen Fremdkultur, als auch der hohen Strahlungsintensität (siehe 6.1), zur Ausbildung von verschiedenen Wachstumsraten neigt, zeigt einen spezifischen Einfluss der Umweltfaktoren auf das Wachstum der *A.platensis* Kultur. Damit wird nach den Kriterien der Monod-Kinetik eine Analyse des Wachstums nach dem gängigen Modell hinfällig (siehe 3.1). Die Verwendung von anderweitigen Modellen, speziell für photoautotrophe Mikroorganismen [Marquez, 1993], müssen dennoch Kriterien für die Anwesenheit einer bakteriellen Fremdkultur beinhalten, sowie deren Einfluss auf das Wachstum von *A.platensis* mit einbeziehen. Des Weiteren kann *A.platensis* aufgrund seiner filamentösen Morphologie eine besondere Wachstumskinetik besitzen, sodass die Biomassenzunahme nicht exponentiell abläuft [Chmiel, 2006].

Die Anwesenheit, sowie die vegetative Zellteilung der bakteriellen Fremdkultur wird auch mit den Daten der  $\Delta OD$  deutlich. Mit dem Anstieg von  $\Delta OD$  innerhalb von 0 bis 24 Std. zeigt sich ein Wachstum, während die BTM eine Initiationsphase abbilden und sie kein Wachstum wiedergeben. Wegen dem Größenausschluss der Filtriermethode bei der BTM Aufnahme wird die bakterielle Fremdkultur größtenteils von der *A.platensis* Kultur getrennt, sodass lediglich die Masse von *A.platensis* gemessen wird. Die optischen Dichte bezieht unweigerliche alle nicht löslichen Stoffe der Zellsuspension mit im Betrag der Messung ein, sodass hier ein indirekter Wert für die gemessene Zellzahl ermittelt wird. Es werden die Anzahl der bakteriellen Zellen und der *A.platensis* Zellen gemessen (siehe 6.1). Dadurch besteht keine Proportionalität zwischen diesen beiden Parametern, sodass die Möglichkeit zur Bestimmung eines Korrelationsfaktors nicht gegeben ist [Chmiel, 2006].

Die Ermittlung einer spezifischen Wachstumsrate wurde dennoch unter Bezug der Monokinetik für lineare Wachstumsphasen durchgeführt, um ein repräsentatives Wachstum zu ermitteln. Wegen der großen Abweichung der Messdaten innerhalb der Kultivierungsreihe, wird der größte Messwert als repräsentativ definiert, weil die Annahme getroffen wurde, dass mit der größten Wachstumsrate der geringste Einfluss von wachstumshemmenden Faktoren besteht. Daten zu anderweitigen Experimenten verweisen auf die Verwendung von Reinkulturen, da hier höhere, maximale Zellmassenkonzentrationen und ebenso höhere Wachstumsraten erreicht werden können [Owaga & Gyoza, 1970]. In Bezug der aktuellen maximalen Zellmassenkonzentration (siehe Tabelle 3) erreichen alle Kultivierungsansätze, trotz unterschiedlicher Wachstumsraten, eine ähnliche maximale Zellkonzentration. Der Grund dieser Wiederfindung könnte die lokale Lichtlimitierung sein, welche mit steigender Zellkonzentration stark zunimmt (siehe 3.2).

Der pH-Wert zeigt einen auffälligen Verlauf. Dieser steigt bis zu einem pH-Wert von 12 an. Literaturangaben zeigen, dass ein basisches Milieu die Quantenausbeute der O<sub>2</sub>-Bildung erhöht, jedoch bei geringen Strahlungsintensitäten eine negative Phototaxis ausgelöst wird, was auf eine Photoinhibition zurückzuführen ist [Nultsch, et al., 1979]. Weil *A.platensis* in dieser Versuchsdurchführung einer dauerhaft zu hohen Bestrahlung ausgesetzt war und keine Möglichkeit besaß der Strahlung auszuweichen mussten Schutzpigmente synthetisiert werden, um ausreichend Schutz gewährleisten zu können. Hierfür können Cyanobakterien einerseits Carotinoide aufbauen, welche in den Thylakoiden eingelagert werden, oder vermehrt anderweitige Schutzpigmente über ein sekretorisches System aussondern [Venzke, 2005].

### 6.3 EINFLUSS VON MONOSACCHARIDEN (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>) UND ABWÄSSER

Mit Einsatz von organischen Verbindungen verläuft das Wachstum in den ersten 24 Std. generell mit einer negativen Wachstumsrate. Die BTM Datenreihe der Kultivierungsansätze unter Abwesenheit von Licht zeigt mit den großen Messschwankungen kein präzises Ergebnis, jedoch lässt sich mit Abgleich von gemachten Beobachtungen zum Aussehen der Kultur eine fallende Zellmassenkonzentration über die Kultivierungsdauer deuten, sodass diese Versuchsreihe vorzeitig abgebrochen wurde. Literaturdaten geben wieder, dass die Möglichkeit einer metabolischen Heterotrophie bei Cyanobakterien vorhanden ist. Allerdings stellt der Calvin-Benson Zyklus ein stark konservierten metabolischen Faktor des Genoms von Cyanobakterien dar [Knoop, 2014], sodass ein Potential für die Führung eines heterotrophen Metabolismus stark von der Unterart der Art abhängig ist [Mühling, 2005]. Ob eine metabolische Heterotrophie speziell bei der vorliegenden Unterart *A.platensis* besteht ist nach Literaturdaten nicht bekannt.

Ökologisch besteht für die Heterotrophie eine Notwendigkeit für die Versorgung des Erhaltungsstoffwechsels während der Nachtphase. In vielen Arten zeigt sich ein aktives Bewegungsmuster zum marinen Grund, wo eine reichhaltige Quelle an organischen Verbindungen

besteht. Mit der Abwesenheit einer Strahlungsquelle bestehen daher zwei Arten um den Erhaltungsstoffwechsel aufrecht zu erhalten. Entweder assimiliert der phototrophe Organismus organische Verbindungen, oder er deckt seinen Bedarf durch Speicherstoffe ab, welche während der Lichtphase akkumuliert wurden. Hierfür sind Speicherstoffe wie hauptsächlich Glykogen und zu einem geringen Maße Cyanophycin und Poly- $\beta$ -Hydroxybutyrat zu nennen. Allgemein ist der Metabolismus in der Nachtphase von Cyanobakterien auf den Erhalt von essentiellen Reaktionen beschränkt, sodass stagnierende Wachstumsraten vorliegen können. Hingegen besitzen diazotrophe Arten eine erhöhte genetische Aktivität in der Nachtphase von spezifischen Enzymen, welche auf einen heterotrophen Metabolismus mit positiven Wachstumsraten verweisen [Knoop, 2014].

Auf der Grundlage der genannten Informationen und in Betracht der Messdaten der Kultivierung bei Abwesenheit von Licht kann angenommen werden, dass die vorliegende *A.platensis* Kultur als obligat phototroph betrachtet werden kann [Owaga & Terui, 1970]. Ebenso ist festzustellen, dass die Messungen von  $\Delta OD$  der *A.platensis* Kultur stark vom Wachstum der bakterielle Fremdkultur beeinflusst werden. Der maximale Wert von  $\Delta OD$  steigt mit steigender Glucosekonzentration und wird in jeder Kultivierungsreihe nach 24 Std. erreicht. Hier zeigt sich die Substrataffinität der bakteriellen Fremdkultur, sowie deren Wachstumskinetik in Abhängigkeit der eingesetzten Substratkonzentration. Die Ausbildung von gleichen pH-Werten, sowie deren zeitlicher Einordnung, welche jeweils ein ähnliches Niveau zu ähnlichen Zeiten besaß, könnte ein weiteres Indiz dafür sein, dass die bakterielle Fremdkultur einen konstanten Einfluss auf den Umweltfaktor pH-Wert besitzt.

Die Daten der mixotrophen Kultivierungsreihen, sowie der Kultivierung der Abwasserprobe und der Produktprobe zeigen generell ein Absinken der Zellmassenkonzentration innerhalb der ersten 24 Stunden. Mit dem Vergleich der photoautotrophen Kultivierungsdaten, in der ein Erhalt der BTM in derselben Kultivierungsdauer zu verzeichnen ist, ist zu vermuten, dass wachstumshemmende Faktoren mit dem Einsatz von Saccharid in der Suspension ausgebildet werden. Damit könnte der Rückgang der Zellmassenkonzentration zu erklären werden. Die Ausbildung unterschiedlicher Wachstumsraten deutet dabei auf einen unterschiedlichen Einfluss von mehreren wachstumshemmenden Faktoren hin, die in jedem Kultivierungsansatz, als auch innerhalb einer Kultivierungsreihe spezifisch sind. Der Grund für die Ausbildung von wachstumshemmenden Faktoren könnte die bakterielle Fremdkultur sein. Innerhalb der Kultivierungsdauer, in der die Zellmassenkonzentration von *A.platensis* fällt, steigt  $\Delta OD$  und verweist somit auf ein Wachstum der bakteriellen Fremdkultur. Dies würde mit den Daten der Kultivierung unter Abwesenheit von Licht übereinstimmen, in der lediglich das Wachstum der bakteriellen Fremdkultur zu registrieren war.

Die Bildung von spezifischen Wachstumsraten, welche eine Metabolisierung von Saccharid durch *A.platensis* kennzeichnet, ist nicht direkt ersichtlich, weil in keiner Kultivierung die Ausbildung einer exponentiellen Wachstumsrate erfolgt. Stattdessen zeigen sich zwei

Wachstumsphasen nach 24 Std. Kultivierungsdauer, wobei die zweite Phase immer eine geringere Geschwindigkeit aufweist. Diese Erscheinung war sowohl in den Abfallproben, Produktproben, als auch der mixotrophen Kultivierungsreihe ersichtlich. Jedoch lagen alle Daten unterhalb der spezifischen Wachstumsrate der photoautotrophen Kultivierung. Ebenfalls war die zu erreichende, maximale Zellmassenkonzentration unterhalb der Vergleichsdaten der photoautotrophen Kultivierung und zeigte mit einer maximalen Konzentration von  $\approx 3,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  den maximalen Wert. Die geringeren Wachstumsraten als auch die kleinere, maximale Zellmassenkonzentration der Kultivierungsansätze in Anbetracht der schnell steigenden  $\Delta\text{OD}$  Daten und der zu Beginn fallenden BTM, lässt vermuten, dass mit dem Einsatz von Saccharid das Wachstum der bakterielle Fremdkultur gefördert wird, sodass mit der Ausschüttung von wachstumsgekoppelten Sekundärmetaboliten die vegetative Zellteilung von *A.platensis* deutlich gehemmt wurde (siehe 6.4).

#### 6.4 PLATTIERUNG

Die Plattierung der Kultur auf einem festen Nährboden sollte genauere Informationen bezüglich des bakteriellen Wachstums liefern. Hierfür wurde eine Probe der photoautotrophen und der mixotrophen Kultur 1:200 verdünnt und 200  $\mu\text{L}$  auf dem Nährboden verteilt.

Hierfür wurde das verwendete Spirul-Medium mit Hefeextrakt und Glucose versetzt. Mit der Verwendung dieser Zutaten sollte die differenzierende Eigenschaft der Salinität des Mediums erhalten bleiben, sodass nur das Wachstum von im Medium vorkommenden Mikroorganismen durch den Zusatz von Hefeextrakt und Glucose gefördert wird.

Die Auswertung der Platten der photoautotrophen Kultivierung zeigt die Anwesenheit von zwei potentiell bakteriellen Arten. Dies war augenscheinlich an der Bildung von weißlichen und farblosen Kolonien zu erkennen. Die Platten der mixotrophen Kultivierung zeigten nur die Anwesenheit von weißlichen Kolonien. Die Auszählung der Kolonien verwies bei beiden Platten auf die gleiche Anzahl an weißlichen Kolonien, sodass mit dem Einsatz von Glucose keine Steigerung im Wachstum der bakteriellen Fremdkultur zu erkennen war. Stattdessen wird vermutet, dass mit der Metabolisierung von Saccharid wachstumshemmende Stoffe sekretiert werden, die nicht nur das Wachstum von *A.platensis* hemmen, sondern auch das der farblosen bakteriellen Kultur, sodass diese in der mixotrophen Kultur eine sehr kleine Anwesenheit besitzt oder komplett lysiert ist. Dies zeigt differenzierende Eigenschaften der Kultur mit dem Einsatz von Saccharid.

Diese Annahme wurde von weiteren Beobachtungen bestätigt, denn in der photoautotrophen Kultur war trotz des spontanen Anstiegs von  $\Delta\text{OD}$  keine Trübung zu erkennen, während bei dem Einsatz von Sacchariden bereits nach 24 Std. deutlich eine weißliche Trübung ersichtlich war. Somit ist festzustellen, dass mit dem Einsatz von Saccharid in dieser Kultur das Wachstum einer bakteriellen Fremdkultur gefördert wird, welche weißliche Kolonien ausbildet. Die Ausschüttung von Sekundärmetaboliten, die wachstumsgekoppelt oder -entkoppelt produziert werden, kann zu einer Verringerung von artfremden Kulturen.

Die weiterführende Analyse zeigt einen interessanten Sachverhalt von einer möglichen kooperativen Eigenschaft der bakteriellen Fremdkultur und der *A.platensis* Kultur. Während der photoautotrophe Kultivierungen mit einer stagnierenden Anlaufphase der *A.platensis* Kultur stieg  $\Delta OD$  ohne Trübungserscheinungen. Danach stieg die BTM mit einer relativ großen Wachstumsrate bis auf  $\approx 5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ . Dies suggeriert, dass der Wachstumsstopp auf der Limitierung von Strahlungsenergie basiert (siehe 3.2). Eine weißliche Trübung der photoautotrophen Kultur trat erst mit fortlaufender Kultivierungsdauer ein und zeigt sich in den  $\Delta OD$  Daten mit einem unregelmäßigen Verlauf innerhalb der Dauer von 144 – 216 Stunden. Aufgrund des unregelmäßigen Kurvenverlaufs der  $\Delta OD$  wird vermutet, dass die weißliche Kultur wachstumshemmende Sekundärmetaboliten ausschüttet. Dies würde die Hemmung der vegetativen Zellteilung erklären. Die Kultivierungen, welche mit Sacchariden geführt wurden, zeigten eine spontane weißliche Trübungserscheinung nach 24 Stunden und ein Absinken der BTM. Ebenfalls werden mit dem nachträglichen Anstieg der BTM kleinere Wachstumsraten und auch ein geringeres Niveau der maximalen Zellmassenkonzentration erreicht. Allerdings zeigt sich auch, dass mit der erstmaligen Abwesenheit der weißlichen bakteriellen Fremdkultur der pH-Wert auf bis zu 12 steigt. In den Kultivierungen, welche mit Saccharid geführt wurden, ist ein Verlauf zu registrieren, welcher sich maximal auf einen pH-Wert von 11 einstellte.

## 6.5 ÜBERPRÜFUNG DER HYPOTHESEN

Die erste Hypothese, dass mit der Zugabe von organischen Kohlenstoffquellen eine Steigerung der Wachstumsrate erzielt werden kann, war nicht ersichtlich. Die Aussage, dass mixotrophe Wachstumsbedingungen zu größeren Wachstumsraten führen [Chojnacka & Noworyta, 2003; Marquez, et al., 1993], konnte nicht bestätigt werden. Nach Literaturverweis zeigen experimentelle Daten, dass mixotrophe Bedingungen zu einem Wachstum führen, welches nicht durch ein additives Verhältnis von heterotrophen und photoautotrophen Bedingungen abhängig ist. Vielmehr besteht eine spezifische Wachstumsrate für diese Art des Wachstums [Chojnacka & Noworyta, 2003]. Andere Quellen von früheren Arbeiten verweisen auf den gegenteiligen Sachverhalt der additiven Abhängigkeit [Marquez, et al., 1993]. Jedoch ist anzumerken, dass die Formulierung dieser Aussagen mit der Verwendung von monoseptischen Kulturen erstellt wurde. Hier liegt eine augenscheinliche Kontamination der *A.platensis* Kultur mit zwei weiteren bakteriellen Fremdkulturen vor, was das Wachstumsverhalten von *A.platensis* erheblich beeinflusst.

Weiterhin zeigt sich nach Literatur eine geringe Wachstumsrate [Marquez, et al., 1993], sodass anzunehmen ist, dass *A.platensis* eine geringe Affinität zu organischen Substraten besitzt. Die bakterielle Fremdkultur hingegen zeigt mit dem starken Wachstum anhand der  $\Delta OD$  Daten, dass sie eine höhere Affinität zu diesen besitzt. Mit der Verwendung von organischen Substraten zeichnet sich daher eine vermehrte Metabolisierung der organischen Kohlenstoffquellen durch die bakterielle Fremdkultur ab. Ein Wachstum von *A.platensis* ist

anhand der BTM Daten erkenntlich, jedoch liegen die gemessenen Wachstumsraten alle unterhalb der größten Wachstumsrate der photoautotrophen Kultivierung.

Die zweite Hypothese, dass ein Wachstum von *A.platensis* unter Abwesenheit von Strahlungsenergie durch die Zugabe von organischen Kohlenstoffquellen besteht, kann mit quantitativen Mitteln nicht repräsentativ wiedergegeben werden. Aufgrund einer Methodenwahl, welche zuvor für den Organismus *Chlorella sorokiniana* angepasst wurde, sind fehlerhafte Messdaten erhoben wurden. Jedoch war anhand der Daten von  $\Delta OD$  und den pH-Wert Daten sowie der augenscheinlichen Beobachtung kein Wachstum von *A.platensis* ersichtlich, sodass die Annahme getätigt wird, dass diese Hypothese nicht zutreffend ist.

Die dritte Hypothese, dass die *A.platensis* Kultivierung unter der Verwendung von Abfällen bzw. Abwasser ein ähnliches Wachstumsverhalten wie die Kultivierungen mit Saccharid aufweist, kann bestätigt werden. Jedoch weisen die Ergebnisse, wie schon bei der Diskussion der ersten Hypothese angemerkt, geringe Wachstumsraten, sodass ein effizientes Wachstum unter den gegebenen Bedingungen von *A.platensis* nicht bestätigt werden kann.

## 7 FAZIT & AUSBLICK

Die Steigerung eines wirtschaftlichen Interesses an der Mikroalgen-Bioraffinerie, mit Hilfe einer umweltschonend und ökologisch nachhaltigen Wiederverwertung von Abfällen, kann unter anderem durch die Reduzierung von Kosten für den Rohstoffbedarf umgesetzt werden. Cyanobakterien besitzen hinsichtlich ihres Habitats eine große Anpassungsfähigkeit und ein facettenreiches Angebot an kommerziellen Produkten, die mit einer gezielten Kultivierung synthetisiert werden können. Jedoch birgt die direkte Nutzung von Abfallgewässern, also die Zuführung von unbehandelten Rohstoffen, ein nicht steriles und nicht sauberes Substrat, sodass eine Kontamination mit Fremdkulturen nicht ausgeschlossen werden kann.

Die praktische Anwendung zeigt, dass eine Produktion von Biomasse mit *A.platensis* in einem kontaminierten Milieu möglich ist. Jedoch ist die Zugabe von Saccharid, als organisches Substrat, ein Wachstumsfaktor, der zu kleineren Wachstumsraten, sowie kleineren maximalen Zellkonzentrationen führt, als eine Kultivierung, welche nicht mit organischem Substrat versetzt wurde. Eine vegetative Zellteilung von *A.platensis* unter Ausschluss einer Strahlungsquelle konnte nicht beobachtet werden. Die Kultivierung mit „Produkt“ und „Abwasser“ zeigte ein ähnliches Wachstumsverhalten, wie es zuvor bei den Kultivierungen mit reinem Saccharid zu beobachten war.

Weiterhin ist zu vermuten, dass der Einsatz einer passenden Strahlungsquelle die Qualität, als auch Quantität der Biomasse stark beeinflusst. Ob eine Assimilierung von organischen Substrat tatsächlich durch *A.platensis* erfolgte, kann nicht eindeutig bestätigt werden, weil die gemessenen Wachstumsraten mit dem Einsatz von Saccharid kleiner sind als jene in denen kein Saccharid verwendet wurde. Damit widerspricht dieser Sachverhalt den Literaturdaten. Es ist anzumerken, dass nach Literatur stets monoseptische Kulturen verwendet wurden, was nicht auf eine Anwendung der direkten Verwertung von Abfallgewässern anwendbar ist.

Die Verwendung einer großen Vielfalt an Abfallarten machen Cyanobakterien aufgrund ihrer ausgeprägten Anpassungsfähigkeit zu einem geeigneten Organismus, um in unterschiedlichen Lebensbedingungen einen vegetativen Metabolismus betreiben zu können. Dabei ist deren Anwendbarkeit in Bezug zur Herstellung von kommerziellen Produkten, als auch einem optimalen Wachstum, im Fokus der Untersuchungen. Jedoch stellt die Verwendung von polyseptischen Kulturen, sowie eine unkontrollierte Kontamination eine enorme Herausforderung für die Regelung des Prozesses dar. Der Einfluss von spezifischen Fremdkulturen, als auch deren begleitendes Wachstum muss nähergehend untersucht werden, um innerhalb von unbehandelten Abfallgewässern ein effizientes Wachstum der Zielkultur gewährleisten zu können.

## 8 LITERATURVERZEICHNIS

- Acién Fernández, F. G., et al. (1997):** A model for light distribution and average solar irradiance inside outdoor tubular photobioreactors for the microalgal mass culture. *Biotechnology and Bioengineering* 1997, 55, 701–714; Heining M. (2016): Interne Beleuchtung von Photobioreaktoren mittels Wireless Light Emitttern. proof of concept, scale-up und Optimierungsansätze. Der Technischen Fakultät der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg.
- Arnold, K. et al. (2011):** BioCouple – Kopplung der stofflich/energetischen Nutzung von Biomassen. Analyse und Bewertung der Konzepte und der Einbindung in bestehende Bereitstellungs- und Nutzungsszenarien. Wuppertal Institut für Klima, Umwelt, Energie GmbH.
- Bär, S. (2018):** Screening und Optimierung von Produktionsorganismen für mikroalgenbasierte Bioraffinerieverfahren. Der Technischen Fakultät der Friedrich-Alexander-Universität.
- Béchet, Q., et al. (2013):** Modeling the effects of light and temperature on algae growth: State of the art and critical assessment for productivity prediction during outdoor cultivation. *Biotechnology Advances* 2013, 31, 1648–1663; zitiert nach: Heining M. (2016): Interne Beleuchtung von Photobioreaktoren mittels Wireless Light Emitttern. proof of concept, scale-up und Optimierungsansätze. Der Technischen Fakultät der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg.
- Borowitzka, M. A. (2013):** High-value products from microalgae-their development and commercialisation. *J. Appl. Phycol.*, 25, 743–756, DOI 10.1007/s10811-013-9983-9
- Castenholz, R. W. & Waterbury, J. B. (1989):** Oxygenic Photosynthetic Bacteria. Group Cyanobacteria. In: Staley, J. T., Bryant, M. P., Pfennig, N., Holt, J. G. (Eds.): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 3, Williams & Wilkins, Baltimore 1989, 1710-1727; zitiert nach: Falch, B. (1996): Was steckt in Cyanobakterien?. *Pharmazie in unserer Zeit*, Nr. 6. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim
- Chmiel, H. et al. (2006):** Bioprozesstechnik. 2 Auflage. Springer-Verlag, ein Teil von Springer Nature 2006, S.110 - 111
- Chmiel, H. et al. (2018):** Bioprozesstechnik. 4 Auflage. Springer-Verlag, ein Teil von Springer Nature 2018, S.47-50.
- Chojnacka K. & Noworyta A. (2003):** Evaluation of *Spirulina* sp. growth in photoautotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures. Institute of Chemical Engineering and Heating Equipment, Wrocław University of Technology, Received 23 November 2003; accepted 2 December 2003. *Elsevier, Enzyme and Microbial Technology* 34 (2004) 461–465

- Cornet, J.-F. et al. (1995):** A simplified monodimensional approach for modeling coupling between radiant light transfer and growth kinetics in photobioreactors. *Chemical Engineering Science* 1995, 50, 1489–1500; **Heining M. (2016):** Interne Beleuchtung von Photobioreaktoren mittels Wireless Light Emittern. proof of concept, scale-up und Optimierungsansätze. Der Technischen Fakultät der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg.
- Ehling-Schultz, M., et al. (1997):** UV-B-induced synthesis of photoprotective pigments and extracellular polysaccharides in the terrestrial cyanobacterium *Nostoc commune*. *Journal of Bacteriology* Vol.179, S.1940-1945
- Falch, B. (1996):** Was steckt in Cyanobakterien?. *Pharmazie in unserer Zeit*, Nr. 6. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim
- Festel, G., et al. (2004):** Der Einfluss der Biotechnologie auf Produktionsverfahren in der Chemieindustrie. *Chemie Ingenieur Technik*. Vol. 76, No. 3. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- Garcia-Picel, F. & Castenholz, R.W. (1991):** Characterization and biological implications of scytomenin, a cyanobacterial sheath pigment. *Journal of Phycology* Vol.27, S.395-409
- Griffith, M. J., et al. (2011):** Interference by pigment in the estimation of microalgal biomass concentration by optical density. *Journal of microbiological methods*, 85(2), 119-123
- Gromov, B. V., et al. (1993):** Biodiversity of cyanobacteria (foundations and prospects of cognition and preservation in light of ecological problems in Russia), *Microbiology* 62 (1993), 253-261; zitiert nach: Falch, B. (1996): Was steckt in Cyanobakterien?. *Pharmazie in unserer Zeit*, Nr. 6. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim
- Gutzeit, G. (2006):** Entwicklung und Modellierung eines neuartigen Abwasserreinigungsverfahrens mit symbiotischer Algen-Bakterien-Biomasse. GFEU, Lübeck.
- Heining M. (2016):** Interne Beleuchtung von Photobioreaktoren mittels wireless light emitttern – proof of concept, scale-up und Optimierungsansätze. Der Technischen Fakultät der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg.
- KEGG (2013):** *Arthrospira platensis*, Genome information. [https://www.genome.jp/kegg-bin/show\\_organism?org=arp](https://www.genome.jp/kegg-bin/show_organism?org=arp) (letzter Zugriff: 14,09.2019)
- Knoop, H. (2014):** Integrative Analyse des cyanobakteriellen Stoffwechsels. Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.) im Fach Biologie. Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät i firt Humboldt-Universität zu Berlin
- Leu, S. & Boussiba, S. (2014):** Advances in the Production of High-Value Products by Microalgae. *Industrial Biotechnology*, Vol. 10, No. 3, 169–183

- Madigan, M.T. & Martinkom, J.M.** (2009): Brock Mikrobiologie. 11. Aufl. Altusried/Krugzell, S.163 f.
- Marquez, F. J., et al.** (1993): Growth Characteristics of *Spirulina platens* & in Mixotrophic and Heterotrophic Conditions. Department of Fermentation Technology, Faculty of Engineering, Hiroshima University and Hiroshima-Denki Institute of Technology. Journal of Fermentation and Bioengineering, Vol. 76, NO. 5, 408-410., 1993
- Mühling, M., et al.** (2005): Screening *Arthrospira* (*Spirulina*) strains for heterotrophy. School of Biological and Biomedical Sciences, University of Durham, Earthrise Nutritionals, Present address: Plymouth Marine Laboratory. Springer 2005. Journal of Applied Phycology (2005) 17: 129–135. DOI: 10.1007/s10811-005-7214-8
- Nultsch, W.** (1985): Lichtorientierte Bewegung bei Cyanobakterien. Fachbereich Biologie der Universität Marburg. Naturwissenschaften 72, 527-533. Springer-Verlag 1985
- Nultsch, W., et al.** (1979): Investigations on the phototactic orientation of *Anabaena variabilis*. Arch. Microbiol. 12, 85; zitiert nach: Nultsch, W. (1985): Lichtorientierte Bewegung bei Cyanobakterien. Fachbereich Biologie der Universität Marburg. Naturwissenschaften 72, 527-533. Springer-Verlag 1985
- Ogawa, T. & Gyozo, T.** (1970): Studies on the Growth of *Spirulina platensis* (I) On the Pure Culture of *Spirulina platensis*. Department of Fermentation Technology, Faculty of Engineering,
- Ortega, M.M.** (1972): Study of the edible algae of the valley of Mexico. Instituto de Biología, Apartado Postal. Botanica Marina, Vol. XV, p. 162 – 166.

## 9 ANHANG

### 9.1 TABELLEN

Tabelle 11 Daten zur Strahlungsintensität, welche nach ihrer Position auf dem Kultivierungsfeld angeordnet sind. Es werden Zwischenmessungen innerhalb einer ein wöchigen Kultivierungs gezeigt und Daten, welche vor der Kultivierungs aufgenommen wurden

	Leer Bereich	A	B	C	D	Leer Bereich
Glucose	48,25	54,74	61,26	63,36	77,72	97,28
Fruuctose	60,6	69,15	77,03	82,53	95,24	104,55
Mannose	66,5	77,07	88,52	100,78	120,69	131,8
Galactose	67,83	84,8	92,26	105,9	129,55	123,08
	46,72	55,38	60,02	64,39	78,5	96,75
Zwischen-	59,84	67,94	76,84	83,56	94,03	104,03
messung	67,3	77,75	87,97	101,03	120,46	129,93
	66,53	83,9	93,66	104,6	120,85	122,93
	46,98	54,74	62,03	63,64	77,44	95,34
Zwischen-	58,65	68,34	75,95	84,05	95,33	102,06
messung	66,98	76,32	86,54	102,32	120,25	128,76
	67,85	84,5	94,03	103,75	116,95	123,54
Abwasser	45,94	56,28	56,59	60,86	71,05	93,27
Produkt	57,95	66,03	74,44	83,08	93,79	98,99
Mixotroph	66,34	76,01	85,94	103,14	117,7	122,56
Photoautotroph	62,84	79,96	90,49	107,98	109,41	112,86

Tabelle 12: Messwerte der Temperaturen der einzelnen Messstationen, während Versuchsreihe 1

Zeit	Temperatur			
	Messfühler 1	Messfühler 2	Messfühler 3	Messfühler 4
0	32,8	32,4	-	32,5
24	Ausfall der Messung wegen Wochenende			
48	Ausfall der Messung wegen Wochenende			
72	32,2	31,8	-	32,0
96	32,8	32,4	-	32,1
120	32,2	31,9	-	32,2
144	31,7	31,6	-	31,8
168	-	-	-	-
192	Ausfall der Messung wegen Wochenende			
216	Ausfall der Messung wegen Wochenende			
240	31,9	31,8	-	32,0
264	Ausfall der Messung wegen Wochenende			
288	Abbruch			
312	Abbruch			

Tabelle 13: Messwerte der Temperaturen der einzelnen Messstationen, während Versuchsreihe 2

Zeit	Temperatur			
	Messfühler 1	Messfühler 2	Messfühler 3	Messfühler 4
0	33,3	32,8	-	33,4
24	33,4	32,8	-	33,5
48	33,4	32,8	-	33,5
72	32,9	33,1	-	33,3
96	Ausfall der Messung wegen Wochenende			
120	Ausfall der Messung wegen Wochenende			
144	32,1	31,6	-	32,1
168	33,1	32,5	-	33,1
192	33,4	32,9	-	33,5
216	31,8	31,2	-	31,8
240	32,3	31,8	-	32,3
264	Ausfall der Messung wegen Wochenende			
288	Ausfall der Messung wegen Wochenende			
312	33,5	33	-	33,4

Tabelle 14: Messwerte der Temperaturen der einzelnen Messstationen, während Versuchsreihe 3

Zeit	Temperatur			
	Messfühler 1	Messfühler 2	Messfühler 3	Messfühler 4
0	30,4	30,6	-	30,8
24	31,8	32,2	-	32,5
48	32,2	32,4	-	32,8
72	30,1	30,9	-	31,1
96	Ausfall der Messung wegen Wochenende			
120	Ausfall der Messung wegen Wochenende			
144	30,6	31,2	-	31,6
168	30,6	31,2	-	31,6
192	30,7	31,2	-	31,4
216	31,1	31,6	-	31,8
240	31,2	31,5	-	31,6
264	Ausfall der Messung wegen Wochenende			
288	Ausfall der Messung wegen Wochenende			
312	31,6	32	-	32,1

Tabelle 15 BTM Messdaten A bis D der photoautotrophen Kultivierung

Photoautotroph	Kultivierungsansatz			
Zeit	A	B	C	D
0	2,1500	2,4500	2,2500	2,2500
24	2,1000	2,1000	2,0333	2,2333
48	2,6333	2,7667	2,7000	2,9333
72	4,7667	3,2000	3,8000	4,6333
96		Wochenende		
120		Wochenende		
144	4,1667	4,2333	3,9667	4,1000
168	4,6000	4,6000	4,5333	4,7333
192	5,2667	5,5667	4,4333	4,4000
216	4,8333	4,8333	4,5667	3,9667
240		Keine Filter mehr		
264		Wochenende		
288		Wochenende		
312		Keine Filter mehr		

Tabelle 16 BTM Messdaten A bis D der mixotrophen Kultivierung

Mixotroph	Kultivierungsansatz			
Zeit	A	B	C	D
0	2,4500	2,7500	2,3500	2,6500
24	1,5333	1,8333	1,9667	2,0667
48	2,0667	2,2000	2,2000	2,2667
72	2,5667	2,4000	2,6000	2,8000
96		Wochenende		
120		Wochenende		
144	2,9000	3,2000	2,9000	3,1333
168	2,9333	3,4333	3,0000	3,2667
192	2,9000	3,4667	2,9000	3,5333
216	3,0333	3,4667	2,9000	3,5667
240		Keine Filter mehr		
264		Wochenende		
288		Wochenende		
312		Keine Filter mehr		

Tabelle 17 BTM Messdaten A bis D der Kultivierung mit Produktzugabe

"Produkt"	Kultivierungsansatz			
Zeit	A	B	C	D
0	2,8000	2,2000	2,6000	2,8500
24	2,4333	1,6333	2,3000	2,3000
48	2,7667	2,8667	2,5000	3,0667
72	3,3000	3,1333	2,9000	3,1333
96		Wochenende		
120		Wochenende		
144	3,7667	4,4333	4,2000	3,7667
168	3,7333	4,4333	3,9667	3,1333
192	4,4333	4,8667	4,5667	4,1667
216	3,7000	4,4667	4,2000	4,0333
240		Keine Filter mehr		
264		Wochenende		
288		Wochenende		
312		Keine Filter mehr		

Tabelle 18 BTM Messdaten A bis D der Kultivierung mit Abwasserzugabe

"Abwasser"	Kultivierungsansatz			
Zeit	A	B	C	D
0	2,9000	2,2500	3,2500	2,8000
24	2,3333	2,5000	2,4667	2,4333
48	2,6333	2,6000	2,7000	2,7333
72	3,2333	3,1333	3,1000	3,4000
96		Wochenende		
120		Wochenende		
144	3,9667	3,8667	3,4333	4,1667
168	4,1667	3,9667	3,5000	4,6000
192	4,7667	4,5667	4,2667	5,1333
216	3,8333	4,1667	3,3000	4,7333
240		Keine Filter mehr		
264		Wochenende		
288		Wochenende		
312		Keine Filter mehr		

Tabelle 19 BTM Messdaten A bis D der Kultivierung Glucose

Glucose	Zeit	Kultivierungsansatz			
		A	B	C	D
	0	7,1500	6,4250	7,6000	7,6250
	24	3,4000	6,1667	6,0000	5,6000
	48	5,8667	5,4667	8,4000	7,1000
	72	6,533	5,967	7,033	7,333
	96				
	120		Wochenende		
	144	3,733	4,100	5,333	6,233
	168	3,600	4,000	4,133	5,033
	192	3,567	4,100	4,600	5,167
	216	2,667	3,300	3,633	4,800
	240	3,600	3,900	4,433	5,600
	264				
	288		Wochenende		
	312	3,367	3,633	3,767	5,067

Tabelle 20 BTM Messdaten A bis D der Kultivierung mit Fructose

Fructose	Zeit	Kultivierungsansatz			
		A	B	C	D
	0	8,6250	8,4500	8,0750	8,1250
	24	9,1333	6,4667	7,7000	6,3333
	48	6,6333	6,4333	6,2333	6,9667
	72	6,867	7,300	6,467	7,467
	96				
	120		Wochenende		
	144	5,033	5,300	5,233	5,767
	168	4,000	4,667	4,533	5,000
	192	3,667	4,700	4,400	5,233
	216	3,200	4,333	3,433	4,400
	240	3,767	4,900	4,400	5,333
	264				
	288		Wochenende		
	312	3,533	5,067	3,700	5,500

Tabelle 21 BTM Messdaten A bis D der Kultivierung mit Mannose

Mannose	Kultivierungsansatz				
	Zeit	A	B	C	D
	0	7,9000	8,3500	7,6750	6,0750
	24	6,7333	8,4667	5,6667	6,4000
	48	7,3000	7,3000	6,0333	6,9000
	72	7,667	6,967	6,567	7,667
	96				
	120		Wochenende		
	144	5,933	5,867	6,067	6,100
	168	4,833	5,700	5,133	5,500
	192	5,233	4,533	4,167	4,700
	216	4,000	4,800	5,400	3,700
	240	4,733	4,567	5,267	5,800
	264				
	288		Wochenende		
	312	4,067	3,833	4,900	6,133

Tabelle 22 BTM Messdaten A bis D der Kultivierung mit Galactose

Galactose	Kultivierungsansatz				
	Zeit	A	B	C	D
	0	7,9000	8,3500	7,6750	6,0750
	24	6,7333	8,4667	5,6667	6,4000
	48	7,3000	7,3000	6,0333	6,9000
	72	7,667	6,967	6,567	7,667
	96				
	120		Wochenende		
	144	5,933	5,867	6,067	6,100
	168	4,833	5,700	5,133	5,500
	192	5,233	4,533	4,167	4,700
	216	4,000	4,800	5,400	3,700
	240	4,733	4,567	5,267	5,800
	264				
	288		Wochenende		
	312	4,067	3,833	4,900	6,133

Tabelle 23 BTM Messdaten A bis D der Kultivierung unter Abwesenheit von Licht bei 0,1 g·L<sup>-1</sup> Glucose

0,1	Kultivierungsansatz				
	Zeit	A	B	C	D
	0	0,233	0,367	0,100	0,100
	24				
	48		Wochenende		
	72	0,100	0,133	0,233	0,200
	96	0,900	0,200	0,300	0,500
	120	0,133	0,233	0,000	0,033
	144	0,233	0,067	0,200	0,167
	168		Krank		
	192				
	216		Wochenende		
	240	0,067	0,167	0,133	0,067
	264				
	288		Abbruch kein Wachstum		
	312				

Tabelle 24 Tabelle 25 BTM Messdaten A bis D der Kultivierung unter Abwesenheit von Licht bei 0,5 g·L<sup>-1</sup> Glucose

0,5	Kultivierungsansatz				
	Zeit	A	B	C	D
	0	0,267	0,133	0,233	0,300
	24				
	48		Wochenende		
	72	0,100	0,100	0,233	0,333
	96	0,300	0,550	0,300	0,300
	120	0,367	0,233	0,233	0,267
	144	0,200	0,233	0,433	0,167
	168		Krank		
	192				
	216		Wochenende		
	240	0,267	0,233	0,333	0,133
	264				
	288		Abbruch kein Wachstum		
	312				

Tabelle 26 Tabelle 27 BTM Messdaten A bis D der Kultivierung unter Abwesenheit von Licht bei 1 g·L<sup>-1</sup> Glucose

1	Kultivierungsansatz			
Zeit	A	B	C	D
0	0,267	0,067	0,300	
24				
48	Wochenende			
72	0,433	0,133	0,400	
96	0,350	0,350	0,600	
120	0,467	0,400	0,133	
144	0,233	0,200	0,233	
168	Krank			Ansatz tot
192				
216	Wochenende			
240	Filter kaputt	0,167	0,267	
264				
288	Abbruch kein Wachstum			
312				

Tabelle 28 pH-Wert Messdaten A bis D der photoautotrophen Kultivierung

Photoautotroph	Kultivierungsansatz			
Zeit	A	B	C	D
0	9,673	9,693	9,687	9,703
24	10,011	10	9,992	10,043
48	10,344	10,328	10,296	10,488
72	10,564	10,474	10,482	10,879
96				
120	Wochenende			
144	12,43	11,957	11,935	12,806
168	12,385	12,043	11,938	12,418
192	12,306	12,223	12,03	12,403
216	10,467	10,484	10,505	10,551
240	10,415	10,588	10,565	10,245
264				
288	Wochenende			
312	11,264	11,045	10,979	10,111

Tabelle 29 pH-Wert Messdaten A bis D der mixotrophen Kultivierung

Mixotroph	Kultivierungsansatz			
Zeit	A	B	C	D
0	9,681	9,676	9,662	9,699
24	9,548	9,57	9,569	9,557
48	9,835	9,857	9,827	9,88
72	9,899	9,911	9,876	9,984
96				
120		Wochenende		
144	10,267	10,334	10,238	10,409
168	10,224	10,339	10,224	10,397
192	10,258	10,377	10,271	10,455
216	10,289	10,438	10,312	10,568
240	10,357	10,441	10,36	10,527
264				
288		Wochenende		
312	10,4	10,526	10,473	10,699

Tabelle 30 pH-Wert Messdaten A bis D der Kultivierung mit Produktzugabe

"Produkt"	Kultivierungsansatz			
Zeit	A	B	C	D
0	9,676	9,676	9,681	9,695
24	9,777	9,784	9,732	9,762
48	10,056	10,048	10,03	10,151
72	10,158	10,147	10,13	10,275
96				
120		Wochenende		
144	10,572	10,788	10,06	10,675
168	10,544	10,771	11,139	10,593
192	10,483	10,859	11,498	10,621
216	10,486	10,553	10,54	10,498
240	10,532	10,501	10,512	10,535
264				
288		Wochenende		
312	10,547	10,726	11,387	10,515

Tabelle 31 pH-Wert Messdaten A bis D der Kultivierung mit Abwasserzugabe

"Abwasser"	Kultivierungsansatz				
	Zeit	A	B	C	D
	0	9,695	9,681	9,688	9,698
	24	9,819	9,813	9,795	9,806
	48	10,04	10,02	9,987	10,129
	72	10,132	10,117	10,05	10,27
	96				
	120		Wochenende		
	144	10,736	10,738	10,422	11,122
	168	10,662	10,754	10,384	11,217
	192	10,703	10,834	10,413	11,396
	216	10,55	10,571	10,435	10,496
	240	10,541	10,503	10,461	10,545
	264				
	288		Wochenende		
	312	10,58	10,756	10,411	10,775

Tabelle 32 pH-Wert Messdaten A bis D der Kultivierung mit Glucose

Glucose	Kultivierungsansatz				
	Zeit	A	B	C	D
	0	9,704	9,716	9,724	9,732
	24	9,95	9,867	9,937	9,959
	48	9,988	9,945	10,043	10,162
	72	10,247	10,22	10,333	10,531
	96				
	120		Wochenende		
	144	10,366	10,44	10,6	11,229
	168	10,424	10,501	10,657	11,403
	192	10,453	10,543	10,673	11,547
	216	10,505	10,585	10,555	10,56
	240	10,45	10,512	10,498	10,586
	264				
	288		Wochenende		
	312	10,507	10,522	10,511	10,811

Tabelle 33 pH-Wert Messdaten A bis D der Kultivierung mit Fructose

Fructose	Kultivierungsansatz				
	Zeit	A	B	C	D
	0	9,723	9,718	9,72	9,724
	24	9,982	9,961	9,892	10,007
	48	9,97	9,992	9,989	10,111
	72	10,226	10,344	10,281	10,462
	96				
	120		Wochenende		
	144	10,482	10,861	10,672	11,037
	168	10,531	11,013	10,727	11,254
	192	10,563	11,09	10,709	11,441
	216	10,566	10,568	10,538	10,575
	240	10,52	10,618	10,497	10,63
	264				
	288		Wochenende		
	312	10,549	10,537	10,497	10,895

Tabelle 34 pH-Wert Messdaten A bis D der Kultivierung mit Mannose

Mannose	Kultivierungsansatz				
	Zeit	A	B	C	D
	0	9,731	9,731	9,729	9,741
	24	10,095	10,024	10,07	10,208
	48	10,156	10,044	10,283	10,521
	72	10,351	10,195	10,424	10,763
	96				
	120		Wochenende		
	144	10,592	10,552	10,745	11,184
	168	10,66	10,57	10,894	11,473
	192	10,67	10,613	10,965	11,488
	216	10,585	10,547	10,566	10,53
	240	10,55	10,5	10,592	10,559
	264				
	288		Wochenende		
	312	10,589	10,551	10,701	10,81

Tabelle 35 pH-Wert Messdaten A bis D der Kultivierung mit Galactose

Galactose	Kultivierungsansatz			
Zeit	A	B	C	D
0	9,72	9,715	9,731	9,734
24	10,085	10,03	10,062	10,166
48	10,199	10,077	10,109	10,194
72	10,437	10,33	10,459	10,421
96				
120		Wochenende		
144	11,016	10,714	11,256	10,568
168	11,17	10,806	11,593	10,622
192	11,269	10,86	12,011	10,626
216	10,56	10,557	10,583	10,566
240	10,605	10,548	10,567	10,525
264				
288		Wochenende		
312	10,851	10,641	12,462	10,606

Tabelle 36 pH-Wert Messdaten A bis D der Kultivierung mit 0,1 g·L<sup>-1</sup>Glucose

0,1	Kultivierungsansatz			
Zeit	A	B	C	D
0	9,17	9,23	9,2	9,26
24				
48		Wochenende		
72	9,29	9,33	9,3	9,27
96	9,697	9,701	9,702	9,674
120	9,982	9,997	9,992	9,952
144	10,012	10,038	10,033	10,01
168		Krank		
192				
216		Wochenende		
240	10,188	10,182	10,186	10,155
264				
288		Abbruch kein Wachstum		
312				

Tabelle 37 pH-Wert Messdaten A bis D der Kultivierung mit 0,5 g·L<sup>-1</sup>Glucose

0,5	Kultivierungsansatz			
Zeit	A	B	C	D
0	9,16	9,19	9,22	9,23
24				
48		Wochenende		
72	9,21	9,17	9,15	9,08
96	9,645	9,661	9,648	9,676
120	9,943	9,963	9,946	9,96
144	10,002	10,027	10,006	10,035
168		Krank		
192				
216		Wochenende		
240	10,154	10,172	10,155	10,189
264				
288		Abbruch kein Wachstum		
312				

Tabelle 38 pH-Wert Messdaten A bis D der Kultivierung mit 1 g·L<sup>-1</sup>Glucose

1	Kultivierungsansatz			
Zeit	A	B	C	D
0	9,2	9,23	9,18	
24				
48		Wochenende		
72	9,19	9,31	9,25	
96	9,53	9,54	9,529	
120	9,85	9,859	9,855	
144	9,933	9,945	9,934	Ansatz tot
168		Krank		
192				
216		Wochenende		
240	10,104	10,106	10,107	
264				
288		Abbruch kein Wachstum		
312				

Tabelle 39  $\Delta$ OD-Wert Messdaten A bis D der photoautotrophen Kultivierung

Photoautotroph	Kultivierungsansatz			
Zeit	A	B	C	D
0	0,546	0,576	0,544	0,584
24	0,84	0,916	0,824	0,892
48	1,392	1,304	1,272	1,528
72	1,808	1,628	1,584	1,988
96				
120		Wochenende		
144	2,992	2,952	2,776	3,224
168	3,192	2,968	2,88	3,072
192	3,36	3,36	3,168	2,712
216	3,376	3,464	3,488	2,76
240	3,32	3,664	3,576	3,224
264				
288		Wochenende		
312	4,304	4,352	4,24	3,76

Tabelle 40  $\Delta$ OD-Wert Messdaten A bis D der mixotrophen Kultivierung

Mixotroph	Kultivierungsansatz			
Zeit	A	B	C	D
0	0,602	0,576	0,574	0,552
24	1,38	1,28	1,304	1,2
48	1,228	1,276	1,256	1,26
72	1,364	1,388	1,356	1,48
96				
120		Wochenende		
144	1,944	2,12	1,944	2,216
168	1,92	2,176	2,016	2,296
192	1,928	2,296	2,048	2,504
216	2,216	2,504	2,256	2,8
240	2,136	2,456	2,28	2,944
264				
288		Wochenende		
312	2,296	2,864	2,552	3,464

Tabelle 41  $\Delta$ OD-Wert Messdaten A bis D der Kultivierung mit Produktzugabe

"Produkt"	Kultivierungsansatz				
	Zeit	A	B	C	D
	0	0,57	0,598	0,572	0,592
	24	1,196	1,172	1,296	1,256
	48	1,64	1,648	1,608	1,792
	72	2,08	1,944	1,912	2,136
	96				
	120		Wochenende		
	144	2,952	3,264	3,296	3,112
	168	2,952	3,296	3,464	3,248
	192	3,04	3,504	3,92	3,352
	216	3,176	4,128	4,176	3,568
	240	3,136	3,992	4,064	3,552
	264				
	288		Wochenende		
	312	3,416	4,72	5,248	3,768

Tabelle 42  $\Delta$ OD-Wert Messdaten A bis D der Kultivierung mit Abwasserzugabe

"Abwasser"	Kultivierungsansatz				
	Zeit	A	B	C	D
	0	0,558	0,574	0,572	0,598
	24	1,02	1,04	1,088	1,06
	48	1,512	1,456	1,476	1,664
	72	1,852	1,756	1,736	2,008
	96				
	120		Wochenende		
	144	2,904	2,864	2,416	3,352
	168	3,112	3,224	2,536	3,568
	192	3,112	3,216	2,624	3,8
	216	3,528	3,568	2,768	4
	240	3,328	3,824	2,728	4,208
	264				
	288		Wochenende		
	312	3,736	4,368	2,768	5,504

Tabelle 43  $\Delta$ OD -Wert Messdaten A bis D der Kultivierung mit Glucose

Glucose	Kultivierungsansatz				
	Zeit	A	B	C	D
	0	0,486	0,489	0,496	0,489
	24	1,448	1,436	1,26	1,464
	48	1,808	1,492	1,828	1,952
	72	1,98	1,844	2,376	2,544
	96				
	120		Wochenende		
	144	2,072	2,088	2,392	3,208
	168	2,2	2,608	2,616	3,728
	192	2,272	2,432	2,736	3,816
	216	2,696	2,448	2,744	4,224
	240	2,416	2,528	2,696	3,896
	264				
	288		Wochenende		
	312	2,336	2,512	2,696	4,048

Tabelle 44  $\Delta$ OD -Wert Messdaten A bis D der Kultivierung mit Fructose

Fructose	Kultivierungsansatz				
	Zeit	A	B	C	D
	0	0,48	0,494	0,478	0,489
	24	1,24	1,208	1,472	1,404
	48	1,724	1,684	1,612	1,888
	72	1,98	1,88	1,98	2,56
	96				
	120		Wochenende		
	144	2,176	2,688	2,56	3,136
	168	2,816	3,272	2,768	3,632
	192	2,432	3,392	2,648	3,744
	216	2,712	3,416	2,712	3,68
	240	2,728	3,592	2,872	4,112
	264				
	288		Wochenende		
	312	2,544	3,92	2,808	4,448

Tabelle 45  $\Delta$ OD -Wert Messdaten A bis D der Kultivierung mit Mannose

Mannose	Kultivierungsansatz				
	Zeit	A	B	C	D
	0	0,474	0,495	0,492	0,498
	24	1,048	1,056	0,94	1,04
	48	1,82	1,648	1,508	1,808
	72	2,504	2,048	2,128	2,456
	96				
	120		Wochenende		
	144	2,632	2,44	3,048	3,68
	168	3,224	2,728	3,152	4,048
	192	2,832	2,504	3,376	4,16
	216	2,888	2,432	3,232	3,912
	240	2,864	2,544	3,632	4,368
	264				
	288		Wochenende		
	312	2,984	2,68	3,816	4,64

Tabelle 46  $\Delta$ OD -Wert Messdaten A bis D der Kultivierung mit Galactose

Galactose	Kultivierungsansatz				
	Zeit	A	B	C	D
	0	0,48	0,479	0,491	0,483
	24	1,124	1,028	1,296	1,46
	48	2,56	2,024	2,008	2,24
	72	2,392	2,224	2,448	2,648
	96				
	120		Wochenende		
	144	3,416	2,944	3,656	2,736
	168	3,92	3,72	4,192	2,776
	192	3,696	3,328	3,936	2,952
	216	3,648	3,28	3,92	2,88
	240	3,984	3,552	4,256	3,016
	264				
	288		Wochenende		
	312	4,432	3,472	5,424	3,104

Tabelle 47  $\Delta$ OD-Wert Messdaten A bis D der Kultivierung mit 0,1 g·L<sup>-1</sup>Glucose

0,1	Kultivierungsansatz			
Zeit	A	B	C	D
0	0,217	0,209	0,205	0,209
24				
48		Wochenende		
72	0,271	0,24	0,255	0,246
96	0,253	0,23	0,255	0,226
120	0,251	0,254	0,252	0,227
144	0,253	0,239	0,243	0,246
168		Krank		
192				
216		Wochenende		
240	0,255	0,215	0,244	0,228
264				
288		Abbruch kein Wachstum		
312				

Tabelle 48  $\Delta$ OD-Wert Messdaten A bis D der Kultivierung mit 0,5 g·L<sup>-1</sup>Glucose

0,5	Kultivierungsansatz			
Zeit	A	B	C	D
0	0,205	0,223	0,203	0,218
24				
48		Wochenende		
72	0,473	0,443	0,481	0,439
96	0,454	0,423	0,454	0,436
120	0,436	0,42	0,439	0,414
144	0,418	0,416	0,449	0,435
168		Krank		
192				
216		Wochenende		
240	0,405	0,415	0,413	0,416
264				
288		Abbruch kein Wachstum		
312				

Tabelle 49  $\Delta$ OD-Wert Messdaten A bis D der Kultivierung mit 1 g·L<sup>-1</sup>Glucose

1	Kultivierungsansatz			
Zeit	A	B	C	D
0	0,211	0,22	0,201	
24				
48	Wochenende			
72	0,605	0,664	0,627	
96	0,585	0,643	0,633	
120	0,585	0,648	0,624	
144	0,594	0,666	0,636	Ansatz tot
168	Krank			
192	Wochenende			
216				
240	0,566	0,587	0,599	
264				
288	Abbruch kein Wachstum			
312				

## 9.2 ABBILDUNGEN

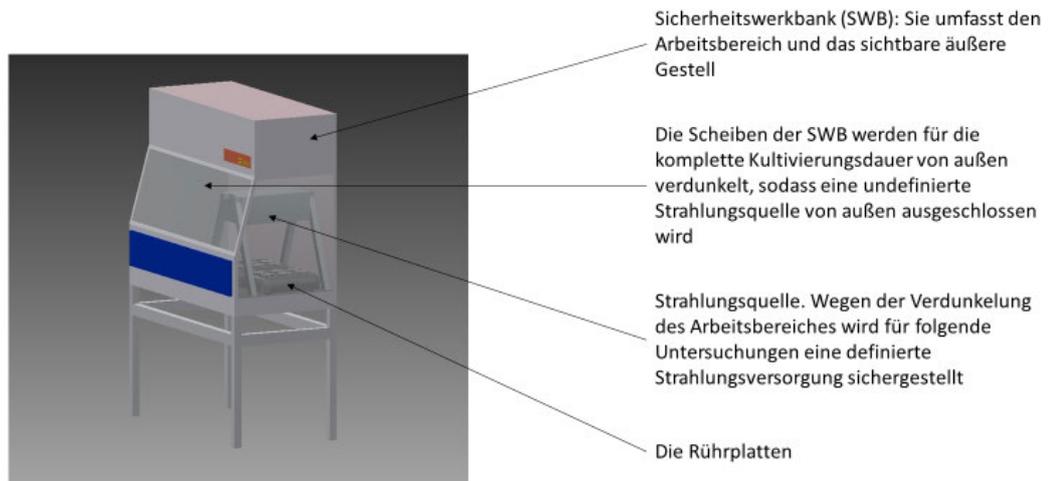


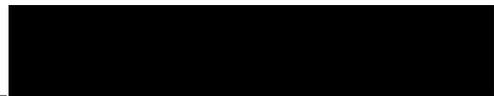
Abbildung 30 Versuchsaufbau der Kultivierungen in der Sicherheitswerkbank

## VERSICHERUNG AN EIDES STATT

Hiermit versichere ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit im Bachelorstudien-  
gang Biotechnologie selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfs-  
mittel – insbesondere keine im Quellenverzeichnis nicht benannten Internet-Quellen – be-  
nutzt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus Veröffentlichungen entnommen  
wurden, sind als solche kenntlich gemacht. Ich versichere weiterhin, dass ich die Arbeit  
vorher nicht in einem anderen Prüfungsverfahren eingereicht habe und die eingereichte  
schriftliche Fassung der auf dem elektronischen Speichermedium entspricht.

Hamburg, den

---



Unterschrift des Verfassers