

Hochschule für angewandte Wissenschaften Hamburg

Fakultät Life Sciences

**Untersuchung der Biomasseproduktivität und Zellzusammensetzung von
Tetrademus obliquus kultiviert in einem schwimmenden
Photobioreaktorsystem unter Zugabe von Natriumhydrogencarbonat als
alternative Kohlenstoffquelle**

Bachelorarbeit

Studiengang B. Sc. Biotechnologie

vorgelegt von

Maria, Clasen



Hamburg

20.12.2024

Erstgutachterin:

Prof. Dr. Gesine Cornelissen (HAW Hamburg)

Zweitgutachter:

M. Sc. Alexander Hofmann (TUHH)

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter Zuhilfenahme der ausgewiesenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Werken im Wortlaut und Sinn entnommenen Stellen sind unter Angabe der Quellen kenntlich gemacht. Diese Versicherung umfasst sowohl die Textinhalte als auch die verwendeten bildlichen Inhalte und Tabellen.

Ort, Datum

Unterschrift

Abstract

In dieser Studie wurde das Potenzial von *Tetrademus obliquus* in einem schwimmenden Photobioreaktorsystem zur Kultivierung mit zwei unterschiedlichen Kohlenstoffquellen, CO₂ und Natriumhydrogencarbonat, untersucht. Ziel war es, die Effizienz von Natriumhydrogencarbonat als Alternative zu CO₂ zu evaluieren, insbesondere unter den Bedingungen eines schwimmenden PBRs, das als kostengünstige und nachhaltige Lösung für die Algenproduktion im Freilandbetrieb gilt. Es wurde ein Vergleich der Gesamtwachstumsraten, Biomasseproduktivitäten und der Normproduktivitäten durchgeführt. Die Gesamtwachstumsraten in der NaHCO₃-Kultivierung lagen in Woche 1 bei 0,36 d⁻¹ und in Woche 2 bei 0,21 d⁻¹, wobei die CO₂-Kultivierung in Woche 1 mit 0,24 d⁻¹ und in Woche 2 mit 0,31 d⁻¹ gemessen wurde. In Bezug auf die Gesamtproduktivität zeigte die NaHCO₃-Kultivierung in Woche 1 eine Produktivität von 0,16 g · L⁻¹ und in Woche 2 0,12 g · L⁻¹, wohingegen die CO₂-Kultivierung Werte von 0,09 g · L⁻¹ in Woche 1 und 0,13 g · L⁻¹ in Woche 2 erreichte. Die Normproduktivitäten der NaHCO₃-Kultivierung waren in beiden Wochen ähnlich, jedoch zeigte die CO₂-Kultivierung unter stabileren Bedingungen eine etwa doppelt so hohe Normproduktivität. Darüber hinaus wurde eine detaillierte Analyse der Zellzusammensetzung von *T. obliquus* durchgeführt. Es zeigte sich, dass die Zellzusammensetzung in beiden Kohlenstoffquellen vergleichbar war, mit leichten Schwankungen in den Proteinen und Sacchariden. Die Studie hebt das Potenzial von NaHCO₃ als alternative Kohlenstoffquelle hervor, insbesondere für die Nutzung in schwimmenden PBRs, da es eine einfachere Handhabung und geringere Kosten im Vergleich zur CO₂-Begasung ermöglicht.

Schlagwörter: *Tetrademus obliquus*, schwimmender Photobioreaktor, Biomasseproduktivität, Natriumhydrogencarbonat, Zellzusammensetzung

Inhaltsverzeichnis

Abstract	II
Abbildungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis	VII
1 Einleitung.....	1
2 Theoretische Grundlagen.....	2
2.1 Mikroalgen.....	2
2.2 <i>Tetrademus obliquus</i>	3
2.3 Photosynthese.....	4
2.3.1 Photosynthetische Pigmente	4
2.3.2 Lichtreaktion	5
2.3.3 Dunkelreaktion	6
2.4 Zellkomponenten von Mikrolagen	6
2.4.1 Proteine	6
2.4.2 Lipide	7
2.4.3 Polysaccharide.....	7
2.4.4 Sekundärmetaboliten	8
2.4.5 Bioaktive Komponenten.....	8
2.5 Kultivierungssysteme	8
2.5.1 Open Ponds.....	9
2.5.2 Flat Panel Airlift	10
2.5.3 Tubuläre Photobioreaktoren.....	11
2.5.4 Schwimmende Photobioreaktoren	13
2.6 Wachstumsparameter der Kultivierung	14
2.6.1 Lichtintensität.....	14
2.6.2 CO ₂ -Zufuhr.....	15
2.6.3 Alternative Kohlenstoffquellen	16
2.6.4 Temperatur	17
2.6.5 Nährstoffe und pH-Wert	17
3 Material und Methoden	19

3.1	Material	19
3.2	Medienzusammensetzung	22
3.3	Methoden	24
3.3.1	Vorkulturführung	24
3.3.2	Vorversuch 1: Versuchsaufbau	25
3.3.3	Vorversuch 2: Versuchsaufbau	27
3.3.4	Hauptversuch: Versuchsaufbau	28
3.3.5	Bestimmung der Wachstumsparameter	31
3.3.6	Zellernte und Probenvorbereitung	35
3.3.7	Analytische Methoden	36
4	Ergebnisse	42
4.1	Ergebnisse der Vorversuche	42
4.2	Ergebnisse Hauptversuch im schwimmenden PBR	50
4.2.1	Kultivierung unter Standardbedingungen mit CO ₂ -Begasung	50
4.2.2	Kultivierung unter Zugabe von Natriumhydrogencarbonat	57
4.3	Bestimmung der Zellzusammensetzung	64
5	Diskussion	66
5.1	Vorversuche	66
5.2	Hauptversuche	69
6	Zusammenfassung & Fazit	76
7	Ausblick	77
8	Literaturverzeichnis	78
9	Anhang	89

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Darstellung einiger Mikroalgenarten. (A) <i>Pediastrum</i> sp.; (B) <i>Micrasterias radiosa</i> ; (C) <i>Synura petersenii</i> ; (D) <i>Chlamydomonas</i> sp.; (E) <i>Pseudogoniochloris tripus</i> ; (F) <i>Cryptomonas</i> sp., (Borowitzka M., 2016).....	3
Abbildung 2: Hauptprodukte der Licht- und Dunkelreaktionen der Photosynthese (adaptierte Version aus Richmond, 2013, basierend auf Hall & Rao, 1999).	5
Abbildung 3: Open Ponds der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung in Dortmund, Deutschland. Die Raceway-Becken im Vordergrund sind 20 m lang, während die runden Becken im Hintergrund einen Durchmesser von 16 m aufweisen (aus Borowitzka, 2013, adaptiert aus Soeder, 1976).....	10
Abbildung 4: Verschiedene Photobioreaktoren (PBRs). (A) Rührkessel/Fermenter, (B) Bubble Column PBR, (C) Flat Panel PBR, (D) Horizontal Tubular PBR, (E) Bag-PBR aus (Chanquia et al., 2021) adaptiert aus Sero et al. 2019	12
Abbildung 5: Sättigungskurve der photosynthetischen Rate (P) in Abhängigkeit der Lichtintensität (I), (Chowdury et al., 2020)	15
Abbildung 6: Kultivierung von <i>Tetradismus obliquus</i> im Flat Panel Airlift Reaktor zur Biomassegenerierung für den PBR.....	25
Abbildung 7: Versuchsaufbau 1: Kultivierung von <i>Tetradismus obliquus</i> unter Druckluftzugabe und verschiedenen Konzentrationen von NaHCO_3 ($0,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$).....	26
Abbildung 8: schematische Zeichnung des schwimmenden Photobioreaktors aus (Francke et al., 2022).....	29
Abbildung 9: Der schwimmende Photobioreaktor wird zum Animpfen über eine Pumpe über das Ernteventil mit dem Vorlagebehälter verbunden	30
Abbildung 10: Verlauf der TS-basierten Biomassekonzentration bei verschiedenen Konzentrationen an zugesetztem Natriumhydrogencarbonat in 500-mL-Schottflaschen	43
Abbildung 11: Wachstumskurve der spezifischen Wachstumsrate über die Kultivierungsdauer in Vorversuch 1.....	45
Abbildung 12: Verlauf der Biomassekonzentration auf Grundlage der Biotrockenmassebestimmung über die Kultivierung von verschiedenen Natriumhydrogencarbonatkonzentrationen in Woche 1	46
Abbildung 13: Verlauf der spezifischen Wachstumsrate über die Kultivierungsdauer in Vorversuch 2 ..	47
Abbildung 14: Verlauf der Biomassekonzentration auf Grundlage der Bestimmung der Biotrockenmasse über einen Kultivierungszeitraum von vier Tagen bei verschiedenen Natriumhydrogencarbonatkonzentrationen in Woche 2	48
Abbildung 15: Verlauf der spezifischen Wachstumsrate über die Kultivierungsdauer in Vorversuch 2 Woche 2	49
Abbildung 16: Biomassekonzentrationen basierend auf der optischen Dichte und der Biotrockenmasse während der Kultivierung im schwimmenden Photobioreaktor unter kontinuierlicher CO_2 -Begasung für 96 h.....	50
Abbildung 17: Verlauf der Biomassekonzentration über die Kultivierungsdauer von fünf Tagen im schwimmenden PBR unter Standardbedingungen der letzten Woche	51
Abbildung 18: Verlauf der Temperatur über die Kultivierungsdauer in Woche 1	52
Abbildung 19: Verlauf der Temperatur und des pH-Wertes über die Kultivierungsdauer in Woche 2 ...	53
Abbildung 20: Verlauf der für die Photosynthese genutzten Lichtenergie in Woche 1	54
Abbildung 21: Verlauf der Lichtintensität Light PAR über die Kultivierungsdauer in Woche 2	55

Abbildung 22: Verlauf der spezifischen Wachstumsrate über die Kultivierungsdauer mit CO ₂ -Begasung V1 und V2.....	56
Abbildung 23: Verlauf der Biomassekonzentration über die Kultivierungsdauer von fünf Tagen im schwimmenden PBR unter Zugabe von 2 g · L ⁻¹ Natriumhydrogencarbonat in Woche 1	58
Abbildung 24: Verlauf der Biomassekonzentration über die Kultivierungsdauer von fünf Tagen im schwimmenden PBR unter Zugabe von 2 g · L ⁻¹ Natriumhydrogencarbonat in Woche 2	59
Abbildung 25: Verlauf der Temperatur und des pH-Wertes über die gesamte Kultivierung in Woche 160	
Abbildung 26: Verlauf der Temperatur und des pH-Wertes über die gesamte Kultivierung in Woche 261	
Abbildung 27: Verlauf der Lichtintensität Light PAR über die Kultivierungsdauer in Woche 1 des Versuchs mit Natriumhydrogencarbonat.....	61
Abbildung 28: Verlauf der Lichtintensität Light PAR über die Kultivierungsdauer in Woche 2 des Versuchs mit Natriumhydrogencarbonat.....	62
Abbildung 29: Verlauf der spezifischen Wachstumsrate über die Kultivierungsdauer mit 2 g · L ⁻¹ Natriumhydrogencarbonat und Druckluftbegasung	63
Abbildung 30: Zellzusammensetzung in Massenanteilen der Kultivierungsversuche im schwimmenden PBR (A).....	65
Abbildung 31: Zellzusammensetzung der verschiedenen Kultivierungsversuche im schwimmenden PBR (B).....	65

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Liste der verwendeten Geräte und Hersteller	19
Tabelle 2: Liste der Verbrauchsmittel	20
Tabelle 3: Liste der Chemikalien	21
Tabelle 4: Liste der Komponenten Fertyl II Basisdünger	22
Tabelle 5: Mediumbestandteile für die Kultivierung im schwimmenden Photobioreaktor	23
Tabelle 6: Gesamtproduktivitäten und maximale Produktivitäten bei verschiedenen NaHCO_3 - Konzentrationen Vorversuch 1	44
Tabelle 7: Gesamtproduktivitäten und maximale Produktivitäten bei verschiedenen NaHCO_3 - Konzentrationen Vorversuch 2 (1)	47
Tabelle 8: Gesamtproduktivitäten und maximale Produktivitäten bei verschiedenen NaHCO_3 - Konzentrationen Vorversuch 2 (2)	49
Tabelle 9: Ergebnisse der Flächenproduktivität, der Gesamtstrahlungsmenge sowie der daraus resultierenden Normproduktivität	56
Tabelle 10: Ergebnisse der Flächenproduktivität, der Gesamtstrahlungsmenge sowie der daraus resultierenden Normproduktivität	63
Tabelle 11: Messwerte der OD-Bestimmung mit berechneten Biomassekonzentration zu Beginn und zum Ende der Kultivierung	91
Tabelle 12: Messwerte der Biotrockenmassebestimmung und berechnete Werte der Biomassekonzentration zu Beginn und zum Ende der Kultivierung	91
Tabelle 13: Mittelwerte der OD-Messungen zu Beginn und zum Ende der Kultivierung bei verschiedenen Natriumhydrogencarbonatkonzentrationen und die daraus berechneten Biomassekonzentrationen in Woche 1	92
Tabelle 14: Mittelwerte der Biotrockenmasse-Bestimmung zu Beginn und zum Ende der Kultivierungsdauer und die daraus berechneten Biomassekonzentrationen bei verschiedenen Natriumhydrogencarbonatkonzentrationen in Woche 1	92
Tabelle 15: Mittelwerte der OD-Messungen zu Beginn und zum Ende der Kultivierung von Woche 2 bei verschiedenen Natriumhydrogencarbonatkonzentrationen und die daraus berechneten Biomassekonzentrationen	92
Tabelle 16: Mittelwerte der Biotrockenmasse-Bestimmung zu Beginn und zum Ende der Kultivierungsdauer und die daraus berechneten Biomassekonzentrationen bei verschiedenen Natriumhydrogencarbonatkonzentrationen in Woche 2	93
Tabelle 17: Werte der Biomassekonzentrationen (optische Dichte und Biotrockenmasse) während der Kultivierung im schwimmenden Photobioreaktor in Woche 1	93
Tabelle 18: Werte der Biomassekonzentrationen (optische Dichte und Biotrockenmasse) während der Kultivierung im schwimmenden Photobioreaktor in Woche 2	93
Tabelle 19: Werte der Biomassekonzentration der optischen Dichte sowie der BTM-Bestimmung über die Kultivierung mit Natriumhydrogencarbonat in Woche 1	94
Tabelle 20: Werte der Biomassekonzentration berechnet aus den Werten der optischen Dichte und der BTM-Bestimmung während der Kultivierung mit Natriumhydrogencarbonat in Woche 2	94

Abkürzungsverzeichnis

% (v/v)	Volumenprozent
°C	Grad Celsius
3-PGA	3-Phosphoglycerat
Acetyl-CoA	Acetyl-Coenzym A
ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
BTM	Biotrockenmasse
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CO ₃ ²⁻	Carbonat-Ion
CREM	Institute of Circular Resource Engineering and Management
d	Tag
DMSO	Dimethylsulfoxid
DTPA	Diethylentriaminpentaessigsäure
DTT	1,4-Dithiothreit
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
FCR	Folin-Ciocalteu-Phenolreagenz
floating PBR	schwimmender Photobioreaktor
FPA	Flat Panel Airlift
g	Gramm
G3P	Glycerinaldehyd-3-phosphat
h	Stunde
H ₂ CO ₃	Kohlensäure
HCO ₃ ⁻	Hydrogencarbonat-Ion
L	Liter
LED	Light Emitting Diode

M	Molar
MBTH	3-Methyl-2-benzothiazolinon-Hydrazon
mg	Milligramm
min	Minuten
mL	Milliliter
mm	Millimeter
n.d.	No Date
NADP	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NaHCO ₃	Natriumhydrogencarbonat
NaOH	Natriumhydroxid
nm	Nanometer
OD	Optische Dichte
p.a.	pro analysis
PAR	Photosynthetically Available Radiation
PBR	Photobioreaktor
PSI	Photosystem I
PSII	Photosystem II
PUFA	Polyunsaturated fatty acids
PVC	Polyvinylchlorid
rpm	revolutions per minute; Umdrehungen pro Minute
RuBP	Ribulose-1,5-bisphosphat
<i>sp.</i>	species
VE	Vollentsalzt
λ	Wellenlänge
μ l	Mikroliter
μ m	Mikrometer

1 Einleitung

Die Nutzung von Mikroalgen zur Biomasseproduktion bietet ein enormes Potential für die Entwicklung nachhaltiger Produkte, von Biokraftstoffen bis hin zu biobasierten Chemikalien (Chisti, 2007; Cohen, 1999). Ein zentraler Faktor für die Effizienz der Kultivierung ist die Kohlenstoffquelle, da diese maßgeblich die Wachstumsrate und Produktivität beeinflusst (Richmond A., 2013). Während gasförmiges Kohlenstoffdioxid die am häufigsten verwendete Kohlenstoffquelle darstellt, ist seine industrielle Anwendung mit Herausforderungen verbunden. Die Speicherung und Dosierung von Kohlenstoffdioxid sind aufwendig und bei unzureichender Nutzung durch die Algen können hohe Verluste entstehen, was die Wirtschaftlichkeit erheblich einschränkt (Khor et al., 2022).

Natriumhydrogencarbonat bietet sich als vielversprechende Alternative an, da es in fester Form einfach zu lagern und zu transportieren ist. Zudem ermöglicht es eine kontrollierte Freisetzung von Kohlenstoff im Kulturmedium (Chi et al., 2011). Allerdings ist bisher nur begrenzt untersucht, wie effizient Mikroalgen wie *Tetradismus obliquus* Natriumhydrogencarbonat als Kohlenstoffquelle nutzen können und wie sich dessen Einsatz auf Wachstumsparameter wie die Biomasseproduktivität und die spezifische Wachstumsrate auswirkt.

Ein weiterer innovativer Ansatz zur Senkung der Produktionskosten und Steigerung der Effizienz ist der Einsatz schwimmender tubulärer Photobioreaktoren. Diese Reaktoren kombinieren die Vorteile geschlossener Systeme, wie eine präzise Kontrolle bedeutsamer Kultivierungsbedingungen, mit der Flexibilität offene Wasserflächen als Standort zu nutzen (Kim et al., 2016). Ihre Eignung für die Kultivierung mit Natriumhydrogencarbonat wurde bisher jedoch kaum erprobt.

Ziel dieser Arbeit ist es, die Verwendbarkeit von Natriumhydrogencarbonat als alternative Kohlenstoffquelle für *Tetradismus obliquus* in einem schwimmenden tubulären Photobioreaktor zu evaluieren. Hierbei liegt der Fokus auf der Ermittlung der Biomasseproduktivität, der spezifischen Wachstumsrate und der Wirtschaftlichkeit. Durch die Kombination von innovativen Kultivierungssystemen und alternativen Kohlenstoffquellen soll ein Beitrag zur Reduktion der Produktionskosten und zur Optimierung der industriellen Mikroalgenkultivierung geleistet werden.

2 Theoretische Grundlagen

In diesem Kapitel werden Mikroalgen hinsichtlich ihrer biologischen Eigenschaften eingeordnet und charakterisiert. Zudem werden zentrale Stoffwechselprozesse und Kultivierungsstrategien detailliert erläutert, um ein fundiertes Verständnis für deren potenziellen Einsatz zu vermitteln.

2.1 Mikroalgen

Die Gruppe der Algen umfasst sowohl Mikro- als auch Makroalgen. Mikroalgen sind Teil der Mikroorganismen und kommen in einer Vielzahl von globalen Ökosystemen vor, wo sie bedeutende ökologische Funktionen erfüllen. Sie sind eine vielfältige, polyphyletische Gruppe von Organismen, die aufgrund ihres evolutionären Ursprungs keiner taxonomischen Klassifikation zugeordnet werden können. Die meisten Algen nutzen einen heterotrophen Stoffwechsel, bei dem sie organische Verbindungen als Energiequelle aufnehmen. Darüber hinaus gibt es mixotrophe Arten, die sowohl phototroph (Licht als Energiequelle) als auch heterotroph Energie gewinnen können (Laura Barsanti, Paolo Gualtieri, 2014). Es gibt auch Algenarten, die autotroph sind und ihre Biomasse nicht nur durch Photosynthese, sondern auch durch die Reaktionsenergie chemischer Reaktionen aufbauen können. In diesem Fall führen diese Mikroalgen einen chemotrophen Stoffwechsel durch, bei dem sie Energie aus der Oxidation von anorganischen oder organischen Verbindungen gewinnen, anstatt Licht als Energiequelle zu nutzen (Sommer, 2005). Zu den Mikroalgen gehören prokaryotische Cyanobakterien, als auch eukaryotische Algen wie die Chlorophyten und Diatomeen (Lee, 2018; Richmond A., 2013).

Die Zellstrukturen von Mikroalgen sind sehr variabel und reichen von einzelligen Formen über Kolonien bis hin zu filamentösen Strukturen (siehe Abb. 1).

Diese unterschiedlichen Organisationsformen bieten Mikroalgen eine hohe Anpassungsfähigkeit an verschiedene Umweltbedingungen, wodurch sie in marinen, limnischen und extremen Habitaten vorkommen können (Lee, 2018). Eukaryotische Mikroalgen besitzen im Gegensatz zu prokaryotischen Cyanobakterien komplexere Zellstrukturen wie den Zellkern, Chloroplasten und weitere Organellen, die eine effizientere Photosynthese ermöglichen. Zu dieser Gruppe gehören die Chlorophyta, die Grünalgen, die vor allem durch ihre Chlorophyll-a und -b Pigmente gekennzeichnet sind. Bekannte Vertreter der Chlorophyta sind *Chlorella* und *Spirulina*, die aufgrund ihrer hohen Nährstoffdichte in der Lebensmittelindustrie und als Nahrungsergänzungsmittel verwendet werden (Laura Barsanti, Paolo Gualtieri, 2014).

Bisher konnten über 178.000 verschiedene Arten von Makro- sowie Mikroalgen beschrieben werden (AlgaeBase, n.d.). Diese enorme Diversität stellt ein bedeutendes Potenzial für biotechnologische Innovationen dar, insbesondere im Hinblick auf die Entwicklung nachhaltiger Produkte und Prozesse.

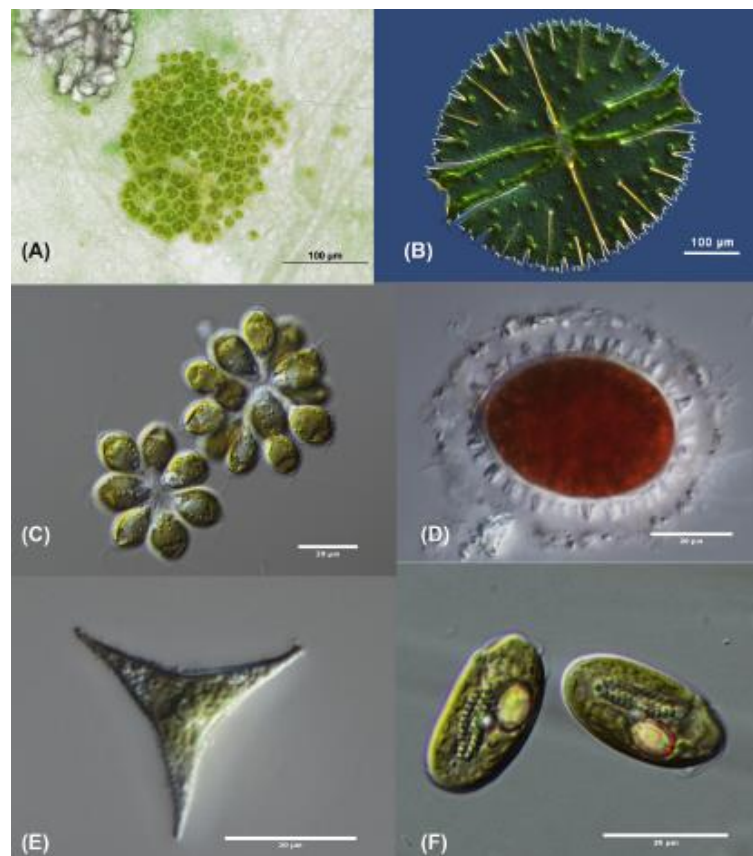


Abbildung 1: Darstellung einiger Mikroalgenarten. (A) *Pediatrum* sp.; (B) *Micrasterias radiosa*; (C) *Synura petersenii*; (D) *Chlamydomonas* sp.; (E) *Pseudogoniochloris tripus*; (F) *Cryptomonas* sp., (Borowitzka M., 2016)

2.2 *Tetradesmus obliquus*

Im Rahmen dieser Arbeit wird die Mikroalge *Tetradesmus obliquus* untersucht, die aufgrund ihrer Eigenschaften als Modellorganismus in der Forschung zur Biomasseproduktion und zum Stoffwechsel von Mikroalgen weit verbreitet ist. Die Süßwasseralge *Tetradesmus obliquus* (Chlorophyceae), auch bekannt unter dem Synonym *Scenedesmus obliquus*, kommt in verschiedenen aquatischen Lebensräumen wie Seen, Teichen oder Flüssen vor. Aufgrund seiner hohen Anpassungsfähigkeit zählen auch belastete Gewässer zu seinen Habitaten (do Carmo Cesário et al., 2022). Die Zellen von *T. obliquus* sind eukaryotisch und besitzen Chloroplasten, einen Zellkern sowie weitere Organellen. Die Zellen kommen entweder unizellular vor oder können in Kolonien auftreten. Die hohe Variabilität der Zellgröße, wird durch verschiedene Kulturbedingungen beeinflusst (Di Caprio et al., 2018). *Tetradesmus obliquus* lässt sich taxonomisch zur Familie der *Scenedesmaceae* innerhalb der Ordnung *Sphaeropleales* einordnen (Wynne & Hallan, 2015). Charakteristisch für diese Mikroalge ist ihre Fähigkeit, unter verschiedenen Umweltbedingungen einen hohen Anteil an Lipiden zu produzieren, was sie potentiell sehr nützlich für die industrielle Lipidproduktion und Biodieselherstellung macht (Di Caprio et al., 2018). Zudem zeigt sie Potenzial in der

CO₂-Reduktion und Abwasserbehandlung, was sie zu einer vielversprechenden Option für umwelttechnologische Anwendungen macht (Ma et al., 2024).

2.3 Photosynthese

Die Photosynthese beschreibt den Prozess der Umwandlung von Sonnenlichtenergie in chemische Energie, bei dem anorganische Verbindungen von photoautotrophen Organismen in organische Stoffe umgewandelt werden (Masojídek et al., 2003). Die Photosynthese in Mikroalgen findet in den Chloroplasten statt und ist in zwei Hauptphasen unterteilt: die Lichtreaktion und die Dunkelreaktion (Calvin-Zyklus). Die phototrophen Organismen werden unterteilt in Organismen, die entweder die oxygene Photosynthese betreiben oder die anoxygene Photosynthese durchführen. Ein charakteristisches Merkmal der oxygenen Photosynthese ist die Bildung von Sauerstoff auf Grundlage der Spaltung von Wassermolekülen. Die Gesamtheit der phototrophen Eukaryoten, wie beispielsweise Pflanzen und Algen, sowie die prokaryotischen Cyanobakterien betreiben den Prozess der oxygenen Photosynthese (Fuchs G., 2007).

Der Photosyntheseapparat der Mikroalgen ist hauptsächlich in den Thylakoidmembranen der Chloroplasten lokalisiert, die in Form von Thylakoidstapeln (Granum) organisiert sind. Diese Membranen beinhalten mehrere Photosysteme (PSI und PSII), die zusammen mit verschiedenen Pigmenten eine effiziente Umwandlung von Lichtenergie in chemische Energie ermöglichen (Richmond A., 2013).

2.3.1 Photosynthetische Pigmente

Alle photosynthetisch aktiven Organismen besitzen organische Pigmente, die zur Aufnahme und Umwandlung von Lichtenergie dienen. Die drei Hauptklassen dieser Pigmente sind Chlorophylle, Carotinoide und Phycobiline (Laura Barsanti, Paolo Gualtieri, 2014). Chlorophylle, die grünen Pigmente, und Carotinoide, die gelben oder orangefarbenen Pigmente, sind lipophil und liegen an Protein-Komplexe gebunden vor. Zusätzlich zu den gängigen Chlorophyllen und Carotinoiden gibt es auch rötliche Pigmente wie Astaxanthin. Astaxanthin ist ein Carotinoid, das vor allem in bestimmten Mikroalgenarten vorkommt und für deren rötliche Färbung verantwortlich ist.

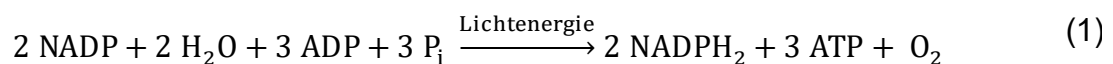
Alle Chlorophyll-Moleküle besitzen zwei Hauptabsorptionsbanden, die im blauen bzw. blau-grünen Bereich von 450 bis 475 nm und im roten Bereich von 630 bis 675 nm liegen (Fuchs G., 2007). Chlorophyll a kommt in allen sauerstoffproduzierenden, photoautotrophen Organismen vor und findet sich sowohl im Kern- und Reaktionszentrum der Proteinkomplexe als auch in den lichtsammelnden Antennen, begleitet von Chlorophyll b oder Chlorophyll c. Die sogenannten akzessorischen

Pigmente, darunter Chlorophyll b, c und d, erweitern den Bereich der Lichtabsorption und steigern so die Effizienz der Photosynthese (Rowan, 1989). Carotinoide stellen eine vielfältige Gruppe biologischer Chromophore dar, deren Absorptionsbereich zwischen 400 und 550 nm liegt (Richmond A., 2013).

2.3.2 Lichtreaktion

Die Lichtreaktion findet in den Thylakoidmembranen statt und beginnt mit der Absorption von Lichtquanten durch die Lichtsammelpigmente, insbesondere Chlorophyll a. Dieses Pigment absorbiert Licht im roten und blauen Spektralbereich und wird in einen angeregten Zustand versetzt. Diese Anregung führt zur Abgabe eines Elektrons, das auf den Elektronentransporter Plastochinon übertragen wird. Um das Elektronendefizit im Photosystem II (PSII) auszugleichen, wird Wasser durch den Wasseroxidationskomplex des PSII gespalten, was zur Freisetzung von Sauerstoff, Protonen sowie Elektronen führt.

Die Elektronen werden über die Elektronentransportkette an den Cytochrom b6f-Komplex weitergegeben, welcher einen Protonengradienten aufbaut. Dieser Protonengradient ist für die Adenosintriphosphat-Synthese verantwortlich. Hierbei wird durch die ATP-Synthase ATP aus Adenosindiphosphat (ADP) und Phosphat gebildet. Gleichzeitig werden die Elektronen weiter zum Photosystem I (PSI) transportiert, wo sie erneut durch Licht angeregt werden und schließlich auf die oxidierte Form von Nicotinamadenindinukleotidphosphat (NADP⁺) übertragen werden, um das Koenzym NADPH zu bilden (Masojídek et al., 2003).



Die aus der Lichtenergie entstandene chemische Energie in Form von ATP und NADPH wird in der Dunkelreaktion genutzt, um CO₂ zu fixieren und in organische Verbindungen umzuwandeln (siehe Abb. 2).

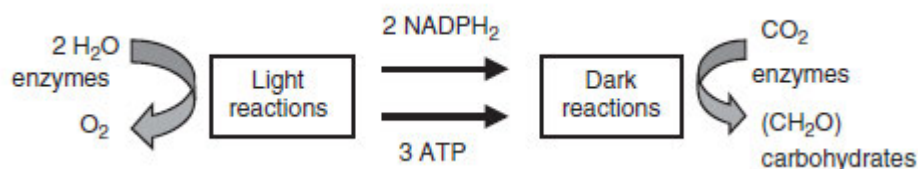
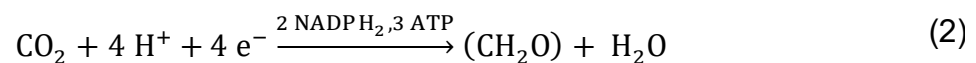


Abbildung 2: Hauptprodukte der Licht- und Dunkelreaktionen der Photosynthese (adaptierte Version aus Richmond, 2013, basierend auf Hall & Rao, 1999).

2.3.3 Dunkelreaktion

Die Dunkelreaktion der Photosynthese findet im Stroma der Chloroplasten statt und verwendet die Produkte der Lichtreaktion für die Kohlenstoffdioxidfixierung sowie die anschließende Generierung von Biomasse. Um ein Molekül CO_2 zu fixieren, werden zwei Moleküle NADPH_2 und drei Moleküle ATP benötigt. Der Calvin-Zyklus beginnt damit, dass das Enzym Ribulose-1,5-bisphosphat-carboxylase/-oxygenase CO_2 an das Ribulose-1,5-bisphosphat (RuBP) bindet, was ein instabiles Zwischenprodukt erzeugt, das sofort in zwei Moleküle 3-Phosphoglycerat (3-PGA) zerfällt. Das 3-PGA wird durch ATP und NADPH_2 zu Glycerinaldehyd-3-phosphat (G3P) reduziert. Ein Teil des G3P wird genutzt, um RuBP zu regenerieren, sodass der Zyklus fortgesetzt werden kann, während der Rest zur Produktion von Glukose und anderen organischen Verbindungen führt, die als grundlegende Komponenten für die Produktion von Biomasse dienen (Richmond A., 2013).



2.4 Zellkomponenten von Mikrolagen

Mikroalgen besitzen eine Vielzahl an biochemischen Komponenten, die wesentliche Stoffwechselfunktionen erfüllen und industriell genutzt werden können. Dazu gehören Primärmetaboliten wie Proteine, Lipide, Saccharide und Sekundärmetaboliten wie Pigmente, Polyphenole und andere bioaktive Verbindungen. Die Zusammensetzung dieser Metaboliten kann je nach Umweltfaktoren wie Lichtintensität, Nährstoffverfügbarkeit und Kultivierungsparameter erheblich variieren.

2.4.1 Proteine

Mikroalgen sind für ihren hohen Proteingehalt bekannt, der jedoch erheblich von verschiedenen Faktoren abhängt. Dazu gehören die spezifische Algenspezies, die Umweltbedingungen und die Kultivierungsparameter. Diese Variablen beeinflussen den Proteinanteil in der Biomasse, wodurch der Proteingehalt je nach den angewandten Bedingungen und der Art der Alge variieren kann. Die Gattung *Spirulina* kann unter optimalen Bedingungen einen besonders hohen Proteingehalt von bis zu 70% erreichen (Dillon et al., 1995). Proteine sind für das Zellwachstum und die Enzymaktivität von entscheidender Bedeutung und ihre Aminosäureprofile ähneln oft denen von tierischen Proteinen, was sie für die Ernährung und als Zusatzstoffe in Tierfutter wertvoll macht. Die hohe Proteinausbeute von Mikroalgen

hat auch das Interesse der Lebensmittelindustrie als nachhaltige alternative Proteinquelle hervorgerufen (Batista et al., 2013; Mosibo et al., 2024).

2.4.2 Lipide

Mikroalgen sind in der Lage, große Mengen an Lipiden zu synthetisieren, die für verschiedene biotechnologische Anwendungen wie Biodiesel und die Produktion von Omega-3-Fettsäuren von Interesse sind. Der Metabolismus dieser Organismen basiert auf der Photosynthese, bei der Lichtenergie in chemische Energie umgewandelt wird, die für die Lipidsynthese verwendet wird (Borowitzka M., 2016). Die Lipidsynthese beginnt mit der Bildung von Acetyl-Coenzym A (Acetyl-CoA), das in Fettsäuren umgewandelt wird. Diese Fettsäuren können in Triglyceride und Phospholipide eingebaut werden, wobei letzteres eine Schlüsselrolle bei der Bildung der Zellmembranen spielt (Thompson, 1996). Lipidansammlungen sind besonders bei Umweltstress wie Stickstoffmangel zu beobachten, was die Akkumulation von Triglyceriden fördert (Guschina & Harwood, 2013). Lipide machen etwa 20-50% des Trockengewichts von Mikroalgen aus, wobei einige Arten unter Stressbedingungen wie Nährstoffmangel bis zu 80% anreichern können (Chisti, 2007). Die Lipide der Mikroalgen teilen sich in die Gruppe der gesättigten Fettsäuren, die für die Biodieselproduktion genutzt werden können und in die der mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFAs) die als Nahrungsergänzungsmittel verwendet werden können.

2.4.3 Polysaccharide

Polysaccharide sind in allen lebenden Organismen weit verbreitet und besitzen eine Vielzahl an biochemischen Strukturen. Diese basieren auf etwa 40 bis 50 verschiedenen Monosacchariden, darunter Hexosen und Pentosen, die durch glykosidische Bindungen zu komplexen Zuckern miteinander verknüpft sind. Der Organismus *Scenedesmus obliquus* weist einen Kohlenhydratanteil von 10 – 17% auf (Becker, 2007). Dieser Anteil kann zwischen verschiedenen Organismen variieren.

Die Produktion von Kohlenhydraten dient den Algen vor allem zu zwei Zwecken: Sie dienen als Strukturbestandteile in den Zellwänden und als Speicherkomponenten innerhalb der Zelle. Kohlenhydrate liefern als Speicherstoffe die für die Stoffwechselprozesse der Organismen benötigte Energie. Sie ermöglichen es den Algen, in Zeiten ohne Licht vorübergehend zu überleben, indem sie die gespeicherte Energie zur Aufrechterhaltung wichtiger Prozesse nutzen. Auf diese Weise können Algen auch in Phasen ohne Photosynthese überdauern (Raven & Beardall, 2003).

2.4.4 Sekundärmetaboliten

Sekundärmetaboliten in Mikroalgen sind Verbindungen, die nicht direkt am primären Stoffwechsel, wie Wachstum und Reproduktion, beteiligt sind, jedoch wichtige ökologische und physiologische Funktionen erfüllen. Zu den bedeutendsten sekundären Metaboliten zählen Pigmente beispielsweise Carotinoide wie Astaxanthin, Phenole, Terpenoide und Alkaloide (Borowitzka, 2013). Diese Verbindungen schützen die Mikroalgen häufig vor UV-Strahlung und oxidativem Stress oder wirken antimikrobiell gegen konkurrierende Mikroorganismen. In der Industrie sind sie vielseitig nutzbar: Carotinoide werden beispielsweise als natürliche Farbstoffe und Antioxidantien in der Lebensmittel- und Kosmetikbranche eingesetzt, während bestimmte Phenole und Alkaloide für ihre bioaktiven Eigenschaften in der Pharmaindustrie von Interesse sind (Stengel et al., 2011).

2.4.5 Bioaktive Komponenten

Bioaktive Komponenten in Mikroalgen sind Substanzen, die gesundheitsfördernde Effekte im menschlichen Körper entfalten oder nützliche Effekte in Bezug auf andere Organismen ausüben. Insbesondere sind Mikroalgen aufgrund ihrer antimikrobiellen Peptide von Interesse, die in Aquakulturen eingesetzt werden können, um das Wachstum von schädlichen Mikroben zu hemmen. Diese Peptide wirken als natürliche Antimikrobika, die das Wachstum von Pathogenen reduzieren können (Barone et al., 2021). Darüber hinaus besitzen einige Mikroalgenarten auch Eigenschaften, die sie als natürliche Pestizide qualifizieren, da sie Substanzen produzieren, die Schädlinge abwehren oder deren Wachstum hemmen können (Thirumurthy & Mol, 2020). Diese Eigenschaften machen Mikroalgen zu einem vielversprechenden Bestandteil nachhaltiger Landwirtschaft und Aquakultur. Zu den bekanntesten gehören Carotinoide, Omega-3-Fettsäuren, Polysaccharide sowie bestimmte Proteine und Peptide. Diese bioaktiven Verbindungen wirken antioxidativ, entzündungshemmend und immunmodulierend und finden vielversprechende Anwendungsmöglichkeiten in der Lebensmittel-, Pharma- und Kosmetikindustrie. Omega-3-Fettsäuren unterstützen die Herzgesundheit, während Polysaccharide und Peptide zur Förderung des Immunsystems und zur Hautpflege genutzt werden (Eze et al., 2023).

2.5 Kultivierungssysteme

Die Kultivierung von Mikroalgen erfordert speziell entwickelte Systeme, die optimierte Wachstumsbedingungen ermöglichen und die Produktivität steigern. Die Wahl des Systems hängt von verschiedenen Faktoren ab, wie den spezifischen Anforderungen der Algenart, den Produktionskosten und der gewünschten Produktionsmenge. Großtechnische Systeme zur Kultivierung werden in offene und

geschlossene Systeme eingeteilt. Offene Systeme setzen die Kultur direkt der Umgebung aus, während geschlossene Systeme die Kultur vollständig in einem Photobioreaktor (PBR) einschließen.

2.5.1 Open Ponds

Die offenen Systeme in der Mikroalgenkultivierung lassen sich in zwei Hauptkategorien unterteilen: natürliche Gewässer und künstlich angelegte Becken. Zu den natürlichen Gewässern zählen Teiche, Lagunen und Seen. Künstlich angelegte Kultivierungssysteme hingegen umfassen eine Vielzahl von Designs, wobei die bekanntesten Systeme die *Raceway Ponds* sind (R. N. Singh & Sharma, 2012). Bei diesen offenen Systemen wird das Kulturmedium durch flache, lange Kanäle bewegt, in denen ein Schaufelrad arbeitet, um kinetische Energie zu erzeugen. Das Schaufelrad sorgt dafür, dass das Medium ständig in Bewegung bleibt, was den Austausch von Nährstoffen und den Kontakt mit Licht fördert. Durch die Bewegung des Systems werden die Algen in Suspension gehalten, wodurch sie langsamer sedimentieren. Ein entscheidender Vorteil der offenen *Raceway Ponds* ist die kostengünstige und einfache Implementierung dieser Systeme. Da sie nur geringe mechanische Energieeinträge erfordern, sind sie für großflächige Produktionsanlagen eine attraktive Option. Sie benötigen im Vergleich zu geschlossenen Systemen wie Photobioreaktoren eine weniger komplexe Konstruktion und sind daher preisgünstiger im Betrieb. Zudem bieten sie den Vorteil, dass sie keine aufwendigen Kühlungssysteme benötigen und relativ einfach skaliert werden können (Kaltschmitt et al., 2016).

Jedoch gibt es auch wichtige Einschränkungen bei der Nutzung von *Raceway Ponds* für die Mikroalgenproduktion. Die Biomassekonzentrationen, die in diesen Systemen erreicht werden, sind im Allgemeinen moderat. Dies bedeutet, dass die Zelldichte nicht sehr hoch ist, was wiederum zu einer weniger effizienten Ernte führt. Die geringe Biomassekonzentration führt zu höheren Energiekosten bei der Ernte, da größere Wassermengen verarbeitet werden müssen. Ein weiterer Nachteil ist, dass die Ponds stark der direkten Sonneneinstrahlung ausgesetzt sind. Im Vergleich zu tubulären Reaktoren und Flat Panel Airlift-Reaktoren ist die Schichtdicke von 10 bis 30 cm in vielen offenen Teichsystemen relativ hoch. Diese Schichtdicke ermöglicht eine größere Volumenproduktion, stellt jedoch eine Herausforderung dar, wenn es um die effiziente Nutzung von Sonnenenergie geht (Richmond A., 2013).

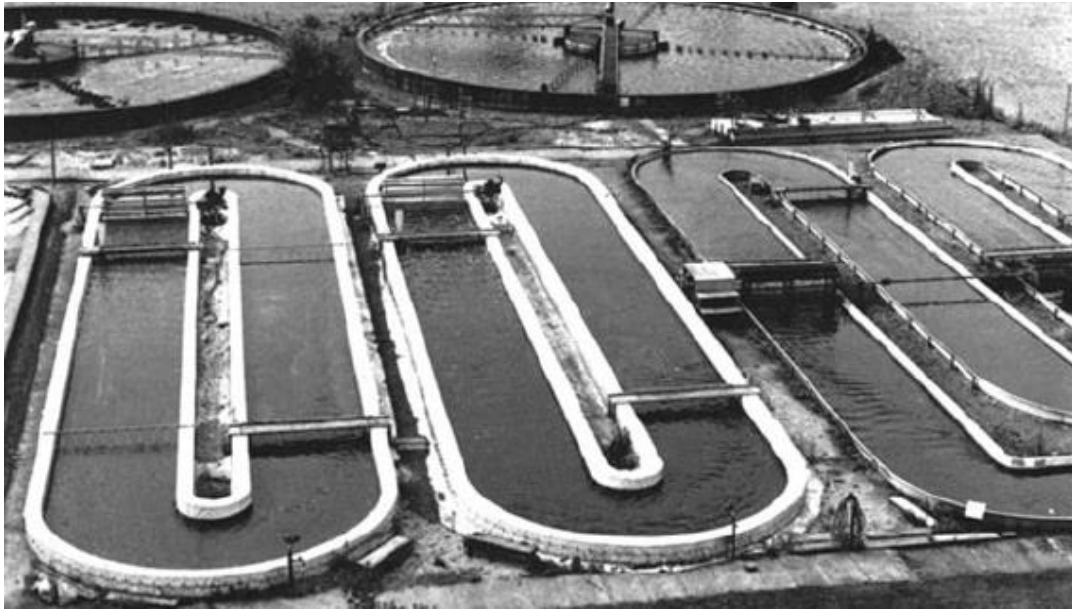


Abbildung 3: Open Ponds der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung in Dortmund, Deutschland. Die Raceway-Becken im Vordergrund sind 20 m lang, während die runden Becken im Hintergrund einen Durchmesser von 16 m aufweisen (aus Borowitzka, 2013, adaptiert aus Soeder, 1976)

2.5.2 Flat Panel Airlift

Flat Panel Airlift Reaktoren (FPA) sind eine Form von Photobioreaktoren, bei denen vertikal angeordnete Platten oder Schalen an einem stabilen Gerüst befestigt sind. Diese Anordnung sorgt für eine effiziente Nutzung des Lichts, da sie eine größere Oberfläche für die Photosynthese bietet und gleichzeitig den Gasaustausch zwischen den Zellen und dem Medium fördert. Besonders vorteilhaft ist die vertikale Ausrichtung, da sie das Wachstum der Algen über mehrere Schichten hinweg ermöglicht, was die Lichtnutzung im Vergleich zu einfacheren Systemen wie Open Ponds maximiert (Tredici & Zittelli, 1998). Der Lichtpfad ist in diesen vertikal ausgerichteten Systemen oftmals kürzer, was die Lichtausbeute für die Photosynthese erhöht.

Im Vergleich zu offenen Systemen bieten FPA-Reaktoren eine höhere Produktionsrate, da die kontrollierte Belüftung und Nährstoffzufuhr für optimierte Wachstumsbedingungen sorgen. Diese Reaktoren eignen sich besonders gut für die Kultivierung von wertvollen Metaboliten, wie zum Beispiel Astaxanthin, das in der Nahrungsergänzungsmittelindustrie sowie in der Kosmetik verwendet wird. Durch die bessere Steuerbarkeit der Umweltbedingungen, wie z.B. Temperatur, pH-Wert und Nährstoffkonzentration, können geschlossene Reaktoren eine qualitativ hochwertigere Biomasse mit höherer Ausbeute produzieren (Borowitzka, 1999).

Ein wesentlicher Nachteil dieser Systeme ist jedoch die begrenzte Fläche, die für die Kultivierung zur Verfügung steht, was die Skalierbarkeit und damit die Wirtschaftlichkeit im großtechnischen Maßstab einschränkt. Dies stellt eine Herausforderung für die wirtschaftliche Nutzung von FPA-Reaktoren dar, insbesondere im Vergleich zu offenen Systemen, die große Flächen für die

Algenproduktion nutzen können. Um diese Einschränkungen zu überwinden, wird an der Entwicklung effizienterer und skalierbarer Designs gearbeitet, um die Rentabilität dieser Systeme zu verbessern (Reyna-Velarde et al., 2010).

Trotz dieser Herausforderungen sind Flat Panel Airlift Reaktoren aufgrund ihrer hohen Lichtnutzung und der besseren Steuerung von Wachstumsbedingungen besonders für die Algenproduktion in kleinen bis mittleren Maßstäben geeignet (Degen et al., 2001).

2.5.3 Tubuläre Photobioreaktoren

Tubuläre Photobioreaktoren sind eines der effektivsten Systeme für die Algenkultivierung und werden häufig in industriellen Anwendungen eingesetzt. Sie bestehen aus transparenten, langen Röhren, die in unterschiedlichen Anordnungen beispielsweise spiralförmig oder parallel montiert werden, sodass die Algenkulturen gleichmäßig dem Sonnenlicht ausgesetzt sind (siehe Abb. 4). Diese Röhren ermöglichen eine effektive Lichtverteilung und gewährleisten, dass die Algen während der Kultivierung die erforderliche Menge an Licht erhalten. Röhrenförmige Reaktoren bieten die Möglichkeit, hohe Zellkonzentrationen zu erreichen, was sie besonders für die industrielle Produktion von Algenbiomasse geeignet macht. Allerdings hängt die Lichtausbeute stark vom Röhrendurchmesser ab: Ein größerer Durchmesser führt zu einem längeren Lichtpfad, wodurch die Lichtausbeute geringer wird (R. N. Singh & Sharma, 2012).

Ein weiterer Vorteil ist die bessere Kontrolle über Umweltbedingungen wie Temperatur, pH-Wert und CO₂-Konzentration, da der Betrieb als geschlossenes System stattfindet. Diese präzise Steuerung fördert das Wachstum der Algen und ermöglicht eine stabile Produktion über längere Zeiträume (Pulz, 2001).

Allerdings sind Röhrenreaktoren auch mit einigen Herausforderungen in Bezug auf die Kosten und die Komplexität des Designs verbunden. Die Installation und Wartung dieser Systeme können teuer sein, insbesondere bei großen Produktionsanlagen. Zudem kann die Ernte von Biomasse aufgrund der hohen Zellkonzentration eine zusätzliche Herausforderung darstellen. Obwohl eine hohe Zellkonzentration tendenziell die Wirtschaftlichkeit des Prozesses steigert, indem weniger Wasser abgeführt werden muss, um die gleiche Biomassemenge zu erhalten, können sehr hohe Feststoffgehalte zu technischen Problemen führen. Insbesondere erhöht sich die Viskosität der Kulturflüssigkeit, was die Handhabung erschwert. Beim Pumpen von Kulturen mit hohem Feststoffanteil ist es erforderlich, leistungsstärkere Pumpen einzusetzen, da die dickflüssige Suspension mehr Widerstand bietet. Zudem können beim Filtrationsprozess Schwierigkeiten auftreten, da sich die Biomasse bei hoher Konzentration leicht in den Filtern absetzen und Verstopfungen verursachen kann. (Chisti, 2007).

Die Flexibilität und Effizienz von tubulären Photobioreaktoren etabliert sie als bevorzugtes System für die Algenproduktion. Ihre geschlossene Bauweise erlaubt eine präzise Steuerung von Kultivierungsparametern wie Lichtintensität, Gasversorgung und Temperatur, was essenziell für die Maximierung des Wachstums und der metabolischen Produktivität von Mikroalgen ist (Posten, 2009). Insbesondere für die Herstellung hochwertiger Produkte wie Nahrungsergänzungsmittel, Biokraftstoffe und pharmazeutisch relevanter Sekundärmetaboliten überzeugen tubuläre PBRs durch ihre Fähigkeit, Kontaminationen zu minimieren und spezifische Wachstumsbedingungen bereitzustellen. Diese Eigenschaften fördern ihre Effizienz und Wirtschaftlichkeit, vor allem bei der Produktion von hochpreisigen und biotechnologisch anspruchsvollen Zielverbindungen.

Conventional PBRs

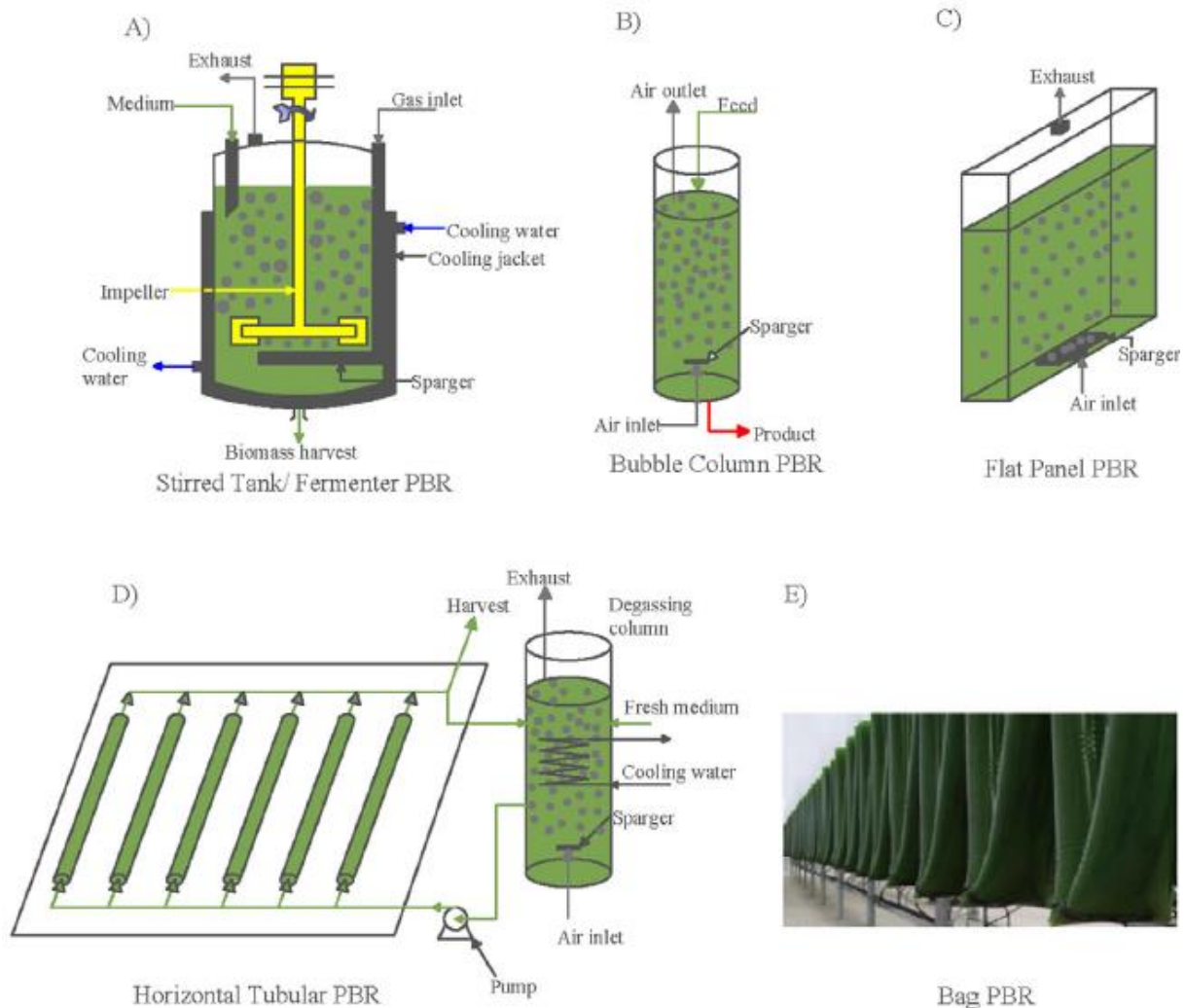


Abbildung 4: Verschiedene Photobioreaktoren (PBRs). (A) Rührkessel/Fermenter, (B) Bubble Column PBR, (C) Flat Panel PBR, (D) Horizontal Tubular PBR, (E) Bag-PBR aus (Chanquia et al., 2021) adaptiert aus Sero et al. 2019

2.5.4 Schwimmende Photobioreaktoren

Schwimmende Photobioreaktoren (PBR) stellen eine vielversprechende Technologie für die Mikroalgenproduktion dar, insbesondere da sie direkt auf der Oberfläche von offenen Gewässern, wie dem Meer, Seen oder anderen Oberflächengewässern lokalisiert sind. Ein Beispiel für eine Bauform von schwimmenden PBRs ist das OMEGA-System, das für die großflächige Algenkultivierung konzipiert wurde. In diesem System werden schnell wachsende, ölproduzierende Süßwasser-Algen in flexiblen Kunststoff-Photobioreaktoren kultiviert. Dabei ist das System an schwimmenden Docks befestigt und wird in Buchten von Schutzgebieten verankert (Wiley, 2013). Eine weitere Bauform ist das BICCAPSO-System, welches die Form eines aufgeblasenen Rohres besitzt. Das Rohr ist in einer Bogenform konstruiert und besteht aus transparentem PVC. Die äußere Schicht des Rohres ist versiegelt, um Stabilität zu gewährleisten, während die inneren Bereiche mit Luft gefüllt werden (Zhu, Zhai, et al., 2018). (Dogaris et al., 2015) entwickelten einen horizontalen Photobioreaktor, der ein Raceway-Pond mit einem Airlift-PBR kombiniert und sowohl an Land als auch auf Wasser eingesetzt werden kann. Dieser PBR wurde so gestaltet, dass er eine große Fläche für die Lichtabsorption bietet, während der Airlift für eine ausreichende Durchmischung und einen effektiven Gasaustausch sorgt. Um die Wirtschaftlichkeit und Nachhaltigkeit der Algenkultivierung zu verbessern, wurde diese Technologie der schwimmenden Photobioreaktoren entwickelt. Ein wesentlicher Vorteil dieser Systeme liegt in der effizienten Nutzung von Wasseroberflächen. Landressourcen sind in vielen Regionen begrenzt oder preiswert, insbesondere in stark genutzten Gebieten. Schwimmende PBRs umgehen dieses Problem, indem sie auf vorhandenen Wasserflächen installiert werden. Dadurch wird keine zusätzliche Fläche für die Algenproduktion beansprucht (Zhu et al., 2019).

Ein weiterer Aspekt ist die nachhaltige Nutzung von Kohlenstoffquellen. Schwimmende PBRs können beispielsweise Natriumhydrogencarbonat als Kohlenstoffquelle nutzen. Dies senkt die Kosten für die CO₂-Versorgung der Algenkultur und reduziert den Energieaufwand, der in landbasierten Systemen häufig durch die Installation von CO₂-Pipelines entsteht (Zhu, Zhu, et al., 2018).

Darüber hinaus ermöglichen schwimmende PBRs eine bessere Lichtverteilung für die Algenkulturen, da die Wasseroberfläche das Licht streuen kann, wodurch das Algenwachstum in den unteren Schichten des Reaktors optimiert wird. Dies kann die Photosyntheseeffizienz verbessern und somit die Biomasseproduktion steigern (Zhu et al., 2019). Landbasierte Systeme sind von Luft umgeben und benötigen daher zusätzliche Kühl- und Heizsysteme, um die optimale Wachstumstemperatur zu gewährleisten. Im Gegensatz dazu sind schwimmende PBRs von dem Oberflächengewässer, auf dem sie installiert sind, umgeben. Dadurch wird eine natürliche Temperaturregulierung für das System gewährleistet (Zhu et al., 2019).

Eine Kultivierung auf Oberflächengewässern bietet zudem das Potential die Wellenenergie zum Mischen der Algenkultur zu nutzen, um dabei die Abhängigkeit von Belüftungssystemen, Pumpen oder Motoren zu reduzieren. So entfällt beispielsweise der Energieaufwand für das Mischen und Zirkulieren der Kultur, was zu dem Hauptenergieverbrauch des Kultivierungsprozesses zählt (M. Chen et al., 2021).

Zu den Herausforderungen dieser Systeme zählt die komplexe Installation der auf dem Wasser lokalisierten Strukturen, die mit logistischen Schwierigkeiten verbunden ist. Diese werden durch wechselnde Wetterbedingungen, wie Wind und Wellen, sowie veränderte Standorte beeinflusst. Des Weiteren ist die technologisch-wirtschaftliche Analyse der Mikroalgenproduktion entscheidend, um die gesamten Produktionskosten zu bewerten. Die Skalierung von kleinen Pilotanlagen auf großflächige kommerzielle Maßstäbe erfordert erhebliche Investitionen und technologische Anpassungen. Trotz bestehender Herausforderungen könnten schwimmende PBRs ein bedeutendes Potenzial für eine skalierbare und nachhaltigere Algenproduktion bieten, besonders wenn die Optimierung des Prozesses voranschreitet (Khor et al., 2022).

2.6 Wachstumsparameter der Kultivierung

Die Kultivierung von Mikroalgen ist ein sehr sensibler Prozess, bei dem verschiedene Umweltfaktoren kontrolliert werden müssen, um eine hohe Biomasseproduktion zu erreichen. Zu den wichtigsten Wachstumsparametern gehören die Lichtintensität, Temperatur, CO₂-Zufuhr, pH-Wert und Nährstoffe. Diese Parameter beeinflussen direkt das Wachstum, den Stoffwechsel und die Produktivität von Mikroalgen und müssen präzise überwacht und angepasst werden, um optimale Kultivierungsbedingungen zu gewährleisten.

2.6.1 Lichtintensität

Die Lichtintensität ist der entscheidende Faktor für das Wachstum und die Produktivität von photosynthetischen Mikroorganismen. Da Licht die primäre Energiequelle für diese Organismen darstellt, muss es in der Kultivierung optimiert werden, um eine maximale Leistung zu erzielen.

Die Lichtintensität beeinflusst direkt die Photosyntheseleistung. Mit zunehmender Lichtintensität nimmt auch die Photosynthese der Mikroalgen zu, bis sie am Sättigungspunkt eine maximale Rate erreicht (siehe Abb. 5). Die Lichtintensität beschreibt die Menge an Licht, die pro Quadratmeter und Sekunde auf die Algenkulturen trifft und wird in Mikromol Photonen pro Quadratmeter pro Sekunde ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) gemessen. Zu niedrige Lichtintensitäten können das Wachstum der Algen stark verlangsamen, da weniger Energie für die Photosynthese verfügbar ist.

Andererseits kann eine zu hohe Lichtintensität zur Photoinhibition führen, bei der die Photosynthese ineffizient wird und Zellschäden auftreten (Richmond A., 2013). Die Intensität des Sonnenlichts variiert je nach geographischer Lage, Jahreszeit und Wetterbedingungen. Eine Erhöhung der Lichtintensität führt zu einer Aktivierung der Lipidsynthese. Für eine maximale Lipidproduktivität benötigen die verschiedenen Mikroalgenarten eine Beleuchtung mit unterschiedlicher Intensität: von 60 bis 700 $\mu\text{mol Photonen m}^2 \text{ s}^{-1}$ (Maltsev et al., 2021).

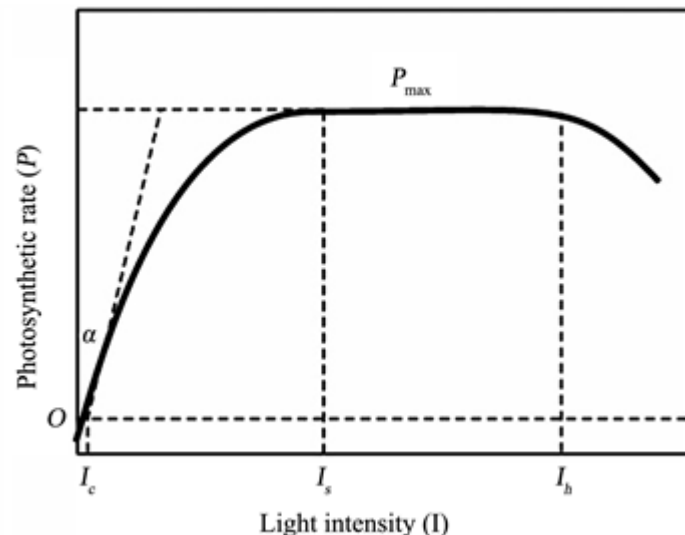


Abbildung 5: Sättigungskurve der photosynthetischen Rate (P) in Abhängigkeit der Lichtintensität (I), (Chowdury et al., 2020)

2.6.2 CO₂-Zufuhr

Die CO₂-Konzentration in Mikroalgenkulturen hat einen erheblichen Einfluss auf das Wachstum und die Photosynthese der Algen, da CO₂ die primäre Kohlenstoffquelle für den Assimilationsprozess darstellt. In wässrigen Medien existiert CO₂ nicht nur in der gelösten Form, sondern auch in Form von Kohlensäure (H₂CO₃), Bicarbonat (HCO₃⁻) und Carbonat (CO₃²⁻). Kohlenstoffdioxid wird von den Algen direkt aus dem Medium aufgenommen, während Bicarbonate als sekundäre Quelle dienen können, da Algen in der Lage sind, HCO₃⁻ zu assimilieren und es zur CO₂-Fixierung zu decarboxylieren (Giordano et al., 2005).

Um 1 kg Biomasse zu erzeugen, benötigen Mikroalgen etwa 1,8 bis 2,0 kg CO₂ (Acién Fernández et al., 2013). Angesichts dieses Verhältnisses reicht die in der Atmosphäre vorhandene CO₂-Konzentration von etwa 0,03% nicht aus, um den notwendigen Kohlenstoffgehalt in der Kultur aufrechtzuerhalten, der eine hohe Produktivität ermöglicht. Daher muss Kohlenstoff zugeführt werden, um die photosynthetische Effizienz zu steigern. Dies geschieht entweder durch das Zuführen von CO₂-reichem Gas in die Kultur oder durch Zugabe von anorganischen Kohlenstoffverbindungen wie Bicarbonaten (Umetani et al., 2021)

Ein Beispiel für die optimale CO₂-Konzentration bei der Kultivierung von *Scenedesmus obliquus* zeigt, dass die Biomasseproduktion mit steigender CO₂-Konzentration zunimmt. Die höchste Biomasseproduktivität wurde bei einer CO₂-Konzentration von 15% (v/v) erreicht, was zu einer maximalen Biomassekonzentration von 2,3 g · L⁻¹ führte. (Kaewkannetra et al., 2012).

2.6.3 Alternative Kohlenstoffquellen

Die Verwendung von alternativen Kohlenstoffquellen in der Mikroalgenkultivierung ist ein wesentlicher Ansatz, um die Produktionskosten zu senken und die Nachhaltigkeit des Prozesses zu steigern. Traditionell wird Kohlenstoffdioxid als primäre Kohlenstoffquelle für die Photosynthese in Algenkulturen eingesetzt. Jedoch führt der Verlust von CO₂ in offenen Systemen zu suboptimaler Nutzung und Energiekosten. Daher wird zunehmend nach alternativen Quellen gesucht, die effizienter und kostengünstiger sind.

Eine weit verbreitete alternative Kohlenstoffquelle stellt Natriumhydrogencarbonat dar. Es bietet den Vorteil, dass es stabiler ist als gasförmiges CO₂ und eine konstante Kohlenstoffquelle bietet, die in das System eingeleitet werden kann, ohne dass signifikante Verluste auftreten. NaHCO₃ wird von den Algen in Form von Bicarbonat-Ionen aufgenommen, was die CO₂-Nutzung in den Kulturen steigert (Y. Chen et al., 2016). Diese Stabilität und die Möglichkeit zur präzisen Dosierung tragen dazu bei, den CO₂-Verbrauch zu optimieren und somit die Produktionskosten zu senken.

Organische Kohlenstoffquellen wie Glukose oder Acetat werden insbesondere in heterotrophen und mixotrophen Mikroalgenkulturen eingesetzt (Kong et al., 2012). In heterotrophen Kulturen nutzen Algen organische Verbindungen als primäre Energiequelle, indem sie diese in Abwesenheit von Licht vollständig oxidieren, um ATP zu produzieren. In mixotrophen Kulturen hingegen werden sowohl organische Substrate als auch Licht zur Energiegewinnung verwendet. Im Vergleich zu anorganischen Kohlenstoffquellen wie CO₂ oder NaHCO₃ ist diese Art von Kohlenstoffquelle kostenaufwendiger, was ihre wirtschaftliche Rentabilität in großtechnischen Anlagen einschränkt.

CO₂-reiche Abgase aus industriellen Prozessen stellen eine weitere vielversprechende Kohlenstoffquelle dar (Nagappan et al., 2020). Diese Methode reduziert nicht nur die Versorgungskosten, sondern trägt auch zur Verringerung von Treibhausgasemissionen bei. Die Abgase müssen vor der Nutzung gereinigt werden, um schädliche Substanzen wie Stickstoffoxide zu entfernen.

Zusätzlich können Abwässer aus verschiedenen industriellen Prozessen als Kohlenstoffquelle genutzt werden (Mat Aron et al., 2021). Diese enthalten sowohl gelöstes CO₂ als auch organische Verbindungen, die von den Mikroalgen für ihr

Wachstum verstoffwechselt werden können. Hierbei muss die chemische Zusammensetzung der Abwässer kontinuierlich überwacht werden.

Insgesamt bietet die Verwendung alternativer Kohlenstoffquellen erhebliche Vorteile, da sie eine präzise und effiziente Kohlenstoffversorgung der Algenkultur gewährleistet. Die Auswahl der optimalen Quelle hängt dabei von den spezifischen Anforderungen des Systems, den Kostenfaktoren und den angestrebten Produktionszielen ab.

2.6.4 Temperatur

Die Temperatur ist ein weiterer zentraler Parameter, der die biochemische Zusammensetzung und die Wachstumsrate der Mikroalgen beeinflussen. Jede Mikroalgenart hat ein spezifisches Temperaturoptimum, bei dem das Wachstum maximiert wird. Für die meisten Mikroalgenarten liegt dieses Temperaturoptimum bei etwa 20 - 35 °C. Mikroalgenkulturen nehmen Wärme durch die Strahlung der verwendeten Lichtquelle auf, was zu einer Erhöhung der Temperatur in der Kultur führt. Bei der großflächigen Freilandkultivierung muss daher nicht nur die Sonneneinstrahlung, sondern auch die damit verbundene Temperatur berücksichtigt werden, da diese das Wachstum und die Produktivität der Algen beeinflussen können (Deb et al., 2017). Bei zu niedrigen Temperaturen verlangsamen sich enzymatische Reaktionen und die Zellteilung wird gestört, was das Wachstum hemmt. Zu hohe Temperaturen hingegen können Zellschäden verursachen, den Sauerstoffverbrauch steigern und die CO₂-Konzentration im Medium senken, was die Photosyntheseleistung negativ beeinflusst (Bernard & Rémond, 2012). Temperatursensoren werden verwendet, um die Temperatur kontinuierlich zu überwachen und gegebenenfalls durch Kühlsysteme zu regulieren, um stabile Wachstumsbedingungen zu gewährleisten.

2.6.5 Nährstoffe und pH-Wert

Die Nährstoffe in der Algenkultur sind entscheidend für das Zellwachstum und die Produktivität. Zu den Hauptnährstoffen gehören Makronährstoffe wie Stickstoff, Phosphor und Schwefel, die für die Zellstruktur und den Energiehaushalt benötigt werden. Mikronährstoffe wie Eisen, Magnesium und Kalium sind ebenfalls für den Stoffwechsel der Algen notwendig (Acién Fernández et al., 2013). Ein Mangel an Nährstoffen kann das Wachstum stark hemmen und die Algen dazu zwingen, alternative Stoffwechselprozesse zu aktivieren. Beispielsweise wird bei Stickstoffmangel häufig die Lipidproduktion angeregt, was für die Herstellung von Biokraftstoffen von Interesse ist (Chin et al., 2023).

Der pH-Wert ist ein Maß für den Säuregehalt des Kultivierungsmediums. Ein niedriger pH-Wert kann zu einer Ansäuerung des Mediums führen, was die

Nährstoffverfügbarkeit und das Wachstum der Algen beeinträchtigen können. Ein zu hoher pH-Wert kann die Löslichkeit wichtiger Nährstoffe wie Phosphor und Eisen verringern, was zu Wachstumsverzögerungen führt. Der ideale pH-Wert für viele Mikroalgenarten liegt zwischen 7,5 und 8,5 (Qiu et al., 2017). Die Überwachung des pH-Werts erfolgt in der Regel mit einem pH-Sensor.

3 Material und Methoden

In diesem Kapitel werden alle verwendeten Geräte, Verbrauchsmittel und Chemikalien aufgeführt (siehe Tab. 1, 2 und 3). Die angewandten analytischen Methoden zur Bestimmung der Zellzusammensetzung sowie vorherige Ernte- und Aufschlussmethoden der Biomasse von *Tetrademus obliquus* werden erläutert. Des Weiteren werden die Medienzusammensetzung für die Kultivierung sowie die Versuchsaufbauten beschrieben.

3.1 Material

Die nachfolgende Tabelle bietet eine Übersicht der Geräte und Materialien, die für die Mikroalgenkultivierung im Labor- und Pilotmaßstab, sowie für die biochemischen Analysen verwendet wurden.

Tabelle 1: Liste der verwendeten Geräte und Hersteller

Geräte	Hersteller
Analysenwaage Kern ADB	KERN & Sohn GmbH
Membranpumpe	DBGM
Flat Panel Airlift Reaktor	Suite GmbH
Kühlzentrifuge 4-16KS	Sigma Laborzentrifugen GmbH
LED-Pflanzenwuchslampe	GrowShop
Magnetrührer	Heidolph Instruments
Mini Vortex	Carl ROTH
Schwimmender Photobioreaktor	Eigenanfertigung
Spektralphotometer DR 3900	Hach Lange
Einkanalpipetten, 1-10 mL	Eppendorf, Hamburg
Einkanalpipetten, 100-1000 µl	Eppendorf, Hamburg
Einkanalpipetten, 10-100 µl	Eppendorf, Hamburg
Tiefkühlschrank	Tritec Hannover

Trockenofen	Memmert
Vakuumpumpe	Carl ROTH
Muffelofen	Heraeus Instruments GmbH
Heizblock	Labnet International
Reagenzglasschüttler	Heidolph Instruments
Randall-Heißextraktor	behr Labor-Technik
Exsikkator	Duran®, DWK Life Sciences
pH-Meter	Mettler Toledo
Laborautoklav	Systec GmbH & Co. KG
Gefriertrocknungsanlage	Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH
Planetenkugelmühle	Retsch

Tabelle 2: Liste der Verbrauchsmittel

Verbrauchsmittel	Hersteller
Einmalküvetten	Carl ROTH
Extraktionsbecher, EB75	behr Labor-Technik
Extraktionshülsen 501	VWR International
Falcontubes, 50 mL	Carl ROTH
Glas-Einweg-Rundküvetten	Hach Lange
Glasfaserfilter 691, 47mm	VWR International
Nitrilhandschuhe	Rotiprotect
Pipettenspitzen	Eppendorf, Hamburg
Schottflaschen	Duran®, DWK Life Sciences
Siedesteine	VWR International

Spritze 5 mL Terumo® Syringe 5 mL	Terumo, Shibuya, Japan
Spritzenvorsatzfilter PVDF 0,45 µm	Carl ROTH
Sterilfilter, 0.2 µm, PTFE, 17805	Satorius AG
Aluminiumfolie	VWR International
Mahlkugeln	VWR International
Parafilm	Pechiney Plastic Packaging
Porzellantiegel	VWR International
Pipettenspitzen	Eppendorf

Tabelle 3: Liste der Chemikalien

Chemikalie	Hersteller
Amidosulfonsäure, for analysis	AppliChem
Ammonium Eisen(III)-sulfat Dodecahydrat	VWR Chemicals
1,4-Dithiothreitol	Merck
Ethanol, absolute for analysis	Supelco
Folin-Ciocalteu Reagenz	Supelco
D(+)-Glucose-Monohydrat, extra pure	AppliChem
n-Hexan, Rotisol® ≥ 99%, p.a.	Carl ROTH
Kalium-Natrium-Tartrat-Tetrahydrat	AppliChem
Kaliumnitrat	VWR International
Kupfer(II)-sulfat Pentahydrat	Bernd Kraft GmbH
3-Methyl-2-benzothiazolin-Hydrazon	Merck
Natriumcarbonat, for analysis	ITW Reagents
Natriumhydrogencarbonat	AppliChem
Natriumhydroxid Pellets, for analysis	AppliChem

Rinderserumalbumin, > 97%	Carl ROTH
Salzsäure 37%, for analysis	AppliChem
Schwefelsäure, 95 – 97%	AppliChem
Trichloressigsäure, ≥ 99 , p.a.	Carl ROTH
Ferty II Basisdünger	Planta Düngemittel GmbH
Ferty Spezial	Planta Düngemittel GmbH
Wasserstoffperoxid	BÜFA Chemikalien

3.2 Medienzusammensetzung

Das verwendete Medium für die Kultivierung wurde aus einer Kombination aus Ferty II Basisdünger in der Konzentration $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ und Kaliumnitrat mit einer Konzentration von $3,2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ angefertigt. Dieses Medium wurde für die Vorversuche 1, 2 sowie für die Kultivierung der Vorkultur im Flat Panel Airlift Reaktor genutzt und wird im Folgenden als Ferty II-Medium bezeichnet. Für die angesetzten Vorkulturen wurden die Schottflaschen mit VE-Wasser befüllt und autoklaviert. Die Medienbestandteile wurden mittels Analysenwaage eingewogen und mittels Magnetrührer in VE-Wasser gelöst.

Eine Zusammensetzung der Inhaltsstoffe des Ferty II Basisdüngers ist der folgenden Tabelle zu entnehmen (siehe Tab. 4). Dieser enthält eine Vielzahl an Makro- und Mikronährstoffen, die für die Stoffwechselprozesse und das Wachstum der Mikroalgen essenziell sind.

Tabelle 4: Liste der Komponenten Ferty II Basisdünger

Zusammensetzung	Konzentration [%]
Nitrat	3
Phosphat	15
Kalium	35
Magnesium	5
Schwefel	9,2

Bor	0,035
Kupfer EDTA	0,006
Eisen DTPA	0,400
Mangan EDTA	0,080
Molybdän	0,012
Zink EDTA	0,010

Medium für den schwimmenden Photobioreaktor

Für den schwimmenden Photobioreaktor wurde ein spezielles Medium, bestehend aus mehreren Komponenten angesetzt, da dieses Medium in vorhergehenden Versuchen am CREM Institut vielversprechende Ergebnisse im Pilotmaßstab ergab. Im Folgenden wird das verwendete Medium als Ferty-Spezial bezeichnet. Eine Beschreibung der Zusammensetzung findet sich in der nachfolgenden Tabelle (siehe Tab. 5).

Tabelle 5: Mediumbestandteile für die Kultivierung im schwimmenden Photobioreaktor

Zusammensetzung	Einwaage [g]
Ferty Spezial	1,28
Kaliumnitrat	521,6
Kaliumhydrogenphosphat	46,4
Magnesiumsulfat Heptahydrat	38,4

3.3 Methoden

Im Folgenden werden die angewandten Methoden beschrieben, die zur Untersuchung der Biomasseproduktion und Zellzusammensetzung von *Tetrademus obliquus* unter der Verwendung von Bicarbonat als alternativer Kohlenstoffquelle eingesetzt wurden.

3.3.1 Vorkulturführung

Für den Vorversuch 1 wurde eine fortlaufend erhaltene Kultur von *Tetrademus obliquus* in einer 2-L-Schottflasche genutzt. Zur Kalibrierung wurde vor Beginn des Experiments eine Verdünnungsreihe der Kultur angesetzt, um eine Korrelation zwischen der optischen Dichte und der Biomassekonzentration zu erstellen.

Vor Beginn des Vorversuchs 2 wurde die Ausgangskultur von *Tetrademus obliquus* verwendet. Die Startkonzentration wurde für jede der drei Schottflaschen auf $0,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ eingestellt. Das benötigte Volumen der Ausgangskultur wurde nach folgender Formel ermittelt:

$$V_{\text{Kultur}} = \frac{c_{\text{Versuch}} \cdot V_{\text{Versuch}}}{c_{\text{Kultur}}} \quad (3)$$

mit:

V_{Kultur}	Volumen der Ausgangskultur	[L]
c_{Versuch}	Gewicht des beladenen Filters	[g · L ⁻¹]
V_{Versuch}	Leergewicht des getrockneten Filters	[L]
c_{Kultur}	Volumen der Algensuspension	[g · L ⁻¹]

Dabei wurde das Volumen der Schottflasche mit 500 mL berücksichtigt, um die genaue Menge an Ausgangskultur zu bestimmen. Anschließend wurde frisch angesetztes, im Autoklav sterilisiertes Nährstoffmedium Ferty II hinzugegeben. Die Schottflaschen wurden mit der berechneten Menge der Ausgangskultur als Inokulum angeimpft.

Zu Beginn des Hauptversuchs wurde die erhaltene Kultur von *Tetradismus obliquus* aus 1-L-Schottflaschen in 2-L-Schottflaschen überführt. Dabei wurde regelmäßig frisches Medium hinzugefügt, um die Kultur unter standardisierten Bedingungen zu stabilisieren. Abhängig von der verwendeten Kohlenstoffquelle wurde die Vorkultur entweder unter CO₂- und Druckluft-Begasung oder nur unter Druckluft und 2 g · L⁻¹ Natriumhydrogencarbonat kultiviert. Die Belichtung erfolgte in einem Licht-Dunkel-Zyklus von 16 h Licht und 8 h Dunkelheit. Sobald eine ausreichende Biomassekonzentration erreicht wurde, wurde die Kultur in einen Flat Panel Airlift Reaktor überführt. Im Flat Panel Airlift-Reaktor wurde die Kultur über zwei Tage unter CO₂-Begasung und einer LED-Pflanzenwuchslampe weiterkultiviert (siehe Abb. 6). Der Reaktor ermöglicht eine größere Biomasseproduktion. Diese generierte Biomasse diente als Inokulum für die anschließende Kultivierung im schwimmenden Photobioreaktor, der im Hauptversuch verwendet wurde.

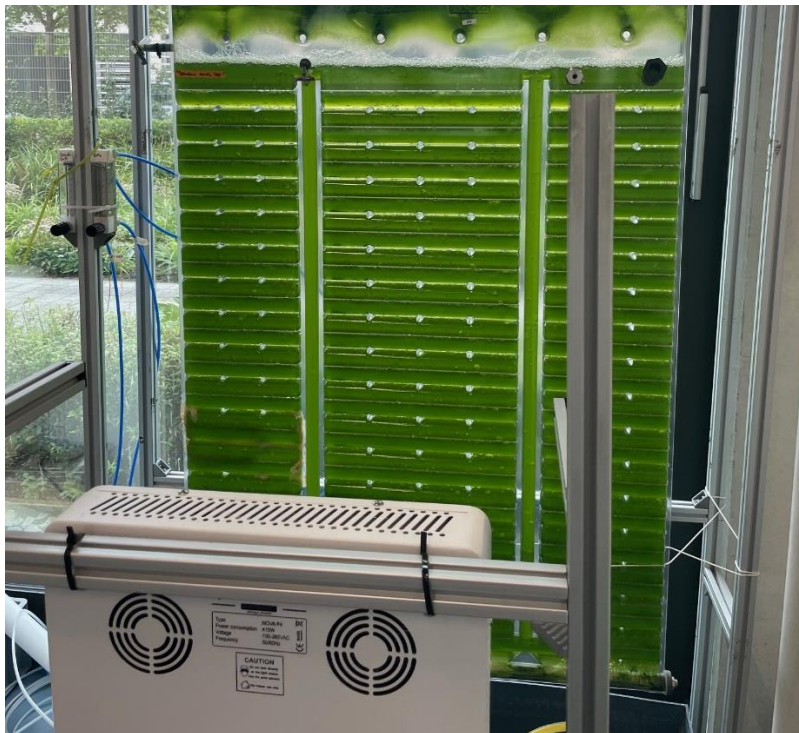


Abbildung 6: Kultivierung von *Tetradismus obliquus* im Flat Panel Airlift Reaktor zur Biomassegenerierung für den PBR

3.3.2 Vorversuch 1: Versuchsaufbau

Kultivierung im Labormaßstab mit Druckluft und Natriumhydrogencarbonat

Für den Versuchsaufbau wurden vier Magnetrührer unter eine LED-Pflanzenwuchslampe platziert (siehe Abb. 7). Die Lampe bestrahlte die Algenkulturen mit künstlichem Licht in einem Zyklus von 16 h Licht und 8 h Dunkelheit. Die Kultivierung erfolgte in 500-mL-Schottflaschen, die jeweils mit dem Ferty II Nährstoffmedium und der Algenkultur *Tetradismus obliquus* befüllt wurden. Die Zufuhr von Druckluft erfolgte über einen Verbindungsschlauch mit einem

vorgeschalteten Sterilfilter (Porengröße $0,2\ \mu\text{m}$). Die Druckluft wurde mit einer konstanten Flussrate zugeführt. Die Begasungsrate für jede Schottflasche wurde mithilfe von Klemmen an den flexiblen Schläuchen so eingestellt, dass eine möglichst gleichmäßige Verteilung gewährleistet war. Die Abluft wurde über eine kleinere, mit der Hauptflasche verbundenen Schottflasche abgeleitet und ebenfalls durch einen Sterilfilter geleitet. Die Magnetrührer wurden so eingestellt, sodass eine möglichst gleichmäßige Durchmischung der Kultur erreicht wurde. Das Medium wurde mit unterschiedlichen Konzentrationen von Natriumhydrogencarbonat ($0,5 - 5\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) als Bicarbonatquelle versetzt. Die Kultivierung fand bei Raumtemperatur von $20 - 25^\circ\text{C}$ statt.

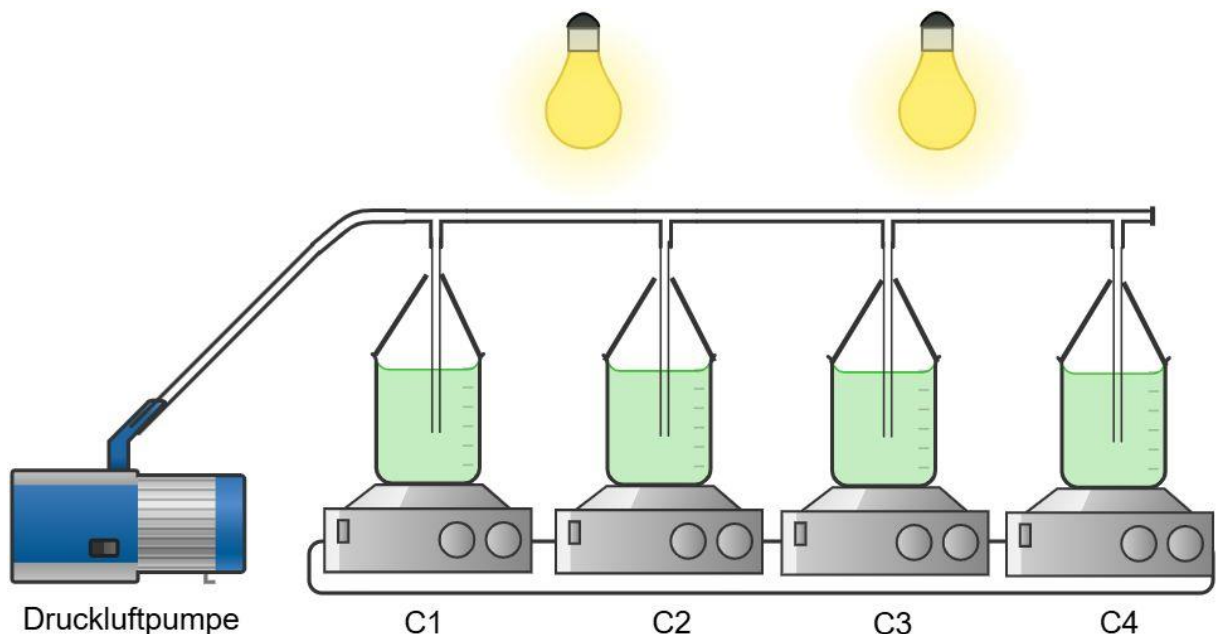


Abbildung 7: Versuchsaufbau 1: Kultivierung von *Tetrademus obliquus* unter Druckluftzugabe und verschiedenen Konzentrationen von NaHCO_3 ($0,5\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, $1\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, $3\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, $5\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)

Versuchsablauf

Das Ziel dieses Versuchs war es, den Einfluss unterschiedlicher Natriumhydrogencarbonat-Konzentrationen auf das Wachstum von *Tetradismus obliquus* zu untersuchen und die Konzentration mit der höchsten Biomasseproduktion zu identifizieren. Für den Versuch wurden 200 mL Kultur aus der erhaltenen Ausgangskultur entnommen und jeweils mit 250 mL autoklaviertem Ferty II Medium ergänzt, das mit 0,5, 1, 3 oder 5 g · L⁻¹ Natriumhydrogencarbonat angereichert war. Die Kultivierung begann am Dienstag und endete am Freitag. Während der Kultivierungszeit wurden täglich die optische Dichte (OD bei 750 nm) sowie die Biotrockenmasse in Duplikaten gemessen. Die optische Dichte wurde mit einem Spektralphotometer bestimmt und die Biotrockenmasse durch Filtration und Trocknung ermittelt.

3.3.3 Vorversuch 2: Versuchsaufbau

Optimierung der Natriumhydrogencarbonat-Konzentration

In Vorversuch 2 wurden drei 500-mL-Schottflaschen verwendet, um den Bereich der Natriumhydrogencarbonat-Konzentrationen einzugrenzen und die Konzentration zu ermitteln, die das Wachstum von der Mikrolage *Tetradismus* am besten fördert. Die getesteten Natriumhydrogencarbonat-Konzentrationen im Medium wurden auf 1, 2 und 3 g · L⁻¹ festgelegt. Die Kultivierung erfolgte unter den gleichen Bedingungen wie in Vorversuch 1, um eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten.

Versuchsablauf

Tetradismus wurde jeweils mit den Natriumhydrogencarbonat-Konzentrationen von 1, 2 und 3 g · L⁻¹ für 96 h kultiviert. Während der Kultivierungszeit erfolgte die Probenahme zu Beginn der Kultivierung und im weiteren Verlauf täglich. Um die Signifikanz zu erhöhen, wurde der Versuch unter Zugabe der gleichen Natriumhydrogencarbonat-Konzentrationen (1, 2 und 3 g · L⁻¹) erneut durchgeführt, wobei der Aufbau und die Kultivierungsbedingungen möglichst identisch blieben. So wurde sichergestellt, dass die Ergebnisse reproduzierbar waren und zuverlässig zur Bestimmung der optimalen Natriumhydrogencarbonat-Konzentration führten.

3.3.4 Hauptversuch: Versuchsaufbau

Kultivierung im schwimmenden PBR

Nach Ermittlung der optimalen Konzentration an Natriumhydrogencarbonat als alternative Kohlenstoffquelle, wurde diese Konzentration für die Kultivierung der Mikroalge *Tetradismus* im schwimmenden Photobioreaktorsystem eingesetzt. Das System besteht aus einem transparenten Rohrsystem sowie einer Pump-, Mess- und Steuerungseinheit. Umgeben ist das System von einem Schwimmkörper, der auf einem Kanal im Hafen Harburgs lokalisiert ist. Das Rohrsystem umfasst speziell entwickelte PVC-Röhren, die dicht geschlossen und transparent sind. Die Röhren sind mäanderförmig sowie horizontal angeordnet und sind dabei durch ein Stahl- und Aluminiumgestell an dem Schwimmkörper befestigt (siehe Abb. 8). Über das Hebesystem konnte die Position des Rohrsystems geändert werden. Das System wurde über die Umgebungs- und Wassertemperatur temperiert. Über die Mess-, Pump- und Steuerungseinheit wurden alle 30 s Parameter wie die Temperatur, der pH-Wert oder die Intensität des einfallenden Lichts gemessen. Die Begasungsrate wurde über die Steuerungseinheit für Luftdruck und Kohlenstoffdioxiddruck so eingestellt, dass ein Gemisch aus Luftdruck und Kohlenstoffdioxid der Kultur gleichmäßig zugeführt wurde. Die angeschlossene Umwälzpumpe pumpte die Kultur schonend durch das Rohrsystem, um eine kontinuierliche Durchmischung zu gewährleisten. Das gesamte System ist in sich geschlossen, sodass die Kultur keinen Kontakt zum Oberflächengewässer hatte. Das Rohrsystem umfasst 160 L Kulturvolumen. Es wurden zweimal täglich über das Ernteventil Proben genommen, die bezüglich der Wachstumsparameter analysiert wurden. Nach Ablauf der Kultivierung konnten mehrere Liter der Kultur abgepumpt werden, um genügend Biomasse für die chemischen Analysen zu erhalten.

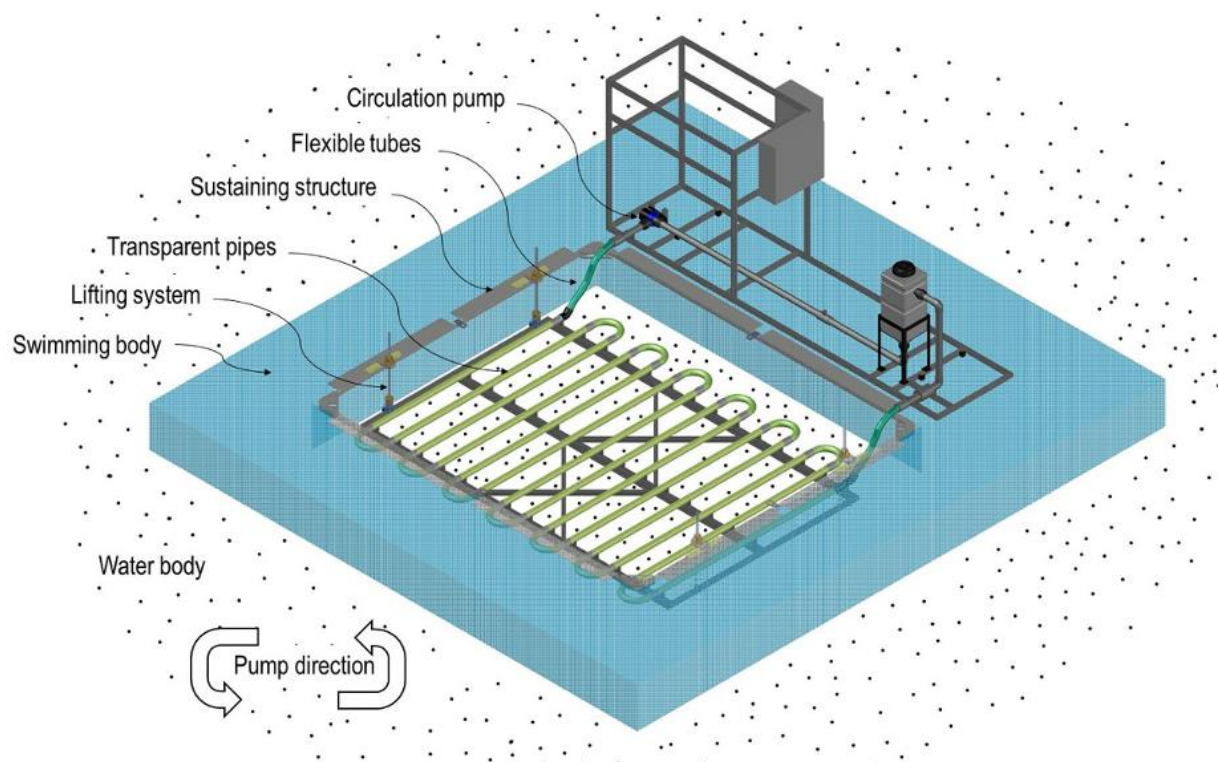


Abbildung 8: schematische Zeichnung des schwimmenden Photobioreaktors aus (Francke et al., 2022)

Versuchsablauf

Die Kultivierung im schwimmenden Photobioreaktor erstreckte sich insgesamt über einen Zeitraum von vier Wochen, wobei jede Woche spezifische Bedingungen hatte. Die erste sowie letzte Woche dienen als Kontrollgruppen, um die Kultivierung von *Tetrademus obliquus* unter CO₂-Begasung zu beobachten. In diesen zwei Wochen wurde die Algenkultur kontinuierlich mit CO₂ begast und in Ferty-Spezial mit einer Startkonzentration von 0,25 g · L⁻¹ kultiviert.

In der zweiten und dritten Woche des Hauptversuchs wurde die Kultur *Tetrademus obliquus* im PBR mit einer Konzentration von 2 g · L⁻¹ Natriumhydrogencarbonat als primäre Kohlenstoffquelle kultiviert. Hierbei wurde die Kultur ausschließlich mit Druckluft begast. Zum Animpfen des schwimmenden Photobioreaktors wurde zunächst das Nährstoffmedium Ferty-Spezial vorbereitet, indem die entsprechenden Medienbestandteile in Wasser gelöst und in einem Vorlagenbehälter bis zu einem Volumen von 80 L aufgefüllt wurden. Anschließend wurde die zuvor kultivierte *Tetrademus obliquus* Kultur, die im Flat Panel Airlift-Reaktor generiert wurde, zum Vorlagenbehälter als Inokulum hinzugefügt. Nachdem die Kultur in den PBR eingefüllt wurde, wurde das System über ein Ventil entgast (siehe Abb. 9). Danach wurden die Begasungseinheit und die Durchmischungspumpe gestartet, um eine gleichmäßige Verteilung der Kultur zu gewährleisten und das System in den aktiven Betrieb zu versetzen.

Für die Analytik der Wachstumskinetik wurden in regelmäßigen Abständen zweimal täglich Proben in Duplikaten entnommen. Am Ende der jeweiligen Kultivierungseinheit wurden 10 – 15 L der Kultur durch Zentrifugation geerntet. Nach jedem Kultivierungsdurchgang wurden sowohl der FPA als auch der PBR gründlich mit Wasserstoffperoxid gereinigt, um Verunreinigungen zu entfernen und die Reaktoren für die nächste Kultivierungsphase vorzubereiten.



Abbildung 9: Der schwimmende Photobioreaktor wird zum Animpfen über eine Pumpe über das Ernteventil mit dem Vorlagebehälter verbunden

3.3.5 Bestimmung der Wachstumsparameter

Biotrockenmasse-Bestimmung

Die Bestimmung der Biotrockenmasse (BTM) ist eine zentrale Methode zur Quantifizierung der Biomasse in den Mikroalgenkulturen. Es wurden flache Sterilfilter bei mindestens 24 h im Trockenschrank bei 76 °C gelagert, um ihnen die Restfeuchte vollständig zu entziehen. Die getrockneten Filter wurden auf der Analysenwaage ausgewogen und das Leergewicht wurde notiert. Ein definiertes Volumen der Algenkultur, wurde auf den Filter gegeben und vakuumfiltriert. Um Reste wasserlöslicher Bestandteile zu entfernen, wurde der Filter mit VE-Wasser gespült. Der mit der Algensuspension beladene Filter wurde bis zur Massenkonzanz getrocknet und anschließend ausgewogen. Die Berechnung der spezifischen Wachstumsrate sowie der volumetrischen Produktivität erfolgt auf Grundlage der BTM-basierten Biomassekonzentration. Die Biotrockenmasse wurde nach Gleichung 3 berechnet:

$$c_{\text{BTM}} = \frac{m_{\text{beladen}} - m_{\text{leer}}}{V_{\text{Probe}}} \quad (3)$$

mit:

c_{BTM}	Biotrockenmassekonzentration	[g · L ⁻¹]
m_{beladen}	Gewicht des beladenen Filters	[g]
m_{leer}	Leergewicht des getrockneten Filters	[g]
V_{Probe}	Volumen der Algensuspension	[L]

Bestimmung der optischen Dichte (OD)

Das Wachstum von *Tetradismus obliquus* wurde neben der Bestimmung der Biotrockenmasse mittels Bestimmung der optischen Dichte gemessen. Die optische Dichte (OD) ist ein Maß für die Zelltrübung. Bei geringen Extinktionswerten besteht eine lineare Abhängigkeit der gemessenen Extinktion der Probe zur Zellkonzentration. Die Extinktion der Probe korreliert dabei in dem Bereich von $0,1 < OD < 0,7$ mit der Zellkonzentration der Suspension. Bei höheren Extinktionswerten wurde eine entsprechende Verdünnung mit VE-Wasser durchgeführt. Die Pigmente der Mikroalgen absorbieren hauptsächlich im Bereich 400 bis 700 nm. Um diese Interferenzen zu minimieren, wurden die Proben bei der Wellenlänge $\lambda = 750$ nm gemessen.

Um den Korrelationsfaktor K zu ermitteln, wurde vor Beginn der Experimente eine Kalibrierung angefertigt. Hierbei wurden verschiedene Verdünnungsstufen aus der fortlaufend erhaltenen *Tetradismus*-Kultur gemessen und gegen die entsprechenden Biotrockenmassekonzentration aufgetragen. Der Faktor K ist der Geradengleichung zu entnehmen.

$$c_x = OD_{750} \cdot K \cdot V_F \quad (4)$$

mit:

c_x	Zellkonzentration	$[g \cdot L^{-1}]$
OD_{750}	Optische Dichte bei $\lambda = 750$ nm	$[-]$
K	Korrelationsfaktor	$[-]$
V_F	Verdünnungsfaktor	$[-]$

Spezifische Wachstumsrate

Die spezifische Wachstumsrate ist eine wichtige Kenngröße zur Beurteilung der Wachstumskinetik der Kultivierung von Mikroorganismen. Sie gibt den Biomassezuwachs pro Zeiteinheit zwischen zwei Zeitpunkten an.

$$\mu = \frac{\ln \frac{c_{x,t2}}{c_{x,t1}}}{t_2 - t_1} \quad (5)$$

mit:

μ	Spezifische Wachstumsrate	$[d^{-1}]$
$c_{x,t2}$	Zellkonzentration zum Zeitpunkt t_2	$[g \cdot L^{-1}]$

$c_{x,t1}$	Zellkonzentration zum Zeitpunkt t_1	$[g \cdot L^{-1}]$
t	Zeit	$[d]$

Volumetrische Produktivität

Die Produktivität beschreibt die Menge an gebildeter Biomasse pro Volumen und Zeiteinheit. Der Wert der Produktivität beschreibt die Effizienz der Kultivierung. Hohe Werte stehen für eine gute Effizienz des Systems.

$$P_v = \frac{c_{x,t2} - c_{x,t1}}{t_2 - t_1} \quad (6)$$

mit:

P_v	volumetrische Produktivität	$[g \cdot L^{-1} \cdot d^{-1}]$
$c_{x,t2}$	Zellkonzentration zum Zeitpunkt t_2	$[g \cdot L^{-1}]$
$c_{x,t1}$	Zellkonzentration zum Zeitpunkt t_1	$[g \cdot L^{-1}]$
t	Zeit	$[d]$

Flächenproduktivität

Die Flächenproduktivität wurde über die volumetrische Produktivität sowie der photosynthetisch aktiven Fläche des schwimmenden PBRs bestimmt. Die Variable gibt die produzierte Biomasse pro Flächeneinheit und Tag an.

$$P_{\text{Fläche}} = \frac{P_v \cdot V_{\text{Kultur}}}{A_{\text{PBR}}} \quad (7)$$

mit:

$P_{\text{Fläche}}$	Flächenproduktivität	$[g \cdot m^{-2} \cdot d^{-1}]$
P_v	volumetrische Produktivität	$[g \cdot L^{-1} \cdot d^{-1}]$
V_{Kultur}	Volumen der Kultur 160 L	$[L]$
A_{PBR}	photosynthetisch aktive Fläche des PBR	$[m^2]$

Berechnung der Gesamtstrahlungsmenge

Die Gesamtstrahlungsmenge (PAR-Lichtintensität) wurde über den gesamten Kultivierungszeitraum anhand der stündlich gemessenen PAR-Werte berechnet. Um die Gesamtstrahlung für den Zeitraum zu ermitteln, wurden die stündlichen PAR-Werte (gemessen in $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) über die gesamte Kultivierungsdauer summiert.

$$I_{ges} = \sum_{i=1}^n (PAR_i \cdot \Delta t_i) \quad (8)$$

mit:

I_{ges}	Gesamtstrahlungsmenge	$[\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}]$
PAR_i	Gemessene PAR-Werte	$[\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}]$
Δt_i	Zeitintervall für jede Messung	$[\text{h}]$

Normierte Produktivität

Um die Effizienz der Biomasseproduktion der Mikrolagen zu quantifizieren, wurde die Flächenproduktivität auf die Gesamtstrahlungsmenge normiert. Dies ermöglicht einen Vergleich der Biomasseproduktion in Abhängigkeit von der zugeführten Lichtmenge, unabhängig von den variierenden Lichtverhältnissen. Die normierte Produktivität gibt an, wie viel Biomasse pro Einheit Lichtenergie produziert wird und stellt ein objektives Maß zur Bewertung der Lichtnutzungseffizienz dar. Die Berechnung erfolgt auf Grundlage folgender Formel:

$$P_{\text{Norm}} = \frac{P_{\text{Fläche}}}{I_{ges}} \quad (9)$$

mit:

P_{Norm}	normierte Produktivität	$[\text{g} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}]$
-------------------	-------------------------	--

$P_{\text{Fläche}}$	Flächenproduktivität	$[\text{g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}]$
I_{ges}	Gesamtstrahlungsmenge	$[\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}]$

3.3.6 Zellernte und Probenvorbereitung

Die folgenden Methoden beschreiben die Zellernte der Biomasse mittels Zentrifugation sowie die anschließende Probenvorbereitung für die chemischen Analysen.

Zentrifugation

Nach der Kultivierung im 160-L-Photobioreaktor wurden am Ende der Versuche etwa 10 – 15 L der Suspension abgepumpt und für die chemischen Analysen weiterverarbeitet. Die Suspension wurde mit einer Sigma-Kühlzentrifuge mit einem Ausschwingrotor für vier Behälter zentrifugiert. Die Zentrifugenbehälter wurden mit jeweils zu zwei Dritteln befüllt. Die Zentrifugation erfolgte für 20 min bei einer Drehzahl von 5100 rpm. Nach Abschluss des Vorgangs wurde der Überstand vorsichtig verworfen und die verbleibende Biomasse, die sich als Pellet gesammelt hat, in einer Abdampfschale gesammelt.

Gefriertrocknung

Die Gefriertrocknung (genannt Lyophilisation) wurde angewendet, um die geerntete Biomasse in einen lagerungsfähigen Zustand zu überführen. Durch die Gefriertrocknung wurde der Biomasse vorsichtig Wasser entzogen. Das Gerät wurde hierbei mit Aluminiumfolie umschlossen, sodass die Biomasse vor Lichteinstrahlung geschützt ist. Nach der 20-minütigen Warm-Up Phase wurden die Proben unter der Haube platziert. Die Vakuumpumpe wurde eingeschaltet und die Haupttrocknung von 60 – 72 h begann. Nach einer abschließenden Phase der finalen Trocknung von 2 h wurden die Proben entnommen und bei -15 °C im Gefrierschrank gelagert.

Zellaufschluss

Um die chemischen Analysen an der gefriergetrockneten Biomasse durchzuführen, musste zunächst ein Zellaufschluss durchgeführt werden, sodass intrazelluläre Komponenten leichter extrahiert werden können. Hierfür wurde eine Planetenkugelmühle mit 20 Mahlkugeln aus Stahl verwendet. Die Kugeln besitzen einen Durchmesser von 10 mm. Der Zellaufschluss wurde für 12 min bei einer Drehgeschwindigkeit von 650 rpm mit einem Richtungswechsel nach 6 min durchgeführt. Die aufgeschlossene Biomasse wurde nach dem Zellaufschluss vorsichtig entnommen und kühl bei -15 °C gelagert.

3.3.7 Analytische Methoden

Im Folgenden werden die analytischen Methoden beschrieben, die zur Bestimmung der Zellzusammensetzung der Kultivierungsversuche angewendet wurden.

Bestimmung des Pigmentgehalts

Die photometrische Pigmentbestimmung von Chlorophyll a, b und den Carotinoiden erfolgte nach der Methode von Wellburn (1994). Für die Extraktion mit Dimethylsulfoxid (DMSO) wurden 10 mg der aufgeschlossenen Probe in Falcontubes eingewogen. Nach der Dokumentation der Einwaagen wurden jeweils 10 mL DMSO auf die Proben gegeben. Um die Pigmente vor Licht zu schützen, wurden die Falcontubes mit Aluminiumfolie bedeckt. Nach vorsichtigem Mischen aller Proben, wurden diese auf dem Labor-Schüttler für 24 h inkubiert. Nach der Inkubation wurde der Überstand vorsichtig mittels Sterilfilter gefiltert, um Zellbruchstücke zu entfernen. Die Messung des Überstandes erfolgte bei den Wellenlängen $\lambda = 480$ nm, $\lambda = 649$ nm und $\lambda = 665$ nm. Bei Extinktionswerten $> 0,7$ wurde eine Verdünnung mit DMSO durchgeführt. Aus den gemessenen Werten der Dreifachbestimmung konnten die entsprechenden Massenkonzentrationen von Chlorophyll a, b und den Carotinoiden mit folgenden Gleichungen ermittelt werden. Anschließend wurden die einzelnen Massengehalte nach der folgenden Gleichung ermittelt. Der Gesamtpigmentgehalt der Proben wurde durch das Summieren der einzelnen Massengehalte der einzelnen Pigmente bestimmt.

$$\beta_a = 12,19 \cdot A_{665} - 3,45 \cdot A_{649} \quad (10)$$

$$\beta_b = 21,99 \cdot A_{649} - 5,32 \cdot A_{665} \quad (11)$$

$$\beta_{x+c} = \frac{1000 \cdot A_{480} - 2,14 \cdot \beta_a - 70,16 \cdot \beta_b}{220} \quad (12)$$

mit:

β_a	Massenkonzentration Chlorophyll a	$[\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}]$
β_b	Massenkonzentration Chlorophyll b	$[\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}]$
β_{x+c}	Massenkonzentration Carotinoide	$[\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}]$
A_{665}	Absorption bei Wellenlänge 665 nm	$[-]$

A_{649}	Absorption bei Wellenlänge 649 nm	[-]
A_{480}	Absorption bei Wellenlänge 480 nm	[-]

$$w_{a; b; x+c} = \frac{\beta_{a; b; x+c} \cdot V_{\text{DMSO}}}{1000 \cdot m_p} \cdot f \cdot 100\% \quad (13)$$

mit:

$w_{a; b; x+c}$	Massengehalt an Chlorophyll a, Chlorophyll b oder Carotinoiden	[%(w/w)]
$\beta_{a; b; x+c}$	Massenkonzentration Chlorophyll a, Chlorophyll b oder Carotinoiden	[$\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$]
V_{DMSO}	Volumen an DMSO	[mL]
m_p	Masse an eingewogener Probe	[mg]
f	Verdünnungsfaktor	[-]

Bestimmung des Restwassergehalts

Um den Restwassergehalt der gefriergetrockneten Biomasse zu bestimmen, werden Abdampfschalen vorkonditioniert, indem sie für 24 h bei 58 °C im Trockenschrank gelagert werden. Nach der Trocknung werden die Schalen zum Abkühlen für 2 h im Exsikkator gelagert und ausgewogen. Das Leergewicht wird dokumentiert. Es werden ca. 0,7 g Probe in Tripletbestimmung direkt in die Abdampfschale eingewogen. Das Gewicht wird dokumentiert. Die Schalen werden bei 80 °C für 24 h bis zur Massenkonstanz getrocknet. Die Abdampfschalen werden ausgewogen und der Wassergehalt wurde nach der nachfolgenden Formel berechnet:

$$w_{\text{Gehalt}} = \left(1 - \frac{m_{t+P, \text{vor}} - m_t}{m_{t+P, \text{nach}} - m_t} \right) \cdot 100\% \quad (14)$$

mit:

w_{Gehalt}	Glühverlust	[%]
m_t	Masse der getrockneten Probe mit dem getrockneten Tiegel	[g]

$m_{t+P,vor}$	Masse der getrockneten Probe mit geglühtem Tiegel	[g]
---------------	--	-----

$m_{t+P,nach}$	Masse der getrockneten Probe	[g]
----------------	------------------------------	-----

Glühverlust

Zur Bestimmung des Glühverlusts der Biomasse auf Grundlage der DIN EN 15935 wurden gesäuberte Tiegel im Muffelofen bei 550 °C für 2 h ausgeglüht, um eventuelle Rückstände zu entfernen. Anschließend wurden sie im Exsikkator abgekühlt und das Leergewicht dokumentiert. Für die Analyse wurden etwa 0,5 g der Proben in die vorbereiteten Tiegel eingewogen. Die Tiegel wurden dann in einem gestuften Verfahren erhitzt: zunächst für 20 min bei 200 °C, gefolgt von 30 min bei 300 °C und schließlich für 5 h bei 550 °C. Nach dem Ausglühen wurden die Tiegel erneut im Exsikkator abgekühlt und ausgewogen. Die Bestimmung des Glühverlusts erfolgte mittels dieser Gleichung:

$$c = \frac{m(P_t + T_t) - m(P_g + T_g)}{m(P_t)} \cdot 100 \quad (15)$$

mit:

c	Glühverlust	[%]
$m(P_t + T_t)$	Masse der getrockneten Probe mit dem getrockneten Tiegel	[g]
$m(P_g + T_g)$	Masse der getrockneten Probe mit geglühtem Tiegel	[g]
$m(P_t)$	Masse der getrockneten Probe	[g]

Proteinbestimmung

Die Proteinbestimmung nach Lowry ist eine etablierte Methode Proteine quantitativ zu bestimmen. Für die Durchführung wurde eine frische Lösung des Lowry-Reagenz D vorbereitet. Dieses Reagenz entsteht durch das Mischen von drei Komponenten im Verhältnis 48:1:1: Reagenz A (2% Natriumcarbonat in 0,1 M Natriumhydroxid), Reagenz B (1% Kalium-Natrium-Tartrat-Tetrahydrat) und Reagenz C (0,5% Kupfersulfat-Pentahydrat in Wasser). Alle drei Reagenzien konnten bei Raumtemperatur gelagert werden. Zusätzlich wurde Folin-Ciocalteu-Phenolreagenz (FCR) verwendet, dass die Proteine nach der Reaktion färbt und somit deren Quantifizierung ermöglicht.

Für die Proteinanalyse wurden jeweils 10 mg aufgeschlossene Biomasse in einen Falcontube eingewogen. Die Extraktion der Proteine erfolgte mit 24% Trichloressigsäure, wobei das Gemisch für 15 min in einem Heizblock bei 95 °C erhitzt wurde. Im Anschluss daran wurde das Gemisch mit VE-Wasser verdünnt und für 40 min bei 13.500 rpm zentrifugiert, sodass sich ein Pellet bildete. Der Überstand wurde vorsichtig verworfen, um das Pellet mit Lowry D-Lösung zu resuspendieren. Anschließend wurden die Proben für 120 min im Trockenschrank bei 55 °C inkubiert, bevor sie erneut bei 13.500 rpm zentrifugiert wurden, um die Feststoffe abzutrennen.

Der Überstand wurde nach der zweiten Zentrifugation für die Proteinanalyse verwendet.

Die Messung erfolgte bei einer Wellenlänge von $\lambda = 600$ nm gemessen. Dazu wurden jeweils 100 μ l Probe bzw. eines Standards in einer Glasküvette mit 1900 μ l Lowry D versetzt. Nach einer Inkubationszeit von 10 min wurden 200 μ l FCR hinzugefügt und die Proben wurden für weitere 30 min inkubiert. Schließlich wurde die Extinktion gemessen, wobei der Proteingehalt mithilfe folgender Formel berechnet wird:

$$w_{\text{Protein}} = \frac{c_{\text{Proteine}} \cdot V}{m_{\text{eingewogen}}} \quad (16)$$

mit:

w_{Protein}	Proteingehalt	[%]
c_{Proteine}	Berechnete Konzentration nach der Kalibriergerade	[mg · ml ⁻¹]
V	Volumen des resuspendierten Pellets	[mL]
$m_{\text{eingewogen}}$	Eingewogene Biomasse	[mg]

Saccharidbestimmung

Die Bestimmung des Saccharidgehalts der gefriergetrockneten Biomasse wurde in Anlehnung an die Verfahren von Van Wychens & Laurens (2017) und Anthon (2002) spektralphotometrisch bei einer Wellenlänge $\lambda = 620$ nm durchgeführt. Hierfür wurden die Proben sowie die Kalibrierpunkte jeweils im Triplikat bestimmt.

Die Vorbereitung der Proben begann mit einem Aufschluss in 1 M Schwefelsäure. Dazu wurden 10 mg der aufgeschlossenen Biomasse präzise in eine Glasküvette eingewogen, wobei die genaue Masse notiert wurde. Die Schwefelsäure wurde anschließend vorsichtig zu jeder Probe hinzugefügt. Um die Reaktion zu fördern,

wurde das Gemisch für 1 h bei 90 °C in einem vorgeheizten Heizblock inkubiert. Nach der Hydrolyse wurde die Probe mit einem Vorsatzfilter filtriert, um unerwünschte Feststoffe zu entfernen. Die filtrierte Lösung wurde mit VE-Wasser verdünnt, indem zu 20 µl Probe 480 µl VE-Wasser hinzugefügt wurden.

Für die nachfolgende spektroskopische Analyse wurde der Heizblock auf 80 °C eingestellt. In einem weiteren Schritt wurden 500 µl 0,5 M NaOH-Lösung zu der Probe gegeben, gefolgt von 500 µl MBTH-Lösung. Diese enthielt 3 mg · mL⁻¹ 3-Methyl-2-benzothiazolinon-Hydrazon sowie 1 mg · mL⁻¹ 1,4-Dithiothreitol (DTT).

Nach einer 15-minütigen Inkubation bei 80 °C wurde die Reaktion durch die Zugabe von 1 ml Eisenlösung weitergeführt. Die Lösung bestand aus 0,25 M Salzsäure, 5 mg · mL⁻¹ Ammoniumeisen(III)-sulfat-Dodecahydrat und 5 mg · mL⁻¹ Amidosulfonsäure. Sobald das Gemisch auf Raumtemperatur abgekühlt war, wurden 2,5 mL VE-Wasser hinzugefügt und die Lösung homogenisiert. Abschließend wurde die Absorption der Proben gemessen, um den Saccharidgehalt mithilfe der entsprechenden Gleichung zu berechnen:

$$w_{\text{Saccharide}} = \frac{c_{\text{Saccharide}} \cdot V_{\text{H}} \cdot V_{\text{F}}}{m_{\text{eingewogen}}} \cdot 100\% \quad (17)$$

mit:

$w_{\text{Saccharide}}$	Saccharidgehalt	[%]
$c_{\text{Saccharide}}$	Berechnete Konzentration nach der Kalibriergerade	[mg · mL ⁻¹]
V_{H}	Zugesetztes Volumen an Wasser und Schwefelsäure	[mL]
V_{F}	Verdünnungsfaktor	[-]
$m_{\text{eingewogen}}$	Eingewogene Biomasse	[mg]

Lipidbestimmung

Zur Bestimmung des Lipidanteils der aufgeschlossenen Biomasse wurde die Heißeextraktion nach Randall (1974) eingesetzt. Dafür wurde ein Lösungsmittelgemisch im Verhältnis 9:1 aus n-Hexan und Ethanol angesetzt. Jede Probe wurde in dreifacher Ausführung analysiert, sodass bei jeder Durchführung drei Extraktionsbecher zum Einsatz kamen. Vor Beginn der Extraktion wurden die Becher mit dem Lösungsmittelgemisch vorkonditioniert, mit jeweils zwei

Siedesteinen versehen und im Trockenschrank bis zur Massenkonzanz getrocknet. Nach dem Trocknen wurde das Leergewicht des Bechers notiert.

Die Extraktionshülsen wurden unter gleichen Bedingungen konditioniert. Anschließend wurden etwa 0,5 g der Probe direkt in die Extraktionshülsen eingewogen. Diese Hülsen wurden mit Metallringen fixiert und über den Magnetmechanismus im Extraktor platziert. Die Extraktionsbecher wurden mit jeweils 75 mL des Lösungsmittelgemischs gefüllt und unter die Hülsen positioniert. Nach Öffnen der Kühlwasserzufuhr wurde die Temperatur an den Reglern auf 100 °C eingestellt. Sobald das Lösungsmittelgemisch zu sieden begann, wurden die Hülsen über die Apparatur in die Lösung abgesenkt und die Extraktion für 30 min durchgeführt.

Nach dem Extraktionsvorgang wurden die Hülsen über den Schieberegler aus der Lösung gehoben und der Spülvorgang für eine Stunde eingeleitet. Danach begann der Verdampfungsvorgang des Lösungsmittels, indem die Rücklaufventile geschlossen wurden. Der Prozess wurde beendet, sobald nahezu das gesamte Gemisch verdampft war. Schließlich konnten die Hülsen und Extraktionsbecher vorsichtig entnommen werden. Während sich die extrahierten Lipide im Becher befanden, blieb die extrahierte Biomasse in den Hülsen zurück. Sowohl die Hülsen als auch die Becher wurden erneut im Trockenschrank bis zur Massenkonzanz getrocknet und anschließend ausgewogen.

Der Lipidgehalt wurde mittels dieser Gleichung berechnet:

$$w_{\text{Lipide}} = \frac{m_{\text{BL}} - m_{\text{B}}}{m_{\text{P}}} \cdot 100\% \quad (18)$$

mit:

w_{Lipide}	Massengehalt an Lipiden	[%]
m_{BL}	Masse des Bechers mit Lipidanteil	[g]
m_{B}	Leergewicht des Bechers	[g]
m_{P}	Eingewogene Biomasse	[g]

4 Ergebnisse

Im Folgenden wurden die Ergebnisse der Bestimmung der Wachstumsparameter wie die spezifische Wachstumsrate sowie die Biomasseproduktivität und Zellzusammensetzung von den Vorversuchen sowie den Hauptversuchen der Kultivierung von *Tetrademus obliquus* dargestellt. Für die Erstellung der Kalibrierung wurden fünf Verdünnungen einer *Tetrademus obliquus*-Kultur im Bereich von ca. 0,2 bis 0,6 der optischen Dichte hergestellt. Diese Verdünnungen wurden analysiert, um die Korrelation zwischen der optischen Dichte und der Biomassekonzentration zu ermitteln (siehe Anhang A1).

Die lineare Regression der Kalibrierdaten ermöglichte die Bestimmung des Korrelationsfaktors, der in den Experimenten zur Berechnung der Biomassekonzentration verwendet wurde. Die erstellte lineare Regression der Kalibrierdaten ergab eine Gleichung mit dem Korrelationsfaktor von $0,5991 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, welcher zur Umrechnung der gemessenen OD-Werte in die Biomassekonzentrationen genutzt wurde. Mit einem Bestimmtheitsmaß von 0,9928 wies die Kalibrierung eine sehr hohe Genauigkeit auf und ermöglichte eine zuverlässige quantitative Auswertung der folgenden Experimente.

4.1 Ergebnisse der Vorversuche

Das Ziel der Vorversuche war es, die optimale Konzentration an Natriumhydrogencarbonat zu ermitteln, die für den Pilotmaßstab der Kultivierung von *Tetrademus obliquus* im schwimmenden PBR-System eingesetzt werden sollte. Hierfür wurden in der ersten Vorversuchsreihe verschiedene Konzentrationen an Natriumhydrogencarbonat der *Tetrademus* Kultur im Labormaßstab zugesetzt. Anschließend wurden in einer zweiten Vorversuchsreihe die Konzentrationen 1, 2 und $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ zur Kultivierung von *Tetrademus* eingesetzt, um die Wachstumsparameter zu ermitteln. Im Folgenden wurden die Ergebnisse der Wachstumskinetik der Kulturen beschrieben.

Biomassekonzentration Versuchsreihe 1

Die Ergebnisse der berechneten Biomassekonzentration auf Grundlage der BTM-Bestimmung zeigen, dass die zugesetzte Menge an $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ Natriumhydrogencarbonat zur höchsten Biomassekonzentration der Versuchsreihe 1 führte (siehe Abb. 10). Die Biomassekonzentration stieg von $0,90 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ zu Beginn auf $1,86 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ am Ende der Kultivierung. Eine ähnliche, aber geringere Zunahme der Biomasse wurde bei einer NaHCO_3 -Konzentration von $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ beobachtet, bei der die Biomassekonzentration von $0,47 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ auf $1,79 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ anstieg. Im Vergleich dazu führte die NaHCO_3 -Konzentration von $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ zu einer moderaten Biomassekonzentration von $1,66 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ am Ende der

Kultivierung. Die geringste Biomassezunahme wurde bei einer NaHCO_3 -Konzentration von $0,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ beobachtet, wo die Biomassekonzentration von $1,02 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ auf $1,51 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ anstieg. Die Ergebnisse der Biomassekonzentration auf Grundlage der OD-Messungen über die Kultivierungsdauer sind im Anhang zu finden. (siehe Anhang B).

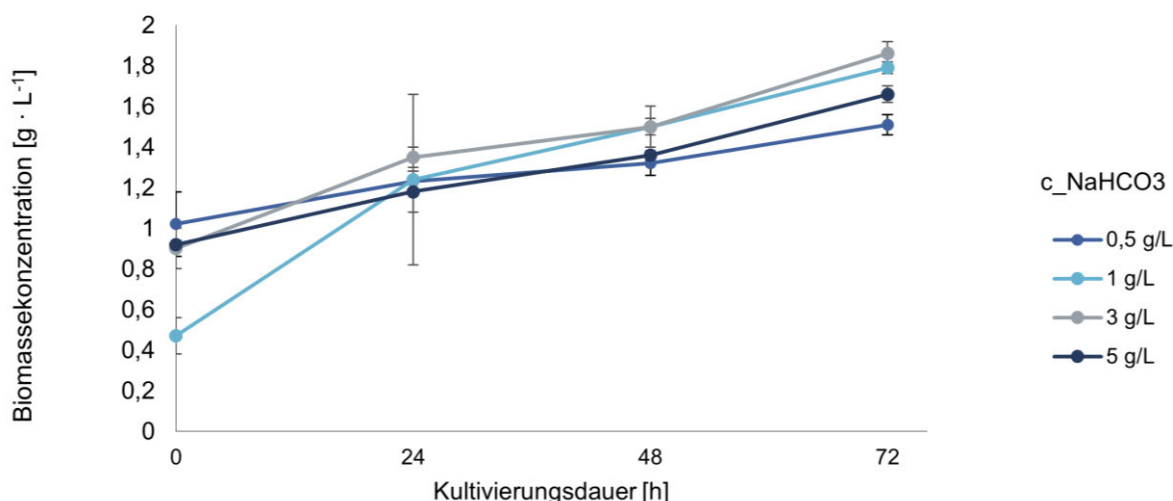


Abbildung 10: Verlauf der TS-basierten Biomassekonzentration bei verschiedenen Konzentrationen an zugesetztem Natriumhydrogencarbonat in 500-mL-Schottflaschen

Spezifische Wachstumsrate und Produktivität

Die Wachstumsraten aller Kulturen, die mit Natriumhydrogencarbonat versetzt wurden, wiesen nach einer Kultivierungsdauer von einem Tag ihre maximalen Werte auf (siehe Abb. 11). Im weiteren Verlauf der Kultivierung nahmen alle Wachstumsraten ab. Die höchste spezifische Wachstumsrate wurde bei einer Natriumhydrogencarbonat-Konzentration von $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ mit einem Wert von $0,97 \text{ d}^{-1}$ am ersten Tag gemessen. Über den gesamten Kultivierungsverlauf betrachtet, erzielte die Kultur mit Zugabe von $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaHCO}_3$ die höchste Gesamtwachstumsrate mit $0,45 \text{ d}^{-1}$. Im Vergleich dazu war die Wachstumsrate bei $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ am ersten Tag mit $0,41 \text{ d}^{-1}$ deutlich geringer, während sie eine Gesamtwachstumsrate von $0,24 \text{ d}^{-1}$ aufwies. Die geringste Wachstumsrate nach der Kultivierungszeit von 24 h wurde bei der Konzentration von $0,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaHCO}_3$ mit $0,19 \text{ d}^{-1}$ verzeichnet. Die Gesamtwachstumsrate dieser Konzentration war mit $0,13 \text{ d}^{-1}$ im Vergleich zu den anderen verwendeten Konzentrationen deutlich am geringsten. Die höchste verwendete Konzentration von NaHCO_3 mit $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ führte nicht zur höchsten Wachstumsrate, sondern im Vergleich zu einer mittelmäßigen Gesamtwachstumsrate von $0,24 \text{ d}^{-1}$.

Nach der Betrachtung der spezifischen Wachstumsraten wurden die Gesamtproduktivitäten der Kulturen ermittelt. Dabei wurde die Gesamtproduktivität über den gesamten Kultivierungszeitraum von 72 h bestimmt. Nach einer Kultivierung von einem Tag war die Produktivität bei allen Kulturen am höchsten. Im weiteren Verlauf fielen die Werte ab.

Die Konzentration von $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHCO_3 erzielte die zweithöchste Gesamtproduktivität von $0,24 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, während die Konzentration $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHCO_3 mit $0,27 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ die höchste Gesamtproduktivität erreichte (siehe Tab. 6). Die niedrigste Gesamtproduktivität trat bei der Kultur mit $0,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHCO_3 mit einem Wert von $0,16 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ auf. Diese Ergebnisse zeigen, dass ein Bereich der Konzentrationen zwischen $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ und $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHCO_3 das Wachstum von *Tetrademus obliquus* am stärksten begünstigt, während höhere und niedrigere Konzentrationen zu einer weniger effizienten Wachstumsdynamik führen.

Tabelle 6: Gesamtproduktivitäten und maximale Produktivitäten bei verschiedenen NaHCO_3 -Konzentrationen Vorversuch 1

NaHCO_3 -Konzentration	P_{ges}	P_{max}
$[\text{g} \cdot \text{L}^{-1}]$	$[\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}]$	$[\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}]$
0,5	0,16	0,21
1	0,24	0,32
3	0,27	0,38
5	0,21	0,27

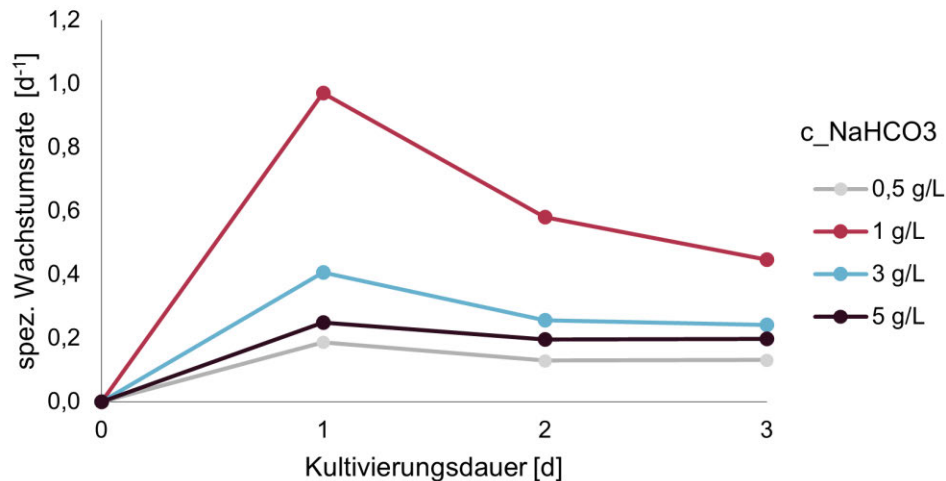


Abbildung 11: Wachstumskurve der spezifischen Wachstumsrate über die Kultivierungsdauer in Vorversuch 1

Biomassekonzentration Versuchsreihe 2 Woche 1

Zu Beginn der Kultivierung bei der Kultur mit $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ Natriumhydrogencarbonat stieg die BTM-basierte Biomassekonzentration von $0,66 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ zu Beginn auf $1,45 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ zum Ende der Kultivierung. Der Zuwachs war im Vergleich zu den höheren Konzentrationen moderat (siehe Abb. 12). Bei $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHCO₃ stieg die Biomassekonzentration von $0,39 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ zu Beginn auf einen Wert von $1,40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ am Ende. Diese Konzentration zeigt einen mittleren Zuwachs der Biomasse. Trotz eines geringeren Anstiegs als bei $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$.

Bei $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHCO₃ stieg die Biomassekonzentration stieg von $0,55 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ auf $1,62 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, was einen beträchtlichen Zuwachs darstellt. Obwohl die Biomasse mit dieser Konzentration am stärksten Anstieg, stimmte das Ergebnis nicht mit den Ergebnissen der Biomassekonzentrationen berechnet aus den Werten der OD überein.

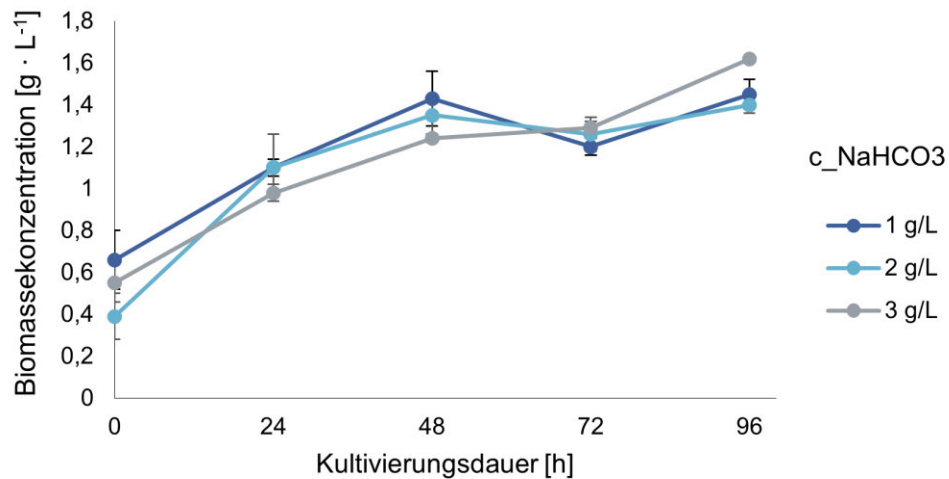


Abbildung 12: Verlauf der Biomassekonzentration auf Grundlage der Biotrockenmassebestimmung über die Kultivierung von verschiedenen Natriumhydrogencarbonatkonzentrationen in Woche 1

Spezifische Wachstumsrate und Produktivität

Die höchste spezifische Wachstumsrate dieser Versuchsreihe wurde bei der Kultur mit Zugabe von $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaHCO}_3$ mit $1,04 \text{ d}^{-1}$ ermittelt (siehe Abb. 13). Damit hebt sich dieser Wert deutlich von den Wachstumsraten der anderen beiden zugegebenen Konzentrationen ab. Die Wachstumsrate von $0,58 \text{ d}^{-1}$ bei der Konzentration von $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaHCO}_3$ liegt etwas höher als die Rate von $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaHCO}_3$ mit $0,51 \text{ d}^{-1}$. Über die gesamte Kultivierungsdauer beträgt die höchste Wachstumsrate $0,32 \text{ d}^{-1}$ bei der Zugabe von $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaHCO}_3$.

Die Gesamtwachstumsrate liegt bei der Kultivierung mit $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaHCO}_3$ $0,32 \text{ d}^{-1}$ am höchsten. Danach folgt die Konzentration von $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaHCO}_3$ mit einer Gesamtwachstumsrate von $0,27 \text{ d}^{-1}$. Vergleichsweise niedrig liegt somit die Gesamtwachstumsrate der Zugabe von $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaHCO}_3$ mit $0,20 \text{ d}^{-1}$.

Die Produktivitätswerte sind ebenfalls nach den ersten 24 h der Kultivierung der *Tetrademus*-Kulturen am höchsten. Auch hier ergab die Zugabe von $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaHCO}_3$ die höchste Produktivität von $0,71 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (siehe Tab. 7). Nachfolgend erreichten die Konzentrationen 1 und $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ sehr nah beieinander liegende Werte von $0,44 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ und $0,43 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. In Bezug auf die Gesamtproduktivität lagen die Werte zwischen $0,2$ und $0,27 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, wobei die Kultur mit Zugabe von $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaHCO}_3$ die höchste Produktivität erreichte.

Tabelle 7: Gesamtproduktivitäten und maximale Produktivitäten bei verschiedenen NaHCO_3 -Konzentrationen Vorversuch 2 (1)

NaHCO_3 -Konzentration	P_{ges}	P_{max}
$[\text{g} \cdot \text{L}^{-1}]$	$[\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}]$	$[\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}]$
1	0,20	0,44
2	0,25	0,71
3	0,27	0,43

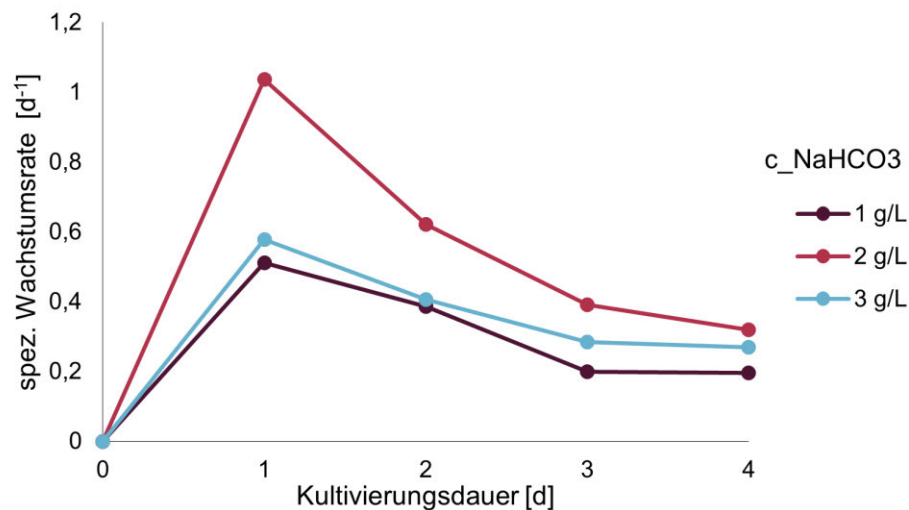


Abbildung 13: Verlauf der spezifischen Wachstumsrate über die Kultivierungsdauer in Vorversuch 2

Biomassekonzentration in Woche 2

Die BTM-basierten Biomassekonzentrationen stiegen über den gesamten Kultivierungsverlauf an (siehe Abb.14). Lediglich die Kultur mit $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaHCO}_3$ -Zugabe erfuhr nach 72 h Kultivierung einen Rückgang der Biomasse, gefolgt von einem erneuten Anstieg. Die Startkonzentrationen lagen etwas weiter voneinander entfernt in einem Bereich von $0,45$ bis $0,6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. Trotz des Rückgangs der Biomasse erreichte die Konzentration von $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaHCO}_3$ eine Endkonzentration von $1,9 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ Biomasse. Während die Startkonzentrationen nah beieinander zwischen $0,45$ und $0,60 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, waren die Endkonzentrationen weiter auseinander in einem Bereich von $1,57$ und $1,90 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$.

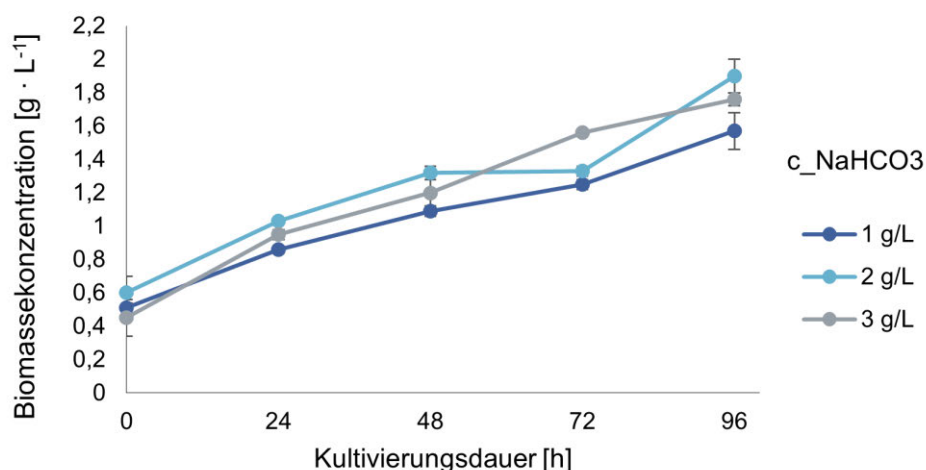


Abbildung 14.: Verlauf der Biomassekonzentration auf Grundlage der Bestimmung der Biotrockenmasse über einen Kultivierungszeitraum von vier Tagen bei verschiedenen Natriumhydrogencarbonatkonzentrationen in Woche 2

Spezifische Wachstumsrate und Produktivität

Am ersten Tag ist die spezifische Wachstumsrate mit $0,7 \text{ d}^{-1}$ am höchsten bei der $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaHCO}_3$ -Konzentration (siehe Abb. 15). Direkt danach folgen nah beieinander liegend die Konzentrationen mit $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaHCO}_3$, deren Wert $0,54 \text{ d}^{-1}$ betrug und $0,52 \text{ d}^{-1}$ bei $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaHCO}_3$. Obwohl die Wachstumsrate bei $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ zunächst am höchsten war, lag der Wert am Ende der Kultivierung geringer als die Wachstumsraten der anderen beiden Konzentrationen von Natriumhydrogencarbonat. Die Gesamtwachstumsrate der Kultivierung bei $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaHCO}_3$ war ebenfalls mit einem Wert von $0,34 \text{ d}^{-1}$ am höchsten. Danach folgten die Konzentrationen $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ und $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, die beide sehr nah beieinander lagen mit der Gesamtwachstumsrate von $0,28 \text{ d}^{-1}$ sowie $0,29 \text{ d}^{-1}$.

Die Gesamtproduktivitäten liegen bei den Konzentrationen 2 und $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ mit einem Wert von $0,33 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ gleich auf (siehe Tab. 7). Die Gesamtproduktivität von $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ lag mit $0,27 \text{ d}^{-1}$ etwas niedriger. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass der höchste Anstieg der spezifischen Wachstumsrate in der ersten Woche von Versuchsreihe 2 für die Konzentration von $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaHCO}_3$ zu verzeichnen war. In Woche 2 der Versuchsreihe wies die $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaHCO}_3$ -Konzentration die höchste spezifische Wachstumsrate auf. Ein Vergleich der Gesamtproduktivitäten ergab, dass sich die Werte von 2 und $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaHCO}_3$ in Woche 1 nicht signifikant voneinander unterscheiden haben und in Woche 2 sogar identisch waren.

Tabelle 8: Gesamtproduktivitäten und maximale Produktivitäten bei verschiedenen NaHCO_3 -Konzentrationen Vorversuch 2 (2)

NaHCO_3 -Konzentration	P_{ges}	P_{max}
$[\text{g} \cdot \text{L}^{-1}]$	$[\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}]$	$[\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}]$
1	0,27	0,35
2	0,33	0,43
3	0,33	0,50

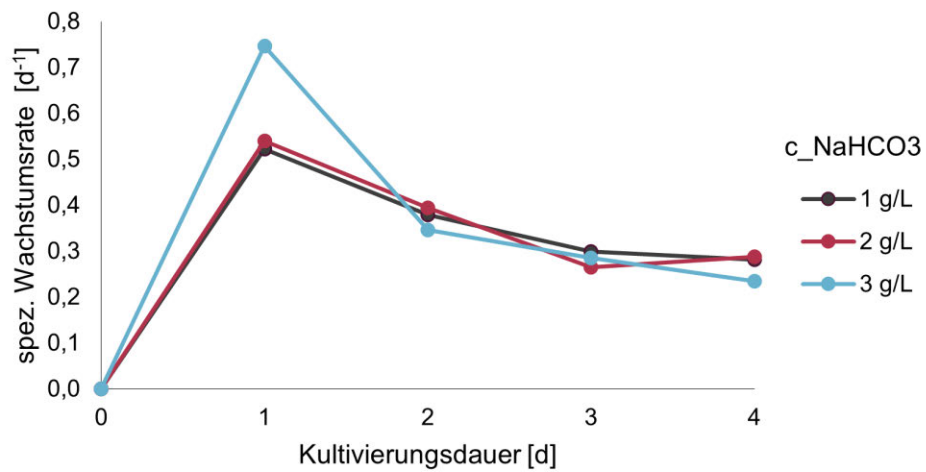


Abbildung 15: Verlauf der spezifischen Wachstumsrate über die Kultivierungsdauer in Vorversuch 2 Woche 2

4.2 Ergebnisse Hauptversuch im schwimmenden PBR

4.2.1 Kultivierung unter Standardbedingungen mit CO₂-Begasung

Im ersten Teil des Hauptversuchs wurde die Kultivierung von *Tetradesmus obliquus* über fünf Tage hinweg durchgeführt. Während des Versuchs erfolgte eine Begasung der Kultur mit Kohlenstoffdioxid, wobei eine gleichmäßige Durchmischung und eine konstante Begasung aufrechterhalten wurden. Zur Erhöhung der statistischen Signifikanz wurde der Versuch erneut für fünf Tage durchgeführt. Die Ergebnisse dieses ersten Teils dienen als Kontrollgruppe.

Biomassekonzentration

Die Biomassekonzentration, berechnet anhand der optischen Dichte, zeigte einen kontinuierlichen Anstieg über die gesamte Messperiode (siehe Abb. 16). Entsprechend der optischen Dichte war die Biomassekonzentration zu Beginn $0,27 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ und stieg bis zum Ende der Kultivierung auf $1,35 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$.

Im Gegensatz dazu zeigte die Biotrockenmasse einen komplexeren Verlauf. Der Startwert der Biomassekonzentration berechnet auf Grundlage der BTM lag bei $0,24 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, was bis zum vierten Tag auf $0,83 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ anstieg. Nach der zweiten Messung am vierten Tag fiel die Biomassekonzentration jedoch wieder auf $0,68 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ab. Trotz dieses Rückgangs stieg die Biotrockenmasse am letzten Tag der Kultivierung wieder auf $0,86 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ an und fiel auf einen Endwert von $0,59 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ab. Nach einer Kultivierungsdauer von etwa 72 h liegen die Werte der Biomassekonzentrationen berechnet nach der OD und Trockensubstanz (TS) deutlich voneinander entfernt.

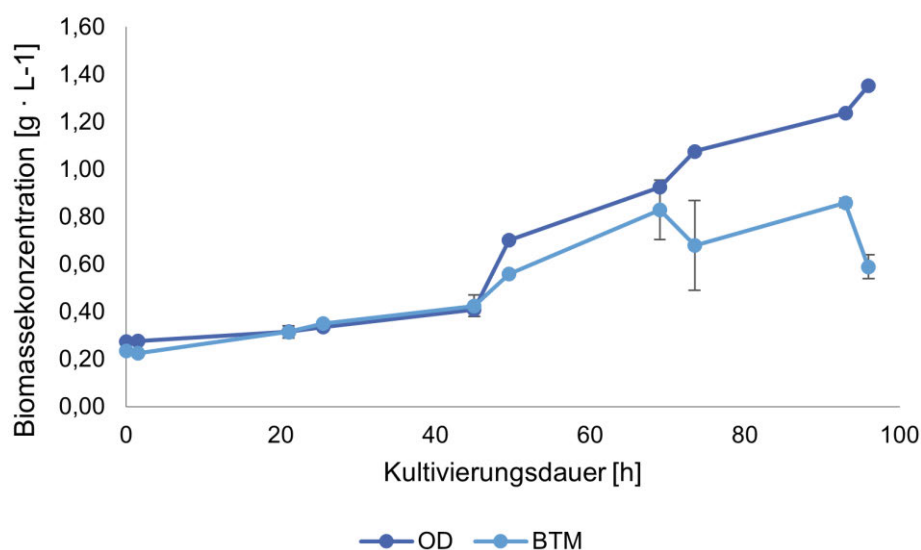


Abbildung 16: Biomassekonzentrationen basierend auf der optischen Dichte und der Biotrockenmasse während der Kultivierung im schwimmenden Photobioreaktor unter kontinuierlicher CO₂-Begasung für 96 h

Um die statistische Signifikanz des Versuchs zu erhöhen, wurde die Kultivierung der Mikroalgen im schwimmenden Photobioreaktor ein zweites Mal über einen Zeitraum von fünf Tagen durchgeführt.

Der Graph der Biomassekonzentration der OD-Messung stieg über die gesamte Kultivierungsdauer an (siehe Abb. 17). Zu Beginn des Versuchs waren die Startwerte der Biomassekonzentration sowohl bei der optischen Dichte als auch bei der Biotrockenmasse unterschiedlich. Die OD-basierte Biomassekonzentration lag zu Beginn $0,28 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, während die Biomassekonzentration nach Bestimmung der BTM zu Beginn bei $0,21 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ lag. Im Verlauf des Experiments stieg die Biomassekonzentration kontinuierlich an. Zum Ende des Versuchs nach 96 h erreichten beide Messmethoden nahezu identische Endwerte. Die Biomassekonzentration berechnet aus den Werten der OD lag bei $0,73 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, und die Biomassekonzentration berechnet aus den BTM-Werten lag bei $0,72 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$.

Jedoch wiesen die beiden Methoden unterschiedliche Verläufe während der Kultivierung auf. Besonders auffällig war, dass die Biomassekonzentration, die auf Basis der BTM-Bestimmung berechnet wurde, während der Kultivierung gelegentlich stärkere Anstiege zeigte als die Werte, die mit der optischen Dichte ermittelt wurden. Dies wurde besonders bei den Zeitpunkten 20 und 70 h deutlich, wo die Werte einen steileren Anstieg verzeichneten.

Zusätzlich fiel die Biomassekonzentration nach der zweiten Messung bei etwa 24 h von $0,49 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ auf $0,43 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ leicht ab und zeigte erneut einen Anstieg. Im Vergleich dazu stieg die Biomassekonzentration berechnet aus den OD-Werten kontinuierlich mit einem moderaten Anstieg bis zum letzten Messpunkt an.

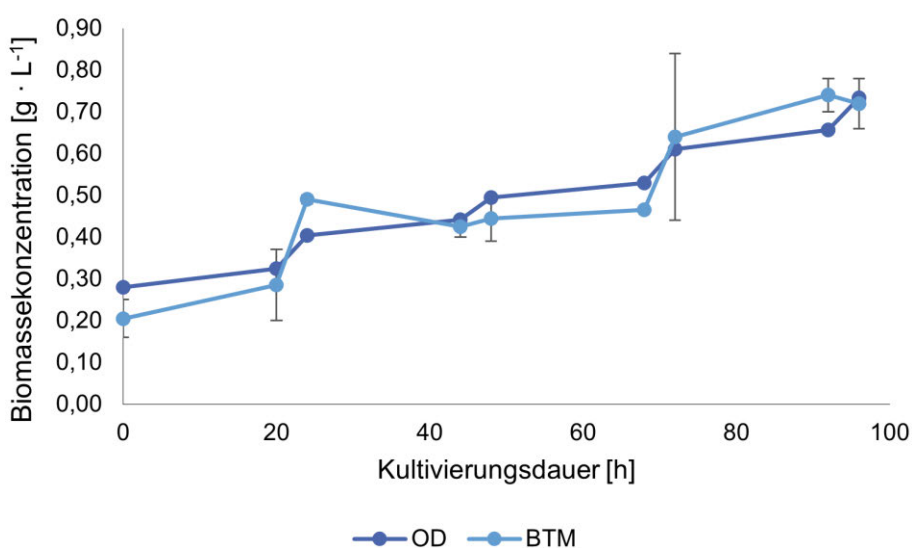


Abbildung 17: Verlauf der Biomassekonzentration über die Kultivierungsdauer von fünf Tagen im schwimmenden PBR unter Standardbedingungen der letzten Woche

Temperatur

Der Temperaturverlauf wurde während der gesamten 96-stündigen Kultivierung kontinuierlich alle 30 Sekunden im Photobioreaktor erfasst. Aus diesen Rohdaten wurden die relevanten Werte stündlich gefiltert, um den Temperaturverlauf über den gesamten Zeitraum zu analysieren. Der Verlauf wurde in Abbildung 18 dargestellt, die die Temperatur in den transparenten PVC-Röhren zeigte, in denen sich die Kultur befand. Die Temperaturentwicklung folgte einem charakteristischen Muster, das durch die direkte Sonneneinstrahlung beeinflusst wurde. Die Tagesmaximaltemperatur schwankte zwischen 29 und 34 °C, während die Nachttemperatur zwischen 22 und 24 °C lag. Die Umgebungstemperatur lag im Durchschnitt bei 23,9 °C, während der Minimalwert 16,6 °C betrug und der Tageshöchstwert 35 °C. Die Wassertemperatur des umliegenden Oberflächengewässers lag im Durchschnitt bei 23,2 °C, während die tiefste Temperatur bei 22,1 lag und im Höchstwert 24,9 °C erreichte.

In der ersten Woche des Versuchs wurde der pH-Wert nicht in das Diagramm aufgenommen, da die Schwankungen so stark waren, dass die Darstellung der Temperaturwerte durch die extremen Ausschläge des pH-Werts verzerrt worden wäre. Die großen Schwankungen im pH-Wert hätten die Lesbarkeit des Temperaturverlaufs erheblich beeinträchtigt, weshalb entschieden wurde, den pH-Wert in der ersten Woche nicht zu visualisieren.

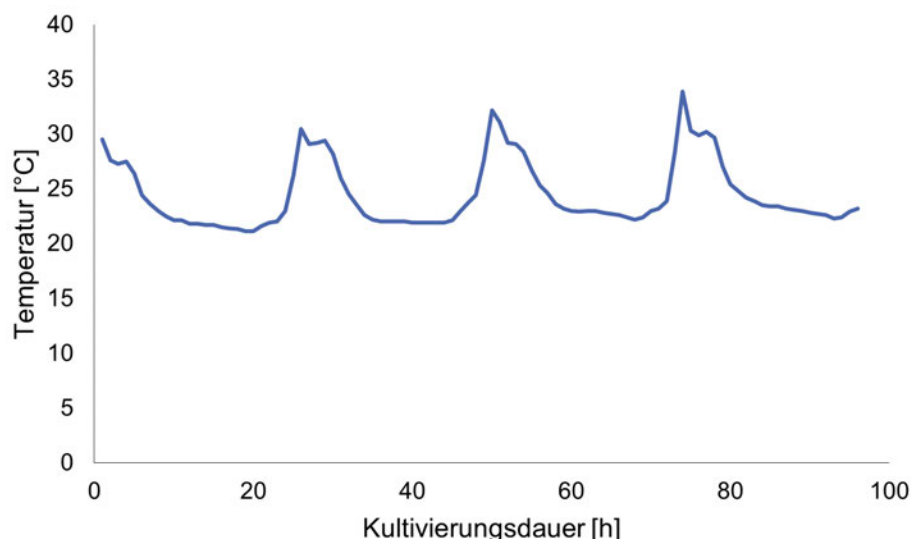


Abbildung 18: Verlauf der Temperatur über die Kultivierungsdauer in Woche 1

Der Temperaturverlauf während der letzten Woche des Versuchs wurde stündlich über den gesamten Kultivierungszeitraum abgebildet (siehe Abb. 19). Während der Spitzenzeiten der Sonneneinstrahlung stieg die Temperatur auf 20 bis 21 °C. In den Nachtstunden pendelt sich die Temperatur bei etwa 17,5 bis 18 °C ein. Die Umgebungstemperatur erreichte im Durchschnitt 16,4 °C, während der Minimalwert

13,2 °C betrug und der Tageshöchstwert 25,4 °C. Die Wassertemperatur des umliegenden Oberflächengewässers lag im Durchschnitt bei 18,8 °C, während die tiefste Temperatur bei 17,8 lag und im Höchstwert 19,9 °C erreichte.

Der Verlauf des pH-Werts während der zweiten Woche des Versuchs ist ebenfalls im Diagramm dargestellt. Zu Beginn der Kultivierung betrug der pH-Wert 8,14, bevor er sich im weiteren Verlauf stabil auf 7,8 einpendelte. Ein auffälliger Anstieg des pH-Werts trat nach 80 h auf, wo der Wert zunächst auf 12,4 anstieg, um anschließend auf 5,8 abzusinken. Nach diesem drastischen Schwanken stabilisierte sich der pH-Wert und pendelte sich bei 7,6 ein.

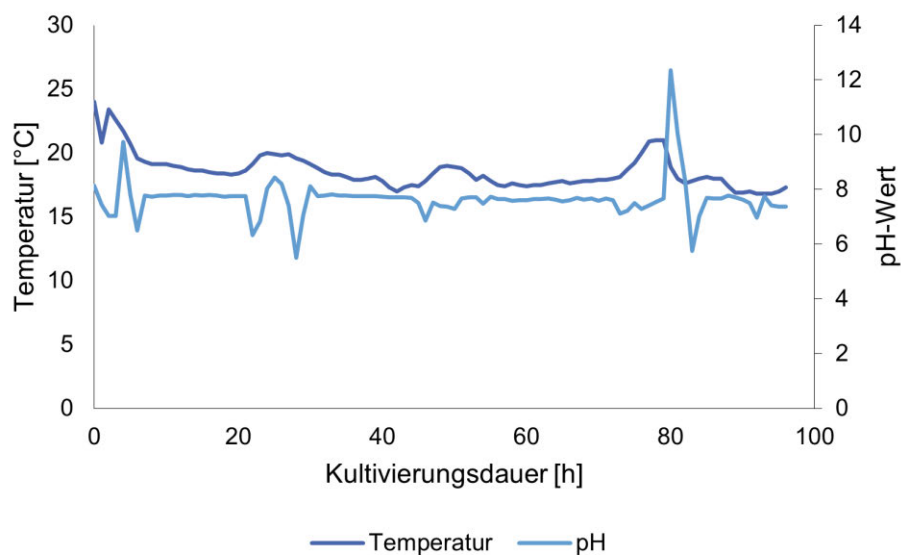


Abbildung 19: Verlauf der Temperatur und des pH-Wertes über die Kultivierungsdauer in Woche 2

Lichtintensität

Die Lichtintensität PAR (Photosynthetisch aktive Strahlung), gemessen über die fünf Tage der Kultivierung im schwimmenden Photobioreaktor, zeigte charakteristische Muster, die stark von der Tageszeit und den Wetterbedingungen abhingen. Abbildung 20 stellt den Verlauf der PAR-Werte dar, wobei die Messungen alle 30 s durchgeführt und stündlich zusammengefasst wurden.

Die maximalen Lichtintensitäten waren mit etwa $1050 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ relativ hoch, was dem Höhepunkt der Sonneneinstrahlung entsprach. Während des Tages waren die Werte der PAR eng an die Sonnenposition gebunden, wobei sie je nach Bewölkungsgrad und Wetterbedingungen schwanken konnten. An besonders sonnigen Tagen ohne Wolken erreichte die PAR gegen Mittag ihren maximalen Wert. Nach Sonnenuntergang fielen die Werte stark ab und sanken in der Nacht nahezu auf null, was die Abwesenheit von Licht und die Dunkelheit widerspiegelte. Dieser Verlauf der Temperatur wies eine klare Korrelation zur Lichtintensität auf. Während der Tageszeit, insbesondere in den Stunden mit maximaler

Sonneneinstrahlung, stiegen die Temperaturen in den transparenten PVC-Röhren an. Zu Beginn der Messung lag die Temperatur bei etwa 29,5 °C und stieg mit der Intensität der Sonneneinstrahlung, wobei die höchsten Temperaturen gegen Mittag erreicht wurden.

Zusammenfassend zeigt sich in den Messungen eine enge Wechselwirkung zwischen der Lichtintensität und der Temperatur. Beide Parameter weisen ähnliche zyklische Muster auf, die durch den Tagesverlauf und die Sonnenstrahlung geprägt sind.

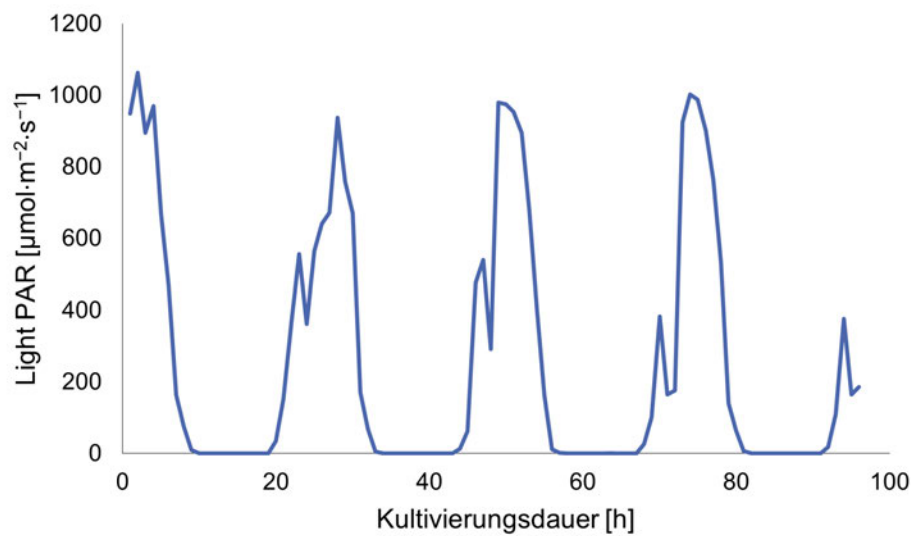


Abbildung 20: Verlauf der für die Photosynthese genutzten Lichtenergie in Woche 1

Der Verlauf der Lichtintensität während der zweiten Woche des Versuchs zeigt zu Beginn einen Wert von $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (siehe Abb. 21). Über die Kultivierungsdauer hinweg schwankt die Lichtintensität in den verschiedenen Zyklen und erreicht die folgenden Werte: $334 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $383 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $321 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, und am höchsten Punkt $886 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. In den Nachtstunden sank die Lichtintensität auf nahezu $0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, was die periodischen Schwankungen im Tagesverlauf widerspiegelte.

Im Vergleich zu den Lichtintensitätswerten der ersten Woche war eine deutliche Reduzierung der Lichtintensität in Woche 2 zu beobachten.

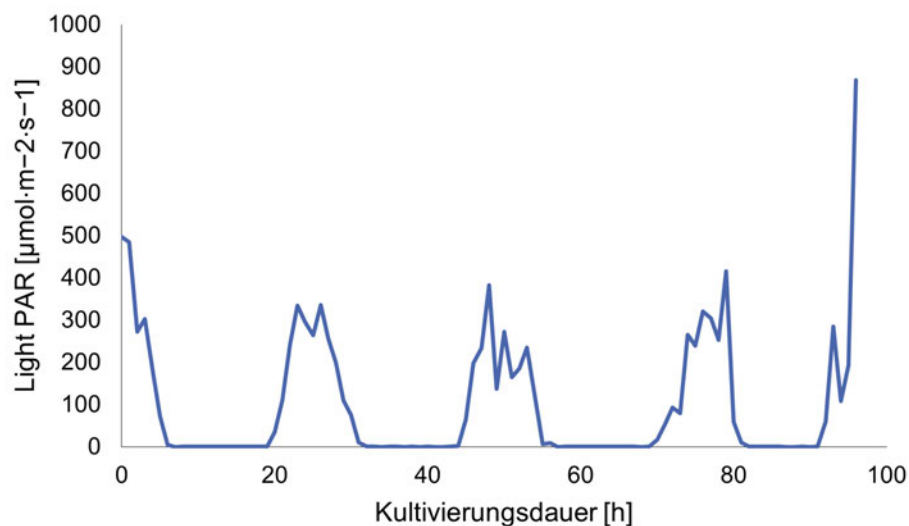


Abbildung 21: Verlauf der Lichtintensität Light PAR über die Kultivierungsdauer in Woche 2

Spezifische Wachstumsrate und Produktivität

Die spezifischen Wachstumsraten von *Tetrademus obliquus* im schwimmenden PBR mit CO₂-Begasung über einen Zeitraum von vier Tagen zeigen signifikante Unterschiede zwischen den beiden Kultivierungswochen (siehe Abb. 22). In der ersten Woche V1 erreichte die spezifische Wachstumsrate ihren Maximalwert nach den ersten 48 h Kultivierung mit einem Wert von 0,46 d⁻¹. Nach diesem Anstieg nahm die Wachstumsrate kontinuierlich ab. Die Gesamtwachstumsrate lag bei 0,24 d⁻¹. In der zweiten Woche V2 war die maximale spezifische Wachstumsrate an Tag 1 mit 0,87 d⁻¹ fast doppelt so hoch wie in V1. Die Wachstumsrate nahm stark ab und stabilisierte sich über die letzten Kultivierungstage. Die Gesamtwachstumsrate war im Vergleich zu V1 mit 0,31 d⁻¹ etwas höher. Die Produktivitätskurven in Bezug auf die Biomassekonzentration für die beiden Versuchswochen V1 und V2 zeigten klare Unterschiede und Gemeinsamkeiten. In Woche 1 V1 stieg die Produktivität zunächst signifikant an, erreichte ihren höchsten Wert von 0,17 g L⁻¹ d⁻¹ und fiel danach ab. Die Gesamtproduktivität erreichte einen Wert von 0,09 g L⁻¹ d⁻¹. Im Vergleich zu V1 ist die maximale Produktivität in V2 mit 0,29 g L⁻¹ d⁻¹ deutlich höher. Die Gesamtproduktivität erreichte insgesamt 0,13 g L⁻¹ d⁻¹ in V2.

Gemeinsamkeiten zwischen den beiden Versuchswochen sind, dass in beiden Fällen die Produktivität mit zunehmender Biomassekonzentration zunächst wie erwartet anstieg. Unterschiede zwischen den beiden Wochen liegen vor allem in der Höhe der maximalen Produktivität und dem Verlauf der Kurven. In V1 stieg die Produktivität weniger stark an und verzeichnete anschließend einen Rückgang. Im Gegensatz dazu lag der maximale Wert der Produktivität in V2 deutlich höher und fiel anschließend ab.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Produktivität in V2 insgesamt höher war, während in V1 die Produktivität insgesamt stabiler war.

Die berechnete Normproduktivität in Abhängigkeit auf die zugeführte Lichtmenge lag in V1 bei $0,00069 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, während die Normproduktivität in der letzten Woche der CO_2 -Kultivierung einen Wert von $0,00253 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, welcher um ein Vielfaches höher ist, annahm (siehe Tab. 8).

Tabelle 9: Ergebnisse der Flächenproduktivität, der Gesamtstrahlungsmenge sowie der daraus resultierenden Normproduktivität

CO ₂ -Versuch	$P_{\text{Fläche}}$ [g · m ⁻² · d ⁻¹]	I_{ges} [mol · m ⁻²]	P_{norm} [g · mol ⁻¹ · d ⁻¹]
1	5,9	8544	0,00069
2	8,5	3366	0,00253

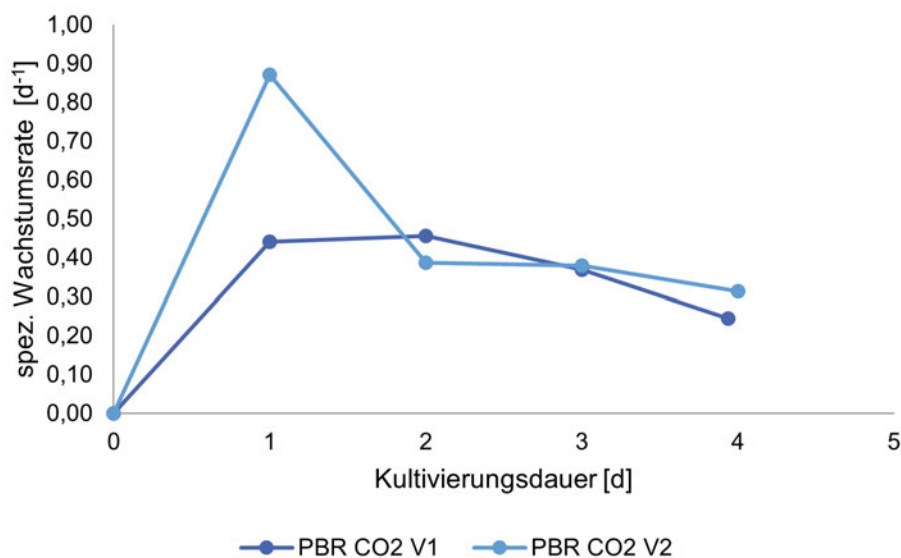


Abbildung 22: Verlauf der spezifischen Wachstumsrate über die Kultivierungsdauer mit CO_2 -Begasung V1 und V2

4.2.2 Kultivierung unter Zugabe von Natriumhydrogencarbonat

Im Rahmen des zweiten Teils des Hauptversuchs wurde das Wachstum von *Tetrademus obliquus* unter der Zugabe von $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ Natriumhydrogencarbonat als alternative Kohlenstoffquelle untersucht. Ziel war es, die Auswirkungen dieser Kohlenstoffquelle auf die Biomassekonzentration der Kultur zu evaluieren. Die Kultivierung erfolgte über einen Zeitraum von fünf Tagen bei kontinuierlicher Begasung mit Druckluft und gleichmäßiger Durchmischung der Kultur. Zur Erhöhung der statistischen Signifikanz der Ergebnisse wurde der Versuch erneut durchgeführt.

Biomassekonzentration

Der Verlauf der Biomassekonzentration auf Grundlage der OD sowie der BTM sind in der Abbildung 23 dargestellt.

Zu Beginn des Versuchs betrug die Anfangskonzentration der Biomassekonzentration auf Grundlage der OD $0,22 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ und zeigte im weiteren Verlauf einen kontinuierlichen Anstieg der Biomasse. Zum Ende der Kultivierung wurde eine Konzentration von $0,70 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ erreicht. Die berechneten Werte der Biomassekonzentration auf Grundlage der BTM wiesen zunächst einen ähnlichen Trend auf, wobei lediglich die Anfangskonzentration mit $0,12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ deutlich niedriger war als der Startwert der OD. Im weiteren Verlauf stieg die Konzentration kontinuierlich an, erreichte nach etwa 70 h einen Höchstwert und fiel bevor sie einen letzten Anstieg auf den Endwert von $0,52 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ erfuhr.

Besonders auffällig war, dass bei den berechneten der Werten nach der BTM-Bestimmung jeweils zu Beginn und zum Ende der Kultivierung die Anstiege der Biomassekonzentration höher waren als die der OD. Die beiden Endwerte lagen deutlich weiter voneinander entfernt. Jedoch wies die Methode der BTM-Bestimmung insgesamt höhere Schwankungen in Bezug auf die Standardabweichung auf. Während die höchste Standardabweichung der OD-Methode bei 0,007 lag, betrug die höchste Abweichung der BTM-Bestimmung 0,095. Die Werte mit höherer Standardabweichung sind mit größeren Schwankungen zu betrachten.

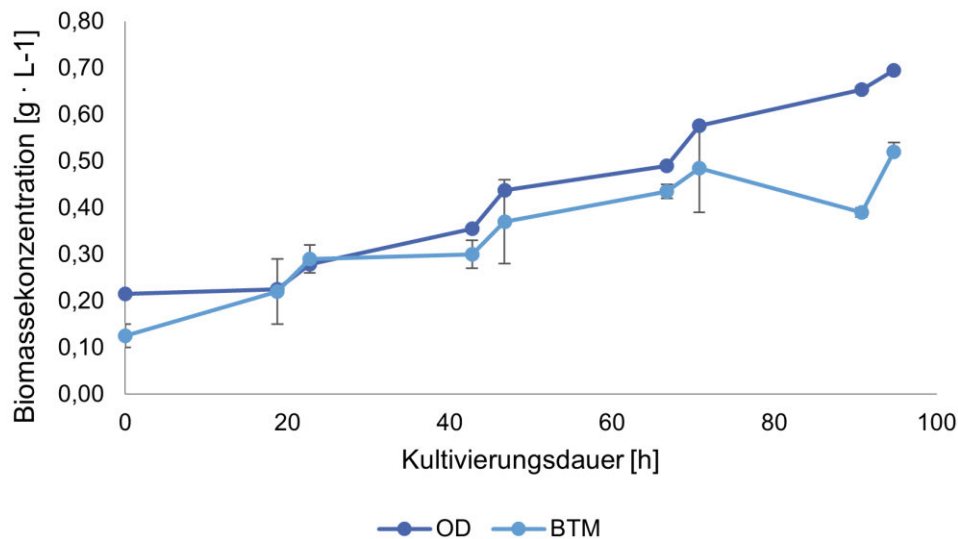


Abbildung 23: Verlauf der Biomassekonzentration über die Kultivierungsdauer von fünf Tagen im schwimmenden PBR unter Zugabe von $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ Natriumhydrogencarbonat in Woche 1

Die Verläufe der Biomassekonzentrationen in Bezug auf die optische Dichte und die Biomassekonzentration nach BTM-Bestimmung in Woche 2 zeigten einen kontinuierlichen Anstieg im Verlauf der Kultivierung, wobei die Werte sowohl für die OD als auch für die BTM-Konzentration miteinander korrelierten (siehe Abb. 24). Zu Beginn des Versuchs zeigte die OD-Konzentration einen Anstieg von $0,30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ auf $0,64 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ was auf ein kontinuierliches Wachstum der Biomasse hinwies. Der Anstieg war gleichmäßig, wobei die Werte in den ersten Zeitpunkten von $0,30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ auf $0,40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ stiegen und anschließend bis auf $0,70 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ zunahmen. Die BTM-Konzentration zeigte einen ähnlichen Verlauf. Sie begann bei $0,28 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ und erreichte am Ende des Versuchs einen Wert von $0,64 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. Dieser Anstieg folgte im Wesentlichen dem gleichen Muster wie die OD-Konzentration. Die Werte für beide Messmethoden stiegen parallel an, wobei die BTM-Konzentration bei jedem Messzeitpunkt nur geringfügig niedriger der OD-Konzentration lag.

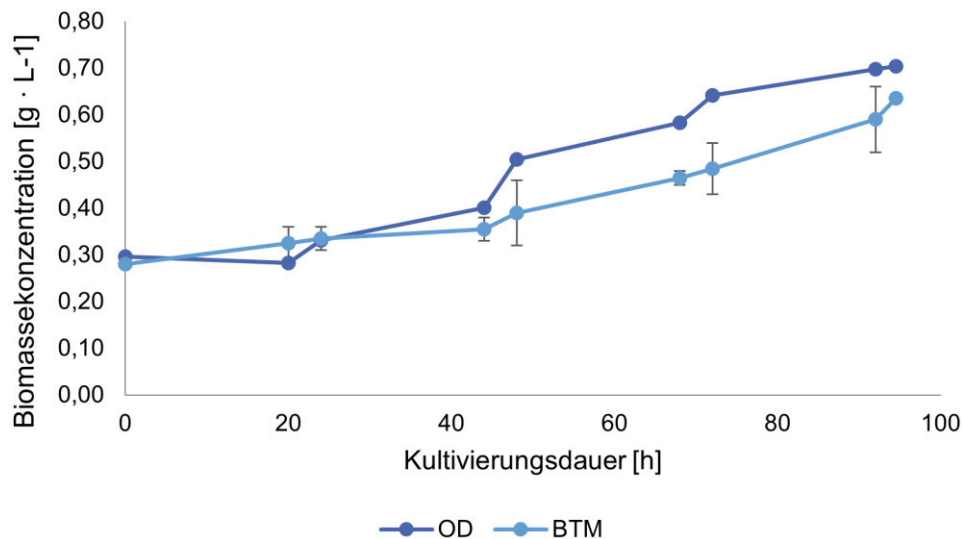


Abbildung 24: Verlauf der Biomassekonzentration über die Kultivierungsdauer von fünf Tagen im schwimmenden PBR unter Zugabe von $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ Natriumhydrogencarbonat in Woche 2

Temperatur

Im vorliegenden Diagramm sind die Temperatur- und pH-Wert-Verläufe über eine Kultivierungsdauer von 96 Stunden während der Kultivierung von *Tetradesmus* unter Zugabe von Natriumhydrogencarbonat dargestellt (siehe Abb. 25).

Die Temperatur zeigte regelmäßig auftretende Anstiege und Abfälle, die in mehreren Phasen über die gesamte Kultivierungsdauer hinweg auftraten. Die maximalen Temperaturwerte schwankten zwischen 22 und 26 °C, während die nächtlichen Temperaturen zwischen 14,5 und 19 °C schwankten. Die Umgebungstemperatur erreichte im Durchschnitt 13,7 °C, während der Minimalwert 7,9 °C betrug und der Tageshöchstwert 22,6 °C. Die Wassertemperatur des umliegenden Oberflächengewässers lag im Durchschnitt bei 21,6 °C, während die tiefste Temperatur bei 20,3 °C lag und im Höchstwert 23,4 °C erreichte.

Der pH-Wert stieg in der ersten Woche auf über 10,5 an. Im weiteren Verlauf sank der pH-Wert auf etwa 6,88 und erreichte ein Minimum von 4,48. Ab dem Ende der ersten Woche pendelte sich der pH-Wert schließlich zwischen 7 und 8,5 ein.

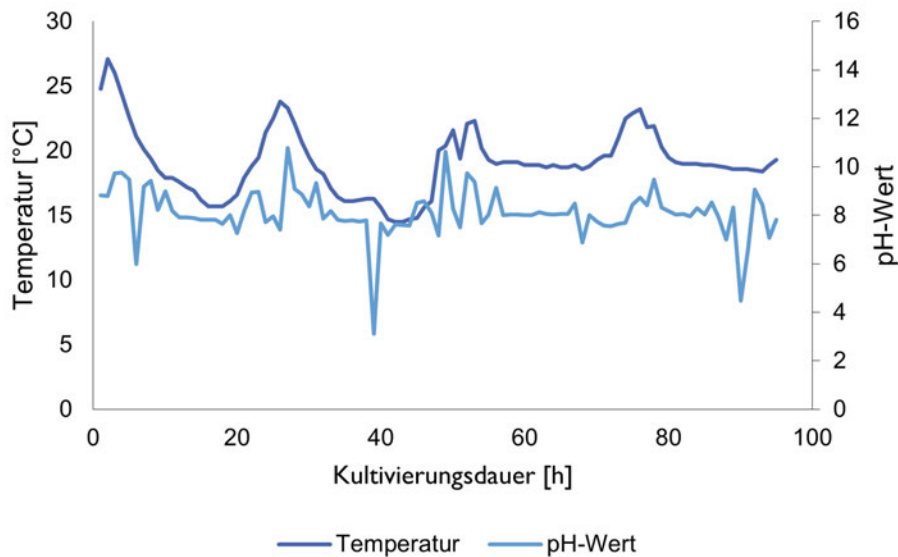


Abbildung 25: Verlauf der Temperatur und des pH-Wertes über die gesamte Kultivierung in Woche 1

Im folgenden Diagramm, das den Temperatur- und pH-Wert-Verlauf in der zweiten Woche der Kultivierung mit Natriumhydrogencarbonat zeigt, ist eine moderatere Temperaturschwankung im Vergleich zur ersten Woche erkennbar (siehe Abb. 26). Die maximale Temperatur schwankte zwischen 24 und 26 °C, während die nächtlichen Temperaturschwankungen zwischen 18 und 19 °C lagen.

Das Temperaturminimum lag in der zweiten Woche mit 18,1 °C im Vergleich zum Minimum der Woche 1 von 14,5 °C höher. Im Vergleich zur ersten Woche wurde jedoch keine Temperatur von etwa 27 °C erreicht. Der Temperaturverlauf war insgesamt regelmäßiger, wobei die Schwankungen durch die Stabilisierung des Systems weniger ausgeprägt erschienen.

Die Umgebungstemperatur erreichte im Durchschnitt 17,5 °C, während der Minimalwert 14,4 °C betrug und der Tageshöchstwert 24,9 °C. Die Wassertemperatur des umliegenden Oberflächengewässers lag im Durchschnitt bei 20,3 °C, während die tiefste Temperatur bei 19,6 °C lag und im Höchstwert 21,5 °C erreichte.

Der pH-Wert zeigte in der zweiten Woche stärkere Schwankungen im Vergleich zur ersten Woche. Es wurden regelmäßig pH-Werte über 10 erreicht, während die höchste Schwankung einen Wert von 12,36 erreichte. Nach den Schwankungen pendelte sich der Wert in einem Bereich zwischen 8,2 und 8,5 ein, wobei die Amplitude der Schwankungen größer war.

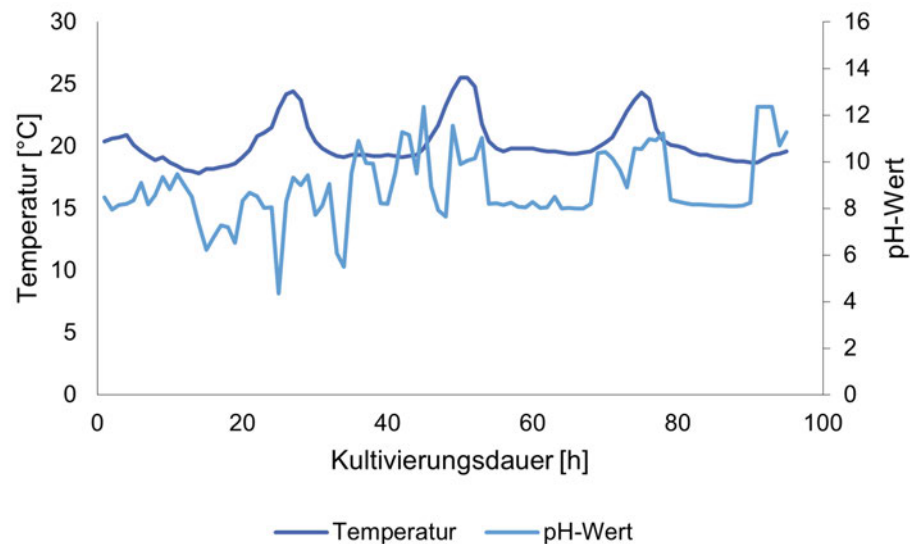


Abbildung 26: Verlauf der Temperatur und des pH-Wertes über die gesamte Kultivierung in Woche 2

Lichtintensität

Zu Beginn der Kultivierung in Woche 1 stieg die Lichtintensität auf $513 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (siehe Abb. 27). Anschließend fiel die Intensität in den Abendstunden ab, bis sie nachts Nullwerte annahm. Ein erneuter Anstieg der Lichtintensität auf etwa $911 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ beschrieb ein weiteres Maximum. Das Muster wiederholte sich zyklisch und verzeichnete vier weitere erhöhte Lichtintensitäten von 911, 1103, 1210 und schließlich auf $711 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

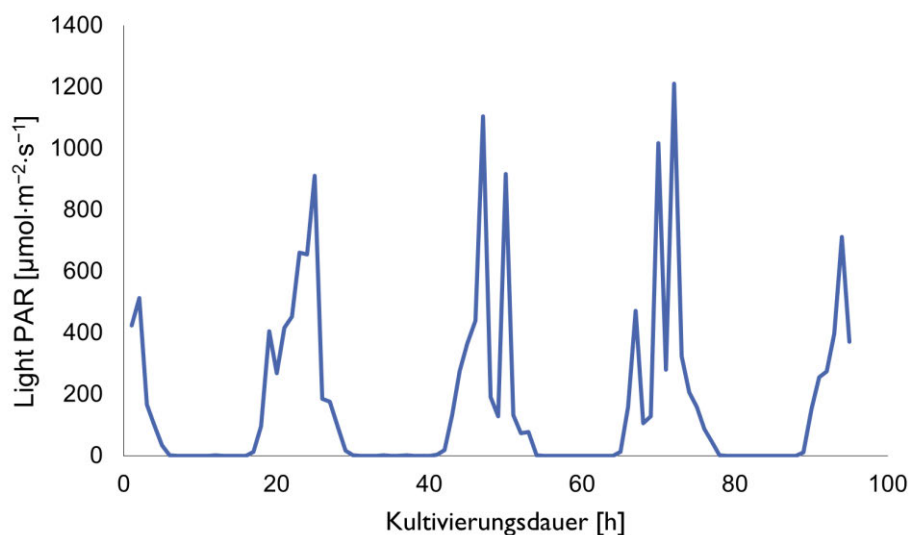


Abbildung 27: Verlauf der Lichtintensität Light PAR über die Kultivierungsdauer in Woche 1 des Versuchs mit Natriumhydrogencarbonat

In der zweiten Woche der Kultivierung mit Natriumhydrogencarbonat zeigte die Lichtintensität im Vergleich zur ersten Woche insgesamt geringere Maximalwerte (siehe Abb. 28). Zu Beginn der Kultivierung betrug die Lichtintensität $346 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ und fiel während der Nachtphasen auf Nullwerte ab. Im Verlauf der Woche wurden zyklisch Lichtintensitätsmaxima von 800, 774, 970 und schließlich $770 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ erreicht. Im Vergleich dazu lagen die Maximalwerte in der ersten Woche deutlich höher, bei etwa 1000 bis $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Die reduzierten Maximalwerte der Lichtintensität in der zweiten Woche hatten auch Entsprechend lagen die Temperaturmaxima in der zweiten Woche mit $25,5^\circ\text{C}$ ebenfalls unter den höchsten Temperaturen der ersten Woche von $27,1^\circ\text{C}$.

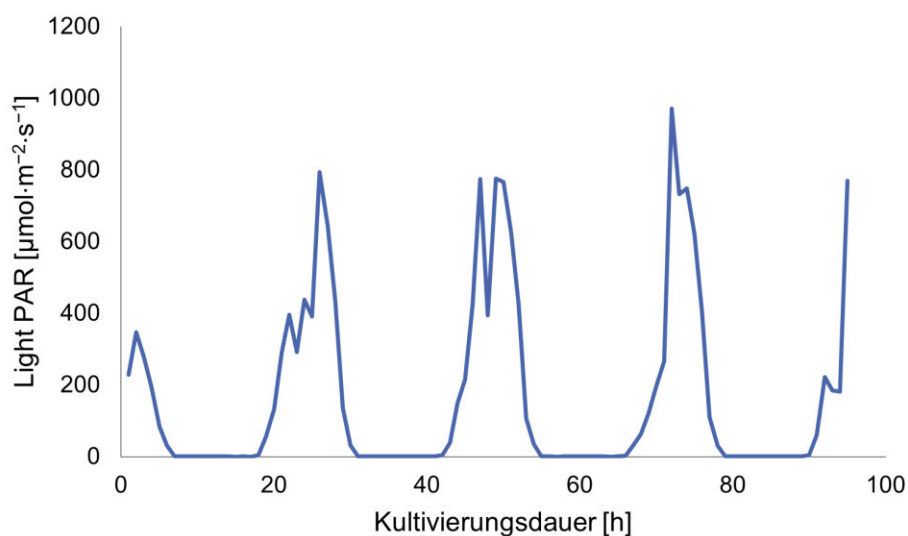


Abbildung 28: Verlauf der Lichtintensität Light PAR über die Kultivierungsdauer in Woche 2 des Versuchs mit Natriumhydrogencarbonat

Spezifische Wachstumsrate und Produktivität

Im Folgenden wurden die spezifischen Wachstumsraten der beiden Versuche der Kultivierung von *Tetrademus* unter Zugabe von Natriumhydrogencarbonat betrachtet und analysiert (siehe Abb. 29). In Versuch V1 erreichte die spezifische Wachstumsrate nach 1 Tag einen Wert von $0,89 \text{ d}^{-1}$. Sie erfuhr einen Rückgang und erreichte nach 48 h einen Wert von $0,56 \text{ d}^{-1}$. Die Wachstumsrate nahm ab erreichte eine Gesamtwachstumsrate von $0,36 \text{ d}^{-1}$ über die gesamte Kultivierungszeit.

Im Vergleich dazu zeigte Versuch V2 ebenfalls einen deutlich geringeren Anstieg der spezifischen Wachstumsrate zu Beginn der Kultivierung. Nach 24 h betrug sie $0,18 \text{ d}^{-1}$, und sie erreichte am letzten Kultivierungstag ihr Maximum von $0,21 \text{ d}^{-1}$, was gleichzeitig die Gesamtwachstumsrate über den Prozess darstellte.

Die Daten zeigen, dass im ersten Versuch die deutlich höhere spezifische Wachstumsrate in der frühen Kultivierungsphase erreicht wurde. Anschließend

folgte ein kontinuierlicher Rückgang der Wachstumsrate. Im zweiten Versuch der Kultivierung mit NaHCO_3 erfolgte nach dem ersten Anstieg der Wachstumsrate ein weiterer Anstieg, was auffällig scheint. In Versuch V1 wurde eine Gesamtproduktivität von $0,16 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ erreicht. Die Gesamtproduktivität in Woche 2 lag bei $0,12 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Die Produktivität wies bei Versuch 2 der NaHCO_3 Kultivierung geringere Werte auf, werden jedoch die Normproduktivitäten betrachtet, fällt auf, dass diese Werte sehr nah beieinander liegen (siehe Tab. 9).

Tabelle 10: Ergebnisse der Flächenproduktivität, der Gesamtstrahlungsmenge sowie der daraus resultierenden Normproduktivität

NaHCO ₃ -Versuch	$P_{\text{Fläche}}$ [g · m ⁻² · d ⁻¹]	I_{ges} [mol · m ⁻²]	P_{norm} [g · mol ⁻¹ · d ⁻¹]
1	6,6	5468	0,0012
2	5,9	5413	0,0011

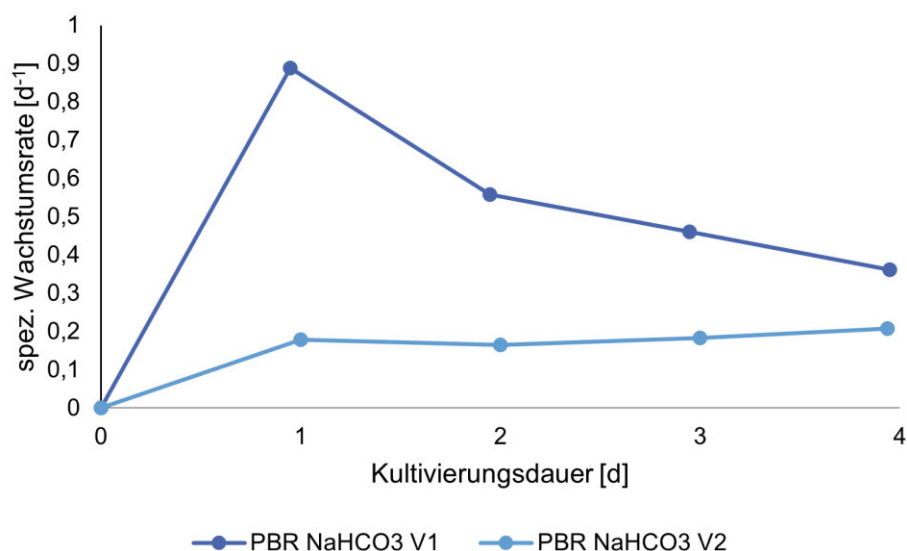


Abbildung 29: Verlauf der spezifischen Wachstumsrate über die Kultivierungsdauer mit $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ Natriumhydrogencarbonat und Druckluftbegasung

4.3 Bestimmung der Zellzusammensetzung

Nach der Durchführung der chemischen Analysen wurden die Massenanteile an Proteinen, Lipiden, Sacchariden, Pigmenten, Asche sowie Restwassergehalt bestimmt. Bei der Veranschaulichung der Daten wurden jeweils die Versuche mit CO₂-Begasung berücksichtigt. Bei der Versuchsreihe unter Zugabe von NaHCO₃ kam es am Tag der Ernte der ersten Woche zu einem technischen Problem mit der Kühlzentrifuge, somit konnte lediglich die zweite Versuchsreihe für die Zellzusammensetzung berücksichtigt werden. Die Analyse der Ergebnisse zeigt Unterschiede zwischen den Kultivierungsmethoden zwischen den Versuchen mit CO₂-Begasung und Zugabe von Natriumhydrogencarbonat (siehe Abb. 30). Die Standardabweichungen sind als Fehlerbalken dargestellt. Im Folgenden werden die Komponenten der Biomasse miteinander verglichen.

Die Proteinanteile lagen bei den CO₂-Versuchen bei 34,15% V1 und bei 38,73% V2, während bei dem NaHCO₃-Versuch ein Anteil von 32,66% gemessen wurde. Die Werte zeigen, dass der Proteinanteil unter NaHCO₃-Kultivierung leicht geringer ausfiel. Die Standardabweichungen der Proteinanalysen waren hoch, was auf Variationen bei der Bestimmung hinweist. Bei den anderen Analysen waren die Standardabweichungen hingegen gering und somit die Werte konsistenter.

Die Lipidanteile in den CO₂-Versuchen lagen bei 17,9% V1 und 18,6% V2. Die Analyse des Lipidanteils bei dem NaHCO₃-Versuch ergab einen Wert von 16,9%. Insgesamt liegen die Lipidanteile bei der CO₂-Kultivierung mit einem geringen Unterscheid zu dem NaHCO₃-Versuch etwas höher. Bei der Analyse der Saccharidanteile von den CO₂-Versuchen konnten die Werte 10,44% V1 und 11,11% V2 ermittelt werden. Aus dem NaHCO₃-Versuch ging der höchste Saccharidanteil mit 16,59% hervor.

Die Pigmentanteile waren in den CO₂-Versuchen mit 3,75% V1 und 3,9% V2 ähnlich und im NaHCO₃-Versuch mit 2,2% am niedrigsten. Der Aschegehalt war im NaHCO₃-Versuch mit 12,24% höher als in den CO₂-Versuchen mit den Werten 7,82 % in V1 sowie 7,04% in V2. Der Wassergehalt zeigte ebenfalls Unterschiede: In dem Versuch mit der CO₂-Kultivierung V1 lag er bei 2,6%, in V2 bei 1,7% und in dem Versuch unter NaHCO₃-Zugabe V3 bei 2,8%. Der höchste Wassergehalt wurde unter NaHCO₃-Bedingungen gemessen.

Die Restfraktion war in den CO₂-Versuchen mit 23,34% in V1 und 18,92% in V2 höher als im NaHCO₃-Versuch mit 16,61%, was auf eine geringere Menge nicht analysierter Komponenten im NaHCO₃-Versuch hinweist. Somit konnten insgesamt bei den Versuchen mit CO₂-Begasung 76,66% der Zellkomponenten in V1 und 81,08% in V2 bestimmt werden (siehe Abb. 31). Bei der Kultivierung mit NaHCO₃ konnten 83,39 % der Biomassekomponenten bestimmt werden.

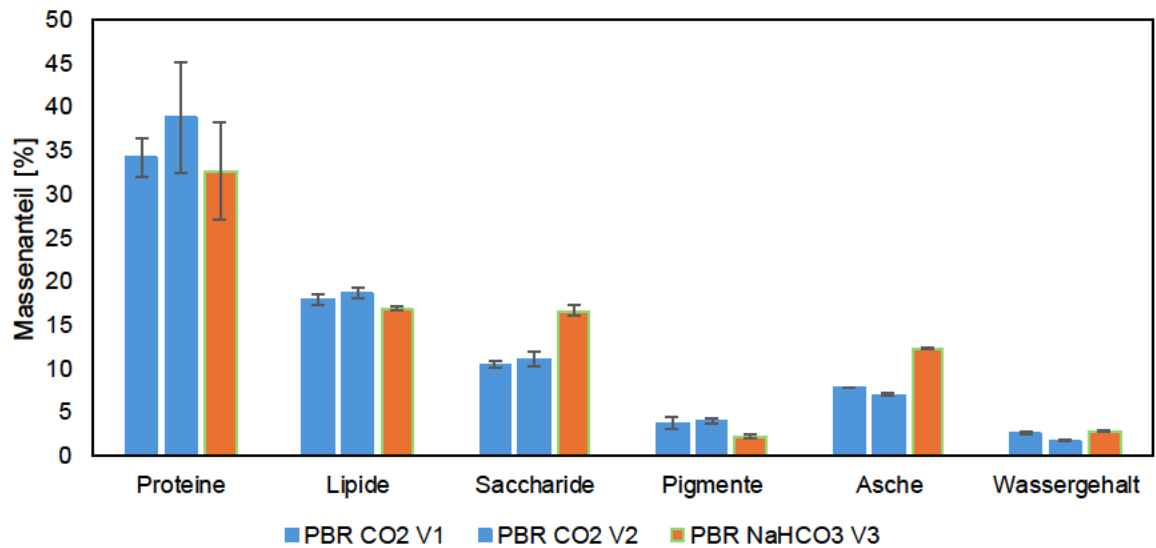


Abbildung 30: Zellzusammensetzung in Massenanteilen der Kultivierungsversuche im schwimmenden PBR (A)

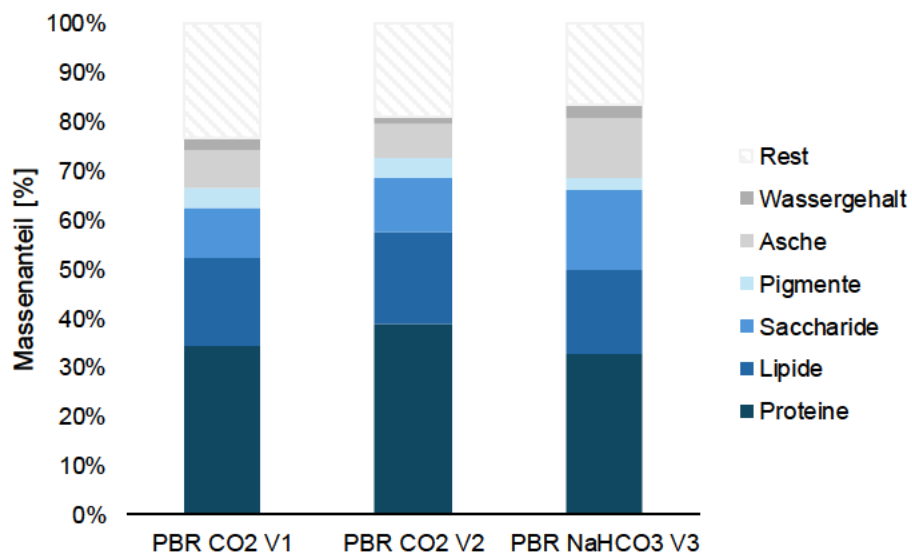


Abbildung 31: Zellzusammensetzung der verschiedenen Kultivierungsversuche im schwimmenden PBR (B)

5 Diskussion

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse aus den Vorversuchen sowie aus den Hauptversuchen diskutiert. Dabei werden vor allem die Wachstumskinetiken der Kultivierung von *Tetradismus obliquus* unter Zugabe von Natriumhydrogencarbonat und unter CO₂-Begasung miteinander verglichen.

5.1 Vorversuche

Das Ziel der Vorversuche war es die Mikroalgenkultur *Tetradismus obliquus* im Labormaßstab unter Einsatz von Natriumhydrogencarbonat zu kultivieren, um die Konzentration zu ermitteln, die zu den optimalsten Wachstumsraten und Biomasseproduktivitäten führt. Die Wahl des Konzentrationsbereichs von Natriumhydrogencarbonat basiert auf Literaturangaben, die zeigten, dass die Kultivierung bei *Scenedesmus* sp. mit 1 g L⁻¹ NaHCO₃ eine 1,4-fach höhere Wachstumsrate im Vergleich zur Kontrollgruppe erzielen konnte (R. P. Singh et al., 2022).

Die Verwendung alternativer Kohlenstoffquellen wie Bicarbonate können die Produktionskosten von CO₂ erheblich senken. In Studien wurde bereits die Kultivierung von *Chlorella* und *Dunaliella salina* mit Natriumhydrogencarbonat zur Kostensenkung erprobt. Dabei wurden durch den Einsatz der Bicarbonatquelle wertvolle Zellkomponenten akkumuliert (Mokashi et al., 2016), (Srinivasan et al., 2018). Langfristig könnte der Einsatz von NaHCO₃ logistische Vorteile mit sich bringen, indem es schwimmenden PBRs leichter zugeführt werden kann, sodass die aufwendige Installation von CO₂-Pipelines umgangen wird. Im Folgenden wird evaluiert, ob die Bicarbonat-basierte Kultivierung für den Organismus *T. obliquus* effizient sein kann.

Die Ergebnisse in Vorversuch 1 zeigten, dass die niedrigste Konzentration (0,5 g L⁻¹) zu einer verringerten Biomasseproduktion und zu den niedrigsten Wachstumsraten führte, was darauf hindeutet, dass diese Konzentration für die Kultur eine unzureichende Kohlenstoffquelle darstellte. NaHCO₃ fungiert als indirekte Kohlenstoffquelle, indem es in das Medium Hydrogencarbonat-Ionen und Carbonat-Ionen dissoziiert (Moroney & Somanchi, 1999). Diese Verbindungen können, abhängig vom pH-Wert in CO₂ umgewandelt werden. Bei niedrigen NaHCO₃-Konzentrationen steht weniger HCO₃⁻ zur Verfügung, wodurch die Menge an CO₂, die freigesetzt werden kann, stark limitiert ist (Raven, 2010). Durch die geringe CO₂-Verfügbarkeit wird die Photosynthese limitiert, was zu einer geringeren Wachstumsrate und Produktivität führt. Die zusätzliche Begasung mit Druckluft reicht in der Regel nicht aus, um den Bedarf an CO₂ für das Algenwachstum zu decken, sodass eine ausreichende Konzentration an Bicarbonat dem Medium zugesetzt werden sollte. Bei der Konzentration (5 g L⁻¹) zeigten sich ähnlich niedrige Werte der Wachstumsrate. Trotz einer höheren Verfügbarkeit von

Kohlenstoff führte dies zu einer signifikanten Hemmung des Wachstums und einer geringeren Produktivität. Dies lässt sich auf den Anstieg des pH-Wertes zurückführen, der bei höheren Bicarbonatkonzentrationen auftritt und das Wachstum der Alge *Tetradismus* negativ beeinflusst (Yang et al., 2024). Bei höheren NaHCO_3 -Konzentrationen steigt der pH-Wert in alkalische Bereiche, sodass sich das chemische Gleichgewicht im Medium verschiebt. Der Kohlenstoff liegt in dem Fall anstelle des Hydrogencarbonat-Ions überwiegend als Carbonat-Ion vor, welches von *T. obliquus* nicht direkt aufgenommen werden kann. Darüber hinaus beeinflusst ein erhöhter pH-Wert die Aufnahme und Verwertung von HCO_3^- und CO_2 durch *T. obliquus*. Die Mikrolagen nutzen spezifische Transportmechanismen, um die Hydrogencarbonat-Ionen in die Zellen aufzunehmen. Wenn die Konzentration der Hydrogencarbonat-Ionen im Medium abnimmt, wird der Prozess ineffizient, was zu einer Einschränkung der Photosynthese führt.

Zusammenfassend zeigten die Ergebnisse der Kultivierung die höchste Wachstumsrate mit sowie die höchste Produktivität mit bei einer Konzentration von 1 g L^{-1} Natriumhydrogencarbonat. Dies deutet darauf hin, dass bei dieser Konzentration ein Gleichgewicht zwischen ausreichender Verfügbarkeit von als Kohlenstoffquelle und einem stabilen pH-Wert im Medium vorlag. Ein stabiler pH-Wert im neutralen bis leicht alkalischen Bereich unterstützt die Aktivität des Enzyms RubisCo, was die Kohlenstofffixierung und somit das Wachstum fördert. Diese Ergebnisse stimmen den Ergebnissen der Studie von Singh et al. (2022) insoweit überein, dass ebenfalls eine Konzentration von 1 g L^{-1} Natriumhydrogencarbonat das Wachstum der Mikrolagen signifikant förderte. Es ist jedoch zu beachten, dass die optimale Konzentration von Natriumhydrogencarbonat je nach Algenart variieren kann. Verschiedene Algenarten haben unterschiedliche Anforderungen an die Kohlenstoffquelle, was in mehreren Studien zu unterschiedlichen optimalen Konzentrationen geführt hat. Beispielsweise wurde in einer Studie von (Tu et al., 2018) die Kultivierung von *Chlorella sp.* unter Zugabe von 80 g L^{-1} NaHCO_3 untersucht. Bei dieser hohen Konzentration an Bicarbonat wurden keine Wachstumsinhibierungen festgestellt, wodurch der Einsatz vielversprechendes Potenzial darstellen kann.

Die Ergebnisse des ersten Vorversuchs führten zur Auswahl des Konzentrationsbereichs von $1, 2$ und 3 g L^{-1} für die folgende Versuchsreihe Vorversuch 2, um die optimale Natriumhydrogencarbonat-Konzentration für die Skalierung der *Tetradismus obliquus*-Kultivierung in den Pilotmaßstab zu bestimmen. In diesen Vorversuchen haben die Konzentrationen 2 g L^{-1} und 3 g L^{-1} NaHCO_3 unter einer Kultivierungsdauer von 96 h die höchsten Wachstumsraten erreicht und wiesen insgesamt ähnliche Gesamtproduktivitäten auf. Dies weist darauf hin, dass die Kultur in diesen Konzentrationen eine ausreichende Menge an

Kohlenstoff zur Verfügung hatte, um ihr Wachstum zu fördern. Interessanterweise lieferte die Konzentration 1 g L^{-1} nicht die höchste Wachstumsrate, wie dies im Vorversuch 1 vermutet wurde. Ein möglicher Grund dafür ist, dass diese Konzentration, obwohl sie theoretisch ausreichend Kohlenstoff liefern sollte, nicht genug Kohlenstoff für das Wachstum über die gesamte Kultivierungsdauer bereitstellte. Dies könnte zu einer langsameren Wachstumsrate geführt haben, da die Mikroalgen in dieser Konzentration nicht in der Lage waren ihre Kohlenstoffaufnahme zu maximieren.

Auf Grundlage der erzielten Ergebnisse zeigte sich, dass die Konzentration von 2 g L^{-1} Natriumhydrogencarbonat sowohl in Bezug auf die Biomassekonzentration als auch auf die Produktivität und die spezifische Wachstumsrate die besten Ergebnisse lieferte. Diese Konzentration zeigte eine stabile Wachstumsrate und eine hohe Produktivität über den gesamten Kultivierungszeitraum, was sie zu einer geeigneten Kohlenstoffquelle für die Kultur von *Tetrademus obliquus* macht. Aufgrund dieser vielversprechenden Resultate wurde die Konzentration von 2 g L^{-1} Natriumhydrogencarbonat für die weiterführende Kultivierung im Pilotmaßstab ausgewählt, um die Skalierbarkeit und das Potenzial für eine größere Algenproduktion zu testen. Die Ergebnisse der Vorversuche und die Wahl der optimalen Natriumhydrogencarbonat-Konzentration für *T. obliquus* eröffnen interessante Perspektiven für die Anwendung in schwimmenden Photobioreaktorsystemen. Ein schwimmendes System bietet Vorteile in Bezug auf eine bessere Lichtausbeute und eine gleichmäßige Temperaturregelung, da es direkt auf der Wasseroberfläche lokalisiert ist. Besonders die Anwendung von Natriumhydrogencarbonat als Kohlenstoffquelle könnte ein Vorteil schwimmender PBRs sein, da es eine gleichmäßige Zufuhr von Bicarbonat ermöglicht, ohne eine aufwendige CO_2 -Begasung zu installieren. Diese Überlegung kann die Betriebskosten erheblich reduzieren und die Nachhaltigkeit der Produktion verbessern.

5.2 Hauptversuche

Einfluss der CO₂-Kultivierung auf das Wachstum von *Tetradismus obliquus*

Eine der zentralen Herausforderungen der Mikroalgenbiotechnologie ist die wirtschaftliche Bereitstellung von Kohlenstoffquellen. Der Hauptversuch dieser Arbeit untersucht daher, ob Natriumhydrogencarbonat eine geeignete Alternative zu CO₂ für die Kultivierung von *Tetradismus obliquus* in einem schwimmenden Photobioreaktorsystem im Pilotmaßstab darstellen kann. Die Diskussion analysiert, inwiefern die erzielten Wachstumsraten und Biomassekonzentrationen diese Hypothese stützen und welche Umwelteinflüsse die Ergebnisse beeinflusst haben könnten. Im Mittelpunkt der Diskussion steht der Vergleich der Effizienz von Natriumhydrogencarbonat mit CO₂ als Kohlenstoffquelle sowie die Einflüsse der Kultivierung auf die Zellzusammensetzung von *T. obliquus*.

Zunächst werden die Wachstumsparameter der beiden Kultivierungsmethoden diskutiert. Die Gesamtwachstumsrate der letzten Woche der CO₂-Kultivierung war mit 0,31 d⁻¹ höher als die der CO₂-Kultivierung in Woche 1 mit einem Wert von 0,24 d⁻¹. In Woche 1 der CO₂-Kultivierung zeigte sich, dass die CO₂-Begasung an zwei Kultivierungstagen in den Morgenstunden abgefallen war. Diese Unterbrechung der CO₂-Zufuhr könnte zu einer suboptimalen Kohlenstoffversorgung während der frühen Wachstumsphasen geführt haben, was sich negativ auf die Gesamtwachstumsrate ausgewirkt haben könnte. Der pH-Wert ist ein kritischer Faktor für das Wachstum von Mikroalgen. In Woche 1 war der pH-Wert stark schwankend, was auf eine instabile CO₂-Begasung zurückzuführen sein könnte. In Woche 2 war der pH-Wert dagegen stabiler in einem Bereich von 7,6 – 8,1, welcher für viele Mikroalgenarten einen optimalen Bereich darstellt. Des Weiteren war in Woche 1 eine hohe Lichtintensität von 1000 μmol m⁻² s⁻¹ zu verzeichnen, wohingegen in der letzten Woche der CO₂-Kultivierung Lichtintensitäten von etwa 350 μmol m⁻² s⁻¹ erreicht worden sind. Die reduzierte Lichtintensität könnte für eine bessere Photosyntheseeffizienz gesorgt haben, da die Algen nicht durch überschüssiges Licht gestresst wurden. Ähnliche Ergebnisse wurden in der Literatur dokumentiert. Beispielsweise wurde in einer Studie zu der Kultivierung von *Tetradismus obliquus* in einem Flat Panel Reaktor gezeigt, dass bei niedriger Lichtintensität das Wachstum limitiert war, während bei leicht steigender Lichtintensität die Wachstumsrate auf ein Maximum stieg. Bei weitaus höheren Intensitäten traten Licht-Sättigungseffekte auf, was ebenfalls zu einer geringeren Wachstumsrate führte, obwohl die Zellen sich weiterhin teilten (Gris et al., 2013).

In Woche 1 der CO₂-Kultivierung wurde eine maximale spezifische Wachstumsrate von 0,46 d⁻¹ gemessen. Im Vergleich dazu lag die maximale spezifische Wachstumsrate in Woche 2 mit 0,87 d⁻¹ deutlich höher. Diese Differenz kann auf die gemäßigten sowie stabileren Bedingungen dieser Woche, sowohl hinsichtlich

Temperatur als auch Lichtintensität, zurückgeführt werden. Die geringeren Temperaturschwankungen und die reduzierte Lichtintensität führten zu einer effizienteren Nutzung der verfügbaren Ressourcen und somit einer verbesserten Wachstumsrate. Die Lichtintensität und Temperatur sind entscheidende Parameter für die Kultivierung und haben einen direkten Einfluss auf die Wachstumskinetik der Kultur. Im Vergleich zwischen den beiden Kultivierungswochen der CO₂-Kultivierung zeigte sich, dass die Gesamtproduktivität in Woche 1 mit $0,09 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ deutlich niedriger war als in Woche 2 mit $0,13 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Diese Differenz kann größtenteils durch die stabileren Bedingungen in Woche 2 erklärt werden. In Woche 1 waren vermutlich die zwei Begasungsausfälle für die geringere Produktivität maßgeblich. Zudem könnten die erhöhten Temperaturen im Inneren der Reaktorröhren die Mikroalgen zusätzlich gestresst haben. Zudem können auch starke Schwankungen im pH-Wert das Wachstum negativ beeinflusst haben, indem sie die Verfügbarkeit von CO₂ verändern.

Die Normproduktivität, die die volumetrische Produktivität auf die Lichtintensität normiert, bietet eine genauere Vergleichsgrundlage zwischen den beiden Wochen, da sie die Effizienz der Lichtnutzung reflektiert. In Woche 1 war die Normproduktivität mit 0,00069 vergleichsweise gering, was auf eine suboptimale Nutzung der Lichtenergie aufgrund von instabilen Bedingungen hindeutet. In Woche 2 war die Normproduktivität von 0,00253 signifikant höher, was darauf hinweist, dass stabilere Temperaturen und eine gleichmäßige Lichtintensität zu einer effizienteren Nutzung des Lichts führten. Die Werte aus Woche 2 liegen im typischen Bereich der Literatur. Die Gesamtwachstumsrate und die volumetrische Produktivität sowie die Normproduktivität korrelieren in den Ergebnissen dieser Kultivierungsreihe weitgehend miteinander, was auf eine starke Wechselwirkung zwischen den Parametern hinweist. Eine höhere spezifische Wachstumsrate führte in der Regel zu einer gesteigerten Produktivität. Es beruht auf der Tatsache, dass eine schnellere Zellteilung und eine höhere Biomasse zu einer erhöhten Gesamtproduktion führen, da mehr Biomasse pro Zeiteinheit generiert wird.

Einfluss der Natriumhydrogencarbonatquelle auf das Wachstum von *Tetradesmus obliquus*

Im Vergleich zur CO₂-Kultivierung zeigte die NaHCO₃-Kultivierung in Woche 1 eine Gesamtwachstumsrate von 0,36 d⁻¹, was darauf hindeutet, dass NaHCO₃ als Kohlenstoffquelle von *T. obliquus* im Pilotmaßstab für Wachstumsprozesse genutzt werden konnte. In Woche 2 war die Gesamtwachstumsrate mit 0,21 d⁻¹ im direkten Vergleich deutlich geringer. Diese Abweichung kann durch die unterschiedlichen Umgebungsbedingungen in den beiden Wochen erklärt werden, insbesondere durch die Schwankungen im pH-Wert und die variierende Lichtintensität.

Die pH-Wert enormen Schwankungen in Woche 2 der Kultivierung, wo pH 5 oder sogar pH 12 erreicht wurde, könnten negative Auswirkungen auf die CO₂-Verfügbarkeit ausgelöst haben. Ein stabiler pH-Wert ist entscheidend für die Nutzung von NaHCO₃, da CO₂ aus Natriumhydrogencarbonat bei einem pH-Wert unter 6 ausgasen kann. Studien berichten, dass ein pH-Wert von 6,5 das Wachstum von *T. obliquus* um etwa 35% inhibieren kann (El-Sheekh et al., 2017). Bei einem pH-Wert von 12 könnte es zu einer Umwandlung von NaHCO₃ zu Kohlensäure kommen, die dann in Form von CO₂ entweicht und somit der Algenkultur nicht mehr zur Verfügung steht. Die beobachteten Unterschiede zeigen, dass *Tetradesmus obliquus* sensibel auf pH-Änderungen reagiert.

Die Lichtintensität und die Temperatur sind weitere einflussreiche Parameter für die Natriumhydrogencarbonat-Kultivierung. In Woche 1 war die Lichtintensität mit 900 – 1200 relativ hoch. In dieser Woche könnte die hohe Lichtintensität zusammen mit der Temperatur von 22 – 26 °C die Photosyntheseeffizienz und somit das Algenwachstum gefördert haben. In Woche 2 waren die Intensitäten mit 800 bis 970 µmol m⁻² s⁻¹ moderater, aber trotzdem hoch. Dies spiegelt sich auch in den Temperaturwerten wider. Während in Woche 1 der Kultivierung die Temperatur von Höchstwerten von 24 bis 27 °C aufwies, waren die Tiefstwerte bei 14,5 bis 15°C. In Woche 2 war ein stabileres Temperaturniveau zwischen 18 und 25°C zu verzeichnen.

Die in Woche 1 berechnete Gesamtproduktivität war mit 0,16 g L⁻¹ d⁻¹ höher als die in Woche 2 mit 0,12 g L⁻¹ d⁻¹. Diese Differenz lässt sich durch die stabileren Kultivierungsbedingungen in Woche 1 erklären. Die Temperaturen lagen in Woche 1 im optimalen Bereich für das Wachstum von *Tetradesmus obliquus*, während die Temperaturen in Woche 2 ebenfalls im optimalen Bereich lagen. Die Normproduktivität war in beiden Wochen vergleichbar, dies deutet darauf hin, dass die Lichtnutzungseffizienz in den beiden Wochen der Bicarbonat-Kultivierung relativ konstant war.

Diese Ergebnisse unterstreichen die Bedeutung stabiler Kultivierungsbedingungen, insbesondere in Bezug auf pH-Wert, Lichtintensität und Temperatur. Während Woche 1 eine höhere Produktivität aufwies, wurde die Normproduktivität nicht

signifikant beeinträchtigt, was die Effizienz der Lichtnutzung unabhängig von den Schwankungen der Kohlenstoffverfügbarkeit hervorhebt.

Zellzusammensetzung

Die Zellzusammensetzung der Biomasse unter Natriumhydrogencarbonat-Kultivierung zeigt einige Unterschiede im Vergleich zu den CO₂-Kultivierungen.

Der Proteingehalt war bei der Biomasse des Versuchs mit Natriumhydrogencarbonat etwas geringer als in der ersten Woche der CO₂-Versuche. Die hohen Standardabweichungen bei diesen Messungen deuten auf Schwankungen in den Ergebnissen hin. Daher wären weitere Versuche erforderlich, um eine klare Aussage zu treffen. Schwankungen könnten jedoch durch Unterschiede in der Stoffwechselanpassung bedingt sein.

Interessanterweise zeigte der Saccharidanteil bei der NaHCO₃-Kultivierung einen deutlich höheren Wert im Vergleich zu den anderen beiden Versuchen. Der erhöhte Saccharidanteil könnte auf eine veränderte Kohlenstoffallokation zurückzuführen sein, bei der verstärkt Speicherpolysaccharide gebildet wurden. Dies könnte durch die spezifischen Kultivierungsbedingungen ausgelöst worden sein, die möglicherweise von der *Tetradismus* Kultur als milder Stress wahrgenommen wurden. Wie in der Literatur beschrieben, kann der Kohlenhydratgehalt von Mikroalgen durch gezielte Kultivierungsstrategien wie Stressbedingungen gezielt beeinflusst werden (Markou et al., 2012).

Der Lipidanteil war bei der Natriumhydrogencarbonat-Kultivierung etwas geringer als bei dem Versuch mit CO₂-Begasung. Dies könnte darauf hinweisen, dass unter diesen Bedingungen weniger Kohlenstoff für die Lipidsynthese zur Verfügung stand. Dennoch blieben die Lipidwerte auf einem Niveau, das weiterhin potenziell nützlich für die Biodieselproduktion sein kann.

Ein Rückgang der Pigmentanteile unter Natriumhydrogencarbonat weist darauf hin, dass die Zellen weniger Chlorophyll und Carotinoide produziert haben im Vergleich zur Kontrollgruppe. Dies könnte auf den Einfluss des Bicarbonatstoffwechsels auf die Pigmentsynthese zurückzuführen sein. Für Anwendungen, bei denen ein höherer Pigmentanteil entscheidend ist, wäre dies ein Nachteil.

Der Aschegehalt war unter Natriumhydrogencarbonat höher, was auf Rückstände des eingesetzten Substrats hinweist. Dies ist vor allem für Anwendungen mit hohen Reinheitsanforderungen wie der Lebensmittelindustrie relevant. In industriellen Anwendungen wie der Bioenergieerzeugung könnte dies weniger kritisch sein.

Die Unterschiede in der Zellzusammensetzung zwischen den beiden Kultivierungsbedingungen zeigen, dass die Wahl der Kohlenstoffquelle die Stoffwechselwege von *Tetradismus obliquus* signifikant beeinflusst. Während Natriumhydrogencarbonat als Bicarbonatquelle Vorteile bei der

Saccharidproduktion bietet, scheinen die CO₂-Kultivierungen in Bezug auf Pigmentgehalt und Proteingehalt vergleichsweise höhere Anteile zu erreichen. Die Identifikation und Quantifizierung der Zellbestandteile von *T. obliquus* konnte etwa 80% der Gesamtbestandteile abdecken, während einige Komponenten aufgrund technischer oder methodischer Einschränkungen nicht vollständig erfasst wurden. Neben den häufig erfassten Hauptbestandteilen wie Proteinen, Lipiden oder Pigmenten gibt es weitere Zellbestandteile die aufwendiger zu quantifizieren sind. Zu diesen gehören Nukleinsäuren wie beispielsweise DNA oder RNA, die in Mikroalgenzellen als Träger der genetischen Information fungieren (Pitelkova et al., 2011). Daneben werden Vitamine wie Riboflavin oder Biotin sowie Mikronährstoffe häufig in sehr geringen Mengen in der Biomasse quantifiziert (Brown et al., 1999). Außerdem beinhalten die Mikroalgen Sekundärmetaboliten wie Alkaloide und Terpene, deren Konzentration je nach Umweltbedingung schwanken kann (Costa et al., 2022). Die Quantifizierung dieser Zellkomponenten erfordert häufig spezialisierte Analysemethoden wie Massenspektrometrie oder Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC).

Vergleich der CO₂- und Natriumhydrogencarbonat-basierten Kultivierungsmethoden

Die Wahl der Kohlenstoffquelle spielt eine entscheidende Rolle bei der Effizienz und Wirtschaftlichkeit der Mikroalgenkultivierung, insbesondere im Kontext von nachhaltigen Produktionssystemen. In dieser Arbeit NaHCO₃ als mögliche Kohlenstoffquellen im Vergleich zu CO₂ für die Kultivierung von *Tetrademus obliquus* in einem schwimmenden, tubulären Photobioreaktorsystem untersucht und miteinander verglichen. Die Analyse konzentriert sich auf die Wachstumsparameter, die Stabilität der Kultivierungsbedingungen und die potenzielle Eignung beider Methoden für den Einsatz in Outdoor-Kultivierungen. Dabei werden die spezifischen Vorteile und Herausforderungen der jeweiligen Kohlenstoffquelle diskutiert, um eine fundierte Grundlage für zukünftige Anwendungen zu schaffen.

Die Biomasseproduktivität unter CO₂-Begasung und Natriumhydrogencarbonat-Kultivierung unterscheidet sich durch die Eigenschaften der Kohlenstoffquellen sowie durch die Umgebungsbedingungen während der Versuche. In der letzten Woche der CO₂-Kultivierung wurden unter spezifischen Licht- und Temperaturbedingungen die höchsten Wachstumsraten und Biomasseproduktivitäten gemessen. Dies verdeutlicht die Effizienz von CO₂ als direkte Kohlenstoffquelle unter idealen Bedingungen ohne enorme Schwankungen der Kultivierungsbedingungen (Mohammed et al., 2017).

In der ersten Woche der CO₂-Kultivierung waren die Wachstumsraten und Produktivitäten aufgrund schwankender pH-Werte deutlich geringer. Im Vergleich

dazu erreichte die Kultivierung mit Natriumhydrogencarbonat sowohl höhere Wachstumsraten als auch Produktivitäten als die der CO₂-Kultivierung. Diese Ergebnisse zeigen, dass Natriumhydrogencarbonat eine stabile Kohlenstoffquelle darstellt, die auch bei moderaten Umweltbedingungen eine gute Biomasseproduktivität ermöglicht. Ähnlich wie bei der CO₂-Kultivierung kam es während einer Kultivierungswoche ebenfalls zu enormen pH-Wert Schwankungen, wodurch die Biomasseproduktivität zunächst geringer schien. Werden jedoch die Normproduktivitäten beider Kultivierungsmethoden miteinander verglichen, so liegen die Werte der NaHCO₃-Kultivierung nah beieinander. Das zeigt, dass es trotz der pH-Wert Schwankungen bei stabiler Temperatur und Lichtverhältnissen kaum zu Unterschieden in der Biomasseproduktivität kam. Die Normproduktivität der CO₂-Kultivierung, bei der keine starken pH Schwankungen oder CO₂-Ausfälle zu verzeichnen war, war fast doppelt so hoch wie die Normproduktivitätswerte der NaHCO₃-Kultivierung. Beide Werte der Normproduktivitäten der Zugabe von Natriumhydrogencarbonat waren höher als die Normproduktivität der CO₂-Kultivierung mit zwei CO₂-Zufuhr Ausfällen. Diese Erkenntnis verdeutlicht die Effizienz der Anwendung von Natriumhydrogencarbonat als alternative Kohlenstoffquelle, denn werden die Mittelwerte der Gesamtwachstumsraten beider Kultivierungsmethoden miteinander verglichen, liegt die spezifische Wachstumsrate der Bicarbonat-Kultivierung etwas über der Rate der CO₂-Kultivierung.

Obwohl die Verwendung von gasförmigem CO₂ als direkte Kohlenstoffquelle effizient von Mikroalgen genutzt werden kann, ist die Stabilität der Zufuhr essenziell. Ausfälle der CO₂-Zufuhr führen zu Wachstumsinhibitionen der Algen, da die CO₂-Verfügbarkeit sinkt und starke pH-Schwankungen Stress in den Zellen verursachen. Im Vergleich dazu wird Natriumhydrogencarbonat direkt im Medium gelöst und setzt dabei CO₂ graduell frei, was sich moderater auf den pH-Wert auswirkt.

Ein Aspekt, der jedoch zu berücksichtigen ist, ist die Wirkung von Natriumhydrogencarbonat auf den pH-Wert. Durch die Pufferwirkung wird der pH-Wert zunächst stabilisiert, dieser kann sich jedoch bei höheren Konzentrationen in alkalische Bereiche verschieben (Latagan et al., 2024). Ein zu hoher pH-Wert > 9 könnte das Zellwachstum hemmen, da dies die Verfügbarkeit von Nährstoffen wie Phosphat reduziert und den Stoffwechsel der Zellen beeinträchtigt (Qiu et al., 2017). In der getesteten Konzentration von 2 g L⁻¹ NaHCO₃ blieb der pH-Wert zunächst in einem tolerierbaren Bereich, jedoch kam es in der zweiten Woche der Kultivierung zu erheblichen Schwankungen. Solche Schwankungen könnten durch die schrittweise Zugabe von NaHCO₃ vermieden werden. Die Implementierung eines kontinuierlichen Dosiersystems, gekoppelt mit einer pH-Regulation, könnte ein innovativer Ansatz sein, eine konstante Konzentration im Medium aufrechtzuerhalten und pH-Wert Schwankungen einzuschränken. Solche Systeme sind bereits in Aquakulturen erprobt (Africa et al., 2017). CO₂ bietet hier den Vorteil,

dass es durch die natürliche Ansäuerung des Mediums starke pH-Anstiege verhindern kann (Aditya et al., 2023).

In Bezug auf schwimmende Photobioreaktorsysteme erfordert die Verwendung von NaHCO_3 keine umfangreichen Begasungssysteme, was die Installationskosten in Überseegebieten deutlich reduzieren würde. Die CO_2 -Begasung erfordert komplexe Gasleitungen, was die Wirtschaftlichkeit stark einschränkt (Khor et al., 2022). NaHCO_3 ist stabil und einfach zu Lagern, während der Transport von gasförmigen CO_2 technisch schwieriger und kostspieliger ist (Chi et al., 2011). In dem NaHCO_3 als chemische Substanz in Form von Pulver oder einer Lösung zugegeben werden kann, könnte es einfacher in bestehende Prozesse integriert werden. Die Wirtschaftlichkeit beider Kohlenstoffquellen ist ein zentraler Aspekt bei der Optimierung von schwimmenden Photobioreaktoren. Schwimmende Photobioreaktoren verknüpfen zahlreiche nachhaltige Aspekte miteinander, so können die Systeme durch die Integration von Wellenenergie und Sonnenenergie optimiert werden, was Energieeffizienz und Unabhängigkeit von externen Stromquellen steigert. Zudem stabilisiert die natürliche Temperaturregulierung durch das umliegende Wasser die Kultivierungsbedingungen, sodass beispielsweise enorm kalte Temperaturen in den Nachtstunden einen abgeschwächten Effekt auf die Kultur ausüben (Francke et al., 2022). Die Verwendung von Natriumhydrogencarbonat stellt einen innovativen Ansatz dar, um die Wirtschaftlichkeit schwimmender PBRs zur Mikroalgenkultivierung zu verbessern.

6 Zusammenfassung & Fazit

In dieser Arbeit wurde die Biomasseproduktivität von *Tetradesmus obliquus* unter Verwendung von Natriumhydrogencarbonat als Kohlenstoffquelle im Vergleich zu CO_2 untersucht, wobei beide Kultivierungsbedingungen in einem schwimmenden Photobioreaktor im Pilotmaßstab durchgeführt wurden. Die Ergebnisse zeigten, dass NaHCO_3 als Kohlenstoffquelle eine stabile Biomasseproduktion ermöglicht, auch unter moderaten Umweltbedingungen. Insbesondere wies die NaHCO_3 -Kultivierung eine vergleichbare Gesamtwachstumsrate zu CO_2 auf, wobei die spezifische Wachstumsrate der NaHCO_3 -Kultivierung im Mittelwert sogar über der Gesamtwachstumsrate der CO_2 -Kultivierung lag. Die Normproduktivitäten der NaHCO_3 -Kultivierung waren untereinander ähnlich, was auf eine konsistente Leistung der verwendeten Kohlenstoffquelle hinweist. Jedoch zeigte die CO_2 -Kultivierung unter stabileren Bedingungen ohne starke pH-Schwankungen nahezu doppelt so hohe Normproduktivitäten wie NaHCO_3 , was auf eine noch nicht optimierte Nutzung von NaHCO_3 als Kohlenstoffquelle hinweist. Die weitere Optimierung der NaHCO_3 -Kultivierung, insbesondere durch Minimierung der pH-Schwankungen und Anpassung der Dosierungsmengen, könnte die Effizienz dieses Systems weiter steigern und die Skalierbarkeit für großflächige Anwendungen in der Mikroalgenproduktion verbessern.

Die Ergebnisse der Zellzusammensetzung zeigten, dass die Anteile der verschiedenen Biomoleküle in den Kulturen unter CO_2 - und NaHCO_3 -Bedingungen ähnlich waren, jedoch leichte Unterschiede in der Verteilung der Zellbestandteile festgestellt wurden. Unter CO_2 -Bedingungen waren die Protein- und Lipidgehalte tendenziell etwas höher, was auf eine möglicherweise effizientere Kohlenstoffnutzung und Assimilation hinweist. Im Vergleich dazu zeigte die NaHCO_3 -Kultivierung eine stabilere Zusammensetzung mit einem etwas höheren Anteil an Kohlenhydraten und Asche. Diese Unterschiede in der Zellzusammensetzung könnten auf die verschiedenen Stoffwechsel zurückzuführen sein, die durch die Art der Kohlenstoffquelle beeinflusst werden. Die Analysen der Zellzusammensetzung unterstützen die Vermutung, dass NaHCO_3 als Kohlenstoffquelle eine ähnliche oder sogar vorteilhafte Biomasseproduktivität im Vergleich zu CO_2 liefern kann, jedoch mit einer potentiell anderen Verteilung der Makromoleküle, was für spezifische Anwendungen wie die Herstellung von biologischen Rohstoffen von Bedeutung sein könnte. Zusammengefasst zeigen die Ergebnisse das Potenzial von schwimmenden Photobioreaktorsystemen und NaHCO_3 als nachhaltige Kohlenstoffquelle für die Mikroalgenproduktion.

7 Ausblick

Zukünftige Studien sollten sich darauf konzentrieren, die Auswirkungen von pH-Schwankungen bei der NaHCO_3 -Kultivierung weiter zu untersuchen und zu optimieren, um eine stabilere Biomasseproduktion zu gewährleisten. Insbesondere die Entwicklung automatisierter Systeme zur präzisen Dosierung von NaHCO_3 könnte helfen, die Produktionskosten weiter zu senken und die Effizienz zu steigern. Weitere Forschungen zur Skalierbarkeit der NaHCO_3 -gestützten Algenproduktion in schwimmenden Photobioreaktoren könnten zu einer breiteren Anwendung in der kommerziellen Mikroalgenproduktion führen, insbesondere in marinen oder schwer zugänglichen Gebieten. Darüber hinaus könnte die Kombination von NaHCO_3 mit anderen alternativen Kohlenstoffquellen und die Untersuchung der Synergieeffekte dieser Methoden eine interessante Richtung für zukünftige Forschung bieten. Auch die langfristige Stabilität und die Auswirkungen auf die Zellzusammensetzung und die Produktivität bei der Verwendung von NaHCO_3 als Kohlenstoffquelle müssen weiter untersucht werden, um das volle Potenzial dieser Methode auszuschöpfen.

8 Literaturverzeichnis

Acién Fernández, F. G., Fernández Sevilla, J. M., & Molina Grima, E. (2013).

Photobioreactors for the production of microalgae. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 12(2), 131–151.

<https://doi.org/10.1007/s11157-012-9307-6>

Aditya, L., Vu, H. P., Abu Hasan Johir, M., Mahlia, T. M. I., Silitonga, A. S., Zhang,

X., Liu, Q., Tra, V.-T., Ngo, H. H., & Nghiem, L. D. (2023). Role of culture solution pH in balancing CO₂ input and light intensity for maximising microalgae growth rate. *Chemosphere*, 343, 140255.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.140255>

Africa, A. D. M., Aguilar, J. C. C. A., Lim, C. M. S., Pacheco, P. A. A., & Rodrin, S.

E. C. (2017). Automated aquaculture system that regulates Ph, temperature and ammonia. *2017IEEE 9th International Conference on Humanoid, Nanotechnology, Information Technology, Communication and Control, Environment and Management (HNICEM)*, 1–6.

<https://doi.org/10.1109/HNICEM.2017.8269494>

AlgaeBase. (n.d.). *Species list*. <https://www.algaebase.org/>

Barone, M. E., Murphy, E., Parkes, R., Fleming, G. T. A., Campanile, F., Thomas,

O. P., & Touzet, N. (2021). Antibacterial Activity and Amphidinol Profiling of the Marine Dinoflagellate *Amphidinium carterae* (Subclade III). *International Journal of Molecular Sciences*, 22(22), 12196.

<https://doi.org/10.3390/ijms222212196>

Batista, A. P., Gouveia, L., Bandarra, N. M., Franco, J. M., & Raymundo, A. (2013).

Comparison of microalgal biomass profiles as novel functional ingredient for food products. *Algal Research*, 2(2), 164–173.

<https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.01.004>

- Becker, E. W. (2007). Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology advances*, 25, 207–210. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.11.002>
- Bernard, O., & Rémond, B. (2012). Validation of a simple model accounting for light and temperature effect on microalgal growth. *Bioresource Technology*, 123, 520–527. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.07.022>
- Borowitzka M. (2016). *The Physiology of Microalgae*.
- Borowitzka, M. A. (1999). Commercial production of microalgae: Ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of Biotechnology*, 70(1), 313–321. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(99\)00083-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(99)00083-8)
- Borowitzka, M. A. (2013). High-value products from microalgae—Their development and commercialisation. *Journal of Applied Phycology*, 25(3), 743–756. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-9983-9>
- Brown, M. R., Mular, M., Miller, I., Farmer, C., & Trenerry, C. (1999). The vitamin content of microalgae used in aquaculture. *Journal of Applied Phycology*, 11(3), 247–255. <https://doi.org/10.1023/A:1008075903578>
- Chanquia, S. N., Vernet, G., & Kara, S. (2021). Photobioreactors for cultivation and synthesis: Specifications, challenges, and perspectives. *Engineering in Life Sciences*, 22(12), 712. <https://doi.org/10.1002/elsc.202100070>
- Chen, M., Chen, Y., & Zhang, Q. (2021). A Review of Energy Consumption in the Acquisition of Bio-Feedstock for Microalgae Biofuel Production. *Sustainability*, 13(16), Article 16. <https://doi.org/10.3390/su13168873>
- Chen, Y., Zhang, L., Xu, C., & Vaidyanathan, S. (2016). Dissolved inorganic carbon speciation in aquatic environments and its application to monitor algal carbon uptake. *Science of The Total Environment*, 541, 1282–1295. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.025>

- Chi, Z., O'Fallon, J. V., & Chen, S. (2011). Bicarbonate produced from carbon capture for algae culture. *Trends in Biotechnology*, 29(11), 537–541.
<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2011.06.006>
- Chin, G. J. W. L., Andrew, A. R., Abdul-Sani, E. R., Yong, W. T. L., Misson, M., & Anton, A. (2023). The effects of light intensity and nitrogen concentration to enhance lipid production in four tropical microalgae. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 48, 102660.
<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102660>
- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25(3), 294–306. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.02.001>
- Chowdury, K. H., Nahar, N., & Deb, U. K. (2020). The Growth Factors Involved in Microalgae Cultivation for Biofuel Production: A Review. *Computational Water, Energy, and Environmental Engineering*, 9(4), Article 4.
<https://doi.org/10.4236/cweee.2020.94012>
- Cohen, Z. (1999). *Chemicals from Microalgae*. Taylor & Francis.
- Costa, J. A. V., Cassuriaga, A. P. A., Moraes, L., & Morais, M. G. (2022). Biosynthesis and potential applications of terpenes produced from microalgae. *Bioresource Technology Reports*, 19, 101166.
<https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101166>
- Deb, U. K., Shahriar, M., Bhowmik, J., & Chowdury, M. K. H. (2017). The Effect of Irradiance Related Temperature on Microalgae Growth in a Tubular Photo Bioreactor for Cleaner Energy. *American Journal of Computational Mathematics*, 7(3), Article 3. <https://doi.org/10.4236/ajcm.2017.73026>
- Degen, J., Uebele, A., Retze, A., Schmid-Staiger, U., & Trösch, W. (2001). A novel airlift photobioreactor with baffles for improved light utilization through the

- flashing light effect. *Journal of Biotechnology*, 92(2), 89–94.
[https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(01\)00350-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00350-9)
- Di Caprio, F., Pagnanelli, F., Wijffels, R. H., & Van der Veen, D. (2018). Quantification of *Tetrademus obliquus* (Chlorophyceae) cell size and lipid content heterogeneity at single-cell level. *Journal of Phycology*, 54(2), 187–197. <https://doi.org/10.1111/jpy.12610>
- Dillon, J. C., Phuc, A. P., & Dubacq, J. P. (1995). Nutritional value of the alga *Spirulina*. *World Review of Nutrition and Dietetics*, 77, 32–46.
<https://doi.org/10.1159/000424464>
- do Carmo Cesário, C., Soares, J., Cossolin, J. F. S., Almeida, A. V. M., Bermudez Sierra, J. J., de Oliveira Leite, M., Nunes, M. C., Serrão, J. E., Martins, M. A., & dos Reis Coimbra, J. S. (2022). Biochemical and morphological characterization of freshwater microalga *Tetrademus obliquus* (Chlorophyta: Chlorophyceae). *Protoplasma*, 259(4), 937–948.
<https://doi.org/10.1007/s00709-021-01712-3>
- Dogaris, I., Welch, M., Meiser, A., Walmsley, L., & Philippidis, G. (2015). A novel horizontal photobioreactor for high-density cultivation of microalgae. *Bioresource Technology*, 198, 316–324.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.09.030>
- El-Sheekh, M., El-Gamal, A., Bastawess, A., & El-Bokhomy, A. (2017). Production and characterization of biodiesel from the unicellular green alga *Scenedesmus obliquus*. *Energy Sources Part A Recovery Utilization and Environmental Effects*, 39. <https://doi.org/10.1080/15567036.2016.1263257>
- Eze, C. N., Onyejiaka, C. K., Ihim, S. A., Ayoka, T. O., Aduba, C. C., Ndukwe, J. k, Nwaiwu, O., & Onyeaka, H. (2023). Bioactive compounds by microalgae

- and potentials for the management of some human disease conditions.
- AIMS Microbiology*, 9(1), 55. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2023004>
- Francke, L., Löhn, S., Weiderer, P., Kosheleva, A., Wieczorek, N., & Kuchta, K. (2022). A novel tubular photobioreactor immersed in open waters for passive temperature control and operated with the microalga *Tetradesmus obliquus*. *Algal Research*, 67, 102832.
- <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102832>
- Fuchs G. (2007). *Allgemeine Mikrobiologie* (8.).
- Giordano, M., Beardall, J., & Raven, J. A. (2005). CO₂ concentrating mechanisms in algae: Mechanisms, environmental modulation, and evolution. *Annual Review of Plant Biology*, 56, 99–131.
- <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.56.032604.144052>
- Gris, B., Morosinotto, T., Giacometti, G., Bertucco, A., & Sforza, E. (2013). Cultivation of *Scenedesmus obliquus* in Photobioreactors: Effects of Light Intensities and Light–Dark Cycles on Growth, Productivity, and Biochemical Composition. *Applied biochemistry and biotechnology*, 172.
- <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0679-z>
- Guschina, I. A., & Harwood, J. L. (2013). Algal Lipids and Their Metabolism. In M. A. Borowitzka & N. R. Moheimani (Hrsg.), *Algae for Biofuels and Energy* (S. 17–36). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5479-9_2
- Kaewkannetra, P., Enmak, P., & Chiu, T. (2012). The effect of CO₂ and salinity on the cultivation of *Scenedesmus obliquus* for biodiesel production. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 17(3), 591–597.
- <https://doi.org/10.1007/s12257-011-0533-5>

- Kaltschmitt, M., Hartmann, H., & Hofbauer, H. (Hrsg.). (2016). *Energie aus Biomasse: Grundlagen, Techniken und Verfahren*. Springer.
<https://doi.org/10.1007/978-3-662-47438-9>
- Khor, W. H., Kang, H.-S., Lim, J.-W., Iwamoto, K., Tang, C. H.-H., Goh, P. S., Quen, L. K., Shaharuddin, N. M. R. B., & Lai, N. Y. G. (2022). Microalgae cultivation in offshore floating photobioreactor: State-of-the-art, opportunities and challenges. *Aquacultural Engineering*, 98, 102269.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2022.102269>
- Kim, Z.-H., Park, H., Hong, S.-J., Lim, S.-M., & Lee, C.-G. (2016). Development of a floating photobioreactor with internal partitions for efficient utilization of ocean wave into improved mass transfer and algal culture mixing. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 39(5), 713–723.
<https://doi.org/10.1007/s00449-016-1552-6>
- Kong, W.-B., Hua, S.-F., Cao, H., Mu, Y.-W., Yang, H., Song, H., & Xia, C.-G. (2012). Optimization of mixotrophic medium components for biomass production and biochemical composition biosynthesis by *Chlorella vulgaris* using response surface methodology. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 43(3), 360–367.
<https://doi.org/10.1016/j.jtice.2011.11.007>
- Latagan, M. J. D., Nagarajan, D., Huang, W.-M., de Luna, M. D. G., Chen, J.-H., Rollon, A. P., Ng, I.-S., Lee, D.-J., & Chang, J.-S. (2024). Bicarbonate-based microalgal cultivation technologies: Mechanisms, critical strategies, and future perspectives. *Chemical Engineering Journal*, 502, 157998.
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2024.157998>
- Laura Barsanti, Paolo Gualtieri. (2014). *Algae Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology, Second Edition*.

- Lee, R. (2018). *Phycology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Ma, S., Yu, Y., Li, D., Cui, H., & Feng, Y. (2024). Application of a microalga, *Tetrademus obliquus* PF3, for NO and CO₂ removal from actual flue gas via cultivating in wastewater. *Environmental Science and Pollution Research International*, 31(42), 54938–54949.
<https://doi.org/10.1007/s11356-024-34808-3>
- Maltsev, Y., Maltseva, K., Kulikovskiy, M., & Maltseva, S. (2021). Influence of Light Conditions on Microalgae Growth and Content of Lipids, Carotenoids, and Fatty Acid Composition. *Biology*, 10(10), 1060.
<https://doi.org/10.3390/biology10101060>
- Markou, G., Angelidaki, I., & Georgakakis, D. (2012). Microalgal carbohydrates: An overview of the factors influencing carbohydrates production, and of main bioconversion technologies for production of biofuels. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 96(3), 631–645. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4398-0>
- Masojídek, J., Koblížek, M., & Torzillo, G. (2003). Photosynthesis in Microalgae. In *Handbook of Microalgal Culture* (S. 20–39). John Wiley & Sons, Ltd.
<https://doi.org/10.1002/9780470995280.ch2>
- Mat Aron, N. S., Khoo, K. S., Chew, K. W., Veeramuthu, A., Chang, J.-S., & Show, P. L. (2021). Microalgae cultivation in wastewater and potential processing strategies using solvent and membrane separation technologies. *Journal of Water Process Engineering*, 39, 101701.
<https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101701>
- Mohammed, K., Abubakar, I., Tanimu, G., & Abdurrazzak, S. (2017). *The Effect of Carbon dioxide Concentration on the Rate of Microalgae Growth, Co₂ Uptake and Nutrient Removal from Wastewater*. 17, 79–91.

- Mokashi, K., Shetty, V., George, S. A., & Sibi, G. (2016). Sodium Bicarbonate as Inorganic Carbon Source for Higher Biomass and Lipid Production Integrated Carbon Capture in *Chlorella vulgaris*. *Achievements in the Life Sciences*, 10(1), 111–117. <https://doi.org/10.1016/j.als.2016.05.011>
- Moroney, J. V., & Somanchi, A. (1999). How Do Algae Concentrate CO₂ to Increase the Efficiency of Photosynthetic Carbon Fixation? *Plant Physiology*, 119(1), 9–16.
- Mosibo, O. K., Ferrentino, G., & Udenigwe, C. C. (2024). Microalgae Proteins as Sustainable Ingredients in Novel Foods: Recent Developments and Challenges. *Foods*, 13(5), 733. <https://doi.org/10.3390/foods13050733>
- Nagappan, S., Tsai, P.-C., Devendran, S., Alagarsamy, V., & Ponnusamy, V. K. (2020). Enhancement of biofuel production by microalgae using cement flue gas as substrate. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(15), 17571–17586. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06425-y>
- Pitelkova, P., Šarhanová, P., Ondřej, V., & Poulickova, A. (2011). Quantification of DNA content in freshwater microalgae using flow cytometry: A modified protocol for selected green microalgae. *Fottea*, 11, 317–328. <https://doi.org/10.5507/fot.2011.030>
- Posten, C. (2009). Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae. *Engineering in Life Sciences*, 9(3), 165–177. <https://doi.org/10.1002/elsc.200900003>
- Pulz, O. (2001). Photobioreactors: Production systems for phototrophic microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57(3), 287–293. <https://doi.org/10.1007/s002530100702>

- Qiu, R., Gao, S., Lopez, P. A., & Ogden, K. L. (2017). Effects of pH on cell growth, lipid production and CO₂ addition of microalgae *Chlorella sorokiniana*. *Algal Research*, 28, 192–199. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.11.004>
- Raven, J. A. (2010). Inorganic carbon acquisition by eukaryotic algae: Four current questions. *Photosynthesis Research*, 106(1), 123–134. <https://doi.org/10.1007/s11120-010-9563-7>
- Raven, J. A., & Beardall, J. (2003). Carbohydrate Metabolism and Respiration in Algae. In A. W. D. Larkum, S. E. Douglas, & J. A. Raven (Hrsg.), *Photosynthesis in Algae* (S. 205–224). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-1038-2_10
- Reyna-Velarde, R., Cristiani-Urbina, E., Hernández-Melchor, D. J., Thalasso, F., & Cañizares-Villanueva, R. O. (2010). Hydrodynamic and mass transfer characterization of a flat-panel airlift photobioreactor with high light path. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 49(1), 97–103. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2009.11.014>
- Richmond A., H., Q. (2013). *Handbook of Microalgae*. Oxford: Wiley-Blackwell.
- Rowan, K. S. (1989). *Photosynthetic Pigments of Algae*. CUP Archive.
- Singh, R. N., & Sharma, S. (2012). Development of suitable photobioreactor for algae production – A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(4), 2347–2353. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.01.026>
- Singh, R. P., Yadav, P., Kumar, A., Hashem, A., Al-Arjani, A.-B. F., Abd_Allah, E. F., Dorantes, A. R., & Gupta, R. K. (2022). Physiological and Biochemical Responses of Bicarbonate Supplementation on Biomass and Lipid Content of Green Algae *Scenedesmus* sp. BHU1 Isolated From Wastewater for Renewable Biofuel Feedstock. *Frontiers in Microbiology*, 13, 839800. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.839800>

- Sommer, U. (Hrsg.). (2005). Ökophysiologie II: Ernährung und Stoffwechsel. In *Biologische Meereskunde* (S. 61–108). Springer. https://doi.org/10.1007/3-540-27418-9_4
- Srinivasan, R., Mageswari, A., Subramanian, P., Suganthi, C., Chaitanyakumar, A., Aswini, V., & Gothandam, K. M. (2018). Bicarbonate supplementation enhances growth and biochemical composition of *Dunaliella salina* V-101 by reducing oxidative stress induced during macronutrient deficit conditions. *Scientific Reports*, 8(1), 6972. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25417-5>
- Stengel, D. B., Connan, S., & Popper, Z. A. (2011). Algal chemodiversity and bioactivity: Sources of natural variability and implications for commercial application. *Biotechnology Advances*, 29(5), 483–501. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.05.016>
- Thirumurthy, P., & Mol, I. (2020). *Micro-algae as bio-pesticides for the development of sustainable agriculture*.
- Thompson, G. A. (1996). Lipids and membrane function in green algae. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism*, 1302(1), 17–45. [https://doi.org/10.1016/0005-2760\(96\)00045-8](https://doi.org/10.1016/0005-2760(96)00045-8)
- Tu, Z., Liu, L., Lin, W., Xie, Z., & Luo, J. (2018). Potential of using sodium bicarbonate as external carbon source to cultivate microalga in non-sterile condition. *Bioresource Technology*, 266, 109–115. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.06.076>
- Umetani, I., Janka, E., Sposób, M., Hulatt, C. J., Kleiven, S., & Bakke, R. (2021). Bicarbonate for microalgae cultivation: A case study in a chlorophyte, *Tetrademus wisconsinensis* isolated from a Norwegian lake. *Journal of Applied Phycology*, 33(3), 1341–1352. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02420-4>

- Wiley, P. E. (2013). *Microalgae Cultivation using Offshore Membrane Enclosures for Growing Algae (OMEGA)* [UC Merced].
<https://escholarship.org/uc/item/0586c8p5>
- Wynne, M. J., & Hallan, J. K. (2015). Reinstatement of *Tetradismus* G. M. Smith (Sphaeropleales, Chlorophyta). *Feddes Repertorium*, 126(3–4), 83–86.
<https://doi.org/10.1002/fedr.201500021>
- Yang, Y., Tang, S., & Chen, J. P. (2024). Carbon capture and utilization by algae with high concentration CO₂ or bicarbonate as carbon source. *Science of The Total Environment*, 918, 170325.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.170325>
- Zhu, C., Zhai, X., Wang, J., Han, D., Li, Y., Xi, Y., Tang, Y., & Chi, Z. (2018). Large-scale cultivation of *Spirulina* in a floating horizontal photobioreactor without aeration or an agitation device. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(20), 8979–8987. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9258-0>
- Zhu, C., Zhai, X., Xi, Y., Wang, J., Kong, F., Zhao, Y., & Chi, Z. (2019). Progress on the development of floating photobioreactor for microalgae cultivation and its application potential. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(12), 190. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2767-x>
- Zhu, C., Zhu, H., Cheng, L., & Chi, Z. (2018). Bicarbonate-based carbon capture and algal production system on ocean with floating inflatable-membrane photobioreactor. *Journal of Applied Phycology*, 30(2), 875–885.
<https://doi.org/10.1007/s10811-017-1285-1>

9 Anhang

A)

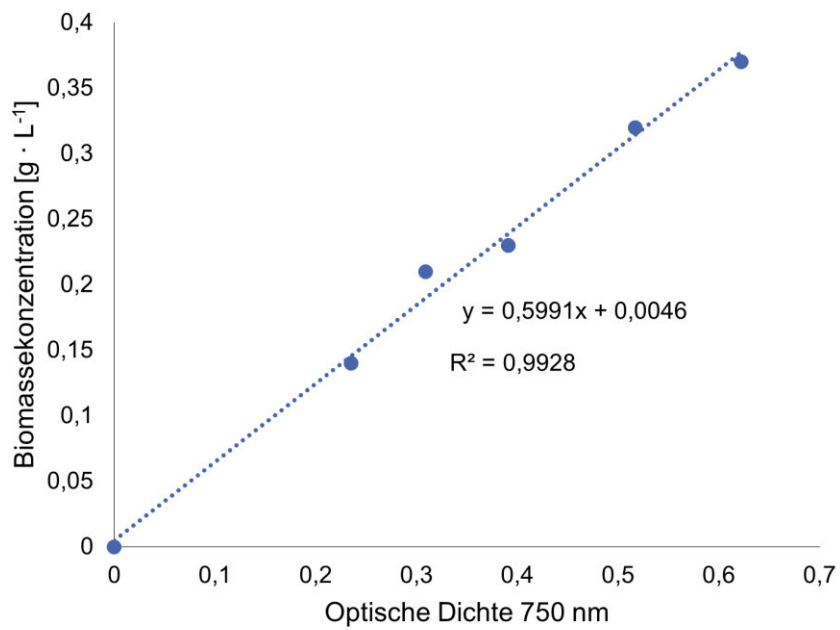


Abbildung A 1: Kalibriergerade der *Tetradesmus*-Kultur

B)

Diagramme der Biomassekonzentration auf Grundlage der OD-Messwerte VV1

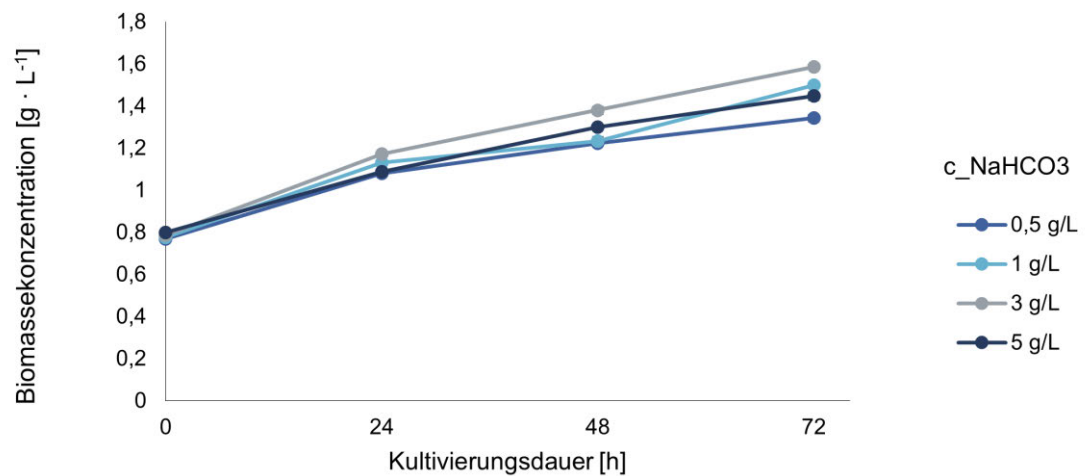


Abbildung B. 1: Verlauf der Biomassekonzentration nach Messung der optischen Dichte während der Kultivierung von verschiedenen Konzentrationen an Natriumhydrogencarbonat in den 500-mL-Schottflaschen

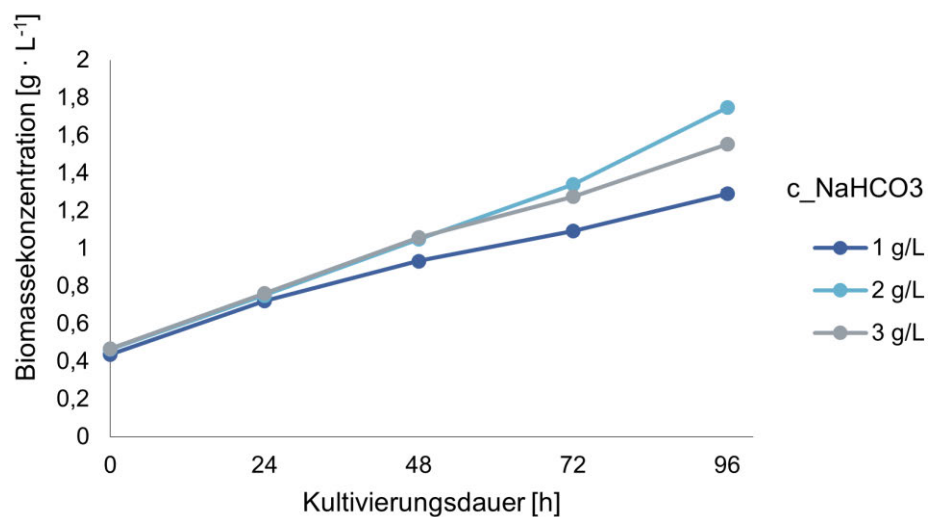


Abbildung B. 2: Verlauf der Biomassekonzentration über die Kultivierungsdauer von fünf Tagen bei verschiedenen Natriumhydrogencarbonatkonzentrationen in Woche 1

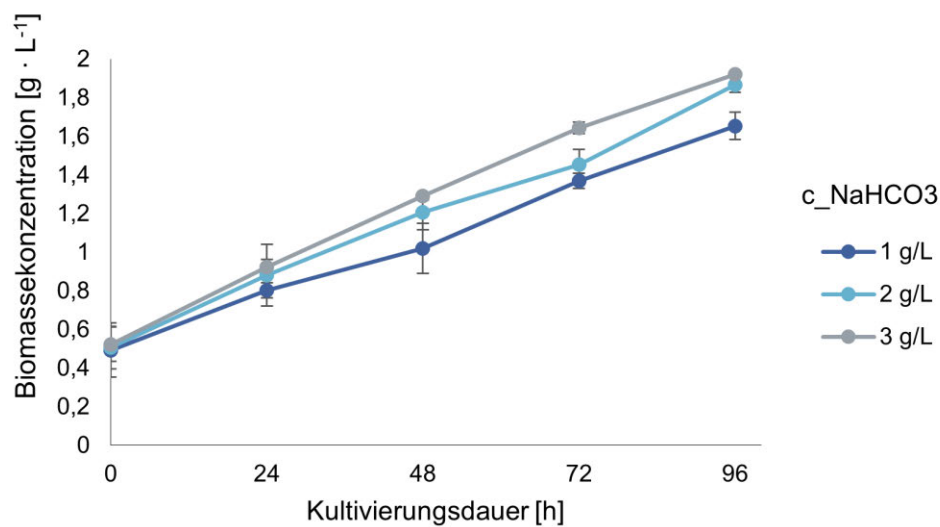


Abbildung B. 3: Verlauf der Biomassekonzentration über die Kultivierung bei verschiedenen Natriumhydrogencarbonatkonzentrationen in Woche 2

C)

Tabelle 11: Messwerte der OD-Bestimmung mit berechneten Biomassekonzentration zu Beginn und zum Ende der Kultivierung

NaHCO ₃ -Konzentration	$\bar{x}_{OD,Anfang}$	$\bar{x}_{OD,Ende}$	$c_{XL,Anfang}$	$c_{XL,Ende}$
[g · L ⁻¹]	[-]	[-]	[g · L ⁻¹]	[g · L ⁻¹]
0,5	0,429	0,374	0,77	1,34
1	0,433	0,417	0,78	1,50
3	0,438	0,441	0,79	1,58
5	0,445	0,403	0,80	1,45

Tabelle 12: Messwerte der Biotrockenmassebestimmung und berechnete Werte der Biomassekonzentration zu Beginn und zum Ende der Kultivierung

NaHCO ₃ -Konzentration	$\bar{x}_{BTM,Anfang}$	$\bar{x}_{BTM,Ende}$	$c_{XL,Anfang}$	$c_{XL,Ende}$
[g · L ⁻¹]	[g]	[g]	[g · L ⁻¹]	[g · L ⁻¹]
0,5	0,0051	0,0076	1,02	1,51

1	0,0024	0,0090	0,47	1,79
3	0,0045	0,0093	0,90	1,86
5	0,0046	0,0083	0,92	1,66

Tabelle 13: Mittelwerte der OD-Messungen zu Beginn und zum Ende der Kultivierung bei verschiedenen Natriumhydrogencarbonatkonzentrationen und die daraus berechneten Biomassekonzentrationen in Woche 1

NaHCO ₃ -Konzentration	$\bar{x}_{OD,Anfang}$	$\bar{x}_{OD,Ende}$	$c_{XL,Anfang}$	$c_{XL,Ende}$
[g · L ⁻¹]	[-]	[-]	[g · L ⁻¹]	[g · L ⁻¹]
1	0,243	0,261	0,44	1,29
2	0,259	0,292	0,47	1,75
3	0,261	0,260	0,47	1,55

Tabelle 14: Mittelwerte der Biotrockenmasse-Bestimmung zu Beginn und zum Ende der Kultivierungsdauer und die daraus berechneten Biomassekonzentrationen bei verschiedenen Natriumhydrogencarbonatkonzentrationen in Woche 1

NaHCO ₃ -Konzentration	$\bar{x}_{BTM,Anfang}$	$\bar{x}_{BTM,Ende}$	$c_{XL,Anfang}$	$c_{XL,Ende}$
[g · L ⁻¹]	[g]	[g]	[g · L ⁻¹]	[g · L ⁻¹]
1	0,0033	0,0073	0,66	1,45
2	0,0020	0,0070	0,39	1,40
3	0,0030	0,0081	0,55	1,62

Tabelle 15: Mittelwerte der OD-Messungen zu Beginn und zum Ende der Kultivierung von Woche 2 bei verschiedenen Natriumhydrogencarbonatkonzentrationen und die daraus berechneten Biomassekonzentrationen

NaHCO ₃ -Konzentration	$\bar{x}_{OD,Anfang}$	$\bar{x}_{OD,Ende}$	$c_{XL,Anfang}$	$c_{XL,Ende}$
[g · L ⁻¹]	[-]	[-]	[g · L ⁻¹]	[g · L ⁻¹]
1	0,278	0,467	0,49	1,65

2	0,285	0,527	0,51	1,87
3	0,296	0,542	0,52	1,92

Tabelle 16: Mittelwerte der Biotrockenmasse-Bestimmung zu Beginn und zum Ende der Kultivierungsdauer und die daraus berechneten Biomassekonzentrationen bei verschiedenen Natriumhydrogencarbonatkonzentrationen in Woche 2

NaHCO ₃ -Konzentration	$\bar{x}_{\text{BTM,Anfang}}$	$\bar{x}_{\text{BTM,Ende}}$	$c_{\text{XL,Anfang}}$	$c_{\text{XL,Ende}}$
[g · L ⁻¹]	[g]	[g]	[g · L ⁻¹]	[g · L ⁻¹]
1	0,0026	0,0079	0,52	1,57
2	0,0030	0,0095	0,6	1,9
3	0,0023	0,0088	0,45	1,76

Tabelle 17: Werte der Biomassekonzentrationen (optische Dichte und Biotrockenmasse) während der Kultivierung im schwimmenden Photobioreaktor in Woche 1

Fortlaufende Zeit	$\bar{x}_{\text{OD}}$	V_f	$c_{\text{XL,OD}}$	$\bar{x}_{\text{BTM}}$	$c_{\text{XL,BTM}}$
[h]			[g · L ⁻¹]	[g]	[g · L ⁻¹]
0	0,153	3	0,27	0,0024	0,24
1,5	0,155	3	0,28	0,0023	0,23
21	0,177	3	0,32	0,0032	0,32
25,5	0,188	3	0,34	0,0035	0,35
45	0,228	3	0,41	0,0043	0,43
49,5	0,196	6	0,70	0,0028	0,56
69	0,258	6	0,93	0,0042	0,83
73,5	0,300	6	1,08	0,0034	0,68
93	0,344	6	1,24	0,0043	0,86
96	0,377	6	1,35	0,0059	0,59

Tabelle 18: Werte der Biomassekonzentrationen (optische Dichte und Biotrockenmasse) während der Kultivierung im schwimmenden Photobioreaktor in Woche 2

Fortlaufende Zeit	$\bar{x}_{OD}$	V_f	$c_{XL,OD}$	$\bar{x}_{BTM}$	$c_{XL,BTM}$
[h]			[g · L ⁻¹]	[g]	[g · L ⁻¹]
0	0,156	3	0,28	0,0021	0,21
20	0,181	3	0,32	0,0029	0,29
24	0,225	3	0,40	0,0049	0,49
44	0,246	3	0,44	0,0043	0,43
48	0,275	3	0,49	0,0045	0,45
68	0,295	3	0,53	0,0046	0,46
72	0,340	3	0,61	0,0032	0,64
92	0,365	3	0,66	0,0037	0,74
96	0,408	3	0,73	0,0036	0,72

Tabelle 19: Werte der Biomassekonzentration der optischen Dichte sowie der BTM-Bestimmung über die Kultivierung mit Natriumhydrogencarbonat in Woche 1

Fortlaufende Zeit	$\bar{x}_{OD}$	V_f	$c_{XL,OD}$	$\bar{x}_{BTM}$	$c_{XL,BTM}$
[h]			[g · L ⁻¹]	[g]	[g · L ⁻¹]
0	0,360	1	0,22	0,0012	0,12
18,75	0,376	1	0,23	0,0022	0,22
22,75	0,466	1	0,28	0,0029	0,29
42,75	0,296	2	0,35	0,0030	0,30
46,75	0,365	2	0,44	0,0037	0,37
66,75	0,273	3	0,49	0,0044	0,44
70,75	0,321	3	0,58	0,0048	0,48
90,75	0,182	6	0,65	0,0020	0,39
94,75	0,194	6	0,70	0,0026	0,52

Tabelle 20: Werte der Biomassekonzentration berechnet aus den Werten der optischen Dichte und der BTM-Bestimmung während der Kultivierung mit Natriumhydrogencarbonat in Woche 2

Fortlaufende Zeit	$\bar{x}_{OD}$	V_f	$c_{XL,OD}$	$\bar{x}_{BTM}$	$c_{XL,BTM}$
[h]			[g · L ⁻¹]	[g]	[g · L ⁻¹]
0	0,165	3	0,30	0,0028	0,28
20	0,157	3	0,28	0,0033	0,33
24	0,185	3	0,33	0,0033	0,33
44	0,223	3	0,40	0,0036	0,36
48	0,281	3	0,50	0,0039	0,39
68	0,325	3	0,58	0,0047	0,47
72	0,357	3	0,64	0,0049	0,49
92	0,389	3	0,70	0,0059	0,59
94,5	0,392	3	0,70	0,0064	0,64