

Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg
Hamburg University of Applied Sciences

**Entwicklung eines Kulturmediums
für die optimierte Kultivierung von *Chlorophyta*
in einem Airlift-Säulen-Reaktor**

Bachelorarbeit

im Studiengang Biotechnologie

vorgelegt von

Sergej Wilhelm

Mart.-Nr.: 1959826

Hamburg

den 28. Januar 2014

Gutachter:

Prof. Dr. G. Cornelissen (HAW Hamburg)

Prof. Dr.-Ing. K. Kuchta (TUHH)

Die vorliegende Bachelorarbeit wurde am Institut für Umwelttechnik und Energiewirtschaft der Technischen Universität Hamburg-Harburg erstellt. Die Betreuung übernahm M.Sc. N. Wieczorek.

Institut für Umwelttechnik
und Energiewirtschaft
Harburger Schloßstraße 36
21073 Hamburg

The logo for the Institute for Environmental Technology and Energy Economics (IVE) consists of the letters 'IVE' in a bold, teal, sans-serif font.The logo for the Technical University of Hamburg-Harburg (TUHH) features the letters 'TUHH' in a bold, teal, sans-serif font, with the full name 'Technische Universität Hamburg-Harburg' written in a smaller, teal, sans-serif font below it.

Danksagung

Diese Danksagung möchte ich allen Menschen widmen, die mich während der Ausarbeitung meiner Bachelorarbeit unterstützt haben.

Bedanken möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. G. Cornelissen für die Übernahme des Referats und die Betreuung dieser Arbeit.

Ich danke Frau Prof. Dr.-Ing. K. Kuchta für die Übernahme des Koreferats und für die freundliche Unterstützung meiner Bachelorarbeit.

Meinen besonderen Dank möchte ich an meinen Betreuer Herrn M. Sc. Nils Wiczorek richten. Seine intensive Begleitung meiner Forschungsarbeiten und seine Unterstützung bei der Fertigstellung der Arbeit waren mir sehr große Hilfe. Außerdem gilt mein Dank meiner Laborpartnerin Katharina Heinz für die gemeinsamen Ausführungen der zahlreichen Laborversuche und für den fachlichen Austausch.

Ein großes Dankeschön geht an alle Mitarbeiter des Instituts für Umwelttechnik und Energiewirtschaft, die mir während der Zeit meines Praktikums und dem Schreiben meiner Arbeit zur Seite gestanden und mich bei Bedarf unterstützt haben.

Auch bedanke ich mich ganz herzlich bei meiner Familie, die für mich während der ganzen Zeit eine große Stütze war. Eure Unterstützung und Euer Glaube an mich hat mir viel Kraft gegeben, vielen Dank dafür.

Erklärung

Ich versichere hiermit, dass ich die vorliegende Bachelorarbeit mit dem im Ausgabeantrag formulierten Thema ohne fremde Hilfe selbstständig verfasst und nur die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe. Wörtlich oder dem Sinn nach aus anderen Werken entnommene Stellen sind unter Angabe der Quellen kenntlich gemacht.

Hamburg, den _____

Unterschrift des Verfassers

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis	V
1 Einleitung	1
2 Zielsetzung	1
3 Grundlagen	2
3.1 Biologische Grundlagen	2
3.1.1 Mikroalgen	2
3.1.2 Licht	4
3.1.3 Nährstoffe	6
3.2 Technische Grundlagen	10
3.2.1 Kultivierung von Mikroalgen	11
3.2.2 Kultivierungsstrategien	12
3.3 Nutzung von Mikroalgen	14
4 Material und Methoden	16
4.1 Material	17
4.1.1 Geräte	17
4.1.2 Versuchsanlage	18
4.1.3 Vorkultur	19
4.1.4 Kulturmedien	19
4.2 Methoden	22
4.2.1 Bestimmung der Biotrockenmassenkonzentration	22
4.2.2 Nährstoffbestimmung	24
4.3 Wachstumskurve und Produktivität	25
4.4 Versuchsdurchführung	25
4.4.1 Versuchsreihe I	27
4.4.2 Versuchsreihe II	27
4.4.3 Versuchsreihe III	27
4.4.4 Versuchsreihe IV	28
4.4.5 Versuchsreihe V	28
5 Darstellung und Auswertung der Ergebnisse	30
5.1 Versuchsreihe I	30
5.2 Versuchsreihe II	32
5.3 Versuchsreihe III	33
5.4 Versuchsreihe IV	34
5.5 Versuchsreihe V	35
6 Diskussion/Gegenüberstellung der Ergebnisse	39
7 Zusammenfassung	44

8	Ausblick.....	46
9	Literaturverzeichnis.....	47
10	Anhang	I
10.1	Herstellerangaben zur Zusammensetzung von Ferty Bassidünger	I
10.2	Erfasste Daten der durchgeführten Versuche	II

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 3.1:links: <i>Chlorella Vulgaris</i> [CCALA, 2013], mitte: <i>Scenedesmus obliquus</i> [CCALA, 2013], rechts: <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> [POC, 2013].....	4
Abbildung 3.2: typische Auswirkung von Lichtintensität auf Produktivität nach Ogonna und Tanaka [2000].....	5
Abbildung 3.3: Open Pond der Firma Cyanotech [Nutraingredients, 2014]	11
Abbildung 3.4: links: <i>Flatpanelreaktor</i> [Fraunhofer IGB, 2013], mitte: <i>Röhrenreaktor</i> [ZDE, 2010], rechts: Folienreaktor [NOVAgreen, 2014].	12
Abbildung 3.5: Ein typischer Wachstumsverlauf einer Batch-Kultivierung nach nach Meiser [2004]	13
Abbildung 4.1: Links das verwendete ASRS mit vier Säulen-Reaktoren und einer Schlauchkühlung im unteren Bereich der Säulen, rechts eine Seitenansicht auf das ASRS und die davor aufgestellten Lampen	18
Abbildung 4.2: BTM-Bestimmung mit einer Vakuumpumpe (links), OD-Messung (Mitte und rechts)	24
Abbildung 5.1: Wachstumskurven von <i>Chlorella vulgaris</i> und <i>Scenedesmus obliquus</i> mit KM 1 in der Versuchsreihe I (Messfehler der berechneten BTM wurden durch parallel dazu gemessene BTM ersetzt und im Graphen mit einem Symbol(X) gekennzeichnet).....	30
Abbildung 5.2: Produktivitätskurven von <i>Chlorella vulgaris</i> und <i>Scenedesmus obliquus</i> (bei <i>Scenedesmus obliquus</i> wurden Produktivitätswerte vor dem Beginn der Kühlung verwendet, bei <i>Chlorella vulgaris</i> nach dem Beginn der Kühlung, weil da in beiden Fällen höchste Produktivität erreicht wurde)	31
Abbildung 5.3: Wachstumskurven von KM1 und KM2 in der Versuchsreihe II (Messfehler der berechneten BTM wurden durch parallel dazu gemessenen BTM ersetzt und im Graphen mit einem Symbol(X) gekennzeichnet).....	32
Abbildung 5.4: Produktivitätskurven von KM1 und KM2 in der Versuchsreihe II (Dargestellt sind Produktivität-Werte aus der ersten Phase der Kultivierung, da in der zweiten der neue Ansatz mit einem höheren BTM-Gehalt gestartet wurde. Dies führt dazu, dass anfangs niedrige Produktivität-Werte den bereits von Anfang hohen BTM-Werten gegenüber stehen und eine Verzerrung der Ergebnisse stattfindet).....	33
Abbildung 5.5: Wachstumskurven von KM3 und KM4 in der Versuchsreihe IV	34
Abbildung 5.6: Produktivitätskurven von KM3 und KM4 in der Versuchsreihe IV (Die erste und die zweite Kultivierung wurden zusammengefasst, dritte wurde nicht berücksichtigt.)	35
Abbildung 5.7: Wachstumskurven von KM5 und KM6 in der Versuchsreihe V	36
Abbildung 5.8: Produktivitätskurve von KM5 in der Versuchsreihe V	36
Abbildung 5.9: Produktivitätskurve von KM6 in der Versuchsreihe V	37
Abbildung 5.10: Wachstumskurven von KM5+ 1ME und KM5+2ME in der Versuchsreihe V	37
Abbildung 5.11: Wachstumskurven von KM3 und KM4 mit Mikroelementen aus KM5 in der Versuchsreihe V (Kultur mit KM4 schäumte in der Nacht auf Tag 9 über und verlor an BTM. Aus diesem Grund wurde die Kultivierung mit KM4 beendet.)	38
Abbildung 5.12: Produktivitätskurven von KM3 und KM4 in der Versuchsreihe V	39
Abbildung 6.1: Übersicht von Wachstumskurven aller Kulturmedien (Ausweitung der Wachstumskurven erfolgt für die Versuchsdauer von 11 Tagen).....	40

Tabellenverzeichnis

Tabelle 3.1: Übersicht von Nährstoffen und ihren Funktionen bei Stoffwechselprozessen [Campbell et al., 2006]	8
Tabelle 3.2: Vergleich von unterschiedlichen Kulturmedien für Süßwasseralgen nach deren Makro- und Mikroelementen	9
Tabelle 3.3: Für Biotechnologie relevante Mikroalgen mit jeweiligem Anwendungsbereich der gewonnenen Produkten und mit der dafür angewandten Kultivierungsmethode [Pulz und Gross, 2004]	15
Tabelle 4.1: Übersicht der verwendeten Geräte und deren Einsatzbereiche	17
Tabelle 4.2: Übersicht über die Zusammensetzung aller verwendeten Kulturmedien	20
Tabelle 4.3: Übersicht über die analytischen Methoden und erfassten Prozessparametern	22
Tabelle 4.4: Übersicht von durchgeführten Versuchsreihen	26
Tabelle 4.5: Prozessparameter bei der Versuchsreihe I.....	27
Tabelle 4.6: Prozessparameter bei der Versuchsreihe II	27
Tabelle 4.7: Prozessparameter bei der Versuchsreihe III.....	28
Tabelle 4.8: Prozessparameter bei der Versuchsreihe IV.....	28
Tabelle 4.9: Prozessparameter bei der Versuchsreihe V (Teil 1).....	29
Tabelle 4.10: Prozessparameter bei der Versuchsreihe V (Teil 2).....	29
Tabelle 6.1: Übersicht alle wichtigen Prozessparameter aus den Kultivierungen mit ihren jeweiligen Kulturmedien (Die Auswahl erfolgte nach den maximal erreichten Werten des jeweiligen Kulturmediums).	41

Abkürzungsverzeichnis

AS	Ammoniumsulfat
ASRS	Airlift-Säulen-Reaktor-System
ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
BTM	Biotrockenmasse
BTM _{OD}	Mittels optischer Dichte berechnete Biotrockenmasse
K	Korrelationsfaktor
KM	Kulturmedium
LED	Licht emittierende Diode (Light Emitting Diode)
MAP	Magnesiumammoniumphosphat
ME	Mikroelemente
OD	Optische Dichte
P	Produktivität
PAR	Photosynthetisch aktive Strahlung (Photosynthetically Active Radiation)
PCE	Wirkungsgrad der Photosynthese (Photo-Conversion Efficiency)
PPFD	Photonenflußdichte (Photosynthetic Photon Flux Density)
SAG	Sammlung von Algenkulturen an der Universität Göttingen
TS	Trockensubstanz
VF	Verdünnungsfaktor bei der OD-Messung
vvm	Begasungsrate

1 Einleitung

Die Bedeutung der Mikroalgen für den Planeten Erde wird immer noch unterschätzt. Dies geschieht zu Unrecht, denn die Mikroalgen spielen für die Biosphäre eine wichtige Rolle. So stammen 50 % des photosynthetisch produzierten Sauerstoffs auf der Erde von den Algen ab [Linne von Berg et al., 2004]. Mikroalgen können mittels Lichtenergie anorganischen Kohlenstoff (C) in Form von Kohlenstoffdioxid (CO₂) aufnehmen und in die Biomasse umwandeln. Bei diesem Prozess, Photosynthese genannt, sind Mikroalgen fünf Mal effektiver als Landpflanzen [Pulz, 2009]. Zurzeit sind etwa 40.000-60.000 Mikroalgenarten bekannt und noch mehr werden vermutet [Sastre und Posten, 2010]. Diese Vielzahl macht deren wirtschaftliches Potenzial für Menschen deutlich. Besonders interessant sind die von Mikroalgen produzierten Inhaltstoffe, wie Proteine, Kohlenhydrate, ungesättigte Fettsäuren, Pigmente, Vitamine usw. Diese finden bereits ihren Einsatz bei der Lebensmittel- und Chemieindustrie, bei den pharmazeutischen Produkten und Kosmetika [Pulz, 2009]. Einige Mikroalgen eignen sich für die Produktion von Biokraftstoffen, wie Bioethanol und Biodiesel. Die Verwendung der Mikroalgenbiomasse für die Erzeugung vom Biogas wird zurzeit intensiv erforscht [Bischof, 2012]. Die kommerzielle Produktion von Mikroalgen liegt weltweit bei 20.000 Mg pro Jahr [Zitteli et al., 2013]. Der größte Teil davon wird in offenen Becken in tropischen Ländern kultiviert. Andere Kultivierungsverfahren sind Photobioreaktoren [Meiser, 2004]. Auch in Deutschland existieren bereits Anlagen für die Kultivierung von Mikroalgen. Beispielsweise werden bei einer solchen Anlage in Klötze werden kommerziell 80-100 Mg Trockenbiomasse pro Jahr in einem Rohrreaktorsystem produziert [Rösch und Posten, 2012].

2 Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit ist die Entwicklung eines Standardmediums, welches für die Kultivierung von *Chlorophyta* (Grünalgen) in einem Airlift-Säulen-Reaktor geeignet ist. Das neu entwickelte Kulturmedium soll bei künftigen Versuchsdurchführungen als Referenzmedium eingesetzt werden, um Versuche mit unterschiedlichen Rahmenbedingungen besser vergleichbar zu machen. Die Zusammensetzung des neuen Kulturmediums orientiert sich an Literaturwerten von etablierten Kulturmedien. Zusätzlich soll untersucht werden, ob Stickstoff- und Phosphorverbindungen, die aus Gärresten gewonnen werden können (Magnesiumammoniumphosphat/MAP und Ammoniumsulfat/AS), für die Kultivierung von Mikroalgen geeignet sind. Wenn dies der Fall ist, soll die Möglichkeit zur Substitution der konventionellen Phosphor- und Stickstoffquellen mit diesen Nährstoffen untersucht werden.

3 Grundlagen

Das Wort „*alga*“ kommt aus dem Lateinischen und bedeutet Seegrass bzw. Tang. Zuerst wurden makroskopische Meerespflanzen unter diesem Namen verstanden. Mit der Zeit wurden dann die mikroskopischen Organismen, die im Wasser leben und in der Lage sind Photosynthese zu betreiben, dazu gezählt. Die Höheren Pflanzen, die im Gegensatz zu den Algen einen Embryo (der aus der befruchteten Eizelle entwickelnde Keim, der noch von der Mutterpflanze ernährt wird) haben, wurden ausgeschlossen. Somit ist dieses Wort ein Sammelbegriff und umfasst nach Linne von Berg et al. [2004] alle Lebensformen, die „eine permanente, oxygene (...) Photosynthese betreiben und keine Embryo (...) bilden“ [Linne von Berg et al., 2004]. Nach dieser Definition sind Algen nicht nur eukaryotische Mikroorganismen, sondern dazu gehören prokaryotische Mikroorganismen, wie Cyanobakterien.

3.1 Biologische Grundlagen

Algen werden in mehrere Gruppen aufgeteilt, wie zum Beispiel in Grünalgen (*Chlorophyta*), Rotalgen (*Rhodophyta*), Braunalgen (*Phaeophyta*), Kieselalgen (*Bacillariophyta*) usw. [Strebel und Krauter, 1988]. Diese kommen fast überall auf der Erde vor. Zu ihren Hauptlebensräumen gehören zum Beispiel Meere (im Phytoplankton), Seen, Flüsse, Erdreich und Bäume [Linne von Berg et al., 2004]. Mikroskopische Vertreter der Algen werden als Mikroalgen bezeichnet. Diese sind sehr vielfältig und weit verbreitet. Es wurden bereits 40.000-60.000 Mikroalgenarten entdeckt und beschrieben [Sastre und Posten, 2010].

3.1.1 Mikroalgen

Mikroskopische Vertreter der Algen werden als Mikroalgen bezeichnet. Diese sind einzellige Organismen, die in der Lage sind Lichtenergie in chemische Energie umzuwandeln. Dieser Vorgang wird als Photosynthese bezeichnet und findet in den dafür vorgesehenen Organellen, den Chloroplasten, statt. Im Verlauf dieses Prozesses wird der anorganische C als Baustein von Zucker oder anderer organischer Verbindungen gebunden [Sastre und Posten, 2010]. In dieser Arbeit wurde mit drei Grünalgen der Gruppe *Chlorophyta* gearbeitet. Es handelte sich um Algen der Gattungen *Chlorella*, *Scenedesmus* und *Chlamyomonas*. Auf Grund ihrer mikroskopischen Größe gehören diese zu den Mikroalgen. Diese sollen im Folgenden kurz beschrieben werden.

Chlorella

Mikroalgen der Gattung *Chlorella* sind einzellige, eukaryontische Organismen, die zu den Grünalgen der Gruppe *Chlorophyta* gehören [Linne von Berg et al., 2004]. *Chlorella* ist eine unbewegliche Mikroalge mit einer runden oder epileptischen Form mit einem Durchmesser

von 2-17 µm [Jin und Quiang, 2013]. Diese kann im Süßwasser und im Brackwasser vorkommen. Ferner ist diese Mikroalge im Boden und auf den Bäumen zu finden [Kessler, 1992]. *Chlorella* hat einen Proteinanteil von 51-58 % und einen Lipidanteil von 14-25 % [Pulz, 2009]. Zu ihrer Zusammensetzung zählen Inhaltstoffe wie Carotinoide (z. B. α - und β -Carotin, Astaxanthin, Zeaxanthin und Canthaxanthin), sowie Vitamine (z. B. Vitamine A, B und C). Außerdem besitzt *Chlorella* gesättigte bzw. ungesättigte Fettsäuren wie Omega-3 und Omega-6 Fettsäuren. [Stach, 2005]. Eine Mikroalge dieser Gattung ist zum Beispiel *Chlorella vulgaris*. Ihr optimales Wachstum liegt bei einer Temperatur von 30°C und beim pH-Wert von pH 7 [Mayo und Noike, 1994]. In der Abbildung 3.1 ist eine Mikroskopaufnahme dieser Mikroalge dargestellt. *Chlorella vulgaris* hat eine hohe Reproduktionsrate. Die Teilung einer einzelnen Mutterzelle in vier bis 16 Tochterzellen findet innerhalb von zwölf bis 16 Stunden statt [Bischof, 2012].

Scenedesmus

Mikroalgen der Gattung *Scenedesmus* sind unbewegliche einzellige Grünalgen der Gruppe *Chlorophyta*. Sie bildet kleine Kolonien mit einer Größe von fünf bis 30 µm, meistens aus vier oder acht aneinandergereihten Zellen. Eine Zelle von *Scenedesmus* hat eine elliptische bis spindelförmige Form und ist häufig mit einem Stachel versehen [Linne von Bergen et al., 2004]. Diese Mikroalge ist in den nährstoffreichen Süßgewässern zu finden. *Scenedesmus* hat einen Proteinanteil von 8-12 % und einen Lipidanteil von 21-32 % [Pulz, 2009]. Eine Mikroalge dieser Gattung ist zum Beispiel *Scenedesmus obliquus*. Ihr optimales Wachstum liegt in einem Temperaturbereich von 28-32°C und in einem pH-Wert von pH 7 [Leupold, 2013]. In der Abbildung 3.1 ist eine Mikroskopaufnahme dieser Mikroalge dargestellt.

Chlamydomonas

Mikroalgen der Gattung *Chlamydomonas* sind geißelbewegliche einzellige Grünalgen der Gruppe *Chlorophyta*. Diese haben eine kugel- oder eiförmige Zellform und eine Größe von 4-60 µm. Am vorderen Ende der Zelle sind zwei Geißeln angeordnet. *Chlamydomonas* kommt in Salz- und Süßwasser, in Böden und im Schnee von Hochgebirgen vor [Linne von Bergen et al., 2004]. *Chlamydomonas* hat einen Proteinanteil von 48 % und einen Lipidanteil von 21 % [Becker, 2007]. *Chlamydomonas* gehört zu den chlorophyllarmen Algen und besitzt einen Chlorophyllanteil von 1,6-4,8 % bezogen auf die Trockenmasse [Pringsheim, 1963]. Eine Mikroalge dieser Gattung ist zum Beispiel *Chlamydomonas reinhardtii*. Deren pH-Optimum

liegt bei 7,5 pH [Kong et al., 2010]. In der Abbildung 3.1 ist eine Mikroskopaufnahme dieser Mikroalge dargestellt.



Abbildung 3.1: links: *Chlorella Vulgaris* [CCALA, 2013], mitte: *Scenedesmus obliquus* [CCALA, 2013], rechts: *Chlamydomonas reinhardtii* [POC, 2013].

3.1.2 Licht

Mikroalgen sind phototrope Organismen, die in der Lage sind Licht als Energiequelle zu nutzen. Bei diesem Vorgang, Photosynthese genannt, werden aus Kohlenstoffdioxid (CO_2) und Wasser (H_2O) unter der Verwendung von Lichtenergie organische Substanzen gebildet [Richter, 1988]. Somit spielt Licht eine essenzielle Rolle für die Mikroalgenkultivierung und hat große Auswirkungen auf das Wachstum von Mikroalgen. Im Folgenden soll dieser Einfluss näher erläutert werden.

Einfluss von Licht auf Wachstum und Produktivität

Für die Photosynthese ist nur ein bestimmter Wellenbereich des Lichts nutzbar. Er liegt in einem Wellenlängenbereich von 400-700 nm und wird photosynthetisch aktive Strahlung (PAR- Photosynthetically Active Radiation) genannt [Kohl und Nicklisch, 1988]. PAR-Strahlung ist dabei ein Maß für die Photonenflußdichte (PPFD - Photosynthetic Photon Flux Density) und wird in Photonen bzw. Quanten pro Fläche und Zeiteinheit ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) angegeben.

Bei der Algenkultivierung ist die Lichtintensität, mit der eine Algenkultur im Bioreaktor bestrahlt wird, ein entscheidender Limitierungsfaktor. Der Zuwachs der Biomasse (Produktivität) ist abhängig von einer optimalen Photosynthese und somit auch von der Lichtintensität [Kohl und Nicklisch, 1988]. Wenn für die Photosynthese nur eine niedrige Lichtintensität zur Verfügung steht, wird auch die Gesamtgeschwindigkeit des photosynthetischen Prozesses verlangsamt [Richter, 1988]. Jedoch führt eine Erhöhung der Lichtintensität, die der Photonenflußdichte (PPFD) entspricht, nicht automatisch zu einer Produktivitätssteigerung [Ogbonna und Tanaka, 2000]. So hat eine steigende Lichtintensität zur Folge, dass zuerst eine Lichtsättigung der photosynthetischen Pigmente (Chlorophylle und Carotinoide) stattfindet und anschließend die Photosynthese gehemmt wird. Ein typisches Beispiel für die Auswirkungen der Lichtintensität auf die Produktivität ist in Abbildung 3.2 dargestellt.

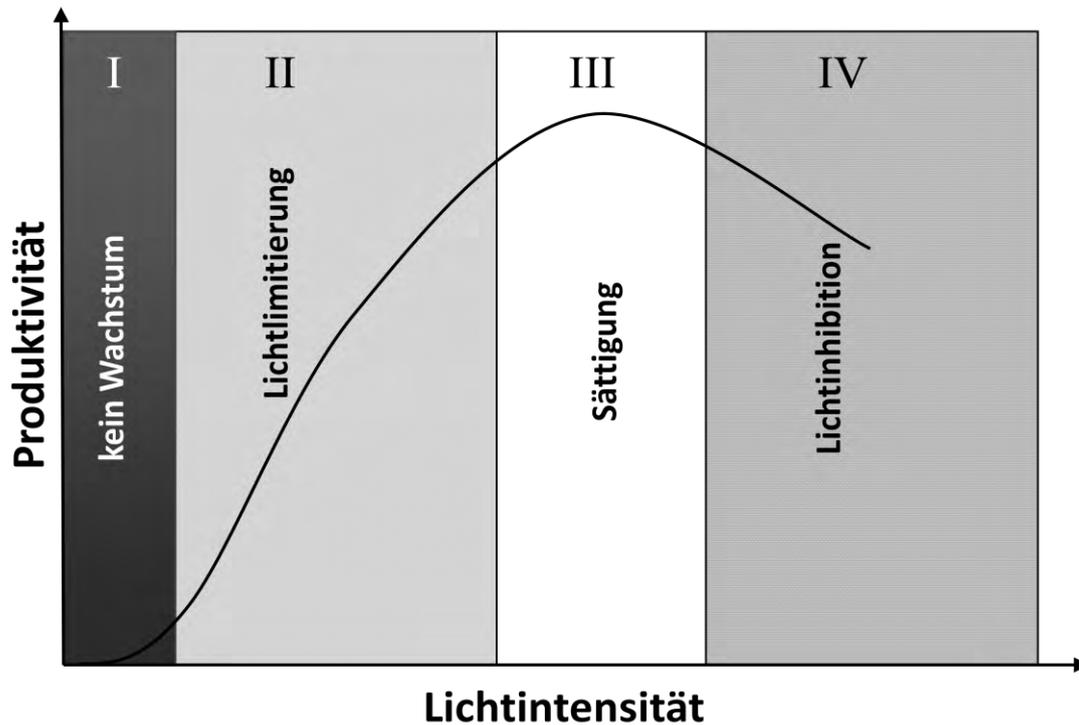


Abbildung 3.2: typische Auswirkung von Lichtintensität auf Produktivität nach Ogbonna und Tanaka [2000].

Bei einer geringen Lichtintensität findet im Abschnitt I (siehe Abbildung 3.2) kein Wachstum statt. Mit einer Erhöhung der Lichtintensität, im Abschnitt II, steigt die Produktivität an. In diesem Bereich wird die limitierende Wirkung des Lichts deutlich, wenn die Lichtintensität zum Beispiel durch eine Selbstverschattung von Mikroalgen absinkt. Im Abschnitt III ist eine Lichtsättigung erreicht und es erfolgt keine weitere Steigung von Produktivität. Im nächsten Bereich (IV) steigt die Lichtintensität weiter, was zu einer Hemmung der Photosynthese und zu einem Absinken von Produktivität führt. Somit wird die höchste Produktivitätsrate in der Lichtsättigungsphase der photosynthetischen Pigmente erreicht. So sind Algen in der Lage sich an die herrschenden Lichtverhältnisse anzupassen. Es wird zum Beispiel der Gehalt der photosynthetisch wirksamen Pigmente, vor allem der Carotinoide, entsprechend den Lichtintensität verändert [Kohl und Nicklisch, 1988]. Dies führt dazu, dass Algen nach einer Anpassungsphase effizienter die Lichtenergie nutzen können.

Wirkungsgrad der Photosynthese

Da nur die PAR-Strahlung für die Photosynthese nutzbar ist, ist der Wirkungsgrad der Photosynthese, Photo-Conversion Efficiency (PCE), in Bezug zum Sonnenlicht auf 43 % des gesamten Lichts beschränkt. Dabei wird der PCE-Wert zusätzlich von weiteren Faktoren reduziert. Photonen aus dem blauen Lichtspektrum haben einen niedrigeren Wirkungsgrad bei der Photosynthese als die mit längerer Wellenlänge. So spielt die Wahl einer Lichtquelle (Sonnenlicht oder künstliches Licht) eine wichtige Rolle bei der Kultivierung von Mikroalgen. Ein Teil der PAR-Strahlung geht durch Reflexion in den Zellen verloren.

Zusätzlicher Energieverlust findet bei der Rückkehr des vorher angeregten photosynthetischen Systems in seinen Gleichgewichtszustand statt. Die Synthese von organischen Molekülen für die enzymatischen Vorgänge verbraucht weitere Energie. Diese Energieverluste führen dazu, dass der PCE-Wert auf 12,6 % sinkt [Zhu et al., 2008]. Ein weiterer Grund für die Abnahme des PCE-Wertes ist die Respiration (Zellatmung), bei der die Zellen die durch die Photosynthese gespeicherte Energie veratmen. Zum Schutz vor zu viel Licht erfolgt eine Photorespiration, bei der überschüssige Lichtenergie vernichtet wird. Durch einen gemittelten Respirationsanteil von 20 % reduziert sich der PCE-Wert folglich auf 8,8 % [Sastre und Posten, 2010]. Bei den C₄-Pflanzen beträgt der theoretische PCE-Wert 6 %, bei den C₃-Pflanzen 4,6 % [Zhu et al.2008]. In der Praxis werden diese Werte nicht erreicht und liegen bei 1 %. Im Gegensatz zu den Pflanzen haben die Mikroalgen einen fünf Mal höheren PCE-Wert, was diese sehr interessant als nachwachsenden Rohstoff macht [Sastre und Posten, 2010].

3.1.3 Nährstoffe

Mikroalgen sind phototrophe Organismen. Somit sind diese in der Lage anorganisches CO₂ mit Hilfe der Lichtenergie zu assimilieren. Die drei wichtigsten Makroelemente für ein phototropes Wachstum sind C, Stickstoff (N) und Phosphor (P). Ihr Angebot in einem Kulturmedium ist zentral für die Kultivierung von Mikroalgen [Grobelaar, 2013]. Ein weiterer Faktor für das Wachstum von Mikroalgen ist das N:P-Verhältnis im Kulturmedium. Ein optimales Verhältnis von N zu P sorgt dafür, dass keine gegenseitige Limitation dieser beiden Stoffe stattfindet. Wenn dieses unter dem Optimum liegt, dann kommt es zu einer N-Limitation und über dem Optimum zu einer P-Limitation. Dieses N:P-Verhältnis ist artenspezifisch und kann einer Algenspezies einen Wachstumsvorteil gegenüber den anderen Algen verschaffen. [Kohl und Nicklisch, 1988].

Zu den weiteren wichtigen Nährstoffen werden Makroelemente wie Schwefel (S), Kalium (K), Magnesium (Mg) und Kalzium (Ca) gezählt. Dazu kommen noch wichtige Mikroelemente wie Eisen (Fe), Bor (B), Kupfer (Cu), Mangan (Mn), Zink (Zn), Molybdän (Mo), Kobold (Co), [Grobelaar, 2013]. Diese Nährstoffe werden auf bestimmte Weise aufgenommen und haben unterschiedliche Funktionen.

Aufnahme von Nährstoffen

Damit die benötigten Elemente von den Mikroalgen aufgenommen werden, ist es für ein Kulturmedium entscheidend, in welcher Form diese Elemente vorliegen, und ob sie biologisch verfügbar sind. Im Folgenden sind die wichtigsten Elemente beschrieben.

Kohlenstoff

Die C-Versorgung wird meistens durch das Einbringen des CO₂ in das Kulturmedium gewährleistet. Ein positiver Effekt dabei ist, die Möglichkeit, den pH-Wert mit dem CO₂ zu kontrollieren. CO₂ liegt im Wasser in gelöster Form sowie als Kohlensäure (H₂CO₃) im Gleichgewicht mit Hydrogencarbonaten (HCO₃⁻) und Carbonaten (CO₃²⁻) [Kohl und Nicklisch, 1988]. C wird von den Mikroalgen als CO₂ oder HCO₃⁻ aufgenommen [Grobbeelaar, 2013].

Stickstoff

Stickstoff kann als Ammonium (NH₄⁺), Nitrat (NO₃⁻) oder als Harnstoff (CH₄N₂O) angesetzt werden. Die NH₄⁺-Assimilation ist energetisch günstiger als die Nitratassimilation. Aus diesem Grund wird N in Form von NH₄⁺ von Mikroalgen bevorzugt aufgenommen [Hoffmann, 2010]. Da aber NO₃⁻ weit verbreitet ist, wird hauptsächlich dieser Stoff als N-Quelle bei einer Kultivierung von Mikroalgen genommen [Grobbeelaar, 2013]. Wenn NO₃⁻ als N-Quelle zur Verfügung steht, kommt es zu einer Erhöhung des pH-Wertes. Beim Einsatz von NH₄⁺ sinkt dagegen der pH-Wert [Kohl und Nicklisch, 1988].

Phosphor

P ist essenziell für Wachstum und Stoffwechselprozesse. Er wird von den Mikroalgen bevorzugt in Form von ortho-Phosphat (PO₄²⁻) aufgenommen [Grobbeelaar, 2013]. Die Aufnahme von ortho-Phosphat läuft sehr schnell ab und die überschüssige Menge wird von den Mikroalgen gespeichert. Im Wasser gelöst liegt P bei pH-Werten von 5-9 in einem Gleichgewicht als ein Dihydrogenphosphat-Anion (H₂PO₄⁻) und ein Hydrogenphosphat-Anion (HPO₄²⁻) [Kohl und Nicklisch, 1988].

Mikroelemente

Die Aufnahme von Mikroelementen kann auf zwei verschiedenen Wegen geschehen. Beim ersten Weg erfolgt der Transport passiv, beim zweiten aktiv. Bei dem passiven Transportvorgang handelt es sich um eine Diffusion, die keine Energie benötigt. Bei einem aktiven Transport wird dagegen Stoffwechselenergie verbraucht [Langmüller und Springer-Lederer, 1974]. Ein Beispiel dafür ist eine Protonen-Pumpe, die aktiv Wasserstoffionen (H⁺) durch die Membran transportiert [Campbell et al., 2006]. So werden zum Beispiel Zn und Co bei *Chlorella* energieabhängig aufgenommen [Findenegg et al., 1971].

Viele der Mikroelemente können sehr leicht mit anderen Bestandteilen eines Kulturmediums reagieren und somit nicht mehr zur Verfügung stehen. Aus diesem Grund werden Mikroelemente oft mit Komplexbildner eingesetzt [Grobbeelaar, 2013].

Funktion der Makro- und Mikronährstoffe

Nährstoffe haben unterschiedliche Funktionen und Bedeutungen für die Stoffwechselprozesse von Mikroalgen. Die Makroelemente werden in großen Mengen benötigt und sind Hauptbestandteile organischer Verbindungen. Mikroelemente werden in kleinen Mengen für das Wachstum gebraucht und sind hauptsächlich als Cofaktoren bei enzymatischen Reaktionen tätig [Campbell et al., 2006]. Diese Mikroelemente sind für die Biosynthese von vielen Verbindungen relevant [Grobelaar, 2013]. In Tabelle 3.1 ist eine Übersicht über einige wichtige Makro- und Mikroelemente mit ihren Funktionen gegeben.

Tabelle 3.1: Übersicht von Nährstoffen und ihren Funktionen bei Stoffwechselprozessen [Campbell et al., 2006]

Element	Funktion
C	Hauptbestandteil organischer Verbindungen
N	Bestandteil von Nucleinsäuren, Proteinen, Hormonen und Coenzymen
P	Bestandteil von ATP, ADP, Nucleinsäuren, Phospholipiden und verschiedenen Enzymen
S	Bestandteil von Proteinen, Aminosäuren und Coenzymen
K	Cofaktor bei der Proteinsynthese
Mg	Bestandteil des Chlorophylls, Enzymaktivierung
Ca	beteiligt an der Bildung, und Stabilität von Membranen, Enzymaktivierung
Fe	Bestandteil der Cytochrome, Enzymaktivierung
B	Cofaktor bei der Chlorophyllsynthese
Mn	beteiligt an der Aminosäuresynthese, Enzymaktivierung, bei der Photosynthese an dem Schritt der Wasserspaltung
Zn	beteiligt an der Chlorophyllsynthese, Enzymaktivierung
Cu	Bestandteil von Enzymen und Redoxsystemen
Mo	essenziell für die N-Fixierung, Cofaktor bei der NO ₃ -Reduktion
Co	beteiligt an der Vitamin _{B12} -Produktion [Grobelaar, 2013].

Kulturmedien für Chlorophyta

Eine Vielzahl von Kulturmedien ist für unterschiedliche Mikroalgen entwickelt worden. Um die geeignete Zusammensetzung eines Kulturmediums für die Kultivierung von Grünalgen zu erarbeiten, wird ein Vergleich zwischen bekannten Kulturmedien durchgeführt. In dieser Arbeit werden ausschließlich Süßwasseralgen der Algengruppe *Chlorophyta* verwendet. Deswegen werden Kulturmedien herangezogen, die bereits bei der Kultivierung von Mikroalgen dieser Gruppe zum Einsatz gekommen sind. In Tabelle 3.2 ist das Ergebnis des Vergleichs mit ausgewählten Kulturmedien und deren Konzentrationen von Makro- und Mikroelementen zusammengefasst.

Tabelle 3.2: Vergleich von unterschiedlichen Kulturmedien für Süßwasseralgen nach deren Makro- und Mikroelementen

Kulturmedium nach	Müller, 1961	Pohl et al., 1986	Hindersin et al., 2012	Sorokin und Krauss, 1956	Basal Medium nach SAG	Medium für einzellige Grünalgen nach SAG	
N:P-Verhältnis	3,85	12,25	3,65	0,6	7,79	0,9	
Makroelemente	mg L ⁻¹						Element liegt vor als
N	157,94	41,56	446,18	173,18	27,71	140,08	KNO ₃
	-	-	-	-	-	-	NH ₄ Cl
P	40,98	-	-	284,54	-	-	KH ₂ PO ₄
	-	-	-	-	-	154,88	NaH ₂ PO ₄ +Na ₂ HPO ₄
	-	-	122,20	-	-	-	P ₂ O ₅
	-	3,39	-	-	3,56	-	K ₂ HPO ₄
K	492,59	-	-	-	-	-	KH ₂ PO ₄ + KNO ₃
	-	-	-	-	-	391,02	KNO ₃
	-	-	1875,65	1875,65	-	-	K ₂ O + KNO ₃
	-	120,30	-	-	120,51	-	K ₂ HPO ₄ + KNO ₃
S	23,42	-	-	-	-	-	MgSO ₄ • 7H ₂ O
	-	-	320,00	-	-	-	Flory I
	-	0,02	-	130,11	2,61	32,94	siehe Mikroelemente
Mg	17,75	-	-	98,61	1,97	24,31	MgSO ₄ • 7H ₂ O
	-	-	60,30	-	-	-	MgO
	-	135,00	-	-	-	-	Meereswasser
Ca	0,79	-	-	0,01	-	-	CaCl ₂ • 6H ₂ O
	-	-	-	-	-	4,007	CaCl ₂
	-	41,00	-	-	-	-	Meereswasser
Cl	0,70	-	-	0,01	-	3,644	CaCl ₂ • 6H ₂ O
	-	-	-	-	-	-	CaCl ₃
	-	0,61	-	-	-	-	siehe Mikroelemente
Mikroelemente	mg L ⁻¹						Element liegt vor als
Zn	0,0505	0,0227	-	0,0200	0,2274	0,0653	ZnSO ₄ • 7H ₂ O
	-	-	0,1000	-	-	-	Chelat von EDTA
Cu	-	-	0,0600	-	-	-	Chelat von EDTA
	0,0201	0,0025	-	0,0041	0,0013	0,0006	CuSO ₄ • 5H ₂ O
Co	0,0119	-	-	0,0010	0,2025	-	Co(NO ₃) ₂ • 6H ₂ O
	-	0,0210	-	-	-	-	CoSO ₄ • 7H ₂ O
Mn	0,5036	-	-	-	0,4926	0,0549	MnSO ₄ • 7H ₂ O
	-	-	0,8000	-	-	-	Chelat von EDTA
	-	0,1358	-	0,0039	-	-	MnCl ₂ • 2H ₂ O
Fe	1,2083	-	-	-	-	-	C ₆ H ₅ FeO ₇
	-	-	-	-	140,6093	1,3960	FeSO ₄ • 7H ₂ O
	-	-	4,0000	-	-	-	Chelat von DPTA
	-	1,9667	-	-	-	-	FeCl ₃ • 6H ₂ O+ C ₆ H ₅ FeO ₇
B	0,5169	-	-	-	-	-	HBO ₃
	-	-	-	-	-	0,0107	H ₃ BO ₃
	-	-	-	0,0158	-	-	H ₃ BO ₄
	-	-	0,4000	-	-	-	Flory I
	-	0,4600	-	-	-	-	Meereswasser
Mo	0,0012	-	-	-	-	0,0010	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ • 4H ₂ O
	-	-	-	0,0047	-	-	MoO ₃
	-	-	0,1200	-	-	-	Flory I
	-	0,0397	-	-	0,3965	-	Na ₂ MoO ₄ • 2H ₂ O

In der Algenanlage Reitbrook werden hauptsächlich Süßwasseralgen wie *Chlorella vulgaris* und *Scenedesmus obliquus* kultiviert. Dort hat sich ein Kulturmedium aus einem Pflanzendünger "Flory Basisdünger 1" als P- und Mikroelementenquelle etabliert [Hindersin et al., 2012, Leupold et al., 2013]. Ein weiteres Beispiel für ein Kulturmedium, welches für die Kultivierung von Grünalgen geeignet ist, ist das Kulturmedium nach Pohl et al. [1986]. Eine umfangreiche Sammlung von Algenkulturen (SAG) besteht an der Universität Göttingen. Dort werden zu den jeweiligen Algengattungen entsprechende Kulturmedien empfohlen (wie z. B. Basal Medium für *Chlorophyta*). Mit dem Kulturmedium nach Müller [1961] wird z. B. die Mikroalge *Scenedesmus obliquus* kultiviert. Das Kulturmedium nach Sorokin und Krauss [1958] wurde für die Kultivierung von Grünalgen verwendet. Wie der Tabelle 3.2. zu entnehmen ist, werden unterschiedliche N:P-Verhältnisse und verschiedene P- und N-Quellen in den einzelnen Kulturmedien angewendet. Die Zusammensetzung und die Konzentrationen der Mikroelemente unterscheiden sich in diesen Kulturmedien voneinander.

Neben der Zusammensetzung und der Nährstoffkonzentration ist noch ein weiterer Faktor bei der Auswahl geeigneter Makro- und Mikroelementen für ein Kulturmedium zu berücksichtigen, nämlich die Kultivierungskosten von Mikroalgen. Diese bewegen sich im Bereich von 36 €/kg-7150 €/kg je nach Kultivierungssystem bzw. nach Zielprodukt [Brennan und Owende, 2010]. Daher müssen Möglichkeiten gesucht werden, um die Kultivierungskosten zu senken. So kann die Auswahl preisgünstigerer Nährstoffalternativen helfen. Aus diesem Grund wird z. B. in der Algenanlage Reitbrook erfolgreich ein günstiger Pflanzendünger, Flory 1, als eine alternative Nährstoffquelle verwendet [Hindersin et al., 2012, Leupold et al., 2013]. Eine andere Möglichkeit, die Kultivierungskosten von Mikroalgen zu senken, ist die Rückgewinnung von Nährstoffen aus Algenreststoffen, nach einer vorangegangenen stofflichen und energetischen Verwendung. So entwickelt zum Beispiel das Fraunhofer-Institut geeignete Verfahren, um aus Gülle und Gärresten einer Biogasanlage Nitrate und Phosphate in Form von Magnesiumammoniumphosphat (MAP) und Ammoniumsulfat (AS) zu gewinnen [Fraunhofer IGB, 2013]. MAP kann zudem bei der Abwasseraufbereitung gewonnen werden [Umweltbundesamt, 2007]. MAP ist dann eine P-Quelle in Form von PO_4^{2-} und AS eine N-Quelle als NH_4^+ für die Mikroalgen.

3.2 Technische Grundlagen

Je nach gewünschtem Produkt und Rahmenbedingungen einer Kultivierung können verschiedene Kultivierungssysteme gewählt werden. Zudem gibt es weitere Strategien, die zum Einsatz kommen können. Diese werden nun im Folgenden dargestellt und erläutert.

3.2.1 Kultivierung von Mikroalgen

Wie bereits erwähnt, können verschiedene Kultivierungsverfahren für Mikroalgen eingesetzt werden. Sie unterscheiden sich in Form, Kultivierungsbedingungen, Größe und Produktziel voneinander. Sie können in zwei Hauptsysteme unterteilt werden: in offene (Open Ponds) und in geschlossene Systeme (Photobioreaktor). Im Folgenden werden beide dieser Systeme kurz vorgestellt.

Open Ponds

Zu dem offenen System gehören sogenannte Open Ponds, bei denen die Kultivierung in offenen Becken im Freien stattfindet. Hauptsächlich handelt es sich dabei um Raceway Ponds. Die Algensuspension wird von Schaufelrädern in einem Becken durchmischt und in eine kreisförmige Strömung versetzt wird. Bei einem anderen Open Pond Typ (inclined system) fließt die Algensuspension von oben nach unten auf einer abfallenden Fläche in einen Zwischenbehälter [Zitteli et al., 2013]. Von dort wird sie nach oben zurückgepumpt. Durch diese Bewegungen entstehen Turbulenzen.



Abbildung 3.3: Open Pond der Firma Cyanotech [Nutraingredients, 2014]

Da ein Austausch mit der Umwelt stattfindet, hat ein Open Pond eine erhöhte Kontaminationsgefahr durch fremde Organismen und die Kultivierungsbedingungen können sich wetterbedingt verändern. Durch die Verdunstung ist ein Wasserverlust gegeben, was einen erhöhten Wasserverbrauch zur Folge hat. Aus diesen Gründen werden Mikroalgen mit hohen Wachstumsraten und extremen Kultivierungsbedingungen verwendet, wie ein hoher Salzgehalt oder hohes pH-Optimum [Meiser, 2004]. Zum Beispiel wird die Grünalge *Dunaliella salina* unter halophilen Bedingungen kultiviert [Pulz, 2009]. Wegen ihrer geringen Bau- und Investitionskosten ist dieser Art von Kultivierung dennoch gefragt und macht den Hauptteil der Jahresproduktion bei Mikroalgen aus. Die erzielten Zelldichten liegen im

Bereich $0,3-0,5 \text{ g L}^{-1}$. Die Produktivität ist $0,05-0,1 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. [Pulz, 2001]. Ein Nachteil ist jedoch der große Flächenverbrauch.

Photobioreaktoren

Zu dem geschlossenen System gehören verschiedene Photobioreaktoren. Zu ihrer wichtigsten Eigenschaft gehören lichtdurchlässige Reaktorwände. Sie werden meistens aus Glas oder aus Plastik, wie zum Beispiel Acryl, gefertigt. Es existieren unterschiedliche Bauformen von Photobioreaktoren. Die meisten davon sind Rohr-, Säulen-, Schlauch und Plattenreaktoren. Die Vermischung der Algensuspension wird mit Hilfe von durch sie strömenden Gasblasen (z. B. bei einem Airlift-Säulenreaktor) oder einer Pumpe (z. B. bei einem Rohrreaktor) gewährleistet. [Zitteli et al., 2013].

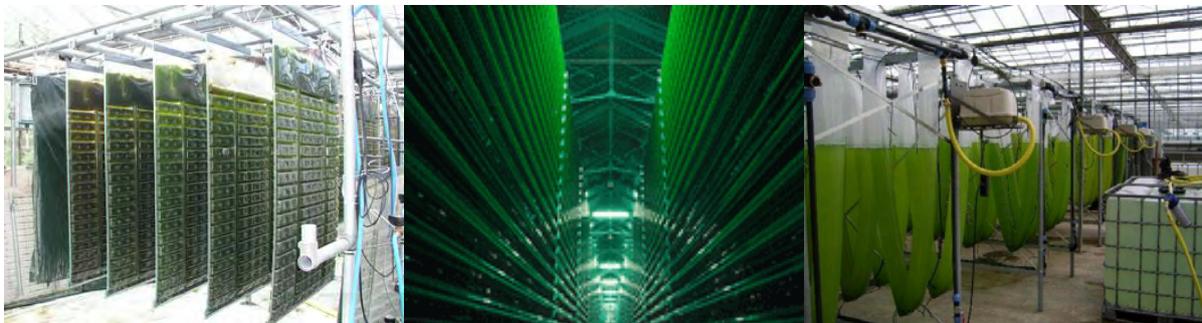


Abbildung 3.4: links: *Flatpanelreaktor* [Fraunhofer IGB, 2013], mitte: *Röhrenreaktor* [ZDE, 2010], rechts: *Folienreaktor* [NOVAgreen, 2014]

Ein Vorteil der Photobioreaktoren sind die kontrollierten Kultivierungsbedingungen. Es werden höhere Zelldichten und eine höhere Produktivität als bei Open Ponds erreicht. Die in den Photobireaktoren erreichbaren Zelldichten liegen im Bereich von $3-15 \text{ g L}^{-1}$ [Rösch und Posten, 2012]. Es können bei Produktivitäten Werte von $0,69-1,6 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ in Säulenreaktoren, bis $1,5 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ bei Rohrreaktoren und bis zu $3 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ bei Plattenreaktoren erreicht werden [Lee, 2001; Meiser, 2004]. Ein Nachteil sind die hohen Investitions- und Betriebskosten. Ein weiterer Nachteil ist die inhomogene CO_2 -Versorgung, die mit der steigenden Rohrlänge (wie es bei Rohrreaktoren der Fall ist) zunimmt.

3.2.2 Kultivierungsstrategien

Bei der Kultivierung von Mikroorganismen können verschiedene Strategien verwendet werden. Die Entscheidung zur Auswahl einer Methode hängt vom Ziel der Kultivierung ab. Im Folgenden werden drei typische Kultivierungsstrategien dargestellt.

Batch-Kultivierung

Bei einer Batch-Kultivierung findet das Wachstum von Mikroorganismen ohne zusätzliche Zugabe des Substrats statt. Das Substrat wird mit der Kultivierungsdauer verbraucht und die Biomassenkonzentration von Mikroorganismen und die Produktkonzentration nehmen zu. Die Kultivierung ist abgeschlossen, wenn das Zellwachstum zum Erliegen kommt, weil entweder das Substrat verbraucht ist oder es durch einen anderen Limitierungsfaktor (zum Beispiel Licht) bewirkt wird [Pörtner, 2006]. Ein typischer Wachstumsverlauf einer Batch-Kultivierung ist in Abbildung 3.5 dargestellt.

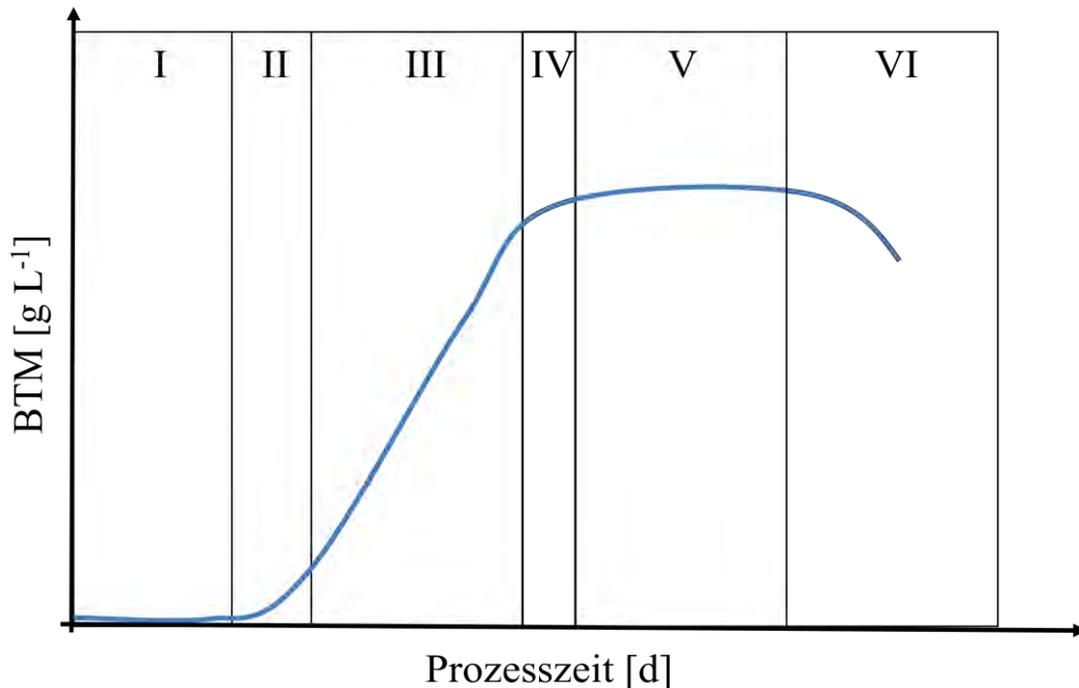


Abbildung 3.5: Ein typischer Wachstumsverlauf einer Batch-Kultivierung nach nach Meiser [2004]

Das Wachstum kann in verschiedene Phasen unterteilt werden. In der Phase I, Lag-Phase genannt, findet kein Wachstum statt. Nach dem Animpfen stellen sich die Mikroorganismen auf neue Kultivierungsbedingung im Bioreaktor ein. In der Phase II, exponentielle Phase genannt, beginnt ein exponentielles Wachstum der Zellen. In dieser Phase gibt es keine limitierenden Faktoren. Die benötigten Stoffe liegen im Überschuss vor. Wenn es um einen phototrophen Organismus geht, ist nach Meiser [2004] diese Phase sehr kurz. In der nächsten Phase verläuft das Wachstum linear. Der Grund dafür ist die zunehmende Zelldichte und die damit verbundene Lichtlimitierung durch Verschattung. Dann beginnt eine Übergangsphase IV. Hier nimmt die Wachstumsrate ab bis sie in der anschließenden Phase V, stationäre Phase genannt, zum Erliegen kommt. Wenn die Nährstoffkonzentration weiter abnimmt oder die Konzentration der toxischen Stoffwechselprodukte zunimmt, beginnt die letzte Phase VI, Absterbephase genannt. In dieser Phase beginnen die Zellen zu zerfallen und verstoffwechseln sich selbst [Hempel et al., 2012].

Repeated-Batch-Kultivierung

Eine abgewandte Form der Batch-Kultivierung ist die Repeated-Batch-Kultivierung auch semikontinuierliche Kultivierung genannt. Bei dieser Art der Kultivierung bleibt nach dem Ernten in der stationären Phase ein Teil der Zellsuspension als Inokulum im Bioreaktor zurück. Der Bioreaktor wird dann mit einem frischen Kulturmedium aufgefüllt und die Kultivierung wird erneut gestartet. Ein Nachteil dieser Methode sind die undefinierten Starbedingungen der zweiten Kultivierung. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Rückstände aus der ersten Kultivierung Auswirkungen auf das Wachstum haben [Pörtner, 2006]. Eine andere Vorgehensweise einer semikontinuierlichen Kultivierung wird bei Kohl und Nicklisch [1988] beschrieben. Hier erfolgt eine tägliche Verdünnung und Ernte einer Batch-Kultur. Diese erfolgt mit einer konstanten Verdünnungsrate nach dem Chemostat- oder Turbidostat-Prinzip. Somit wird ein Teil der Zellsuspension abgeerntet und mit dem frischen Kulturmedium ersetzt. Nach einer Anpassungszeit wird sich ein Gleichgewicht zwischen dem täglichen Biomassezuwachs und dem Biomasseverlust einstellen. Das führt zu einem Sägezahnverlauf der Wachstumskurve.

Kontinuierliche Kultivierung

Bei einer kontinuierlichen Kultivierung ist der Kultivierungsverlauf anders. Zuerst verläuft diese wie eine typische Batch-Kultivierung, bis die Substratkonzentration auf einen kritischen Wert gesunken ist [Pörtner, 2006]. Ab hier wird dem Bioreaktor stetig ein frisches Kulturmedium zugeführt. Parallel dazu werden mit gleichem Volumenstrom Zellen, nicht umgesetzte Nährstoffe und entstandene Stoffwechselprodukte aus dem Bioreaktor abgeführt. Über die kontrollierte Zugabe von Nährstoffen kann so die Wachstumsgeschwindigkeit von Mikroorganismen reguliert werden. Um eine Ausdünnung der Zellsuspension zu verhindern, muss darauf geachtet werden, dass die Zellauswaschung nicht größer ist als der maximale Zuwachs ist. Somit wird der Volumenstrom durch den Bioreaktor durch die maximale Wachstumsrate (organismenspezifisch) begrenzt [Hempel et al., 2012].

3.3 Nutzung von Mikroalgen

Mikroalgen können unterschiedlich genutzt werden. Viele Mikroalgen besitzen zum Beispiel hochwertige Inhaltsstoffe. So dienen Mikroalgen als Quelle für Vitamine, Pigmente, Polysaccharide, mehrfach ungesättigten Fettsäuren, Lipide und Proteine mit essenziellen Aminosäuren [Spolaore et al., 2006; Sastre und Posten, 2010]. In Tabelle 3.3 sind einige Mikroalgen mit den daraus gewonnenen Produkten und mit ihren Anwendungsbereichen aufgelistet.

Tabelle 3.3: Für Biotechnologie relevante Mikroalgen mit jeweiligem Anwendungsbereich der gewonnenen Produkten und mit der dafür angewandten Kultivierungsmethode [Pulz und Gross, 2004]

Gruppe	Art	Produkt	Anwendung	Kultivierungssystem
<i>Bacillariophyta</i> (Kieselalgen)	<i>Odontella aurita</i>	Biomasse, Phycocyanin	Arzneimittel, Kosmetik, Baby-Nahrung	Open-Ponds
	<i>Porphyridium cruentum</i>	Fettsäuren, Lipide	Nahrung, Kraftstoff	Open-Ponds
<i>Chlorophyta</i> (Grünalgen)	<i>Chlorella vulgaris</i>	Biomasse	Nahrungsergänzung , Futter-Ersatz-Stoff	Open-Ponds, Becken, Rohrreaktoren
	<i>Dunaliella salina</i>	Carotinoide, β -Carotin	Nahrungsergänzung , Futtermittel	Open-Ponds, Teiche
	<i>Haematococcus pluvialis</i>	Carotinoide, Astaxanthin	Arzneimittel, Futter-Zusatz-Stoff	Open-Ponds, Photobioreaktoren
	<i>Isochrysis galbana</i>	Fettsäuren	tierische Ernährung	Open-Ponds
<i>Cyanobakterien</i> (Blualgen)	<i>Lyngbya majuscula</i>	immun- modulierende Stoffe	Arzneimittel, Ernährung	-
	<i>Spirulina platensis</i>	Biomasse, Phycocyanin	Kosmetik	Open-Ponds, natürliche Seen
<i>Rhodopyta</i> (Rotalgen)	<i>Porphyridium cruentum</i>	Polysaccharide	Arzneimittel, Ernährung, Kosmetik	Open-Ponds

Da die hochwertigen Inhaltsstoffe nur einen geringen Teil von Mikroalgen ausmachen, ist die stoffliche Nutzung von Algenbiomasse sehr wichtig. Diese dient hauptsächlich als Nahrungsergänzung in den Lebensmitteln. Der Grund dafür ist der hohe Anteil an Proteinen, ungesättigten Fettsäuren und Vitaminen. Zusätzlich wurden gesundheitsfördernde Eigenschaften der Mikroalgen nachgewiesen [Sastre und Posten, 2010]. Mikroalgenbiomasse wird als Additiv in verschiedenen Futtermitteln für Tiere bzw. Fische eingesetzt. Besonders ist deren Einsatz bei der Fischzucht verbreitet. Zum Beispiel werden Mikroalgen, wie *Chlorella*, *Tetraselmis*, *Scenedesmus* und *Thalassiosira*, werden in Aquakulturen als Fischfutter eingesetzt [Pulz und Gross, 2004]. Ein weiteres Nutzungsfeld ist die energetische Verwendung von Mikroalgen. Biokraftstoffe wie Biodiesel, -ethanol, -methan oder -wasserstoff können aus den Mikroalgen gewonnen werden. So sind Mikroalgen dank eines höheren Öl-Gehalts im Vergleich zu den Kraftstoffpflanzen sehr interessant für die Biodieselproduktion [Chisti, 2007]. Biogasanlagen gehören zum Stand der Technik und nach Angaben des Fachverbands Biogas e.V. [2013] gab es im Jahre 2012 7512 solcher Anlagen in Deutschland. Somit bietet es sich an, Mikroalgenbiomasse für Biogaserzeugung zu nutzen. Es existieren bereits verschiedene Untersuchungen vom Biogaspotenzial der Mikroalgen. So wurde zum Beispiel am IUE die Mikroalgenart *Chlorella vulgaris* fermentiert und ein

spezifischer Methanertrag von 475 ml CH₄/g oTS unter thermophilen Temperaturen (55 °C) ermittelt [Heerenklage et al., 2010].

Ein weiteres Anwendungsbeispiel von Mikroalgen ist die Abwasserreinigung. Zurzeit werden die Kläranlagen aktiv belüftet, was enorme Kosten verursacht. Alternativ dazu können Mikroalgen bei der Abwasserreinigung nützlich sein. Sie können dort als Sauerstofflieferanten für Bakterien dienen und Nährstoffe aus dem Abwasser aufnehmen. Dabei gehen Mikroalgen mit Bakterien in eine Symbiose und bilden sogenannte Algen-Bakterien-Flocken [Gutzeit und Neis, 2007].

4 Material und Methoden

Alle Versuche der vorliegenden Arbeit liefen als eine Repeated-Batch-Kultivierung ab und fanden in einem Airlift-Säulen-Reaktor-System statt. Vorkulturen mit Grünalgen wurden vom Biozentrum Klein Flottbek und von der Algenanlage im Reitbrook nach Bedarf bereitgestellt. Die Bestrahlungsintensität an der Reaktoroberfläche betrug 400 μmol m⁻²s⁻¹ mit einem Licht-Dunkel-Wechsel von 16:8-Stunden. Bei allen Kulturmedien wurde ein N:P-Verhältnis von 7:1 über die ganze Kultivierungsdauer aufrechterhalten. Die CO₂-Versorgung wurde mit reinem CO₂ durchgeführt. In diesem Kapitel werden Materialien und Methoden, die für die Kultivierung von Mikroalgen in dieser Arbeit verwendet wurden, beschrieben und erläutert.

4.1 Material

Im folgenden Kapitel werden Geräte und Materialien, die für die Versuchsdurchführungen relevant waren, beschrieben.

4.1.1 Geräte

An dieser Stelle wird eine Übersicht der verwendeten Geräte gegeben. Hierbei ist der Einsatzbereich dem jeweiligen Gerät zugeordnet, bei dem sie im Rahmen der Kultivierungsversuche eingesetzt wurden. In Tabelle 4.1 sind diese dargestellt.

Tabelle 4.1: Übersicht der verwendeten Geräte und deren Einsatzbereiche

Gerät	Einsatzbereich
Airlift-Säulen-Reaktor-System	Kultivierung
Halogenmetalllampen (Osram, HQI-TS 400 W)	Beleuchtung
Schwebekörper Durchflussmesser (KOBOLD, KFR-2114 NO)	CO ₂ -Zufuhr
CO ₂ -Gas (Reinheit von 99,995)	CO ₂ -Versorgung
Schwebekörper Durchflussmesser (KOBOLD, KFR-2115 NO)	Luft-Zufuhr
Kälte-Umwälzthermostate (JULABO, F12)	Kühlung
pH-Sonde (Mettler Toledo, InLab Reach 300mm)	pH-Messung
Digitalthermometer mit PT 100 (Greisinger, GTH 1160)	Temperaturmessung
PAR-Sensor (LI-COR Biosciences, LI-190 Sensor)	PAR-Messung
Zentrifuge (Heraeus, Varifuge F)	Vorkultur
Analysenwaage (Sartorius, A120 S)	BTM, Kulturmedium
Laborwaage (Sartorius, BL 1500 S)	Kulturmedium
Infrarot-Feuchtemessgerät (Sartorius, MA 100)	BTM
Glasfaserfilter (Whatman, GF/C Ø 47mm)	BTM
Vakuumpumpe (KNF Neuberger, Typ: N 035 AN.18)	BTM
Trockenschrank (WTB Binder,FD 400)	BTM
Spektralphotometer (Hach Lange, DR 3900)	OD, Nährstoffe
Küvetten-Tests (Hach Lange: LCK 340, LCK 049, LCK 238)	Nährstoffe
Spritzenvorsatzfilter (Sartorius, Minisart® high flow 16555 Q)	Nährstoffe
Thermostat (Hach Lange, HT 200 S)	Nährstoffe
Siebturm (Retsch, Vibro)	Nährstoffe

4.1.2 Versuchsanlage

Als Versuchsanlage diente ein Airlift-Säulen-Reaktor-System (ASRS), welches aus vier Acrylreaktoren und den dazugehörigen Peripheriegeräten besteht. Das ASRS ist in Abbildung 4.1 dargestellt.



Abbildung 4.1: Links das verwendete ASRS mit vier Säulen-Reaktoren und einer Schlauchkühlung im unteren Bereich der Säulen, rechts eine Seitenansicht auf das ASRS und die davor aufgestellten Lampen

Das Reaktorvolumen pro Reaktor beträgt 9,5 L, aktiv werden davon 8 L benutzt. Jeder Reaktor wird von unten über zwei Diffusoren einmal mit Druckluft und einmal mit reinem CO₂ begast. Die Druckluft-Begasung, mit einem ringförmig am Reaktorboden angebrachten Diffusor, sorgt für eine Durchmischung der Algensuspension und soll ein Biofouling verhindern. Für die CO₂-Begasung ist der Diffusor mittig am Boden des Reaktors angebracht. So wird gewährleistet, dass das CO₂ sich optimal im Kulturmedium verteilt und die Mikroalgen ausreichend mit CO₂ versorgt sind. Die pH-Regulierung wird über CO₂-Zufuhr durchgeführt. Bei einer pH-Abweichung aus dem optimalen pH-Bereich wird der CO₂-Volumenstrom entsprechend verändert. Die beiden Begasungsarten werden manuell jeweils mit einem Schwebekörper-Durchflussmesser (KOBOLD) reguliert. Durch den Reaktordeckel ist ein 30 cm langer Schlauch in das Reaktorinnere eingelassen. Über diesen Schlauch wird eine Probennahme durchgeführt. Am Deckel befinden sich auch eine pH-Sonde (Mettler Toledo) und ein Abluftschlauch mit einer Schaumfalle. Die pH-Sonde ist an ein Mess- und Regelungsgerät angeschlossen. An diesem wird der pH-Wert abgelesen und die pH-Kalibrierung durchgeführt. Über die Öffnung der pH-Sonden werden bei Bedarf die

Nährstoffe zugeführt. Vor den Reaktoren, in einer Entfernung von 68 cm, sind drei übereinander angebrachte Metaldampflampen (Osram) aufgestellt. Deren PAR-Strahlung reicht aus dieser Entfernung für $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, die an der Reaktoroberfläche ankommen. Im unteren Bereich der Reaktoren ist eine Wasserkühlung angebracht. Über ein Kühlaggregat (JULABO) wird die Reaktortemperatur reguliert.

4.1.3 Vorkultur

Zum Animpfen der Reaktoren wurde eine Vorkultur vom Biozentrum Klein Flottbek bereitgestellt. In diesem Biozentrum existiert eine Algensammlung, aus der die Algen der Gattungen *Chlorella* und *Scenedesmus* entnommen und vor Ort unter sterilen Bedingungen auf 5 L aufgezogen wurden. Alternativ wurde eine Kultur aus der Algenanlage Reitbrook verwendet. Hierbei handelte es sich um eine Mischkultur. Unter dem Mikroskop konnten Algen der Gattungen *Chlorella*, *Scenedesmus* und *Chlamydomonas* festgestellt werden. Die Vorkultur wird zuerst von den Makro- und Mikroelementen des Ausgangsmediums befreit, damit die Kultivierung mit einem neuen Kulturmedium gestartet werden kann. Die Algensuspension wird dabei bei 2000 U/min für 5 min zentrifugiert. Der Überstand wird verworfen und das Pellet im Leitungswasser gelöst. Dieser Vorgang wird noch einmal wiederholt. Anschließend werden die abzentrifugierten Algen mit Leitungswasser vermenget. Jetzt sollte die Vorkultur ohne Makro- und Mikroelemente vorliegen. Zur Kontrolle wird eine aus der vorbehandelten Vorkultur entnommene Probe auf Phosphate und Nitrate untersucht.

4.1.4 Kulturmedien

Da in dieser Arbeit hauptsächlich mit einer Mischkultur aus mehreren Mikroalgen gearbeitet wird, bietet sich es an, ein N:P-Verhältnis zu nehmen, das im mittleren Bereich von allen anderen Verhältnissen aus den Kulturmedien in Tabelle 3.1 liegt. So wurde ein N:P-Verhältnis von 7:1 gewählt. Dieses entspricht einer NO_3^- -Konzentration von 1000 mg/L und einer PO_4^{2-} -Konzentration von 100 mg/L. Diese Sollkonzentration von PO_4^{2-} und NO_3^- wurde für die ganze Versuchsdauer aufrecht gehalten. Dafür wurde jeden zweiten Tag eine Nährstoffbestimmung von NO_3^- und PO_4^{2-} durchgeführt. Die gemessene Nährstoffkonzentration wurde durch eine entsprechende Zugabe von Nährstoffen angepasst. Bei der Auswahl geeigneter Mikroelemente war die Vorgehensweise die gleiche, wie sie oben beschrieben worden ist. Die Mikroelemente wurden beim Ansetzen und nach einer Ernte eines Versuchs zugeführt. Die Anfangskonzentrationen und die Zusammensetzung der Mikroelemente variierten je nach Kulturmedium. In Tabelle 4.2 sind die verwendeten Nährmedien mit deren Makro- und Mikroelementen aufgelistet.

Tabelle 4.2: Übersicht über die Zusammensetzung aller verwendeten Kulturmedien

Kulturmedium	KM 1	KM 2	KM 3	KM 4	KM 5	KM 6	
Makroelemente	mg/L						Element liegt vor als
N	235,13	225,83	234,85	-	225,83		KNO ₃
	-	-	-	225,78	-	225,78	AS
P	-	32,72	-	32,44	32,72		KH ₂ PO ₄
	35,35	-	-	-	-		P ₂ O ₅ aus Ferty 2
	-	-	32,57	-	-	32,61	MAP
K	-	671,67	-	-	671,67	-	KH ₂ PO ₄ + KNO ₃
	767,70	-	-	-	-	-	K ₂ O aus Ferty 2 + KNO ₃
	-	-	-	40,95	-	-	KH ₂ PO ₄
	-	-	614,41	-	-	-	KNO ₃
S	-	-	-	-	39,05	-	MgSO ₄ • 7H ₂ O
	-	0,024	0,024	-	-	-	siehe Mikroelemente
	-	-	-	258,44	-	258,44	(NH ₄) ₂ SO ₄
Mg	-	-	-	29,58	29,58	-	MgSO ₄ • 7H ₂ O
	16,28	-	-	-	-	-	MgO aus Ferty 2
	-	-	25,56	-	-	25,59	NH ₄ MgPO ₄
Ca	-	-	-	-	-	-	CaCl ₂ • 6H ₂ O
	-	-	-	200,22	-	202,22	CaCO ₃
	-	-	-	-	-	-	CaCl ₂
	38,00	38,00	38,00	38,00	38,00	38,00	Leitungswasser
Cl	-	-	-	-	-	-	CaCl ₂ • 6H ₂ O
	-	-	-	-	-	-	CaCl ₃
	-	-	-	0,63	0,63	0,63	MnCl ₂ • 2H ₂ O+ FeCl ₃ • 6H ₂ O
Mikroelemente	mg/L						Element liegt vor als
Zn	-	0,0230	0,0230	0,0230	0,0230	0,0230	ZnSO ₄ • 7H ₂ O
	0,0540	-	-	-	-	-	Chelat von EDTA
Cu	0,0320	-	-	-	-	-	Chelat von EDTA
	-	0,0030	0,0030	0,0030	0,0030	0,0030	CuSO ₄ • 5H ₂ O
Co	-	-	-	-	-	-	Co(NO ₃) ₂ • 6H ₂ O
	-	0,0210	0,0210	0,0210	0,0210	0,0210	CoSO ₄ • 7H ₂ O
Mn	0,4320	-	-	-	-	-	Chelat von EDTA
	-	0,1360	0,1700	0,1700	0,1700	0,1700	MnCl ₂ • 2H ₂ O
Fe			0,8270	0,8270	0,8270	0,8270	FeCl ₃ • 6H ₂ O
	2,1600	-	-	-	-	-	Chelat von DPTA
	-	1,9670	-	-	-	-	FeCl ₃ • 6H ₂ O+ C ₆ H ₅ FeO ₇
B	-	-	0,0090	0,0090	0,0090	0,0090	H ₃ BO ₃
	0,1890	-	-	-	-	-	Ferty 2
Mo	0,0650	-	-	-	-	-	Ferty 2
	-	0,0400	0,0400	0,0400	0,0400	0,0400	Na ₂ MoO ₄ • 2H ₂ O

Im Folgenden sind einzelne Kulturmedien zusätzlich erläutert.

Kulturmedium 1

Kulturmedium 1 (KM1) bestand aus zwei Komponenten, aus Ferty Basisdünger 2 (Ferty 2) und aus KNO₃. Ferty 2 wird als Düngermittel bei den Pflanzen eingesetzt und dient als ein äquivalenter Ersatz für das Flory 1 aus dem Kapitel 3.1.3. Für KM1 lieferte er die benötigten Spurenelemente und diente als Phosphorquelle. P liegt dabei in Form von P₂O₅ vor. Der Hauptlieferant des Stickstoffs im KM1 war KNO₃. In Tabelle 4.2 sind die einzelnen Makro-

und Mikroelemente dieses Kulturmediums aufgelistet. Die Zusammensetzung von Ferty 2 basiert auf den Herstellerangaben (Planta Düngemittel GmbH, siehe Anhang). Die berechnete Anfangskonzentration aller Elemente basiert auf den Einwaagen von Ferty 2 und KNO_3 am Versuchsbeginn. Durch die regelmäßige Zugabe von Ferty 2 wurde die Konzentration von Mikroelementen im Versuchsverlauf gesteigert.

Kulturmedium 2

Im Kulturmedium 2 (KM2) wurden N und P in Form von KNO_3 und KH_2PO_4 eingesetzt. Die Zusammensetzung der Mikroelemente basierte auf der Arbeit von Pohl et al. [1986]. In Tabelle 4.2 sind die einzelnen Makro- und Mikroelemente dieses Kulturmediums aufgelistet.

Kulturmedium 3

Beim Kulturmedium 3 (KM3) war die Nitratquelle KNO_3 und die Phosphatquelle MAP, deren chemische Formel MgNH_4PO_4 lautet.

In Tabelle 4.2 sind die einzelnen Makro- und Mikroelemente dieses Kulturmediums aufgelistet. MAP musste vor seinem Einsatz vorbehandelt werden. Grund dafür war, dass dieser in Form einer MPA-haltigen Ablagerung aus der Abwasserreinigung von den Berliner Wasserwerken bereitgestellt wurde. Bei der Vorbehandlung wurde folgendermaßen vorgegangen: Zuerst wurde die Ablagerung bei 42°C getrocknet und dann in einem Siebturm gesiebt. Die so gewonnene feinste (0,63 mm) Fraktion wurde in der Essigsäure (CH_3COOH) (1 M) gelöst. Jetzt konnte MAP mit der Natronlauge (NaOH) (1 M) ausgefällt werden. Nach einer anschließenden Trocknung bei 42°C war das MAP einsatzbereit. Da MAP nicht wasserlöslich ist, wurde vorbehandelter MAP in Zitronensäure ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$) gelöst.

Kulturmedium 4

Beim Kulturmedium 4 (KM4) war AS, deren chemische Formel $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ lautet, die N-Quelle und KH_2PO_4 die Phosphatquelle. Als Puffer wurde CaCO_3 nach Bedarf zugeführt. Anfangs stammen die Mikroelemente aus einer unbehandelten Vorkultur aus der Algenanlage Reitbrook. Später wurden die Spurenelemente und deren Konzentration aus dem KM5 übernommen. In Tabelle 4.2 sind die einzelnen Makroelemente dieses Kulturmediums aufgelistet.

Kulturmedium 5

Beim Kulturmedium 5 (KM5) war KNO_3 die Nitratquelle und KH_2PO_4 die Phosphatquelle. Seine Zusammensetzung und die Konzentration der Mikroelemente wurden aufgrund eines Vergleichs von bekannten Kulturmedien (siehe Tabelle 3.2) erstellt. In Tabelle 4.2 sind die einzelnen Makro- und Mikroelemente dieses Kulturmediums aufgelistet.

Kulturmedium 6

Beim Kulturmedium 6 (KM6) war AS die Nitratquelle und MAP die Phosphatquelle. Als Puffer wurde CaCO_3 nach Bedarf zugeführt. Die Mikroelemente und deren Konzentration wurden aus dem KM5 übernommen. In Tabelle 4.2 sind die einzelnen Makro- und Mikroelemente dieses Kulturmediums aufgelistet.

4.2 Methoden

In diesem Kapitel werden die analytischen Methoden aller Versuchsreihen beschrieben. Mit diesen Parametern wurde jeder Versuch überwacht und reguliert. In Tabelle 4.3 sind die einzelnen Methoden und Prozessparameter aufgelistet.

Tabelle 4.3: Übersicht über die analytischen Methoden und erfassten Prozessparametern

Analytik/Parameter	Zeitintervalle	x-Bestimmung
BTM	1x Tag	1-fach
OD	1x Tag	2-fach
NO_3^-	1x 2 Tage	1-fach
PO_4^{2-}	1x 2 Tage	1-fach
Temperaturmessung	1x Tag	-
pH-Messung	1x Tag	-
Antischaummittel	nach Bedarf (max. 2 ml)	-

4.2.1 Bestimmung der Biotrockenmassenkonzentration

Zwei unterschiedliche Methoden wurden zur Bestimmung der Biotrockenmasse (BTM) herangezogen. Bei einer wurde die Biotrockenmasse (BTM) direkt bestimmt. Bei der zweiten wurde zuerst eine optische Dichte gemessen und dann auf BTM umgerechnet.

Bestimmung der Biotrockenmasse

Zur Bestimmung der BTM wurde ein Glasfaserfilter (Whatman, CF/C) verwendet. Dank seiner Struktur werden keine Salze im Filter akkumuliert. Es wurde im Infrarot-Feuchtemessgerät (Sartorius, MA 100) getrocknet und gewogen. Dann wurde eine definierte Menge der Algensuspension auf den Filter aufgetragen und mittels einer Vakuumpumpe abgesaugt. Der Filter mit den Algen wurde mit dem demineralisierten Wasser einmal gespült

und in einem Wärmeschrank (Heraeus Instruments, Hanau) bei 105°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Nach dem Zurückwiegen ergibt sich die BTM,

$$BTM = \frac{m_{trocken} - m_{leer}}{V_{feucht}} \quad (4.1)$$

mit

BTM	:= Biotrockenmasse-Gehalt der Probe	[g/L]
m_{leer}	:= Leergewicht des Filters	[g]
V_{feucht}	:= Volumen der Probe	[L]
$m_{trocken}$:= getrocknetes Filtergewicht mit der Probe	[g],

aus der Differenz vom getrockneten Filtergewicht mit der Probe und dem Leergewicht des Filters geteilt durch das Probenvolumen.

Messung der optischen Dichte

Die Optische Dichte (OD) oder Extinktion wurde mittels eines Spektralphotometers (DR 3900, Hach Lange) gegen demineralisiertes Wasser bestimmt. Die verwendete Wellenlänge betrug 750 nm, was im Absorptionsbereich eines aktiven Chlorophylls liegt. Die OD ist abhängig von der Konzentration der absorbierenden Substanz. So ist es möglich, einen Korrelationsfaktor zwischen OD und BTM zu erstellen. Diese Korrelation besteht nur bei den Extinktionswerten im Bereich 0,1 - 0,4. Dementsprechend wurden zu untersuchende Proben ab einem OD-Wert von 0,4 verdünnt. Dann wurden die OD-Werte, multipliziert mit dem Verdünnungsfaktor, gegen die BTM der Proben in einem Graphen aufgetragen. Die Steigung der so entstandenen Gerade ist der gesuchte Korrelationsfaktor. Um den Messfehler gering zu halten, wurde eine Doppelbestimmung durchgeführt. Anschließend kann die BTM berechnet werden. Dabei ergibt sich BTM,

$$BTM_{OD} = K \cdot OD_{750} \times VF \quad (4.2)$$

mit

BTM_{OD}	:= berechnete BTM auf Grund der OD-Messung	[g L ⁻¹]
K	:= Korrelationsfaktor	[g L ⁻¹ OD ⁻¹]
OD_{750}	:= gemessene OD-Wert	[OD]
VF	:= Verdünnungsfaktor bei einer OD-Messung,	

aus der Multiplikation von dem Korrelationsfaktor mit dem OD-Wert und dem Verdünnungsfaktor.

Wenn die über OD berechnete BTM im Versuchsverlauf von der mitgemessenen BTM abweicht, wird ein neuer Korrelationsfaktor für diesen Zeitraum bestimmt. Ein Grund für die

entstandene Abweichung liegt in der Veränderung der Algengemeinschaft in einer Mischkultur.

In Abbildung 4.2 sind einzelne Schritte bei der BTM-Bestimmung und OD-Messung dargestellt.



Abbildung 4.2: BTM-Bestimmung mit einer Vakuumpumpe (links), OD-Messung (Mitte und rechts)

4.2.2 Nährstoffbestimmung

Die Konzentrationen der im Kulturmedium gelösten PO_4^{2-} und NO_3^- wurden jeden zweiten Tag gemessen. Die Messung erfolgte mittels eines Spektralphotometers (DR3900, Hach Lange) und eines, dem jeweiligen Nährstoff entsprechenden Küvettentests (Hach Lange, LCK 049, LCK 340, LCK 238). Bei dieser PO_4^{2-} -Bestimmung (LCK 049) bilden die PO_4^- -Ionen mit Vanadaten und Molybdaten einen gelben Farbkomplex, der dann photometrisch erfasst wird. Bei der NO_3^- -Bestimmung (LCK 340) reagieren die NO_3^- -Ionen in einer schwefel- und phosphorsauren Lösung mit 2.6-Dimethylphenol zu 4-Nitro-2.6-dimethylphenol. Bei den Kulturmedien 4 und 5 war eine direkte NO_3^- -Bestimmung nicht möglich. Deswegen wurde zuerst der Gesamt-Stickstoff (LCK 238) bestimmt und danach in die NO_3^- -Ionen-Konzentration umgerechnet. Die Durchführung aller Küvettentests erfolgte nach der Anleitung des Herstellers. Vorher wurden Proben mittels eines Spritzenvorsatzfilters (Sartorius, Minisart® high flow 16555 Q) abfiltriert und entsprechend dem Messbereich der Küvettentests verdünnt.

4.3 Wachstumskurve und Produktivität

Die berechneten BTM-Werte aus den OD-Messungen wurden gegen die Zeit der Versuchsdauer aufgetragen. Der so entstandene Kurvenverlauf zeigt eine Wachstumskurve der kultivierten Mikroalgen. Produktivität beschreibt die Zunahme der BTM zwischen den täglichen Messungen. Somit ergibt sich Produktivität,

$$P = \frac{BTM_n - BTM_{n-1}}{t_n - t_{n-1}} \quad (4.3)$$

mit

P	:= berechnete Produktivität	[g L ⁻¹ d ⁻¹]
BTM _n	:= berechnete BTM am n-Tag	[g L ⁻¹]
BTM _{n-1}	:= berechnete BTM am n-1-Tag	[g L ⁻¹]
t _n	:= Zeitangabe des n-Tages	[d]
t _{n-1}	:= Zeitangabe des n-1-Tages	[d],

aus der Differenz des berechneten BTM zweier Tage, geteilt durch das Zeitintervall dieser beiden Tage.

4.4 Versuchsdurchführung

Um die Auswirkungen der unterschiedlichen Phosphat- und Stickstoffquellen in den Nährmedien auf das Wachstum von Mikroalgen zu prüfen, wurden fünf Versuchsreihen mit sechs verschiedenen Nährmedien im ASRS durchgeführt. In jeder Versuchsreihe wurden zwei Kulturmedien in je zwei Reaktoren parallel zu einander getestet, als eine Doppelbestimmung. Um die Versuchsergebnisse zu prüfen und einen Erntevorgang mit anschließendem Neustart zu simulieren, wurden alle Versuche in einer Repeated-Batch-Kultivierung (siehe Kap.3.2.2) durchgeführt. Die Ernte erfolgte, nachdem die Mikroalgen ihre stationäre Phase erreicht hatten. Phase 1 der Kultivierung ist somit beendet. Ein Teil der abgeernteten Algenbiomasse wurde für das erneute Animpfen verwendet. Die Nährstoffe wurden dann in Soll-Konzentrationen wieder von den jeweiligen Kulturmedien zugeführt. Somit begann die zweite Phase eines Versuches und dauerte, bis die stationäre Phase erneut erreicht wurde. Im Laufe der Versuche wurde die Versuchsdurchführung gemäß den neuen Erkenntnissen angepasst und verändert. Diese Veränderungen werden zu jedem Versuch explizit erläutert. So ist eine endgültige Versuchsanweisung entstanden. Sie wird im Folgenden beschrieben.

Ein Versuch wird mit einer festgelegten Biomassenkonzentration und mit einer Sollkonzentration an Nährstoffen (siehe Kapitel 4.1.4) gestartet. Der Luftvolumenstrom ist für die Versuchsdauer auf 3 L min⁻¹ eingestellt, was 0,375 vvm entspricht. Die CO₂-Zufuhr wird mit 0,1 L min⁻¹ (0,0125 vvm) gestartet. Beim Start wird die Vorkultur zuerst vorbehandelt, wie es im Kapitel 4.1.3 beschrieben ist. Auf den Einsatz von dem. Wasser wurde an dieser

Stelle verzichtet, um die Kultivierungsbedingungen in der Pilotanlage Reitbrook nachzuempfinden. Danach wird ein Kulturmedium in einem Becherglas angesetzt (siehe Kapitel 4.1.4). Die Reaktoren werden anfangs mit 5 L Leitungswasser befüllt. Danach werden das Kulturmedium und die definierte Menge an Vorkultur in den Reaktor überführt. Anschließend wird der Reaktor auf 8 L aufgefüllt. Dann wird die Begasung von Luft und CO₂ auf den vorgesehenen Volumenstrom eingestellt. Der Reaktordeckel wird befestigt und die vorher kalibrierte pH-Sonde darauf gesteckt. Der Abluftschlauch wird angeschlossen und die Lampen werden angeschaltet. Im Verlaufe des Versuchs wird ein Licht-Dunkel-Wechsel von 16:8 Stunden eingehalten. Am ersten Tag wird nur eine Lampe eingeschaltet, danach sind alle drei Lampen an. Es wird eine erste Probe (40 mL) genommen und die erste OD-Messung, TS- und Nährstoffbestimmung durchgeführt.

Die OD und TS werden im Versuchsverlauf täglich gemessen. Die Nährstoffe werden jeden zweiten Tag bestimmt und gegebenenfalls auf die festgelegte Sollkonzentration zugeführt. Aus dem Reaktor verdunstetes Wasser und Volumen der entnommenen Proben werden entsprechend wieder auf die 8 L aufgefüllt. Die pH-Werte und die Temperatur der Reaktorflüssigkeit werden täglich abgelesen. Über die CO₂-Zufuhr (max. 0,5 L min⁻¹) wird der pH-Wert entsprechend reguliert, wenn er den optimalen pH-Bereich verlässt. Bei einer starken Schaumbildung wird ein 1:10 verdünntes Antischaummittel (Wacker Silicones, Silfoam SD 882) zugefügt. Durch die Kühlung wird verhindert, dass die Temperatur über 30°C steigt. Nachdem die stationäre Phase der Kultivierung erreicht ist, wird zur Kontrolle die Kultivierung unter gleichen Versuchsbedingungen wiederholt. Dies entspricht einer Repeated-Batch-Kultivierung (siehe Kapitel 3.2.2). Dabei wird die Kultur aus dem Reaktor abgeerntet und gleich als neue Vorkultur angeimpft. Die Vorgehensweise bleibt die gleiche. In Tabelle 4.4 sind alle durchgeführten Versuchsreihen mit ihren Voraussetzungen und Zielen aufgelistet. Anschließend werden diese näher erläutert.

Tabelle 4.4: Übersicht von durchgeführten Versuchsreihen

Versuchsreihe	Kulturmedium	Mikroalgenkultur	Ziel
I	KM1	<i>Chlorella vulgaris</i> <i>Scenedesmus obliquus</i>	Wachstumsverhalten von zwei Mikroalgenarten unter dem Einsatz von KM1
II	KM1, KM2	Mischkultur	Wachstumsverhalten von Mikroalgen unter dem Einsatz von KM1 und KM2
III	KM3, KM4	Mischkultur	Wachstumsverhalten von Mikroalgen unter dem Einsatz von KM3 und KM4
IV	KM3, KM4	Mischkultur	Wachstumsverhalten von Mikroalgen unter dem Einsatz von KM3 und KM4
V	KM5, KM6, KM3, KM4	Mischkultur	Wachstumsverhalten von Mikroalgen unter dem Einsatz von KM5, KM6, KM3 und KM4

4.4.1 Versuchsreihe I

Das Ziel dieser Versuchsreihe war es, zwei Mikroalgenspezies, *Chlorella vulgaris* und *Scenedesmus obliquus*, im Vergleich zueinander in einer Doppelbestimmung (je zwei Reaktoren pro Mikroalge) mit KM1 zu kultivieren. Die beiden Vorkulturen stammen aus dem Biozentrum Klein Flottbek und wurden unbehandelt verwendet. Eine Wasserkühlung wurde nach Bedarf eingesetzt. Die Versuchsbedingungen sind in Tabelle 4.5 dargestellt.

Tabelle 4.5: Prozessparameter bei der Versuchsreihe I

Prozessparameter		R1	R2	R3	R4
Volumenstrom	Luft	3 L min ⁻¹			
	CO ₂	0,1 L min ⁻¹			
Einwaagen auf 8 L	KNO ₃	12,67 g			
	Ferty 2	4,3 g			
Temperaturbereich [°C]	ohne Kühlung	31,1 ± 1,0	31,3 ± 0,5	31,4 ± 0,6	31,6 ± 0,7
	mit Kühlung	27,6 ± 1,5	27,5 ± 1,1	27,8 ± 1,7	27,7 ± 1,2
pH-Bereich [pH]		7,3 ± 0,19	7,40 ± 0,81	6,74 ± 0,35	7,13 ± 0,30

4.4.2 Versuchsreihe II

Bei dieser Versuchsreihe wurden KM1 und KM2 miteinander verglichen. Die Kultivierung erfolgte als eine Doppelbestimmung (je zwei Reaktoren pro ein Kulturmedium). Als Impfmateriale diente eine unbehandelte Mischkultur aus der Algenanlage im Reitbrook. Die Versuchsbedingungen sind in Tabelle 4.6 dargestellt.

Tabelle 4.6: Prozessparameter bei der Versuchsreihe II

Prozessparameter		R1	R2	R3	R4
Volumenstrom	Luft	3 L min ⁻¹			
	CO ₂	0,1 L min ⁻¹			
Einwaagen auf 8 L	KNO ₃	12,67 g	12,67 g	-	-
	Ferty 2	4,3 g	4,3 g	-	-
	KNO ₃	-	-	13,06 g	13,06 g
	KH ₂ PO ₄	-	-	1,16 g	1,16 g
Temperaturbereich [°C]		28,4 ± 2,4	28,2 ± 2,4	29,2 ± 2,7	29,0 ± 2,4
pH-Bereich [pH]		7,19 ± 0,35	7,13 ± 0,4	6,98 ± 0,56	7,10 ± 0,48

4.4.3 Versuchsreihe III

Das Vorhaben dieser Versuchsreihe war es, eine Einschätzung von MAP im KM3 und AS im KM4 zu geben und gegebenenfalls einen Vergleich zwischen den beiden Kulturmedien herzustellen. Die Kultivierung erfolgte als eine Doppelbestimmung (je zwei Reaktoren pro ein Kulturmedium). Als Impfmateriale diente eine unbehandelte Mischkultur aus der Algenanlage im Reitbrook. Es wurden keine Mikroelemente zugeführt. Die Versuchsbedingungen sind in Tabelle 4.7 dargestellt.

Tabelle 4.7: Prozessparameter bei der Versuchsreihe III

Prozessparameter		R1	R2	R3	R4
Volumenstrom	Luft	3 L min ⁻¹			
	CO ₂	0,1 L min ⁻¹			
Einwaagen auf 8 L	KNO ₃	12,71 g	12,71 g	-	-
	MAP	38,6 ml	38,6 ml	-	-
	AS	-	-	8,52 g	8,52 g
	KH ₂ PO ₄	-	-	1,14 g	1,14 g
Temperaturbereich [°C]		26,6 ± 2,6	26,6 ± 2,6	26,9 ± 3,0	26,9 ± 2,9
pH-Bereich [pH]		7,06 ± 0,95	6,95 ± 1,04	5,24 ± 1,31	4,96 ± 1,60

4.4.4 Versuchsreihe IV

Bei dieser Versuchsreihe wurde die Versuchsreihe III wiederholt. Diesmal wurde ein Puffer (CaCO₃) beim KM4 verwendet. Die Kultivierung erfolgte als eine Doppelbestimmung je zwei Reaktoren pro ein Kulturmedium. Als Impfmateriale diente eine unbehandelte Mischkultur aus der Algenanlage im Reitbrook. Es wurden keine Mikroelemente zugeführt. Die Versuchsbedingungen sind in Tabelle 4.8 dargestellt.

Tabelle 4.8: Prozessparameter bei der Versuchsreihe IV

Prozessparameter		R1	R2	R3	R4
Volumenstrom	Luft	3 L min ⁻¹			
	CO ₂	0,1 L min ⁻¹			
Einwaagen auf 8 L	KNO ₃	12,71 g	12,71 g	-	-
	MAP	38,6 ml	38,6 ml	-	-
	AS	-	-	8,52 g	8,52 g
	KH ₂ PO ₄	-	-	1,14 g	1,14 g
	CaCO ₃	-	-	4 g	4 g
Temperaturbereich [°C]		27,6 ± 2,6	27,5 ± 2,5	28,1 ± 2,6	28,2 ± 2,6
pH-Bereich [pH]		6,93 ± 0,17	6,60 ± 0,15	6,55 ± 0,21	6,46 ± 0,24

4.4.5 Versuchsreihe V

Das Ziel dieser Versuchsreihe war, zunächst eine Überprüfung der ausgewählten Mikroelemente und deren Konzentrationen im KM5 durchzuführen. Parallel wurde KM6 aus MAP und AS getestet. Die Kultivierung erfolgte als eine Doppelbestimmung (je zwei Reaktoren pro ein Kulturmedium). Als Impfmateriale diente eine vorbehandelte Vorkultur. Die Mikroelemente wurden von KM5 übernommen. Die Mischkultur entstammte aus der Algenanlage im Reitbrook. Die Versuchsbedingungen sind in Tabelle 4.9 dargestellt. Wegen eines defekten Thermofühlers konnte keine Temperatur im Teil 1 dieses Versuches gemessen werden.

Tabelle 4.9: Prozessparameter bei der Versuchsreihe V (Teil 1)

Prozessparameter		R1	R2	R3	R4
Volumenstrom	Luft	3 L min ⁻¹			
	CO ₂	0,1 L min ⁻¹			
Einwaagen auf 8 L	KNO ₃	13,04 g	13,04 g	-	-
	KH ₂ PO ₄	1,15 g	1,15 g	-	-
	AS	-	-	8,52 g	8,52 g
	MAP	-	-	38,6 ml	38,6 ml
	CaCO ₃	-	-	4 g	4 g
Temperaturbereich [°C]		-	-	-	-
pH-Bereich [pH]		6,85 ± 0,26	6,79 ± 0,24	6,14 ± 0,75	6,19 ± 0,26

Nach dem Ernten und bei erneutem Animpfen wurden einige Änderungen vorgenommen. So wurde mit KM3, KM4 und KM5 in einer einfachen Bestimmung (je einer Reaktor) kultiviert. Im Gegensatz zur Versuchsreihen III und IV wurden ME aus dem KM5 zu den KM3 und KM4 zugeführt. In KM5 (R2) wurde die 2-fache Konzentration an ME getestet. Die Versuchsbedingungen sind in Tabelle 4.10 dargestellt.

Tabelle 4.10: Prozessparameter bei der Versuchsreihe V (Teil 2)

Prozessparameter		R1	R2	R3	R4
Volumenstrom	Luft	3 L min ⁻¹			
	CO ₂	0,1 L min ⁻¹			
Einwaagen auf 8 L	KNO ₃	13,04 g	13,04 g	-	-
	KH ₂ PO ₄	1,15 g	1,15 g	-	-
	AS	-	-	8,52 g	8,52 g
	MAP	-	-	38,6 ml	38,6 ml
	CaCO ₃	-	-	4 g	4 g
Temperaturbereich [°C]		28,1 ± 1,0	28,0 ± 0,5	28,7 ± 0,6	28,2 ± 0,6
pH-Bereich [pH]		6,92 ± 0,19	6,83 ± 0,27	6,75 ± 0,32	5,76 ± 0,89

5 Darstellung und Auswertung der Ergebnisse

In diesem Kapitel sind die Ergebnisse der durchgeführten Versuchsreihen dargestellt und je nach Fragestellung ausgewertet. Bei der Darstellung der Wachstumskurve wird die berechnete BTM gegen die Prozesszeit aufgetragen. Somit kann ermittelt werden, ob der Wachstumsverlauf ohne Auffälligkeiten verlaufen ist. Bei den Produktivitätskurven wird die Produktivität gegen die berechneten BTM aufgetragen. Die maximal erreichte Produktivität gibt an, bei welcher BTM noch keine Lichtlimitierung aufgetreten war und die Kultivierungsbedingungen optimal waren.

5.1 Versuchsreihe I

In dieser Versuchsreihe wurde das Wachstum zweier Mikroalgenspezies, *Chlorella vulgaris* (R1+R3) und *Scenedesmus obliquus* (R2+R4), unter Verwendung von KM1 (Ferty 2 + KNO_3) untersucht und miteinander verglichen. In Abbildung 5.1 sind die aufgenommenen Wachstumskurven im Vergleich zueinander dargestellt.

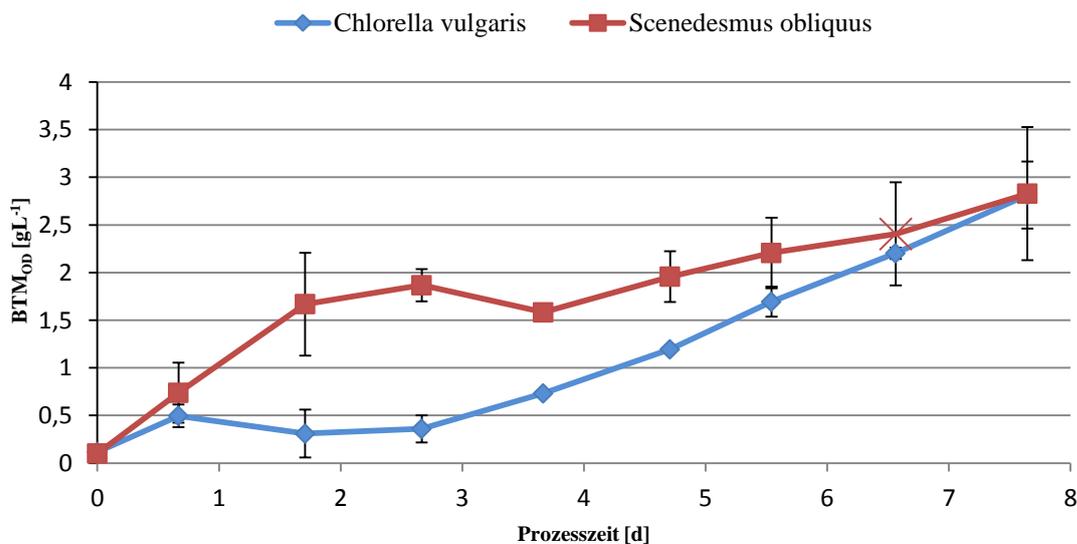


Abbildung 5.1: Wachstumskurven von *Chlorella vulgaris* und *Scenedesmus obliquus* mit KM1 in der Versuchsreihe I (Messfehler der berechneten BTM wurden durch parallel dazu gemessene BTM ersetzt und im Graphen mit einem Symbol(X) gekennzeichnet)

Nach Tag 1 kommt es zu einem Einbrechen des Wachstums bei *Chlorella vulgaris*. Von den zuvor erreichten $0,74 \text{ g L}^{-1}$ sinkt die BTM auf $0,36 \text{ g L}^{-1}$ (Tag 3). Im Gegensatz dazu bricht das Wachstum bei *Scenedesmus obliquus* nicht ein. Am Tag 3 betrug die BTM $1,87 \text{ g L}^{-1}$. Grund für unterschiedliches Wachstumsverhalten ist eindeutig die zu hohe Temperatur. Durch die Wärmestrahlung der drei Lampen der Versuchsanlage kam es zu einem Temperaturanstieg in allen vier Reaktoren (R1-R4) auf über 30°C (siehe Tabelle 4.5). Die maximal gemessene Temperatur betrug $32,4^\circ\text{C}$ (R4). Damit die Kultivierungstemperatur auf unter 30°C sinkt,

wurde mit einer Wasserkühlung ab dem dritten Versuchstag (Tag 3) gekühlt. Erwartungsgemäß sank die Temperatur in den Reaktoren (R1-R4) unter 30°C (siehe Tabelle 4.5). Ab diesem Zeitpunkt zeigte die Wachstumskurve von der *Chlorella vulgaris* einen linearen Anstieg. Nach einer Anpassungsphase an die neue Temperatur steigt die Wachstumskurve von *Scenedesmus obliquus* linear an. Im Versuchsverlauf wurde festgestellt, dass es zu einer Kontamination der Mikroalgen untereinander gekommen war. Es wurden *Scenedesmus obliquus* Zellen in den Reaktoren R1 und R3 mit *Chlorella vulgaris* unter dem Mikroskop beobachtet. Am siebten Versuchstag wurde eine bräunliche Färbung in beiden Reaktoren (R2 und R4) von *Scenedesmus obliquus* bemerkt. Dies deutete auf eine Kontamination mit Bakterien hin. Aus diesen beiden Gründen wurde beschlossen, diese Versuchsreihe zu beenden. Die BTM am letzten Versuchstag betrug bei *Chlorella vulgaris* 2,81 g L⁻¹ und bei *Scenedesmus obliquus* 2,83 g L⁻¹. Auf Grund eines frühzeitigen Abbruchs wurde die stationäre Phase des Wachstums nicht erreicht. In Abbildung 5.2 sind die aufgenommenen Produktivitätskurven von *Chlorella vulgaris* und *Scenedesmus obliquus* dargestellt.

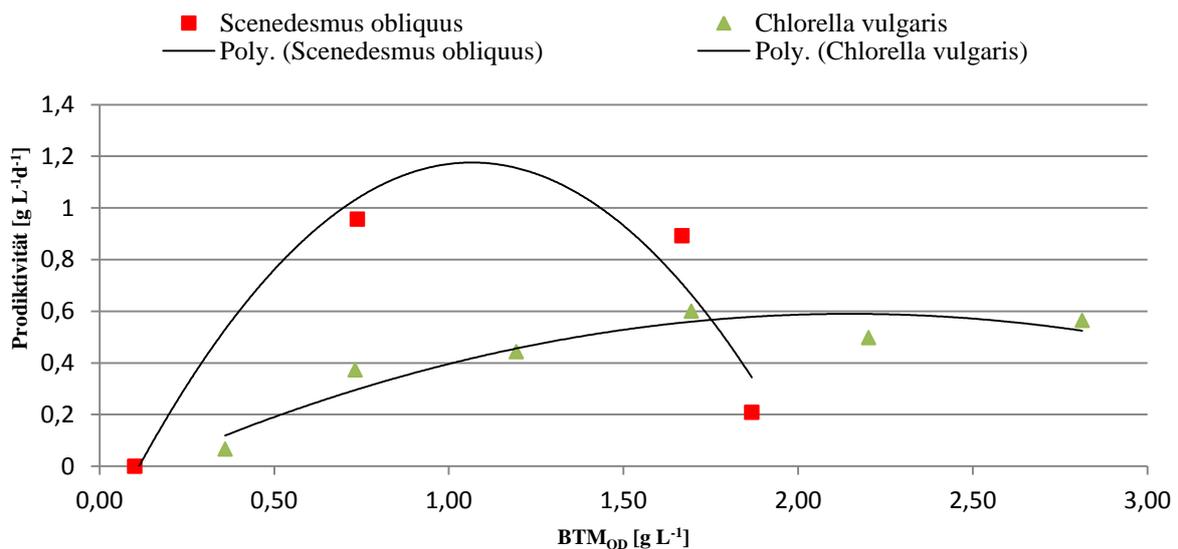


Abbildung 5.2: Produktivitätskurven von *Chlorella vulgaris* und *Scenedesmus obliquus* (bei *Scenedesmus obliquus* wurden Produktivitätswerte vor dem Beginn der Kühlung verwendet, bei *Chlorella vulgaris* nach dem Beginn der Kühlung, weil da in beiden Fällen höchste Produktivität erreicht wurde)

Die Produktivitätskurve bei *Scenedesmus obliquus* zeigt eine typische Beziehung zwischen der Produktivitätentwicklung und dem Wachstumsverlauf an. Mit steigender BTM steigt zuerst die Produktivität an. Es stehen immer mehr Zellen für weitere Zelteilungen zur Verfügung. Dieser Anstieg wird ab einer gewissen Größe der BTM langsamer, bis es zu einem Einbruch der Produktivität kommt. Grund dafür ist die Lichtlimitierung durch Selbstverschattung der Mikroalgen. Für den starken Einbruch der Produktivitätskurve bei *Scenedesmus obliquus* ist zusätzlich die Temperaturänderung verantwortlich. Bei *Chlorella vulgaris* steigt die Produktivitätskurve deutlicher flacher an. Da der Versuch frühzeitig

beendet wurde, konnte diese nicht vervollständigt werden. Bei *Chlorella vulgaris* betrug die maximal erreichte Produktivität $0,60 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$. Bei *Scenedesmus obliquus* waren es $0,74 \text{ g L}^{-1}$.

5.2 Versuchsreihe II

Bei dieser Versuchsreihe wurde eine Mischkultur aus Mikroalgen der Gruppe *Chlorophyta* unter Verwendung von zwei unterschiedlichen Kulturmedien untersucht. In den Reaktoren R1 und R2 wurde KM1 (Ferty 2 + KNO_3) eingesetzt, in den Reaktoren R3 und R4 KM2 (KNO_3 + KH_2PO_4). In Abbildung 5.3 sind die aufgenommenen Wachstumskurven vom KM1 und KM2 dargestellt.

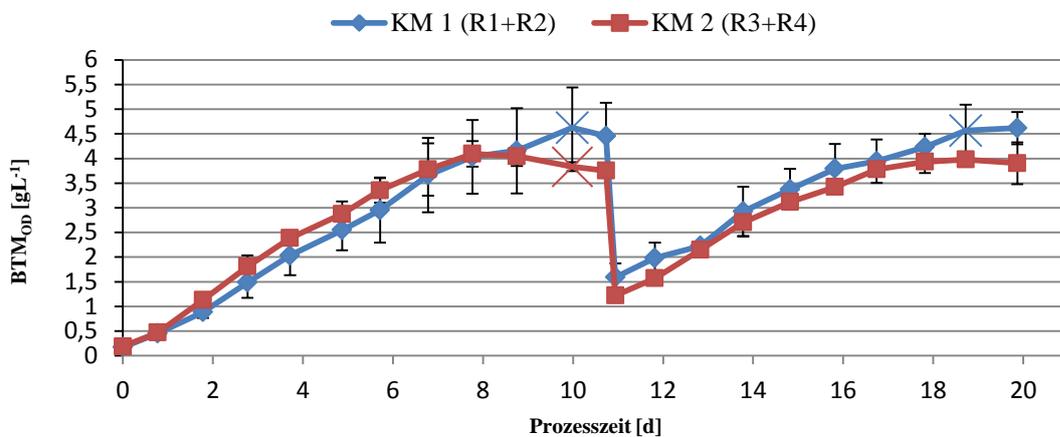


Abbildung 5.3: Wachstumskurven von KM1 und KM2 in der Versuchsreihe II (Messfehler der berechneten BTM wurden durch parallel dazu gemessenen BTM ersetzt und im Graphen mit einem Symbol(X) gekennzeichnet)

Die Wachstumskurven von beiden Kulturmedien verlaufen annähernd identisch. Das Wachstum verläuft zunächst in einer charakteristischen linearen Phase. Nach einer Übergangsphase wird bei KM1 an Tag 10 und bei KM2 an Tag 8 die stationäre Phase erreicht. Nach dem anschließenden Ernten (Tag 11) blieb ein Teil der Algenkultur in den Reaktoren, dadurch betrug die BTM beim Neustart beim KM1 $1,59 \text{ g L}^{-1}$ und beim KM2 $1,22 \text{ g L}^{-1}$. Fehlende Nährstoffe wurden ergänzt. In der zweiten Phase der Kultivierung wiederholt sich der Wachstumsverlauf beider Kulturen. Da die BTM beim erneuten Ansetzen höher war als beim ersten Animpfen, wurde die Versuchsdauer verkürzt. In der ersten Phase des Versuchs betrug die BTM mit KM1 maximal $4,62 \text{ g L}^{-1}$ und in der zweiten Phase $4,63 \text{ g L}^{-1}$. Mit KM2 betrug die BTM in der ersten Phase des Versuchs maximal $4,09 \text{ g L}^{-1}$ und in der zweiten $3,98 \text{ g L}^{-1}$. In Abbildung 5.4 ist die Produktivität-Entwicklung beider Wachstumskurven dargestellt.

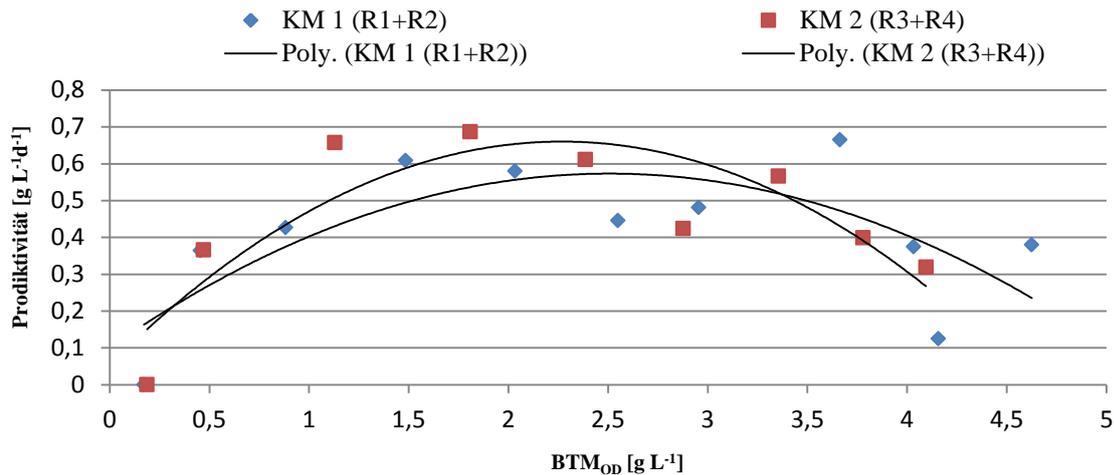


Abbildung 5.4: Produktivitätskurven von KM1 und KM2 in der Versuchsreihe II (Dargestellt sind Produktivität-Werte aus der ersten Phase der Kultivierung, da in der zweiten der neue Ansatz mit einem höheren BTM-Gehalt gestartet wurde. Dies führt dazu, dass anfangs niedrige Produktivität-Werte den bereits von Anfang hohen BTM-Werten gegenüber stehen und eine Verzerrung der Ergebnisse stattfindet)

Bei beiden Produktivitätskurven ähneln sich die Verläufe. Es ist bei beiden zu erkennen, dass am Anfang die Produktivität mit der BTM steigt. Ab einer bestimmten BTM erreichen diese ihr Maximum. Danach sinkt die Produktivität mit der weiter steigenden BTM. Beide Polynome verdeutlichen diesen Verlauf. Die Produktivität von $0,66 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ bei BTM von $3,66 \text{ g L}^{-1}$ mit KM1 wird aus der Auswertung genommen, da dieser ein Messfehler darstellt. Mit KM1 betrug somit die maximal erreichte Produktivität von $0,61 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ bei einer BTM von $1,49 \text{ g L}^{-1}$, mit KM2 $0,69 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ bei BTM von $1,81 \text{ g L}^{-1}$.

5.3 Versuchsreihe III

Ziel in dieser Versuchsreihe war es zu untersuchen, ob MAP im KM3 und AS im KM4 als Nährstoffe für die Kultivierung von Mikroalgen geeignet sind. Beziehungsweise wird getestet, ob durch eine Substitution von KH_2PO_4 durch MAP und von KNO_3 durch AS infrage kommt. In den Reaktoren R1 und R2 wurde mit KM3 kultiviert, in den Reaktoren R3 und R4 mit KM4. Eine Mischkultur aus der Versuchsanlage im Reitbrook diente als Vorkultur. Im Versuchsverlauf sank der pH-Wert in den Reaktoren R3 und R4 mit KM4 unter pH 4. Einsatz von NaOH (1M) führte nur kurzzeitig zum Anstieg des pH-Wertes in den angestrebten Bereich zwischen pH 6 und pH 7. In der Nacht zu Tag 5 schäumten alle vier Reaktoren über und verloren an Biomasse. Dazu wurde in beiden Reaktoren mit KM3 eine bräunliche Färbung festgestellt, was auf eine Bakterienkontamination hindeutete. Aus diesen Gründen wurde die Versuchsreihe am Tag 6 beendet. Weitere Auswertung erfolgt nicht, da der Versuch wiederholt wurde.

5.4 Versuchsreihe IV

In dieser Versuchsreihe wurde MAP mit KNO_3 im KM3 und AS mit KH_2PO_4 im KM4 erneut getestet. In den Reaktoren R1 und R2 wurde mit KM3 kultiviert, in den Reaktoren R3 und R4 mit KM4. Eine Mischkultur aus der Versuchsanlage im Reitbrook kam zum Einsatz. Es wurden keine Mikroelemente zugeführt. Als Puffer wurde KM4 CaCO_3 nach Bedarf zugeführt. In Abbildung 5.5 sind die aufgenommenen Wachstumskurven von KM3 und KM4 dargestellt.

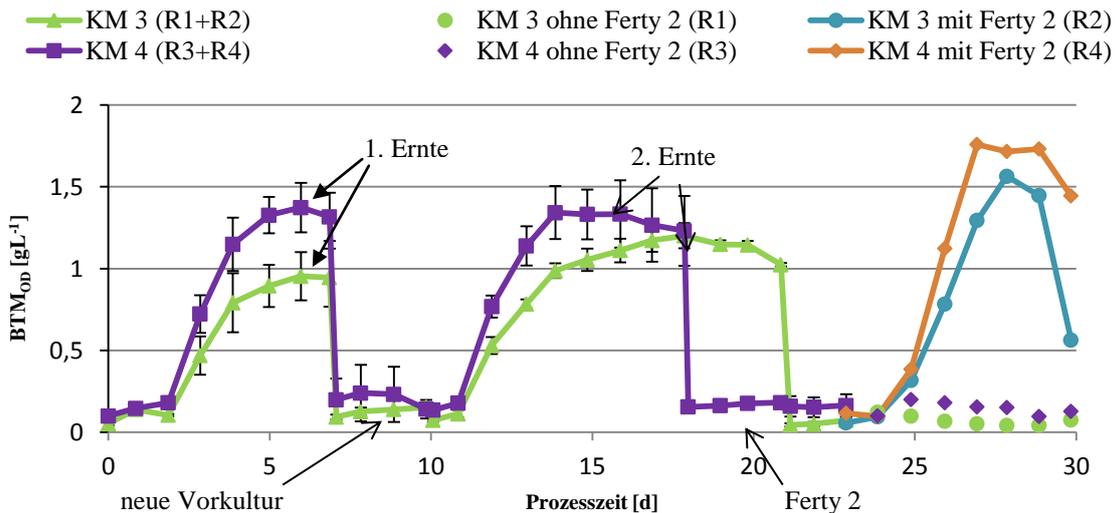


Abbildung 5.5: Wachstumskurven von KM3 und KM4 in der Versuchsreihe IV

Die Wachstumskurven beider Kulturen zeigen einen typischen Wachstumsverlauf. Nach einer Lag-Phase, die erst nach zwei Tagen zu Ende war, folgte eine lineare Wachstumsphase. Anschließend geht das Wachstum nach einer Übergangsphase in eine stationäre Phase über. Im Vergleich zu einander wird deutlich, dass der Einsatz von KM4 zu einem höheren Algenwachstum führte, als mit KM3. Nach dem Erreichen der stationären Phase wurden alle vier Reaktoren geerntet. Mit einem Teil der abgeernteten Algenkultur wurde neu angeimpft. Die Nährstoffe wurden in Sollkonzentrationen von den jeweiligen Kulturmedien (KM3 und KM4) zugeführt. Nach dem ersten Ernten und Neustart (Tag 7) fand kein Wachstum in allen vier Reaktoren statt. Was zu zwei Hypothesen führte. Die erste war, dass die mit der unbehandelten Vorkultur (je 0,4 L pro Reaktor) eingebrachten Mikroelemente aufgebraucht wurden und deshalb kein Wachstum mehr stattfinden konnte. Die zweite Hypothese war, dass die verwendete Vorkultur inaktiv war. Aus diesen Gründen wurden alle vier Reaktoren entleert, gereinigt und mit einer neuen Vorkultur aus der Versuchsanlage im Reitbrook erneut angeimpft (Tag 10). Der neue Wachstumsverlauf beider Kulturen ähnelt dem aus der ersten Kultivierung. Die Algenkultur mit KM4 in den Reaktoren R3 und R4 erreichte die stationäre Phase früher (Tag 18) und wurde als erste geerntet und neu gestartet. Die Algenkultur mit KM3 erreichte am Tag 21 die stationäre Phase. Nach einem erneuten Start fand in allen vier Reaktoren kein Wachstum statt. Mit diesem Wachstumsverlauf wurde erste Hypothese

bestärkt und die zweite widerlegt. Für eine endgültige Bestätigung der ersten Hypothese wird die Limitierung durch Mikroelemente behoben. Dafür wurden dem KM3 in Reaktor R2 und dem KM4 in Reaktor 4 die Mikroelemente in Form von Ferty 2 (2 g) zugeführt. Zur Kontrolle wurde dem KM3 im Reaktor R1 und dem KM4 im Reaktor R3 kein Ferty 2 zugeführt. Dies hatte zu Folge, dass das Wachstum in den Reaktoren R2 und R4 mit Ferty 2 anstieg und in den Reaktoren R1 und R3 ohne Ferty 2 nicht stattfand. Die Versuche wurden am Tag 30 beendet, da am Tag davor Reaktoren R2 und R4 übergeschäumt haben und an Biomasse verloren haben.

Bei der ersten Kultivierung betrug die BTM mit KM3 maximal $0,95 \text{ g L}^{-1}$ und mit KM4 $1,37 \text{ g L}^{-1}$. Bei der zweiten Kultivierung erreichte die BTM mit KM3 maximal $1,20 \text{ g L}^{-1}$ und mit KM4 $1,34 \text{ g L}^{-1}$. Nach der Zugabe von Ferty 2 stieg die maximal erreichte BTM mit KM3 in R2 auf $1,56 \text{ g L}^{-1}$ und mit KM4 in R4 auf $1,76 \text{ g L}^{-1}$. In Abbildung 5.6 ist die Produktivität-Entwicklung beider Wachstumskurven dargestellt.

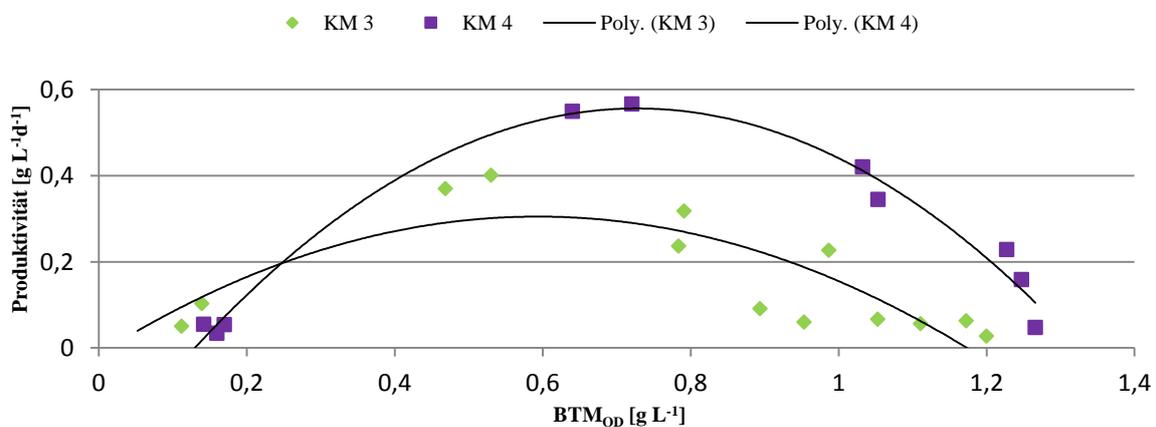


Abbildung 5.6: Produktivitätskurven von KM3 und KM4 in der Versuchsreihe IV (Die erste und die zweite Kultivierung wurden zusammengefasst, dritte wurde nicht berücksichtigt.)

Die Produktivitätskurven beider Versuchsdurchführungen zeigen typischen Verlauf an. Mehrere niedrige Werte von der Produktivität im Bereich der BTM von $0,1-0,2 \text{ g L}^{-1}$ resultieren aus der ausgeprägten Lag-Phase der beiden Wachstumskurven. Ein deutlicher Unterschied sind die höheren Produktivitätskurven mit KM4 im Vergleich zu KM3. Mit KM3 betrug die maximal erreichte Produktivität von $0,40 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ bei einer BTM von $0,53 \text{ g L}^{-1}$, mit KM4 $0,57 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ bei $0,72 \text{ g L}^{-1}$.

5.5 Versuchsreihe V

In dieser Versuchsreihe wurde mit KM3, KM4, KM5 und KM6 kultiviert. Als Vorkultur diente eine vorbehandelte Mischkultur aus der Versuchsanlage im Retbrook (siehe Kapitel 4.1.3). KM5 ($\text{KNO}_3 + \text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{Mikroelemente}$) wurde in den Reaktoren R1 und R2 getestet. Dessen Zusammensetzung von Mikroelementen wurde auf Grund eines Vergleichs von

bekanntem Kulturmedium und von den Erkenntnissen aus vorherigen Versuchen erarbeitet. KM6 (AS+MAP+ME) wurde in den Reaktoren R3 und R4 kultiviert. Die Mikroelemente wurden von dem KM5 übernommen. Als Puffer wurde dem KM6 CaCO_3 nach Bedarf zugeführt. In Abbildung 5.7 sind die aufgenommenen Wachstumskurven vom KM5 und KM6 dargestellt.

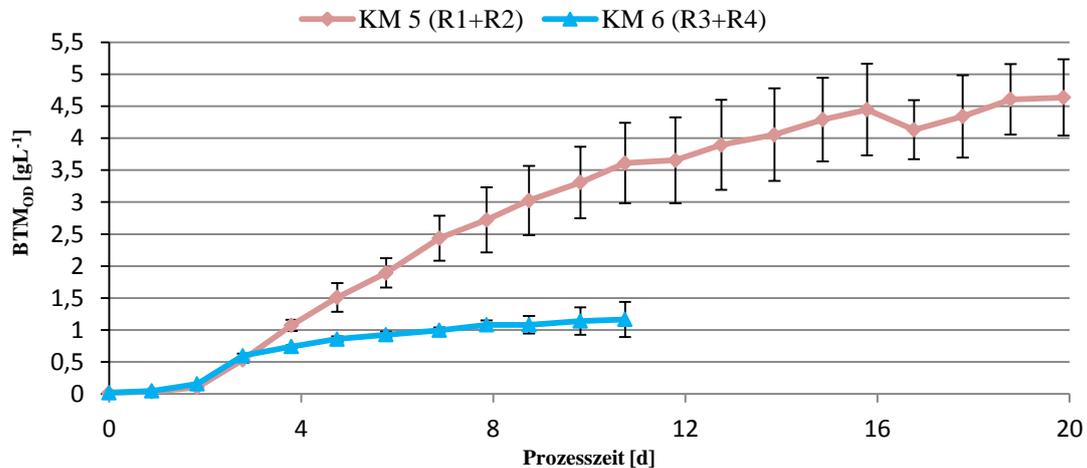


Abbildung 5.7: Wachstumskurven von KM5 und KM6 in der Versuchsreihe V

Beide Wachstumskurven verlaufen im Vergleich zu einander unterschiedlich. Nach einer gemeinsamen Lag-Phase (bis Tag 2) beginnt in beiden Fällen ein lineares Wachstum. Beim KM6 geht dieses bereits nach einem Tag in eine Übergangsphase über. Die stationäre Phase wird am Tag 8 erreicht. Ab Tag 10 war in den Reaktoren R3 und R4 eine bräunliche Färbung aufgetreten. Die Kultivierung mit KM6 wurde dann am Tag 11 beendet. Beim KM5 geht das lineare Wachstum erst am Tag 11 in eine Übergangsphase. In der Nacht zum Tag 16 brach die CO_2 -Zufuhr (leere CO_2 -Flasche) ab. Dies führte zu Abfallen von pH-Wert unter pH 6 und dem Rückgang der BTM. Auf Grund dieser Verzögerung war die stationäre Phase erst am Tag 19 erreicht. Am Tag 20 wird dieser Versuch beendet. Die maximal erreichte BTM betrug mit KM5 $4,66 \text{ g L}^{-1}$, mit KM6 $1,17 \text{ g L}^{-1}$. In Abbildung 5.8 ist die Produktivität-Entwicklung von KM5 dargestellt.

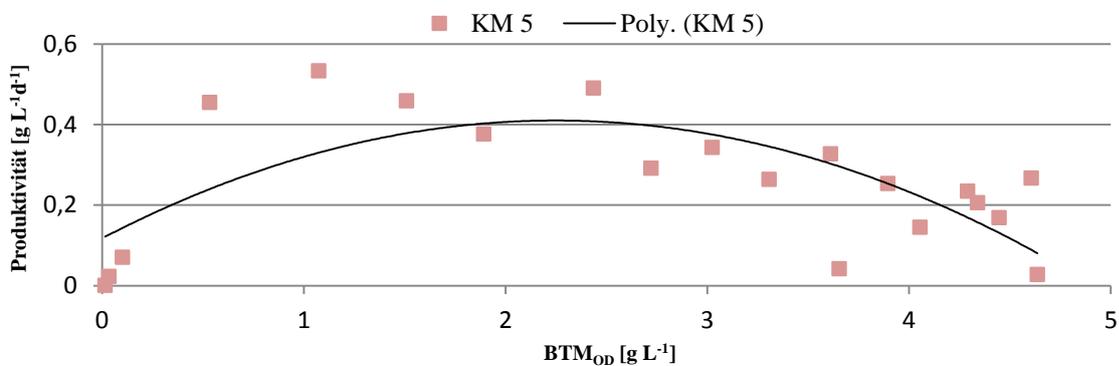


Abbildung 5.8: Produktivitätskurve von KM5 in der Versuchsreihe V

Die Produktivitätskurve mit KM5 zeigt einen typischen Verlauf. Nach einem anfänglichen Anstieg nimmt die Produktivität mit der steigenden BTM wieder ab. Nach Beginn der Abnahme ist eine Häufung an niedrigen Produktivitätswerten entstanden. Grund dafür ist die verlängerte Übergangsphase. Beim KM5 betrug die maximal erreichte Produktivität von $0,53 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$ bei BTM von $1,07 \text{ g L}^{-1}$.

In Abbildung 5.9 ist die Produktivität-Entwicklung von KM6 dargestellt.

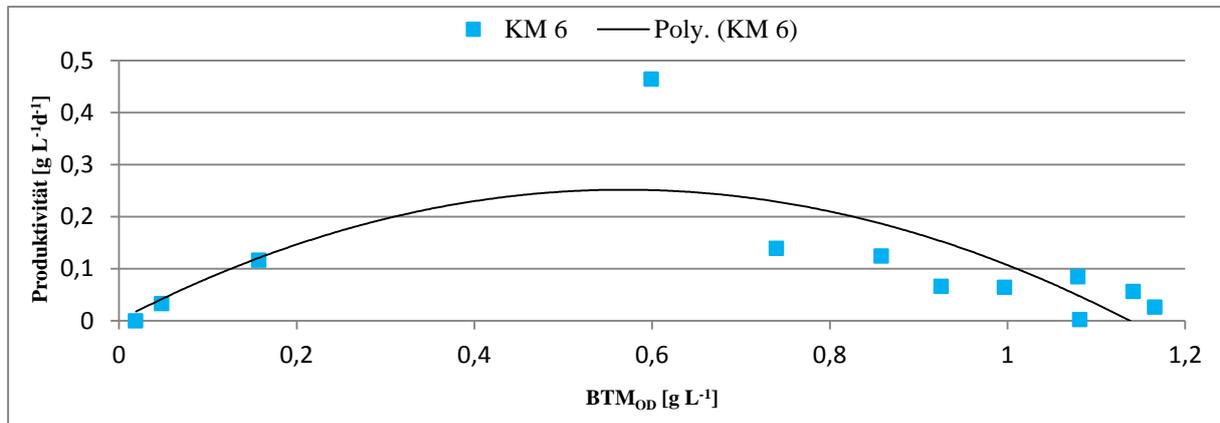


Abbildung 5.9: Produktivitätskurve von KM6 in der Versuchsreihe V

Die Produktivitätskurve mit KM6 zeigt einen typischen Verlauf. Bei der Produktivität von $0,46 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$ bei einer BTM von $0,60 \text{ g L}^{-1}$ kann davon ausgegangen werden, dass es sich um einen Messfehler handelt. Dieser liegt deutlich höher als alle anderen Werte. So betrug die maximal erreichte Produktivität $0,14 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$ bei BTM von $0,74 \text{ g L}^{-1}$.

Zudem war es erforderlich, die ausgewählten Konzentrationen an Mikroelementen im KM5 einer weiteren Prüfung zu unterziehen. In diesem Versuch wurde deswegen die Konzentration an Mikroelementen erhöht und KM5 in Reaktor R2 in 2-facher Konzentration zugeführt. Zur Kontrolle wurde dem KM5 im Reaktor R1 1-fache Konzentration an Mikroelementen zugeführt. Als Vorkultur diente eine vorbehandelte Mischkultur aus der vorhergegangenen Kultivierung mit KM5.

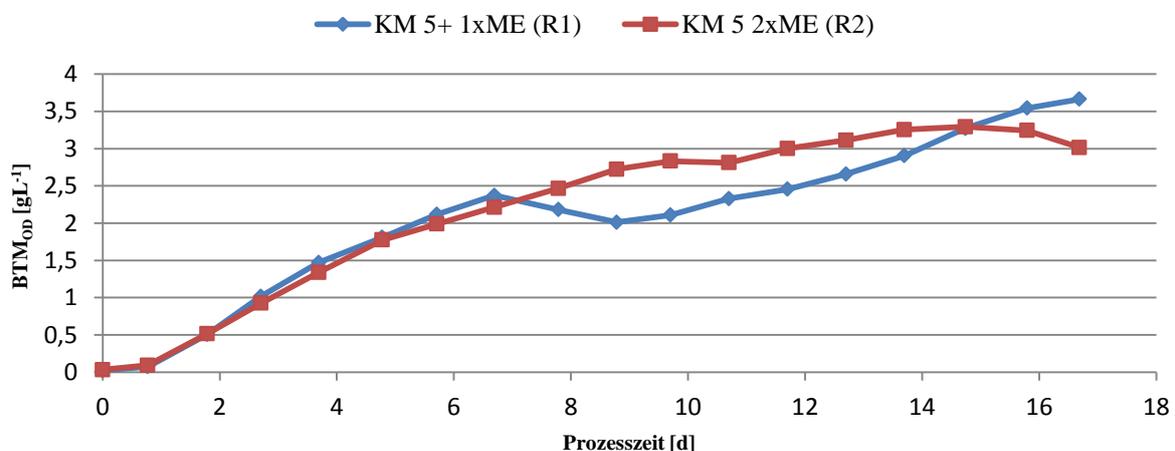


Abbildung 5.10: Wachstumskurven von KM5+ 1ME und KM5+2ME in der Versuchsreihe V

Der Wachstumsverlauf beider Kultivierungen verlief bis Tag 7 identisch. Ab Tag 7 verlaufen beide Wachstumskurven unterschiedlich. Nach einer Übergangsphase erreichte die Kultur mit der 2-fachen Konzentration an Mikroelementen am 24. Tag die stationäre Phase. Die maximal erreichte BTM betrug $3,29 \text{ g L}^{-1}$. Mit KM5 und 1-facher Konzentration an Mikroelementen kommt zuerst zu einem Rückgang der BTM. Erst ab dem Tag 9 begann das lineare Wachstum wieder. An Tag 17 wird die Kultivierung beendet, nachdem sich die stationäre Phase angedeutet hatte. Die maximal erreichte BTM betrug $3,66 \text{ g L}^{-1}$.

In diesem Versuch wurde mit KM3 und KM4 erneut kultiviert. Als Vorkultur diente eine vorbehandelte Mischkultur aus der vorhergegangenen Kultivierung mit KM5. Die Mikroelemente wurden aus dem KM5 übernommen. KM3 wurde im Reaktor R3 eingesetzt, KM4 im Reaktor R4. Als Puffer wurde dem KM4 CaCO_3 nach Bedarf zugeführt. In Abbildung 5.11 sind die aufgenommenen Wachstumskurven von KM3 und KM4 mit Mikroelementen aus KM5 dargestellt.

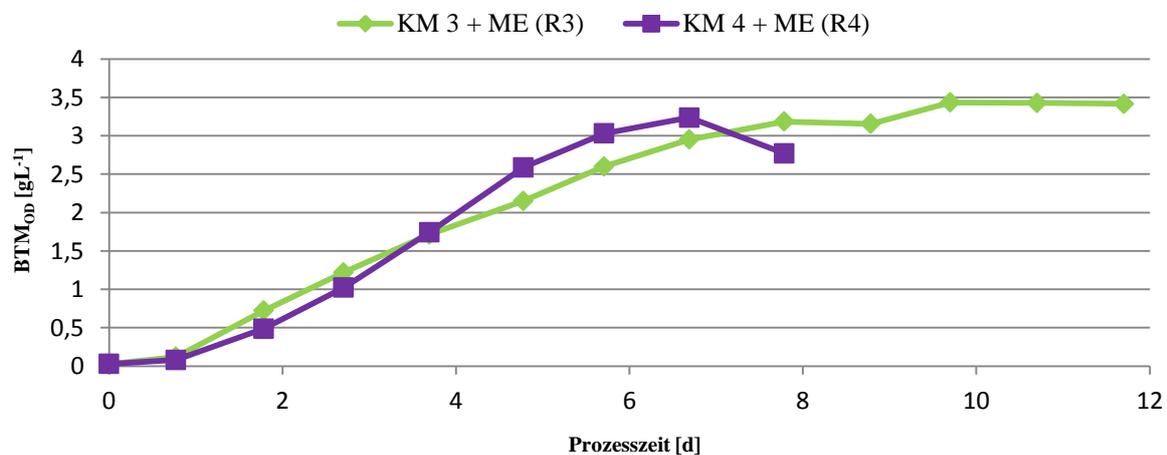


Abbildung 5.11: Wachstumskurven von KM3 und KM4 mit Mikroelementen aus KM5 in der Versuchsreihe V (Kultur mit KM4 schäumte in der Nacht auf Tag 9 über und verlor an BTM. Aus diesem Grund wurde die Kultivierung mit KM4 beendet.)

Nach einer Lag-Phase verläuft das Wachstum mit KM3 linear. Ab dem 7. Tag beginnt die Übergangsphase, die an Tag 10 in die stationäre Phase übergeht. Die maximal erreichte BTM betrug $3,44 \text{ g L}^{-1}$.

Nach einer Lag-Phase verläuft das Wachstum mit KM4 kurz exponentiell, anschließend linear (ab Tag 3). Ab Tag 5 beginnt die Übergangsphase. Am Tag 8 schäumte der Reaktor über und verlor an Biomasse. Der Versuch wurde beendet. Maximal erreichte BTM betrug $3,24 \text{ g L}^{-1}$. In Abbildung 5.12 ist die Produktivität-Entwicklung von KM3 und KM4 dargestellt.

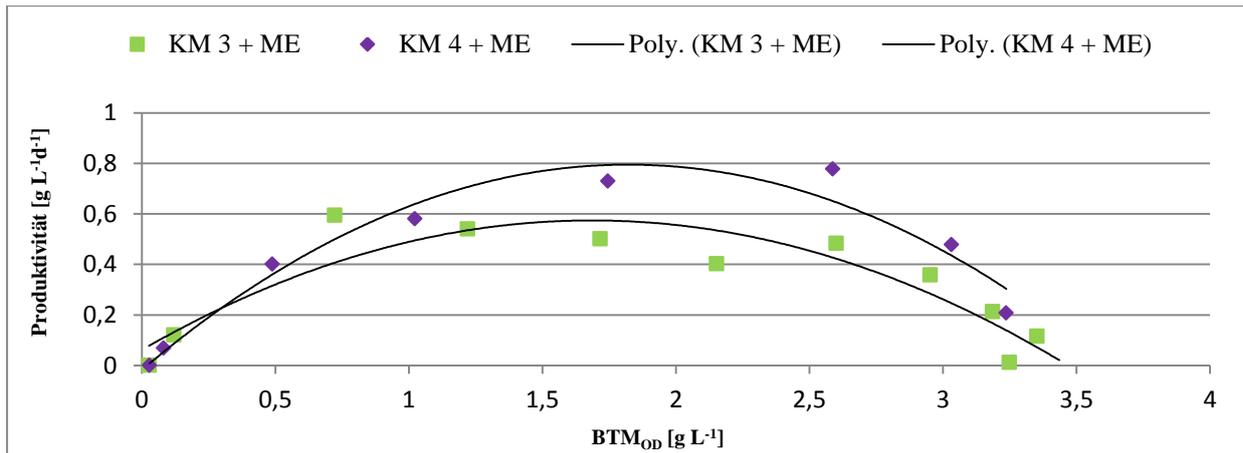


Abbildung 5.12: Produktivitätskurven von KM3 und KM4 in der Versuchsreihe V

Beide Kurven zeigen einen typischen Verlauf der Produktivität. Mit KM3 betrug die maximal erreichte Produktivität $0,59 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ bei einer BTM von $0,72 \text{ g L}^{-1}$. Auf Grund des Polynomverlaufs mit KM4 wird die Produktivität von $0,78 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ bei einer BTM von $2,59 \text{ g L}^{-1}$ als ein Messfehler gedeutet und nicht berücksichtigt. Somit betrug mit KM4 die maximal erreichte Produktivität $0,73 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ bei BTM von $1,74 \text{ g L}^{-1}$.

6 Diskussion/Gegenüberstellung der Ergebnisse

In diesem Kapitel werden die im vorangegangenen Kapitel 5 dargestellten Ergebnisse miteinander verglichen und diskutiert. Zuerst wird ein Wachstumsvergleich der zwei Mikroalgenpezies *Chlorella vulgaris* und *Scenedesmus obliquus* unter dem Einsatz eines Kulturmediums (KM1) diskutiert. Daraufaufgehend werden die verschiedenen Kulturmedien (KM1, KM2, KM3, KM4, KM5 und KM6), mit denen eine Mischkultur aus drei Grünalgen der Gruppe *Chlorophyta* (*Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* und *Chlamydomonas reinhardtii*) kultiviert worden ist, betrachtet.

Wachstumverhalten von Chlorella vulgaris und Scenedesmus obliquus

Die anfänglichen Unterschiede beider Wachstumskurven (siehe *Abbildung 5.1*) können mit den verschiedenen Temperaturoptima der Algenpezies begründet werden. So war *Scenedesmus obliquus* fähig zu Beginn der Kultivierung bei den Temperaturen über 30°C besser zu wachsen als *Chlorella vulgaris*. Ein Beweis dafür ist, dass die *Scenedesmus obliquus* unter diesen Bedingungen ($>30^\circ\text{C}$) eine deutlich größere BTM ($1,87 \text{ g L}^{-1}$) erreichte als *Chlorella vulgaris* ($0,36 \text{ g L}^{-1}$). Bei Letzterer kam es zu einem Wachstumserliegen. Erst durch den Einsatz der Kühlung und dem damit verbundenen Temperaturwechsel auf unter 30°C kam es zu einem Wachstum bei *Chlorella vulgaris*. Bei *Scenedesmus obliquus* führte der T-Wechsel zu einer Anpassungsphase an die neue Temperatur, bevor eine erneute Wachstumsphase begann. Am letzten Versuchstag betrug die BTM bei *Scenedesmus obliquus*

2,83 g L⁻¹ und bei *Chlorella vulgaris* 2,81 g L⁻¹. Auf Grund der veränderten Kultivierungsbedingungen und eines frühzeitigen Abbruchs der Versuchsreihe I lässt sich ein Vergleich der beiden Algenspezies im Hinblick auf den Einsatz von KM1 nicht herstellen. Des Weiteren erfolgte eine Kontamination der Spezies untereinander. Aus diesem Grund wurde entschieden, in den nachfolgenden Versuchen auf den Einsatz von Reinkulturen zu verzichten und mit einer definierten Mischkultur zu arbeiten. Die Kühlung an den Reaktoren wurde für die weiteren Kultivierungen beibehalten.

Entwicklung eines Kulturmediums für Chlorophyta

Insgesamt kamen sechs Kulturmedien zum Einsatz. Davon stellt jedes Einzelne einen weiteren Entwicklungsschritt auf dem Weg zu einem Kulturmedium für die optimierte Kultivierung von *Chlorophyta* in einem Airlift-Säulen-Reaktor dar. Für eine bessere Vergleichbarkeit wird jede Wachstumskurve nur bis zum Versuchstag 11 dargestellt. Grund dafür ist, dass zu diesem Versuchstag alle verwendeten Kulturmedien ihre stationäre Phase erreicht hatten. Eine einzige Ausnahme bildet das KM5. In Abbildung 6.1 sind diese Kulturmedien im Vergleich zueinander mit deren Wachstumskurven dargestellt.

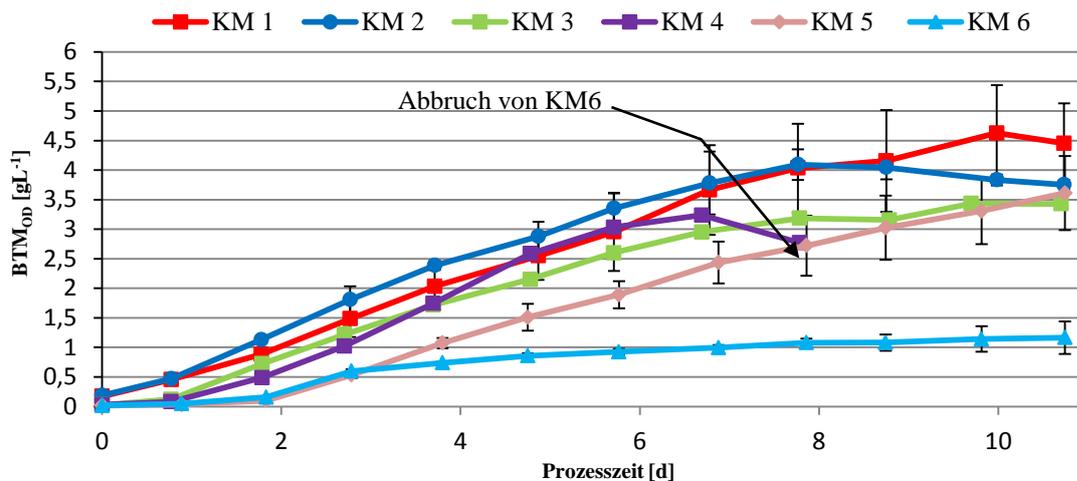


Abbildung 6.1: Übersicht von Wachstumskurven aller Kulturmedien (Ausweitung der Wachstumskurven erfolgt für die Versuchsdauer von 11 Tagen)

Die maximal erreichten BTM wurden bei den Kultivierungen mit KM1 und mit KM5 erreicht. Die geringste BTM-Ausbeute wurde mit dem Kultivierungsversuch mit KM6 erzielt. Für eine bessere Vergleichbarkeit wurden in Tabelle 6.1 alle wichtigen Prozessparameter aus den Kultivierungen mit jeweiligen Kulturmedien zusammengestellt.

Tabelle 6.1: Übersicht alle wichtigen Prozessparameter aus den Kultivierungen mit ihren jeweiligen Kulturmedien (Die Auswahl erfolgte nach den maximal erreichten Werten des jeweiligen Kulturmediums).

Kulturmedium	Ferty2 + KNO ₃	KH ₂ PO ₄ + KNO ₃ + ME nach Pohl, [1986]	MAP + KNO ₃ + ME nach KM5	AS + KH ₂ PO ₄ + ME nach KM5	KH ₂ PO ₄ + KNO ₃ + ME	MAP + AS + ME nach KM5
	KM1	KM2	KM3	KM4	KM5	KM6
Max. erreichte BTM [g L ⁻¹]	4,63	4,09	3,44	3,24	4,66	1,17
Max. erreicht Produktivität [g L ⁻¹ d ⁻¹]	0,61	0,69	0,59	0,73	0,53	0,46
Mittlere T [°C]	28,3 ± 2,3	29,1 ± 2,5	28,7 ± 0,6	28,2 ± 0,6	-	-
Mittlerer pH-Bereich [pH]	7,16 ± 0,4	7,04 ± 0,5	6,75 ± 0,32	5,76 ± 0,89	6,82 ± 0,25	6,16 ± 0,59
Versuchsdauer [d]	10,7	10,7	11,7	8,8	19,9	10,7
stationäre Phase, erreicht am [d]	10,0	7,8	9,8	-	18,8	9,8

Im Vergleich zu den anderen Kulturmedien hat sich KM1 am effektivsten gezeigt. Bei KM1 kann davon ausgegangen werden, dass keine Limitierung durch Mikroelemente aufgetreten ist. Der Grund dafür ist eine kontinuierliche Zugabe von Mikroelementen durch Ferty 2 als P-Quelle. Somit tritt mit KM1 eine Verringerung der Lichtintensität durch Selbstverschattung als einziger Limitierungsfaktor auf. Obwohl die maximal erreichte Produktivität mit KM1 (0,61 g L⁻¹ d⁻¹) nicht die höchste von allen Kulturmedien (siehe Tabelle 6.1) war, stellt dieser Dank der höchsten maximal erreichten BTM von 4,63 g L⁻¹ aller Kulturmedien einen Maßstab für die weiteren Versuche dar. Im Vergleich zu KM1 erreichte die Kultivierung mit KM2 eine niedrigere maximale BTM von 4,09 g L⁻¹ aber eine höhere maximale Produktivität von 0,69 g L⁻¹ d⁻¹.

In den Versuchen mit KM3 und KM4 wurde getestet, ob MAP und AS als Nährstoffe für ein potenzielles Kulturmedium geeignet sind. Eine wichtige Erkenntnis war die Feststellung, dass beim AS-Einsatz in einem Kulturmedium ein Puffer benötigt wird. So wurde CaCO₃ als Puffer im KM4 und später im KM6 eingesetzt. In der Versuchsreihe IV mit KM3 und KM4 wurde festgestellt, dass bereits eine stark verdünnte (0,4 L der Vorkultur auf 8 L in einem Reaktor) unbehandelte Vorkultur für ein Wachstum ausreicht. Die maximal erreichte BTM betrug mit KM3 0,95 g L⁻¹ und mit KM4 1,37 g L⁻¹. Dabei wurden den Kulturmedien KM3 und KM4 keine Mikroelemente in diesem Versuch zugeführt. Der Grund für das Wachstum waren Mikroelemente aus der verwendeten Vorkultur. Aus diesem Anlass wurde beschlossen, bei der Versuchsreihe V die Vorkultur einer Vorbehandlung (siehe Kapitel 4.1.3) zu unterziehen, damit diese von Makro- und Mikroelementen gereinigt wird.

Ein weiteres Ergebnis ist (eine höhere maximal erreichte BTM), dass mit KM4 eine höhere maximale BTM erreicht wurde, nämlich: 0,57 g L⁻¹ d⁻¹, als sie mit KM3 erreicht wurde,

nämlich: $0,40 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$. Der Grund dafür ist, dass NH_4^+ des AS besser von den Mikroalgen verwertet wird als NO_3^- aus KNO_3 . Eine zweitägige Lag-Phase bei beiden Wachstumskurven lässt erkennen, dass die Mikroalgen sich erst an ein neues Kulturmedium mit anderen P- und N-Quellen anpassen mussten. Diese Versuchsreihe zeigt deutlich, dass MAP und AS als Nährstoffe für eine Kultivierung von Mikroalgen geeignet sind. Diese Ergebnisse wurden in Versuchsreihe V durch den Einsatz von Mikroelementen (identisch mit KM5) bestätigt. Trotz eines frühzeitigen Versuchsabbruches mit KM4 betrug maximal erreichte Produktivität $0,73 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$. Im Vergleich mit anderen Kulturmedien war diese am höchsten (siehe Tabelle 6.1). Die maximal erreichte BTM mit KM1 wurde mit diesen beiden Kulturmedien KM3 ($3,44 \text{ g L}^{-1}$) und KM4 ($3,24 \text{ g L}^{-1}$) nicht erreicht.

Die N- und P-Quelle in KM5 (KNO_3 und KH_2PO_4) gehören zu den etablierten Nährstoffen und müssen nicht explizit überprüft werden. Die Mikroelemente in KM5 wurden dagegen durch die gewonnenen Erfahrungen und eines Vergleichs von bekannten Kulturmedien zusammengestellt. Es sollte überprüft werden, ob diese für ein Kulturmedium geeignet sind und in ausreichender Konzentration vorliegen. Das Wachstum der Mikroalgen mit KM5 erreichte eine vergleichbare hohe BTM ($4,66 \text{ g L}^{-1}$) wie mit KM1 ($4,63 \text{ g L}^{-1}$). Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass die ausgewählten Mikroelemente und deren Konzentration hinreichend waren. Eine deutliche Abweichung im Gegensatz zu KM1 war die Versuchsdauer mit KM5. Diese wurde mit 20 Tagen doppelt so lang wie mit KM1 (elf Tage). Ein Grund für die Verzögerung war der Ausfall der CO_2 -Zufuhr am Tag 16. Dadurch wurde die stationäre Phase verschoben. Ein weiterer Grund für so eine lange Versuchsdauer könnte eine abweichende Prozesstemperatur bei dieser Kultivierung mit KM5 sein. Um die ausgewählten Konzentrationen an ME zu überprüfen, wurde in einer anschließenden Batch-Kultivierung die Konzentration der ME im KM5 verändert. Es wurde eine 2-fache Konzentration an ME gewählt. Zum Vergleich wurde parallel dazu KM5 mit der 1-fachen Konzentration an ME erneut getestet. Beide aufgenommenen Wachstumskurven bringen keine Hinweise, dass eine höhere Konzentration von ME das Wachstum erhöht. Somit wurde mit diesem Versuch das LIEBIGsche Minimum Gesetz überprüft. Dieses Gesetz besagt, dass die unzureichende Konzentration eines einzelnen ME das Wachstum begrenzt [Wild und Schmitt, 2012]. Dabei ist es nicht relevant, dass die anderen ME im Überschuss vorhanden sind.

Mit KM6 wurde untersucht, ob MAP und AS gleichzeitig in einem Kulturmedium eingesetzt werden können. Die maximal erreichte BTM ($1,17 \text{ g L}^{-1}$) und Produktivität ($0,46 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) mit KM6 sind die niedrigsten aller verwendeten Kulturmedien. Der Grund dafür war die K-Limitierung. Durch das Ersetzen von KNO_3 mit MAP und KH_2PO_4 mit AS fehlte dem KM6 eine K-Quelle. Das erzielte Wachstum entstand durch K-Reste, die möglicherweise nach der Vorbehandlung von MAP noch im MAP vorhanden sind. Aus diesem Grund lässt sich kein Vergleich mit anderen Kulturmedien herstellen.

Die in den durchgeführten Versuchen erreichten Produktivitäten von $0,53$ - $0,73 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$ liegen im unteren Bereich der Werte, welche aus der Literatur für Säulen-Reaktoren bekannte sind.

Nach Lee [2001] liegen diese im Bereich von $0,69-1,6 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$. In einem vergleichbaren Airlift-Säulen-Reaktor-System mit der Kultivierung von *Chlorella vulgaris* wurden durchschnittlich $3,7 \text{ g L}^{-1}$ erreicht [Bischof, 2012]. Diese Ergebnisse decken sich mit den erzielten BTM-Werten von $3,2,4-4,66 \text{ g L}^{-1}$.

7 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung eines Standardmediums für die Kultivierung von *Chlorophyta* (Grünalgen) in einem Airlift-Säulen-Reaktor. Das neu entwickelte Kulturmedium soll bei künftigen Versuchsdurchführungen als Referenzmedium eingesetzt werden um Versuche mit unterschiedlichen Rahmenbedingungen besser vergleichbar zu machen. Weitere Anforderungen an das Medium waren eine hohe Leistungsfähigkeit, in Bezug auf Wachstum und Produktivität der Mikroalgen, sowie eine generelle Substitutionsmöglichkeit der Makronährstoffe. Für die Umsetzung wurden in einer ersten Versuchsdurchführung (I) die Wachstumspotentiale der Algenarten *Chlorella vulgaris* und *Scenedesmus obliquus* untersucht. Um eine geeignete Nährstoffzusammensetzung des Kulturmediums zu erarbeiten, wurde in der darauffolgenden Versuchsreihe (II) mit aus der Literatur bekannten Kulturmedien durchgeführt. Verwendet wurden Medien nach Hindersin et al., [2012] (KM1) und nach Pohl et al., [1986] (KM2).

Um die Substitutionsmöglichkeit der Makronährstoffe zu untersuchen, wurden in zwei nachfolgenden Versuchsreihen (III und IV) die Nährstoffe Magnesiumammoniumphosphat (MgNHPO_4 / MAP) und Ammoniumsulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ / AS) auf deren Eignung für die Kultivierung von Grünalgen geprüft. Hierzu wurde in einem ersten Schritt die konventionelle Phosphatquelle Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4) durch MAP und in einem zweiten die Stickstoffquelle Kaliumnitrat (KNO_3) durch AS ersetzt. Diese Nährstoffe können eine kostengünstige Alternative zu handelsüblichen Kulturmedien sein, da deren Rückgewinnung aus den Gärresten einer Biogasanlage möglich ist.

Mit den aus diesen Versuchen gewonnen Ergebnissen, so wie einer Literaturrecherche, wurde anschließend die Zusammensetzung eines geeigneten Standardmediums erarbeitet. In Versuchsreihe V wurde dieses auf seine potentielle Eignung getestet. In dieser Versuchsreihe (V) wurde anschließend im Standardmedium sowohl das KNO_3 als auch KH_2PO_4 durch die Nährstoffe MAP und AS substituiert und getestet.

Die Kultivierungsversuche wurden sowohl Reinkulturen der Arten *C. vulgaris* und *S. obliquus* als auch mit einer Mischkultur aus den Grünalgen *C. vulgaris*, *S. obliquus* und *Chlamydomonas reinhardtii* durchgeführt. Die Algen entstammen der Sammlung für Conjugate-Kulturen des Biozentrums Klein Flottbek der Universität Hamburg. Als Kultivierungsstrategie wurde eine Repeated-Batch-Kultivierung gewählt. Die verwendete Versuchsanlage ist ein Airlift-Säulen-Reaktor-System (ASRS), welches aus vier Acrylreaktoren und den dazugehörigen Peripheriegeräten besteht. Das Reaktorvolumen der einzelnen Reaktoren betrug 9 L. Als Lichtquelle wurden drei Halogenmetalldampflampen eingesetzt. Die an der Reaktoroberfläche gemessene PAR-Strahlung betrug $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Die Begasung erfolgte Gemisch aus Luft (0,375 vvm) und CO_2 (0,0125 vvm).

Die Ergebnisse zeigen, dass in der Versuchsreihe für *C. vulgaris* mit einer BTM von $2,81 \text{ g L}^{-1}$ und *S. obliquus* mit einer BTM von $2,83 \text{ g L}^{-1}$ nahezu gleiche Erträge erzielt wurden. Anzumerken ist, dass während der Versuchsdurchführung eine gegenseitige Kontamination der beiden Algenarten festgestellt wurde. Aus diesem Grund wurde entschieden, in den nachfolgenden Versuchen auf den Einsatz von Reinkulturen zu verzichten und mit einer definierten Mischkultur zu arbeiten. Der direkte Vergleich der beiden Medien KM1 und KM2 in der Versuchsreihe II ergab, dass das Medium KM1 mit einer BTM von $4,63 \text{ g L}^{-1}$ gegenüber der BTM von $4,09 \text{ g L}^{-1}$ des Mediums KM2 die höchste BTM ermöglichte. Aus den Versuchsdurchführungen (III und IV) zur Substitution der konventionellen N_2 und P Nährstoffe lässt sich ableiten, dass MAP und AS als Substitute geeignet sind. Mit MAP als Nährstoff wurde eine BTM von $1,20 \text{ g L}^{-1}$ erreicht. Unter Verwendung von AS wurde eine BTM von $1,34 \text{ g L}^{-1}$ erreicht. In Versuchsreihe V wurde das fertige Standardmedium (KM5) getestet und anschließend auf eine Limitierung der Mikroelemente überprüft. Es lag keine Limitierung vor. Die BTM war mit $4,66 \text{ g L}^{-1}$ annähernd gleich hoch, wie die mit KM1 erreichte. Anschließend wurden im Standardmedium die Stickstoff- und Phosphatquellen mit MAP und AS substituiert. Die Substitution beider Nährstoffe (KM6) ergab eine starke Wachstumslimitierung. Die BTM betrug $1,17 \text{ g L}^{-1}$. Wurde nur ein Nährstoff getauscht, lag die BTM mit MAP als Substituent bei $3,44 \text{ g L}^{-1}$ und mit AS bei $3,24 \text{ g L}^{-1}$.

Durch die in dieser Arbeit durchgeführten Versuche, konnte ein Standardnährmedium entwickelt werden. Die Versuche zeigen, dass das Medium eine genau so hohe BTM ermöglicht, wie die etablierten Kulturmedien. Es konnte gezeigt werden, dass eine Substitution der Stickstoff- und Phosphorquellen möglich ist. Darüber hinaus handelt es sich bei MAP und AS um zweckmäßige Substituenten, die von den Algen gut verwertet werden können und hohe BTM erlauben.

8 Ausblick

In diesem Kapitel werden Vorschläge über ein weiteres Vorgehen bei künftigen Entwicklungen eines Kulturmediums für die optimierte Kultivierung von *Chlorophyta* in einem Airlift-Säulen-Reaktor gemacht. Eine wichtige Erkenntnis dieser Arbeit ist die Eignung von MAP und AS als P- und N-Quellen in einem möglichen Kulturmedium für *Chlorophyta*. Besonders AS als N-Quelle hat gute Ansätze gezeigt, wie zum Beispiel die höchste Produktivität. Das pH-Absinken bei KM4 hat sich als negativ herausgestellt. Der dagegen angesetzte Puffer, CaCO_3 , wurde schnell aufgebraucht und musste alle 2-3 Tage nachdosiert werden. Daher ist es eine Überlegung, einen anderen Puffer zu testen. Der Versuch, gleichzeitig P- und N-Quellen in einem Kulturmedium durch MAP und AS zu ersetzen, ist durch Fehlen einer K-Quelle gescheitert. Bei den nächsten Untersuchungen sollte das beachtet und eine K-Quelle eingesetzt werden. Das in den Versuchen verwendete MAP stammte aus den Ablagerungen einer Kläranlage. Beim AS handelte es sich um eine handelsübliche Chemikalie. In weiteren Arbeiten sollte versucht werden, beide Nährstoffe aus einem Gärrest einer Biogasanlage zu verwenden. Die aus einem Gärrest gewonnenen Nährstoffe MAP und AS könnten zu einem anderen Wachstumsverhalten der Mikroalgen führen. Für eine bessere Prozessüberwachung sollte eine kontinuierliche Messung von pH-Werten und der Temperatur bei den Reaktoren ermöglicht werden. Durch das Anbringen von Kühlschläuchen zur Kühlung wurden 20 % der vorderen Reaktoroberfläche verdeckt. Dies führt zu einer Einschränkung des Lichtangebots durch eingesetzte Metalllampen. Mit einem Einsatz der LED-Lampen würde die Problematik der Temperatur gelöst werden und die Kühlung wäre nicht mehr notwendig.

9 Literaturverzeichnis

B

Becker, E. W. [2007]: *Micro-algae as a source of protein*. Biotechnology Advances, 25(2), 207-210.

Brennan, L. und Owende, P. [2010]: *Biofuels from microalgae—a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products*. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 14(2), 557-577.

Bischof, F. [2012]: *Rationelle Energiewandlung und erneuerbare Energien*. Hochschule Amberg-Weiden, Amberg. Forschungsbericht

C

Campbell, N. A., Reece, J. B., und Marl, J. [2006]: *Biologie*. 6. aktualisierte Auflage. (S.163-181, S. 919-938). München (ua): Pearson Studium.

CCALA [2013]: *Culture Collection of Autotrophic Organisms*. Bild von Webseite: ccala.butbn.cas.cz. Abgerufen am 28. November 2013, von: <http://ccala.butbn.cas.cz/index.php?page=sr&cb1=Algae>

Chisti, Y. [2007]: *Biodiesel from microalgae*. Biotechnology advances, 25(3), 294-306.
Kap 1 Kap 3.2.2

D

Strebel, H., und Krauter, D. [1988]: *Das Leben im Wassertropfen. Mikroflora und Mikrofauna des Süßwassers*. 8.Auflage. Franckh-Kosmos Verlags GmbH, Stuttgart

F

Fachverband Biogas e.V., (Hrsg). [2013]. *Branchenzahlen - Prognose 2013 / 2014*. Branchenzahlen von Webseite: biogas.org. Abgerufen am 06. Januar 2014 von: [http://www.biogas.org/edcom/webfvb.nsf/id/DE_Branchenzahlen/\\$file/13-11-11_Biogas%20Branchenzahlen_2013-2014.pdf](http://www.biogas.org/edcom/webfvb.nsf/id/DE_Branchenzahlen/$file/13-11-11_Biogas%20Branchenzahlen_2013-2014.pdf)

Findenegg, G. R., Paschinger, H., und Broda, E. [1971]: *Untersuchung der Lichtabhängigkeit der Aufnahme von Rubidium, Zink, Kobalt, Blei und Cer durch Chlorella nach einer Flußmethode*. Planta, 99(2), 163-173.

Fraunhofer IGB [2013] : *Wertvoller Rohstoff Gülle*. Presseinformation vom 22.01.2013. Abgerufen am 20. Januar 2014 von: http://www.igb.fraunhofer.de/de/pressemedien/presseinformationen/2013/bioecosim_rohstoff_guelle.html

Fraunhofer IGB [2013]: *Landwirtschaftliche Phosphorrückgewinnung*. Presseinformation vom 08.10.2013. Abgerufen am 20. Januar 2014 von: <http://www.igb.fraunhofer.de/de/pressemedien/presseinformationen/2013/phosfarm-landwirtschaftliche-phosphorrueckgewinnung.html>

Fraunhofer IGB[2013]: *Stoffproduktion mit Mikroalgen*. Bild von Webseite: <http://www.igb.fraunhofer.de>. Abgerufen am 13. Januar 2014, von: <http://www.igb.fraunhofer.de/content/dam/igb/de/images/umweltbio/algen/reaktor-gruen.jpg>

G

Grobbelaar, J.U. [2013]: *Inorganic Algal Nutrition*. In: A. Richmond, & Q. Hu, Handbook of Microalgal Culture West Sussex UK: John Wiley and Sons. S. 123-133.

Gutzeit, G., und Neis, U. [2007]: *Symbiotische Algen-Bakterien-Biomasse: Entwicklung eines neuen Abwasserreinigungsverfahrens für Länder mit hoher Sonneneinstrahlung*. KA ABWASSER ABFALL, 54(7), 698.

H

Heerenklage J., Maxfield T., Zapf A., Wieczorek N., Körner I. [2010]: *Vergärung von Mikroalgen - Möglichkeiten und Grenzen. Tagungsband der 7. Biogastagung* In: Anaerobe biologische Abfallbehandlung - Aktuelle Tendenzen, Co-Vergärung und Wirtschaftlichkeit, 7. Fachtagung, Eigenverlag des Forums für Abfallwirtschaft und Altlasten e.V., S. 82-91, 07.-08. Juni 2010; Dresden

Hempel, D. C.; Haarstrick, A.; Krull, R. [2012]: *Bioverfahrenstechnik*. In: Grote K.-H. & Feldhusen J. (Hrsg), *Dubbel -Taschenbuch für den Maschinenbau*. Heidelberg Berlin DE. Springer Verlag. S. N33-N54.

Hindersin, S., Leupold, M., Kerner, M., & Hanelt, D. (2012): *Irradiance optimization of outdoor microalgal cultures using solar tracked photobioreactors*. *Bioprocess and biosystems engineering*, 1-11.

Hoffmann, M. [2010]: *Physiologische Untersuchungen parameterinduzierter Adaptionsantworten von *Nannochloropsis salina* in turbidostatischen Prozessen und deren biotechnologischer Potentiale*. Doctoral dissertation, Forschungs-und Technologiezentrum Westküste der Univ. Kiel in Büsum.

J

Jin, L. & Quiang, H. [2013]: *Chlorella: Industrial Production of Cell Mass and Chemicals*. In: A. Richmond, & Q. Hu, Handbook of Microalgal Culture .West Sussex UK: John Wiley and Sons. S. 339-359.

K

Kessler, E. [1992]: *Chlorella*. In *Naturwissenschaften*, Band 79 (Jun. 1992), Ausgabe 6, S. 260-265.

Kohl, J.-G. & Nicklisch, A. [1988]: *Ökophysiologie der Algen. Wachstum und Ressourcennutzung*. Stuttgart-New York DE-USA: Gustav Fischer Verlag.

Kong, Q. X., Li, L., Martinez, B., Chen, P., und Ruan, R. [2010]: *Culture of microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* in wastewater for biomass feedstock production*. *Applied biochemistry and Biotechnology*, 160(1), 9-18.

L

Langmüller, G., & Springer-Lederer, H. [1974]: *Membranpotential von *Chlorella fusca* in Abhängigkeit von pH-Wert, Temperatur und Belichtung*. *Planta*, 120(2), 189-196.

Lee, Y. K. [2001]: *Microalgal mass culture systems and methods: their limitation and potential*. *Journal of Applied Phycology*, 13(4), 307-315.

Leupold, M. [2013]: *Einfluss von Mischrate und Temperaturführung auf die Kultivierung von Mikroalgen in Photobioreaktoren.* Hamburg DE: UHH Biozentrum Klein Flottbek Dissertstion.

Leupold, M., Hindersin, S., Gust, G., Kerner, M., & Hanelt, D. [2013]: *Influence of mixing and shear stress on Chlorella vulgaris, Scenedesmus obliquus, and Chlamydomonas reinhardtii.* Journal of Applied Phycology, 1-11.

Leupold, M.; Hindersin, S.; Kerner, M. & Hanelt, D. [2013]: *The effect discontinuous airlift mixing in outdoor flat pannel photobioreactors on growth of Scenedesmus obliquus.* Bioprocess and Biosystems Engineering, Band 36 Ausgabe 11.

Linne von Berg, K. H., Melkonian, M., Hoef-Emden, K., Marin, B. [2004]: *Der Kosmos Algenführer: Die wichtigsten Süßwasseralgen im Mikroskop.* Kosmos Verlag, Stuttgart.

M

Mayo, A., und Noike, T. [1994]: *Response of mixed cultures of Chlorella vulgaris and heterotrophic bacteria to variation of pH.* Water Science and Technology, 30(8), 285-294.

Meiser, A [2004]: *Produktion von Eicosapentaensäure mit Phaeodactylum tricornutum im Flat Panel Airlift Reaktor.* Universität Hohenheim. Dissertation

Müller, H. M. [1961]: *Über die Veränderung der chemischen Zusammensetzung von Scenedesmus obliquus bei synchroner Kultur im Licht-Dunkel-Wechsel.* Planta, 56(5), 555-574.

N

NOVAgreen [2013]:. Das Algenmodul. Bild von Webseite: <http://www.novagreen-microalgae.de>. Abgerufen am 13. Januar 2014, von: <http://www.novagreen-microalgae.de/index.php/das-algenmodul>

Nutraingredients [2012].Bild von Webseite: <http://www.nutraingredients-usa.com>. Abgerufen am 13. Januar 2014, von: <http://www.nutraingredients-usa.com/Suppliers2/Cyanotech-reports-surge-in-Q3-profits-on-back-of-exceptional-growth-in-astaxanthin>

O

Ogbonna, J. C. and Tanaka, H. [2000]: *Light requirement and photosynthetic cell cultivation–Development of processes for efficient light utilization in photobioreactors.* In: Journal of Applied Phycology, Band 12 (Okt. 2000), Ausgabe 3-5, S. 207-218.

P

POC [2013]: *Evolution des Sehens.* Bild von Webseite: <http://www.organische-chemie.ch/>. Abgerufen am 28. November 2013, von: <http://www.organische-chemie.ch/chemie/2008jan/sehen.shtm>

Pohl, P., Kohlhase, M., Krautwurst, S. K., Baasch, K. - H. [1986]: *An inexpensive inorganic medium for the mass cultivation of freshwater microalgae.* Phytochemistry, 26(6), 1657-1659.

Pörtner, R. [2006]: *Grundlagen der Bioverfahrenstechnik.* In Antranikian, G. (Ed.), Angewandte Mikrobiologie. Springer DE .S.237-253.

Pulz, O. [2001]: *Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms*. Applied Microbiology and Biotechnology, 57(3), 287-293.

Pulz, O. [2009]: *Mikroalgen als Energieträger der Zukunft*. In: Biotechnologische Energieumwandlung. Berlin-Heidelberg DE: Springer-Verlag. S. 87-95

Pulz, O. und Gross, W. (2004): *Valuable products from biotechnology of microalgae*. Applied microbiology and biotechnology, 65(6), 635-648.

R

Richter, G. [1988]: *Stoffwechselphysiologie der Pflanzen–Physiologie und Biochemie des Primär- und Sekundärstoffwechsels*. 5. Überarb. u. erw. Auflage, Georg Thieme Verlag. S.71-242.

Rosello Sastre, R., und Posten, C. [2010]: *Die vielfältige Anwendung von Mikroalgen als nachwachsende Rohstoffe*. Chemie Ingenieur Technik, 82(11), 1925-1939.

Rösch, Chr. und Posten, C. [2012]: *Introduction to the Thematic Focus*. In Technikfolgenabschätzung: *Challenges and Perspectives of Microalgae Production*. Kalsruher Institut für Technologie. 21. Jahrgang, Heft 1-Juli 2012

S

SAG [2013]: *List of Media and Recipes*. Abgerufen am 19. August 2013 von: <http://www.uni-goettingen.de/de/list-of-media-and-recipes/186449.html>

Schmack D., Schneider G., Nusko R. [2008]: *Effizienzsteigerung der Biogasnutzung durch Solarenergie*. Schmack Biogas AG, Forschungsbericht

Sorokin, C., und Krauss, R. W. (1958): *The effect of light intensity on the growth rates of green algae*. Plant physiology, 33 (2), S.109-113.

Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., & Isambert, A. [2006]: *Commercial applications of microalgae*. Journal of bioscience and bioengineering, 101(2), 87-96.

Stach, S. [2005]: *Polysaccharide aus marinen Bakterien und der Mikroalge Chlorella vulgaris*. Göttingen DE: Cuvilluer.

U

Umweltbundesamt [2007]: *Rückgewinnung eines schadstofffreien, mineralischen Kombinationsdüngers" Magnesiumammoniumphosphat-MAP" aus Abwasser und Klärschlamm: Forschungsbericht 202 33 308*. S. 75-110

W

Wild, A. und Schmitt, V. [2012]: *Ernährung und stoffliche Zusammensetzung der Pflanzen*. In Biochemische und physiologische Versuche mit Pflanzen (S. 139-163). Spektrum Akademischer Verlag.

Z

ZDE[2010]: *Zukunft der Energie*. Bild von Webseite: <http://www.zukunft-der-energie.de>. Abgerufen am 13. Januar 2014, von: <http://www.zukunft-der-energie.de/typo3temp/pics/e3154b2595.png>

Zhu, X. G., Long, S. P., and Ort, D. R. [2008]: *What is the maximum efficiency with which photosynthesis can convert solar energy into biomass?* Current opinion in biotechnology, 19(2), 153-159.

Zitteli, G.C., Biondi, N., Rodolfi, L. und Tredici, M.R. [2013]: *Photobioreactors for Mass Production of Microalge*. In: A. Richmond, & Q. Hu, Handbook of Microalgal Culture West Sussex UK: John Wiley and Sons. S. 225-266.

10 Anhang

10.1 Herstellerangaben zur Zusammensetzung von Ferty Basisdünger

Zusammensetzung der Ferty® Basisdünger

Produkt	Ferty® Basisdünger 1	Ferty® Basisdünger 2	Ferty® Basisdünger 3	Ferty® Basisdünger 4	Ferty® Basisdünger 5	Ferty® Basisdünger 6	Ferty® Basisdünger 7
Formulierung	14 + 38 (+5)	3 + 15 + 35 (+5)	11 + 39 (+4)	4 + 8 + 40 (+4)	5 + 20 + 30 (+5)	6 + 14 + 37 (+4)	4 + 16 + 32 (+6)
N-Form	Ohne N	3 % NO ₃ -N	Ohne N	4 % NO ₃ -N	4 % NO ₃ -N 1 % NH ₄ -N	6 % NO ₃ -N	0,8 % NO ₃ -N 3,2 % NH ₄ -N
Bor	0,020	0,035	0,035	0,020	0,035	0,020	0,035
Kupfer	0,003*	0,006*	0,006*	0,003*	0,006*	0,003*	0,006*
Eisen	0,200**	0,400***	0,400**	0,200***	0,400****	0,200**	0,350****
Mangan	0,040*	0,080*	0,080*	0,040*	0,080*	0,040*	0,080*
Molybdän	0,006	0,012	0,012	0,006	0,012	0,006	0,012
Zink	0,005*	0,010*	0,010*	0,005*	0,010*	0,005*	0,010*
Einsatzgebiet	Erdlose Kulturen	Substratkulturen	Hydrokulturlpflanzen	Erdloser Gemüsehau	Kulturen, die ein ausgeglichenes NPK-Verhältnis benötigen	Erdlose Kulturen, enthält weniger Sulfat	Azerka-Kulturen

* = als Chelat von EDTA

** = als Chelat von DTPA + EDDHA

*** = als Chelat von DPTA

**** = als Chelat von DTPA + EDTA

Alle Basisdünger enthalten bereits einen erhöhten Spurenelementanteil für die Stickstoffkomponenten. Die Spuren sind chelatisiert. Eisen liegt größtenteils als Chelat von DTPA bzw. EDDHA vor und ist damit auch bei höheren pH-Werten stabil.

10.2 Erfasste Daten der durchgeführten Versuche

Im Folgenden sind die Messwerte aus allen durchgeführten Versuchsreihen (I-V).

Tabelle 10.1: Messwerte der Versuchsreihe I (R1 und R3 mit *Clorella vulgaris*, R2 und R4 mit *Scenedesmus obliquus*)

Prozess- zeit [d]	R1		R2		R3		R4	
	BTM _{OD} [g L ⁻¹]	BTM [g L ⁻¹]	BTM _{OD} [g L ⁻¹]	BTM [g L ⁻¹]	BTM _{OD} [g L ⁻¹]	BTM [g L ⁻¹]	BTM _{OD} [g L ⁻¹]	BTM [g L ⁻¹]
0,0	0,09	0,08	0,12	0,14	0,14	0,08	0,08	0,21
0,7	0,41	0,65	0,52	0,81	0,58	0,43	0,96	0,81
1,7	0,13	0,43	1,29	1,99	0,49	0,61	2,05	2,16
2,7	0,26	0,36	1,75	1,62	0,46	0,47	1,99	1,66
3,7	0,74	0,63	1,54	1,66	0,73	0,55	1,62	1,42
4,7	1,18	0,96	1,77	2,22	1,21	1,02	2,15	2,06
5,5	1,58	1,94	1,94	2,17	1,81	1,16	2,47	2,51
6,6	2,16	2,10	2,02	2,28	2,24	1,74	2,29	2,79
7,6	2,57	2,55	2,33	2,16	3,06	3,24	3,32	3,07

Tabelle 10.2: Messwerte der Versuchsreihe II

Prozesszeit [d]	R1+KM1		R2+KM1		R3+KM2		R4+KM2	
	BTM _{OD} [g L ⁻¹]	BTM [g L ⁻¹]	BTM _{OD} [g L ⁻¹]	BTM [g L ⁻¹]	BTM _{OD} [g L ⁻¹]	BTM [g L ⁻¹]	BTM _{OD} [g L ⁻¹]	BTM [g L ⁻¹]
0,0	0,18	0,22	0,17	0,17	0,18	0,16	0,19	0,16
0,8	0,52	0,52	0,39	0,46	0,46	0,51	0,48	0,50
1,8	0,97	1,03	0,80	0,87	1,09	1,01	1,17	1,08
2,8	1,71	1,18	1,27	1,21	1,65	1,44	1,97	1,54
3,7	2,32	2,06	1,75	1,66	2,33	2,34	2,44	2,12
4,9	2,84	2,74	1,64	2,26	1,93	2,70	3,05	2,84
5,7	3,42	3,18	2,49	3,37	3,18	4,07	3,53	4,30
6,8	4,20	4,13	3,13	2,83	3,40	3,50	4,16	3,63
7,8	4,56	3,30	3,50	2,67	3,91	3,53	4,28	3,83
8,8	4,77	4,03	3,55	3,47	3,90	3,77	4,19	3,87
10,0	3,90	5,20	3,02	4,05	3,24	3,90	3,77	3,95
10,7	4,93	5,75	3,98	4,55	3,70	4,13	3,81	4,30
10,9	1,79	1,58	1,39	1,09	1,13	1,02	1,31	1,16
11,8	2,20	1,83	1,76	1,58	1,49	1,20	1,65	1,41
12,8	2,26	2,52	2,19	1,96	2,04	1,74	2,26	1,92
13,8	3,28	2,46	2,57	2,08	2,51	2,08	2,89	2,32
14,8	3,67	3,53	3,08	2,87	3,02	2,80	3,22	2,80
15,8	4,15	3,83	3,44	3,50	3,39	3,27	3,45	3,17
16,7	4,25	3,77	3,63	3,47	3,73	3,25	3,82	3,40
17,8	4,42	4,00	4,04	3,80	3,77	3,57	4,09	3,80
18,7	4,94	5,08	3,53	4,20	3,88	3,68	4,08	4,08
19,9	4,85	4,90	4,39	4,35	3,61	3,63	4,20	3,98

Tabelle 10.3: Messwerte der Versuchsreihe III

Prozesszeit [d]	R1+KM3		R2+KM3		R3+KM4		R4+KM4	
	BTM _{OD} [g L ⁻¹]	BTM [g L ⁻¹]	BTM _{OD} [g L ⁻¹]	BTM [g L ⁻¹]	BTM _{OD} [g L ⁻¹]	BTM [g L ⁻¹]	BTM _{OD} [g L ⁻¹]	BTM [g L ⁻¹]
0,0	0,04	0,03	0,03	0,04	0,03	0,04	0,03	0,02
0,8	0,11	0,12	0,11	0,13	0,10	0,10	0,09	0,08
1,8	0,53	0,56	0,44	0,38	0,15	0,20	0,18	0,23
2,8	0,98	0,87	0,82	0,78	0,40	0,42	0,42	0,39
3,8	1,50	1,36	1,18	1,13	0,78	0,71	0,55	0,57
4,8	1,15	1,43	0,84	1,11	0,39	0,84	0,26	0,71
5,8	0,37	0,32	0,37	0,56	0,70	0,79	0,28	0,31

Tabelle 10.4: Messwerte der Versuchsreihe IV

Prozess- zeit [d]	R1+KM3		R2+KM3		R3+KM4		R4+KM4	
	BTM _{OD} [g L ⁻¹]	BTM [g L ⁻¹]	BTM _{OD} [g L ⁻¹]	BTM [g L ⁻¹]	BTM _{OD} [g L ⁻¹]	BTM [g L ⁻¹]	BTM _{OD} [g L ⁻¹]	BTM [g L ⁻¹]
0,0	0,06	0,06	0,04	0,05	0,10	0,19	0,10	0,17
0,8	0,15	0,18	0,12	0,13	0,15	0,17	0,14	0,15
1,9	0,11	0,13	0,10	0,15	0,20	0,26	0,16	0,22
2,8	0,55	0,58	0,39	0,53	0,80	0,87	0,64	0,65
3,9	0,92	0,91	0,66	0,74	1,26	1,34	1,03	1,11
5,0	0,98	1,03	0,80	0,86	1,40	1,45	1,25	1,30
6,0	1,06	1,07	0,85	0,86	1,48	1,56	1,27	1,33
6,9	1,07	1,08	0,82	0,82	1,42	1,46	1,21	1,22
7,1	0,10	0,09	0,08	0,10	0,11	0,38	0,29	0,60
7,8	0,14	0,17	0,11	0,12	0,12	0,35	0,36	0,52
8,9	0,14	0,17	0,14	0,15	0,11	0,33	0,35	0,51
9,9	0,16	0,14	0,14	0,17	0,10	0,31	0,18	0,33
10,1	0,08	0,09	0,07	0,08	0,15	0,31	0,12	0,38
10,8	0,13	0,14	0,09	0,10	0,19	0,29	0,17	0,33
11,9	0,57	0,50	0,49	0,49	0,82	0,74	0,72	0,65
13,0	0,80	0,77	0,76	0,73	1,22	1,13	1,05	0,93
13,9	1,02	0,82	0,96	0,80	1,46	1,05	1,23	0,82
14,8	1,10	0,90	1,00	0,93	1,44	1,12	1,22	0,98
15,9	1,16	1,07	1,06	1,06	1,48	1,41	1,19	1,29
16,9	1,22	1,24	1,12	1,16	1,42	1,58	1,11	1,20
17,9	1,25	1,13	1,15	1,09	1,38	1,47	1,08	1,11
19,0	1,17	1,20	1,13	1,19	0,16	0,27	0,15	0,37
19,8	1,16	1,20	1,13	1,14	0,16	0,21	0,17	0,32
20,8	1,03	1,06	1,02	0,98	0,17	0,25	0,18	0,28
21,1	0,05	0,06	0,04	0,04	0,20	0,24	0,17	0,25
21,9	0,06	0,05	0,04	0,04	0,20	0,35	0,11	0,37
22,9	0,09	0,08	0,06	0,06	0,19	0,33	0,11	0,31
23,8	0,12	0,12	0,09	0,12	0,21	0,24	0,12	0,27
24,9	0,10	0,12	0,32	0,30	0,23	0,23	0,10	0,17
25,9	0,07	0,08	0,78	0,71	0,20	0,17	0,39	0,39
26,9	0,05	0,10	1,29	1,23	0,18	0,17	1,12	1,02
27,9	0,04	0,06	1,56	1,44	0,16	0,20	1,76	1,66
28,9	0,04	0,06	1,45	1,68	0,15	0,15	1,72	1,84
29,8	0,07	0,12	0,56	0,72	0,10	0,09	1,73	2,06

Tabelle 10.5: Messwerte der Versuchsreihe V (KM5 und KM6)

Prozess- zeit [d]	R1+KM5		R2+KM5		R3+KM5		R4+KM5	
	BTM _{OD} [g L ⁻¹]	BTM [g L ⁻¹]	BTM _{OD} [g L ⁻¹]	BTM [g L ⁻¹]	BTM _{OD} [g L ⁻¹]	BTM [g L ⁻¹]	BTM _{OD} [g L ⁻¹]	BTM [g L ⁻¹]
0,0	0,01	0,00	0,02	0,01	0,02	0,00	0,02	0,01
0,9	0,04	0,01	0,03	0,02	0,05	0,03	0,05	0,04
1,8	0,11	0,11	0,10	0,10	0,15	0,14	0,16	0,15
2,8	0,57	0,61	0,50	0,49	0,58	0,56	0,62	0,50
3,8	1,13	1,19	1,01	0,97	0,73	0,71	0,75	0,71
4,8	1,67	1,81	1,35	1,37	0,89	0,89	0,83	0,84
5,8	2,05	2,07	1,73	1,67	0,96	0,93	0,89	0,87
6,9	2,69	2,91	2,19	2,19	1,03	1,00	0,97	0,96
7,9	3,08	3,24	2,36	2,46	1,13	1,13	1,03	1,02
8,7	3,41	3,50	2,64	2,69	1,18	1,16	0,99	1,03
9,8	3,70	3,64	2,91	2,80	1,29	1,17	0,99	1,07
10,7	4,05	4,10	3,17	3,05	1,36	1,23	0,97	1,07
11,8	4,13	4,16	3,18	3,11	1,54	1,57	-	-
12,7	4,39	4,27	3,40	3,39	1,33	1,36	-	-
13,9	4,57	4,70	3,54	3,66	-	-	-	-
14,9	4,75	4,74	3,83	3,74	-	-	-	-
15,8	4,95	5,10	3,94	3,96	-	-	-	-
16,8	4,46	4,60	3,80	3,86	-	-	-	-
17,8	4,80	4,86	3,88	3,80	-	-	-	-
18,8	5,00	5,06	4,22	4,14	-	-	-	-
19,9	5,06	5,48	4,22	4,14	-	-	-	-

Tabelle 10.6: Messwerte der Versuchsreihe V (KM3 und KM4)

Prozess- zeit [d]	R1+KM3		R2+KM3		R3+KM4		R4+KM4	
	BTM _{OD} [g L ⁻¹]	BTM [g L ⁻¹]	BTM _{OD} [g L ⁻¹]	BTM [g L ⁻¹]	BTM _{OD} [g L ⁻¹]	BTM [g L ⁻¹]	BTM _{OD} [g L ⁻¹]	BTM [g L ⁻¹]
20,1	0,02	0,01	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03	0,03
20,9	0,07	0,10	0,09	0,10	0,12	0,13	0,08	0,09
21,9	0,51	0,55	0,51	0,46	0,72	0,70	0,49	0,55
22,8	1,02	1,01	0,93	0,84	1,22	1,14	1,02	1,15
23,8	1,47	1,46	1,34	1,20	1,72	1,72	1,74	1,68
24,9	1,81	1,87	1,77	1,76	2,15	2,25	2,59	2,40
25,8	2,12	2,23	1,99	1,85	2,60	2,70	3,03	2,73
26,8	2,37	2,30	2,21	2,13	2,95	2,83	3,24	3,35
27,9	2,18	2,20	2,47	2,30	3,19	3,13	2,77	2,93
28,9	2,01	2,27	2,72	2,70	3,16	3,57	-	-
29,8	2,11	2,03	2,83	2,90	3,44	3,23	-	-
30,8	2,33	2,34	2,81	2,86	3,43	3,40	-	-
31,8	2,46	2,37	3,00	3,37	3,42	3,23	-	-
32,8	2,66	2,70	3,11	3,17	3,27	3,37	-	-
33,8	2,90	2,90	3,26	3,30	3,24	3,47	-	-
34,8	3,27	3,60	3,29	3,57	3,24	3,73	-	-
35,9	3,54	3,64	3,24	3,63	3,25	3,87	-	-
36,8	3,66	3,76	3,01	2,90	3,35	6,17	-	-
37,7	4,12	3,95	-	-	-	-	-	-