



Hochschule für Angewandte  
Wissenschaften Hamburg  
*Hamburg University of Applied Sciences*

## Bachelorarbeit

Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg  
Fakultät Life Science  
im Studiengang Biotechnologie

# Einfluss der Temperatur und Lichtintensität auf die Mikroalgenzusammensetzung einer geschlossenen Freilandkultivierung

vorgelegt von

Julian Mierswa

Matrikelnummer: XXXXXXXXXX

Hamburg, den 17.01.2020

Erstprüfer: Prof. Dr. Claus-Dieter Wacker

Zweitprüfer: Prof. Dr.-Ing. Kerstin Kuchta

## **Zusammenfassung:**

In der vorliegenden Arbeit wurde die Mikroalgenzusammensetzung der Grünalge *Scenedesmus vacuolatus* analysiert und auf eine Korrelation mit der Temperatur und der Lichtintensität in einer Freilandkultivierung untersucht. Für die Beurteilung wurden die Protein-, Saccharid- und Lipidgehalte sowie das Fettsäurespektrum der einzelnen Algenproben bestimmt. Die Ergebnisse zeigten, dass die Lichtintensität größeren Einfluss auf die Primärmetabolite aufwies als die Temperatur. Es konnte eine Korrelation zwischen der Lichtintensität und dem Protein- sowie Saccharidanteil der Proben gezeigt werden. Ein Einfluss der Lichtintensität auf den Lipidgehalt sowie auf das Fettsäurespektrum konnte nicht beobachtet werden. Die Temperatur wies dagegen nur eine Korrelation mit dem Fettsäurespektrum auf. Diese Tendenz konnte jedoch nur eingeschränkt gezeigt werden.

Die Ergebnisse der Korrelationen können jedoch nur unter Vorbehalt angenommen werden, da in einer Freilandkultivierung mehrere Stressfaktoren gleichzeitig auf die Mikroalgen einwirken. Durch die Analysen der Proben konnten Nährstoffmängel während der Kultivierung vermutet werden, welche die Primärmetaboliten zusätzlich beeinflusst haben könnten. Die Analyse der Mikroalgenproben zeigten daher eindeutige Verbesserungsvorschläge, um zukünftige Kultivierungen und Untersuchungen zu verbessern.

# Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	V
Tabellenverzeichnis .....	VIII
Abkürzungsverzeichnis.....	IX
1. Einleitung und Zielsetzung .....	1
2. Theoretische Grundlagen.....	2
2.1 Mikroalgen .....	2
2.2 Photosynthese der Mikroalgen.....	3
2.2.1 Lichtreaktion der Photosynthese .....	4
2.2.2 Dunkelreaktion der Photosynthese .....	6
2.2.3 Lichtenergie aus photosynthetisch aktiver Strahlung.....	7
2.3 Kultivierungssysteme.....	7
2.4 Flat Panel Airlift Reaktoren .....	10
2.5 Bioraffineriekonzept .....	12
2.6 Inhalts- und Wertstoffe aus Mikroalgen .....	14
2.6.1 Einfluss der Temperatur und Lichtintensität .....	15
2.6.2 Marktrelevante Wertstoffe.....	16
3. Material und Methoden.....	19
3.1 Bestimmung der organischen Trockensubstanz.....	21
3.2 Bestimmung des Gesamtstickstoffgehalts (TKN).....	23
3.3 Bestimmung der Lipidkonzentration / Fettsäuremethylester .....	24
3.4 Bestimmung der Saccharidkonzentration .....	24
3.5 Wetterstation / Wetterdaten.....	25
4. Darstellung der Ergebnisse .....	26
4.1 Ergebnisse der Trockensubstanz / organischen Trockensubstanz .....	26
4.2 Ergebnisse der Wetterstation und der Analysen der einzelnen Proben.....	27
4.2.1 Ergebnisse des Reaktors M1R3 vom 04.08.2017.....	28
4.2.2 Ergebnisse des Reaktors M1R3 vom 29.09.2017.....	33
4.2.3 Ergebnisse der Reaktoren M1R3 & M2R3 vom 20.9.2017 .....	39
4.2.4 Ergebnisse der Reaktoren M1R4 & M2R4 vom 12.10.2017 .....	45
4.2.5 Ergebnisse des Reaktors M1R4 vom 25.08.2019.....	53
4.3 Überblick über die gesammelten Ergebnisse .....	59
5. Diskussion.....	64
5.1 Durchschnittliche stoffliche Zusammensetzung .....	64
5.2 Einfluss der Temperatur .....	67

5.2.1 Einfluss der Temperatur auf den Proteingehalt .....	67
5.2.2 Einfluss der Temperatur auf den Saccharidgehalt .....	68
5.2.3 Einfluss der Temperatur auf den Lipidgehalt und das Fettsäurespektrum .....	69
5.3 Einfluss der Lichtintensität .....	71
5.3.1 Einfluss der Lichtintensität auf den Proteingehalt .....	72
5.3.2 Einfluss der Lichtintensität auf den Saccharidgehalt .....	72
5.3.3 Einfluss der Lichtintensität auf den Lipidgehalt .....	73
5.4 Analyse der Ergebnisse des Reaktors M1R4 (18.08.2017 - 25.08.2017) .....	76
6. Fazit und Ausblick .....	78
Literaturverzeichnis .....	81
Anhang: .....	97

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: (links) Aufbau der Flat Panel Airlift Reaktoren der Firma Subitec. (rechts) Vergleich des seitlichen Strömungsprofil zwischen konventionellen und Subitec FPA-Reaktoren (Subitec GmbH) .....	11
Abbildung 2: Marines Bioraffineriekonzept modifiziert nach (Wieczorek 2018) .....	14
Abbildung 3: Darstellung der gemessenen mittleren Lichtintensität, der mittleren Tagestemperatur, der maximalen Tagestemperatur und der Sonnenstunden für den Reaktor M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 28.07.2017 - 4.08.2017 .....	28
Abbildung 4: Darstellung der mittleren Tagestemperatur, des gemittelten täglichen Niederschlags sowie der täglichen Regenstunden für den Reaktor M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 28.07.2017 - 4.08.2017 .....	29
Abbildung 5: Darstellung der täglichen Dunkelzeit, der Regenstunden, der gemittelten Temperatur und der Niederschlagsintensität für den Reaktor M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 28.07.2017 - 04.08.2017. Temperatur, Niederschlagsintensität sowie Regenstunden beziehen sich auf die Dunkelzeit .....	30
Abbildung 6: Übersicht über die Konzentration (links) sowie die prozentuale Verteilung (rechts) der Proteine, Saccharide, Lipide und dem unbestimmten Anteil (Rest) in der organischen Trockensubstanz für den Reaktor M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 28.07.2017 - 04.08.2017 .....	31
Abbildung 7: Übersicht des Spektrums der enthaltenen Fettsäuren in $\text{mg g}^{-1}$ (Balkendiagramm) sowie die prozentuale Verteilung (Kreisdiagramm) für die Algenprobe aus dem Reaktor M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 28.07.2017 - 4.08.2017 .....	32
Abbildung 8: Darstellung der gemessenen mittleren Lichtintensität, der mittleren Tagestemperatur, der maximalen Tagestemperatur und der Sonnenstunden für den Reaktoren M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 22.09.2017 - 29.09.2017 .....	33
Abbildung 9: Darstellung der mittleren Tagestemperatur, des gemittelten täglichen Niederschlags sowie der täglichen Regenstunden für den Reaktor M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 22.09.2017 - 29.09.2017 .....	34
Abbildung 10: Darstellung der täglichen Dunkelzeit, der Regenstunden, der gemittelten Temperatur und der Niederschlagsintensität für die Reaktoren M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 22.09.2017 -29.09.2017. Temperatur, Niederschlagsintensität sowie Regenstunden beziehen sich auf die Dunkelzeit .....	35
Abbildung 11: Übersicht über die Konzentration (links) sowie die prozentuale Verteilung (rechts) der Proteine, Saccharide, Lipide und dem unbestimmten Anteil (Rest) in der organischen Trockensubstanz für den Reaktor M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 22.09.2017 - 29.09.2017 .....	36
Abbildung 12: Übersicht des Spektrums der enthaltenen Fettsäuren in $\text{mg g}^{-1}$ (Balkendiagramm) sowie die prozentuale Verteilung (Kreisdiagramm) für die Algenprobe aus dem Reaktor M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 22.09.2017 - 29.09.2017 .....	37

Abbildung 13: Darstellung der gemessenen mittleren Lichtintensität, der mittleren Tagestemperatur, der maximalen Tagestemperatur und der Sonnenstunden für die Reaktoren M1R3 und M2R3 im Kultivierungszeitraum vom 13.09.2017 - 20.09.2017	39
Abbildung 14: Darstellung der mittleren Tagestemperatur, des gemittelten täglichen Niederschlags sowie der täglichen Regenstunden für die Reaktoren M1R3 und M2R3 im Kultivierungszeitraum vom 13.09.2017 - 20.09.2017	40
Abbildung 15: Darstellung der täglichen Dunkelzeit, der Regenstunden, der gemittelten Temperatur und der Niederschlagsintensität für die Reaktoren M1R3 und M2R3 im Kultivierungszeitraum vom 13.09.2017 - 20.09.2017. Temperatur, Niederschlagsintensität sowie Regenstunden beziehen sich auf die Dunkelzeit	41
Abbildung 16: Übersicht über die Konzentration (links) sowie die prozentuale Verteilung (rechts) der Proteine, Saccharide, Lipide und dem unbestimmten Anteil (Rest) in der organischen Trockensubstanz für die Reaktoren M1R3 und M2R3 im Kultivierungszeitraum vom 13.09.2017 - 20.09.2017	42
Abbildung 17: Übersicht des Spektrums der enthaltenen Fettsäuren in $\text{mg g}^{-1}$ (Balkendiagramm) sowie die prozentuale Verteilung (Kreisdiagramm) für die Algenproben aus dem Reaktor M1R3 und M2R3 im Kultivierungszeitraum vom 13.09.2017 - 20.09.2017	43
Abbildung 18: Darstellung der gemessenen mittleren Lichtintensität, der mittleren Tagestemperatur, der maximalen Tagestemperatur und der Sonnenstunden für die Reaktoren M1R4 und M2R4 im Kultivierungszeitraum vom 05.10.2017 - 12.10.2017	45
Abbildung 19: Darstellung der mittleren Tagestemperatur, des gemittelten täglichen Niederschlags sowie der täglichen Regenstunden für die Reaktoren M1R4 und M2R4 im Kultivierungszeitraum vom 05.10.2017 - 12.10.2017	46
Abbildung 20: Darstellung der täglichen Dunkelzeit, der Regenstunden, der gemittelten Temperatur und der Niederschlagsintensität für die Reaktoren M1R4 und M2R4 im Kultivierungszeitraum vom 13.09.2017 - 20.09.2017. Temperatur, Niederschlagsintensität sowie Regenstunden beziehen sich auf die Dunkelzeit	47
Abbildung 21: Übersicht über die Konzentration (links) sowie die prozentuale Verteilung (rechts) der Proteine, Saccharide, Lipide und dem unbestimmten Anteil (Rest) in der organischen Trockensubstanz für die Reaktoren M1R4 und M2R4 im Kultivierungszeitraum vom 05.10.2017 - 12.10.2017	49
Abbildung 22: Übersicht des Spektrums der enthaltenen Fettsäuren in $\text{mg g}^{-1}$ (Balkendiagramm) sowie die prozentuale Verteilung (Kreisdiagramm) für die Algenproben aus dem Reaktor M1R4 und M2R4 im Kultivierungszeitraum vom 05.10.2017 - 12.10.2017	51
Abbildung 23: Darstellung der gemessenen mittleren Lichtintensität, der mittleren Tagestemperatur, der maximalen Tagestemperatur und der Sonnenstunden für die Reaktoren M1R4 im Kultivierungszeitraum vom 18.08.2017 - 25.08.2017	53
Abbildung 24: Darstellung der mittleren Tagestemperatur, des gemittelten täglichen Niederschlags sowie der täglichen Regenstunden für den Reaktor M1R4 im Kultivierungszeitraum vom 18.08.2017 - 25.08.2017	54

Abbildung 25: Darstellung der täglichen Dunkelzeit, der Regenstunden, der gemittelten Temperatur und der Niederschlagsintensität für den Reaktor M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 18.08.2017 - 25.08.2017. Temperatur, Niederschlagsintensität sowie Regenstunden beziehen sich auf die Dunkelzeit.....	55
Abbildung 26: Übersicht über die Konzentration (links) sowie die prozentuale Verteilung (rechts) der Proteine, Saccharide, Lipide und dem unbestimmten Anteil (Rest) in der organischen Trockensubstanz für den Reaktor M1R4 im Kultivierungszeitraum vom 18.08.2017 - 25.08.2017 .....	56
Abbildung 27: Übersicht des Spektrums der enthaltenen Fettsäuren in mg g <sup>-1</sup> (Balkendiagramm) sowie die prozentuale Verteilung (Kreisdiagramm) für die Algenprobe aus dem Reaktor M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 18.08.2017 - 25.08.2017 .....	57
Abbildung 28: Zusammenfassung der Mikroalgenzusammensetzung der einzelnen Proben .....	59
Abbildung 29: Zusammenfassung der wichtigsten Wetterparameter der jeweiligen Kultivierungswochen .....	60
Abbildung 30: Anordnung der Reaktoren am Standort Reitbrook .....	104

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht der verwendeten Geräte, Chemikalien und Methoden .....	20
Tabelle 2: Ergebnisse der Bestimmung der Trockensubstanz sowie die der organischen Trockensubstanz. Die prozentualen Anteile beziehen sich auf die Algenmasse vor der Trocknung für die jeweilige Probe .....	26
Tabelle 3: Übersicht der prozentualen Anteile der essentiellen, gesättigten und ungesättigten Fettsäuren sowie der PUFAs in den Proben .....	62
Tabelle 4: Übersicht der verwendeten Geräte sowie deren Hersteller für die jeweilige Analysemethode.....	97
Tabelle 5: Verwendete Chemikalien geordnet nach der verwendeten Analyse .....	98
Tabelle 6: Verwendete Geräte zur Messung der Temperatur und Lichtintensität .....	99
Tabelle 7: Fettsäurespektrum der Mikroalgenproben aus dem Reaktor M1R3 im Kultivierungszeitraum 28.07.2017 – 04.08.2017 .....	100
Tabelle 8: Fettsäurespektrum der Mikroalgenproben aus dem Reaktor M1R4 im Kultivierungszeitraum 22.09.2017 – 29.09.2017 .....	100
Tabelle 9: Fettsäurespektrum der Mikroalgenproben aus den Reaktoren M1R3 und M2R3 im Kultivierungszeitraum 13.09.2017 – 20.09.2017 .....	100
Tabelle 10: Fettsäurespektrum der Mikroalgenproben aus den Reaktoren M1R4 und M2R4 im Kultivierungszeitraum 05.10.2017 – 12.10.2017 .....	101
Tabelle 11: Fettsäurespektrum der Mikroalgenproben aus dem Reaktor M1R4 im Kultivierungszeitraum 18.08.2017 – 25.08.2017 .....	101
Tabelle 12: Konzentrationsangaben der Proteine, Saccharide sowie Lipide der einzelnen Proben bezogen auf die gemessene organische Trockensubstanz .....	102
Tabelle 13: Übersicht der enthaltenen Fettsäuren in % bezogen auf den jeweiligen Lipidanteil der einzelnen Proben. Zur Differenzierung sind unter den Reaktornamen die Erntedaten aufgeführt. Die Essentielle Fettsäuren sind hervorgehoben .....	103

## Abkürzungsverzeichnis

ADP	<i>Adenosindiphosphat</i>
ATP	<i>Adenosintriphosphat</i>
C	<i>Kohlenstoff</i>
C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	<i>Glucose</i>
CO <sub>2</sub>	<i>Kohlenstoffdioxid</i>
DMP	<i>2,2-Dimethoxypropan</i>
FID	<i>Flammenionisationsdetektor</i>
FPA	<i>Flat Panel Airlift</i>
GAP	<i>Glycerinaldehyd-3-phosphat</i>
H	<i>Wasserstoff</i>
H <sub>2</sub> O	<i>Wasser</i>
MAP	<i>Magnesiumammoniumphosphat</i>
NADP	<i>Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat</i>
O <sub>2</sub>	<i>Sauerstoff</i>
OECD	<i>Organization for Economic Cooperation and Development</i>
P	<i>Phosphat</i>
PAR / PhAR	<i>Photosynthetically Active Radiation</i>
pH	<i>potentia Hydrogenii</i>
PHB	<i>Polyhydroxybuttersäure</i>
PPFD	<i>Photosynthetically Active Photon Flux Density</i>
PS I	<i>Photosystem I</i>
PS II	<i>Photosystem II</i>
PUFAs	<i>Polyunsaturated fatty acids</i>
RuBisCO	<i>Ribulose-1,5-bisphosphat-carboxylase/-oxygenase</i>

# 1. Einleitung und Zielsetzung

Mikroalgen gelten als eine aussichtsreiche Quelle zur Gewinnung regenerativer Biokraftstoffe, um dem weltweit steigenden Energiebedarf entgegenzuwirken. Ihre photosynthetische Effizienz, die Wachstumsraten sowie die Biomasseproduktion sind dabei höher als die von Pflanzen, die bisher zur Energiegewinnung genutzt wurden. Da die Mikroalgen Photosynthese betreiben, fixieren sie zusätzlich CO<sub>2</sub> und wirken dem Klimawandel entgegen. Weiterhin stehen sie nicht in unmittelbarer Konkurrenz zur Lebensmittelindustrie, da sie unabhängig von der Bodenbeschaffenheit kultiviert werden können. Ein großes Hindernis sind zum aktuellen Zeitpunkt noch die hohen Kosten, die mit der Kultivierung und dem anschließenden Downstream in Verbindung stehen. Um die wirtschaftliche Attraktivität zu steigern ist es daher von Belangen, das größtmögliche Potential dieser Mikroalgen auszuschöpfen, da neben den Kraftstoffen noch weitere hochwertige Produkte gewonnen werden können. Mikroalgen besitzen ein enormes Wertschöpfungspotential, da aus ihnen Nahrungsmittel mit hohen Anteilen von essentiellen Fettsäuren sowie pharmazeutische Produkte und weitere marktrelevante Stoffe aus den verschiedensten industriellen Bereichen hergestellt werden können. Es ist demnach von großem Interesse, diese Stoffe durch gezielte Maßnahmen zu erhöhen und die richtige Spezies für die richtigen Umweltbedingungen ausfindig zu machen. Um gezielt die Mikroalgenzusammensetzung zu verändern, ist jedoch aktuell noch weitreichende Forschung notwendig, da jede Spezies verschieden ist und nur ein geringer Anteil der hohen Anzahl von verschiedenen Mikroalgen bekannt und erforscht ist. Dieser Fakt führte auch zum Thema dieser Arbeit.

Ziel dieser Arbeit ist es, den Einfluss der Temperatur und der Lichtintensität auf die Mikroalgenzusammensetzung der Grünalge *Scenedesmus vacuolatus* in einer geschlossenen Freilandkultivierung zu untersuchen. Dabei soll der Protein-, Saccharid- sowie der Lipidgehalt der kultivierten Proben für die jeweiligen Kultivierungswochen im Labor analysiert und mögliche Unterschiede in der Verteilung der Primärmetabolite herausgestellt werden. Zusätzlich wird noch für jede Probe ein Fettsäurespektrum erstellt, um mögliche Veränderungen in den jeweiligen Wochen zu erkennen und zu bestimmen.

Die Ergebnisse dieser Analysen sollen anschließend auf eine mögliche Korrelation mit der Temperatur und der Lichtintensität untersucht werden, welche anhand von ermittelten Wetterdaten zur Verfügung stehen. Zusätzlich sollen Veränderungen der Primärmetabolite, die nicht auf den Einfluss der Temperatur oder Lichtintensität zurückzuführen sind, auf mögliche Ursachen diskutiert werden. Da sich nur eine geringe

Anzahl an Studien mit der Kultivierung im Freiland beschäftigen, sollen die Ergebnisse weiterhin Aufschluss darüber geben, welche Parameter bei einer Kultivierung im Freiland strenger kontrolliert werden müssen, um anderweitige Stressfaktoren zu vermeiden.

## 2. Theoretische Grundlagen

In diesem Abschnitt werden die theoretischen Grundlagen für diese Arbeit sowie der aktuelle Stand der Forschung dargestellt. Insbesondere soll ein Einblick in die Mikroalgenkultivierung im Rahmen eines mikroalgenbasierten Bioraffineriekonzept gezeigt werden. Da Mikroalgen ein hohes Wertschöpfungspotential besitzen, wird aufgezeigt, welche marktrelevanten Stoffe aus ihnen gewonnen werden können und wie diese durch den Einfluss der Lichtintensität sowie der Temperatur gesteigert werden können.

### 2.1 Mikroalgen

Der Begriff Alge besitzt zum momentanen Zeitpunkt keine einheitliche taxonomische Einordnung, da diese einer stetigen Überarbeitung unterliegt und eine allgemeingültige Systematik anhand bestimmt definierter Merkmale nicht vorliegt. Daher sind verschiedenste Definitionen und Klassifizierungen in Büchern und Publikationen zu finden, welche sich auf morphologische oder physiologische Merkmale stützen und mit der Zeit immer weiter präzisiert wurden. Eine zukünftige allgemeingültige Klassifizierung könnte daher auf einer phylogenetischen Analyse der Mikroalgen basieren, welche jedoch noch weitreichende Forschung der verschiedenen Arten benötigen.

Nach aktuellem Stand gehören Algen zu der Gruppe der autotrophen Eukaryoten, welche Photosynthese zur Synthese zum Aufbau von Biomasse und zur Synthese von Biomolekülen betreiben (Guiry 2012). Sie produzieren Sauerstoff und sind an etwa 50% des photosynthetisch gebundenen Kohlenstoffs beteiligt (Moroney und Ynalvez 2001). Anhand ihrer Größe können sie in das grobe Schema der Mikro- und Makroalgen unterteilt werden (Samarakoon und Jeon 2012). Nach Lee (2008) gehören Algen zu den Thallophyten, welche weder Blätter noch Wurzeln besitzen und als primäres photosynthetisches Pigment Chlorophyll a enthalten. Anhand dieser Definition würden jedoch auch die prokaryotischen Cyanobakterien unter den Begriff der Algen fallen, welche nach aktueller Systematik dem Bereich der Bakteriologie zugeordnet werden.

Die Habitate der Mikroalgen weisen hohe Toleranzen in den Bereichen pH, Temperatur sowie O<sub>2</sub>- und CO<sub>2</sub>-Konzentration auf (Barsanti und Gualtieri 2006). Sie sind vorwiegend in Gewässern zu finden, jedoch wurden verschiedene Arten ebenso unter extremen und unterschiedlichsten Umweltbedingungen nachgewiesen, wie beispielsweise in Wüsten, Schneegebiete und thermale Quellen (Lee 2008). Ihre Biodiversität wird auf über 1.000.000 verschiedene Arten geschätzt, wovon zum jetzigen Zeitpunkt nur ein geringer Teil identifiziert ist (Guiry 2012). Ihre Reproduktion kann, abhängig von ihrer Art, geschlechtlich oder ungeschlechtlich verlaufen. Die ungeschlechtliche Vermehrung erfolgt dabei durch Zellteilung, durch Fragmentation oder über Zoosporen und Monosporen. Die geschlechtliche Reproduktion benötigt dagegen Gameten oder Spermatozoen und Eizellen (Agrawal 2012).

Die Biomasse der Mikroalgen besteht hauptsächlich aus den Elementen Kohlenstoff, Sauerstoff, Wasserstoff, Stickstoff, Schwefel und Phosphor sowie Spurenelementen wie Eisen, Magnesium, Silizium, Natrium oder Chlor (Barsanti und Gualtieri 2006). Als konkretes Beispiel beschreibt Hempel (2013) für die Grünalge *Chlorella vulgaris* eine elementare Zusammensetzung von 42,9 % Kohlenstoff, 42,8 % Sauerstoff, 7,4 % Stickstoff, 6,2 % Wasserstoff, 0,4 % Schwefel und 0,3 % Phosphor. Miller et al. (1971) beschreiben für die *Chlorella sorokiniana* bei phototrophen Wachstum eine elementare Zusammensetzung von 51,6 % Kohlenstoff, 21,5 % Sauerstoff, 10,3 % Stickstoff und 7,1 % Wasserstoff. Um diese Biomasse aufzubauen und enzymatische Reaktionen in der Biosynthese katalysieren zu können, werden die Makronährstoffe Kohlenstoff, Stickstoff sowie Phosphat benötigt, jedoch auch weitere Mikronährstoffe wie beispielsweise Magnesium- und Schwefelverbindungen sowie Spurenelemente wie Eisen, Kupfer oder Cobalt (Grobbelaar 2003).

## 2.2 Photosynthese der Mikroalgen

Mikroalgen betreiben Photosynthese, um aus energieärmeren Stoffen mit Hilfe von Lichtenergie energiereiche Biomoleküle zu erzeugen. Die photosynthetisch aktive Strahlung ist dabei die Energiequelle der Photosynthese und wird genutzt, um aus Kohlenstoffdioxid (CO<sub>2</sub>) und Wasser (H<sub>2</sub>O) organische Kohlestoffverbindungen zu bilden. Bei dieser lichtgetriebenen Redoxreaktion wird Sauerstoff (O<sub>2</sub>) freigesetzt. Die elektromagnetische Energie wird in chemische Energie umgewandelt, um anschließend organische Verbindungen zu synthetisieren (Wijffels et al. 2013).

Die Pigmente der Chlorophylle, Carotinoide sowie Phycobiline absorbieren Licht und gehen mit Hilfe der aufgenommenen Energie in einen angeregten Zustand über (Douglas et al. 2003). Anhand dieser photosynthetischen Pigmente können autotrophe Mikroalgen in folgenden Klassen unterteilt werden: Rotalgen (*Rhodophyta*), Gold- / Goldbraune Algen (*Chrysophyceae*), Braunalgen (*Phaeophyceae*) und Grünalgen (*Chlorophyta*) (Masojídek et al. 2013). Die Chlorophylle absorbieren Licht im blauen sowie im roten Wellenbereich, wobei die Carotinoide das Absorptionsspektrum auf die Wellenlänge des blau-grünen erweitert. Die Carotinoide dienen jedoch nicht nur als zusätzliches Lichtsammelpigment, sondern bilden ebenso auch einen Schutzmechanismus vor Photoinhibition durch Photooxidation (Cardozo et al. 2007). Sie besitzen die Fähigkeit, bei zu hohen Lichtintensitäten die elektronische Anregungsenergie von angeregten Chlorophyllmolekülen in Form von Wärme oder Licht zu dissipieren. Dadurch werden diese vor Sauerstoffradikalen geschützt, welche in hohen Konzentration zu oxidativem Stress führen würden (Demmig-Adams und Adams 1996).

Das Nettoergebnis der Photosynthese wird in Formel (1) zusammengefasst:



Der Zyklus der oxygenen Photosynthese kann in die Licht- sowie Dunkelreaktion unterteilt werden, welche im folgenden Kapitel näher erläutert werden (Falkowski und Raven 2007).

### 2.2.1 Lichtreaktion der Photosynthese

Der erste Schritt ist lichtabhängig, an die photosynthetische Membran gebunden und wird als Lichtreaktion bezeichnet. Sie dient dazu, chemische Energie in Form von ATP sowie das Reduktionsmittel  $\text{NADPH} + \text{H}^+$  für die nachfolgenden Reaktionen bereitzustellen.

Der Photosynthese-Apparat ist in den Chloroplasten organisiert, welche aus alternierenden Lipoproteinmembranen (Thylakoide) sowie der wässrigen Phase, dem Stroma, bestehen (Staehein 1986). In den Thylakoidmembranen sind die für die Photosynthese relevanten Komplexe verankert. Darunter fallen das Photosystem I (PS I) sowie Photosystem II (PS II), das Cytochrom-b6f, die ATP-Synthase sowie die Lichtsammelkomplexe (Masojídek et al. 2013).

Lichtsammelkomplexe sind Pigment-Protein-Komplexe, welche um die Photosysteme angeordnet sind. Sie absorbieren die Energie des Lichts und leiten diese zu den

Reaktionszentren der Photosysteme weiter. Bei diesem Vorgang wird das Photosystem II oxidiert. Im Reaktionszentrum des PS II werden mit Hilfe dieser bereitgestellten Energie Elektronen auf ein höheres Niveau gehoben, um diese wiederum über eine Elektronentransportkette auf das Photosystem I zu übertragen. Die Elektronenlücke, die sich durch diese Übertragung der Elektronen von PS II auf PS I ergibt, wird durch die Photolyse des Wassers geschlossen (Alric et al. 2010). Dieser Vorgang wird durch Formel (2) dargestellt, bei welchem Sauerstoff freigesetzt wird. Diese Reaktion ist maßgeblich für die oxygene Photosynthese. Der Sauerstoff ist für die Alge ein Nebenprodukt und wird an die Umgebung abgegeben.



Die Elektronen werden durch Redoxreaktionen auf das Reaktionszentrum des PS I übertragen. Dort werden Elektronen wiederum durch Licht angeregt und auf eine weitere Elektronentransportkette übertragen. Diese Elektronen werden bis zum Enzym Ferredoxin-NADP-Reduktase übertragen, welches  $NADP^+$  zu  $NADPH + H^+$  reduziert und dies für die Dunkelreaktion als Reduktionsäquivalent zur Verfügung stellt (Nugent et al. 2003). Bei der Übertragung der Elektronen von PS II auf PS I durchlaufen diese den Cytochrom-b6f-Komplex. Der Komplex bewerkstelligt in Verbindung mit dem davorliegenden Plastochinon einen Protonenfluss aus dem Stroma in den Thylakoidinnenraum (Lumen), wodurch ein Protonengradient entsteht. Dieser transmembrane Protonengradient treibt durch die resultierende protonenmotorische Kraft die in der Membran verankerte ATP-Synthase an, durch welche  $ADP + P_i$  zu ATP synthetisiert wird. Dieser Vorgang wird Photophosphorylierung genannt und liefert ATP für die Dunkelreaktion. Da bei dieser Reaktion äquivalente Mengen von ATP sowie  $NADPH + H^+$  produziert werden, in der Dunkelreaktion jedoch mehr ATP als  $NADPH + H^+$  benötigt wird (siehe Formel (3)), wird noch zwischen dem zyklischen und dem nicht-zyklischen Elektronentransport unterschieden.

Im nicht-zyklischen Elektronentransport werden, wie zuvor beschrieben, die Elektronen dazu genutzt,  $NADPH + H^+$  zu bilden. Um die für die Synthese benötigten Mengen ATP zu bilden, werden die Elektronen im zyklischen Elektronentransport vom PS I direkt wieder auf den Cytochrom-b6f-Komplex übertragen (Alric et al. 2010; Barbagallo et al. 2000). Es wird daher kein  $NADPH + H^+$  durch die Ferredoxin-NADP-Reduktase gebildet und gleichzeitig der Protonengradient erhöht, welches zur Bildung von ATP durch die ATP-Synthase führt. Die Elektronen durchlaufen einen Kreislauf, daher ist nur das PS I an dieser Reaktion beteiligt und es wird kein Sauerstoff freigesetzt.

## 2.2.2 Dunkelreaktion der Photosynthese

Der zweite Teilschritt der Photosynthese ist die schon zuvor erwähnte Dunkelreaktion, welche lichtunabhängig ist. Sie dient der Fixierung von Kohlenstoff aus  $\text{CO}_2$ , um diesen zu Kohlenhydraten, insbesondere Glucose, aber auch andere Produkte wie Aminosäuren oder Fettsäuren zu reduzieren. Diese Assimilation findet im Calvin-Benson-Zyklus statt, welcher in drei Teilschritte gegliedert werden kann und im Stroma der Chloroplasten lokalisiert ist (Masojídek et al. 2013).

Im ersten Schritt, der Carboxylierung, wird  $\text{CO}_2$  durch das Enzym RuBisCO an den  $\text{C}_5$ -Zucker Ribulose-1,5-bisphosphat addiert. Durch die Instabilität des Intermediats entstehen durch Hydrolyse zwei Moleküle 3-Phosphoglycerat (Moroney und Ynalvez 2001).

Im zweiten Schritt, der Reduktion, werden die zwei Moleküle unter Verbrauch von ATP und  $\text{NADPH} + \text{H}^+$ , welches zuvor in der Lichtreaktion gebildet wurde, zu Glycerinaldehyd-3-phosphat reduziert. Dabei wird das Phosphoglycerat phosphoryliert und es entsteht Bisphosphoglycerat und  $\text{ADP} + \text{P}_i$ . Anschließend wird das Bisphosphoglycerat durch  $\text{NADPH}_2$  zu Glycerinaldehyd-3-phosphat (GAP) reduziert. Diese Triosen werden teilweise aus dem Calvin-Zyklus entnommen und stehen der Biosynthese von Kohlenhydraten, Fetten, Eiweiße und anderen Metaboliten zur Verfügung. Das bei diesen Reaktionen entstehende  $\text{ADP} + \text{P}_i$  sowie  $\text{NADP}^+$  werden wieder in der Lichtreaktion benötigt, um neue Reduktionsäquivalente und Energie in Form von ATP für weitere Zyklen zu bilden.

Im dritten Schritt, der Regeneration, werden die im Calvin-Zyklus verbliebenen Triosen unter ATP-Verbrauch über den reduktiven Pentosephosphatweg enzymatisch wieder zu Ribulose-1,5-bisphosphat umgewandelt, wodurch sich der Calvin-Zyklus schließt.

Die Formel (3), in der die Bilanz des Calvin-Zyklus dargestellt ist, zeigt, dass drei Durchläufe benötigt werden, um ein Molekül GAP für die Biosynthese von Metaboliten zu gewinnen. Um den  $\text{C}_6$ -Zucker Glucose zu synthetisieren, würden daher sechs Durchläufe benötigt.



### 2.2.3 Lichtenergie aus photosynthetisch aktiver Strahlung

Photosynthetisch aktive Algen nutzen nur die photosynthetisch aktive Strahlung (Photosynthetically Active Radiation, PAR / PhAR), die ihnen während der Photosynthese als Energielieferant dient. Der Wellenlängenbereich der PAR liegt zwischen 400-700 nm, welche sich mit dem für Menschen sichtbaren Lichts (380-780 nm) nahezu deckt (Barsanti und Gualtieri 2006). In diesem Bereich liegen etwa 50% der Globalstrahlung (Pott und Hüppe 2007). Mittels der photosynthetisch aktiven Photonenflussdichte (Photosynthetically Active Photon Flux Density, PPF) wird die Lichtmenge im PAR-Bereich beschrieben, welche die Algen nutzen können, um ihre photochemische Reaktionen betreiben zu können. Die PPF wird in der Einheit  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  angegeben und wird in der Literatur oft als Lichtintensität angegeben. Ein  $\mu\text{mol}$  entsprechend hierbei  $6,022 \cdot 10^{17}$  Photonen. Grünalgen besitzen vor allem die Pigmente Chlorophyll a und Chlorophyll b, welche Wellenlängen im blauen Bereich (400-500 nm) sowie im roten Bereich (600-700 nm) absorbieren (van den Hoek et al. 1997).

### 2.3 Kultivierungssysteme

Die Kultivierung der Mikroalgen dient dazu, möglichst hohe Biomassekonzentrationen zu erhalten und Haupt- sowie Nebenprodukte zu gewinnen. Es wird vorrangig zwischen offenen und geschlossenen Systemen unterschieden, welche je nach Art der Zielprodukte und eingesetzten Produktionsstämme verwendet werden und jeweils Vor- sowie Nachteile aufweisen (Borowitzka 1999; Kumar et al. 2015).

Zu den offenen Systemen gehören einerseits natürliche Gewässer wie Seen, Lagunen und Teiche, andererseits jedoch auch angelegte Becken wie den Open Raceway Ponds (Ugwu et al. 2008). Diese Ponds sind dem natürlichen Milieu der Mikroalgen sehr ähnlich und bestehen meist aus künstlichen, zur Atmosphäre offenen Becken, dessen Strömungsprofil durch externe Pumpen, rotierenden Armen oder durch Schaufelräder hervorgerufen wird (Borowitzka und Moheimani 2013; Tredici 2003). Die genaue Größe, das verwendete Material sowie der genaue Aufbau kann dabei variieren. Ein oft verwendetes Material für das Fundament sowie die Trennwände der Becken ist Beton, welches mit einer Membran aus Polyvinylchlorid, Polyethylen oder Polypropylen ausgekleidet ist. Das Flächenmaß für Ponds, die für die Produktion von Biomasse benutzt werden, liegt meist bei einer maximalen Größenordnung von 0,5 Hektar (Chisti 2013). Moderne Becken besitzen dazu noch weitere Konstruktionen wie Strömungsleitbleche, welche die sogenannten toten

Zonen verhindern. Diese werden durch das Strömungsprofil hervorgerufen und führen zu einer Ablagerung der Biomasse in den Randbereichen der Becken, welche die Produktivität beeinflusst und auch zu Energieverlusten führt (Sompech et al. 2012).

Im Vergleich zu den geschlossenen Reaktoren bestehen die Vorteile aus dem kostengünstigeren Betrieb und den günstigeren Materialkosten (Chiaramonti et al. 2013; Ugwu et al. 2008). Ihr Produktionsvolumen ist aufgrund ihres schon zuvor angesprochenen Flächenmaßes höher und landwirtschaftlich unattraktive Flächen können dadurch genutzt werden, ohne in direkter Konkurrenz zur Nahrungsmittelproduktion zu stehen (Laurens et al. 2017b).

Nachteilig sind dagegen der hohe Flächenbedarf sowie die hohe Kontaminationsgefahr des gesamten Systems. Diese kann einerseits durch externen Eintrag von Pilzen, Protozoen, Bakterien, Insekten und anderen Tieren hervorgerufen werden, aber auch durch Mikroalgen, die mit dem gewünschten Produktionsstamm konkurrieren und diese verdrängen können (Richmond 1999). Andererseits können auch, je nach Standort und Konstruktion der Anlage Umweltbedingungen wie Regen, Temperatur, hohe Lichtintensitäten oder Verdunstung des Mediums die Betriebsgrößen beeinflussen und dadurch die Kultivierungsbedingungen erschweren und ganze Erntezyklen vernichten (Brennan und Owende 2010; Chiaramonti et al. 2013). Die Standortwahl spielt daher eine wichtige Rolle, um direkte Einflüsse der Umwelt zu minimieren und die Kultivierungsbedingungen gleichzeitig zu optimieren (Bennett et al. 2014). Ein weiterer Nachteil ist die geringe Zelldichte der Kultivierung. Die Mikroalgen beziehen ihren Kohlenstoff zum Aufbau von Biomasse hauptsächlich aus dem CO<sub>2</sub> aus der Atmosphäre. Da der CO<sub>2</sub>-Anteil der Luft nur 0,03 - 0,06 % beträgt und die begrenzte Austauschfläche nur beim Übergang der Gas- zur Flüssigphase liegt, werden hohe Wachstumsraten verhindert (Mata et al. 2010). Der direkte Eintrag von CO<sub>2</sub> aus gekoppelten Quellen in das Medium ist wegen der Verlustraten von 70 - 90 % aufgrund der geringen Verweilzeit im Medium nicht wirtschaftlich und benötigt noch weitere Forschung und Entwicklung (Kumar et al. 2011; Li et al. 2013; Richmond 2004). Der kostenintensive CO<sub>2</sub>-Eintrag in offene Systeme kann 28 - 33 % der Produktionskosten betragen, daher sind Fortschritte in der Forschung und Entwicklung neuer verbesserter Systeme unabdingbar (Ketheesan und Nirmalakhandan 2011; Li et al. 2013). Die Effektivität der Fixierung des Kohlenstoffs durch Mikroalgen ist dazu noch abhängig vom pH-Wert ihres Milieus. Das Optimum der meisten Mikroalgen liegt bei einem pH-Wert zwischen 7 und 8, welches durch die begrenzten Regulierungsmöglichkeiten der Systeme die optimale

Kohlenstoffaufnahme erschwert (González-López et al. 2012; Wu et al. 2017). Für die Produktivität liegen laut Studien typische Werte zwischen  $0,06 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$  bis  $0,2 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$  (Ashokkumar und Rengasamy 2012; Chinnasamy et al. 2010; Huntley und Redalje 2007; Park und Craggs 2010) und konnten durch Optimierungsmaßnahmen von (Li et al. 2013) auf bis zu  $0,35 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$  gesteigert werden. Bei der Bewertung dieser Ergebnisse müssen jedoch immer mehrere Faktoren wie das Beckenvolumen, die lokalen Umwelteinflüsse sowie auch der verwendete Produktionsstamm betrachtet und mit einbezogen werden (Borowitzka 2013). Ein weiterer limitierender Faktor ist die Lichtverfügbarkeit, welche den Füllstand der Open Ponds begrenzt und eine Nutzung von zu großen Schichtdicken verhindert, um die Flächenproduktivität zu steigern (Brennan und Owende 2010; Sutherland et al. 2014). Typische Werte für den Füllstand liegen bei einer Tiefe von  $0,25 - 0,30 \text{ m}$  (Sompech et al. 2012). Um der Lichtlimitierung möglichst wirksam entgegen zu wirken, ist eine Umwälzung der Biomasse sowie ein Strömungsprofil vonnöten, um eine horizontale sowie vertikale Zirkulation zu erreichen (Chiaramonti et al. 2013; Liffman et al. 2013). Je nach Füllstand der Becken ist dies mit einem erhöhten Energieeintrag verbunden (Hreiz et al. 2014). Open Ponds sind nicht für die Herstellung von Produkten geeignet, die hohen Reglementierungen unterliegen. Darunter fallen beispielsweise pharmazeutische Produkte, die nach gültigen GMP-Vorschriften produziert werden müssen (Ugwu et al. 2008). Diese dürfen nur in den geschlossenen Reaktoren kultiviert werden, dessen Kontroll- und Regelungsmaßnahmen erheblich höher sind (Carvalho et al. 2006).

Durch die geschlossene Bauform der Photobioreaktoren werden mehrere Nachteile des Open-Pond Systems beseitigt. Sie treten in verschiedenen Bauformen auf, darunter fallen Schlauch-, Säulen-, Röhren- sowie auch die Plattenreaktoren (Eriksen 2008; Molina et al. 2001; Slegers et al. 2013; Tredici 2003), welche zur Kultivierung der in dieser Arbeit verwendeten Mikroalgen dienen (siehe Kapitel 2.4). Da diese Reaktoren direkt mit  $\text{CO}_2$  begast werden können und die Reaktorwände transparent und somit lichtdurchlässig sind, können höhere Zelldichten sowie Produktionsraten erreicht werden (Alabi et al. 2009; Vree et al. 2015). Ein oft verwendetes Material ist dabei Polycarbonat, welches eine hohe Festigkeit aufweist, leicht zu reinigen und dazu noch wetterbeständig ist. Für die Bioproduktivität sind in vielen Studien verschiedene Angaben zu finden, da diese unter anderem von der Art des Reaktors, dem verwendeten Medium und weiteren Einflüssen abhängt. Zudem müssen die Werte immer auf ihre Skalierbarkeit hinterfragt und kritisch betrachtet werden. Typische Werte liegen dabei zwischen  $0,4 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$  bis über  $2 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$

(Molina et al. 2001; Travieso et al. 2001; Tredici und Zittelli 1998; Yoo et al. 2010). Cuaresma et al. (2009) beschreibt sogar eine Produktivität von bis zu  $12,2 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$ , die jedoch nur durch eine hohe Verdünnungsrate und niedrige Biomassekonzentration realisiert wurde und dies die kommerzielle Nutzung im industriellen Maßstab erschwert. Die Durchmischung erfolgt meist direkt durch den  $\text{CO}_2$ -Eintrag oder durch Pumpen, welche durch die Bauform der Reaktoren noch weiter verbessert werden (Singh und Sharma 2012). Parameter wie Nährstoffkonzentration, pH-Wert, Temperatur sowie  $\text{CO}_2$ -Konzentration können direkt kontrolliert und geregelt werden. Kontaminationen durch externe Quellen sowie die Verdunstung wie bei offenen Systemen werden gleichzeitig stark reduziert (Mata et al. 2010; Singh und Sharma 2012).

Hohe Betriebs- sowie Investitionskosten stehen den Vorteilen gegenüber (Jorquera et al. 2010). Ein hoher Energieverbrauch, hohe Anschaffungskosten in Verbindung mit der Langlebigkeit der Reaktoren, begrenzte Volumina, Scherbelastungen, benötigter Schutz vor Überhitzung sowie die zeit- und kostenintensive Reinigung durch Biofouling stellen Probleme für die Massenkultivierung in Photobioreaktoren dar (Borowitzka 2015; Mata et al. 2010). Zudem ist der Scale-up dieser Systeme kostenintensiv und nur begrenzt möglich (Alabi et al. 2009; Gupta et al. 2015; Klein-Marcuschamer et al. 2013), da dieser mehrere Kultivierungsparameter gleichzeitig beeinflusst und direkten Einfluss auf die Produktivität der Systeme nimmt. Um auf diese Weise größere Produktionsvolumina zu erreichen, müssen mehrere Reaktoren gleichzeitig betrieben werden. Dadurch steigt der Prozessaufwand signifikant an und gleichzeitig auch die Prozesskosten. Zudem steigt dadurch der Flächenbedarf an, da der Lichteinfall sowie die Verschattung durch benachbarte Reaktoren mit einkalkuliert werden müssen.

## 2.4 Flat Panel Airlift Reaktoren

Die in dieser Arbeit verwendeten Kultivierungssysteme bestehen aus Flat Panel Airlift Reaktoren (FPA-Reaktor) der Firma Subitec (Stuttgart), welche in Abbildung 1 dargestellt werden. Eine Aufnahme dieser Reaktoren sowie deren Anordnung am Kultivierungsstandort Reitbrook befindet sich im Anhang C in Abbildung 30. Die Reaktoren besitzen jeweils ein Fassungsvermögen von 180 L, bestehen aus zwei miteinander verklebten PVC-Folien und sind für die Kultivierung von Mikroalgen im Freiland geeignet. Durch ihr spezielles Design werden die Reaktoren in einzelne Kompartimente unterteilt und eine verbesserte vertikale Strömungsführung gewährleistet, welches in Abbildung 1 dargestellt wird. Durch den Einbau statischer

Mischer wird die Algensuspension in eine kreisförmige, turbulente Strömung versetzt, welche zu einem gleichmäßigen Lichteintrag und einem verbesserten Gaseintrag führt. Die Zellen wechseln dadurch in einer Frequenz von 1 Hertz von der zum Licht gewandten zur abgewandten Seite des Reaktors und vermindern wachstumshemmende Effekte wie Photoinhibition durch zu hohe oder Lichtlimitierung durch zu niedrigen Beleuchtungsstärken. Die Begasung mit dem Gemisch aus CO<sub>2</sub> und Luft, welches den Mikroalgen als Kohlenstoffquelle dient, erfolgt durch eine Gaszuleitung am Boden der Reaktoren und wird am Kopf abgeführt. Die Algensuspension steigt in den Risern auf und sinkt in den Downcomern ab, wodurch eine homogene Mischung erreicht wird. Zusätzlich besitzen die Reaktoren noch Anschlüsse zur Ernte der Biomasse sowie für die Nährstoffzufuhr. Proben, um beispielsweise die Nährstoffkonzentration zu messen, können über die installierten Septen entnommen werden, um eine Kontamination des Systems zu verhindern.

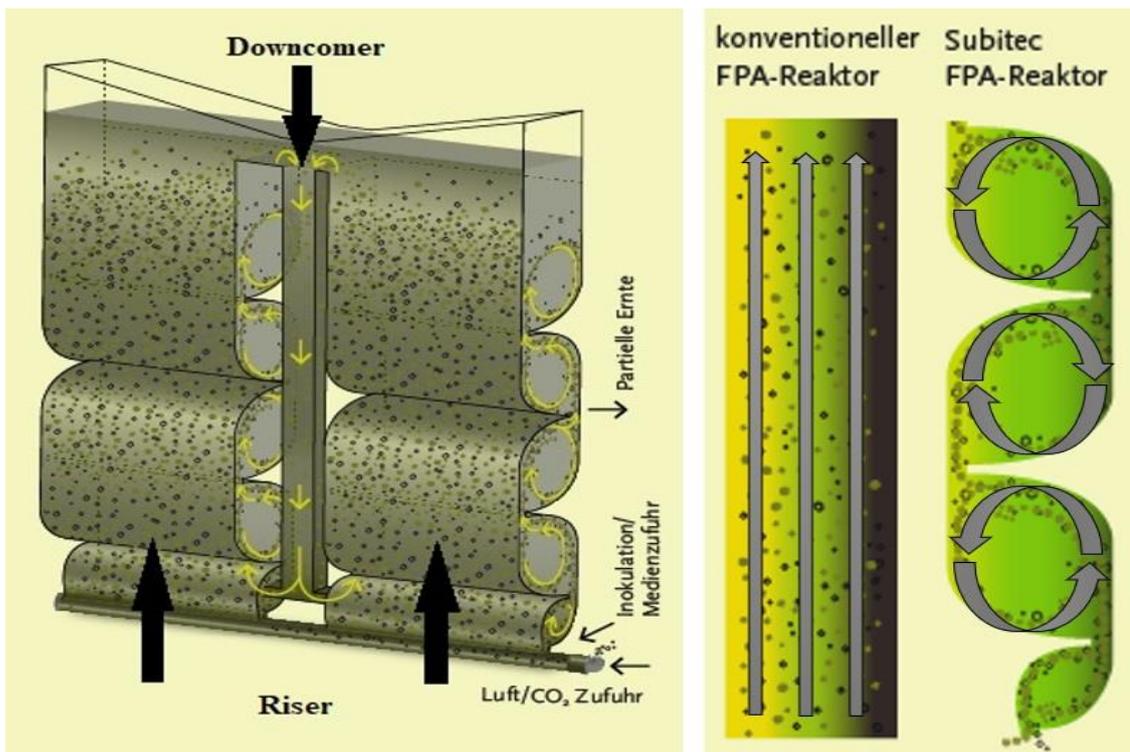


Abbildung 1: (links) Aufbau der Flat Panel Airlift Reaktoren der Firma Subitec. (rechts) Vergleich des seitlichen Strömungsprofil zwischen konventionellen und Subitec FPA-Reaktoren (Subitec GmbH)

## 2.5 Bioraffineriekonzept

Um den Bedürfnissen und der steigenden Nachfrage einer wachsenden Weltbevölkerung an Nahrung, Energie sowie Rohstoffen nachzukommen und diese auch aus ökonomischer und ökologischer Sicht zu realisieren, werden neue klimafreundliche und nachhaltige Konzepte benötigt. Dabei ist die Energiegewinnung aus erneuerbaren Quellen und gleichzeitige Abkopplung von fossilen Brennstoffen ein elementarer Aspekt. Die dritte Generation von Biokraftstoffen verwenden Mikroalgen als Bezugsquelle. Diese besitzen den Vorteil, dass Sie ,im Gegensatz zu den vorherigen zwei Generationen, nicht in direkter Konkurrenz zur Nahrungsmittelproduktion stehen (Alam et al. 2015; Li et al. 2008). Hohe Wachstumsraten bei gleichzeitiger CO<sub>2</sub> Emissionsminderung, hohe Lipidgehalte, welche zu Biokraftstoff verarbeitet werden können, gleichzeitiger Gewinn an hochwertigen Produkten (Kapitel 2.6) sowie ihre Unabhängigkeit von der Bodenbeschaffenheit bei der Kultivierung qualifizieren Mikroalgen als aussichtsreiche Quelle (Chisti 2007; Scott et al. 2010; Schenk et al. 2008). Allein der Energiebedarf wird laut aktuellen Studien bis zum Jahr 2050 in OECD-Ländern um 19 % und außerhalb dieser Länder um 49 % steigen, welcher durch erneuerbare Energie als Primärenergiequelle gedeckt werden soll (U.S. Energy Information Administration Office of Energy Analysis 2019). In Deutschland betrug 2017 die Stromerzeugung aus erneuerbaren Energien rund 33 % und konnte im Jahr 2018 auf rund 38 % gesteigert werden. Der zweitgrößte Anteil (46 %) wurde aus der Stromerzeugung aus Biomasse gewonnen, welches 6,9 % an der gesamten Stromerzeugung in Deutschland im Jahr 2017 darstellt (Bundesministerium für Wirtschaft und Energie 2018). Ein Lösungsansatz für den Ausbau der zukünftigen Bioökonomie und die damit verbundene Abkopplung von fossilen Ressourcen stellt daher die Realisierung von Bioraffineriekonzepten dar.

Das größte Hindernis bei der Herstellung von Biokraftstoff aus Mikroalgen besteht in den hohen Kosten der Biomasseproduktion, unter welche auch Arbeitsschritte wie Ernte sowie Trocknung fallen (Foley et al. 2011; Laurens et al. 2017a). Das Konzept der Bioraffinerie ermöglicht eine gleichzeitige Herstellung von Kraftstoffen aus Biomasse sowie den Gewinn von kommerziell hochwertigen Produkten, welches die wirtschaftliche Relevanz steigert und dadurch ökonomisch realisierbar macht (Chandra et al. 2019; Trivedi et al. 2015; Zhu 2015). Um dies zu bewerkstelligen, werden modernste Technologien und Verfahren miteinander verknüpft und zu einem innovativen und ganzheitlichen Konzept zusammengeführt. Dabei können auch sekundäre Stoffströme wie nährstoffreiche Abwasser oder CO<sub>2</sub> aus externen Quellen verwendet werden, um

diese effektiv und rentabel in das Gesamtkonzept zu integrieren. Die Schließung von Kreisläufen, durch welche möglichst alle Rohstoffkomponenten genutzt und recycelt werden, vermeidet Ressourcenverluste und steigert die Effizienz (Zhu 2015). Dadurch besitzen Bioraffinerien ein höheres Potential als bisherige Nutzungskonzepte nachwachsender Rohstoffe (Peters et al. 2014).

Die Verfahrenskette einer Bioraffinerie wird in die zwei Bereiche, die Primär- und Sekundäraffination, unterteilt. Die Primäraffination beinhaltet die Vorbehandlung, Aufbereitung sowie Auftrennung der Biomasse, während in der Sekundäraffination aus den Intermediaten durch Konversions- und Veredelungsschritte weitere Produkte hergestellt werden, um eine ganzheitliche Nutzung der Biomasse anzustreben (Kamm und Kamm 2007).

In Abbildung 2 wird das marine Bioraffinerie-Konzept des Innovationsstandorts Reitbrook erläutert, welches die Verwertung von Algenbiomasse zur Wertstoffgewinnung nutzt. Sonnenlicht, Nährstoffe sowie Wasser dienen der Primäraffination als Edukte, welche zur Kultivierung von Mikroalgen in Flat Panel Airlift Reaktoren genutzt werden. Das anliegende Blockheizkraftwerk, welches durch Biokraftstoff betrieben wird, versorgt die Reaktoren mit dem bei den Verbrennungsprozessen produzierten CO<sub>2</sub> sowie der benötigten elektrischen Energie. Durch geeignete Erntemethoden, welche zur Optimierung aus Kombinationen mechanischer, chemischer und biologischer Methoden bestehen können, wird die Algenmasse vom Medium getrennt. Wie in Abbildung 2 zu sehen ist, kann das abgetrennte, nährstoffreiche Medium durch Rückführung für die nächste Kultivierung genutzt werden. Die Algenmasse wird aufgeschlossen und es können Wertstoffe wie Lipide, Proteine, Pigmente und Saccharide extrahiert und industriell weiterverarbeitet werden. Die Algenreststoffe dienen als Co-Substrat und werden durch anaerobe Mikroorganismen in einer Biogasanlage vergärt und das entstandene Biogas (Methan) schließlich im Blockheizkraftwerk zu elektrischer Energie und Wärme umgesetzt. Bei der Vergärung entsteht zusätzlich CO<sub>2</sub>, welches wieder bei der Kultivierung in den Flat Panel Airlift Reaktoren als Kohlenstoffquelle Verwendung findet. Das Prinzip einer Bioraffinerie kann daher sichtlich als Synergie bezeichnet werden, denn diese elektrische Energie und Wärme wird wiederum der Biogasanlage zugeführt. Selbst die Gärreste, aus welchen Magnesiumammoniumphosphat (MAP) zurückgewonnen werden kann, dienen der Algenkultivierung als Nährmedienbestandteil (Knoll 2015).

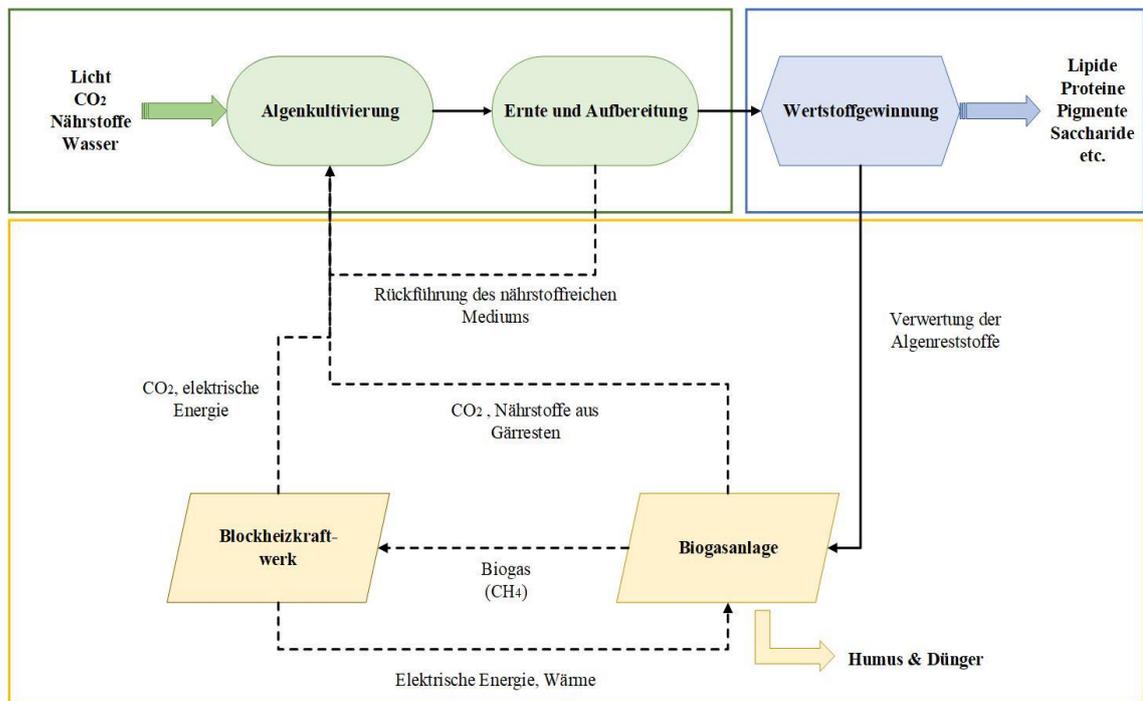


Abbildung 2: Marines Bioraffineriekonzept modifiziert nach (Wieczorek 2018)

Die durch Kopplung und Vernetzung entstehenden Synergien der Verarbeitungsprozesse sind elementar und charakteristisch und bildet somit die Grundlage, marine Bioraffinerien effizient und wirtschaftlich zu betreiben.

## 2.6 Inhalts- und Wertstoffe aus Mikroalgen

Wie schon in den vorherigen Kapiteln erwähnt, spielt die Optimierung der Prozessabläufe aus ökonomischer Sicht eine elementare Rolle. Die gleichzeitige Steigerung und Optimierung von marktrelevanten Inhaltsstoffe ist ein weiterer Faktor, um die Kultivierung von Mikroalgen wirtschaftlich attraktiv zu gestalten (Laurens et al. 2017). Als solch hochwertige Produkte gelten Pigmente, Proteine, Lipide, Kohlenhydrate, Vitamine sowie Antioxidantien, die in verschiedensten Bereichen wie der Lebensmittelindustrie, oder Pharmazie zur Geltung kommen (Chew et al. 2017). Die Identifizierung dieser Produkte bildet die Grundlage, um geeignete Algenstämme für den industriellen Maßstab zu finden und ihr gesamtes Wertschöpfungspotential auszureizen.

### 2.6.1 Einfluss der Temperatur und Lichtintensität

Das Spektrum an Molekülen und Verbindungen verschiedener Stoffklassen ist nicht nur von der Algenart abhängig, sondern auch von äußeren Faktoren wie Lichtintensität und Temperatur, die diese maßgeblich beeinflussen.

Der größte Einfluss der Temperatur ist in der Dunkelreaktion der Photosynthese zu beobachten, da die Aktivität der Enzyme des Calvin-Benson-Zyklus (Kapitel 2.2.2) durch diese bestimmt wird. Verschiedene Studien zeigen, dass die Temperatur Einfluss auf den Lipidgehalt sowie auf die Zusammensetzung der Fettsäuren hat (Guschina und Harwood 2006; Renaud et al. 2002; Thompson et al. 1992). Es konnte gezeigt werden, dass mit steigender Temperatur ein Anstieg des Lipidgehalts zu verzeichnen ist (Wang et al. 2016), dieser sich aber auch kontraproduktiv auswirken kann. Bei Temperaturen über dem Optimum konnte ein Rückgang der Lipidkonzentration nachgewiesen werden. So beschreiben Converti et al. (2009) in ihrer Studie mit der Mikroalge *Chlorella vulgaris* bei einer Temperaturerhöhung von 25 °C auf 30 °C eine Reduzierung des Lipidgehalts um 60 %. Die optimale Temperatur für die maximale Ausbeute an Lipiden ist daher von der Algenart abhängig und kann nicht verallgemeinert werden.

Der Fettstoffwechsel ist ein wichtiger Mechanismus von Mikroalgen, um sich vor akuten sowie bevorstehendem Stress zu schützen. So speichern diese Energie in Form von Stärke und Lipiden (Thompson 1996). Um die Fluidität Ihrer Membranen bei niedrigen Temperaturen aufrechtzuerhalten, reagieren Mikroalgen mit strukturellen Änderungen ihrer Membranlipide. Der Anteil an ungesättigten Fettsäuren erhöht sich, welches direkten Einfluss auf die Stabilität und Funktionalität der Membran bei suboptimalen Temperaturen hat (Nishida und Murata 1996). Die Fluidität beeinflusst die membrangebundenen Proteine, den Elektronentransport der Photosynthese (Guschina und Harwood 2009; Morgan-Kiss et al. 2006; White et al. 2000) sowie die Permeabilität der Membran (Los und Murata 2004; Reay et al. 1999). Folgen einer zu hohen Fluidität wären Störungen oder Hemmungen im Ablauf der Photosynthese wie beispielsweise eine geringere Kohlenstoff- sowie Stickstoffverwertung.

Das Hauptaugenmerk vieler Studien gilt der Steigerung der Lipidsynthese, da diese wie im Kapitel 2.5 bereits erwähnt, als zukünftige regenerative Biokraftstoffquelle verwendet werden können. Weniger Beachtung finden dabei Inhaltsstoffe wie Proteine und Saccharide, die jedoch auch vermarktet werden können und das wirtschaftliche Potential von Mikroalgen steigern. So zeigen Studien, dass die Temperatur gleichzeitig auch die

Proteinkonzentration (Konopka und Brock 1978; Rhee und Gotham 1981) sowie auch die Saccharidkonzentration beeinflusst (Ogbonda et al. 2007; Oliveira et al. 1999)

Auch die Lichtintensität zeigt nachweislich einen Einfluss auf die Mikroalgenzusammensetzung. Dieser ist wie zuvor bei der Temperatur von der Algenart abhängig. Mit zunehmender Lichtintensität konnten Cuhel et al. (1984) für die Alge *Dunaliella tertiolecta* und KaiXian und Borowitzka (1993) für *Phaeodactylum tricornutum* ein Anstieg der Lipidkonzentration bei gleichzeitiger Verringerung der Protein sowie Saccharidkonzentration aufzeigen. Gleiche Ergebnisse hinsichtlich der Lipidkonzentration konnten in weiteren Studien gezeigt werden (Cohen 1999; Orcutt und Patterson 1974; Renaud et al. 1991). Kontroverse Ergebnisse dagegen zeigten (Fábregas et al. 2004) für die Alge *Nannochloropsis sp.*, die bei steigender Lichtintensität eine Verringerung der Lipidkonzentration bei gleichzeitiger Steigerung der Protein- sowie Saccharidkonzentration feststellen konnten.

Der Zusammenhang der Lipid-, Protein- sowie Saccharidkonzentration in Mikroalgen kann daher als ein dynamisches System beschrieben werden, dessen Parameter sich gegenseitig beeinflussen.

## 2.6.2 Marktrelevante Wertstoffe

Lipide und Fettsäuren fungieren in Mikroalgen als Membrankomponenten, Metabolite und als Energiequelle. Sie enthalten zahlreiche gesättigte sowie mehrfach ungesättigte Fettsäuren (PUFAs)(Kim et al. 2012). Wichtige kommerzielle Vertreter dabei sind die Linolsäure, Omega-3-Fettsäuren wie Linolensäure, Eicosapentaensäure (EPA) sowie Docosahexaensäure (DHA), welche Menschen und Tiere nicht selbst synthetisieren können und daher über die Nahrung aufnehmen müssen sowie die Omega-6-Fettsäure Arachidonsäure (Chauton et al. 2015; Gupta et al. 2012; Ji et al. 2015). Viele dieser ungesättigten Fettsäuren werden heutzutage noch überwiegend aus Fischöl gewonnen. Im Zeitalter der Überfischung und Verschmutzung der Meere durch Schwermetalle und Toxine könnte dies daher eine ökologische Alternativlösung darstellen. Die hohen Wachstumsraten, der Stärkeanteil sowie der hohe Lipidgehalt der Mikroalgen ist für die Herstellung von Biokraftstoffen interessant. Verschiedenste Methoden wurden entwickelt, um aus den Lipiden Biodiesel zu gewinnen. Diese Verfahren unterscheiden sich vor allem in der Anzahl der Prozessschritte, in der Art und der Verwendung eines Katalysators, dem Prozessdruck sowie der Temperatur (Krohn et al. 2011; Li et al. 2007;

Patil et al. 2011; Sharma und Singh 2009; Wahlen et al. 2011). Bioethanol, welcher bisher vor allem durch alkoholische Gärung von Nahrungspflanzen produziert wird, kann durch Hydrolyse und Fermentation der Kohlenhydrate der Mikroalgen gewonnen werden (Harun et al. 2009; John et al. 2011; Ueno et al. 1998). Weitere Biokraftstoffe aus Mikroalgen sind zum einen Biowasserstoff (Antal et al. 2011; Beer et al. 2009; Xia et al. 2016), welcher von ausgewählten Arten produziert wird sowie Biogas, welches in Biogasanlagen durch die Vergärung der Algenbiomasse zu Methan und CO<sub>2</sub> entsteht (Dębowski et al. 2013; Mussnug et al. 2010). Die einzelnen Prozessvorgänge zur Biokraftstoffherstellung aus Mikroalgen müssen jedoch weiterhin verbessert werden, um aus wirtschaftlicher Sicht die Attraktivität zu steigern. Prozessschritte wie die Ernte und Trocknung können nach Mata et al. (2010) 20 – 30 % der Produktionskosten ausmachen.

Ein weiterer Wertstoff sind Pigmente wie Chlorophyll, Carotinoide oder Phycobiliproteine. Beispiele hierfür sind Lutein (Fernández-Sevilla et al. 2010; Sánchez et al. 2008), Astaxanthin, Canthaxanthin und Zeaxanthin (Jin et al. 2003; Pelah et al. 2004; Wang und Chen 2008) sowie Phycocyanin und Phycoerythrin (Mysliwa-Kurdziel und Solymosi 2017; Samsonoff und MacColl 2001), welche unter anderem als Farbstoff in Lebensmitteln, in Kosmetika oder auch als Futtermittelzusätze bei Geflügel oder Fischen eingesetzt werden (Havaux 2014; Prasanna et al. 2007). Für die Lebensmittelindustrie spielen noch zwei weitere Aspekte eine wichtige Rolle. Die Proteine der Mikroalgen setzen sich aus verschiedenen Aminosäuren zusammen. Darunter fallen unter anderem auch essenzielle Aminosäuren, welche vom Menschen durch Eigensynthese nicht in ausreichenden Mengen gebildet werden können und daher über die Nahrung aufgenommen werden müssen. So besitzen Mikroalgenstämme teilweise höhere Anteile an essentiellen Aminosäuren als proteinreiche Nahrungsmittel und könnten daher als Nahrungsergänzungsmittel dienen (Becker 2007). Mikroalgen besitzen weiterhin noch hohe Anteile an Vitaminen, wie Vitamin A, C, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>6</sub> und B<sub>12</sub> (Becker 2007; Kumudha 2015; Priyadarshani und Biswajit 2012).

Auch im Bereich der Umweltbelastung können Mikroalgen und deren Stoffe eine Rolle spielen. Die Algen selbst können in der Abwasseraufbereitung eingesetzt werden, da diese zur Biosorption fähig sind und somit die Gewässer von Schwermetall befreien können (Çetinkaya Dönmez et al. 1999; Hussein et al. 2004). Außerdem besteht die Möglichkeit, biologisch abbaubares Bioplastik aus den Stoffen zu produzieren (Rahman und Miller 2017). Dieses kann aus den Polysacchariden sowie aus dem Biopolymer PHB hergestellt werden (Hempel et al. 2011; Mathiot et al. 2019; Zeller et al. 2013).

Selbst in der Pharmazie nimmt die Relevanz von Mikroalgen und deren Produkte stetig zu. Sie besitzen biologisch aktive Substanzen und Verbindungen, die verschiedene Funktionen in Zellen und Geweben beeinflussen. Diese liegen in Form von Proteinen, mehrfach ungesättigten Fettsäuren, Pigmenten, Vitaminen, Mineralstoffen oder als extrazelluläre Verbindungen wie Oligosaccharide vor. Sie weisen cytotoxische, antivirale, antibakterielle, fungizide, antioxidative, algizide sowie entzündungshemmende und tumorhemmende Eigenschaften auf (Kim et al. 2012; Michalak und Chojnacka 2015; Papadopoulos 2008; Raposo et al. 2013). So werden beispielsweise Polysaccharide der Mikroalge *Porphyridium cruentum* als Entzündungshemmer (Matsui et al. 2003) und Phycobiline in der Krebstherapie aufgrund ihrer antioxidativen und Apoptose-induzierenden Wirkung eingesetzt (Mysliwa-Kurdziel und Solymosi 2017).

### 3. Material und Methoden

Im folgenden Kapitel werden die für diese Arbeit verwendeten Materialien und Methoden vorgestellt. Genaue Angaben zu den Geräten, den Herstellern sowie zu den verwendeten Chemikalien sind im Anhang A in den Tabellen 4 - 6 zu finden.

Die Vorkultivierung in Schottflaschen wurde mit der Mikroalge *Chlorella sorokiniana* durchgeführt, welche aus der Algensammlung der Universität Göttingen stammen. Sie gehören zu den Grünalgen und werden unter der internen Stammnummer 211-8k geführt (siehe (SAG 2014a)). Bei der Analyse der Algenproben durch die Universität Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University wurde eine Kontamination mit einer konkurrierenden Mikroalge festgestellt. Die Analyse ergab, dass die Proben überwiegend aus der Grünalge *Scenedesmus vacuolatus* bestehen, welche unter der internen Stammnummer 211-8b der Universität Göttingen geführt werden (SAG 2014b). Nach der Vorkultivierung wurden die Mikroalgen zuerst in 6 L FPA-Reaktoren kultiviert, um weitere Biomasse aufzubauen. Anschließend wurde die Algensuspension in 180 L FPA-Reaktoren überführt (siehe Kapitel 2.4), um diese nach einer Kultivierungszeit von sieben Tagen zu Ernten. Das bei der Kultivierung verwendete Medium (Basal-Medium) wurde nach dem Rezept der Uni Göttingen hergestellt (SAG 2014a). Die Algen wurden nach der Ernte mittels Tellerseparator separiert und bei -20 °C tiefgefroren. Im Institut für Umwelttechnik und Energiewirtschaft der Technischen Universität Hamburgs wurden diese dann durch Gefriertrocknung lyophilisiert, um sie anschließend wieder bis zur Analyse bei -20 °C zu lagern.

Die Mikroalgen wurden auf ihren Protein-, Saccharid- sowie Lipidgehalt analysiert. Eine Übersicht der angewendeten Methoden und Geräte wird in Tabelle 1 dargestellt. Spezifische Angaben werden im Anhang aufgeführt und eine Erläuterung der Methoden folgen in den Kapiteln 3.1 bis 3.4.

Tabelle 1: Übersicht der verwendeten Geräte, Chemikalien und Methoden

<i>Analyse</i>	<i>DIN / ISO</i>	<i>Verwendete Geräte</i>	<i>Chemikalien</i>
Trockensubstanz [TS] <i>Kapitel 3.1</i>	EN 12880:2001-02	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Analysenwaage</li> <li>• Trockenschrank</li> <li>• Exsikkator mit Siliciagel</li> </ul>	-
Organische Trockensubstanz [oTS] <i>Kapitel 3.1</i>	EN 12879:2001-02	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Exsikkator mit Siliciagel</li> <li>• Analysenwaage</li> <li>• Muffelofen</li> </ul>	-
Gesamtstickstoffgehalt [TKN] <i>Kapitel 3.2</i>	in Anlehnung an VDLUFA A.2.2.1	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Analysewaage</li> <li>• Aufschlussblock Kjeldahltherm mit Turbosog</li> <li>• Wasserdampfdestillationsgerät</li> <li>• Titriereinheit</li> </ul>	siehe Anhang
Lipidkonzentration [FAME] <i>Kapitel 3.3</i>	in Anlehnung an die DGF-Einheitsmethode C-VI 10a	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gas-Chromatograph mit FID</li> <li>• BPX70 Säule</li> <li>• Zentrifuge</li> <li>• Analysewaage</li> <li>• Exsikkator</li> </ul>	siehe Anhang
Saccharidkonzentration <i>Kapitel 3.4</i>	Interne TUHH Methode M03.008	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Zentrifuge</li> <li>• Photometer</li> <li>• Hochdruckflüssigkeitschromatograph mit Brechungsindexdetektor</li> </ul>	siehe Anhang

### 3.1 Bestimmung der organischen Trockensubstanz

Um den prozentualen Anteil der Protein- Lipid- und Saccharidkonzentration der Mikroalgen zu ermitteln, wurden die Trockensubstanz sowie die organische Trockensubstanz ermittelt. Die organische Trockensubstanz (oTS) ist der Anteil der organischen Bestandteile eines Stoffes nach vollständigem Entzug von Wasser und allen mineralischen Bestandteilen. Die Durchführung erfolgte nach DIN EN 12880:2001-02 und DIN EN 12879:2001-02.

Bestimmt wird die oTS, indem man die Gewichts Differenz zwischen dem getrockneten Zustand nach Erhitzen auf 105 °C und nach Veraschung bei 550 °C dem Ursprungswert gegenüberstellt. Um der Probe den Wasseranteil zu entziehen und den Trockenrückstand bestimmen zu können werden zuerst die Abdampfschalen, in denen anschließend die Algenproben ausgewogen werden, im Trockenschrank bei 105 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Anschließend werden diese im Exsikkator auf Raumtemperatur abgekühlt, ausgewogen und das Gewicht notiert. In diese Abdampfschalen werden 1,5 g der jeweiligen Algenproben ausgewogen und diese über Nacht wieder im Trockenschrank bis zu einer Gewichtskonstanz bei 105°C getrocknet. Nach der folgenden Abkühlung im Exsikkator wird das Gewicht der Probe wieder bestimmt. Die Trockensubstanz kann durch die Formel 4 bestimmt werden:

$$w_T = \frac{(m_b - m_c)}{(m_b - m_a)} * f \quad (4)$$

- w<sub>T</sub>: Trockenrückstand in %
- m<sub>a</sub>: Masse der leeren Abdampfschale in g
- m<sub>b</sub>: Masse der Abdampfschale mit Probe in g
- m<sub>c</sub>: Masse der Abdampfschale mit Trockenmasse in g
- f: Faktor zur Umrechnung: f = 100 %

Durch die Veraschung wird der Gehalt der anorganischen Bestandteile einer Probe bestimmt. Die organischen Bestandteile werden durch hohe Temperaturen in einem Muffelofen verbrannt und der anorganische Anteil der Probe bleibt als Asche zurück. Die Proben werden zuerst, wie bei der Bestimmung der Trockensubstanz, bei 105 °C getrocknet. Die Tiegel, in der die Proben anschließend verascht werden, werden gesäubert und bei 550 °C für zwei Stunden ausgeglüht und im Exsikkator bis zur Einwaage der Probe gelagert. Der leere Tiegel wird vor Gebrauch gewogen und das Gewicht notiert.

Anschließend wird 1g der getrockneten Algenprobe im Tiegel ausgewogen und der Tiegel mit der eingewogenen Probe bis zum Glühen im Exsikkator gelagert.

Die Veraschung erfolgt, indem man den Tiegel mit der Probe in den kalten Muffelofen stellt und eine stufenweise Temperaturerhöhung durchführt. Die Probe wird für 20 Minuten bei 200 °C, anschließend 30 Minuten bei 300 °C und abschließend für fünf Stunden bei 550 °C erhitzt. Nach dem Glühen wird der Tiegel im Exsikkator abgekühlt und nach Erreichen auf Zimmertemperatur ausgewogen. Der Glühverlust kann durch die Formel 5 bestimmt werden:

$$c = \frac{m*(P_t+T_t)-m*(P_g+T_g)}{m*(P_t)} * f \quad (5)$$

c:	Glühverlust der Algenprobe in %
m (P <sub>t</sub> + T <sub>t</sub> ):	Masse der getrockneten Algenprobe mit dem getrockneten Tiegel in g
m (P <sub>g</sub> + T <sub>g</sub> ):	Masse der geglühten Algenprobe mit dem geglühten Tiegel in g
m (P <sub>t</sub> ):	Masse der getrockneten Algenprobe in g
f:	Faktor zur Umrechnung: f = 100 %

Die organische Trockensubstanz kann aus den zuvor ermittelten Werten durch die Formel 6 berechnet werden:

$$w_{To} = \frac{w_T - (w_T * (\frac{c}{100}))}{m_A} * f \quad (6)$$

w <sub>To</sub> :	Organischer Trockenrückstand in %
w <sub>T</sub> :	Trockenrückstand in %
m <sub>A</sub> :	Masse der Algenproben vor der Trocknung
c:	Glühverlust der Algenprobe in %
f:	Faktor zur Umrechnung: f = 100 %

### 3.2 Bestimmung des Gesamtstickstoffgehalts (TKN)

Der Gesamtstickstoffgehalt nach Kjeldahl (TKN) bezeichnet die Summe an organischem Stickstoff und Ammonium-Stickstoff in einer Analyseprobe und wurde in Anlehnung an die Methode A.2.2.1 des Verbands deutscher landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten e.V. ermittelt (Thun und Hoffmann 2012).

Zuerst wird die Probe analog zur TS-Bestimmung getrocknet und anschließend gemahlen. Der organisch gebundene Stickstoff, welcher in Form von Proteinen in der zu analysierenden Probe vorliegt, wird durch Schwefelsäure, Wasserstoffperoxid und Kjeldahl-Katalysatortabletten in einem Heizblock aufgeschlossen. Dieser Vorgang führt zur Bildung von Ammoniumsulfat, welches wiederum, unter Verwendung von Natronlauge (32 % NaOH), als Ammoniak ausgetrieben und mittels Wasserdampfdestillation detektiert wird (Pohling 2015).

Da der Kjeldahl-Stickstoff hauptsächlich aus den Proteinen stammt, kann der Proteingehalt der Probe mittels Kjeldahl-Faktors aus dem Gesamtstickstoff ermittelt werden. Der analytisch ermittelte Stickstoffgehalt der Algenprobe muss daher analog zu López et al. (2010) mit dem Faktor 5,95 multipliziert werden, um den Proteingehalt zu berechnen.

$$c_{Protein} = c_{Stickstoff} * F_{KJ} \quad (7)$$

$c_{Protein}$ : Proteingehalt in  $g_{Protein} g_{BTM}^{-1}$

$c_{Stickstoff}$ : Stickstoffgehalt in  $g_{Stickstoff} g_{BTM}^{-1}$

$F_{KJ}$ : Kjeldahl-Faktor  $F_{KJ} = 5,95$

Abweichungen zu der Methode A 2.2.1 bestehen in der Verwendung von Kjeldahl-Katalysatortabletten anstelle des Selenreaktionsgemisches, in der Verwendung von Wasserstoffperoxid anstelle von Kaliumsulfat sowie im Verzicht der Mischindikatorlösung aufgrund der automatisierten Titriereinheit.

### 3.3 Bestimmung der Lipidkonzentration / Fettsäuremethylester

Der Nachweis der Fettsäuremethylester (FAME) wurde in Anlehnung an die DGF-Einheitmethode C-VI 10a ermittelt.

Zuerst werden die Proben bei 50 °C für 16 Stunden im Trockenschrank getrocknet, um den Wasseranteil zu eliminieren. Anschließend wird die getrocknete Probe mit dem Mörser zerkleinert und analysiert. Die in der Algenmasse in Form von Triglyceriden vorliegenden C<sub>4</sub> - C<sub>24</sub> Fettsäuren werden dabei durch Derivatisierung nach der DMP-Methode von Garcés und Mancha (1993) in die entsprechenden Fettsäuremethylester überführt. Die DMP-Methode ist aufgrund von Störpeaks durch das Aufschlussgemisch nur zur Bestimmung der Fettsäuren C<sub>16</sub> - C<sub>24</sub> geeignet. Die Methode ist dennoch zur Bestimmung geeignet, da in diesem Bereich die Hauptfettsäuren der Algen liegen. Durch eine gaschromatographische Trennung der Methylester wird eine Detektion mittels Flammenionisationsdetektor ermöglicht. Die Identifizierung der einzelnen Fettsäuren im Chromatogramm erfolgt anschließend anhand der spezifischen Retentionszeiten, die Quantifizierung durch Flächenauswertung der Peaks mit Hilfe eines internen Standards.

### 3.4 Bestimmung der Saccharidkonzentration

Die Bestimmung der Saccharidkonzentration wurde durch das Zentrallabor für chemische Analytik der Technischen Universität Hamburg nach der internen Methode M03.008 durchgeführt.

Dafür wurden 200 mg der Proben mit 4 ml Wasser für 30 Min. geschüttelt. Anschließend wurde 1 ml der Aufschlämmung entnommen und für die Hydrolyse mit 1 ml 4 %iger Schwefelsäure versetzt. Nach 1 h Inkubation bei 120 °C wurde mit Calciumcarbonat neutralisiert und bei 16000 g zentrifugiert. Der Überstand wurde an einer Rezex-Organic-Acid-Säule (300×7,8 mm) mit 2,5 mmol Schwefelsäure als Eluent bei 40 °C mit einem Fluß von 0,3 ml/min chromatographiert (Detektion: RI). Für die freien Kohlenhydrate wurde der Rest der aufgeschlammten Probe zentrifugiert und der Überstand analysiert.

### 3.5 Wetterstation / Wetterdaten

Um den Einfluss der Temperatur und der Lichtintensität auf die Mikroalgenzusammensetzung zu analysieren, wurden die Wetterdaten mit Hilfe einer Wetterstation der Firma Davis Instruments gesammelt. Diese misst die Temperatur und die Globalstrahlung in unmittelbarer Nähe der FPA-Reaktoren am Standort Hamburg Reitbrook (53°28'12.7"N 10°10'40.9"E). Die Messdaten werden jeden Tag in einem Abstand von zehn Minuten gemessen und protokolliert. Diese Werte wurden mit denen der Wetterstation der HAW Hamburg abgeglichen, welche in einer Entfernung von drei Kilometern Luftlinie angesiedelt ist. Um einen eventuellen Einfluss von Regen auf die Kultivierungstemperatur in Betracht zu ziehen, wurden die Daten der gemessenen Niederschläge von der HAW übernommen (HAW Hamburg 2017). Die Einordnung der Niederschlagintensität erfolgte nach den Kategorien des Deutschen Wetterdienstes (DWD 2019). Die genauen Herstellerangaben sind im Anhang A in Tabelle 6 dargestellt.

Da die Mikroalgen nur die PAR nutzen (Kapitel 2.2.3), muss die gemessene Globalstrahlung in die PPFD umgerechnet werden (Gerlach 1994; McCree 1972). Diese gibt die Anzahl eingestrahelter Photonen im Spektralbereich von 400 bis 700 nm pro Zeit und Fläche an. Ein oft verwendeter Umrechnungsfaktor wurde von McCree (1972) bestimmt und ist in Gleichung (8) dargestellt.

$$1 \frac{W}{m^2} = 4,24 \frac{\mu mol}{m^2 s^1} \quad (8)$$

## 4. Darstellung der Ergebnisse

Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse der untersuchten Algenproben dargestellt. Diese wurden auf ihre Protein-, Saccharid- sowie Lipidanteile analysiert an. Um mögliche Einflüsse der Temperatur sowie der Lichtintensität auf die Mikroalgenzusammensetzung ausfindig zu machen, wurden die Wetterdaten der einzelnen Kultivierungswochen analysiert. Zudem wurde das Fettsäurespektrums der einzelnen Proben untersucht, um mögliche umweltbedingte Einflüsse zu erfassen.

### 4.1 Ergebnisse der Trockensubstanz / organischen Trockensubstanz

Um die Ergebnisse der Protein-, Saccharid- sowie Lipidanalyse auf die organische Trockensubstanz beziehen zu können und deren jeweiligen Anteil anzugeben, wurde dieser zuerst bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Ergebnisse der Bestimmung der Trockensubstanz sowie die der organischen Trockensubstanz. Die prozentualen Anteile beziehen sich auf die Algenmasse vor der Trocknung für die jeweilige Probe

Nummer	Reaktor	Erntedatum	Trockensubstanz	organische Trockensubstanz
			% w/w	% w/w
1	M1R3	04.08.2017	98,53	96,23
2	M1R3	29.09.2017	98,78	96,02
3	M1R3	20.09.2017	98,28	94,77
4	M2R3	20.09.2017	96,83	96,52
5	M1R4	12.10.2017	98,46	94,47
6	M2R4	12.10.2017	98,78	94,03
7	M1R4	25.08.2017	97,95	96,07
		∅	98,23	95,44

Die Ergebnisse der Bestimmung der Trockensubstanz zeigen, dass die durchschnittlich gemessene Trockensubstanz 98,23 % beträgt und daher der durchschnittliche Wasseranteil in den lyophilisierten Proben vor der Trocknung bei 1,73 % liegt. Den größten Anteil an Wasser besitzt die Probe Nummer 4 vom 20.09.2017 mit 3,17 %. Den geringsten Wasseranteil besitzen die Proben 2 und 6 mit jeweils 1,22 %.

Nach der Bestimmung der Trockensubstanz sowie des Glühverlustes konnte die organische Trockensubstanz bestimmt werden. Hier liegt der durchschnittliche Wert bei 95,44 %, was gleichzeitig bedeutet, dass durchschnittlich 4,66 % der Biomasse vor der

Trocknung aus Wasser und mineralischen Bestandteilen besteht. Die Werte der einzelnen Proben für die organische Trockensubstanz liegen zwischen 94,02 – 96,77 %.

Da die Protein-, Lipid- sowie Saccharidkonzentration und deren Anteile mit der Trockensubstanz der Algenproben bestimmt wurde, gibt es in jeder Probe einen Anteil von anorganischen Salzen und Pigmenten, welche diesen Werten nicht zugeordnet werden können. Die Anteile dieser Werte lagen in der Trockensubstanz, je nach Probe, zwischen 4 - 9 %. Durch den Bezug der Konzentrationen auf die organische Trockensubstanz wird ein Teil dieser anorganischen Bestandteile eliminiert, jedoch bleiben trotzdem Anteile bestehen, die den Proteinen, Sacchariden oder Lipiden nicht zugeordnet werden können. Diese werden in den Abbildungen in den folgenden Kapiteln als „Rest“ bezeichnet.

#### 4.2 Ergebnisse der Wetterstation und der Analysen der einzelnen Proben

In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse der Mikroalgenzusammensetzung sowie die Wetterdaten grafisch dargestellt. Diese wurden einzeln und im Detail für jede Kultivierungswoche analysiert, um auch umweltbedingt Einflüsse an einzelnen Tagen, wie beispielsweise starke Temperaturschwankungen oder hohe Niederschlagsraten, mit in die Bewertung einfließen zu lassen.

Die Kultivierungen wurden jeweils zur Mittagszeit gestartet. Die Ernte erfolgte jeweils sieben Tage nach dem Start der Kultivierung im gleichen Zeitraum. Die in den Abbildungen gezeigten Sonnenstunden beziehen sich auf den Zeitraum, in der die Wetterstation eine messbare Globalstrahlung registriert hat. Analog dazu wurde die Dunkelzeit bestimmt, welche die Zeit darstellt, in der keine Lichtintensität gemessen wurde. Die Temperatur in der Dunkelzeit sowie die Dunkelzeit selbst wurden gesondert betrachtet, um mögliche Auswirkungen auf die temperaturabhängigen, enzymatisch gekoppelten Reaktionen in der Dunkelreaktion der Photosynthese und dem damit verbundenen Tag-Nacht-Zyklus zu analysieren.

Genaue Angaben zu den Protein-, Saccharid- sowie Lipidkonzentrationen in den einzelnen Proben sowie die Konzentrationen und prozentuale Verteilung der Fettsäurespektren sind im Anhang B in den Tabellen 7 – 11 zu finden.

#### 4.2.1 Ergebnisse des Reaktors M1R3 vom 04.08.2017

Der Reaktor M1R3 wurde im Zeitraum vom 28.08.2017 - 04.08.2017 kultiviert. Die Abbildung 3 zeigt den Verlauf der durchschnittlichen Tagestemperaturen, die maximale Tagestemperatur, die täglichen Sonnenstunden sowie die gemessene durchschnittliche Lichtintensität.

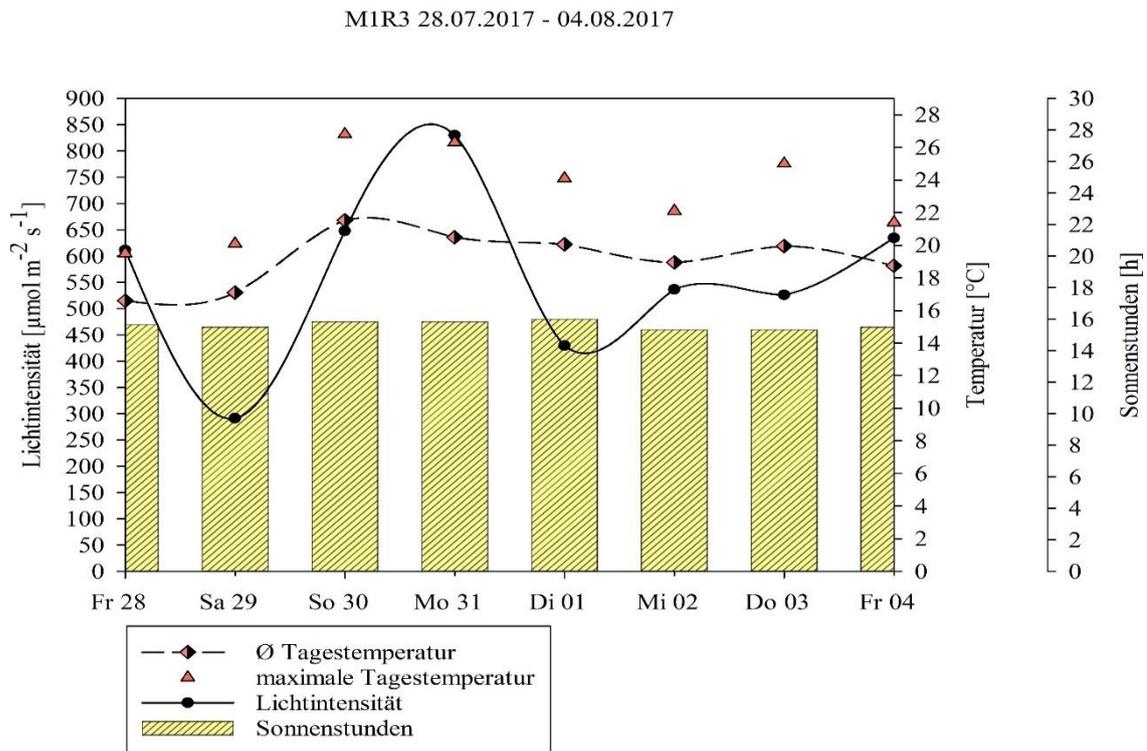


Abbildung 3: Darstellung der gemessenen mittleren Lichtintensität, der mittleren Tagestemperatur, der maximalen Tagestemperatur und der Sonnenstunden für den Reaktor M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 28.07.2017 - 4.08.2017

Anhand der Daten wurde im Kultivierungszeitraum eine durchschnittliche Tagestemperatur von 19,38 °C ermittelt. Im Vergleich mit den weiteren Kultivierungswochen war dies die höchste durchschnittliche Tagestemperatur. Am 28.08.2017 lag die Temperatur bei 16,6 °C und stieg bis zum 30.08.2017 auf 21,53 °C an. An diesem Tag wurde auch die höchste Tagestemperatur mit 26,8 °C gemessen. Die durchschnittliche Tagestemperatur der folgenden Tage verliefen ohne große Schwankungen nah am gemittelten Wert.

Die durchschnittliche Lichtintensität betrug in dieser Woche 563,45  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , was einer Intensität von 48,68  $\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$  entspricht. An zwei Tagen sind größere Abweichungen von diesem Wert erkennbar. Am 29.07.2017 wurde die geringste Lichtintensität mit 291,12  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gemessen. Die höchste Lichtintensität war am

31.7.2017 mit  $830,03 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  zu verzeichnen. Die Werte der weiteren Tage schwanken mit nur leichten Abweichungen um den gemittelten wöchentlichen Wert.

Die täglichen Sonnenstunden betragen in dieser Woche durchschnittlich 15,62 h. Im Vergleich mit den weiteren Kultivierungswochen ist dies der höchste Wert, der gemessen wurde.

Da die Temperatur außerhalb der Reaktoren gemessen wurde, muss ein eventueller Einfluss von Regen auf die Reaktortemperatur in Betracht gezogen werden. In Abbildung 4 ist der Verlauf der mittleren Tagestemperatur sowie die Regenstunden und die dazu gehörigen mittleren Niederschlagsintensität für die jeweiligen Tage dargestellt.

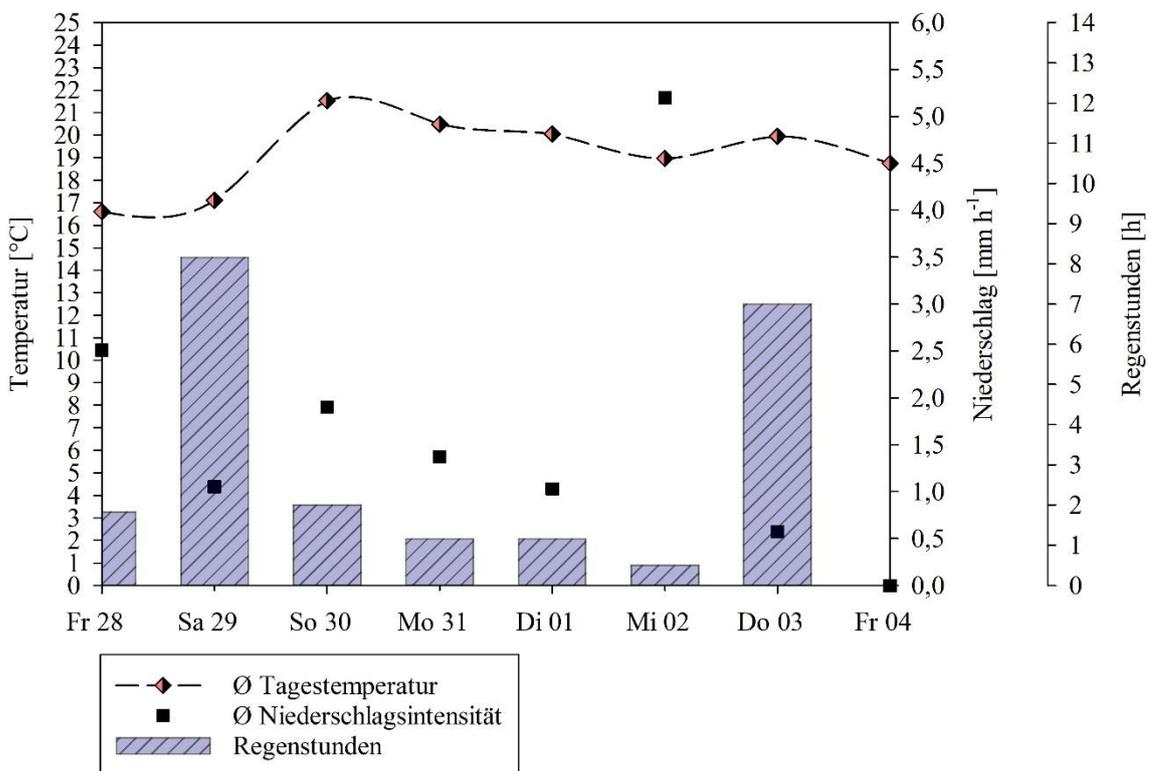


Abbildung 4: Darstellung der mittleren Tagestemperatur, des gemittelten täglichen Niederschlags sowie der täglichen Regenstunden für den Reaktor M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 28.07.2017 - 4.08.2017

Außer am Tag der Ernte konnten an jedem Tag in dieser Woche Niederschläge gemessen werden. Insgesamt betrug die Anzahl der Regenstunden 21,83 h, was einem Anteil von 13 % im gesamten Kultivierungszeitraum entspricht. In Verbindung mit der durchschnittlichen Niederschlagsintensität von  $1,7 \text{ mm h}^{-1}$  innerhalb der ganzen Woche sowie der Intensitäten der einzelnen Tage kann der Niederschlag überwiegend in leichten bis mäßigen Regen sowie teilweise Regenschauer eingeordnet werden. Lediglich am 02.08.2017 konnte mit  $5,2 \text{ mm h}^{-1}$  ein starker Regenschauer über einen Zeitraum von 0,5

h gemessen werden. Am 29.07.2017 und 03.08.2017 waren Niederschläge über einen längeren Zeitraum von 8,17 h und 7 h zu verzeichnen.

In Abbildung 5 wird die Temperatur sowie die Niederschlagsintensität in der Dunkelzeit gesondert betrachtet.

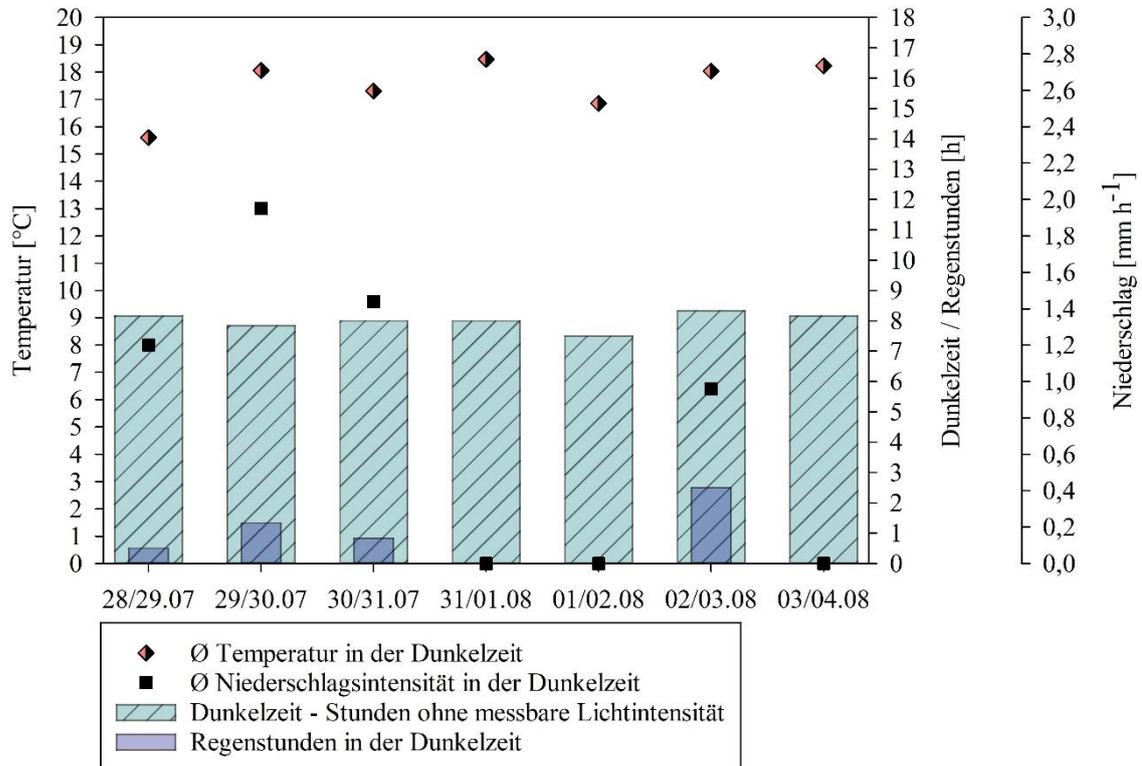


Abbildung 5: Darstellung der täglichen Dunkelzeit, der Regenstunden, der gemittelten Temperatur und der Niederschlagsintensität für den Reaktor M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 28.07.2017 - 04.08.2017. Temperatur, Niederschlagsintensität sowie Regenstunden beziehen sich auf die Dunkelzeit

Die durchschnittliche Temperatur in der Dunkelzeit im Kultivierungszeitraum betrug 17,51 °C und ist, im Vergleich mit den weiteren Kultivierungswochen, die höchste, die gemessen wurde. Die Temperaturwerte an den einzelnen Tagen zeigen keine großen Abweichungen von dem gemittelten Wert. Die größte Abweichung wurde in der Nacht vom 28/29.07.2017 mit 1,91 °C gemessen. Durch die mittlere Dunkelzeit von 8,0 h ergibt sich ein Verhältnis des Tag-Nacht-Zyklus von 2:1. Damit ist diese Kultivierungswoche, im Vergleich mit den folgenden, diejenige mit den meisten Sonnenstunden und der kürzesten Dunkelzeit.

Der Anteil der Regenstunden während der Dunkelzeit betrug 9,23 % mit insgesamt 5,17 h. Die höchste Niederschlagsintensität konnte in der Nacht vom 29/30.07 mit 1,96 mm h<sup>-1</sup> gemessen werden.

Die Ergebnisse der Protein-, Saccharid- und Lipidbestimmung aus der Trockensubstanz wurden auf die organische Trockensubstanz bezogen und ist in der Abbildung 6 dargestellt.

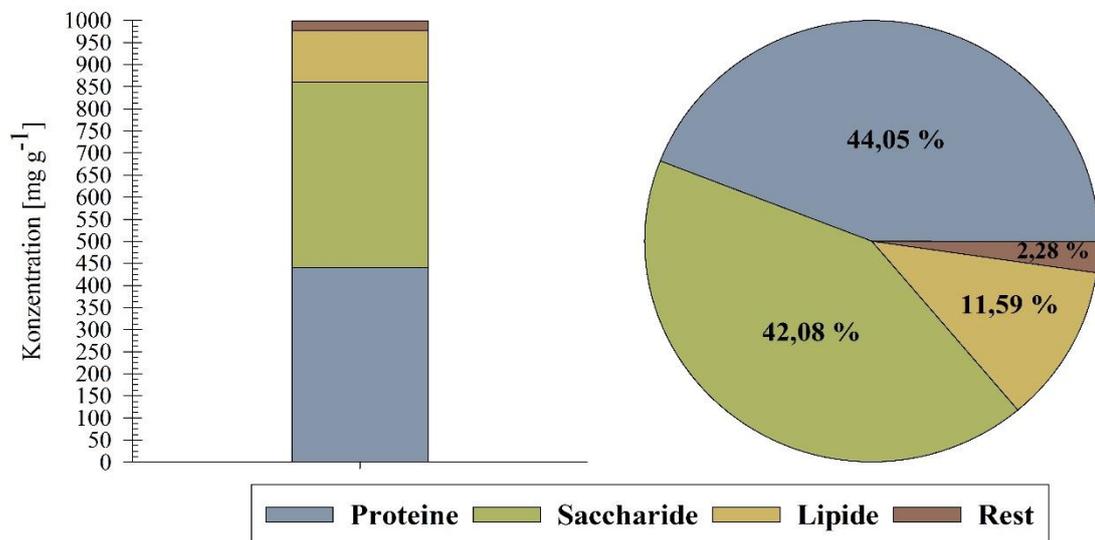


Abbildung 6: Übersicht über die Konzentration (links) sowie die prozentuale Verteilung (rechts) der Proteine, Saccharide, Lipide und dem unbestimmten Anteil (Rest) in der organischen Trockensubstanz für den Reaktor M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 28.07.2017 - 04.08.2017

Den größten Anteil an der organischen Trockensubstanz nimmt der Proteinanteil mit 44,05 % ein. Auf einem ähnlichen Niveau befindet sich der Anteil der Saccharide mit 42,08 %. Den geringsten Anteil besitzen die Lipide mit 11,86 %. Aus diesen Werten resultiert, dass in der organischen Trockensubstanz eine Konzentration von  $440,5 \text{ mg g}_{\text{OTS}}^{-1}$  Proteine,  $420,8 \text{ mg g}_{\text{OTS}}^{-1}$  Saccharide sowie  $115,9 \text{ mg g}_{\text{OTS}}^{-1}$  Lipide enthalten sind. Der Rest, welcher aus den anorganischen Salzen und Pigmenten in der Trockensubstanz resultieren und den jeweiligen Fraktionen nicht zugeordnet werden konnte, beträgt in dieser Probe 2,28 %.

Abbildung 7 zeigt die Quantifizierung der einzelnen Fettsäuren. Diese wurden zur Übersichtlichkeit in drei Gruppen anhand ihrer prozentualen Verteilung unterteilt. Die erste Gruppe enthält Fettsäuren mit einem Anteil von mehr als 20 %. In der zweiten Gruppe liegen Fettsäuren mit einem Anteil zwischen 1 - 5 %. Die letzte Gruppe beinhaltet Fettsäuren mit einem Anteil, der weniger als 1 % beträgt. Genaue prozentuale Angaben sowie Konzentrationen wurden nur für die ersten beiden Gruppen angegeben. Eine

Übersicht der genauen Konzentrationsangaben sowie prozentualen Anteile der einzelnen Fettsäuren befindet sich im Anhang B in Tabelle 7.

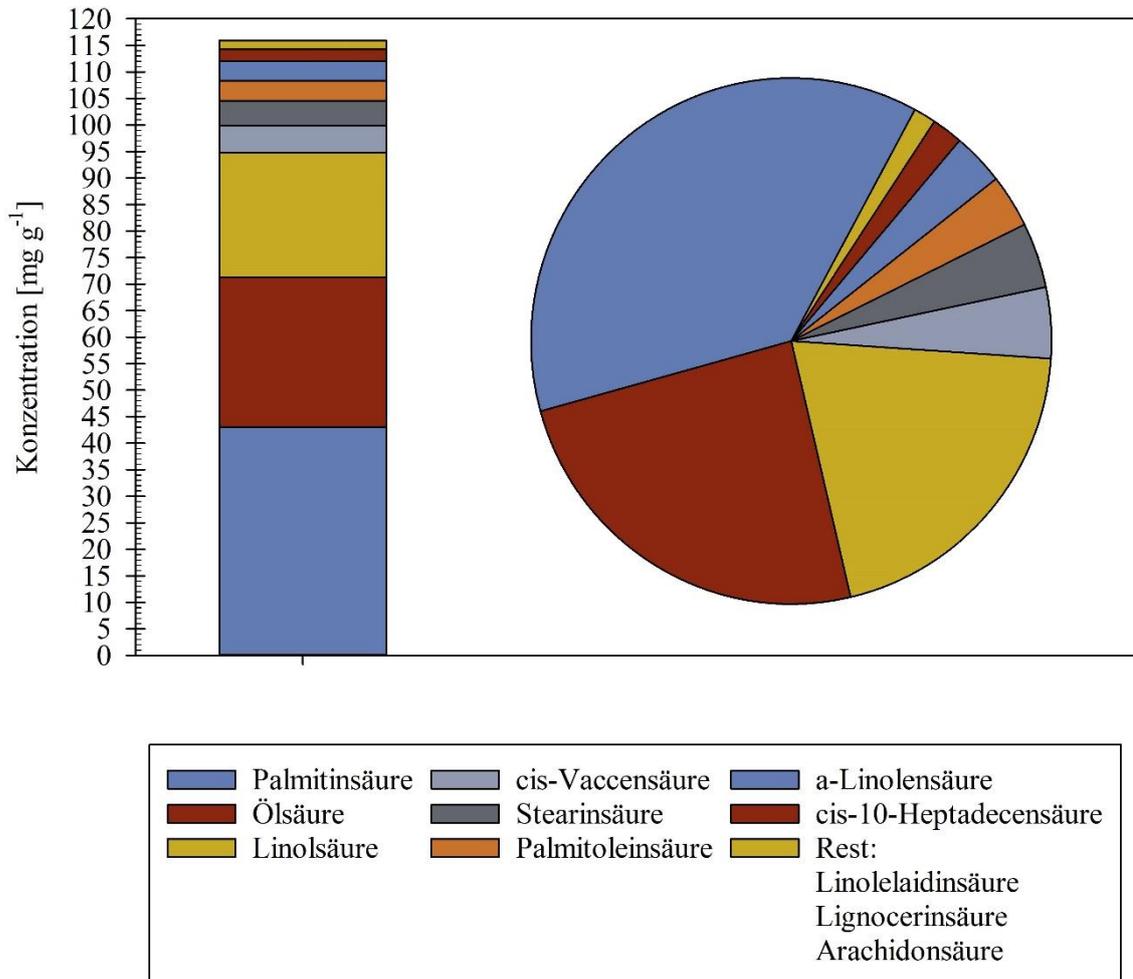


Abbildung 7: Übersicht des Spektrums der enthaltenen Fettsäuren in mg g<sup>-1</sup> (Balkendiagramm) sowie die prozentuale Verteilung (Kreisdiagramm) für die Algenprobe aus dem Reaktor M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 28.07.2017 - 4.08.2017

Die erste Gruppe besteht aus den drei Fettsäuren Palmitinsäure (37,15 % / 43,06 mg g<sub>OTS</sub><sup>-1</sup>), Ölsäure (24,38 % / 28,26 mg g<sub>OTS</sub><sup>-1</sup>) und Linolsäure (20,30 % / 23,53 mg g<sub>OTS</sub><sup>-1</sup>). Die Summe dieser Anteile beträgt 81,83 % und macht somit einen großen Anteil aller nachgewiesenen Fettsäuren in der organischen Trockensubstanz aus.

Die zweitgrößte Gruppe besteht aus den Fettsäuren cis-Vaccensäure (4,36 % / 5,05 mg g<sub>OTS</sub><sup>-1</sup>), Stearinsäure (4,02 % / 4,66 mg g<sub>OTS</sub><sup>-1</sup>), Palmitoleinsäure (3,26 % / 3,78 mg g<sub>OTS</sub><sup>-1</sup>), α-Linolensäure (3,23 % / 3,74 mg g<sub>OTS</sub><sup>-1</sup>) sowie der cis-10-Heptadecensäure (1,92 % / 2,23 mg g<sub>OTS</sub><sup>-1</sup>).

Die dritte Gruppe, welche in der Abbildung 7 im Unterpunkt Rest zusammengefasst ist, besteht aus der Linolelaidinsäure, der Lignocerinsäure und der Arachidonsäure.

Zusammen besitzen diese drei Fettsäuren ein Anteil von 1,39 % am Fettsäurespektrum. Insgesamt wurden somit elf verschiedene Fettsäuren identifiziert. Die Vertreter der essentiellen Fettsäuren sind die Linolsäure sowie die  $\alpha$ -Linolensäure. Ihr Anteil am Fettsäurespektrum liegt bei 23,53 %, welches einer Konzentration von  $27,27 \text{ mg g}_{\text{orts}}^{-1}$  entspricht. Insgesamt konnten vier gesättigte und sieben ungesättigte Fettsäuren nachgewiesen werden, von welchen vier Vertreter zu den mehrfach ungesättigten Fettsäuren zählen. Der Anteil am gesamten Fettsäurespektrum liegt bei den gesättigten Fettsäuren bei 43,48 % und der der ungesättigten bei 56,52 %. Insgesamt gehören 24,73 % aller Fettsäuren zu den PUFAs.

#### 4.2.2 Ergebnisse des Reaktors M1R3 vom 29.09.2017

Der Reaktor M1R3 wurde im Zeitraum vom 22.09.2017 bis zum 29.09.2017 kultiviert. Die Abbildung 8 zeigt den Verlauf der durchschnittlichen Tagestemperatur, die maximale Tagestemperatur, die täglichen Sonnenstunden sowie die gemessene durchschnittliche Lichtintensität.

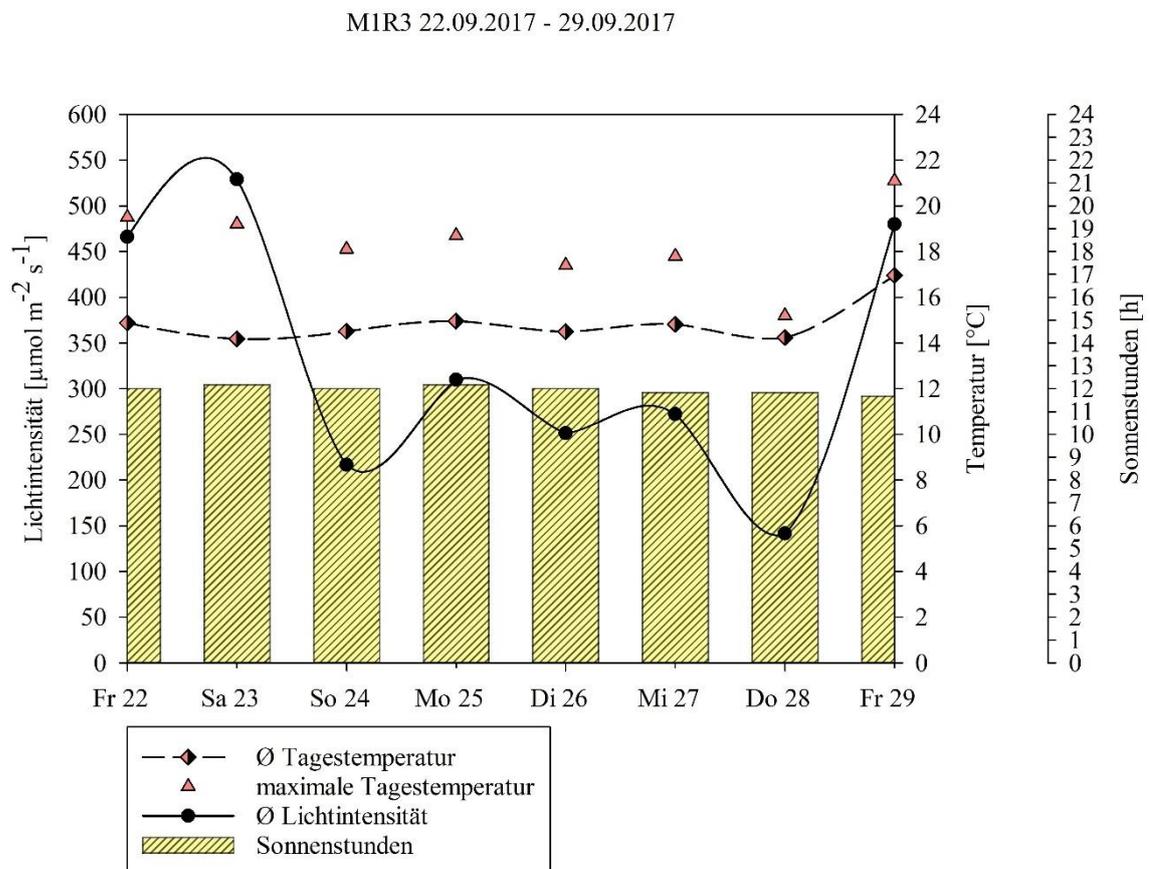


Abbildung 8: Darstellung der gemessenen mittleren Lichtintensität, der mittleren Tagestemperatur, der maximalen Tagestemperatur und der Sonnenstunden für den Reaktoren M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 22.09.2017 - 29.09.2017

Die in dieser Woche ermittelte durchschnittliche Temperatur lag bei 14,88 °C und verläuft an den einzelnen Tagen sehr konstant. Die höchste Temperatur wurde am 29.09.2017 mit 21,2 °C gemessen. Da der Reaktor jedoch zur Mittagszeit schon geerntet wurde und diese Temperatur erst vom Nachmittag stammt, kann dieser Wert als möglicher Einflussfaktor vernachlässigt werden.

Die durchschnittliche Lichtintensität in der Kultivierungswoche ergab einen Wert von 333,15  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Hierbei sind größere Abweichungen von diesem gemittelten Wert innerhalb der Woche zu erkennen. Zu Beginn der Woche Intensitäten bis 528,8  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gemessen werden, welche gleichzeitig auch die höchsten Werte innerhalb dieser Woche darstellten. Am 24.09.2017 sank die Intensität auf 216,53  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ab und blieb an den folgenden drei Tagen auf einem Wert um 250  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Die geringste Lichtintensität wurde am 28.09.2017 mit 141,25  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gemessen, um anschließend am 29.08.2017 wieder auf 479,82  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  zu steigen.

Die durchschnittliche Anzahl an Sonnenstunden betrug 11,78 h und es sind an keinem der Tage signifikante Abweichungen zu erkennen.

Die Niederschlagsintensitäten sowie Regenstunden in Abbildung 9 zeigen, dass innerhalb der ganzen Woche geringe Mengen an Niederschlägen gemessen wurden.

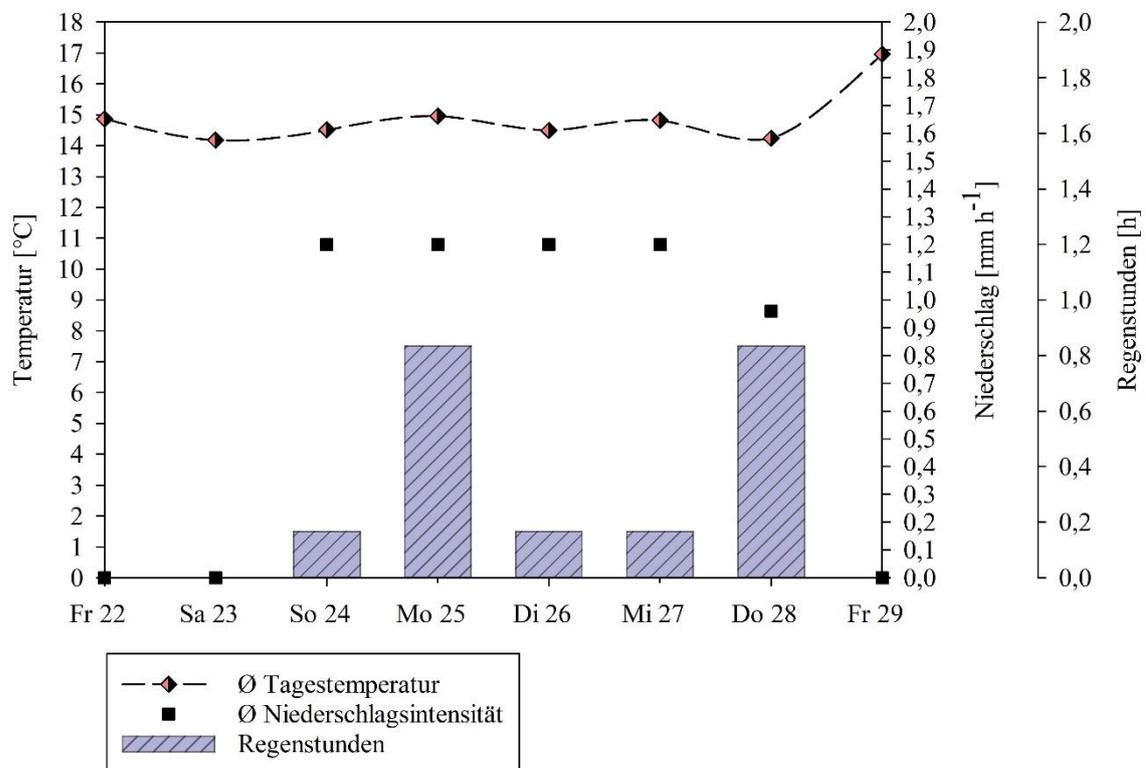


Abbildung 9: Darstellung der mittleren Tagestemperatur, des gemittelten täglichen Niederschlags sowie der täglichen Regenstunden für den Reaktor M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 22.09.2017 - 29.09.2017

Die Regenstunden im gesamten Kultivierungszeitraum betragen 2,17 h mit Intensitäten von maximal  $1,2 \text{ mm h}^{-1}$ . Bei dieser geringen Stundenzahl sowie Niederschlagsintensität ist von keiner signifikanten Auswirkung auf die Reaktortemperatur auszugehen. Alle Niederschläge lassen sich in die Kategorie der leichten Regenschauer einordnen.

Diese geringen Niederschlagsmengen sind auch in der Dunkelzeit in Abbildung 10 zu erkennen.

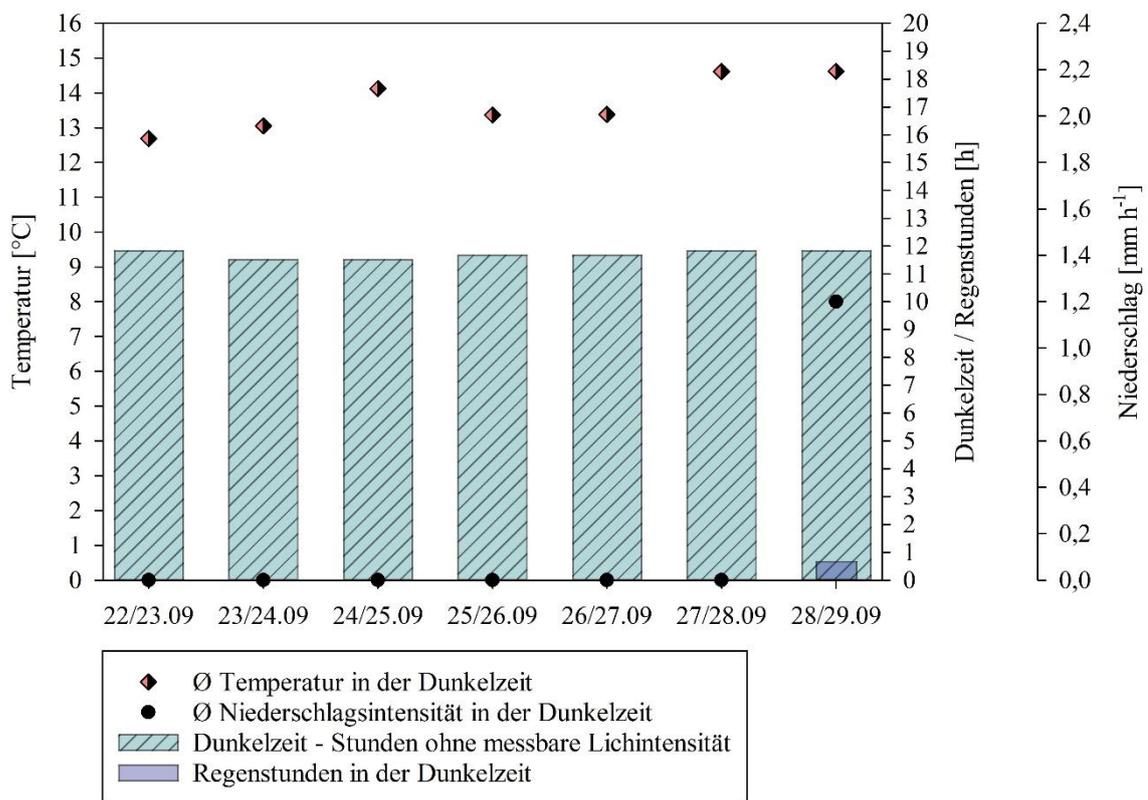


Abbildung 10: Darstellung der täglichen Dunkelzeit, der Regenstunden, der gemittelten Temperatur und der Niederschlagsintensität für die Reaktoren M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 22.09.2017 - 29.09.2017. Temperatur, Niederschlagsintensität sowie Regenstunden beziehen sich auf die Dunkelzeit

Innerhalb der gesamten Kultivierungswoche konnte während der Dunkelzeit nur in einem Zeitraum von 40 Minuten Niederschlag gemessen werden. Daher ist auch hier von keinem erkennbaren Einfluss auf die Reaktortemperatur auszugehen. Die durchschnittliche Dunkelzeit betrug in dieser Woche 11,69 h, sodass sich ein gerundetes Verhältnis des Tag-Nacht-Zyklus von 1:1 ergibt. Die durchschnittliche Temperatur in der Dunkelzeit betrug  $13,70 \text{ °C}$ .

In Abbildung 11 sind die Ergebnisse der Analysen zur Mikroalgenzusammensetzung dargestellt.

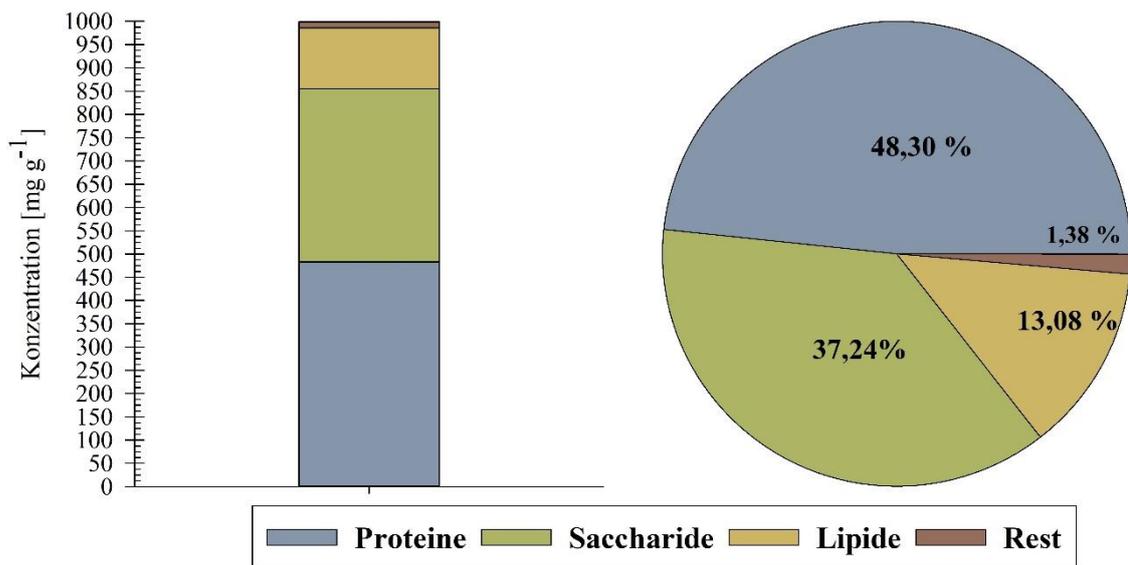


Abbildung 11: Übersicht über die Konzentration (links) sowie die prozentuale Verteilung (rechts) der Proteine, Saccharide, Lipide und dem unbestimmten Anteil (Rest) in der organischen Trockensubstanz für den Reaktor M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 22.09.2017 - 29.09.2017

Den größten Anteil an der Zusammensetzung der organischen Trockensubstanz nimmt der Proteinanteil mit 48,30 % ein. Der Anteil der Saccharide beträgt 37,24 % und der Lipidanteil beträgt 13,08 %. Diese Werte entsprechen einer Konzentration von Proteinen mit 483,00 mg g<sub>OTS</sub><sup>-1</sup>, Sacchariden mit 372,40 mg g<sub>OTS</sub><sup>-1</sup> sowie Lipiden mit 130,8 mg g<sub>OTS</sub><sup>-1</sup>. 1,38 % konnten diesen Anteilen nicht zugeordnet werden und resultieren wie zuvor auch aus den Pigmenten und anorganischen Salzen aus der Analyse der Trockensubstanz.

Die Quantifizierung der einzelnen Fettsäuren ist in Abbildung 12 dargestellt.

Auch hier erfolgt die Unterteilung der Fettsäuren in drei Gruppen, jedoch mit anderen prozentualen Grenzen als im Kapitel zuvor. Die erste Gruppe enthält Fettsäuren mit einem Anteil von mehr als 10 %. In der zweiten Gruppe liegen Fettsäuren mit einem Anteil zwischen 1 - 10 %. Die letzte Gruppe beinhaltet lediglich eine Fettsäure mit einem Anteil von weniger als 1 %. Eine Übersicht der prozentualen Verteilung sowie der Konzentrationen der einzelnen Fettsäuren ist im Anhang B in Tabelle 8 zu finden.

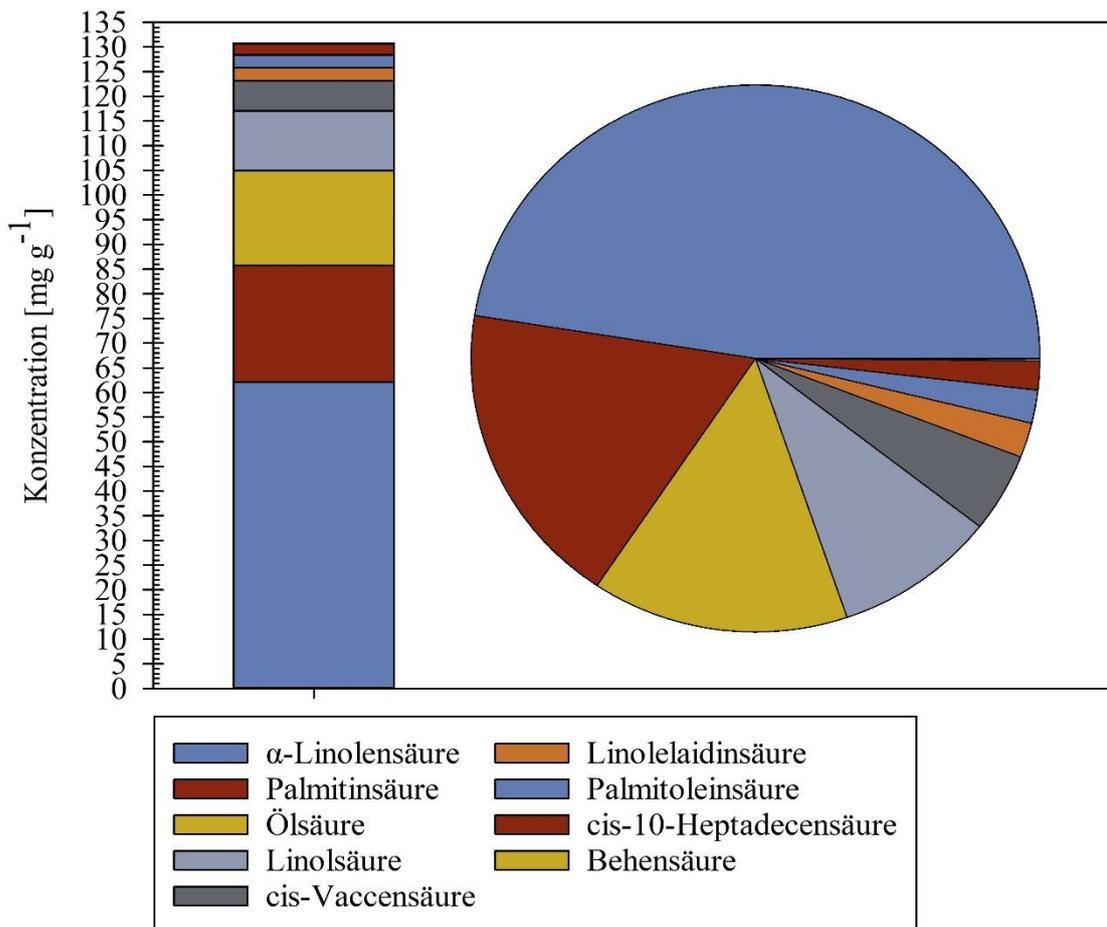


Abbildung 12: Übersicht des Spektrums der enthaltenen Fettsäuren in mg g<sup>-1</sup> (Balkendiagramm) sowie die prozentuale Verteilung (Kreisdiagramm) für die Algenprobe aus dem Reaktor MIR3 im Kultivierungszeitraum vom 22.09.2017 - 29.09.2017

Die erste Gruppe besteht aus den Fettsäuren α-Linolensäure (47,47 % / 62,09 mg g<sub>OTS</sub><sup>-1</sup>), der Palmitinsäure (18,09 % / 23,66 mg g<sub>OTS</sub><sup>-1</sup>) sowie der Ölsäure (14,65 % / 19,16 mg g<sub>OTS</sub><sup>-1</sup>).

Die zweite Gruppe wird angeführt von der Linolsäure (9,26 % / 12,11 mg g<sub>OTS</sub><sup>-1</sup>) gefolgt von der cis-Vaccensäure (4,67 % / 6,11 mg g<sub>OTS</sub><sup>-1</sup>), der Linolelaidinsäure (2,06 % / 2,69 mg g<sub>OTS</sub><sup>-1</sup>), der Palmitoleinsäure (1,95 % / 2,55 mg g<sub>OTS</sub><sup>-1</sup>) sowie der cis-10-Heptadecensäure (1,73 % / 2,26 mg g<sub>OTS</sub><sup>-1</sup>).

In der letzten Gruppe ist nur die Fettsäure Behensäure mit einem Anteil von 0,12 % und einer gemessenen Konzentration von 0,16 mg g<sub>OTS</sub><sup>-1</sup> vertreten.

Die essentiellen Fettsäuren, hier vertreten durch die α-Linolensäure sowie die Linolsäure, besitzen zusammen einen Anteil von 56,73 %. Dies entspricht einer Konzentration von 74,20 mg g<sub>OTS</sub><sup>-1</sup>. Insgesamt wurden neun verschiedene Fettsäuren identifiziert, von welchen drei zu den gesättigten und sechs zu den ungesättigten gezählt werden. Am

Gesamtlipidgehalt liegt der Anteil der gesättigten Fettsäuren bei 19,94 % und analog der der ungesättigten Fettsäuren bei 80,06 %. Der Anteil der PUFAs beträgt in dieser Probe insgesamt 58,79 % vom gesamten Fettsäurespektrum.

#### 4.2.3 Ergebnisse der Reaktoren M1R3 & M2R3 vom 20.9.2017

Die Ergebnisse der Reaktoren M1R3 und M2R3 werden in diesem Abschnitt zusammen dargestellt, da diese im gleichen Zeitraum vom 13.09.2017 bis zum 20.09.2017 kultiviert wurden. Der Vergleich der beiden Reaktoren soll mit den Reaktoren in Kapitel 4.2.4 als Grundlage für einen möglichen Einfluss der Verschattung von Modul 2 durch Modul 1 dienen und mögliche Auswirkungen auf die Mikroalgenzusammensetzung aufdecken.

Beginnen soll die Darstellung der Ergebnisse für diese Kultivierungswoche wieder mit dem Verlauf der durchschnittlichen Tagestemperatur, der maximalen Tagestemperaturen, die täglichen Sonnenstunden sowie die gemessene durchschnittliche Lichtintensität, welche in Abbildung 13 dargestellt werden.

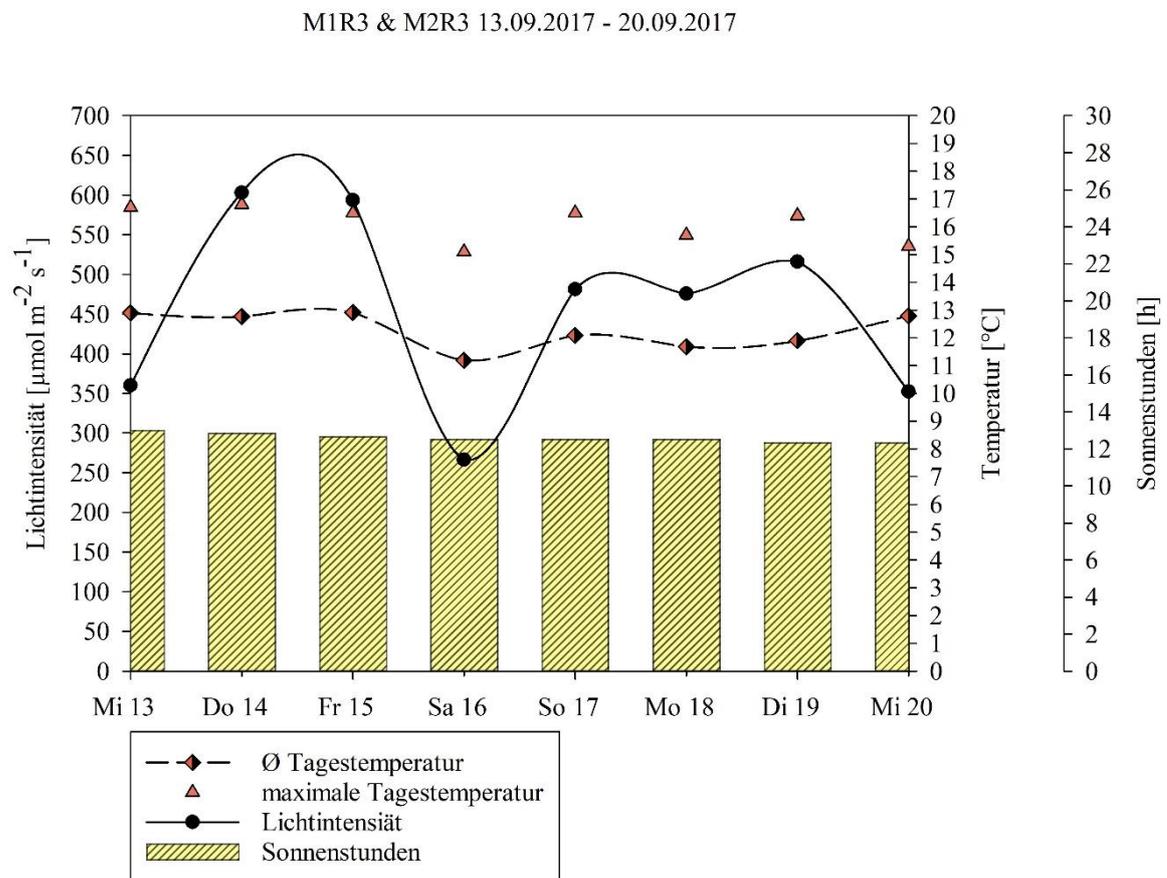


Abbildung 13: Darstellung der gemessenen mittleren Lichtintensität, der mittleren Tagestemperatur, der maximalen Tagestemperatur und der Sonnenstunden für die Reaktoren M1R3 und M2R3 im Kultivierungszeitraum vom 13.09.2017 - 20.09.2017

Die in dieser Woche durchschnittlich gemessene Tagestemperatur lag bei 12,28 °C. Die einzelnen durchschnittlichen Tagestemperaturen zeigen keine großen Abweichungen vom Mittelwert und sind damit konstant. Auch bei den maximalen Tagestemperaturen

sind keine großen Schwankungen zu verzeichnen. Die höchste Temperatur wurde am 14.09.2017 mit 16,8 °C gemessen, die niedrigste am 16.09.2017 mit 15,1 °C.

Die durchschnittliche Lichtintensität in der Woche lag bei 456,00  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  und es sind im Verlauf zwei Plateaus zu erkennen. Die beiden höchsten gemessenen Werte wurden am 14.09.2017 und 15.09.2017 registriert mit Werten um 600  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  und bilden das erste Plateau. Am 16.09.2017 wurde der niedrigste Wert innerhalb dieser Woche gemessenen mit einem Wert von 266,14  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Das zweite Plateau bilden die gemessenen Werte vom 17 - 19.09.2017, welche in einem Bereich um 500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  liegen. Am letzten Tag der Kultivierung sinkt der gemessene Wert auf 352,45  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ab, welcher vergleichbar ist mit der Lichtintensität am ersten Tag der Kultivierung.

Die durchschnittliche Anzahl an Sonnenstunden betrug 12,58 h und es sind wie erwartet an keinem der Tage große Abweichungen zu erkennen.

In Abbildung 14 ist die Niederschlagsintensität sowie die Regenstunden an den einzelnen Tagen in Kultivierungswoche dargestellt.

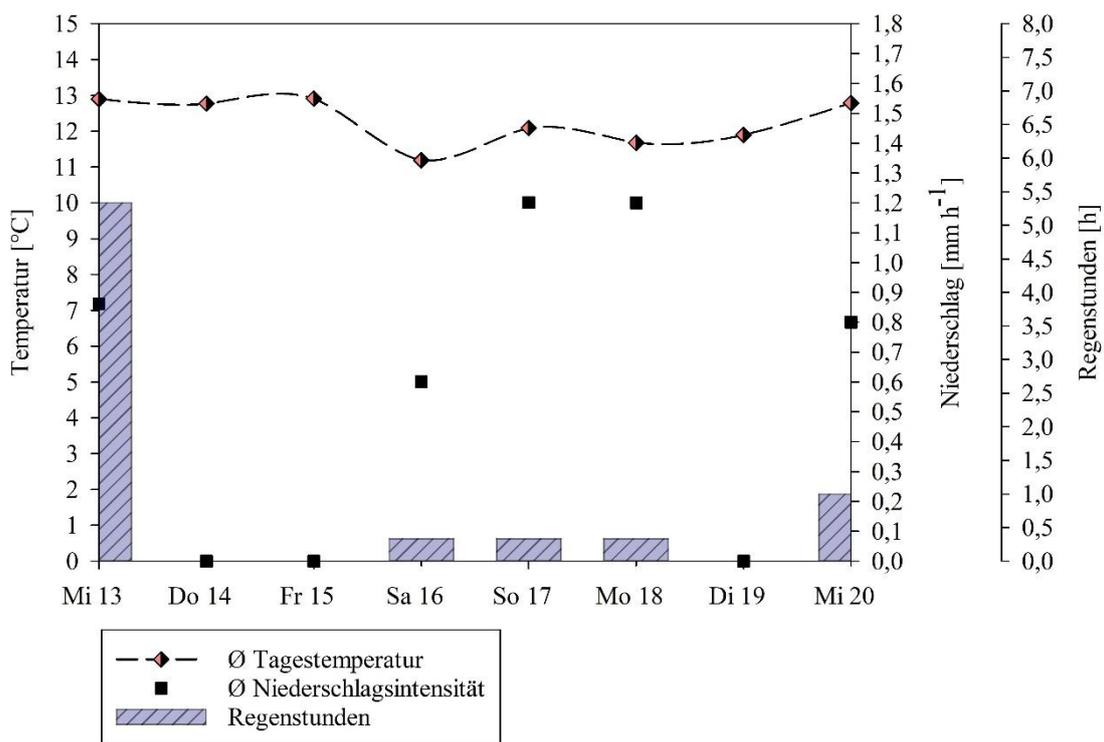


Abbildung 14: Darstellung der mittleren Tagestemperatur, des gemittelten täglichen Niederschlags sowie der täglichen Regenstunden für die Reaktoren M1R3 und M2R3 im Kultivierungszeitraum vom 13.09.2017 - 20.09.2017

In der gesamten Woche konnte für 7,33 h Niederschlag gemessen werden, welches einem Anteil von 4,3 % am gesamten Kultivierungszeitraum entspricht. Die meisten

Regenstunden konnten am 13.09.2017 mit 5,33 h und einer Niederschlagsintensität von 0,86 mm h<sup>-1</sup> gemessen werden. Die restlichen zwei Stunden, an denen Niederschläge in dieser Woche gemessen wurden, verteilen sich auf drei Tage. Die Niederschlagsintensitäten sind an allen Tagen weit unter 2,5 mm h<sup>-1</sup>, daher können diese als leicht kategorisiert werden. Der einzige Einfluss auf die Reaktortemperatur ist am 13.09 zu erwarten. Da an diesem Tag jedoch die Kultivierung erst begonnen wurde, ist hier von keinem signifikanten Einfluss auf die Ergebnisse am Ende des Kultivierungszeitraumes auszugehen.

Bei der Betrachtung der Niederschlagsintensität in Abbildung 15 ist zu erkennen, dass während der gesamten Woche während der Dunkelzeit nahezu kein Niederschlag gemessen wurde. Die wenigen Regenstunden, in Verbindung mit den Niederschlagsintensitäten, lassen den Niederschlag in mäßige Regenschauer kategorisieren, welche keine Auswirkungen auf die Reaktortemperatur haben. Aus den Daten ergibt sich eine durchschnittliche Dunkelzeit von 11,07 h und somit ein Verhältnis für den Tag-Nacht-Zyklus von 13:11.

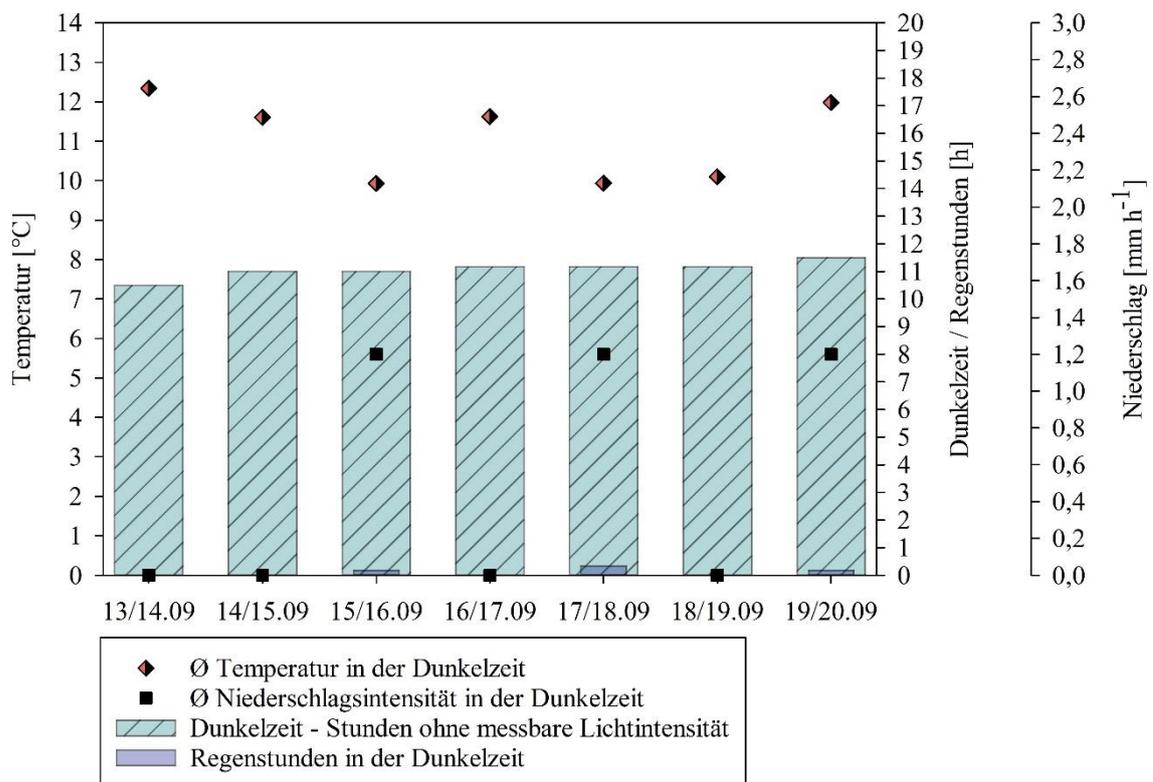


Abbildung 15: Darstellung der täglichen Dunkelzeit, der Regenstunden, der gemittelten Temperatur und der Niederschlagsintensität für die Reaktoren M1R3 und M2R3 im Kultivierungszeitraum vom 13.09.2017 - 20.09.2017. Temperatur, Niederschlagsintensität sowie Regenstunden beziehen sich auf die Dunkelzeit

In Abbildung 16 sind die Ergebnisse der Mikroalgenzusammensetzung für beide Algenproben gegenübergestellt. Die Konzentrationsangaben der einzelnen Anteile sind im Anhang B in Tabelle 12 dargestellt.

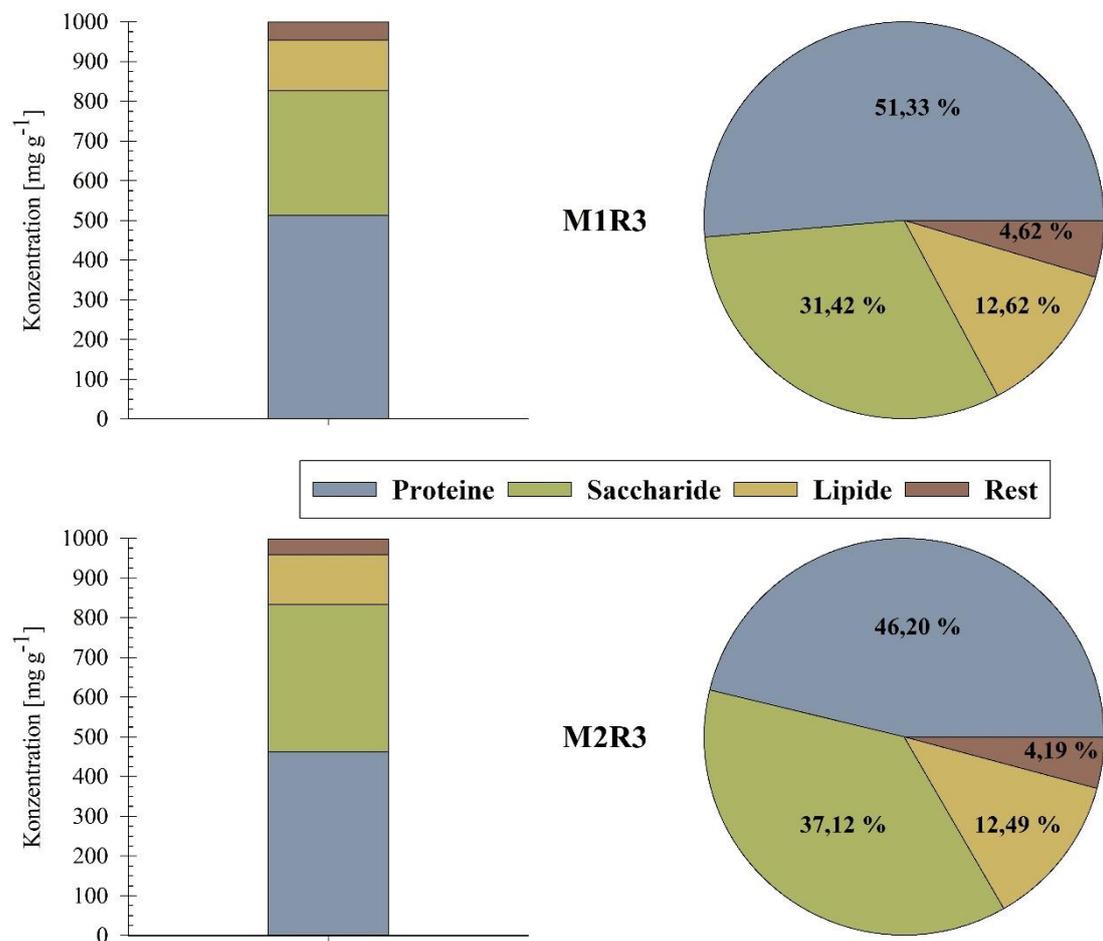


Abbildung 16: Übersicht über die Konzentration (links) sowie die prozentuale Verteilung (rechts) der Proteine, Saccharide, Lipide und dem unbestimmten Anteil (Rest) in der organischen Trockensubstanz für die Reaktoren M1R3 und M2R3 im Kultivierungszeitraum vom 13.09.2017 - 20.09.2017

Bei einem Ergebnisvergleich der beiden Reaktoren sind vor allem Unterschiede in der Verteilung der Proteine und Sacchariden festzustellen.

Der Proteinanteil in der organischen Trockensubstanz ist in beiden Proben derjenige mit dem größten Anteil. In M1R3 beträgt der Anteil der Proteine 51,33 % und in M2R3 46,20 %. Die Differenz dieser Werte beträgt 5,13 %. Auch im Saccharidanteil sind deutliche Unterschiede erkennbar. Der Anteil der Saccharide beträgt in der Probe aus dem Reaktor M1R3 31,42 % und im Reaktor M2R3 37,12 %. Hier beträgt die Differenz 5,7 % und ist der Differenz des Proteinvergleichs sehr ähnlich. Der Lipidanteil liegt in beiden Proben auf einem ähnlichen Niveau mit 12,62 % in M1R3 und 12,49 % in M2R3. Der restliche Anteil, welcher auch hier wieder aus den Pigmenten und anorganischen Salzen aus den

Analysen mit der Trockensubstanz resultiert, liegt mit 4,62 % und 4,19 % auch auf demselben Level.

Auch in diesen Proben wurde das Fettsäurespektrum analysiert und die Ergebnisse sind in Abbildung 17 dargestellt.

Wie auch bei den Reaktoren zuvor können die Fettsäuren in drei Gruppen unterteilt werden. In diesem Fall gehören die Fettsäuren mit einem prozentualen Anteil von über 9 % zu der ersten Gruppe. In der zweiten Gruppe sind die Vertreter, die einen Anteil von 1 – 5 % aufweisen. Die letzte Gruppe besteht wieder aus Fettsäuren mit einem Anteil, der weniger als 1 % beträgt. Zur Übersichtlichkeit wurde hier auf die Konzentrationsangaben im Text verzichtet. Eine Übersicht der genauen Konzentrationen der einzelnen Fettsäuren sowie der prozentualen Angaben befinden sich im Anhang B in Tabelle 9.

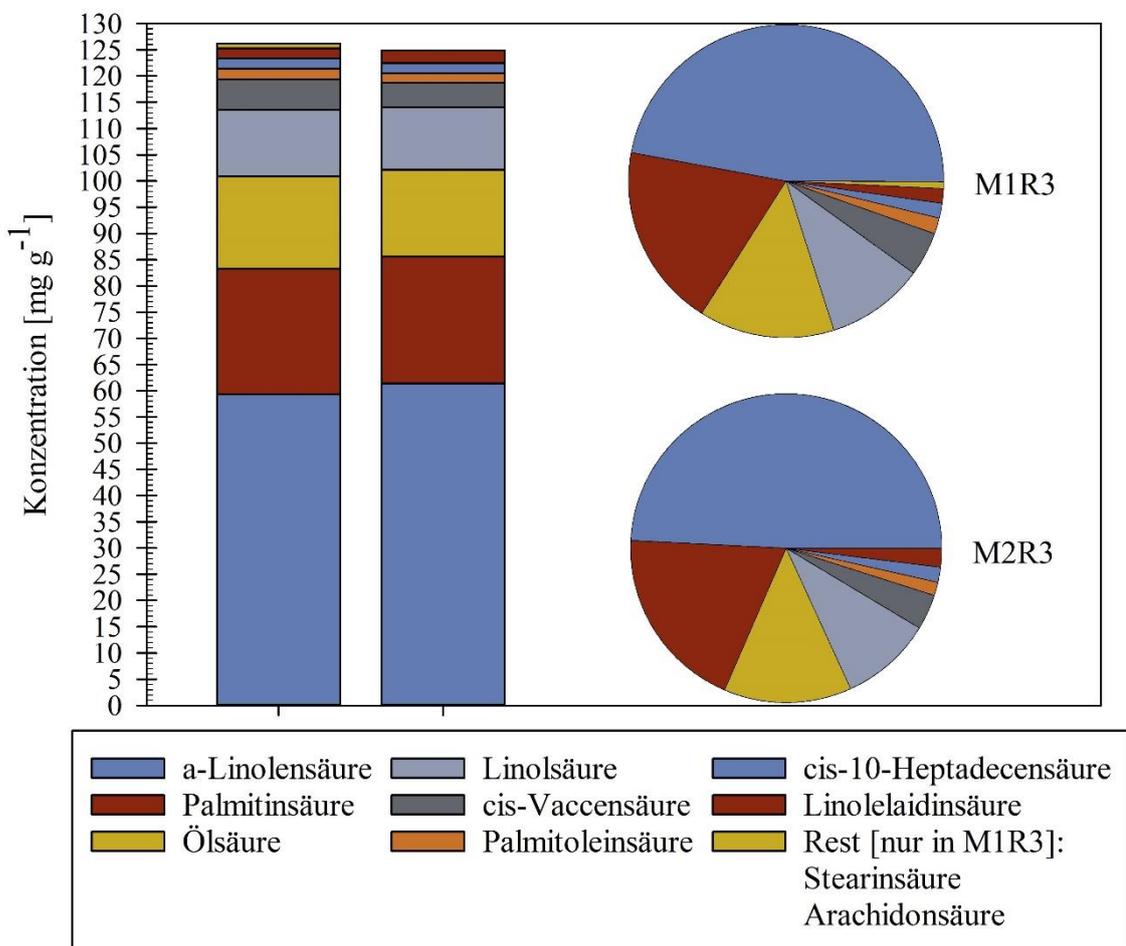


Abbildung 17: Übersicht des Spektrums der enthaltenen Fettsäuren in  $\text{mg g}^{-1}$  (Balkendiagramm) sowie die prozentuale Verteilung (Kreisdiagramm) für die Algenproben aus dem Reaktor M1R3 und M2R3 im Kultivierungszeitraum vom 13.09.2017 - 20.09.2017

Den mit Abstand größten Anteil in beiden Proben nimmt die Fettsäure  $\alpha$ -Linolensäure mit 47,01 % in M1R3 und 49,18 % in M2R3 ein. Weitere Vertreter der ersten Gruppe

sind die Palmitinsäure (M1R3 18,96 % | M2R3 19,31 %), die Ölsäure (M1R3 13,93 % | M2R3 13,30 %) und die Linolsäure (M1R3 10,13 % | M2R3 9,56 %). Diese Gruppe nimmt in beiden Proben mehr als 90 % des gesamten Fettsäurespektrums ein.

In der zweiten Gruppe ist cis-Vaccensäure mit einem Anteil von 4,54 % in M1R3 und 3,71 % in M2R3 am stärksten vertreten. Weitere Fettsäuren dieser Gruppe sind die Palmitoleinsäure (M1R3 1,66 % | M2R3 1,40 %), die cis-10-Heptadecensäure (M1R3 1,53 % | M2R3 1,58 %) und die Linolelaidinsäure (M1R3 1,51 % | M2R3 1,96 %).

Die dritte Gruppe an Fettsäuren enthielt nur die Probe aus dem Reaktor M1R3. Hier konnte die Stearinsäure mit einem Anteil von 0,54 % und die Arachidonsäure mit 0,18 % nachgewiesen werden.

Insgesamt konnten zehn verschiedenen Fettsäuren in den Proben aus M1R3 und acht verschiedene Fettsäuren in der Probe aus dem Reaktor M2R3 bestimmt werden. In beiden Proben sind die Vertreter der essentiellen Fettsäuren, die  $\alpha$ -Linolensäure sowie die Linolsäure. Deren Anteil am gesamten Fettsäurespektrum beträgt in der Probe aus Reaktor M1R3 57,13 % und in der aus M2R3 58,17 %, welches einer Konzentration von 72,11 mg g<sub>OTS</sub><sup>-1</sup> in M1R3 und 73,37 mg g<sub>OTS</sub><sup>-1</sup> in M2R3 entspricht.

Zwei der nachgewiesenen Fettsäuren in der Biomasse aus M1R3 gehören zu den gesättigten Fettsäuren, welche einen Anteil von 19,50 % des gesamten Fettsäurespektrums abdecken. Somit liegt der Anteil der ungesättigten Fettsäuren in dieser Probe bei 80,50 % und der Anteil der PUFAs liegt bei 58,88 %.

In der Probe aus M2R3 konnte nur eine gesättigte Fettsäure nachgewiesen werden mit einem Anteil von 19,31 % am gesamten Lipidgehalt. Somit bestehen 80,69 % der Lipide in dieser Probe aus ungesättigten Fettsäuren und insgesamt 60,70 % zu den PUFAs.

#### 4.2.4 Ergebnisse der Reaktoren M1R4 & M2R4 vom 12.10.2017

Wie zuvor in Kapitel 4.2.3 werden die Ergebnisse der Reaktoren M1R4 und M2R4 in diesem Abschnitt zusammen dargestellt, da diese im gleichen Zeitraum vom 05.10.2017 bis zum 12.10.2017 kultiviert wurden. Auch dieser Vergleich soll wie die Ergebnisse der Reaktoren in Kapitel 4.2.3 als Grundlage für einen möglichen Einfluss der Verschattung von Modul 2 durch Modul 1 dienen.

In Abbildung 18 ist wieder der Verlauf der durchschnittlichen Tagestemperatur, die maximalen Tagestemperaturen, die täglichen Sonnenstunden sowie die gemessene durchschnittliche Lichtintensität dargestellt.

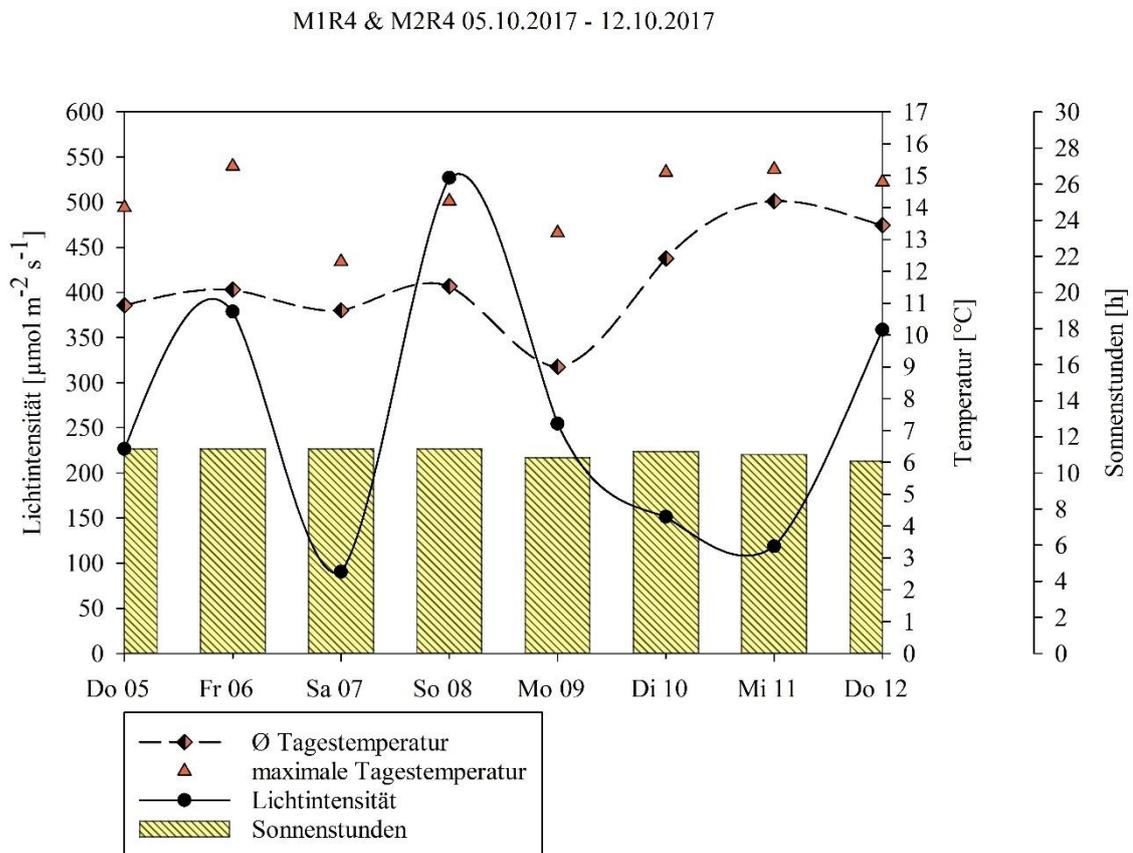


Abbildung 18: Darstellung der gemessenen mittleren Lichtintensität, der mittleren Tagestemperatur, der maximalen Tagestemperatur und der Sonnenstunden für die Reaktoren M1R4 und M2R4 im Kultivierungszeitraum vom 05.10.2017 - 12.10.2017

Die in dieser Woche ermittelte durchschnittliche Tagestemperatur mit 11,71 °C ist im Vergleich mit den der anderen Kultivierungswochen die niedrigste. Die einzelnen durchschnittlichen Tagestemperaturen verliefen in den ersten vier Tagen der Kultivierung konstant um den Mittelwert. Am 09.10.2017 sank die Temperatur auf 9,0 °C ab und stieg an den folgenden zwei Tagen wieder an bis hin zu einer Temperatur von 14,2 °C am 11.10.2017. Bei den maximalen Tagestemperaturen sind Schwankungen um 3 °C zu

verzeichnen. Die höchste Temperatur wurde am 06.10.2017 mit 15,3 °C gemessen, die niedrigste am 07.10.2017 mit 12,3 °C.

Bei der gemessenen Lichtintensität sind große Schwankungen im Verlauf der Woche zu erkennen. Die durchschnittliche Lichtintensität in der Woche lag bei  $263,16 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Am Tag, an dem die Kultivierung gestartet wurde, wurde eine Lichtintensität von  $226,44 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gemessen. Dieser Wert stieg am 06.10.2017 auf  $378,68 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  an, um anschließend am 07.10.2017 auf den niedrigsten Wert der gesamten Woche von  $90,27 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  zu sinken. Am 08.10.2017 stieg die Intensität wieder auf den Höchstwert innerhalb dieser Woche an mit  $526,90 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Anschließend sank die Lichtintensität an den folgenden Tagen kontinuierlich auf einen Wert von  $118,60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ab. Der folgende Anstieg am Tag der Ernte kann vernachlässigt werden, da gegen Mittag der Reaktor geerntet wurde.

Die durchschnittliche Anzahl an Sonnenstunden in dieser Woche betrug 11,12 h und es sind an keinem der Tage große Abweichungen zu erkennen. Die Anzahl der Sonnenstunden ist auch die niedrigste der verglichenen Kultivierungswochen.

Die Abbildung 19 zeigt, dass gerade am Anfang der Woche Niederschläge über einen längeren Zeitraum gemessen wurden.

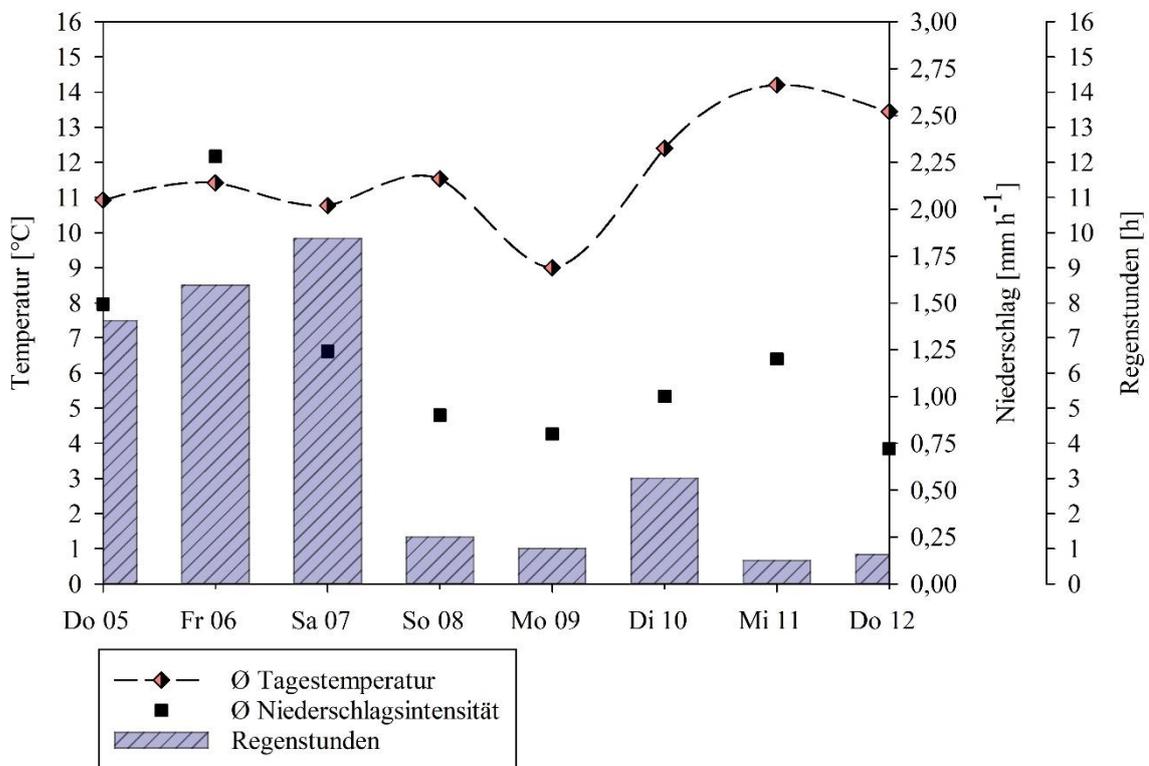


Abbildung 19: Darstellung der mittleren Tagestemperatur, des gemittelten täglichen Niederschlags sowie der täglichen Regenstunden für die Reaktoren M1R4 und M2R4 im Kultivierungszeitraum vom 05.10.2017 - 12.10.2017

Innerhalb der ganzen Woche hat es 32,66 h geregnet, welches einen Anteil von 19,44 % am gesamten Kultivierungszeitraum entspricht. Die Niederschläge verteilten sich größtenteils auf die ersten drei Tage. In dieser Zeit konnte eine Regenzeit von 25,83 h gemessen werden, mit einer durchschnittlichen Niederschlagsintensität von  $1,67 \text{ mm h}^{-1}$ . Die restlichen 6,83 h verteilen sich auf die restlichen vier Tage, mit einer durchschnittlichen Niederschlagsintensität von  $0,92 \text{ mm h}^{-1}$ . Die höchste durchschnittliche Niederschlagsintensität und zeitgleich längste Niederschlagsdauer wurde am 06.10.2017 mit  $2,28 \text{ mm h}^{-1}$  über eine Dauer von 8,5 h gemessen. Die ermittelten Intensitäten gehören zur Kategorie der leichten bis mäßigen Niederschläge. Ein Einfluss des Niederschlags auf die Versuchsergebnisse ist nicht zu erwarten, da die Niederschläge vorwiegend zum Anfang der Woche gemessen wurden und im Zeitraum vor der Ernte kaum existent waren.

In Abbildung 20 sind die Wetterdaten für die Dunkelzeit im Kultivierungszeitraum dargestellt.

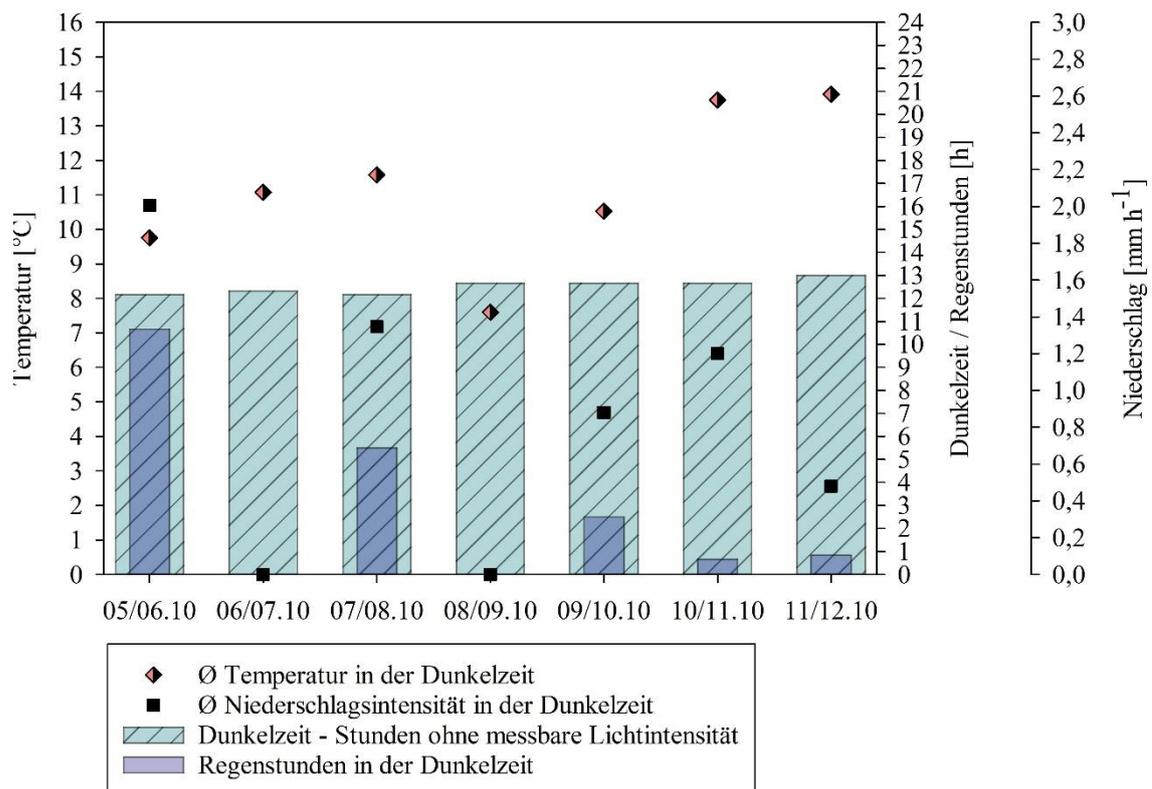


Abbildung 20: Darstellung der täglichen Dunkelzeit, der Regenstunden, der gemittelten Temperatur und der Niederschlagsintensität für die Reaktoren M1R4 und M2R4 im Kultivierungszeitraum vom 13.09.2017 - 20.09.2017. Temperatur, Niederschlagsintensität sowie Regenstunden beziehen sich auf die Dunkelzeit

Die durchschnittliche Dunkelzeit betrug 12,52 h und ist somit, mit den verglichenen Kultivierungswochen, die längste. Dieser Wert deckt sich auch mit den Sonnenstunden, die im Vergleich die geringsten waren. Daraus resultiert ein Verhältnis des Tag-Nacht-Zyklus von 11,5:12,5. Die gesamte Niederschlagsdauer während der Dunkelzeit lag bei 20,17 h. Der größte Teil der Regenstunden kann auf zwei Nächte aufgeteilt werden. Die längste Niederschlagsdauer konnte in der Nacht vom 05.10.2017 auf den 06.10.2017 mit 10,66 h gemessen werden. Die Niederschlagsintensität lag in dieser Nacht bei 2,0 mm h<sup>-1</sup>. In der Nacht vom 07.10.2017 auf den 08.10.2017 regnete es weitere 5,5 h mit einer Niederschlagsintensität von 1,35 mm h<sup>-1</sup>. Die restlichen vier Stunden teilen sich auf drei Tage auf mit Niederschlagsintensitäten von  $\leq 1,2$  mm h<sup>-1</sup>. Alle Niederschlagsintensitäten können in die Kategorie der leichten Niederschläge sowie Regenschauer eingestuft werden. Die mittlere Temperatur in der Dunkelzeit betrug 11,17 °C. Auffällig ist die Temperatur in der Nacht vom 08.10.2017 auf den 09.10.2017, welche bei 7,6 °C lag und eine Abweichung von 3,57 °C vom Mittelwert darstellt. Die Temperatur in den letzten beiden Kultivierungsnächten lag bei 13,75 °C und 13,92 °C. Die Temperaturen in den restlichen Nächten liegen nah am Mittelwert.

In Abbildung 21 sind die Ergebnisse der Mikroalgenzusammensetzung für beide Algenproben dargestellt.

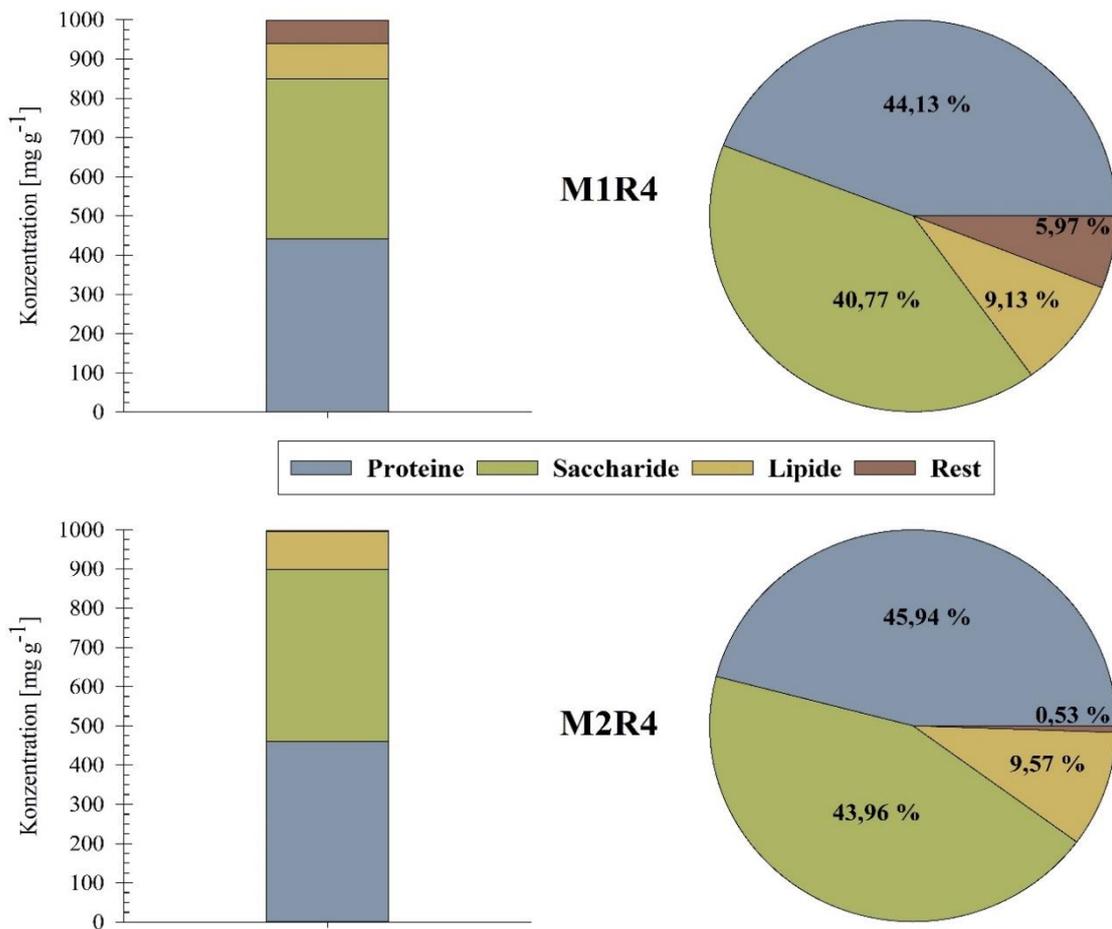


Abbildung 21: Übersicht über die Konzentration (links) sowie die prozentuale Verteilung (rechts) der Proteine, Saccharide, Lipide und dem unbestimmten Anteil (Rest) in der organischen Trockensubstanz für die Reaktoren M1R4 und M2R4 im Kultivierungszeitraum vom 05.10.2017 - 12.10.2017

Im Gegensatz zu den Ergebnissen der beiden Reaktoren, die in Abbildung 16 im Kapitel 4.2.3 gegenübergestellt wurden, sind hier die Unterschiede in der Zusammensetzung der organischen Trockensubstanz nicht so stark ausgeprägt.

Den größten Anteil in der Zusammensetzung der organischen Trockensubstanz nimmt bei beiden Proben wieder der Proteinanteil ein. Hier liegen die Anteile der Probe aus Reaktor M1R4 bei 44,13 % und in der aus M2R4 bei 45,94 % auf einem sehr ähnlichen Niveau. Beim Anteil der Saccharide ist wie zuvor in Kapitel 4.2.3 die Probe aus dem Reaktor aus der Reihe M2 diejenige mit dem höheren Anteil. Diese liegt mit 43,96 % in M2R4 insgesamt 3,19 % höher als in der Probe aus M1R4. Der gemessene Lipidanteil liegt wiederum mit 9,13 % und 9,57 % in beiden Proben auf nahezu dem gleichen Niveau. Deutliche Unterschiede sind im Rest der Proben mit 5,97 % und 0,53 % erkennbar. Diese Anteile resultieren wie zuvor aus den Analysen der Trockensubstanz und den darin

enthaltenen anorganischen Salzen sowie Pigmenten. Die genauen Konzentrationsangaben für beide Proben sind im Anhang B in Tabelle 12 zu finden.

In Abbildung 22 sind wieder die Ergebnisse des Fettsäurespektrums dargestellt. Wie zuvor auch können die Fettsäuren anhand ihrer prozentualen Verteilung in Gruppen eingeteilt werden. Die erste Gruppe besitzt nur Fettsäuren, die einen Anteil von über 15 % am Fettsäurespektrum aufweisen. Die zweite Gruppe beinhaltet Fettsäuren mit einem Anteil über 1 % und die Fettsäuren mit einem geringeren Anteil als 1 % werden wieder der dritten Gruppe zugeordnet.

Auch hier wurde wie zuvor in Kapitel 4.2.3 zur Übersichtlichkeit auf die Konzentrationsangaben im Text verzichtet. Eine Übersicht der genauen Konzentrationen der einzelnen Fettsäuren sowie der prozentualen Angaben befinden sich im Anhang B in Tabelle 10.

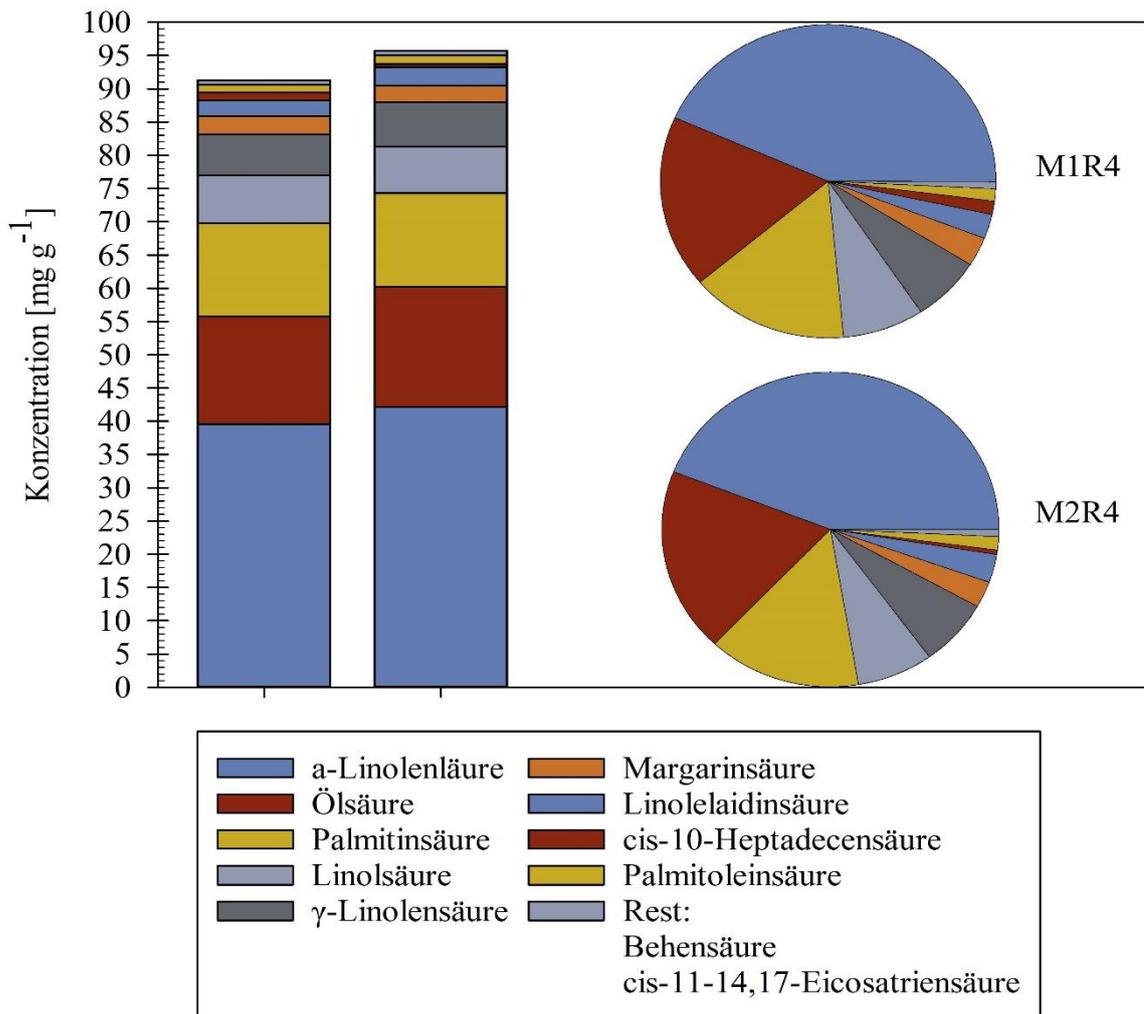


Abbildung 22: Übersicht des Spektrums der enthaltenen Fettsäuren in mg g<sup>-1</sup> (Balkendiagramm) sowie die prozentuale Verteilung (Kreisdiagramm) für die Algenproben aus dem Reaktor M1R4 und M2R4 im Kultivierungszeitraum vom 05.10.2017 - 12.10.2017

Den größten Anteil bei beiden Proben nimmt die Fettsäure  $\alpha$ -Linolensäure mit 43,32 % aus Reaktor M1R4 und 44,02 % aus Reaktor M2R4 ein. Die Ölsäure (M1R4 17,79 % | M2R4 18,89 %) und die Palmitinsäure (M1R4 15,34 % | M2R4 14,74 %) bilden zusammen mit der  $\alpha$ -Linolensäure die erste Gruppe.

Die Vertreter der zweiten Gruppe sind die Linolsäure (M1R4 7,88 % | M2R4 7,34 %), die  $\gamma$ -Linolensäure (M1R4 6,76 % | M2R4 6,88 %), die Margarinsäure (M1R4 3,0 % | M2R4 2,69 %), die Linolelaidinsäure (M1R4 2,53 % | M2R4 2,90 %), die cis-10-Heptadecensäure (M1R4 1,38 % | M2R4 0,45 %) sowie die Palmitoleinsäure (M1R4 1,27 % | M2R4 1,37 %).

Die Behensäure (M1R4 0,44 % | M2R4 0,31 %) und die cis-11-14,17-Eicosatriensäure (M1R4 0,29 % | M2R4 0,41 %) wurden in Abbildung 22 im Punkt Rest zusammengefasst

und bilden die dritte Gruppe. Insgesamt konnten elf verschiedene Fettsäuren in beiden Proben nachgewiesen werden. Die essentiellen Fettsäuren sind in diesen Proben in Form von  $\alpha$ -Linolensäure,  $\gamma$ -Linolensäure sowie der Linolsäure vertreten. Deren Anteil am Fettsäurespektrum liegt in der Probe aus Reaktor M1R4 bei 57,96 % und in der aus M2R4 bei 58,24 %. Diese Werte entsprechen Konzentrationen von  $52,91 \text{ mg g}_{\text{OTS}}^{-1}$  in der Probe aus Reihe M1 und  $55,73 \text{ mg g}_{\text{OTS}}^{-1}$  aus Reihe M2. In beiden Proben wurde die gleichen Fettsäuren nachgewiesen, wodurch diese auch die gleiche Anzahl an gesättigten und ungesättigten Fettsäuren besitzen. Vier der Fettsäuren gehören zu den gesättigten Fettsäuren und dementsprechend sieben zu den ungesättigten.

Der Anteil dieser gesättigten Fettsäuren beträgt in der Probe aus M1R3 20,16 %. Folglich liegt der Anteil der ungesättigten bei 79,84 % und die PUFAs machen einen Anteil von 60,78 % am gesamten Fettsäurespektrum aus.

In der Probe aus dem Reaktor M2R3 liegt der Anteil der gesättigten Fettsäuren bei 18,19 %. Der daraus resultierende Anteil der ungesättigten Fettsäuren beträgt 81,81 % und die PUFAs haben einen Anteil von 61,55 % am gesamten Fettsäurespektrum.

#### 4.2.5 Ergebnisse des Reaktors M1R4 vom 25.08.2019

Der Reaktor M1R4 wurde im Zeitraum vom 18.08.2017 bis zum 25.08.2017 kultiviert. Die Abbildung 23 zeigt den Verlauf der durchschnittlichen Tagestemperatur, die maximale Tagestemperatur, die täglichen Sonnenstunden sowie die gemessene durchschnittliche Lichtintensität.

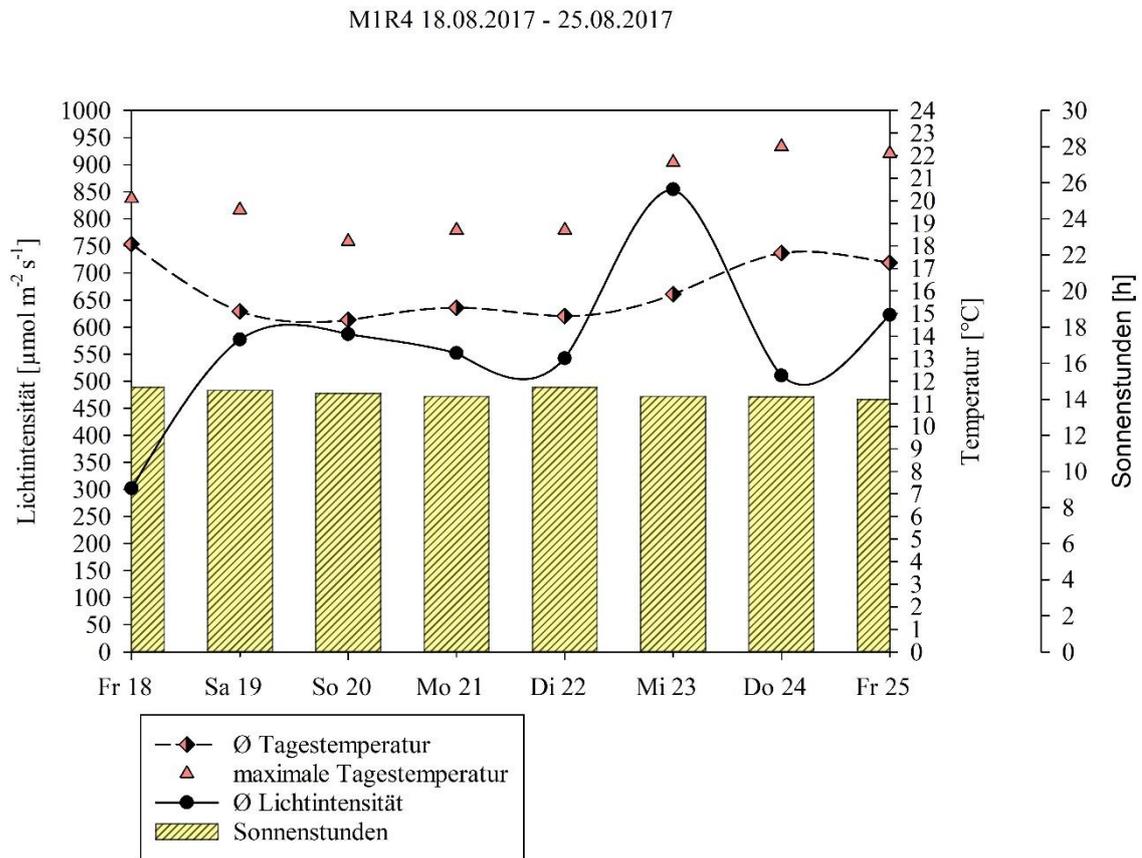


Abbildung 23: Darstellung der gemessenen mittleren Lichtintensität, der mittleren Tagestemperatur, der maximalen Tagestemperatur und der Sonnenstunden für die Reaktoren M1R4 im Kultivierungszeitraum vom 18.08.2017 - 25.08.2017

Die durchschnittliche Temperatur in der gesamten Woche lag bei 16,11 °C. Die höchste mittlere Temperatur wurde am 18.08.2017 mit 18,08 °C gemessen. An den folgenden fünf Tagen lag die Temperatur unterhalb der durchschnittlichen Temperatur, mit einem Minimalwert von 14,72 °C am 20.08.2017. Am 24.08.2017 sowie am 25.08.2017 lag die Temperatur oberhalb der durchschnittlichen Temperatur mit 17,69 °C und 17,25 °C. Die Kurve der maximalen Temperaturen für die einzelnen Tage verläuft ähnlich wie die der durchschnittlichen Temperatur. Die höchste Temperatur wurde am 22.08.2018 mit 22,4 °C gemessen, die niedrigste am 20.8.2017 mit 18,2 °C.

Die durchschnittlich gemessene Lichtintensität in dieser Woche lag bei  $548,43 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Zu Beginn der Woche, am 18.02.2017, wurde der niedrigste Wert mit  $301,9 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gemessen. In den folgenden Tagen lag die Intensität nah am wöchentlichen Mittelwert, jedoch ist am 23.08.2017 eine starke Abweichung zu erkennen. An diesem Tag wurde ein Wert von durchschnittlich  $854,36 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gemessen, welches eine Abweichung von  $285,92 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  vom Mittelwert entspricht.

Die durchschnittliche Anzahl an Sonnenstunden betrug 14,33 h innerhalb der Kultivierungswoche.

Wie in Abbildung 24 zu sehen ist, lag die Anzahl der Regenstunden innerhalb der Kultivierungswoche bei nur 8,17 h. An vier Tagen konnte kein Niederschlag gemessen werden und die Niederschlagsintensitäten der ersten drei Tage zeigen, dass während der Regenzeit nur geringe Mengen Niederschlag zu verzeichnen waren. Nur am 21.08.2017 liegt die Niederschlagsintensität bei  $2,88 \text{ mm h}^{-1}$ . Wegen der Verteilung der Niederschläge auf den Anfang der Kultivierungswoche sowie der geringen Regenstunden und den niedrigen Niederschlagsintensitäten lässt sich kein signifikanter Einfluss auf die Reaktortemperatur vermuten.

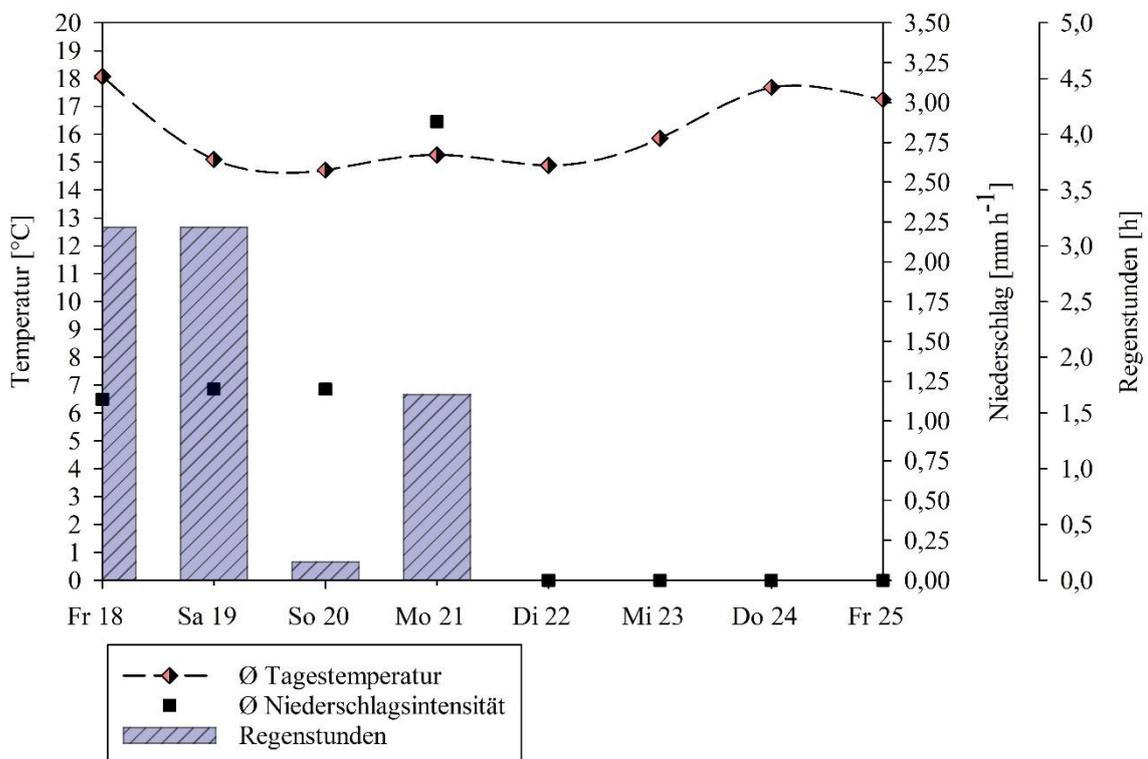


Abbildung 24: Darstellung der mittleren Tagestemperatur, des gemittelten täglichen Niederschlags sowie der täglichen Regenstunden für den Reaktor MIR4 im Kultivierungszeitraum vom 18.08.2017 - 25.08.2017

Die geringe Anzahl an Regenstunden ist auch in der Dunkelzeit in Abbildung 25 zu beobachten, wobei hier die Dauer noch viel geringer bis nahezu nicht vorhanden ist.

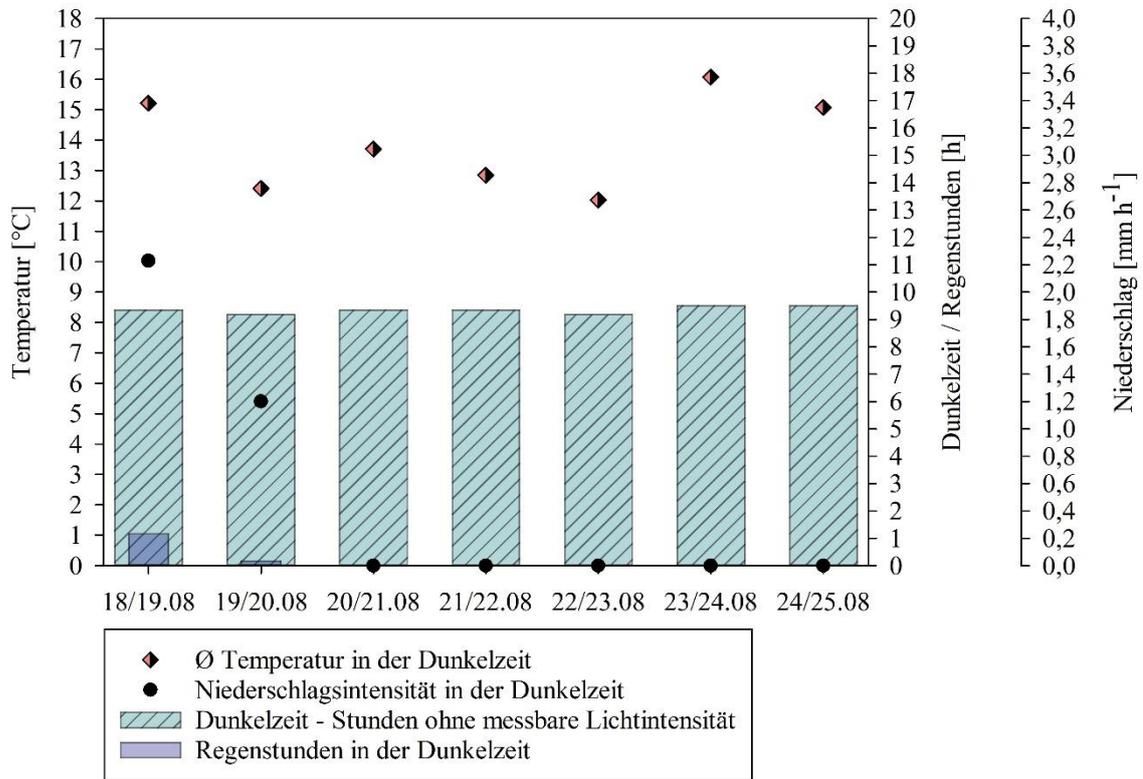


Abbildung 25: Darstellung der täglichen Dunkelzeit, der Regenstunden, der gemittelten Temperatur und der Niederschlagsintensität für den Reaktor M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 18.08.2017 - 25.08.2017. Temperatur, Niederschlagsintensität sowie Regenstunden beziehen sich auf die Dunkelzeit

Während der gesamten Kultivierungswoche konnte nur an den ersten beiden Tagen für eine kurze Zeit Niederschlag gemessen werden. Hier ist daher eindeutig von keinem Einfluss auf die Reaktortemperatur auszugehen.

Die durchschnittliche Temperatur während der Dunkelzeit betrug 13,91 °C. In der ersten sowie in den letzten beiden Nächten der Kultivierung lagen die Temperaturen oberhalb der gemittelten Temperatur mit einem maximalen Wert in der Nacht vom 24.08.2017 auf den 25.08.2017 von 16,07 °C. In den anderen Nächten lag die Temperatur leicht unterhalb des gemittelten Wertes. Die durchschnittliche Dunkelzeit betrug 9,33 h, sodass sich ein gerundetes Verhältnis im Tag-Nacht-Zyklus von 14,5:9,5 ergibt.

In Abbildung 26 sind die Ergebnisse der Analysen zur Mikroalgenzusammensetzung dargestellt.

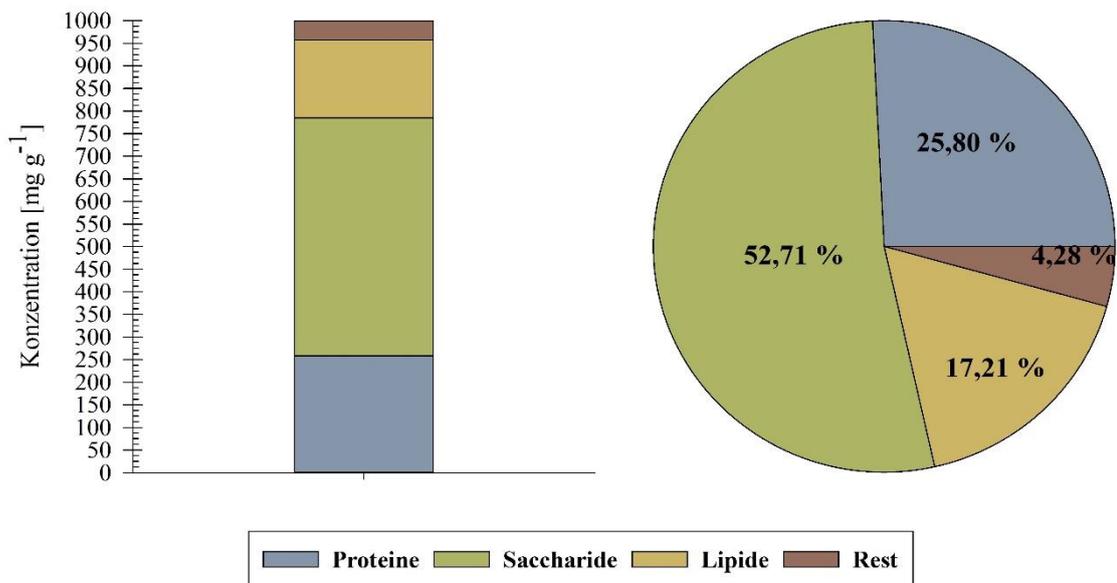


Abbildung 26: Übersicht über die Konzentration (links) sowie die prozentuale Verteilung (rechts) der Proteine, Saccharide, Lipide und dem unbestimmten Anteil (Rest) in der organischen Trockensubstanz für den Reaktor M1R4 im Kultivierungszeitraum vom 18.08.2017 - 25.08.2017

Die Ergebnisse der Mikroalgenzusammensetzung für diesen Reaktor weichen stark von den Ergebnissen der anderen Reaktoren ab. Bezogen auf die organische Trockensubstanz beträgt der Anteil der Saccharide 52,71 %. Bei allen anderen untersuchten Proben war der Anteil der Proteine am größten. Auffällig ist auch, dass der Anteil der Saccharide mehr als doppelt so hoch ist wie der der Proteine. Der Anteil der Proteine beträgt 25,80 % und ist von allen verglichenen Proben der geringste. Der Lipidanteil wiederum ist mit 17,21 % der höchste gemessene Wert aller Proben. Diese Werte entsprechen einer Proteinkonzentration von 250,80 mg g<sub>oTS</sub><sup>-1</sup>, einer Saccharidkonzentration von 527,10 mg g<sub>oTS</sub><sup>-1</sup> sowie einer Lipidkonzentration von 172,10 mg g<sub>oTS</sub><sup>-1</sup>. 4,28% konnten diesen Fraktionen nicht zugeordnet werden und resultieren, wie in allen anderen Reaktoren auch, aus den Pigmenten sowie mineralischen Bestandteile in der Trockensubstanz.

Die Ergebnisse der Quantifizierung des Fettsäurespektrums ist in Abbildung 27 dargestellt.

Da in dieser Probe überdurchschnittlich viele unterschiedliche Fettsäuren nachgewiesen wurden, werden die Fettsäuren zur Überschaubarkeit in vier Gruppen eingeordnet. Die erste Gruppe beinhaltet die Fettsäuren, deren Anteil jeweils über 20 % am gesamten Fettsäurespektrum betragen. Die zweite Gruppe beinhaltet Fettsäuren zwischen 3 % und 7 %, die dritte Gruppe Fettsäuren mit einem Anteil von 1 - 3 % und die letzte Gruppe

beinhaltet diejenigen mit einem Anteil unter 1 %. Die Konzentrationen der einzelnen Fettsäuren sind im Anhang B in Tabelle 11 zu finden.

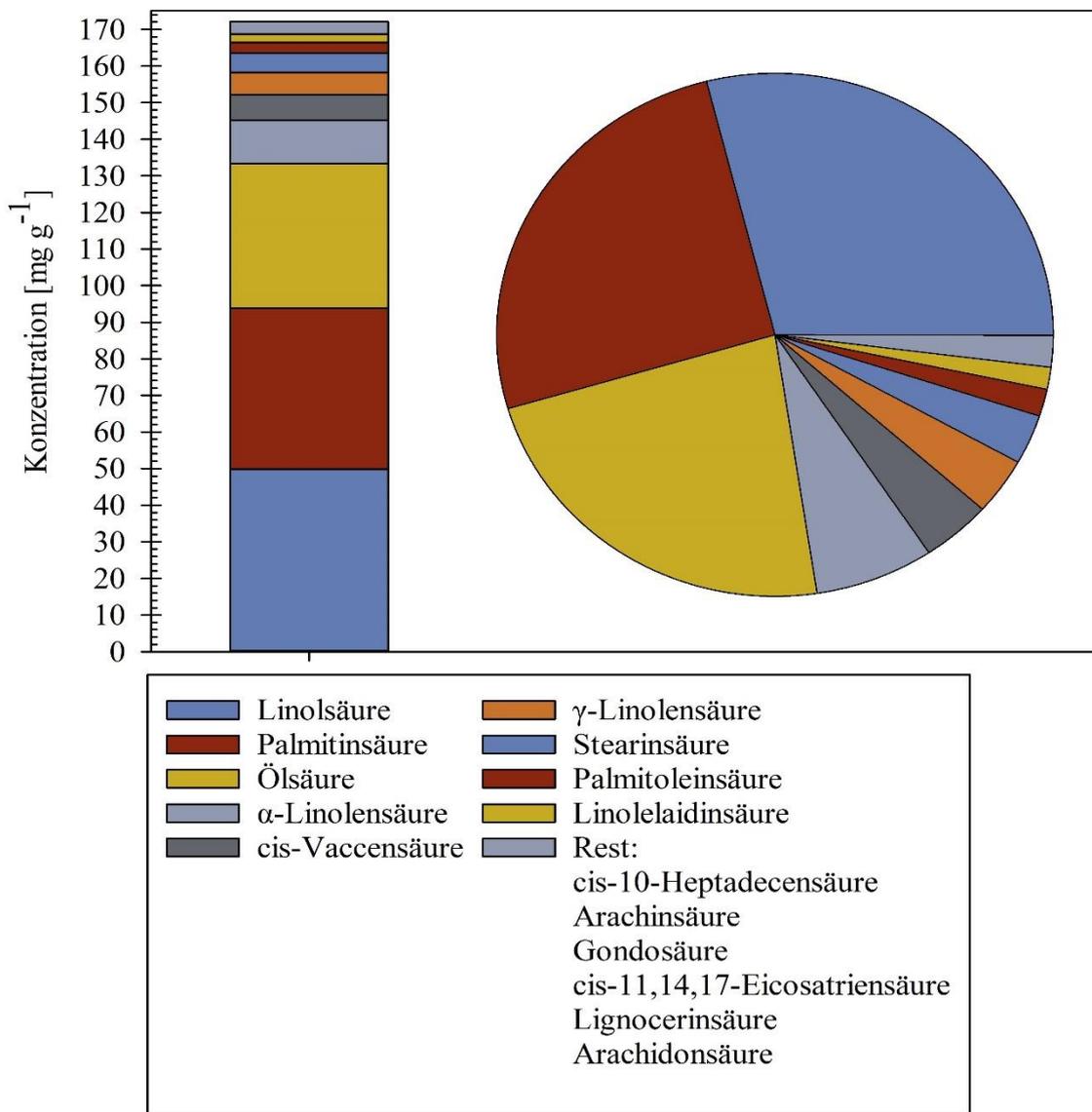


Abbildung 27: Übersicht des Spektrums der enthaltenen Fettsäuren in mg g<sup>-1</sup> (Balkendiagramm) sowie die prozentuale Verteilung (Kreisdiagramm) für die Algenprobe aus dem Reaktor M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 18.08.2017 - 25.08.2017

Die erste Gruppe bilden die Fettsäuren Linolsäure (28,98 %), die Palmitinsäure (25,58 %) und die Ölsäure (22,88 %). Verglichen mit den Ergebnissen der anderen Kultivierungswochen fällt auf, dass dies die einzige Algenprobe ist, bei der keine klar dominierende Fettsäure vorhanden ist und alle drei Fettsäuren ähnlich große Anteile besitzen.

Die zweite Gruppe bilden die α-Linolensäure (6,92 %), die cis-Vaccensäure (4,06 %), die γ-Linolensäure (3,52 %) und die Stearinsäure (3,07 %).

Die dritte Gruppe besteht aus der Palmitoleinsäure (1,68 %) sowie der Linolelaidinsäure (1,36 %). Insgesamt wurden noch weitere sechs Fettsäuren mit einem Anteil < 0,1% nachgewiesen, welche in Abbildung 27 im Datenpunkt Rest zusammengefasst werden.

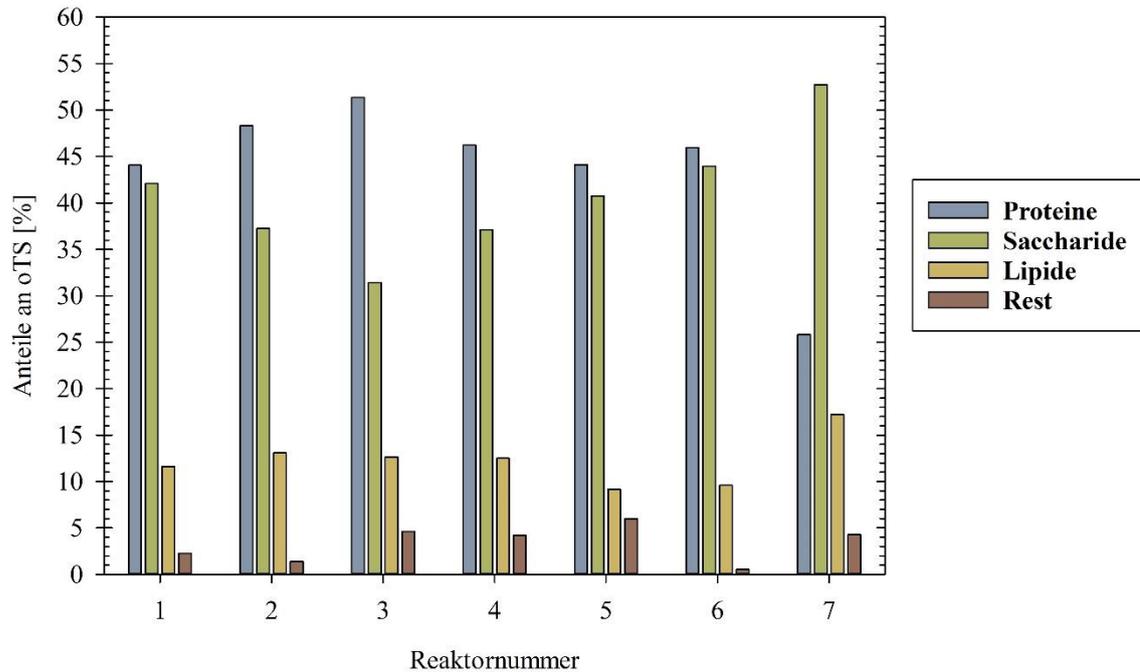
Zu dieser vierten Gruppe zählt die cis-10-Heptadecensäure (0,79 %), die Arachinsäure (0,43 %), die Gondoensäure (0,30 %), die cis-11,14,17-Eicosatriensäure (0,19 %), die Lignocerinsäure (0,19%) sowie die Arachidonsäure (0,08 %).

Insgesamt konnten somit 15 verschiedene Fettsäuren in der Probe nachgewiesen werden, welches zeitgleich die meisten im Vergleich mit denen der anderen Kultivierungswochen sind. Gerade in der vierten Gruppe mit einem Fettsäureanteil von unter 1 % am gesamten Spektrum sind überdurchschnittlich viele Fettsäuren vertreten.

Die Linolsäure,  $\alpha$ -Linolensäure sowie  $\gamma$ -Linolensäure sind die essentiellen Fettsäuren, die nachgewiesen werden konnten. Ihr Anteil beträgt 39,42 % am gesamten Fettsäurespektrum, welches einer Konzentration von  $67,81 \text{ mg g}_{\text{OTS}}^{-1}$  entspricht. Vier gesättigte Fettsäuren beinhaltet diese Probe mit einem Anteil von 29,27 % am gesamten Spektrum. Daraus resultiert, dass elf ungesättigte Fettsäuren identifiziert wurden, deren Anteil 70,73 % an der Lipidkonzentration ausmachen. Der Anteil der PUFAs beträgt 39,69 % am gesamten Fettsäurespektrum und wird zum größten Teil von den essentiellen Fettsäuren gebildet.

### 4.3 Überblick über die gesammelten Ergebnisse

Um einen zusammenfassenden und übersichtlichen Vergleich der Ergebnisse zu erhalten, wurden die Mikroalgenzusammensetzung sowie die wichtigsten Wetterdaten für die gesamten Kultivierungswochen in den Abbildungen 28 und 29 dargestellt.



Nummer	Reaktor	Datum
1	M1R3	28.07.2017 - 04.08.2017
2	M1R4	22.09.2017 - 29.09.2017
3	M1R3	13.09.2017 - 20.09.2017
4	M1R3	13.09.2017 - 20.09.2018
5	M2R3	05.10.2017 - 12.10.2017
6	M1R4	05.10.2017 - 12.10.2018
7	M2R4	18.08.2017 - 25.08.2017

Abbildung 28: Zusammenfassung der Mikroalgenzusammensetzung der einzelnen Proben

Beim Vergleich der Ergebnisse der Mikroalgenzusammensetzung aller sieben Reaktoren fällt auf, dass in den Reaktoren 1 - 6 der Proteinanteil der höchste war, in Reaktor 7 dies jedoch nicht der Fall war. Der Proteinanteil in den Reaktoren 1 - 6 lag zwischen 44,05 - 51,33 % und der durchschnittliche Anteil betrug 46,66 %. Der höchste Wert wurde in den Proben aus dem Reaktor M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 13.09.2017 – 20.09.2017 gemessen. Im Reaktor 7 liegt der Proteinanteil der Biomasse nur bei 25,80 %, was eine Abweichung von 20,86 % vom Mittelwert darstellt.

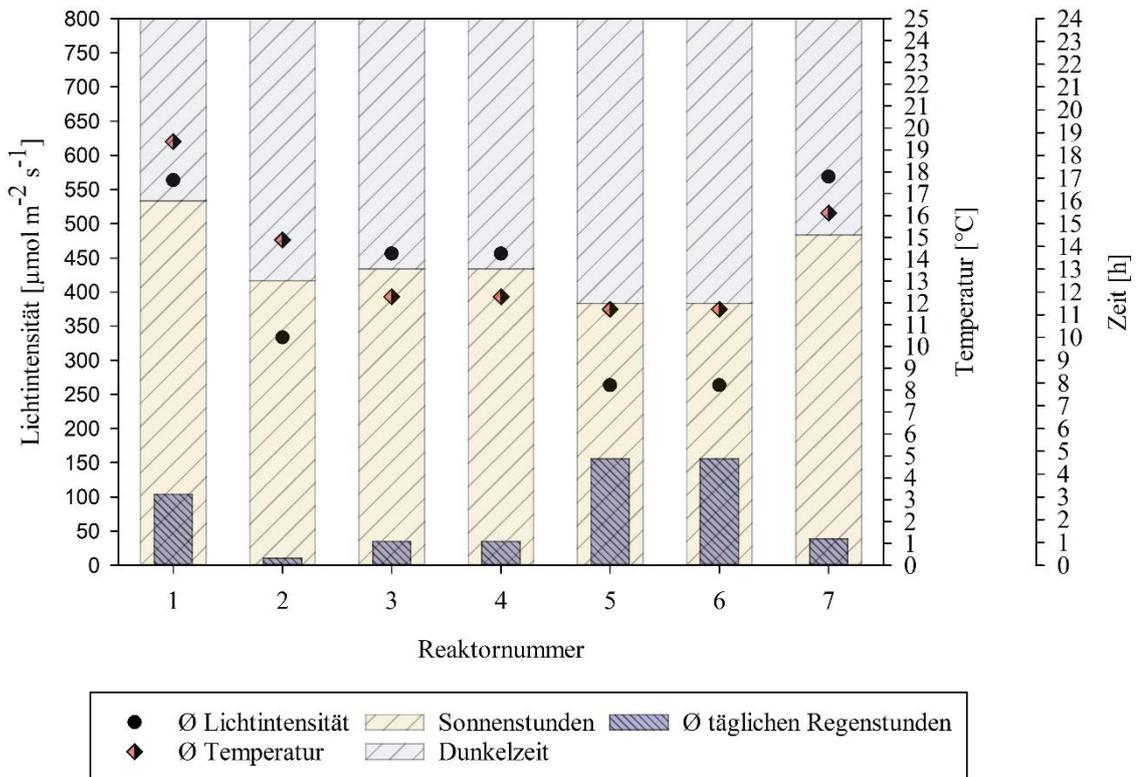
Ein entgegengesetztes Verhältnis ist im prozentualen Anteil der Saccharide zu erkennen. Der durchschnittliche Saccharidanteil in den Proben der Reaktoren 1 - 6 lag bei 38,77 % und in den einzelnen Proben zwischen 31,42 - 43,96 %. Der niedrigste Wert wurde,

entgegengesetzt zum Proteinanteil auch in der Probe aus dem Reaktor M1R3 im Kultivierungszeitraum vom 13.09.2017 - 20.09.2017 gemessen. In der Biomasse aus Reaktor 7 lag der Saccharidanteil bei 52,71 %, welches einer Differenz zum Mittelwert von 13,94 % entspricht.

Die Lipidanteile der Bioproben lagen in den Reaktoren 1 - 7 zwischen 9,13 - 17,21 % und durchschnittlich bei 12,24 %. Der höchste Wert lag dabei in der Probe aus Reaktor 7, der niedrigste in der aus Reaktor 5.

Der Anteil der Substanzen, die weder den Proteinen, Sacchariden oder Lipiden zugeordnet werden konnten und aus den anorganischen Salzen und dem Anteil der Pigmente in der Trockensubstanz resultieren, lag durchschnittlich bei 3,32 %.

In Abbildung 29 sind die wichtigsten Parameter der Wetterdaten innerhalb der Kultivierungswochen dargestellt.



Nummer	Reaktor	Kultivierungszeitraum
1	M1R3	28.07.2017 - 04.08.2017
2	M1R3	22.09.2017 - 29.09.2017
3	M1R3	13.09.2017 - 20.09.2017
4	M2R3	13.09.2017 - 20.09.2017
5	M1R4	05.10.2017 - 12.10.2017
6	M2R4	05.10.2017 - 12.10.2017
7	M1R4	18.08.2017 - 25.08.2017

Abbildung 29: Zusammenfassung der wichtigsten Wetterparameter der jeweiligen Kultivierungswochen

Diese Abbildung soll einen groben Überblick über die Hauptparameter der Wetterstation innerhalb der Kultivierungswochen geben. Hierfür wurden die durchschnittlichen Daten der angegebenen Parameter für die jeweilige Kultivierungswoche zu Grunde gelegt. Spezielle Daten der einzelnen Tage innerhalb der jeweiligen Kultivierungswoche, wie beispielsweise die maximalen Tagestemperaturen, Regenstunden und Niederschlagsintensitäten sowie die analysierten Wetterdaten in der Dunkelzeit, sind hier nicht aufgeführt und müssen den Kapiteln 4.2.2 – 4.2.5 entnommen werden.

In Abbildung 29 ist zu erkennen, dass die meisten Sonnenstunden und somit die geringste Dunkelzeit für den Reaktor 1 gemessen wurde. Hier ergibt sich ein Verhältnis im Tag-Nacht-Zyklus von 2:1. Der Reaktor mit den geringsten Sonnenstunden sind die Reaktoren 5 und 6, welche im gleichen Zeitraum kultiviert wurden und sich daher auf dieselben Wetterdaten beziehen. Hier beträgt das Verhältnis des Tag-Nacht-Zyklus 11,5:12,5, sodass im Durchschnitt in dieser Kultivierungswoche täglich 11,5 Sonnenstunden gemessen wurden und die Dunkelzeit jede Nacht 12,5 h betrug. Die durchschnittlichen Sonnenstunden der Kultivierungswochen lag bei 13,5 h, die durchschnittliche Dunkelzeit dementsprechend bei 10,5 h.

Die höchste durchschnittlich gemessenen Lichtintensitäten wurde für den Reaktor 7 mit einem Wert von  $568,44 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , welches einer Intensität von  $49,11 \text{ mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$ . Die Lichtintensität, welcher Reaktor 1 ausgesetzt war, ist mit  $563,45 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  auf einem ähnlichen Niveau. Die geringste durchschnittliche Lichtintensität wurde in den Kultivierungswochen für die Reaktoren 5 und 6 gemessen. In dieser Kultivierungswoche lag die durchschnittliche Lichtintensität bei  $263,16 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , welches einer täglichen Intensität von  $22,73 \text{ mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$  entspricht. Für alle Kultivierungswochen ergibt sich im Durchschnitt eine Lichtintensität von  $436,84 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} / 37,74 \text{ mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$ .

Für den Reaktor 1 wurden nicht nur die meisten Sonnenstunden gemessen, auch die durchschnittliche Temperatur innerhalb der Kultivierungswoche war mit  $19,38 \text{ }^\circ\text{C}$  die höchste der verglichenen Reaktoren. Die geringste gemittelte Temperatur konnte in der Woche der Kultivierung von Reaktor 5 und 6 mit  $11,71 \text{ }^\circ\text{C}$  bestimmt werden. Die Temperaturwerte der Reaktoren 3 und 4 liegen mit  $12,28 \text{ }^\circ\text{C}$  jedoch nur  $\sim 0,5^\circ\text{C}$  höher und sind daher auf einem sehr ähnlichen Niveau. Die durchschnittliche Temperatur in den Kultivierungswochen für Reaktor 2 und 7 betragen  $14,88 \text{ }^\circ\text{C}$  und  $16,11 \text{ }^\circ\text{C}$ , sodass in der Temperaturspanne von  $11,71 - 19,38 \text{ }^\circ\text{C}$  für jede  $2 - 3 \text{ }^\circ\text{C}$  Unterschied ein Reaktor vertreten ist.

Anhand der durchschnittlichen Regenstunden ist anzunehmen, dass ein signifikanter Einfluss auf die Reaktortemperatur höchstens bei den Reaktoren 1, 5 und 6 anzunehmen ist. Dieser Einfluss muss jedoch für jede Kultivierungswoche einzeln und im Detail betrachtet werden, da hier die Niederschlagsdauer, die Verteilung auf die verschiedenen Kultivierungstage sowie Intensität betrachtet werden muss und deren Gewichtung nur abgeschätzt werden kann. Aufgrund der geringen Intensitäten sowie der Verteilung der Regenstunden können nur an wenigen Tagen signifikante Einflüsse vermutet werden, deren Ausprägung meist, auf die ganze Kultivierungswoche gesehen, sehr gering ausfallen.

In Tabelle 3 wurden einzelne Fettsäuregruppen und ihre prozentualen Anteile in den jeweiligen Proben dargestellt. Wie schon zuvor erwähnt besitzt die Probe Nummer 7 den größten Lipidgehalt und somit auch die höchste Lipidkonzentration von 172,10 mg g<sub>oTS</sub><sup>-1</sup>. Die geringsten Konzentrationen konnten in den Proben 5 und 6 aus der Kultivierungswoche vom 5.10.2017 – 12.10.2017 mit einem Anteil von 91,30 mg g<sub>oTS</sub><sup>-1</sup> und 95,70 mg g<sub>oTS</sub><sup>-1</sup> gemessen werden. Die Lipidkonzentrationen in den weiteren Kultivierungswochen liegen zwischen 115,90 mg g<sub>oTS</sub><sup>-1</sup> und 130,80 mg g<sub>oTS</sub><sup>-1</sup>. Die durchschnittliche Lipidkonzentration aller Proben liegt bei 122,41 mg g<sub>oTS</sub><sup>-1</sup>.

Tabelle 3: Übersicht der prozentualen Anteile der essentiellen, gesättigten und ungesättigten Fettsäuren sowie der PUFAs in den Proben

Nr.	Reaktor	Erntedatum	Lipidkonzentration [mg g <sub>oTS</sub> <sup>-1</sup> ]	Anteil essentielle Fettsäuren [%]	Gesättigte Fettsäuren [%]	Ungesättigte Fettsäuren [%]	Anteile PUFAs [%]
1	M1R3	04.08.2017	115,90	23,53	43,48	56,52	24,73
2	M1R3	29.09.2017	130,80	56,73	19,94	80,06	58,79
3	M1R3	20.09.2017	126,20	57,13	19,50	80,50	58,88
4	M2R3	20.09.2017	124,90	58,17	19,31	80,69	60,70
5	M1R4	12.10.2017	91,30	57,96	20,16	79,84	60,78
6	M2R4	12.10.2017	95,70	58,24	18,19	81,81	61,55
7	M1R4	25.08.2017	172,10	39,42	29,27	70,73	39,69

Die Anteile der essentiellen Fettsäuren sind in den Proben 2 - 6 auf einem vergleichbaren Niveau. Die prozentualen Anteile am Lipidgehalt dieser Proben liegen zwischen 56,73 - 58,17 %. Die Proben 1 und 7 weichen von diesen Werten stark ab. Die Probe 1 besitzt den geringsten prozentualen Anteil an essentiellen Fettsäuren mit 23,53 %. Probe 7 besitzt

zwar einen höheren Anteil mit 39,42 %, jedoch ist dieser Wert noch deutlich von denen der Reaktoren 2 – 6 entfernt.

Bei den Anteilen der gesättigten sowie ungesättigten Fettsäuren ist eine ähnliche Verteilung der Reaktoren wie bei den Anteilen der essentiellen Fettsäuren zu erkennen. Hier liegen die Reaktoren 2 – 6 wieder auf einem ähnlichen Niveau und in den Reaktoren 1 und 7 sind wieder größere Abweichungen zu erkennen. Dieses Muster ist auch bei den Anteilen der PUFAs zu erkennen. Die prozentualen Anteile der PUFAs am Lipidgehalt der Proben liegen in den Reaktoren 2 – 6 zwischen 58,79 – 61,55 %. Die geringeren Anteile von 24,73 % und 39,69 % an mehrfach ungesättigten Fettsäuren in den Reaktoren 1 und 7 lassen sich auf die geringen Anteile von essentiellen Fettsäuren in diesen Proben zurückzuführen. Da alle essentiellen Fettsäuren zu den PUFAs gehören, stehen diese beiden Werte immer in einer engen Beziehung zueinander.

Ein Überblick über alle Fettsäuren und deren prozentualen Anteile in der zugehörigen Probe befindet sich im Anhang B in Tabelle 13.

## 5. Diskussion

In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse aus Kapitel 4 interpretiert und mit der Fachliteratur verglichen. Dabei soll festgestellt werden, ob und in welchem Umfang die umweltbedingten Faktoren Temperatur und Lichtintensität die Primärmetabolite der Mikroalge *Scenedesmus vacuolatus* beeinflussen. Die Kultivierung der Mikroalgen erfolgte in einer Pilotanlage im Freiland, sodass diese Parameter durch das Wetter beeinflusst wurden und gewissen Schwankungen innerhalb einer Kultivierungswoche unterlagen.

Im ersten Abschnitt wird die durchschnittliche stoffliche Zusammensetzung der analysierten Proben näher betrachtet. Anschließend wird in den folgenden zwei Abschnitten der Einfluss der Temperatur und der Einfluss der Lichtintensität auf die Primärmetabolite analysiert. Hierfür werden sechs der sieben Reaktoren aus Kapitel 4 verglichen. Die Ergebnisse des Reaktor M2R4 aus dem Kultivierungszeitraum vom 05.10.2017 – 12.10.2017 werden zuletzt in einem gesonderten Abschnitt betrachtet, da sich die Zusammensetzung der Mikroalgenproben deutlich von den Ergebnissen der anderen Reaktoren unterscheidet.

### 5.1 Durchschnittliche stoffliche Zusammensetzung

Hinsichtlich der untersuchten Parameter sowie deren Auswirkungen auf die Mikroalgenzusammensetzung ist die Mikroalge *Scenedesmus vacuolatus* eine derzeit wenige beschriebene Spezies. Um die Ergebnisse zu interpretieren, wurden Vergleichswerte von Mikroalgen der Abteilung *Chlorophyta* zur Hilfe genommen. Hierfür wurden vorrangig verschiedene Spezies der Gattungen *Scenedesmus* sowie *Chlorella* in Betracht gezogen, deren phylogenetischen Untersuchungen eine nahe Verwandtschaft zu dem verwendeten Organismus zeigen (Huss et al. 1999; Kessler et al. 1997).

Die Ergebnisse der durchschnittlichen Mikroalgenzusammensetzung für die sechs Reaktoren ergab folgende Verteilung der Primärmetabolite in der organischen Trockensubstanz:

- 46,66 % Proteine
- 38,77 % Saccharide
- 11,41 % Lipide

Beim Proteinanteil konnten Werte in der organischen Trockensubstanz zwischen 44,05 % und 51,33 % ermittelt werden. Diese Werte decken sich mit denen aus der Literatur, die für verschiedene *Scenedesmus*arten bei einem Proteingehalt von 42 – 54 % liegen (Becker 2007; Hodaifa et al. 2010; Ketchum und Redfield 1949). Speziell für den Organismus *Scenedesmus vacuolatus* konnten García-Cubero et al. (2017) einen Proteingehalt von  $44,63 \pm 2,14$  % ermitteln. Dieser Wert entspricht dem gemittelten Wert der Versuche.

Die Analyse der Saccharide ergab einen durchschnittlichen Anteil von 38,77 % in der organischen Trockensubstanz. Dabei variierten die Anteile zwischen 31,42 – 43,96 %. Verglichen mit den Werten in der Literatur scheint dieser Wert von der Norm abzuweichen. (García-Cubero et al. (2017) ermittelte für *Scenedesmus vacuolatus* einen Saccharidanteil von  $20,28 \pm 0,65$  % bei einer Kultivierungstemperatur von 25 - 30 °C. Dieser Wert kann als Bezugsgröße verwendet werden, da der Saccharidanteil in Grünalgen, welche keinen besonderen Stressfaktoren ausgesetzt sind, zwischen 21 -32 % beträgt (Guccione et al. 2014; Ketchum und Redfield 1949; Rodjaroen et al. 2017). Die Abweichung solcher biochemischen Parameter weist darauf hin, dass die Algen bei der Kultivierung einer Stressquelle ausgesetzt waren. Anhand der Literatur kann der hohe Saccharidanteil nicht mit den Einflussgrößen Temperatur oder Lichtintensität in Verbindung gebracht werden. Vielmehr ist hier von einer durchgehenden Substratlimitierung auszugehen, welche im Kapitel 5.4 im Zusammenhang mit dem Reaktor MIR4 (Kultivierungszeitraum 18.08.2017 – 25.08.2017) erläutert wird.

Der durchschnittliche Lipidanteil in den Proben betrug 11,41 %. Dabei variierten die Anteile in den Kultivierungswochen zwischen 9,13 – 13,08 %. Verglichen mit dem von García-Cubero et al. (2017) ermittelten Wert von  $28,04 \pm 3,73$  %, erscheinen die durchschnittlichen Lipidanteile sehr niedrig. Einen vergleichbaren Wert mit 21,1 - 29,8 % erhielten Carbone et al. (2018) in ihrer Studie mit *Scenedesmus vacuolatus*, als sie der Kultur zusätzlich CO<sub>2</sub> zugeführt haben. Durch die Begasung mit Luft, deren CO<sub>2</sub> Anteil deutlich geringer ist, konnten in derselben Studie Lipidanteile von 12,3 – 15,4 % ermittelt werden. Da die Versuchsergebnisse mit 11,41 % auf einem ähnlichen Niveau liegen, kann hier ein CO<sub>2</sub>-Mangel während der Kultivierung vermutet werden. Dieser könnte aus zu hohen Zelldichten, verstopften Membranen in der CO<sub>2</sub>-Zuleitung der Reaktoren oder einer verringerten CO<sub>2</sub>-Aufnahmerate durch suboptimale pH-Werte im Kulturmedium resultieren. Um dies genauer beurteilen zu können, müssten Zelldichten, Wachstumsraten

sowie Nährstoffkonzentrationen im Medium näher betrachtet werden, um mögliche Stressfaktoren ausschließen zu können.

Da die Mikroalgen weit unterhalb ihrer optimalen Wachstumstemperatur kultiviert wurden, hätten durchschnittlich höhere Lipidanteile erwartet werden können. Viele Mikroalgen neigen dazu, bei ungünstigen Umweltbedingungen Lipide als Energiereserve zu speichern (Thompson 1996). Der geringe Lipidanteil kann daher auch nicht auf erhöhte Temperaturen über dem Optimum zurückgeführt werden, wie es Kalacheva et al. (2002) in ihrer Studie zeigten. Bei Betrachtung der durchschnittlichen Lipidanteile von Grünalgen in der Literatur, können bei ausreichender CO<sub>2</sub>-Versorgung Werte zwischen 20 – 30 % als realistisch angesehen werden (Becker 2007; Guccione et al. 2014; Illman et al. 2000).

Bei dem Fettsäurespektrum waren die Palmitinsäure, die Ölsäure, die Linolsäure sowie die Linolensäuren diejenigen, mit den größten Anteilen. Diese vier Hauptfettsäuren konnten auch in verschiedenen Studien bei Grünalgen festgestellt werden (He et al. 2015; Lu et al. 2012; Ngangkham et al. 2012; Richardson et al. 1969). Die genau prozentuale Verteilung ist jedoch bei jeder Spezies verschieden. Auch die durchschnittlichen Anteile der gesättigten (19,42 %), einfach ungesättigten (16,43 %) sowie der mehrfach ungesättigten Fettsäuren (60,14 %) sind auf einem vergleichbaren Niveau von anderen Grünalgen, wie der Vergleich mit der Studie von Ngangkham et al. (2012) zeigt. Die Verteilung dieser Säuren kann jedoch nicht pauschalisiert werden, da das Fettsäurespektrum von vielen verschiedenen Faktoren, unter anderem auch Temperatur und Lichtintensität, stark beeinflusst werden kann. Der Reaktor M1R3 im Kultivierungszeitraum zeigt eine starke Abweichung in der Verteilung der Fettsäuren. Hier liegen die Anteile der PUFAs lediglich bei 24,73 %, welches aus dem geringen Anteil der  $\alpha$ -Linolensäure (3,23 %) resultiert. Gleichzeitig ist ein Anstieg der Palmitinsäure sowie der Öl- und Linolsäure zu erkennen. Eine mögliche Erklärung könnte hier ein Stickstoffmangel während der Kultivierung sein. Piorreck und Pohl (1984) konnten für *Scenedesmus obliquus* die gleichen Veränderungen im Fettsäurespektrum nachweisen. Hier sank der  $\alpha$ -Linolensäuregehalt mit Verringerung des Stickstoffs im Nährmedium drastisch ab und eine Akkumulation der Palmitinsäure sowie der C18:1 Fettsäuren, unter welche unter anderem auch die Ölsäure fällt, stiegen signifikant an. Da jedoch keine Daten über die Stickstoffkonzentration im Kultivierungsreaktor vorliegen, kann dies nur vermutet werden. Obwohl ein Stickstoffmangel oft mit einem geringen Proteingehalt in Verbindung gebracht wird, muss die These nicht verworfen werden.

Illman et al. (2000) konnte bei verschiedenen Grünalgen zeigen, dass der Einfluss von Stickstoffmangel auf die Primärmetabolite von der Spezies abhängt. Bei der Grünalge *Chlorella sorokiniana* beispielsweise waren keine signifikanten Änderungen durch die Reduzierung des Stickstoffs erkennbar.

## 5.2 Einfluss der Temperatur

Der Einfluss der Temperatur auf die Wachstumsraten ist in der Literatur in vielen Studien untersucht worden und konnte nachgewiesen werden. Der Einfluss der Temperatur auf das Verhältnis der Primärmetabolite, im speziellen auf die der Saccharide und Proteine, ist jedoch weniger erforscht, sodass diese im folgenden Abschnitt einzeln analysiert werden. Da die Temperatur außerhalb der Reaktoren gemessen wurde, beziehen sich die Ergebnisse auf die Umgebungstemperatur.

Die durchschnittliche Temperatur in den Kultivierungswochen betrug 13,88 °C. Die Temperaturen der einzelnen Wochen lagen zwischen 11,71 – 19,38 °C, sodass eine Temperaturdifferenz von 7,67 °C als Grundlage der Interpretation dient.

### 5.2.1 Einfluss der Temperatur auf den Proteingehalt

Beim Vergleich der Proteinanteile der Proben in den einzelnen Wochen ist keine Abhängigkeit von der Temperatur zu erkennen. Die geringste durchschnittliche Temperatur wurde in der Kultivierungswoche vom 05.10.2017 – 12.10.2017 mit 11,71 °C gemessen. In dieser Woche konnten Proteinanteile von 44,13 % und 45,94 % analysiert werden. In der Kultivierungswoche vom 13.09.2017 - 20.09.2017 konnte eine durchschnittliche Tagestemperatur von 12,28 °C gemessen werden. Die Proteinanteile liegen in diesen Reaktoren bei 51,33 % (M1R3) und 46,20 % (M2R3). Da die Temperaturen auf einem sehr ähnlichen Niveau sind und die letzten drei Tage in der Kultivierungswoche vom 05.10.2017 – 12.10.2017 mit 13,34 °C über dem Durchschnitt lagen, hätten bei einer Abhängigkeit von der Temperatur ähnliche Proteinanteile in den beiden Kultivierungswochen vermutet werden können. Der Wert von Reaktor M2R3 würde dieses Kriterium erfüllen, jedoch ist die Abweichung mit 51,33 % nicht durch die Temperatur erklärbar. Beim Vergleich dieser Werte mit den zwei weiteren Kultivierungswochen, dessen durchschnittliche Wochentemperatur höher lagen, lassen sich verringerte Proteinanteile feststellen. In der Kultivierungswoche vom 28.07.2017 – 04.08.2017 wurde die höchste gemittelte Tagestemperatur von 19,38 °C gemessen und in

der dazugehörigen organischen Trockensubstanz ein Proteinanteil von 44,05 %. Dieser Wert der Probe liegt sogar unterhalb von denen, welche bei der niedrigsten Temperatur kultiviert wurden. Hodaifa et al. (2010) beschrieb bei *Scenedesmus obliquus* einen kontinuierlichen Anstieg des Proteingehalt bis zum Erreichen der optimalen Wachstumstemperatur. Beim Überschreiten dieser Temperatur konnte ein Rückgang des Proteingehalt verzeichnet werden. Ähnliche Ergebnisse zeigten auch die Untersuchungen von Konopka und Brock (1978). Diese Ergebnisse könnten zum Teil auf die hier dargestellten Ergebnisse reflektiert werden, jedoch würde die optimale Wachstumstemperatur dann in einem Bereich von 15 °C liegen und von der Literatur stark abweichen. Für *Scenedesmus vacuolatus* liegt die optimale Wachstumstemperatur nach Kessler (1985) bei 34 °C und nach Huss et al. (1999) zwischen 32 - 36 °C. Verglichen mit anderen Grünalgen stellen diese Werte auch eine realistische Bezugsgröße dar, da die optimalen Wachstumstemperaturen durchschnittlich zwischen 25 °C und 40° C liegen (Adenan et al. 2013; Huss et al. 1999; Kessler 1985; Vona et al. 2004). Die Beobachtungen von Hodaifa et al. (2010) und Konopka und Brock (1978) können daher nicht bestätigt werden. Da in den Kultivierungswochen keine besonderen Auffälligkeiten weiterhin festgestellt wurden, welche die Ergebnisse beeinflussen könnten, kann keine Abhängigkeit des Proteingehalts von der Temperatur festgestellt werden.

### 5.2.2 Einfluss der Temperatur auf den Saccharidgehalt

Die Beziehung zwischen der Temperatur und dem Saccharidgehalt in Mikroalgen ist in der Literatur die am wenigsten dokumentierte Einflussgröße. Lee et al. (1985) dokumentierte bei *Chlorella vulgaris* eine Reduzierung des Saccharidanteils bei zunehmender Temperatur. Diese Studie muss aber kritisch betrachtet werden, da hier nur zwei Temperaturen verglichen wurden, von welcher eine nah an der optimalen Wachstumstemperatur des Organismus lag und die andere über dieser. Da während der Versuche die zuvor erwähnte maximale Wachstumstemperatur von *Scenedesmus vacuolatus* mit 34 °C nicht annähernd erreicht wurde, können die Ergebnisse von Lee et al. (1985) nur bedingt mit den Saccharidanteilen in den Versuchen verglichen werden. Eine in der Literatur häufig erwähnte Studie ist die von Oliveira et al. (1999). Diese konnten mit einer Steigerung der Temperatur bis zu 40 ° C einen Anstieg der Kohlenhydrate verzeichnen. Gleiche Ergebnisse zeigte die Studie von Ogbonda et al. (2007). Beide Studien wurden jedoch mit der Gattung *Spirulina* durchgeführt, welche zu

der Klasse der Cyanobakterien gehört und als Prokaryot einen anderen Stoffwechsel besitzt als die eukaryotischen Algen.

Beim Vergleich der Saccharidanteile der Proben lassen sich keine Zusammenhänge zwischen der Temperatur und den Saccharidgehalten ermitteln. Die prozentualen Anteile der Saccharide in der Woche mit der höchsten durchschnittlichen Temperatur und in der mit der niedrigsten Temperatur liegen mit 42,08 % und 43,96 % auf einem ähnlichen Niveau. Bei der Gegenüberstellung der Proben aus den Kultivierungswochen vom 05.10.2017 und vom 13.09.2017 lassen sich deutliche Unterschiede in den prozentualen Mengen erkennen, obwohl diese Wochen auf einem sehr ähnlichen Temperaturlevel sind. Die beiden Reaktoren aus Modulreihe 1 besitzen eine Differenz von 9,35 % in ihren Saccharidanteilen, welcher nicht auf den Einfluss der Temperatur zurückgeführt werden kann. Die Probe aus dem Kultivierungszeitraum 18.08.2017 – 29.09.2017 besitzt einen Saccharidanteil von 37,24 %, welches dem Anteil aus einer Kultivierungswoche entspricht, in welcher die durchschnittliche Temperatur um 2,6 °C geringer war. Anhand der Ergebnisse kann daher kein Zusammenhang zwischen der Temperatur und dem Saccharidanteil in den Messergebnissen festgestellt werden.

### 5.2.3 Einfluss der Temperatur auf den Lipidgehalt und das Fettsäurespektrum

Bei den Analyseergebnissen der Lipidanteile ist eine eingeschränkte Steigerung des Lipidgehalts mit der Temperatur in fünf der sechs untersuchten Proben zu erkennen. In der Kultivierungswoche vom 05.10.2017 – 12.10.2017 wurde die niedrigste durchschnittliche Umgebungstemperatur mit 11,71 °C gemessen. Die Lipidanteile betragen hier 9,13 – 9,57 %. In den beiden Reaktoren im Kultivierungszeitraum 13.09.2017 – 20.09.2017, in welcher die wöchentliche Tagestemperatur bei 12,28 °C lag, konnte ein Lipidgehalt zwischen 12,49 – 12,62 % bestimmt werden. Da die Temperaturen der jeweiligen Wochen jedoch nur sehr geringe Unterschiede zeigen und wie in Kapitel 5.2.1 erwähnt, die Tagestemperatur in der kühleren Kultivierungswoche an den letzten drei Tagen über dem Durchschnitt lagen, müssten hier Lipidgehalte auf demselben Niveau gemessen werden. Da die Differenz jedoch ~ 3 % beträgt, kann hier von keinem direkten Zusammenhang zwischen der Temperatur und dem Lipidgehalt ausgegangen werden. Beim Betrachten der Ergebnisse aus der Kultivierungswoche vom 18.08.2017 – 25.08.2017 ist wieder eine geringe Steigerung des Lipidgehalts auf 13,08 % bei einer durchschnittlichen Tagestemperatur von 14,88 °C erkennen. In der Woche mit der höchsten durchschnittlichen Temperatur von 19,38 °C ist dagegen wieder ein Absinken

des Gehalts auf 11,59 % zu verzeichnen, welcher unter dem Gehalt aus der Kultivierungswoche mit einer mittleren Temperatur von 12,28 °C liegt. Dieser Verlauf ist, bezogen auf den Einfluss der Temperatur und den gemessenen Temperaturen während der Kultivierung, nicht mit der Literatur zu erklären. Wang et al. (2014) beschrieb für *Chlorella sorokiniana* sogar einen Anstieg des Lipidgehalts mit abnehmender Temperatur. Diese Tendenz kann durch die Versuche nicht belegt werden. Renaud et al. (2002) konnte zeigen, dass der Einfluss der Temperatur auf den Lipidgehalt bei jeder Spezies unterschiedlich ist und teilweise auch erst ab bestimmten Temperaturen eintritt. Ein direkter Zusammenhang kann daher durch die Versuche in dem ermittelten Temperaturbereich nicht festgestellt werden.

Im Fettsäurespektrum der Mikroalgen, welche in einem Temperaturbereich zwischen 11,71 – 14,88 °C kultiviert wurden, sind geringe Unterschiede in der Verteilung der gesättigten, einfach ungesättigten sowie mehrfach ungesättigten Fettsäuren festzustellen. Der höchste Anteil an ungesättigten Fettsäuren wurde in der Kultivierungswoche mit der geringsten durchschnittlichen Temperatur mit 81,81 % gemessen. Diese Anteile stiegen geringfügig bis auf einen Wert von 80,06 % mit zunehmender Temperatur an. Beim Betrachten der Kultivierungswoche vom 29.07.2017 – 04.08.2017, in welcher die gemittelte Temperatur bei 19,38 °C lag, ist ein deutlicher Anstieg der gesättigten Fettsäuren auf einen Anteil von 43,48 % und somit eine Reduzierung der ungesättigten Fettsäuren auf 56,52 % zu erkennen. Dieser Reaktor kann jedoch nur unter Vorbehalt in die Betrachtung mit einbezogen werden, da aufgrund der nachgewiesenen Fettsäuren sowie deren Verteilung ein Einfluss durch Stickstoffmangel vermutet wird (siehe Kapitel 5.1). Dieser Stickstoffmangel könnte das gesamte Fettsäurespektrum verändern. Wird der Reaktor aus der Kultivierungswoche vom 18.08.2017 – 25.08.2017 mit in die Bewertung genommen, wird dieser Verlauf bestätigt. Dessen Anteile an ungesättigten Fettsäuren liegen bei 70,73 % bei einer durchschnittlichen Umgebungstemperatur von 16,11 °C. In dieser Kultur könnte jedoch auch ein Stickstoffmangel vermutet werden, welcher das Fettsäurespektrum beeinflusst (siehe Kapitel 5.4), daher kann aus den vorliegenden Ergebnissen nur unter Vorbehalt angenommen werden, dass das Fettsäurespektrum der Mikroalge *Scenedesmus vacuolatus* von der Temperatur abhängig ist. Eine signifikante Änderung im Fettsäurespektrum konnte erst ab einer Temperatur von 16,11 °C gezeigt werden. Unterhalb dieser Temperatur waren die Anteile der Fettsäuren nahezu gleich. Somit ist die Tendenz, dass die Anteile der ungesättigten Fettsäuren mit abnehmender Temperatur zunehmen und der Anteil der gesättigten Fettsäuren dementsprechend sinkt.

Diese Tendenz konnte auch in Studien von Hodaifa et al. (2010) und Wang et al. (2016) nachgewiesen werden. Durch den Einbau von ungesättigten Fettsäuren in die Zellmembranen wird bei geringen Temperaturen die Fluidität aufrechterhalten, sodass die Stoffwechselprozesse in und aus der Zelle heraus weiterhin ungehindert ablaufen können. Die Akkumulation dieser Fettsäuren ist daher ein Schutzmechanismus der Zelle.

### 5.3 Einfluss der Lichtintensität

Wie bei der Temperatur auch, ist der Einfluss der Lichtintensität auf die Wachstumsraten von Mikroalgen weitgehend erforscht. In Bezug auf die Mikroalgenzusammensetzung sind hier vorwiegend Fortschritte im Einfluss auf den Lipidgehalt sowie der Fettsäurezusammensetzung zu verzeichnen. Da die Versuche in einer Freilandkultivierung stattgefunden haben, sind die Vergleiche mit anderen Studien jedoch erschwert, da diese zum großen Teil unter stark kontrollierten und konstanten Bedingungen durchgeführt wurden. In einer Freilandkultivierung sind die Mikroalgen ständig wetterbedingten Schwankungen ausgesetzt, welche zu Stress in der Alge führen und unterschiedlichste Auswirkungen haben können. Die Auswirkungen der Lichtintensität sind daher schwer zu beurteilen, da unterschiedliche Faktoren wie Tag-Nacht-Zyklen und die optimale Lichtintensität voneinander abhängen. Aufgrund der ermittelten Lichtintensitäten in den Kultivierungswochen wird eine Einwirkung durch Photoinhibition auf die Mikroalgenzusammensetzung ausgeschlossen. Da in den Photobioreaktoren die Mikroalgen durchgehend zirkulieren, sich jedoch auch gegenseitig verschatten, kann nur ein Teil des Lichtspektrum wirken (Lee 1999). Zusätzlich konnten García-Cubero et al. (2017) in ihrer Studie zeigen, dass *Scenedesmus vacuolatus* ein sehr schnell wachsender Organismus mit hoher photosynthetischer Effizienz ist, bei welchem selbst hohe Lichtintensitäten bis  $3000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  zu keiner Photoinhibition führten. Um dies jedoch genauer beurteilen zu können, müssten die Wachstumsraten innerhalb der Kultivierungswochen analysiert werden. Atta et al. (2013) konnte in seiner Studie auch nachweisen, dass das Verhältnis vom Tag-Nacht-Zyklus maßgeblich die Wachstumsraten und auch die Zusammensetzung der Primärmetabolite beeinflusst. Da wir in den Kultivierungswochen jeweils unterschiedliche Zyklen hatten und gleichzeitig unterschiedliche Lichtintensitäten, müssen Vergleiche mit der Literatur kritisch betrachtet werden.

### 5.3.1 Einfluss der Lichtintensität auf den Proteingehalt

Bei der Betrachtung der Proteinanteile in den jeweiligen Proben in Verbindung mit den gemessenen Lichtintensität fällt auf, dass in der Kultivierungswoche mit der höchsten Lichtintensität von  $563,45 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  und in der mit der niedrigsten Lichtintensität von  $263,16 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  nahezu die gleichen Proteinwerte festgestellt wurden. Einen eventuellen Einfluss könnte die Licht- und Dunkelzeit hier spielen, da die Kultivierungswoche, in der die höchste Lichtintensität gemessen wurde, gleichzeitig auch die mit den meisten Sonnenstunden und der geringsten Dunkelzeit war.

Beim Vergleich der Ergebnisse der Kultivierungswochen, deren Lichtintensitäten zwischen  $263,16 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  und  $456,00 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  lagen und deren Verhältnis im Tag-Nacht-Zyklus ausgeglichener war, ist eine Zunahme der Proteine mit steigender Lichtintensität zu verzeichnen. Die verschiedenen Proteinanteile in den beiden Reaktoren im Kultivierungszeitraum vom 13.09.2017 – 20.09.2017 könnten durch die Anordnung der Reaktormodule erklärt werden. In diesen Proben ist der Proteinanteil in Reaktor M2R3 geringer, da dieser vom Modul 1 ab der Mittagszeit verschattet wird und somit ein Teil des Lichts absorbiert wird. Die beiden Reaktoren aus der Kultivierungswoche vom 05.10.2017 – 12.10.2017 widersprechen dem jedoch teilweise. Aufgrund der Anordnung ist eine geringere Differenz zwischen den Proteinanteilen erwartbar, da diese Reaktoren am Ende der Modulreihe stehen und daher die Verschattung von Modul 2 durch Modul 1 in den Abendstunden nicht mehr vorhanden ist. Da jedoch der Proteinanteil im Reaktor aus Modul 2 geringfügig größer ist als der aus Modul 1 ist hier keine Verbindung zur Lichtintensität zu erkennen. Aufgrund der Einschränkungen kann daher kein klarer und eindeutiger Bezug zwischen der Lichtintensität und dem Proteinanteil ermittelt werden, jedoch auch nicht völlig ausgeschlossen werden. He et al. (2015) konnten bei *Chlorella sp.* sogar gegensätzliche Resultate zeigen, sodass sich der Proteinanteil mit zunehmender Lichtintensität verringert. Dieses Resultat kann in den Versuchsergebnissen jedoch nur in der Kultivierungswoche vom 28.07.2017 – 04.08.2017 bestätigen werden.

### 5.3.2 Einfluss der Lichtintensität auf den Saccharidgehalt

Die Ergebnisse der Saccharidgehalte in Bezug auf die Lichtintensität sind denen der Proteine sehr ähnlich. Hier wurde in den Kultivierungswochen mit der niedrigsten sowie in der mit der höchsten Lichtintensität die höchsten Saccharidanteile der verglichenen Proben nachgewiesen. Bei den übrigen Reaktoren ist dagegen eine Abnahme des

Saccharidgehalts mit zunehmender Lichtintensität zu verzeichnen. Dies ist auch in den beiden Wochen zu erkennen, in welcher jeweils zwei Reaktoren kultiviert wurden. Durch die Verschattung von Modul 2 durch Modul 1 sind geringere Lichtintensitäten zu erwarten. In beiden Kultivierungswochen besitzt die Biomasse aus dem Modul 2 einen höheren Saccharidgehalt als die aus dem Modul 1. In der Kultivierungswoche vom 13.09.2017 – 20.09.2017 beträgt die Differenz der Module 5,7 % und in der Kultivierungswoche vom 05.10.2017 – 12.10.2017 nur 3,19 %. Dies ist jedoch auch schlüssig aufgrund der Anordnung der Reaktormodule. Da der Reaktor M2R3 täglich länger als der Reaktor M2R4 von der Reaktorlinie M1 verschattet wird, ist im Reaktor M2R4 auch eine geringere Differenz erwartbar. Aufgrund dieser Ergebnisse kann eingeschränkt gesagt werden, dass mit zunehmender Lichtintensität der Saccharidanteil sinkt, sich diese Ergebnisse jedoch bei einem Reaktor widersprechen. Hier könnte wieder das Verhältnis des Tag-Nacht-Zyklus eine mögliche Erklärung sein, da in dieser Woche doppelt so viele Sonnenstunden wie Dunkelzeit gemessen wurde und die anderen Reaktoren im Vergleich ein ausgeglicheneres Verhältnis haben. Eine Akkumulation von Sacchariden mit zunehmender Lichtintensität, wie es Ho et al. (2012) für *Scenedesmus obliquus* beobachteten, kann nicht bestätigt werden. Ein sinkender Proteingehalt durch Photoinhibition kann auch ausgeschlossen werden, da dieser dann schon bei einer Lichtintensität von  $333,15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  auftreten würde und dies für *Scenedesmus vacuolatus* ausgeschlossen werden kann. Dass die Lichtintensität keinen Einfluss auf den Saccharidgehalt mancher Spezies hat, konnten Guedes et al. (2010) in ihrer Studie zeigen. Daher scheint die Auswirkung der Lichtintensität bei jeder Spezies verschieden zu sein.

### 5.3.3 Einfluss der Lichtintensität auf den Lipidgehalt

Der höchste Lipidgehalt von 13,08 % wurde in einer Woche gemessen, deren durchschnittliche Lichtintensität bei  $333,15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  lag. Diese Lichtintensität ist, im Vergleich zu den weiteren Kultivierungswochen, eher im niedrigen Segment einzuordnen. Bei höherer sowie geringerer Lichtintensität konnte eine Abnahme der Lipidkonzentration festgestellt werden. Ähnliche Ergebnisse konnte Atta et al. (2013) feststellen, der in seiner Studie nicht nur den Einfluss der Lichtintensität, sondern zeitgleich auch den Einfluss der Tag-Nacht-Zyklen auf die Lipidkonzentration untersuchte. In den Versuchen konnte in der Kultivierungswoche mit der geringsten Lichtintensität ( $263,15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) die niedrigsten Lipidanteile in der organischen Trockensubstanz mit 9,13 % und 9,57 % bestimmt werden. Die nächsthöhere

Lichtintensität, welche gemessen wurde, ist die schon zuvor genannte mit  $333,15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  und einem Lipidanteil in der Probe von 13,08 %. Diese Akkumulation von Lipiden könnte dadurch erklärt werden, dass die Mikroalgen Triglyceride bilden. Diese sind Hauptbestandteile der Chloroplastenmembran und schützen den Photosyntheseapparat vor zu hohen Lichtintensitäten. Bei höheren Lichtintensitäten werden diese Lipide in die Chloroplastenmembran eingebaut und die Chloroplastenaktivität wird gleichzeitig gesenkt, sodass eine erhöhte Lipidakkumulation nicht mehr von Nöten ist und der Lipidgehalt der Zellen wieder sinkt. Dies könnte die Verringerung des Lipidgehalts in der Probe aus Reaktor M1R3 aus dem Kultivierungszeitraum 28.07.2017 – 04.08.2017 erklären. Atta et al. (2013) zeigten auch, dass bei einer Kultivierung mit 16 Sonnenstunden ein geringerer Anteil an Lipiden ermittelt wurde als bei der Kultivierung mit zwölf Sonnenstunden. Dies zeigt, dass sowohl die Lichtintensität als auch der Tag - /Nacht-Zyklus Einfluss auf den Lipidgehalt der Mikroalgen hat. Dies könnte ein weiterer Grund sein, warum der Lipidgehalt in der Woche mit der höchsten durchschnittlichen Temperatur absinkt, da dieser auch gleichzeitig die meisten Sonnenstunde hatte. Da alle Kultivierungswochen jedoch unterschiedliche Lichtintensitäten sowie Tag-Nacht-Zyklen aufweisen, ist es schwer für die Versuche eine Aussage zu treffen.

Bei Betrachtung der Ergebnisse der Mikroalgen, welche in denselben Kultivierungswochen gezüchtet wurden, zeigen ihre Lipidanteilen keine signifikanten Unterschiede auf. Bei einem Einfluss durch die Lichtintensität würde hier zumindest Abweichungen erwartet werden, da ein gewisser Anteil der Reaktorfläche verschattet ist und dadurch weniger Lichtintensität auf diese wirken kann. Hier ist daher kein Zusammenhang zwischen Lichtintensität und Lipidgehalt erkennbar. Zu den gleichen Ergebnissen kamen Ho et al. (2012), welche bei der Grünalge *Scenedesmus obliquus* keine Veränderung des Lipidgehalts mit der Lichtintensität feststellen konnten.

Im Fettsäurespektrum der Proben, welche bei einer Lichtintensität zwischen  $263,16 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  und  $456,00 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  kultiviert wurden, sind nur geringe Unterschiede in der Verteilung der gesättigten, einfach ungesättigten sowie mehrfach ungesättigten Fettsäuren festzustellen. Werden von diesen Ergebnissen nur diejenigen aus Reaktorlinie 1 verglichen, welche nicht durch Verschattung beeinflusst wurden, ist keine Linearität zu erkennen. Der Anteil der ungesättigten Fettsäuren steigt in diesem Bereich minimal mit zunehmender Lichtintensität an. Die Unterschiede betragen hier nur 0,66 % bei einer Erhöhung der Lichtintensität von  $192,84 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Bei den Anteilen der PUFAs ist die Verteilung mit zunehmender Lichtintensität jedoch nicht eindeutig. Der höchste Wert

der PUFAs konnte in der Probe mit der geringsten Lichtintensität gemessen werden. Die Anteile der PUFAs in den Proben, die bei einer durchschnittlichen Lichtintensität von  $333,15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  und  $456,00 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  kultiviert wurden, liegen nahezu auf einem Level, wobei der Gehalt der PUFAs bei der höheren Lichtintensität um 0,09 % höher ist. Bei der Probe, welche mit einer durchschnittlichen Lichtintensität von  $563,45 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  kultiviert wurde, sind signifikante Änderungen im Fettsäurespektrum zu erkennen. Hier sinkt der Anteil der ungesättigten Fettsäuren auf einen Wert von 56,52 % ab. Wie in Kapitel 5.1 jedoch beschrieben, wird in diesem Reaktor ein weiterer Stressfaktor wie Stickstoffmangel vermutet, da sich die Fettsäuren sehr von denen der anderen Proben differenzieren. Würde die Probe aus dem Reaktor M1R4 (Kultivierungszeitraum 18.08.2017 – 25.08.2017) noch mit in die Bewertung mit einbezogen werden, dann könnte eindeutig gesagt werden, dass die Lichtintensität keinen Einfluss auf das Fettsäurespektrum hat. In dieser Probe wurde ein Anteil von 70,73 % an ungesättigten Fettsäuren nachgewiesen, obwohl die Lichtintensität im Vergleich mit allen anderen Reaktoren die höchste mit  $568,44 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  war. Hier wird aber auch ein weiterer Stressfaktor vermutet, welcher das Fettsäurespektrum stark beeinflusst (siehe Kapitel 5.4).

Beim Vergleich der Reaktoren, die in denselben Wochen kultiviert wurden, ist auch kein eindeutiges Ergebnis zu erkennen. In der Kultivierungswoche vom 13.09.2017 – 20.09.2017 ist der Anteil der ungesättigten Fettsäuren nahezu auf demselben Level, obwohl der Reaktor in der Modulreihe 2 durch den Reaktor in Modulreihe 1 verschattet wird.

Anhand dieser Ergebnisse erschließt sich, dass die Lichtintensität in den Versuchen keine deutlich erkennbaren Veränderungen im Fettsäurespektrum bewirkte. Nach der Literatur hätten bei geringeren Lichtintensitäten höhere Anteile an ungesättigten Fettsäuren und damit auch höhere Anteile an PUFAs vermutet werden können, da diese eine wichtige Rolle bei der Instandhaltung der photosynthetischen Funktion der Chloroplastenmembran einnehmen und somit elementar relevant für die Anpassung an geringe Lichtintensitäten sind. Diese Tendenz konnte in mehreren Studien nachgewiesen werden (Amini Khoeyi et al. 2012; Danesi et al. 2004; He et al. 2015; Thompson et al. 1990). Die Ergebnisse aus den Versuchen konnten diese Verläufe jedoch nicht bestätigen, obwohl signifikante Veränderungen in der Lichtintensität in den einzelnen Kultivierungswochen gemessen wurden.

#### 5.4 Analyse der Ergebnisse des Reaktors M1R4 (18.08.2017 - 25.08.2017)

Der Reaktor M1R4 wurde im Zeitraum vom 18.08.2017 – 25.08.2017 kultiviert. Die Ergebnisse der Primärmetabolite zeigen große Abweichungen von den Ergebnissen, die in den anderen Kultivierungswochen erzielt wurden. Die organische Trockensubstanz der kultivierten Proben enthielt durchschnittlich 46,66 % Proteine, 38,77 % Saccharide und 11,71 % Lipide.

In der Probe aus Reaktor M1R4 konnte ein Proteinanteil von 25,80 % festgestellt werden, welches einer Verringerung von 20,86 % vom gemittelten Wert entspricht. Im Saccharid- sowie im Lipidanteil konnten dagegen überdurchschnittlich hohe Werte gemessen werden. Diese Biomasse enthielt im Vergleich zu den gemittelten Werten 13,94 % mehr Saccharide sowie 5,5 % mehr Lipide. Eine Abweichung von den Mittelwerten in diesem Umfang kann nicht auf den Einfluss der Temperatur sowie der Lichtintensität zurückgeführt werden. In dieser Kultivierungswoche konnten auch keine besonderen umweltbedingten Einflüsse analysiert werden, die zu einer solchen Verteilung der Primärmetabolite führen würden. Daher ist hier von einer anderen Ursache auszugehen. Die Verteilung der Primärmetabolite zeigt einen eindeutigen Hinweis darauf, dass die Kultur einer oder eventuell auch mehreren Stressquellen ausgesetzt war. Viele Mikroalgen neigen unter Stresssituationen dazu, Saccharide sowie Lipide zu akkumulieren, da diese einen hohen Energiegehalt besitzen und als Energiereserven dienen können. Dies geht dann oft einher mit der Verringerung der Proteine, da die Kohlenstoffe für die Lipid- sowie Saccharidsynthese verwendet werden. Verglichen mit den Ergebnissen der anderen Reaktoren zeigen auch in dieser Probe die Protein-, Saccharid- sowie Lipidgehalte einen solchen Verlauf. Die Verteilung der Fettsäuren in dieser Probe ist ein weiterer Hinweis darauf, dass die Mikroalgen Stress ausgesetzt waren, da sich diese vor allem im Gehalt der  $\alpha$ -Linolensäure, der Linolsäure sowie der Öl- und Palmitinsäure von den anderen Proben unterscheiden. Solche Veränderungen in den Primärmetaboliten sowie im Fettsäurespektrum können unterschiedlichste Gründe haben. Hier sind vor allem Defizite in der Nährstoffversorgung zu nennen. Beispiele hierfür sind Stickstoff- oder Phosphatmangel, wie es Ho et al. (2012) und Reitan et al. (1994) in ihren Studien zeigten. Es konnte auch gezeigt werden, dass im Medium veränderte Konzentrationen der Salinität solche Auswirkungen haben kann (Rao et al. 2007).

Einen sehr ähnlichen Verlauf der Primärmetabolite konnte Ho et al. (2012) bei der Grünalge *Scenedesmus obliquus* durch die Limitierung von Stickstoff nachweisen. Hier sank der Anteil der Proteine und gleichzeitig stieg der Saccharid- sowie Lipidgehalt auf

vergleichbare Werte wie in der Probe aus dem Reaktor M1R4 an. Einen weiteren Hinweis auf eine Stickstofflimitierung zeigen die Ergebnisse von Piorreck und Pohl (1984). Diese konnten bei *Scenedesmus obliquus* einen sehr ähnlichen Verlauf der Hauptfettsäuren in Anhängigkeit von der Stickstoffkonzentration feststellen. Mit abnehmender Stickstoffkonzentration nahm der Gehalt der  $\alpha$ -Linolensäure ab und die Gehalte der Palmitinsäure und der C18:1 Fettsäuren, unter welche auch die Ölsäure fällt, stiegen teilweise stark an. Da die Lipidgehalte aller Proben im Vergleich mit anderen Grünalgen als relativ gering erscheinen, ist auch noch eine zusätzliche CO<sub>2</sub>-Limitierung während der Kultivierung zu vermuten, wie es García-Cubero et al. (2017) speziell für den hier verwendeten Organismus *Scenedesmus vacuolatus* zeigten (siehe Kapitel 5.1). Da keine genauen Daten über die Wachstumsraten, Zell-, Nährstoff- oder CO<sub>2</sub>-Konzentrationen aus dem Medium während der Kultivierungswochen vorliegen, kann keine spezifische Ursache für die unterschiedliche Verteilung der Primärmetabolite ermittelt werden. Auch eine Kombination aus verschiedenen Stressfaktoren wäre hier möglich.

## 6. Fazit und Ausblick

Vorrangiges Ziel dieser Arbeit war es, den Einfluss der Temperatur und der Lichtintensität auf die Mikroalgenzusammensetzung der Grünalge *Scenedesmus vacuolatus* in einer geschlossenen Freilandkultivierung zu untersuchen. Anhand der Literaturrecherche konnte gezeigt werden, dass sich diese umweltbedingten Einflussfaktoren signifikant auf die Primärmetaboliten der Mikroalgen auswirken können, dies jedoch von der Spezies abhängig ist.

Die Analyse der organischen Trockensubstanz der Mikroalge *Scenedesmus vacuolatus* zeigte nur wenige Veränderungen in den Protein-, Saccharid- sowie Lipidgehalten, die eindeutig auf den Einfluss der Temperatur oder Lichtintensität zurückzuführen sind. Einen Zusammenhang zwischen der Temperatur und den Proteinanteilen in der Probe hätte man nur unter der Bedingung erklären können, dass die Mikroalge oberhalb ihrer optimalen Wachstumstemperatur kultiviert worden wäre. Die Literaturrecherche schließt dies jedoch aus, da diese für *Scenedesmus vacuolatus* bei 34 °C liegt.

Die unterschiedlichen Saccharidanteile in den Proben konnten ebenfalls nicht durch den Temperaturverlauf in den Kultivierungswochen erklärt werden. Hier war keine Korrelation zwischen den beiden Parametern festzustellen.

Ähnliche Resultate zeigten die Ergebnisse der Lipiduntersuchung. Hier konnte im Lipidgehalt der organischen Trockensubstanz der Proben Unterschiede von ~ 3 % festgestellt werden, obwohl die Umgebungstemperatur auf einem vergleichbaren Niveau lag. Zusätzlich war bei der höchsten Temperatur eine Verringerung des Lipidgehalts zu verzeichnen. Daher konnte hier auch kein direkter Bezug zwischen der Temperatur und dem Lipidgehalt gezeigt werden. Das Fettsäurespektrum zeigte die Tendenz, dass der Anteil der ungesättigten Fettsäuren mit steigender Temperatur geringer wird. Dieser Effekt konnte jedoch nur in Proben gezeigt werden, deren Umgebungstemperatur während der Kultivierungszeit über ~ 16 °C lag. Unterhalb dieser Temperatur konnte diese Tendenz zwar auch bestätigt werden, jedoch waren die Veränderungen der ungesättigten Fettsäuren in den Proben sehr gering. Zusätzlich zeigten die Proben, in denen signifikante Veränderungen festgestellt wurden, auffällige Verteilungen in den einzelnen Fettsäuren, welche nicht durch die Temperatur erklärt werden konnten. Hier konnte daher nur unter Vorbehalt angenommen werden, dass mit steigender Temperatur die Anteile der ungesättigten Fettsäuren abnimmt.

Bei der Korrelation zwischen Lichtintensität und den Primärmetaboliten zeigten sich dagegen mehr Zusammenhänge, obwohl diese meist nur unter Vorbehalt getroffen werden konnten. Mit zunehmender Lichtintensität konnte in den Proben ein gleichzeitiger Anstieg der Proteine verzeichnet werden. Dieser Tendenz widersprach jedoch eine der sieben Proben. Dies könnte jedoch dadurch erklärt werden, dass die Mikroalgen in einer Woche kultiviert wurden, in der der Tag-Nacht-Zyklus mit einem Verhältnis von 2:1 verhältnismäßig unausgeglichen war.

In Bezug auf den Saccharidanteil der Proben konnte mit zunehmender Lichtintensität eine Verringerung des Saccharidgehalts festgestellt werden. Eine Abweichung von dieser Tendenz zeigte wieder dieselbe Probe, welche auch zuvor bei den Proteinanteilen eine Ausnahme darstellte. Eine mögliche Erklärung könnte auch hier wieder das unausgewogene Tag-Nacht-Verhältnis sein.

Die Lipidanteile dagegen stiegen in den Proben bis zu einer Lichtintensität von  $333,15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  an und verringerten sich bei höheren Lichtintensitäten. Eine mögliche Erklärung für diesen Verlauf könnte ein Schutzmechanismus der Zelle sein. Hier kann daher auch nur unter Vorbehalt angenommen werden, dass die Lichtintensität Einfluss auf die Lipidanteile in den Proben zeigte. Die Ergebnisse des Fettsäurespektrums waren dagegen eindeutiger, da hier keine linearen Veränderungen in Bezug auf die Lichtintensität ermittelt werden konnten.

In den Untersuchungen konnte daher festgestellt werden, dass bestimmte Primärmetabolite der Mikroalge *Scenedesmus vacuolatus* vorwiegend durch die Lichtintensität beeinflusst werden können. Die Literaturrecherche konnte zeigen, dass auch die Temperatur diese Metabolite beeinflussen kann. In den Versuchen ist dies nicht bestätigt worden, da lediglich das Fettsäurespektrum der Proben eine Korrelation zeigte. Die Literaturrecherche war weiterhin zu entnehmen, dass diese Ergebnisse kritisch betrachtet werden müssen.

Da die Mikroalgen in einer Pilotanlage im Freiland kultiviert wurden, waren diese unterschiedlichen Stressquellen ausgesetzt, welche jeweils zu Veränderungen der Primärmetabolite führen können. Hierzu zählen nicht nur schwankende Temperaturen und unterschiedliche Lichtintensitäten innerhalb einer Kultivierungswoche, sondern auch wechselnde Tag-Nacht-Zyklen. Die Fettsäurespektren einzelner sowie die durchschnittlichen niedrigen Lipidanteile aller Proben lassen zusätzlich noch weitere Stressfaktoren wie Nährstoff- und  $\text{CO}_2$ -Mangel vermuten, welche auch zu einer Umverteilung der Primärmetabolite führen können. Der Vergleich mit Ergebnissen aus

der Literatur ist daher sehr schwer, da der größte Teil diverser Studien nur einen Einflussfaktor betrachten und die Kultivierung nur unter streng kontrollierten Bedingungen stattfindet. Aus diesen Ergebnissen lassen sich jedoch viele Verbesserungsvorschläge für zukünftige Untersuchungen im Freiland formulieren.

Um mögliche Nährstofflimitierungen ausschließen zu können, sollten während der Kultivierung Parameter wie Stickstoffgehalt, CO<sub>2</sub>-Gehalt oder auch der Phosphatgehalt und die Salinität stark kontrolliert und gemessen werden. Jeder dieser aufgezählten Stressfaktoren kann ein Einfluss auf die Primärmetabolite bewirken, die sich auch noch bei jeder Spezies verschieden äußert. Zusätzlich sollte die Temperatur im Medium der Kultur gemessen werden, da die Umgebungstemperatur und Reaktortemperatur nicht die gleichen sind. Allein durch klimatische Bedingungen wie Niederschläge oder direkte Bestrahlung durch Sonnenlicht kann die Temperatur im Reaktor eine vollkommen andere sein als die der Umgebungstemperatur. Ähnlich verhält es sich mit der Messung der Lichtintensität. In den Versuchen wurde die PAR mittels Umrechnung aus der gemessenen Globalstrahlung ermittelt. Studien zeigten, dass der Anteil der PAR an der Globalstrahlung je nach Standort zwischen 40 – 60 % betragen kann. Auch beim Umrechnungsfaktor von der Globalstrahlung in die PAR konnte gezeigt werden, dass dieser vom Wetter abhängt. Daher ist eine direkte Messung der PAR zu empfehlen, da sonst nur Näherungswerte bestimmt werden können. Weiterhin sollten die Zelldichten sowie Wachstumsraten der Mikroalgen gemessen und mit in die Bewertung genommen werden. Anhand der Wachstumsraten könnten Rückschlüsse auf mögliche Stressfaktoren gezogen werden. Außerdem könnten mögliche Veränderungen der Primärmetabolite in verschiedenen Wachstumsphasen analysieren. Anhand der Zelldichten könnte man die Auswertung der Lichtverfügbarkeit für die Mikroalgen mit in die Bewertung einfließen lassen. Diese würde zeigen, wie viel Lichtenergie den Mikroalgen in einem Reaktor zur Verfügung stehen, da dies von Faktoren wie der Zelldichte, der Konstruktion des Reaktors sowie der Lichtintensität abhängt. In zukünftigen Untersuchungen sollten auch innerhalb einer Kultivierungswoche mehrere Reaktoren gleichzeitig kultiviert werden, um die Anzahl der vergleichbaren Daten mit gleichen klimatischen Bedingungen zu erhöhen. Hier wären auch zusätzliche Erweiterungen denkbar, wie gleichzeitige Kultivierungen in mehreren Reaktoren, von welchen manche gezielt ein Stressfaktor zugeführt wird. Zuletzt sollte noch eine Verschattung der Reaktoren vermieden werden, da diese zu Veränderungen der Primärmetabolite führen kann.

## Literaturverzeichnis

- Adenan, Nurul Salma; Yusoff, Fatimah Md.; Shariff, Mohamed (2013): Effect of Salinity and Temperature on the Growth of Diatoms and Green Algae. In: *J. of Fisheries and Aquatic Science* 8 (2), S. 397–404. DOI: 10.3923/jfas.2013.397.404.
- Agrawal, S. C. (2012): Factors controlling induction of reproduction in algae--review: the text. In: *Folia microbiologica* 57 (5), S. 387–407. DOI: 10.1007/s12223-012-0147-0.
- Alabi, A. O.; Tampier, Martin; Bibeau, E. (2009): Microalgae technologies and processes for bioenergy production in british columbia: current technology, suitability & barriers to implementation. In: *Final Report submitted to the British Columbia Innovation Council*, S. 1–88.
- Alam, Firoz; Mobin, Saleh; Chowdhury, Harun (2015): Third Generation Biofuel from Algae. In: *Procedia Engineering* 105, S. 763–768. DOI: 10.1016/j.proeng.2015.05.068.
- Alric, Jean; Lavergne, Jérôme; Rappaport, Fabrice (2010): Redox and ATP control of photosynthetic cyclic electron flow in *Chlamydomonas reinhardtii* (I) aerobic conditions. In: *Biochimica et biophysica acta* 1797 (1), S. 44–51. DOI: 10.1016/j.bbabi.2009.07.009.
- Amini Khoeyi, Zahra; Seyfabadi, Jafar; Ramezanpour, Zohreh (2012): Effect of light intensity and photoperiod on biomass and fatty acid composition of the microalgae, *Chlorella vulgaris*. In: *Aquacult Int* 20 (1), S. 41–49. DOI: 10.1007/s10499-011-9440-1.
- Antal, Taras K.; Krendeleva, Tatyana E.; Rubin, Andrew B. (2011): Acclimation of green algae to sulfur deficiency: underlying mechanisms and application for hydrogen production. In: *Applied Microbiology and Biotechnology* 89 (1), S. 3–15. DOI: 10.1007/s00253-010-2879-6.
- Ashokkumar, Veeramuthu; Rengasamy, Ramasamy (2012): Mass culture of *Botryococcus braunii* Kutz. under open raceway pond for biofuel production. In: *Bioresource technology* 104, S. 394–399. DOI: 10.1016/j.biortech.2011.10.093.
- Atta, Madiha; Idris, Ani; Bukhari, Ataullah; Wahidin, Suzana (2013): Intensity of blue LED light: a potential stimulus for biomass and lipid content in fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*. In: *Bioresource technology* 148, S. 373–378. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.08.162.
- Barbagallo, R. P.; Breyton, C.; Finazzi, G. (2000): Kinetic effects of the electrochemical proton gradient on plastoquinone reduction at the Qi site of the cytochrome b6f complex. In: *The Journal of biological chemistry* 275 (34), S. 26121–26127. DOI: 10.1074/jbc.M002299200.
- Barsanti, Laura; Gualtieri, Paolo (2006): *Algae. Anatomy, biochemistry, and biotechnology*. Boca Raton, Fla.: CRC PRESS (A CRC Press book). Online verfügbar unter <http://www.loc.gov/catdir/enhancements/fy0646/2005014492-d.html>.

- Becker, E. W. (2007): Micro-algae as a source of protein. In: *Biotechnology advances* 25 (2), S. 207–210. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2006.11.002.
- Beer, Laura L.; Boyd, Eric S.; Peters, John W.; Posewitz, Matthew C. (2009): Engineering algae for biohydrogen and biofuel production. In: *Current opinion in biotechnology* 20 (3), S. 264–271. DOI: 10.1016/j.copbio.2009.06.002.
- Bennett, Mele C.; Turn, Scott Q.; Chan, Wai Ying (2014): A methodology to assess open pond, phototrophic, algae production potential: A Hawaii case study. In: *Biomass and Bioenergy* 66, S. 168–175. DOI: 10.1016/j.biombioe.2014.03.016.
- Borowitzka, Michael A. (1999): Commercial production of microalgae: ponds, tanks, and fermenters. In: *Marine Bioprocess Engineering, Proceedings of an International Symposium organized under auspices of The Working Party on Applied Biocatalysis of the European Federation of Biotechnology and The European Society for Marine Biotechnology*, Bd. 35: Elsevier (Progress in Industrial Microbiology), S. 313–321.
- Borowitzka, Michael A. (2013): Species and Strain Selection. In: Michael A. Borowitzka und Navid R. Moheimani (Hg.): *Algae for Biofuels and Energy*, Bd. 17. Dordrecht: Springer Netherlands, S. 77–89.
- Borowitzka, Michael A.; Moheimani, Navid Reza (2013): Open Pond Culture Systems. In: Michael A. Borowitzka und Navid R. Moheimani (Hg.): *Algae for Biofuels and Energy*. Dordrecht: Springer Netherlands, S. 133–152.
- Borowitzka, Michael Armin (2015): Algal Biotechnology. In: Dinabandhu Sahoo und Joseph Seckbach (Hg.): *The Algae World*, Bd. 26. Dordrecht: Springer Netherlands (Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology), S. 319–338.
- Brennan, Liam; Owende, Philip (2010): Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. In: *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14 (2), S. 557–577. DOI: 10.1016/j.rser.2009.10.009.
- Bundesministerium für Wirtschaft und Energie (2018): Erneuerbare Energien. BMWI. Online verfügbar unter <https://www.bmwi.de/Redaktion/DE/Dossier/erneuerbare-energien.html>, zuletzt geprüft am 31.10.2019.
- Carbone, Dora Allegra; Gargano, Immacolata; Chiaiese, Pasquale; Pollio, Antonino; Marotta, Raffaele; Olivieri, Giuseppe; Pinto, Gabriele (2018): *Scenedesmus vacuolatus* cultures for possible combined laccase-like phenoloxidase activity and biodiesel production. In: *Ann Microbiol* 68 (1), S. 9–15. DOI: 10.1007/s13213-017-1309-8.
- Cardozo, Karina H. M.; Guaratini, Thais; Barros, Marcelo P.; Falcão, Vanessa R.; Tonon, Angela P.; Lopes, Norberto P. et al. (2007): Metabolites from algae with economical impact. In: *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology : CBP* 146 (1-2), S. 60–78. DOI: 10.1016/j.cbpc.2006.05.007.
- Carvalho, Ana P.; Meireles, Luís A.; Malcata, F. Xavier (2006): Microalgal reactors: a review of enclosed system designs and performances. In: *Biotechnology progress* 22 (6), S. 1490–1506. DOI: 10.1021/bp060065r.

- Çetinkaya Dönmez, G.; Aksu, Z.; Öztürk, A.; Kutsal, T. (1999): A comparative study on heavy metal biosorption characteristics of some algae. In: *Process Biochemistry* 34 (9), S. 885–892. DOI: 10.1016/S0032-9592(99)00005-9.
- Chandra, Rashmi; Iqbal, Hafiz M. N.; Vishal, Garima; Lee, Hyung-Sool; Nagra, Sunil (2019): Algal biorefinery: A sustainable approach to valorize algal-based biomass towards multiple product recovery. In: *Bioresour. Technol.* 278, S. 346–359. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.01.104.
- Chauton, Matilde S.; Reitan, Kjell Inge; Norsker, Niels Henrik; Tveterås, Ragnar; Kleivdal, Hans T. (2015): A techno-economic analysis of industrial production of marine microalgae as a source of EPA and DHA-rich raw material for aquafeed: Research challenges and possibilities. In: *Aquaculture* 436, S. 95–103. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2014.10.038.
- Chew, Kit Wayne; Yap, Jing Ying; Show, Pau Loke; Suan, Ng Hui; Juan, Joon Ching; Ling, Tau Chuan et al. (2017): Microalgae biorefinery: High value products perspectives. In: *Bioresour. Technol.* 229, S. 53–62. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.01.006.
- Chiaramonti, David; Prussi, Matteo; Casini, David; Tredici, Mario R.; Rodolfi, Liliana; Bassi, Niccolò et al. (2013): Review of energy balance in raceway ponds for microalgae cultivation: Re-thinking a traditional system is possible. In: *Applied Energy* 102, S. 101–111. DOI: 10.1016/j.apenergy.2012.07.040.
- Chinnasamy, Senthil; Bhatnagar, Ashish; Claxton, Ronald; Das, K. C. (2010): Biomass and bioenergy production potential of microalgae consortium in open and closed bioreactors using untreated carpet industry effluent as growth medium. In: *Bioresour. Technol.* 101 (17), S. 6751–6760. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.03.094.
- Chisti, Yusuf (2007): Biodiesel from microalgae. In: *Biotechnology advances* 25 (3), S. 294–306. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2007.02.001.
- Chisti, Yusuf (2013): Raceways-based Production of Algal Crude Oil. In: *Green* 3 (3-4). DOI: 10.1515/green-2013-0018.
- Cohen, Zvi (1999): *Chemicals from Microalgae. Porphyridium cruentum*. [S.l.]: CRC PRESS.
- Converti, Attilio; Casazza, Alessandro A.; Ortiz, Erika Y.; Perego, Patrizia; Del Borghi, Marco (2009): Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. In: *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 48 (6), S. 1146–1151. DOI: 10.1016/j.cep.2009.03.006.
- Cuaresma, María; Janssen, Marcel; Vílchez, Carlos; Wijffels, René H. (2009): Productivity of *Chlorella sorokiniana* in a short light-path (SLP) panel photobioreactor under high irradiance. In: *Biotechnol. Bioeng.* 104 (2), S. 352–359. DOI: 10.1002/bit.22394.
- Cuhel, Russell L.; Ortner, Peter B.; Lean, David R. S. (1984): Night synthesis of protein by algae. In: *Limnol. Oceanogr.* 29 (4), S. 731–744. DOI: 10.4319/lo.1984.29.4.0731.

- C-VI 10a; Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaft (DGF) (2000): DGF-Einheitsmethode: Gaschromatographie: Analyse der Fettsäuren und Fettsäureverteilung. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, zuletzt geprüft am 18.12.2019.
- Danesi, E.D.G.; Rangel-Yagui, C. O.; Carvalho, J.C.M.; Sato, S. (2004): Effect of reducing the light intensity on the growth and production of chlorophyll by *Spirulina platensis*. In: *Biomass and Bioenergy* 26 (4), S. 329–335. DOI: 10.1016/S0961-9534(03)00127-2.
- Dębowski, Marcin; Zieliński, Marcin; Grala, Anna; Dudek, Magda (2013): Algae biomass as an alternative substrate in biogas production technologies—Review. In: *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 27, S. 596–604. DOI: 10.1016/j.rser.2013.07.029.
- Demmig-Adams, Barbara; Adams, William W. (1996): The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. In: *Trends in Plant Science* 1 (1), S. 21–26. DOI: 10.1016/S1360-1385(96)80019-7.
- DIN EN 12880:2001-02, Charakterisierung von Schlämmen - Bestimmung des Trockenrückstandes und des Wassergehalts; Deutsches Institut für Normung e. V.; Deutsche Fassung EN\_12879:2000, zuletzt geprüft am 16.12.2019.
- DIN EN 15935:2012-11, Schlamm, behandelter Bioabfall, Boden und Abfall - Bestimmung des Glühverlusts; Deutsches Institut für Normung e. V., Deutsche Fassung EN\_12880:2000, zuletzt geprüft am 16.12.2019.
- Douglas, Susan E.; Raven, John A.; Larkum, Anthony W. D. (2003): The Algae and their General Characteristics. In: Anthony W. D. Larkum, Susan E. Douglas und John A. Raven (Hg.): *Photosynthesis in Algae*. Dordrecht: Springer Netherlands, S. 1–10.
- DWD (2019): Einordnung der Niederschlagsintensität in Kategorien. Hg. v. Deutscher Wetterdienst. Deutscher Wetterdienst. Offenbach. Online verfügbar unter <https://www.dwd.de/DE/service/lexikon/Functions/glossar.html?lv2=101812&lv3=101906>, zuletzt geprüft am 03.01.2020.
- Eriksen, Niels T. (2008): The technology of microalgal culturing. In: *Biotechnology Letters* 30 (9), S. 1525–1536. DOI: 10.1007/s10529-008-9740-3.
- Fábregas, Jaime; Maseda, Ana; Domínguez, Adolfo; Otero, Ana (2004): The cell composition of *Nannochloropsis* sp. changes under different irradiances in semicontinuous culture. In: *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 20 (1), S. 31–35. DOI: 10.1023/B:WIBI.0000013288.67536.ed.
- Falkowski, Paul G.; Raven, John A. (2007): *Aquatic photosynthesis*. Second edition. Princeton: Princeton University Press. Online verfügbar unter <http://www.jstor.org/stable/10.2307/j.ctt4cgbxs>.
- Fernández-Sevilla, José M.; Acién Fernández, F. G.; Molina Grima, E. (2010): Biotechnological production of lutein and its applications. In: *Applied Microbiology and Biotechnology* 86 (1), S. 27–40. DOI: 10.1007/s00253-009-2420-y.

- Foley, Patrick M.; Beach, Evan S.; Zimmerman, Julie B. (2011): Algae as a source of renewable chemicals: opportunities and challenges. In: *Green Chem.* 13 (6), S. 1399. DOI: 10.1039/c1gc00015b.
- Garcés, R.; Mancha, M. (1993): One-step lipid extraction and fatty acid methyl esters preparation from fresh plant tissues. In: *Analytical biochemistry* 211 (1), S. 139–143. DOI: 10.1006/abio.1993.1244.
- García-Cubero, Rafael; Moreno-Fernández, José; García-González, Mercedes (2017): Modelling growth and CO<sub>2</sub> fixation by *Scenedesmus vacuolatus* in continuous culture. In: *Algal Research* 24, S. 333–339. DOI: 10.1016/j.algal.2017.04.018.
- Gerlach, Sebastian A. (1994): *Spezielle Ökologie. Marine Systeme*. Berlin, Heidelberg, s.l.: Springer Berlin Heidelberg. Online verfügbar unter <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-57936-3>.
- González-López, C. V.; Acien Fernández, F. G.; Fernández-Sevilla, J. M.; Sánchez Fernández, J. F.; Molina Grima, E. (2012): Development of a process for efficient use of CO<sub>2</sub> from flue gases in the production of photosynthetic microorganisms. In: *Biotechnology and bioengineering* 109 (7), S. 1637–1650. DOI: 10.1002/bit.24446.
- Grobbelaar, Johan U. (2003): Algal Nutrition - Mineral Nutrition. In: Amos Richmond (Hg.): *Handbook of Microalgal Culture*. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd, S. 95–115.
- Guccione, Alessia; Biondi, Natascia; Sampietro, Giacomo; Rodolfi, Liliana; Bassi, Niccolò; Tredici, Mario R. (2014): Chlorella for protein and biofuels: from strain selection to outdoor cultivation in a Green Wall Panel photobioreactor. In: *Biotechnology for biofuels* 7, S. 84. DOI: 10.1186/1754-6834-7-84.
- Guedes, A. Catarina; Meireles, Luís A.; Amaro, Helena M.; Malcata, F. Xavier (2010): Changes in Lipid Class and Fatty Acid Composition of Cultures of *Pavlova lutheri*, in Response to Light Intensity. In: *J Am Oil Chem Soc* 87 (7), S. 791–801. DOI: 10.1007/s11746-010-1559-0.
- Guiry, Michael D. (2012): How many species of algae are there? In: *Journal of Phycology* 48 (5), S. 1057–1063. DOI: 10.1111/j.1529-8817.2012.01222.x.
- Gupta, Adarsha; Barrow, Colin J.; Puri, Munish (2012): Omega-3 biotechnology: Thraustochytrids as a novel source of omega-3 oils. In: *Biotechnology advances* 30 (6), S. 1733–1745. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2012.02.014.
- Gupta, Prabuddha L.; Lee, Seung-Mok; Choi, Hee-Jeong (2015): A mini review: photobioreactors for large scale algal cultivation. In: *World journal of microbiology & biotechnology* 31 (9), S. 1409–1417. DOI: 10.1007/s11274-015-1892-4.
- Guschina, Irina A.; Harwood, John L. (2006): Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae. In: *Progress in lipid research* 45 (2), S. 160–186. DOI: 10.1016/j.plipres.2006.01.001.
- Guschina, Irina A.; Harwood, John L. (2009): Algal lipids and effect of the environment on their biochemistry. In: Martin Kainz, Michael T. Brett und Michael T. Arts

- (Hg.): *Lipids in Aquatic Ecosystems*. New York, NY: Springer New York, S. 1–24.
- Harun, Razif; Danquah, Michael K.; Forde, Gareth M. (2009): Microalgal biomass as a fermentation feedstock for bioethanol production. In: *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 99, n/a-n/a. DOI: 10.1002/jctb.2287.
- Havaux, Michel (2014): Carotenoid oxidation products as stress signals in plants. In: *The Plant journal : for cell and molecular biology* 79 (4), S. 597–606. DOI: 10.1111/tpj.12386.
- HAW Hamburg (2017): Daten der Wetterstation: Hamburg. Online verfügbar unter [https://wetter.ls.haw-hamburg.de/#https://www.yr.no/place/Germany/Hamburg/Hamburg-Bergedorf/forecast\\_hour\\_by\\_hour.xml](https://wetter.ls.haw-hamburg.de/#https://www.yr.no/place/Germany/Hamburg/Hamburg-Bergedorf/forecast_hour_by_hour.xml), zuletzt geprüft am 25.12.2019.
- He, Qiaoning; Yang, Haijian; Wu, Lei; Hu, Chunxiang (2015): Effect of light intensity on physiological changes, carbon allocation and neutral lipid accumulation in oleaginous microalgae. In: *Bioresource technology* 191, S. 219–228. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.05.021.
- Hempel, Franziska; Bozarth, Andrew S.; Lindenkamp, Nicole; Klingl, Andreas; Zauner, Stefan; Linne, Uwe et al. (2011): Microalgae as bioreactors for bioplastic production. In: *Microbial cell factories* 10, S. 81. DOI: 10.1186/1475-2859-10-81.
- Hempel, Niels (2013): Biodieselproduktion aus Mikroalgen. Dissertation. Technische Universität Berlin, Berlin. Fakultät III - Prozesswissenschaften. Online verfügbar unter [https://depositonce.tu-berlin.de/bitstream/11303/3932/1/Dokument\\_3.pdf](https://depositonce.tu-berlin.de/bitstream/11303/3932/1/Dokument_3.pdf), zuletzt geprüft am 08.12.2019.
- Ho, Shih-Hsin; Chen, Chun-Yen; Chang, Jo-Shu (2012): Effect of light intensity and nitrogen starvation on CO<sub>2</sub> fixation and lipid/carbohydrate production of an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. In: *Bioresource technology* 113, S. 244–252. DOI: 10.1016/j.biortech.2011.11.133.
- Hodaifa, Gassan; Martínez, Ma Eugenia; Sánchez, Sebastián (2010): Influence of temperature on growth of *Scenedesmus obliquus* in diluted olive mill wastewater as culture medium. In: *Eng. Life Sci.* 10 (3), S. 257–264. DOI: 10.1002/elsc.201000005.
- Hreiz, Rainier; Sialve, Bruno; Morchain, Jérôme; Escudié, Renaud; Steyer, Jean-Philippe; Guiraud, Pascal (2014): Experimental and numerical investigation of hydrodynamics in raceway reactors used for algaculture. In: *Chemical Engineering Journal* 250, S. 230–239. DOI: 10.1016/j.cej.2014.03.027.
- Huntley, Mark E.; Redalje, Donald G. (2007): CO<sub>2</sub> Mitigation and Renewable Oil from Photosynthetic Microbes: A New Appraisal. In: *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change* 12 (4), S. 573–608. DOI: 10.1007/s11027-006-7304-1.
- Huss, Volker A. R.; Frank, Carola; Hartmann, Elke C.; Hirmer, Monika; Kloboucek, Annette; Seidel, Barbara M. et al. (1999): Biochemical taxonomy and molecular phylogeny of the genus *Chlorella sensu lato* (Chlorophyta). In: *J Phycol* 35 (3), S. 587–598. DOI: 10.1046/j.1529-8817.1999.3530587.x.

- Hussein, Hany; Farag Ibrahim, Soha; Kandeel, Kamal; Moawad, Hassan (2004): Biosorption of heavy metals from waste water using *Pseudomonas* sp. In: *Electron. J. Biotechnol.* 7 (1). DOI: 10.2225/vol7-issue1-fulltext-2.
- Illman, A.M; Scragg, A.H; Shales, S.W (2000): Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium. In: *Enzyme and Microbial Technology* 27 (8), S. 631–635. DOI: 10.1016/S0141-0229(00)00266-0.
- Ji, Xiao-Jun; Ren, Lu-Jing; Huang, He (2015): Omega-3 Biotechnology: A Green and Sustainable Process for Omega-3 Fatty Acids Production. In: *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 3, S. 158. DOI: 10.3389/fbioe.2015.00158.
- Jin, EonSeon; Feth, Brian; Melis, Anastasios (2003): A mutant of the green alga *Dunaliella salina* constitutively accumulates zeaxanthin under all growth conditions. In: *Biotechnology and bioengineering* 81 (1), S. 115–124. DOI: 10.1002/bit.10459.
- John, Rojan P.; Anisha, G. S.; Nampoothiri, K. Madhavan; Pandey, Ashok (2011): Micro and macroalgal biomass: a renewable source for bioethanol. In: *Bioresource technology* 102 (1), S. 186–193. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.06.139.
- Jorquera, Orlando; Kiperstok, Asher; Sales, Emerson A.; Embiruçu, Marcelo; Ghirardi, Maria L. (2010): Comparative energy life-cycle analyses of microalgal biomass production in open ponds and photobioreactors. In: *Bioresource technology* 101 (4), S. 1406–1413. DOI: 10.1016/j.biortech.2009.09.038.
- KaiXian, Qian; Borowitzka, Michael A. (1993): Light and nitrogen deficiency effects on the growth and composition of *Phaeodactylum tricornutum*. In: *Applied Biochemistry and Biotechnology* 38 (1), S. 93–103. DOI: 10.1007/BF02916415.
- Kalacheva, G. S.; Zhila, N. O.; Volova, T. G.; Gladyshev, M. I. (2002): The effect of temperature on the lipid composition of the green alga *Botryococcus*. In: *Microbiology* 71 (3), S. 286–293. DOI: 10.1023/A:1015898426573.
- Kamm, B.; Kamm, M. (2007): Das Konzept der Bioraffinerie – Produktion von Plattformchemikalien und Finalprodukten. In: *Chemie Ingenieur Technik* 79 (5), S. 592–603. DOI: 10.1002/cite.200700005.
- Kessler, E.; Schäfer, Michaela; Hümmer, Carola; Kloboucek, Annette; Huss, V. A. R. (1997): Physiological, Biochemical, and Molecular Characters for the Taxonomy of the Subgenera of *Scenedesmus* (Chlorococcales, Chlorophyta). In: *Botanica Acta* 110 (3), S. 244–250. DOI: 10.1111/j.1438-8677.1997.tb00636.x.
- Kessler, Erich (1985): Upper limits of temperature for growth in *Chlorella* (Chlorophyceae). In: *Plant Systematics and Evolution* 151 (1), S. 67–71. DOI: 10.1007/BF02418020.
- Ketchum, B. H.; Redfield, A. C. (1949): Some physical and chemical characteristics of algae growth in mass culture. In: *Journal of cellular and comparative physiology* 33 (3), S. 281–299. DOI: 10.1002/jcp.1030330303.
- Ketheesan, B.; Nirmalakhandan, N. (2011): Development of a new airlift-driven raceway reactor for algal cultivation. In: *Applied Energy* 88 (10), S. 3370–3376. DOI: 10.1016/j.apenergy.2010.12.034.

- Kim, Meehyein; Yim, Joung Han; Kim, So-Yeon; Kim, Hae Soo; Lee, Woo Ghil; Kim, Sung Jin et al. (2012): In vitro inhibition of influenza A virus infection by marine microalga-derived sulfated polysaccharide p-KG03. In: *Antiviral research* 93 (2), S. 253–259. DOI: 10.1016/j.antiviral.2011.12.006.
- Klein-Marcuschamer, Daniel; Chisti, Yusuf; Benemann, John R.; Lewis, David (2013): A matter of detail: assessing the true potential of microalgal biofuels. In: *Biotechnology and bioengineering* 110 (9), S. 2317–2322. DOI: 10.1002/bit.24967.
- Knoll, Robert (2015): Einfluss der photosynthetisch aktiven Strahlung auf das Wachstumsverhalten der Mikroalge *Chlorella sorokiniana* unter Verwendung substituierbarer Phosphatquellen. Bachelorarbeit. Hochschule für Angewandte Wissenschaften, Hamburg.
- Konopka, Allan; Brock, Thomas D. (1978): Effect of Temperature on Blue-Green Algae (Cyanobacteria) in Lake Mendota. In: *Applied and Environmental Microbiology* 36 (4), S. 572–576. Online verfügbar unter <https://aem.asm.org/content/36/4/572>.
- Krohn, Brian J.; McNeff, Clayton V.; Yan, Bingwen; Nowlan, Daniel (2011): Production of algae-based biodiesel using the continuous catalytic Mcgyan process. In: *Bioresource technology* 102 (1), S. 94–100. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.05.035.
- Kumar, Kanhaiya; Dasgupta, Chitralakha Nag; Nayak, Bikram; Lindblad, Peter; Das, Debabrata (2011): Development of suitable photobioreactors for CO<sub>2</sub> sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria. In: *Bioresource technology* 102 (8), S. 4945–4953. DOI: 10.1016/j.biortech.2011.01.054.
- Kumar, Kanhaiya; Mishra, Sanjiv K.; Shrivastav, Anupama; Park, Min S.; Yang, Ji-Won (2015): Recent trends in the mass cultivation of algae in raceway ponds. In: *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 51, S. 875–885. DOI: 10.1016/j.rser.2015.06.033.
- Kumudha, Anantharajappa (2015): Effect of Different Extraction Methods on Vitamin B12 from Blue Green Algae, *Spirulina Platensis*. In: *Pharm Anal Acta* 06 (02). DOI: 10.4172/2153-2435.1000337.
- Laurens, Lieve M. L.; Markham, Jennifer; Templeton, David W.; Christensen, Earl D.; van Wychen, Stefanie; Vadelius, Eric W. et al. (2017a): Development of algae biorefinery concepts for biofuels and bioproducts; a perspective on process-compatible products and their impact on cost-reduction. In: *Energy Environ. Sci.* 10 (8), S. 1716–1738. DOI: 10.1039/C7EE01306J.
- Laurens, Lieve M.L.; Chen-Glasser, Melodie; McMillan, James D. (2017b): A perspective on renewable bioenergy from photosynthetic algae as feedstock for biofuels and bioproducts. In: *Algal Research* 24, S. 261–264. DOI: 10.1016/j.algal.2017.04.002.
- Lee, Choul-Gyun (1999): Calculation of light penetration depth in photobioreactors. In: *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 4 (1), S. 78–81. DOI: 10.1007/BF02931920.

- Lee, Robert Edward (2008): Phycology. 4th ed. Cambridge [England], New York: Cambridge University Press.
- Lee, Y. K.; Tan, H. M.; Hew, C. S. (1985): The effect of growth temperature on the bioenergetics of photosynthetic algal cultures. In: *Biotechnology and bioengineering* 27 (5), S. 555–561. DOI: 10.1002/bit.260270502.
- Li, Shuwen; Luo, Shengjun; Guo, Rongbo (2013): Efficiency of CO<sub>2</sub> fixation by microalgae in a closed raceway pond. In: *Bioresource technology* 136, S. 267–272. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.03.025.
- Li, Xiufeng; Xu, Han; Wu, Qingyu (2007): Large-scale biodiesel production from microalga *Chlorella protothecoides* through heterotrophic cultivation in bioreactors. In: *Biotechnology and bioengineering* 98 (4), S. 764–771. DOI: 10.1002/bit.21489.
- Li, Yanqun; Horsman, Mark; Wu, Nan; Lan, Christopher Q.; Dubois-Calero, Nathalie (2008): Biofuels from microalgae. In: *Biotechnology progress* 24 (4), S. 815–820. DOI: 10.1021/bp070371k.
- Liffman, Kurt; Paterson, David A.; Liovic, Petar; Bandopadhyay, Pratish (2013): Comparing the energy efficiency of different high rate algal raceway pond designs using computational fluid dynamics. In: *Chemical Engineering Research and Design* 91 (2), S. 221–226. DOI: 10.1016/j.cherd.2012.08.007.
- López, Cynthia Victoria González; García, María del Carmen Cerón; Fernández, Francisco Gabriel Acién; Bustos, Cristina Segovia; Chisti, Yusuf; Sevilla, José María Fernández (2010): Protein measurements of microalgal and cyanobacterial biomass. In: *Bioresource technology* 101 (19), S. 7587–7591. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.04.077.
- Los, Dmitry A.; Murata, Norio (2004): Membrane fluidity and its roles in the perception of environmental signals. In: *Biochimica et biophysica acta* 1666 (1-2), S. 142–157. DOI: 10.1016/j.bbamem.2004.08.002.
- Lu, Shuhuan; Wang, Jiangxin; Niu, Yanhong; Yang, Jie; Zhou, Jian; Yuan, Yingjin (2012): Metabolic profiling reveals growth related FAME productivity and quality of *Chlorella sorokiniana* with different inoculum sizes. In: *Biotechnology and bioengineering* 109 (7), S. 1651–1662. DOI: 10.1002/bit.24447.
- M03.008, Carstens, Jörg; Freigegeben durch: Alina Stahl; 06.02.2017: Bestimmung von Kohlenhydraten und organischen Säuren mittels Ionenausschlusschromatographie; Version 01; Hamburg: Technische Universität Hamburg, Zentrallabor Chemische Analytik. Online verfügbar unter <https://www.tuhh.de/zentrallabor/methoden/m03007.html>, zuletzt geprüft am 16.12.2019.
- Masojídek, Jiří; Torzillo, Giuseppe; Koblížek, Michal (2013): Photosynthesis in Microalgae. In: Amos Richmond und Qiang Hu (Hg.): Handbook of microalgal culture. Applied phycology and biotechnology, Bd. 285. Second edition. Chichester, West Sussex: Wiley Blackwell, S. 21–36.
- Mata, Teresa M.; Martins, António A.; Caetano, Nidia. S. (2010): Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. In: *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14 (1), S. 217–232. DOI: 10.1016/j.rser.2009.07.020.

- Mathiot, Charlie; Ponge, Pauline; Gallard, Benjamin; Sassi, Jean-François; Delrue, Florian; Le Moigne, Nicolas (2019): Microalgae starch-based bioplastics: Screening of ten strains and plasticization of unfractionated microalgae by extrusion. In: *Carbohydrate polymers* 208, S. 142–151. DOI: 10.1016/j.carbpol.2018.12.057.
- Matsui, Mary S.; Muizzuddin, Neelam; Arad, Shoshana; Marenus, Kenneth (2003): Sulfated polysaccharides from red microalgae have antiinflammatory properties in vitro and in vivo. In: *Applied Biochemistry and Biotechnology* 104 (1), S. 13–22. DOI: 10.1385/ABAB:104:1:13.
- McCree, K. J. (1972): Test of current definitions of photosynthetically active radiation against leaf photosynthesis data. In: *Agricultural Meteorology* 10, S. 443–453. DOI: 10.1016/0002-1571(72)90045-3.
- Michalak, Izabela; Chojnacka, Katarzyna (2015): Algae as production systems of bioactive compounds. In: *Eng. Life Sci.* 15 (2), S. 160–176. DOI: 10.1002/elsc.201400191.
- Miller, R. L.; Wickline, H. E.; Richardson, B. (1971): Effects of heterotrophic and autotrophic growth conditions on the composition of *Chlorella sorokiniana*. In: *J Food Science* 36 (5), S. 774–777. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1971.tb03303.x.
- Molina, E.; Fernández, J.; Acién, F. G.; Chisti, Y. (2001): Tubular photobioreactor design for algal cultures. In: *Journal of Biotechnology* 92 (2), S. 113–131. DOI: 10.1016/S0168-1656(01)00353-4.
- Morgan-Kiss, Rachael M.; Priscu, John C.; Pocock, Tessa; Gudynaite-Savitch, Loreta; Huner, Norman P. A. (2006): Adaptation and acclimation of photosynthetic microorganisms to permanently cold environments. In: *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR* 70 (1), S. 222–252. DOI: 10.1128/MMBR.70.1.222–252.2006.
- Moroney, James V.; Ynalvez, Ruby A. (2001): Algal Photosynthesis. In: *Encyclopedia of Life Sciences*, Bd. 383. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, S. 508.
- Mussgnug, J. H.; Klassen, V.; Schlüter, A.; Kruse, O. (2010): Microalgae as substrates for fermentative biogas production in a combined biorefinery concept. In: *Journal of Biotechnology* 150 (1), S. 51–56. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2010.07.030.
- Mysliwa-Kurdziel, Beata; Solymosi, Katalin (2017): Phycobilins and Phycobiliproteins Used in Food Industry and Medicine. In: *Mini reviews in medicinal chemistry* 17 (13), S. 1173–1193. DOI: 10.2174/1389557516666160912180155.
- Ngangkham, Momocha; Ratha, Sachitra Kumar; Prasanna, Radha; Saxena, Anil Kumar; Dhar, Dolly Wattal; Sarika, Chandragiri; Prasad, Rachapudi Badari Narayana (2012): Biochemical modulation of growth, lipid quality and productivity in mixotrophic cultures of *Chlorella sorokiniana*. In: *SpringerPlus* 1, S. 33. DOI: 10.1186/2193-1801-1-33.
- Nishida, I.; Murata, N. (1996): Chilling sensitivity in plants and Cyanobacteria: The Crucial Contribution of Membrane Lipids. In: *Annual review of plant physiology and plant molecular biology* 47, S. 541–568. DOI: 10.1146/annurev.arplant.47.1.541.

- Nugent, Jonathan H. A.; Purton, Saul; Evans, Michael C. W. (2003): Oxygenic Photosynthesis in Algae and Cyanobacteria: Electron Transfer in Photosystems I and II. In: Anthony W. D. Larkum, Susan E. Douglas und John A. Raven (Hg.): Photosynthesis in Algae. Dordrecht: Springer Netherlands, S. 133–156.
- Ogbonda, Kemka H.; Aminigo, Rebecca E.; Abu, Gideon O. (2007): Influence of temperature and pH on biomass production and protein biosynthesis in a putative *Spirulina* sp. In: *Bioresource technology* 98 (11), S. 2207–2211. DOI: 10.1016/j.biortech.2006.08.028.
- Oliveira, M.A.C.L. de; Monteiro, M.P.C.; Robbs, P. G.; Leite, S.G.F. (1999): Growth and Chemical Composition of *Spirulina Maxima* and *Spirulina Platensis* Biomass at Different Temperatures. In: *Aquacult Int* 7 (4), S. 261–275. DOI: 10.1023/A:1009233230706.
- Orcutt, David M.; Patterson, Glenn W. (1974): Effect of light intensity upon lipid composition of *Nitzschia closterium* (*Cylindrotheca fusiformis*). In: *Lipids* 9 (12), S. 1000–1003. DOI: 10.1007/BF02533825.
- Papadopoulos, Konstantinos N. (2008): Food chemistry research developments. New York: Nova Science Publishers.
- Park, J. B. K.; Craggs, R. J. (2010): Wastewater treatment and algal production in high rate algal ponds with carbon dioxide addition. In: *Water science and technology : a journal of the International Association on Water Pollution Research* 61 (3), S. 633–639. DOI: 10.2166/wst.2010.951.
- Patil, Prafulla D.; Gude, Veera Ganeswar; Mannarswamy, Aravind; Deng, Shuguang; Cooke, Peter; Munson-McGee, Stuart et al. (2011): Optimization of direct conversion of wet algae to biodiesel under supercritical methanol conditions. In: *Bioresource technology* 102 (1), S. 118–122. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.06.031.
- Pelah, Dan; Sintov, Amnon; Cohen, Ephraim (2004): The Effect of Salt Stress on the Production of Canthaxanthin and Astaxanthin by *Chlorella zofingiensis* Grown Under Limited Light Intensity. In: *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 20 (5), S. 483–486. DOI: 10.1023/B:WIBI.0000040398.93103.21.
- Peters, Dietmar; Ulber, Roland; Wagemann, Kurt (2014): Bioraffinerien. In: *Chemie in unserer Zeit* 48 (1), S. 46–59. DOI: 10.1002/ciuz.201400622.
- Piorreck, Margret; Pohl, Peter (1984): Formation of biomass, total protein, chlorophylls, lipids and fatty acids in green and blue-green algae during one growth phase. In: *Phytochemistry* 23 (2), S. 217–223. DOI: 10.1016/S0031-9422(00)80305-2.
- Pohling, Rolf (2015): Gesamt- und organischer Stickstoff. In: Rolf Pohling (Hg.): Chemische Reaktionen in der Wasseranalyse. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, S. 137–145.
- Pott, Richard; Hüppe, Joachim (2007): Spezielle Geobotanik. Pflanze - Klima - Boden. 1. ed. Berlin: Springer (Springer-Lehrbuch).
- Prasanna, R.; Sood, A.; Suresh, A.; Nayak, S.; Kaushik, B. (2007): Potentials and applications of algal pigments in biology and industry. In: *Acta Botanica Hungarica* 49 (1-2), S. 131–156. DOI: 10.1556/ABot.49.2007.1-2.14.

- Priyadarshani, Indira; Biswajit, Rath (2012): Commercial and industrial applications of microalgae. In: *J. Algal Biomass Utiln.*, S. 89–100.
- Rahman, A.; Miller, C. D. (2017): Microalgae as a Source of Bioplastics. In: *Algal Green Chemistry*: Elsevier, S. 121–138.
- Rao, A. Ranga; Dayananda, C.; Sarada, R.; Shamala, T. R.; Ravishankar, G. A. (2007): Effect of salinity on growth of green alga *Botryococcus braunii* and its constituents. In: *Bioresource technology* 98 (3), S. 560–564. DOI: 10.1016/j.biortech.2006.02.007.
- Raposo, Maria Filomena de Jesus; Morais, Rui Manuel Santos Costa de; Bernardo de Morais, Alcina Maria Miranda (2013): Bioactivity and applications of sulphated polysaccharides from marine microalgae. In: *Marine drugs* 11 (1), S. 233–252. DOI: 10.3390/md11010233.
- Reay, David S.; Nedwell, David B.; Priddle, Julian; Ellis-Evans, J. Cynan (1999): Temperature Dependence of Inorganic Nitrogen Uptake: Reduced Affinity for Nitrate at Suboptimal Temperatures in Both Algae and Bacteria. In: *Applied and Environmental Microbiology* 65 (6), S. 2577–2584. Online verfügbar unter <https://aem.asm.org/content/65/6/2577>.
- Reitan, Kjell Inge; Rainuzzo, Jose R.; Olsen, Yngvar (1994): Effect of nutrient limitation on fatty acid and lipid content of marine micoralgae. In: *J Phycol* 30 (6), S. 972–979. DOI: 10.1111/j.0022-3646.1994.00972.x.
- Renaud, S. M.; Parry, D. L.; Thinh, Luong-Van; Kuo, C.; Padovan, A.; Sammy, N. (1991): Effect of light intensity on the proximate biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis* sp. and *Nannochloropsis oculata* for use in tropical aquaculture. In: *Journal of Applied Phycology* 3 (1), S. 43–53. DOI: 10.1007/BF00003918.
- Renaud, Susan M.; Thinh, Luong-Van; Lambrinidis, George; Parry, David L. (2002): Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures. In: *Aquaculture* 211 (1-4), S. 195–214. DOI: 10.1016/S0044-8486(01)00875-4.
- Rhee, G-Yull; Gotham, Ivan J. (1981): The effect of environmental factors on phytoplankton growth: Temperature and the interactions of temperature with nutrient limitation1. In: *Limnol. Oceanogr.* 26 (4), S. 635–648. DOI: 10.4319/lo.1981.26.4.0635.
- Richardson, B.; Orcutt, D. M.; Schwertner, H. A.; Martinez, Cara L.; Wickline, Hazel E. (1969): Effects of Nitrogen Limitation on the Growth and Composition of Unicellular Algae in Continuous Culture. In: *Applied and Environmental Microbiology* 18 (2), S. 245–250. Online verfügbar unter <https://aem.asm.org/content/18/2/245>.
- Richmond, Amos (1999): Physiological principles and modes of cultivation in mass production of photoautotrophic microalgae. In: Cohen Z, ed. *Chemical from Microalgae*, S. 353–386.
- Richmond, Amos (2004): Principles for attaining maximal microalgal productivity in photobioreactors: an overview. In: Put O. Ang (Hg.): *Asian Pacific Phycology in*

- the 21st Century: Prospects and Challenges. Dordrecht: Springer Netherlands, S. 33–37.
- Rodjaroen, Somrak; Juntawong, Niran; Mahakhand, Aparat (2017): High Biomass Production and Starch Accumulation in Native Green Algal Strains and Cyanobacterial Strains of Thailand. In: *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 2007, S. 570–575. Online verfügbar unter <http://www.thaiscience.info/Journals/Article/TKJN/10471468.pdf>, zuletzt geprüft am 08.01.2020.
- SAG (2014a): SAG 211-8k; *Chlorella sorokiniana*. Universität Göttingen. Göttingen. Online verfügbar unter [https://sagdb.uni-goettingen.de/detailedList.php?str\\_number=211-8k](https://sagdb.uni-goettingen.de/detailedList.php?str_number=211-8k), zuletzt geprüft am 17.12.2019.
- SAG (2014b): SAG:211/8b; *Scenedesmus vacuolatus*. Universität Göttingen. Göttingen. Online verfügbar unter [https://sagdb.uni-goettingen.de/detailedList.php?str\\_number=211-8b](https://sagdb.uni-goettingen.de/detailedList.php?str_number=211-8b), zuletzt geprüft am 03.01.2020.
- Samarakoon, Kalpa; Jeon, You-Jin (2012): Bio-functionalities of proteins derived from marine algae — A review. In: *Food Research International* 48 (2), S. 948–960. DOI: 10.1016/j.foodres.2012.03.013.
- Samsonoff, William A.; MacColl, Robert (2001): Biliproteins and phycobilisomes from cyanobacteria and red algae at the extremes of habitat. In: *Archives of Microbiology* 176 (6), S. 400–405. DOI: 10.1007/s002030100346.
- Sánchez, J. F.; Fernández-Sevilla, J. M.; Acién, F. G.; Cerón, M. C.; Pérez-Parra, J.; Molina-Grima, E. (2008): Biomass and lutein productivity of *Scenedesmus almeriensis*: influence of irradiance, dilution rate and temperature. In: *Applied Microbiology and Biotechnology* 79 (5), S. 719–729. DOI: 10.1007/s00253-008-1494-2.
- Schenk, Peer M.; Thomas-Hall, Skye R.; Stephens, Evan; Marx, Ute C.; Mussnug, Jan H.; Posten, Clemens et al. (2008): Second Generation Biofuels: High-Efficiency Microalgae for Biodiesel Production. In: *BioEnergy Research* 1 (1), S. 20–43. DOI: 10.1007/s12155-008-9008-8.
- Scott, Stuart A.; Davey, Matthew P.; Dennis, John S.; Horst, Irmtraud; Howe, Christopher J.; Lea-Smith, David J.; Smith, Alison G. (2010): Biodiesel from algae: challenges and prospects. In: *Current opinion in biotechnology* 21 (3), S. 277–286. DOI: 10.1016/j.copbio.2010.03.005.
- Sharma, Y. C.; Singh, B. (2009): Development of biodiesel: Current scenario. In: *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 13 (6-7), S. 1646–1651. DOI: 10.1016/j.rser.2008.08.009.
- Singh, R. N.; Sharma, Shaishav (2012): Development of suitable photobioreactor for algae production – A review. In: *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 16 (4), S. 2347–2353. DOI: 10.1016/j.rser.2012.01.026.
- Slegers, P. M.; van Beveren, P.J.M.; Wijffels, R. H.; van Straten, G.; van Boxtel, A.J.B. (2013): Scenario analysis of large scale algae production in tubular

- photobioreactors. In: *Applied Energy* 105, S. 395–406. DOI: 10.1016/j.apenergy.2012.12.068.
- Sompech, Kawisra; Chisti, Yusuf; Srinophakun, Thongchai (2012): Design of raceway ponds for producing microalgae. In: *Biofuels* 3 (4), S. 387–397. DOI: 10.4155/bfs.12.39.
- Staehelin, L. A. (1986): Chloroplast Structure and Supramolecular Organization of Photosynthetic Membranes. In: L. Andrew Staehelin und Charles J. Arntzen (Hg.): *Photosynthesis III: Photosynthetic Membranes and Light Harvesting Systems*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, S. 1–84.
- Subitec GmbH. Hg. v. Subitec GmbH. Stuttgart. Online verfügbar unter <https://subitec.com/de/flat-panel-airlift-fpa-photobioreaktor>, zuletzt geprüft am 16.12.2019.
- Sutherland, Donna L.; Turnbull, Matthew H.; Craggs, Rupert J. (2014): Increased pond depth improves algal productivity and nutrient removal in wastewater treatment high rate algal ponds. In: *Water research* 53, S. 271–281. DOI: 10.1016/j.watres.2014.01.025.
- Thompson, Guy A. (1996): Lipids and membrane function in green algae. In: *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism* 1302 (1), S. 17–45. DOI: 10.1016/0005-2760(96)00045-8.
- Thompson, Peter A.; Guo, Ming-xin; Harrison, Paul J. (1992): Effects of variation in temperature. I. ON the biochemical composition of eight species of marine Phytoplankton. In: *J Phycol* 28 (4), S. 481–488. DOI: 10.1111/j.0022-3646.1992.00481.x.
- Thompson, Peter A.; Harrison, Paul J.; Whyte, John N. C. (1990): Influence of irradiance on the fatty acid composition of Phytoplankton. In: *J Phycol* 26 (2), S. 278–288. DOI: 10.1111/j.0022-3646.1990.00278.x.
- Thun, Richard; Hoffmann, Georg (2012): Die Untersuchung von Böden. A 2.2.1 Bestimmung von Gesamt-Stickstoff nach KJELDAHL. 4., neubearb. u. erw. Aufl. Hg. v. Rolf Bassler. Darmstadt: VDLUFA-Verl. (Handbuch der landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsmethodik, (Methodenbuch) / im Auftr. des Verbandes Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten hrsg. von Rolf Bassler ; Bd. 1,1).
- Travieso, L.; Hall, D.O; Rao, K.K; Benítez, F.; Sánchez, E.; Borja, R. (2001): A helical tubular photobioreactor producing *Spirulina* in a semicontinuous mode. In: *International Biodeterioration & Biodegradation* 47 (3), S. 151–155. DOI: 10.1016/S0964-8305(01)00043-9.
- Tredici, Mario R. (2003): Mass Production of Microalgae: Photobioreactors. In: Amos Richmond (Hg.): *Handbook of Microalgal Culture*. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd, S. 178–214.
- Tredici, Mario R.; Zittelli, Graziella Chini (1998): Efficiency of sunlight utilization: Tubular versus flat photobioreactors. In: *Biotechnol. Bioeng.* 57 (2), S. 187–197. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0290(19980120)57:2<187::AID-BIT7>3.0.CO;2-J.

- Trivedi, Jayati; Aila, Mounika; Bangwal, D. P.; Kaul, Savita; Garg, M. O. (2015): Algae based biorefinery—How to make sense? In: *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 47, S. 295–307. DOI: 10.1016/j.rser.2015.03.052.
- U.S. Energy Information Administration Office of Energy Analysis (2019): International Energy Outlook 2019 with projections to 2050. Hg. v. U.S. Department of Energy Washington, DC 20585. Online verfügbar unter <https://www.eia.gov/outlooks/ieo/>, zuletzt geprüft am 31.10.2019.
- Ueno, Yoshiyuki; Kurano, Norihide; Miyachi, Shigetoh (1998): Ethanol production by dark fermentation in the marine green alga, *Chlorococcum littorale*. In: *Journal of Fermentation and Bioengineering* 86 (1), S. 38–43. DOI: 10.1016/S0922-338X(98)80031-7.
- Ugwu, C. U.; Aoyagi, H.; Uchiyama, H. (2008): Photobioreactors for mass cultivation of algae. In: *Bioresource technology* 99 (10), S. 4021–4028. DOI: 10.1016/j.biortech.2007.01.046.
- van den Hoek, C.; Mann, D. G.; Jahns, H. M. (1997): Algae, an Introduction to Phycology. In: *Journal of the North American Benthological Society* 16 (3), S. 721–722. DOI: 10.2307/1468159.
- Vona, Vincenza; Di Martino Rigano, Vittoria; Lobosco, Ornella; Carfagna, Simona; Esposito, Sergio; Rigano, Carmelo (2004): Temperature responses of growth, photosynthesis, respiration and NADH: nitrate reductase in cryophilic and mesophilic algae. In: *New Phytol* 163 (2), S. 325–331. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2004.01098.x.
- Vree, Jeroen H. de; Bosma, Rourke; Janssen, Marcel; Barbosa, Maria J.; Wijffels, René H. (2015): Comparison of four outdoor pilot-scale photobioreactors. In: *Biotechnology for biofuels* 8, S. 215. DOI: 10.1186/s13068-015-0400-2.
- Wahlen, Bradley D.; Willis, Robert M.; Seefeldt, Lance C. (2011): Biodiesel production by simultaneous extraction and conversion of total lipids from microalgae, cyanobacteria, and wild mixed-cultures. In: *Bioresource technology* 102 (3), S. 2724–2730. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.11.026.
- Wang, Shi-Kai; Stiles, Amanda R.; Guo, Chen; Liu, Chun-Zhao (2014): Microalgae cultivation in photobioreactors: An overview of light characteristics. In: *Eng. Life Sci.* 14 (6), S. 550–559. DOI: 10.1002/elsc.201300170.
- Wang, Yan; Chen, Tao (2008): The biosynthetic pathway of carotenoids in the astaxanthin-producing green alga *Chlorella zofingiensis*. In: *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 24 (12), S. 2927–2932. DOI: 10.1007/s11274-008-9834-z.
- Wang, Yuancong; He, Bing; Sun, Zhilan; Chen, Yi-Feng (2016): Chemically enhanced lipid production from microalgae under low sub-optimal temperature. In: *Algal Research* 16, S. 20–27. DOI: 10.1016/j.algal.2016.02.022.
- White, P. Lewis; Wynn-Williams, David D.; Russell, Nicholas J. (2000): Diversity of thermal responses of lipid composition in the membranes of the dominant culturable members of an Antarctic fellfield soil bacterial community. In: *Antarctic science* 12 (3), S. 386–393. DOI: 10.1017/S0954102000000432.

- Wieczorek, Nils (2018): Kultivierung der Mikroalge *Chlorella sorokiniana* zur Gewinnung von Naturwertstoffen im Rahmen eines Bioraffineriekonzeptes. Dissertation. Hamburg: Abfall aktuell.
- Wijffels, René H.; Kruse, Olaf; Hellingwerf, Klaas J. (2013): Potential of industrial biotechnology with cyanobacteria and eukaryotic microalgae. In: *Current opinion in biotechnology* 24 (3), S. 405–413. DOI: 10.1016/j.copbio.2013.04.004.
- Wu, Xiaodan; Yan, Chi; Zheng, Hongli; Luo, Shanshan; Liu, Yuhuan; Li, Wen et al. (2017): Fixing CO<sub>2</sub> and Treating Wastewater from Beer Brewery Using Microalgae. In: *j biobased mat bioenergy* 11 (2), S. 101–105. DOI: 10.1166/jbmb.2017.1654101.
- Xia, Ao; Jacob, Amita; Tabassum, Muhammad Rizwan; Herrmann, Christiane; Murphy, Jerry D. (2016): Production of hydrogen, ethanol and volatile fatty acids through co-fermentation of macro- and micro-algae. In: *Bioresource technology* 205, S. 118–125. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.01.025.
- Yoo, Chan; Jun, So-Young; Lee, Jae-Yon; Ahn, Chi-Yong; Oh, Hee-Mock (2010): Selection of microalgae for lipid production under high levels carbon dioxide. In: *Bioresource technology* 101 Suppl 1, S71-4. DOI: 10.1016/j.biortech.2009.03.030.
- Zeller, Mark Ashton; Hunt, Ryan; Jones, Alexander; Sharma, Suraj (2013): Bioplastics and their thermoplastic blends from *Spirulina* and *Chlorella* microalgae. In: *J. Appl. Polym. Sci.* 130 (5), S. 3263–3275. DOI: 10.1002/app.39559.
- Zhu, Liandong (2015): Biorefinery as a promising approach to promote microalgae industry: An innovative framework. In: *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 41, S. 1376–1384. DOI: 10.1016/j.rser.2014.09.040.

## Anhang:

### A.

Tabelle 4: Übersicht der verwendeten Geräte sowie deren Hersteller für die jeweilige Analysemethode

<b>Verwendetes Gerät</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Analyse</b>
Analysewaage	Sartorius AG Weender Landstr. 94-108 D-37075 Göttingen Tel.: 0551 / 308-0	Ts; oTS; TKN; FAME
Muffelofen	Heraeus Instruments GmbH Heraeusstr. 12-14 D-63450 Hanau Tel.: 06181 / 35-1	oTS
Aufschlussblock Kjeldahltherm mit Turbosog	Gerhardt GmbH und Co. KG Postfach 1628 D-53006 Bonn Tel.: 0228 / 6920 16 / 17	TKN
Wasserdampfdestillation Vapodest Kjeldahltherm KTL 20 Sr	Gerhardt GmbH und Co. KG Postfach 1628 D-53006 Bonn Tel.: 0228 / 6920 16 / 17	TKN
Gas Chromatograph mit Flammenionisationsdetektor	Agilent Technologies Sales & Services GmbH & Co. KG Hewlett-Packard-Str. 8 D-76337 Waldbronn Tel.: 0800 / 6031000	FAME
BPX70 Säule 60m. I.D. 0,25mm, df 0,25 µm	VWR International GmbH Hilpertstr. 20a D-64295 Darmstadt 0651 / 3972-0	FAME
Zentrifuge SIGMA 3-K18 mit Rotor 12150-H	SIGMA Laborzentrifugen GmbH An der unteren Söse 50 D-37520 Osterode am Harz Tel.: 05522 / 5007-0	FAME, Saccharid- konzentration
Hochdruckflüssigkeitschromatograph mit Brechungsindexdetektor Agilent Modell 1200	Agilent Technologies Sales & Services GmbH & Co. KG Hewlett-Packard-Str. 8 D-76337 Waldbronn Tel.: 0800 / 6031000	Saccharidkonzentration

Tabelle 5: Verwendete Chemikalien geordnet nach der verwendeten Analyse

Analyse	Chemikalien	Summenformel	CAS-Nummer
TKN	Schwefelsäure	[H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]	7664-93-9
	Natronlauge (32%)	[NaOH] + [H <sub>2</sub> O]	[NaOH] 1310-73-2
	Wasserstoffperoxid	[H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ]	7722-84-1
	0,1 N Salzsäure	[HCL]	7647-01-0
	Glycin	[C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub> ]	56-40-6
	Borsäure	[H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> ]	10043-35-3
	Silikon-Entschäumer	-	-
	Kjedahl-Katalysator-Tabletten	-	-
FAME	Kalilauge	[KOH] + [H <sub>2</sub> O]	[KOH] 1310-58-3
	n-Hexan	[C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> ]	110-54-3
	Natriumhydrogensulfat-Monohydrat	[NaHSO <sub>4</sub> * H <sub>2</sub> O]	10034-88-5
	2,2-Dimethoxypropan	[C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub> ]	77-76-9
	Methanol	[CH <sub>4</sub> O]	67-56-1
	Toluol	[C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> ]	108-88-3
	Schwefelsäure	[H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]	7664-93-9
	n-Heptan	[C <sub>7</sub> H <sub>16</sub> ]	142-82-5
	Nonadecansäuremethylester	[CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>17</sub> CO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ]	1731-94-8
2,2-Dimethoxypropan	[C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub> ]	77-76-9	
Saccharid-konzentration	Schwefelsäure	[H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]	7664-93-9
	Calciumcarbonat	[CaCO <sub>3</sub> ]	471-34-1

Tabelle 6: Verwendete Geräte zur Messung der Temperatur und Lichtintensität

<b>Gerät</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Messgröße</b>	<b>Einheit</b>
Vantage Pro2 Temperature Humidity Station Produktnummer: 6382	Davis Instruments Corporation 3465 Diablo Avenue Hayward, California 94545 USA	Temperatur	°C
Vantage Pro2 Solar Radiation Sensor Produktnummer: 6450	Davis Instruments Corporation 3465 Diablo Avenue Hayward, California 94545 USA	Solarstrahlung / Lichtintensität	W/m <sup>2</sup>

## B.

Tabelle 7: Fettsäurespektrum der Mikroalgenproben aus dem Reaktor M1R3 im Kultivierungszeitraum 28.07.2017 – 04.08.2017

<b>28.07.2017 - 04.08.2017</b>	<b>M1R3 [%]</b>	<b>M1R3 [mg g<sup>-1</sup>]</b>
Palmitinsäure	37,15	43,06
Ölsäure	24,38	28,26
Linolsäure	20,3	23,53
cis-Vaccensäure	4,36	5,05
Stearinsäure	4,02	4,66
Palmitoleinsäure	3,26	3,78
$\alpha$ -Linolensäure	3,23	3,74
cis-10-Heptadecensäure	1,92	2,23
Linolelaidinsäure	0,81	0,94
Lignocerinsäure	0,39	0,45
Arachidonsäure	0,19	0,22

Tabelle 8: Fettsäurespektrum der Mikroalgenproben aus dem Reaktor M1R4 im Kultivierungszeitraum 22.09.2017 – 29.09.2017

<b>22.09.2017 - 29.09.2017</b>	<b>M1R3 [%]</b>	<b>M1R3 [mg g<sup>-1</sup>]</b>
$\alpha$ -Linolensäure	47,47	62,09
Palmitinsäure	18,09	23,66
Ölsäure	14,65	19,16
Linolsäure	9,26	12,11
cis-Vaccensäure	4,67	6,11
Linolelaidinsäure	2,06	2,69
Palmitoleinsäure	1,95	2,55
cis-10-Heptadecensäure	1,73	2,26
Behensäure	0,12	0,16

Tabelle 9: Fettsäurespektrum der Mikroalgenproben aus den Reaktoren M1R3 und M2R3 im Kultivierungszeitraum 13.09.2017 – 20.09.2017

<b>13.09.2017 - 20.09.2017</b>	<b>M1R3 [%]</b>	<b>M2R3 [%]</b>	<b>M1R3 [mg g<sup>-1</sup>]</b>	<b>M2R3 [mg g<sup>-1</sup>]</b>
$\alpha$ -Linolensäure	47,01	49,18	59,33	61,43
Palmitinsäure	18,96	19,31	23,93	24,12
Ölsäure	13,93	13,3	17,58	16,61
Linolsäure	10,13	9,56	12,78	11,94
cis-Vaccensäure	4,54	3,71	5,73	4,63
Palmitoleinsäure	1,66	1,4	2,09	1,75
cis-10-Heptadecensäure	1,53	1,58	1,93	1,97
Linolelaidinsäure	1,51	1,96	1,91	2,45
Stearinsäure	0,54	-	0,68	-
Arachidonsäure	0,18	-	0,23	-

Tabelle 10: Fettsäurespektrum der Mikroalgenproben aus den Reaktoren M1R4 und M2R4 im Kultivierungszeitraum 05.10.2017 – 12.10.2017

<b>05.10.2017 - 12.10.2017</b>	<b>M1R4 [%]</b>	<b>M2R4 [%]</b>	<b>M1R4 [mg g<sup>-1</sup>]</b>	<b>M2R4 [mg g<sup>-1</sup>]</b>
$\alpha$ -Linolensäure	43,32	44,02	39,55	42,13
Ölsäure	17,79	18,89	16,24	18,08
Palmitinsäure	15,34	14,74	14,01	14,11
Linolsäure	7,88	7,34	7,19	7,02
$\gamma$ -Linolensäure	6,76	6,88	6,17	6,58
Margarinsäure	3,00	2,69	2,74	2,57
Linolelaidinsäure	2,53	2,90	2,31	2,78
cis-10-Heptadecensäure	1,38	0,45	1,26	0,43
Palmitoleinsäure	1,27	1,37	1,16	1,31
Behensäure	0,44	0,31	0,40	0,30
cis-11-14,17-Eicosatriensäure	0,29	0,41	0,26	0,39

Tabelle 11: Fettsäurespektrum der Mikroalgenproben aus dem Reaktor M1R4 im Kultivierungszeitraum 18.08.2017 – 25.08.2017

<b>18.08.2017 - 25.08.2017</b>	<b>M1R3 [%]</b>	<b>M2R3 [mg g<sup>-1</sup>]</b>
Linolsäure	28,98	49,87
Palmitinsäure	25,58	44,02
Ölsäure	22,88	39,38
$\alpha$ -Linolensäure	6,92	11,91
cis-Vaccensäure	4,06	6,99
$\gamma$ -Linolensäure	3,52	6,06
Stearinsäure	3,07	5,28
Palmitoleinsäure	1,68	2,89
Linolelaidinsäure	1,36	2,34
cis-10-Heptadecensäure	0,79	1,36
Arachinsäure	0,43	0,74
Gondosäure	0,30	0,52
cis-11,14,17-Eicosatriensäure	0,19	0,33
Lignocerinsäure	0,19	0,33

Tabelle 12: Konzentrationsangaben der Proteine, Saccharide sowie Lipide der einzelnen Proben bezogen auf die gemessene organische Trockensubstanz

<b>Reaktor</b>	<b>Kultivierungszeitraum</b>	<b>Proteine [mg/g]</b>	<b>Saccharide [mg/g]</b>	<b>Lipide [mg/g]</b>	<b>Rest [mg/g]</b>
M1R3	28.07.2017 - 04.08.2017	440,50	420,80	115,90	22,80
M1R3	22.09.2017 - 29.09.2017	483,00	372,40	130,80	13,80
M1R3	13.09.2017 - 20.09.2017	513,30	314,20	126,20	46,20
M2R3	13.09.2017 - 20.09.2017	462,00	371,20	124,90	41,90
M1R4	05.10.2017 - 12.10.2017	441,30	407,70	91,30	59,70
M2R4	05.10.2017 - 12.10.2017	459,40	439,60	95,70	5,30
M1R4	18.08.2017 - 25.08.2017	258,00	527,10	172,10	42,80

Tabelle 13: Übersicht der enthaltenen Fettsäuren in % bezogen auf den jeweiligen Lipidanteil der einzelnen Proben. Zur Differenzierung sind unter den Reaktornamen die Erntedaten aufgeführt. Die Essentielle Fettsäuren sind hervorgehoben

	M1R3 04.08 [%]	M1R4 29.09 [%]	M1R3 20.09 [%]	M2R3 20.09 [%]	M1R4 12.10 [%]	M2R4 12.10 [%]	M1R3 25.08 [%]
<b><math>\alpha</math>-Linolensäure</b>	<b>3,23</b>	<b>47,47</b>	<b>47,01</b>	<b>49,18</b>	<b>43,32</b>	<b>44,02</b>	<b>6,92</b>
Palmitinsäure	37,15	18,09	18,96	19,31	15,34	14,74	25,58
Ölsäure	24,38	14,65	13,93	13,3	17,79	18,89	22,88
<b>Linolsäure</b>	<b>20,3</b>	<b>9,26</b>	<b>10,13</b>	<b>9,56</b>	<b>7,88</b>	<b>7,34</b>	<b>28,98</b>
cis-Vaccensäure	4,36	4,67	4,54	3,71	-	-	4,06
Palmitolein- säure	3,26	1,95	1,66	1,4	1,27	1,37	1,68
cis-10-Hepta- decansäure	1,92	1,73	1,53	1,58	1,38	0,45	0,79
Linolelaidin- säure	0,81	2,06	1,51	1,96	2,53	2,9	1,36
Stearinsäure	4,02	-	0,54	-	-	-	3,07
Arachidon-säure	0,19	-	0,18	-	-	-	-
Behensäure	-	0,12	-	-	0,44	0,31	-
Lignocerin- säure	0,39	-	-	-	-	-	0,19
<b><math>\gamma</math>-Linolensäure</b>	-	-	-	-	<b>6,76</b>	<b>6,88</b>	<b>3,52</b>
Margarinsäure	-	-	-	-	3	2,69	-
cis-11-14,17- Eicosatriensäure	-	-	-	-	0,29	0,41	0,19
Arachinsäure	-	-	-	-	-	-	0,43
Gondosäure	-	-	-	-	-	-	0,3

C.

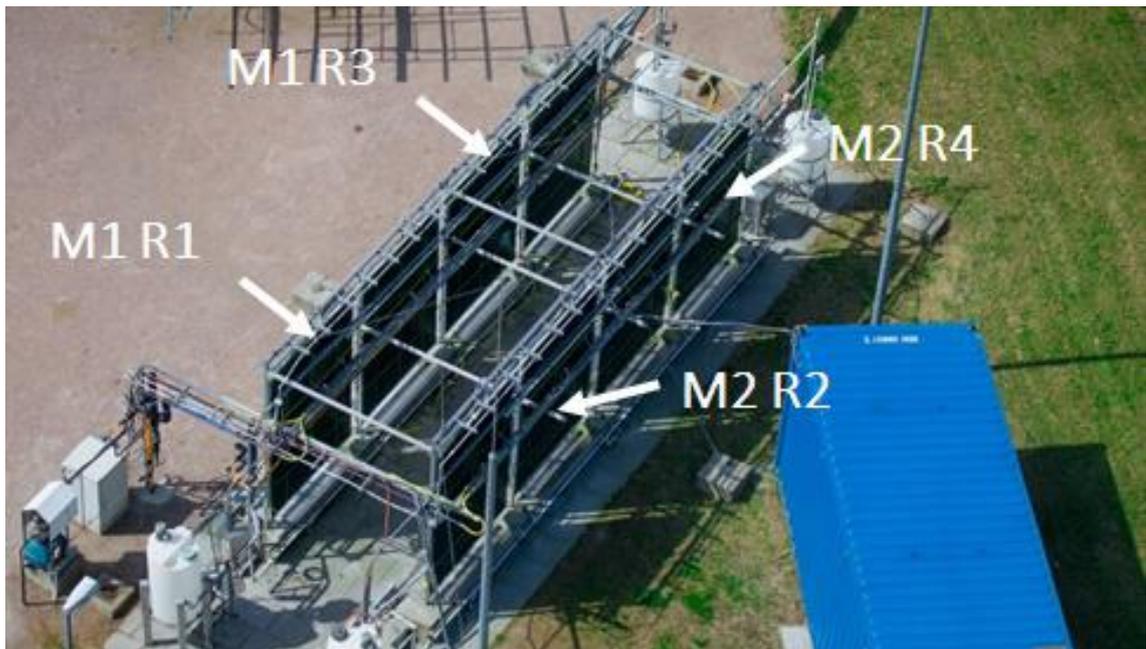


Abbildung 30: Anordnung der Reaktoren am Standort Reitbrook (Wieczorek 2018)

In Abbildung 30 sind die FPA Reaktoren der Mikroalgenanlage in Reitbrook dargestellt. Die Mikroalgen, welche in dieser Arbeit verwendet wurden, sind im Jahr 2017 zwischen August und Oktober in diesen Reaktoren kultiviert worden. Der Aufbau wird in zwei Modulreihen unterteilt (M1 und M2) und besitzen jeweils 4 Reaktoren (R1 – R4).

### **Eidesstattliche Erklärung**

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

---

Ort, Datum

---

Unterschrift des Verfassers